



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASETON O-(4-KLOROFENİLSÜLFONİL)
OKSİM MADDESİNİN STRES ALTINDAKİ
MISIR BİTKİ FİDELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

İnci KARDEŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Mart-2021
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASETON O-(4-KLOROFENİLSÜLFONİL)
OKSİM MADDESİNİN STRES ALTINDAKİ
MISIR BİTKİ FİDELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

İnci KARDEŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Fuat YETİŞSİN

Mart-2021
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL ve ONAY

İnci KARDEŞ tarafından hazırlanan “Aseton O-(4-Klorofenilsülfonil)Oksim Maddesinin Stres Altındaki Mısır Bitki Fideleri Üzerine Etkileri” adlı tez çalışması 26/03/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA

.....

Muş Alparslan Üniversitesi. Fen Edebiyat Fakültesi. Moleküler Biyoloji ve Genetik.

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Fuat YETİŞSİN

.....

Muş Alparslan Üniversitesi. Teknik Bilimler MYO. Bitkisel ve Hayvansal Üretim.

Üye

Doç. Dr. Sedat BOZARI

.....

Muş Alparslan Üniversitesi. Fen Edebiyat Fakültesi. Moleküler Biyoloji ve Genetik.

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİRALAY

.....

Artvin Çoruh Üniversitesi. Orman Fakültesi. Orman Mühendisliği.

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Şeyma ÖNLÜ

.....

Muş Alparslan Üniversitesi. Fen Edebiyat Fakültesi. Moleküler Biyoloji ve Genetik.

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 08/04/2021 Tarih ve 09/I nolu kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Sedat Bozari

FBE Müdürü

Bu tez çalışması Muş Alparslan Üniversitesi BAP birimi tarafından BAP-20-TBMY-4902-02 nolu proje ile desteklenmiştir.

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.

İmza

İnci KARDEŞ

Tarih:26/03/2021

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ASETON O-(4-KLOROFENİLSÜLFONİL)OKSİM MADDESİNİN STRES ALTINDAKİ MISIR BİTKİ FİDELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

İnci KARDEŞ

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim üyesi Fuat YETİŞSİN

Yeni sentezlenmiş olan Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim (Ia) maddesinin kuraklık ve bakır stresi altındaki mısır (*Zea mays L.*) fideleri üzerine etkileri araştırıldı. Bitki büyütme odasında optimum koşullarda 25±2 gün yetiştirilen mısır fidelerinin sonra toprak seviyesinden 2 cm yukarıdan kesilen kısımlarına 18 saat saf su (K), 6 Saat Ia+12 saat saf su (Ia), 6 saat saf su+ 12 saat PEG (Ku), 6 saat saf su+12 saat bakır (Cu), 6 saat Ia+12 saat PEG (Ia+Ku) ve 6 saat Ia+12 saat bakır (Ia+Cu) uygulandı. Sıvı azotla muamele edilen örnekler -20 °C’de korundu. Önemli stres parametreleri MDA, H₂O₂, prolin, fenolik madde, fotosentetik pigment, bakır ve nispi su içerikleri HPLC ve spektrofotometrik yöntemler ile belirlendi. SOD, GPX, CAT ve APX gibi antioksidan enzim aktiviteleri hesaplandı. Araştırma sonuçlarına göre tek başına Ia maddesinin mısır fideleri üzerine olumlu etkileri belirlendi. Kuraklık stresi altındaki mısır fidelerinde Ia maddesinin MDA, H₂O₂ ve ABA içeriğini azalttığı, Prolin, Klorofil, AsA, Karotenoid içeriğini arttırdığı ve nispi su içeriğinin ise değişmediği saptandı. GPX, CAT ve APX enzim aktivitelerinin azaldığı, SOD enzim aktivitesinin ise arttığı belirlendi. Bakır stresi altındaki mısır fidelerine Ia maddesinin uygulanmasında ise MDA, H₂O₂ ABA ve Karotenoid içeriğinin azaldığı, Bakır, Prolin, Klorofil, AsA, SA ve nispi su içeriğinin arttığı belirlendi. Ayrıca GPX, CAT ve SOD enzim aktiviteleri azalırken, APX enzim aktivitesinin arttığı saptandı. Bütün bulgular birlikte değerlendirildiğinde 1 mM’lık bakır stresi ve % 3’lük PEG kuraklık stresi altında, 0.66 mM konsantrasyonda Ia maddesi uygulamasının mısır fideleri üzerinde stresin olumsuz etkilerini önemli oranda hafiflettiği sonucuna varıldı.

2021, 74 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antioksidan sistem, aseton o-(4-klorofenilsülfonil)oksim, fenolik bileşikler, bakır stresi, kuraklık stresi

ABSTRACT

MS THESIS

EFFECTS OF ACETONE O-(4-CHLOROPHENYLSULFONYL)OXIME ON STRESSED MAIZE PLANT SEEDLINGS

İnci KARDEŞ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF MUŞ
ALPARSLAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOLOGY SCIENCE

Advisor: Assistant Professor Dr. Fuat YETİŞSİN

It was investigated whether the newly synthesized Acetone O- (4-chlorophenylsulfonyl)oxime (Ia) substance has mitigating effects of stress on Maize (*Zea mays L.*) seedlings under drought and copper stress. Maize seedlings grown under optimum conditions in the plant growth room were cut 2 cm above the surface after 25 ± 2 days and subjected to the following applications: 18 hours distilled water (C), 6 hours Ia + 12 hours distilled water (Ia), 6 hours distilled water+12 hour PEG (Ku), 6 hours distilled water+12 hours copper (Cu), 6 hours Ia+12 hours PEG (Ia+Ku) and 6 hours Ia+12 hours copper (Ia+Cu). After the application process, the samples were passed through liquid nitrogen and preserved for the experiments planned to be carried out at -20°C . The important stress parameters MDA, H_2O_2 , Proline, Phenolic substance, Photosynthetic Pigment, Copper and Relative Water contents were determined by HPLC and spectrophotometric methods. Besides these parameters, the activities of antioxidant enzymes SOD, GPX, CAT, and APX were investigated. The positive effects of alone-Ia on maize seedlings were determined. In maize seedlings under drought stress, it was determined that the substance Ia decreased the MDA, H_2O_2 , ABA content, increased the Proline, Chlorophyll, AsA, Carotenoid content and the Relative Water content did not change. In addition, it was determined that while GPX, CAT and APX enzyme activities decreased, SOD enzyme activity increased. In the application of the Ia substance to maize seedlings under copper stress, it was determined that the MDA, H_2O_2 , ABA and Corenoid content decreased and the Copper, Proline, Chlorophyll, AsA, SA and Relative Water content increased. In addition, while GPX, CAT and SOD enzyme activities decreased, APX enzyme activity increased. When all the findings are evaluated together, it is concluded that under 1 mM copper stress and 3% PEG drought stress, application of Ia substance at a concentration of 0,66 mM significantly alleviates the negative effects of stress on maize seedlings.

2021, 74 Pages

Key Words: Antioxidant system, acetone o- (4-chlorophenylsulfonyl) oxime, phenolic compounds, copper stress, drought stress

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitim ve öğretim süreci boyunca danışmanlığımı üstlenerek, her aşamada akademik bilgilerini, düşüncelerini, önerilerini ve deneyimlerini paylaşarak bana rehberlik eden değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Fuat YETİŞSİN'e, çalışmanın birçok noktasında eleştiri, öneri ve katkılarıyla desteklerini esirgemeyen Biyoloji ABD başkanımız Prof. Dr. Murad Aydın ŞANDA'ya, Ia maddesini sentezleyip kullanımımıza sunan Dr. Öğretim Üyesi Adem KORKMAZ'a, kurumsal işlemlerde yardımcı olan Fen Bilimleri Enstitüsü personellerine, bütün hayatım boyunca büyük bir sabır ve alaka ile beni destekledikleri için aileme, her zaman yanımda olan bana her konuda destek veren hayat arkadaşım Gökhan KARDEŞ'e ve sınıf arkadaşım Aslınur BÜYÜKÖZER'e en içten dileklerimle şükranlarımı arz ederim.

İnci KARDEŞ
MUŞ-2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1 Bitkilerde Stres ve Stres Çeşitleri	3
1.2 Bitkilerde Ağır Metal Stresi	4
1.2.1 Ağır metallerin bitkiler tarafından alınımı ve taşınması	5
1.2.2 Bitkilerde bakır stresi (Bakır toksitesi)	6
1.2.3 Bakırın kimyasal ve biyolojik özellikleri	7
1.2.4 Mısır bitkisinde bakır stresi.....	8
1.3 Kuraklık Stresi	9
1.3.1 Mısır bitkisi ve kuraklık	11
1.4 Bitkilerin Strese Karşı Geliştirdikleri Çeşitli Savunma Stratejileri	11
1.4.1 Bitkilerde oksidatif stres ve serbest oksijen türleri	12
1.4.2 Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşturan kaynaklar	13
1.4.2.1 Süperoksit radikali (O_2^-)	13
1.4.2.2 Singlet oksijen ($^1O_2$).....	13
1.4.2.3 Hidrojen peroksit (H_2O_2)	14
1.4.2.4 Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	15
1.4.3 Antioksidan sistemler.....	15
1.4.4 Enzimatik antioksidan sistemler	17
1.4.4.1 Süperoksit dismutaz (SOD).....	17
1.4.4.2 Katalaz (CAT).....	17
1.4.4.3 Askorbat peroksidaz (APX)	18
1.4.4.4 Glutasyon redüktaz (GR).....	18
1.4.4.5 Guaikol peroksidaz	19
1.4.4.6 Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR)	19
1.4.4.7 Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR)	19
1.4.5 Lipid peroksidasyonu	20
1.4.6 Antioksidan sistemin enzimatik olmayan bileşenleri.....	21
1.4.6.1 Glutasyon (GSH)	21
1.4.6.2 Askorbat (L-askorbik asit, C vitamini)	21
1.4.6.3 Karotenoidler (β -Karotin, A Vitamini)	22
1.4.6.4 α -Tokoferol (E vitamini).....	23
1.4.6.5 Prolin	23
1.5 Absisik Asit.....	24
1.6 Salisilik Asit.....	24

1.7 Fenolik Bileşikler	25
1.8 Mısır Bitkisinin Tarihi ve Genel Özellikleri	26
1.9 Aseton O-(4-Klorofenilsülfonil)Oksim (Ia) Maddesinin Özellikleri	28
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	30
3. MATERYAL ve YÖNTEM	35
3.1 Materyal	35
3.2 Yöntem.....	35
3.2.1 Aseton O-(4-Klorofenilsülfonil)oksim maddesinin en iyi konsantrasyonun belirlenmesi.....	37
3.2.2 Stres uygulaması	37
3.2.3 Lipid peroksidasyonun miktarı tayini	38
3.2.4 Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarı tayini	39
3.2.5 Prolin tayini	39
3.2.6 Fotosentetik pigmentlerin tayini	40
3.2.7 Yaprak su içeriği	40
3.2.8 Antioksidan enzim aktivitelerinin tayini	40
3.2.8.1 Enzimler için ekstrakt hazırlanması	40
3.2.8.2 Guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesinin tayini	41
3.2.8.3 Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini	41
3.2.8.4 Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini	41
3.2.8.5 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin tayini	41
3.2.9 HPLC ile fenolik madde içeriğinin belirlenmesi	42
3.2. Bakır içeriğinin belirlenmesi.....	42
3.3 İstatistiksel Analizler.....	42
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA	43
4.1 Stres Altındaki Mısır Fideleri Üzerine Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)Oksim Uygulamasının Stresi Parametreleri Üzerine Etkileri	43
4.1.1 Lipid peroksidasyonu üzerine etkisi.....	43
4.1.2 Hidrojen peroksit içeriği üzerine etkisi	43
4.1.3 Prolin içeriği üzerine etkisi	44
4.1.4 Fotosentetik pigment içerikleri üzerine etkisi	45
4.1.5 Nispi su içeriği (NSI) üzerine etkisi.....	46
4.1.6 Antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi.....	47
4.1.6.1 Guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesine etkisi	47
4.1.6.2 Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesine etkisi	48
4.1.6.3 Katalaz (CAT) aktivitesine etkisi.....	49
4.1.6.4 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkisi	50
4.1.7 Fenolik bileşik içerikleri üzerine etkisi	51
4.1.8 Bakır içeriğine etkisi	54
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	57
5.1 Sonuçlar.....	57
5.2 Öneriler	58
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	74

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

$\cdot\text{OH}$	: Hidroksil radikali
μl	: Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	: Bakır Sülfat
mM	: Milimolar
$\text{O}_2^{\cdot-}$	: Süper Oksit Radikali
OH^-	: Hidroksil

Kısaltmalar

ABA	: Absisik asit
APX	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
Ia	: Aseton O-(4-Klorofenilsülfonil)Oksim
KA	: Kuru ağırlık
NBT	: Nitro blue tetrazolium
PCs	: Fitoşelatinler
PEG	: Poli Etilen Glikol 6000
POD	: Peroksidaz
PS I	: Fotosistem I
PS II	: Fotosistem II
PVPP	: polivinil poliprolidon
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RWC	: Nispi su içeriği
SOD	: Süperoksit dismutaz
TA	: Taze ağırlık
TBA	: Tiyobarbütrik asit
TCA	: Trikloro asetik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Bakır elementinin görünümü	7
Şekil 2. Halliwell-Asada yolu (Askorbat-Glutatyon Döngüsü).....	22
Şekil 3. Mısır bitkisinin genel görünümü ve başlıca kısımları	27
Şekil 4. Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim maddesinin moleküler yapısı.....	29
Şekil 5. Mısır fide oluşumu.....	36
Şekil 6. Mısır fideleri kesildikten sonra, yaralanma stresini atlatması için bir saat süre ile saf.....	36
Şekil 7. Stres uygulanması ve Ia uygulanması ve belirlenen sürelerde bekletilmesi	38
Şekil 8. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).....	43
Şekil 9. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının hidrojen peroksit içeriği üzerine etkisi.	44
Şekil 10. Bakır stresi ve kuraklık stresi koşullarında Ia uygulamasının prolin içeriği üzerine etkisi	45
Şekil 11. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının fotosentetik pigment içeriği üzerine etkisi. Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).....	46
Şekil 12. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının nispi su içeriği üzerine etkisi.....	47
Şekil 13. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının GPX aktivitesi üzerine etkisi.....	48
Şekil 14. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının APX aktivitesi üzerine etkisi.....	49
Şekil 15. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının CAT aktivitesi üzerine etkisi.....	49
Şekil 16. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının SOD aktivitesi üzerine etkisi.....	50
Şekil 17. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının mısırdaki bakır içeriğine etkisi.....	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Stres ve stres faktörleri	4
Çizelge 2. Bakır elementinin bulunduğu yerler ve işlevleri verilmiştir.....	8
Çizelge 3. Genel olarak antioksidanların görevleri	16
Çizelge 4. Uygulama grupları (PEG: polietilen glikol)	37
Çizelge 5. Uygulama grupları (K: kontrol, Ia: Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim, Ku: kuraklık	37
Çizelge 6. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının fenolik bileşikler içeriği üzerine etkisi (µg/g).....	51



1. GİRİŞ

Küresel iklim değişikliği, sanayileşme ve artan insan nüfusundan dolayı yeterli besin kaynakları ve artan enerji ihtiyacı gibi sorunlar gelecek için büyük tehlike oluşturmaktadır. İnsanoğlu hayatını devam ettirebilmek için ihtiyaç duyduğu besin, hammadde ve enerji kaynağı olarak direk veya dolaylı olarak bitkisel ürünlere muhtaçtır. Bitkiler sadece insanlar için değil, bütün canlılar için yararlı organizmalardır. Yaşam için bu kadar önemli bir yere sahip olan bitkilerin yaşamı, gelişimi ve verimliliği çeşitli etmenlerden olumsuz etkilenmektedir. Bitkiler üzerine olumsuz etkileri olan stres etmenlerinin araştırılarak olumsuz etkilerinin en aza indirilmesi oldukça önem arz etmektedir. Olumsuz ekolojik şartlara uyum sağlamış bitkilerin belirlenmesi ya da bitkilerin direncini arttıracak uygulamaların yapılması oldukça önemlidir.

Olumsuz ekolojik şartların doğal bir sonucu olarak canlılar üzerinde oluşan ve canlı anatomisi ve fizyolojisi üzerinde olumsuz etkilere neden olan kuvvetler stres olarak tanımlanabilir. Bitkiler de diğer canlılar gibi yaşam süreleri boyunca adaptasyon eksikliğine bağlı olarak çeşitli stres faktörlerine maruz kalmaktadırlar. Bitki üzerinde ender olarak tek başlarına etki yapabilen stres faktörleri, genellikle etkilerini senkronize olarak gerçekleştirmektedirler (Kozlowski ve Pallardy, 2002). Bir ekosistemde bitkileri etkileyen çeşitli stres faktörleri bulunabilir. Stres faktörleri bitkilerin biyosentez işlevlerini olumsuz etkiler, normal fonksiyonlarını değiştirir hatta bitkinin ölümüne yol açabilecek zararlara neden olabilir. Stresin oluşturduğu etkiler aynı zamanda bitkilerin dağılışını da sınırlandırır (Taiz ve Zeiger, 2002). Bitkiler maruz kaldıkları streslerin olumsuz etkilerinden kaçınmak için tolerans mekanizmalarına sahip olduklarından, değişen çevresel şartlara farklı adaptasyon araçları ve savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Arora ve ark., 2002). Bitkilerin ekolojik koşullara uygun çeşitlerinin belirlenmesi, birim alana düşen bitkiden verim miktarının artırılması ve biyoteknolojik gelişmelerden faydalanıp bitki çeşitlerinin çevresel etkilere daha hızlı ve daha fazla adapte olmasını sağlamaya bağlıdır. Bundan dolayı bitkilerin strese karşı geliştirdikleri savunma ve tolerans mekanizmalarının araştırılıp belirlenmesi oldukça önemlidir (Büyük ve Aras, 2016). Stres faktörleri mekanizmalarının açıklanabilmesi için farklı stres kaynakları altında bitkinin verdiği fizyolojik reaksiyonlar, etki süreleri ve çeşitleri, dayanıklılık mekanizmaları, hücre ve gen düzeyindeki işlevleri, tepki süreçleri, bitkide

meydana gelen fizyolojik hasarın süresi ve kalıcılığının belirlenmesi daha verimli ürün elde edilmesi için önemlidir (Bayram, 2018).

Mısır besin kaynağı olarak önemli bir yere sahiptir. Gelişmekte olan dünyada, mısır üçüncü önemli besin kaynağıdır (Rosegrant ve ark., 2001). Ülkemizde gıda ürünü olarak geniş alanlarda mısır tarımı yapılmaktadır. Türkiye mısır ürünü bakımından ithalatçı statüdedir (Aydoğdu ve Altun, 2019). Mısır da tüm bitkiler gibi streslerden olumsuz etkilenmektedir. Mısır üzerine etkili olan stres faktörlerinin etkisinin azaltılması ve daha verimli mısır üretimi yapılması oldukça önemlidir.

Bitkilerin transpirasyonla (terleme) kaybettikleri suyun, çevreden alınan su miktarından fazla olması durumunda kuraklık stresi ortaya çıkmakta ve bu durum ürün kayıplarına neden olmaktadır (Çırak ve Esendal, 2006). Mısır bitkisi de kuraklık stresinden etkilenen bir bitkidir. Küresel çapta mısırın önemli bir besin kaynağı olmasından dolayı; kuraklık stresinin etkisini en aza indirmek ve verimi artırmak önem arz etmektedir.

Günümüzde, ekosistemlerin toprak, su ve hava gibi ortamlarında yaygın bir şekilde birikmeye başlayan ağır metaller, dünya yüzeyindeki tüm organizmaların yaşamını tehdit eden önemli bir çevre sorunu haline dönüşmüştür. Ekosistemde aşırı miktarda biriken ağır metaller; su ve gıda kalitesi üzerindeki etkileri nedeniyle insan sağlığını da tehdit etmektedir (Lim ve ark., 2008). Ağır metallerin çevreye yayılmasına neden olan etmenlerin başında endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların egzozları, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik faaliyetler, tarımda kullanılan gübre ve ilaçlar ile kentsel atıklar gelmektedir (Asri ve Sönmez, 2006). Toprakta gereğinden fazla biriken ağır metaller bitki için bir stres faktörüne dönüşmektedir. Dünyadaki birçok toprak bakır (Cu) kirlenmesine maruz kalmaktadır. Aşırı bakır, bitkinin strese girmesine neden olur ve bitkinin birçok yaşamsal fonksiyonunu inhibe eder (Yıldız, 2014).

Stres bitkinin veriminde düşüşe hatta ölümüne neden olabilir. Bitki büyümesini teşvik eden kimyasalların bitkilere uygulanması stres toleransını artırmak için kolay, düşük maliyetli, düşük riskli ve etkili bir yaklaşımdır (He ve Gao, 2009). Bu nedenle bitkilerde oluşan stresin olumsuz etkilerini hafifletmek için dışardan uygulanan maddelerin önemi gün geçtikçe artmaktadır.

Bu çalışmada, kuraklık stresi ve bakır (Cu) toksisitesinin mısır fidelerinde yarattığı etkiye karşın, Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim (**Ia**) maddesinin fizyolojik ve biyokimyasal bazı parametreler üzerinde stresin olumsuz etkileri üzerinde hafifletici etkilerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

1.1 Bitkilerde Stres ve Stres Çeşitleri

Bitkiler doğaları gereği yaşam süreleri boyunca büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyecek birçok stres faktörü ile karşılaşmaktadırlar. Çevre şartlarının bir bitkinin normal büyüme ve gelişme potansiyelini ters yönde etkileyecek kadar değişmesi durumunda, bitkide meydana gelen olumsuz duruma “stres” denir (Büyük ve ark., 2012). Stres aynı zamanda hasar oluşturma potansiyeli olarak tanımlanmaktadır (Kadioğlu, 2011). Bitkiler stresin etkisinden kurtulup yaşamlarına devam etmek için çeşitli savunma mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bitkilerin elverişsiz şartlara karşı hayatta kalabilme yeteneğine ise “stres direnci” denir (Levitt, 1980). Bitkiler doğal yaşamları boyunca stressiz bir ortamı çok az bulabilmektedirler.

Stres altındaki herhangi bir organizmada oluşan değişiklikler ve tepkiler; geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olabilir (Akgül ve ark., 2017). Stresin ortadan kalkması veya strese karşı direnç sağlanması durumunda, stres geri dönüşümlü olabilir. Ancak stres olayı geçici olarak meydana gelmişse bile, stresin uzun süre devam etmesi, şiddetini arttırması veya dayanıklılık sağlanamaması durumunda, gerilemeye başlamakta ve stres devam ettikçe, bu gerileme daha da ilerlemektedir. Bitki kapasitesinin sonuna ulaşıldığında, o ana kadar belirti göstermeden (latent) kalabilen tepkiler, kronik hastalığa veya geri dönüşümsüz bir tahribata yol açabilmektedir (Özcan ve ark., 2004). Bu durum bitkinin ürün kalitesini, biyokütlesini olumsuz yönde etkiler. Stresle ilgili yapılan çalışmaların iki nedeni vardır; bitkinin yaşama şansını artırmak ve ürün verimini artırmak. Bu nedenle bitkilerin strese karşı direnç mekanizmalarının öğrenilmesi ve tarımsal alanlarda stres altındaki bitkilerin streslere dayanma kapasitesinin belirlenmesi önemlidir.

Stres faktörleri sınıflandırıldığında doğal bir stres faktörü olan kuraklık stresi % 26’lık oranla en büyük paya sahiptir. Bunu % 20 ile mineral stresi ve % 15 ile soğuk ve don stresi takip etmektedir. Bunların dışında kalan diğer tüm stresler % 29’luk bir pay alırken, yalnızca bitkilerin % 10’luk bir kısım herhangi bir stres faktörüne maruz kalmamaktadır (Blum ve Jordan, 1986). Kuraklık stresi ve mineral stresi bu kadar büyük paya sahip olmasından dolayı derinlemesine araştırılmayı hak etmektedir.

Toprakta aşırı biriken bakır bitki dokularında reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olmaktadır. ROS, süperoksit, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleridir. Ayrıca, bitkiler oksidatif stresi antioksidan sistem ile azaltabilirler (Tie ve ark., 2012). Hücrel hasara neden olan

ROS'ların süpürülmesi, antioksidan sistemin enzimatik bileşenleri olan peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), süperoksit dismutaz (SOD) enzimler ve non-enzimatik molekülleri olan glutatyon (GSH), askorbik asit ve karotenoidler gibi antioksidan bileşikler sayesinde gerçekleştirilebilmektedir (Zhang ve Kirkham, 1996).

Bitkilerin maruz kaldığı başlıca stres faktörleri, biyotik ve abiyotik (Çizelge 1) olmak üzere iki kısma ayrılabilir (Hale ve Orcutt, 1987).

Çizelge 1. Stres ve stres faktörleri (Maheswari, 2012)

STRES ÇEŞİTLERİ	
Biyotik Stres	Abiyotik Stres
Fungi	Kuraklık
Bakteri	Tuzluluk
Parazit	Yüksek Ve Düşük Sıcaklık
Virüs	Ağır Metal Stresi
Böcek	Oksidatif Stres
Patojen	Besin Stresi

Bütün bu stres faktörleri bitkiler için bir tehlikedir ve dünya çapında ürün kalitesini ve verimini azaltır. Dünya genelinde bitkisel üretimde ürün kaybının başlıca nedeni abiyotik strestir ve önemli tarımsal ürünlerin ortalama üretimini yaklaşık %50 azaltarak tarım geleceğini tehdit etmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Bitkisel üretimde ürün kaybı kalite düşüşü tarımsal ürünlerinin aşırı pahalı olmasına neden olmaktadır. Dünya üzerinde toprakların yaklaşık %12'si tarıma elverişlidir (Bidwell, 1974). Türkiye'de ise TÜİK'in verilerine göre: Türkiye toprak büyüklüğünün yaklaşık olarak yüzde 31.1'ini tarım alanları oluşturmakla birlikte tarımsal toprak alanı çeşitli nedenlerle git gide azalmaktadır.

1.2 Bitkilerde Ağır Metal Stresi

Ekosistemi bozan bir unsur da ağır metallerdir. Ekosistemlerde biriken ağır metallere; su ve gıda kalitesi üzerindeki etkileri nedeniyle insan sağlığını tehdit etmektedir (Lim ve ark., 2008).

Toprak kirliliğine sebep olan faktörlerin, temizlenmesi zor, kimi zaman da mümkün olmayabilmektedir. Bilinçsizce yapılan ilaçlama, gübreleme ve sulama, kaliteli ve birinci sınıf toprakların yerleşim alanları ve çeşitli endüstri kuruluşları için kullanıma

açılması, tarımsal toprakların her geçen gün daha fazla kirlenmesine ve daralmasına neden olmaktadır (Ayhan ve ark., 2005). Toprak kirliliğinin değerlendirilmesi ve toprakta yeteri miktarda iz metal seviyeleri için kabul edilebilir standartların benimsenmesi, toprağın ekolojik fonksiyonunun korunması ve sürdürülebilir tarım için oldukça önemlidir (Kabata-Pendias, 1995).

Ağır metaller atomik yoğunluğu 5 g/cm^3 'den büyük olan metal ve metaloidler grubu için kullanılan genel bir isimdir. Ağır metal stresi her geçen gün daha önemli ve tehlikeli hale gelmektedir (Redondo-Gómez, 2013). Aşırı ağır metal stresi bitkilerde gözle görülebilir ve ölçülebilir (morfolojik değişiklikler) düzeyde değişiklikler meydana getirir. Ancak bu değişikliklerin yanı sıra ortaya çıkan daha birçok değişikliğin belirlenmesi için biyokimyasal analizler gerektirmektedir (Köseoğlu, 2019).

Bitkilerin yaşamları ve gelişmeleri için önemli yere sahip olan kobalt, mangan, demir, çinko krom, kadmiyum, selenyum, arsenik, nikel ve bakır gibi mikro metal elementler, bitkinin büyüme ortamında eser miktarda bulunması gereken elementlerdir. Bu elementlerin bitkinin ihtiyacından fazla olması toksik etkiye neden olmaktadır. Bu elementler hayati öneme sahip olan enzimlerin çalışmalarını yavaşlatıp ya da durdurabilir. ETS'de elektronların aktarımında devreye girerek solunumu ve fotosentezi olumsuz yönde etkileyerek bitkiye ciddi zarar vermektedirler (Redondo-Gómez, 2013).

Kuvvetli metal bağlayıcı sentetik kimyasallar Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ve Etilen diamin disüksinik asit (EDDS) gibi), metallerin çözünürlüğünü arttırmakta ve metallerin bitkiler tarafından alınımını kolaylaştırmaktadırlar (Luo ve ark., 2005). Bitki kökünün ihtiyaç duyduğu eser metalleri alma kapasitesi, topraktaki süreçlere bağlıdır (Kabata-Pendias, 1995).

1.2.1 Ağır metallerin bitkiler tarafından alınımı ve taşınması

Bilindiği üzere toprak negatif (-) yüklüdür. Topraktaki mikro elementler ise pozitif (+) yüklüdür. Toprak bu elementleri kendi bünyesinde tutarken bitkinin bu elementleri topraktan koparması için bir yöntem kullanması gerekir. Şelatma denilen yöntemin kullanan bitkiler bu yöntemle kullanılamaz haldeki mikro elementleri yararlı hala dönüştürerek kökler yardımıyla bünyesine alır. Bitki, metal elementini almak için ilk olarak şelatlandırıcı molekülleri (fitosiderofor) rizosfere salar. Bunun amacı toprağa bağlı olan metalleri topraktan koparmaktır (Kinnersley, 1993; Yetişsin, 2015).

Kökler spesifik plazma membranına bağlı metal redüktazlar ile metal iyonlarını azaltabilirler. Bitki kökleri saldıkları protonlar ile toprak ortamını asitleştirerek ağır

metalleri çözebilirler. Düşük pH, toprak içindeki bağlı metal iyonlarının serbest kalmasına neden olur. Kök içine hücre içi sıvılarla ya da hücre dışı yollarla giren metal iyonları spesifik veya genel iyon taşıyıcıları vasıtasıyla ya da kanallarla bitki hücrelerine girerler (Clarkson ve Lüttge, 1989). Rizosferdeki ağır metallerin alımını etkileyen faktörler; alınan minarellerin özellikleri, şelatlayan molekülün aktivitesi, toprağın pH, kation değişim kapasitesi, organik bileşiklerin konsantrasyonu ve mikroorganizma aktivitesidir (Ghosh ve Singh, 2005).

Bitki tarafından alınan metal iyonları köke girdiğinde ya kökte biriktirilirler ya da sürgünlere taşınırlar. Sürgünlere metal taşınımı ksilem veya floem yoluyla gerçekleşebilir (Stephan ve Scholz, 1993).

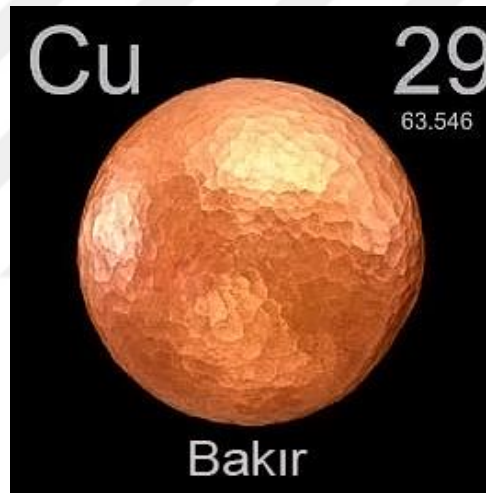
1.2.2 Bitkilerde bakır stresi (Bakır toksitesi)

Bakır sahip olduğu özelliklerden dolayı; bitki büyümesinde ve çeşitli biyokimyasal işlevlerde yer almasına rağmen aşırı miktarlarda bakır toksik etkiler yapan bir ağır metaldir ve bitki dokularında aşırı biriktiği zaman çeşitli anatomik değişimlere yol açmaktadır. Bakır kirliliği, insan aktivitesi sonucu oluşan emisyon ve atmosferik depositler, pestisid kullanımı, kanalizasyon atıklarının gübre olarak değerlendirilmesi, kömür ve maden yataklarından kaynaklanmaktadır. Toprakta 100 mg/kg, bitki kuru maddesinde ise 15-30 mg/kg'dan fazla bakır ($\text{Cu } 8.9 \text{ g/cm}^3$) toksisiteye neden olur (Alaoui-Sossé ve ark., 2004). Çimlenmenin gerilemesi (Munzuroglu ve Geckil, 2002) ve kök, gövde büyümesinin gerilemesi (Johansson ve ark., 2005), hormonal dengenin bozulması (Hunter ve Welkie, 1977), protein metabolizması ve enzim inaktivasyonuna (Cuypers ve ark., 2005; Xiong ve ark., 2006), fotosentetik fonksiyonların yavaşlaması veya inhibe olması (Frankart ve ark., 2002; Mocquot ve ark., 1996), solunumun inhibe olması, membran bütünlüğünün bozulması (Morelli ve Scarano, 2004; Sgherri ve ark., 2007) gibi fizyolojik değişimlere neden olmaktadır (Guzel ve Terzi, 2013). Metallerin aynı zamanda mitokondri zarlarında, elektron transport sisteminde, adenin nukleotit ve fosfat transportunda da olumsuz etki yaptığı gösterilmiştir. Aşırı bakıra maruz kalan bitkilerde görülen bulgular bütün türlerde aynı şekilde belirgin değildir. Bakır iyonları lipid peroksidasyonuna dolayısıyla membranların parçalanmasına, işlevinin bozulmasına yol açarak bitkilerde klorozise neden olmaktadır (Keller ve Hammer, 2004). Bazı durumlarda bitki tarafından alınan bazı metaller birbirinin alımını azaltıp arttırabilirler (He ve ark., 2005). Bakırın bitkilerde demir alımına engel olması buna örnek olarak verilebilir (Ouzounidou ve Constantinidou, 1999). Aşırı bakır toksisitesi, yaprakların

sararak ölümüne neden olur yani nekrozise neden olur (Yau ve ark., 1991). Bakırın topraktan alınma hızı bitkinin terleme ile kaybettiği ve köklerden alınan su miktarıyla orantılıdır (Nellessen ve Fletcher, 1993; Tani ve Barrington, 2005). Bakır elementi yüksek konsantrasyonlarda bitkilerin ağır oksidatif strese girmesine neden olur (Madejón ve ark., 2009). Dünyada en çok yetiştirilen tarım ürünlerden biri olan mısırın (*Zea mays L.*) bakır toksisitesine duyarlı bir bitkidir (Pourakbar ve ark., 2007).

1.2.3 Bakırın kimyasal ve biyolojik özellikleri

Bakır elementi insanlığın ilk tanıştığı elementlerdendir. İlk kez Mısırlılar tarafından üretilen bakır, M.Ö. 3000 yılından itibaren (Bronz Çağı) Anadolu, Yunanistan ve Hindistan'da mekanik özellikleri alaşımlandırma yolu ile kullanılmıştır ve adını ilk bulunduğu ve çokça çıkarıldığı yer olan Kıbrıs'ın Latincesinden (aes cyprium = Kıbrıs cevheri, cyprium ve daha sonra cuprum) almıştır.



Şekil 1. Bakır elementinin görünümü

Normal şartlarda gri renge bulunmayan kırmızı ve kahverengi görünümündedir (Şekil 1). Doğada 200'den fazla bakır minerali bulunmakla beraber sadece 20 tanesi bakır cevheri olarak endüstriyel öneme sahiptir. Ülkemiz bakır üretiminde % 50'lik paya sahiptir. Bakır hem prokaryot hem de ökaryotlardaki metabolik faaliyetler için gereklidir. (Habashi, 1997). Atom numarası 29, moleküler ağırlığı $63.546 \text{ g.mol}^{-1}$ olan bakır, periyodik çizelgenin IB serisinde yer alan bir transisyon (geçiş) elementidir. Doğal ortamda kayalarda, toprakta, suda ve havada bulunmaktadır. Doğada yüklü halde az olarak bulunur, genelde oksitli ve sülfürlü kompleks formlarda bulunmaktadır. Toprakta en fazla Cu (I) ve Cu (II) olmak üzere iki

formu bulunan bakırın kirlenmemiş topraklardaki konsantrasyonu yaklaşık 10^{-6} - 10^{-7} M düzeylerindedir (Kabata-Pendias, 1995; Nriagu ve Pacyna, 1988).

Bakır birçok enzimin aktivitesi için gereklidir. Bakır demirle beraber sitokrom oksidaz enziminin aktivitesinde rol alır. Burada görevi Cu^{+1} ve Cu^{+2} haline geçerek elektronu oksijene taşır. Feniloksidaz, katalaz ve askorbat oksidaz enzimlerinin yapısına katılır. Bitkiler tarafından bakırın topraktan alınması ve diğer canlılar tarafından kullanılabilirliği, yüksek bağlanma affinitesi gösterdiği etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), sitrik asit ve fenolik asitler gibi organik moleküllere bağlanarak çözünürlüğünü arttırmasına bağlıdır. Çizelge 2’de bakır elementinin hücrede bulunduğu yerler ve işlevleri verilmiştir.

Çizelge 2. Bakır elementinin bulunduğu yerler ve işlevleri verilmiştir (Eryılmaz, 2007)

Adı	Bulunduğu yer	İşlevi
Plastosiyenin	Kloroplast	Elektron transferi
Süperoksit dismutaz (Cu-Zn SOD)	Mitokondri ve Glioksizomlar Kloroplast	Süperoksit radikalının detoksifikasyonu Lipit peroksidazsonu
Sitokrom oksidaz	Mitokondri	Elektron trasnport zincirinin terminal oksidasyonu
Askorbat oksidaz	Hücre çeperi	Askorbik asittin oksidasyonu /redüksiyonu, Hücre büyümesi ve bitki savunması
Diamin oksidaz	Epidermis, Ksilem, Doku apoplazması,	Poliamin yıkımı
Fenol oksidaz	Hücre çeperi ve Kloroplastlar	lignifikasyonu-Suberizasyon Lignin ve alkaloid biyosentezi Plastosiyenin

1.2.4 Mısır bitkisinde bakır stresi

Yüksek Cu seviyesine maruz kalan mısır çeşitlerinde kuru ağırlıkta (Mocquot ve ark., 1996), klorofil ve karotenoid içeriğinde (Tanyolac ve ark., 2007) ve fotosentetik oranda azalma olduğu bildirilmiştir (Yetişsin, 2015). Cu toksisitesine maruz bırakılan mısır bitkisinin kök dokularında stresin bir sonucu olarak bilinen hidrojen peroksit miktarının arttığı görülmüştür. Salisilik asit uygulanan mısır bitkisinin kök dokularında ise Cu stresine bağlı hidrojen peroksit miktarının düştüğü gözlenmiştir (Waligarski ve ark., 2017). Mısır bitkisinin Cu stresinin üstesinde gelmek için bazı mekanizmalar geliştirdiği yapılan çeşitli araştırmalarda görülmüştür.

1.3 Kuraklık Stresi

Bitkilerin transpirasyonla (terleme) kaybettikleri suyun, çevreden alınan su miktarından fazla olması durumunda kuraklık stresi ortaya çıkmaktadır. Eğer toprakta yeteri kadar su varsa bitki su ihtiyacını karşılar yoksa bitki su alamaz ve bitkisel dokular arasında, suyun alınması için rekabet başlamaktadır. Bitki su eksikliği için tolerans geliştirmezse strese girer ve bitkinin yaşamsal faaliyetleri bozulur. Terlemeyi yüksek sıcaklık, düşük nem ve fırtına gibi faktörler arttırmaktadır. Bitkinin bütün metabolik faaliyetleri su ortamında gerçekleşir. Bitkide kuraklığın görülmesi bitkideki işlevlerin bozulmasına ve bitki metabolizmasında strese neden olmaktadır. Kuraklık stresi bitkide bir potansiyel gerilim meydana getirir. Söz konusu potansiyel gerilim bitkide, önce geriye dönüşümlü, fiziksel ve kimyasal değişmelere neden olur. Buna elastik gerilim denir. Çünkü stres etkisi ortadan kalkınca potansiyel gerilimde ortadan kalkar. Ancak stresin uzun süre devam etmesi ve şiddetini arttırması bitkilerde geriye dönüşümsüz etkilere neden olmaktadır. Buna plastik gerilim denir (Çırak ve Esendal, 2006). Kuraklıkla karşı karşıya kalan bitki hayatta kalmak için vegetatif dokularda su alımına karşı bitki savunma mekanizmalarını harekete geçirir. Bunlar; stresten kaçınma ve stres toleransıdır (Levitt, 1980). Kaçınma, toprakta ciddi boyutlarda su noksanlığı oluşmadan bitkinin yaşama kabiliyetidir. Kuraklıktan kaçınma özelliğinde olan bitkiler hızlı büyümeleri ve gelişmelerini düzenlemelerinden dolayı kurak çevrelerde canlı kalabilmektedirler. Örneğin çöl efemerleri kurak mevsimlerde dormant tohumlar halinde kalarak kuraklıktan kaçınan bir yıllık bitkilerdir. Böyle bitkilere efemeral bitkiler denir. Bu bitkiler toprak nemi tükenmeden önce erken olgunlaşmaya giderek az miktarda tohum oluşturur (Salisbury ve Ross, 1992). Stres toleransı, bitkinin yaşamı için uygun olmayan ortam şartlarına bitkinin göstermiş olduğu dirençtir. Streten kaçınan bitkiler yalnızca orta şiddetteki su stresi durumunda hayatta kalırken strese toleranslı bitki grupları ise koruyucu mekanizmalarını çalıştırmak suretiyle çok daha şiddetli kuraklık stresi durumunda hayatta kalabilirler (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Stres karşısında bütün bitkiler benzer toleransı göstermezler. Bitkilerin kuraklığa toleransı bitkinin enzim aktivitesine ve membran yapısına bağlıdır (Turner, 1986).

Bitkiler, ROS seviyesini kontrol altında tutabilmek ve ROS sonucunda oluşacak oksidatif hasardan kendilerini koruyabilmek amacıyla oldukça kompleks bir antioksidan savunma mekanizması geliştirmişlerdir. Bitkilerin geliştirdikleri bu mekanizma önemli

bir tolerans mekanizmasıdır (Cramer ve ark., 2011; Gill ve Tuteja, 2010; Wang ve ark., 2003).

Kuraklık genel olarak su noksanlığı ve kuruma olarak ikiye ayrılır. Su noksanlığı, stomalarda kapanmaya ve gaz değişiminde kısıtlamaya neden olan orta düzeydeki su kaybıdır. Oransal su kapsamının yaklaşık % 70'te kaldığı hafif su noksanlığına maruz kalan bitkilerde stomaların kapanmasına bağlı olarak CO₂ alımı kısıtlanmaktadır. Kuruma, metabolizma ve hücre yapısının tamamen bozulmasına ve sonunda enzimle katalizlenen reaksiyonların durmasına neden olabilecek potansiyele sahip olan aşırı miktardaki su kaybı olarak tanımlanabilir. Genel bir kural olarak, kurumaya duyarlı vasküler bitkilerin çoğunda vejetatif doku, % 30'un altındaki su oranlarında iyileşme sürecine giremez (Smirnov, 1993).

Kuraklık stresi büyümeyi ve verimi etkileyen en yaygın çevresel streslerden biri olup bitkilerde birçok fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevabı indüklemekte ve buna bağlı olarak bitkiler, sınırlı çevresel koşullara adapte olmayı sağlayacak tolerans mekanizmaları geliştirebilmektedirler (Arora ve ark., 2002).

Kuraklık stresine maruz kalan bitkiler antioksidan savunma sistemlerinin bazılarının ya da tamamının aktivasyonu ile oksidatif stresin üstesinden gelebilirler. Bununla beraber, uzun süreli ve akut; hatta bazen kısa süreli stres durumunda bile, savunma mekanizmalarının kapasiteleri aşılar ve bu durum, gözle görülür zararlara hatta bitki ölümüne neden olabilir (Kalefetoğlu ve Ekmekci, 2005).

Kuraklık stresinin bitkiler üzerindeki etkileri görünür ve görünmez belirtiler olarak sınıflandırılır (Doğru ve Bayram, 2016). Görünür belirtiler; bitkinin normalinden küçük olması (Fischer ve Wood, 1979), yaprak sayısında ve kütlesinde azalma, erken olgunlaşmaya (Karamanos ve Papatheohari, 1999) bağlı olarak tohum sayısında azalma, kök boyunun azalması ya da artması, kök-gövde oranında artış (Cattivelli ve ark., 2008) ve yaprak kıvrılması (Terzi ve Kadioglu, 2006) gibi belirtilerdir. Görünmez belirtiler ise (fizyolojik yanıtlar), kuraklık sinyallerinin alınması, turgor kaybı, ozmotik düzenleme, yaprak su potansiyelinde, stomatal iletkenlikte, içsel CO₂ konsantrasyonunda, net fotosentezde ve büyüme oranında azalmayı kapsar. Kuraklığa maruz kalan bitki hayatta kalmak için erken yanıtlar oluşturur. Prolin ve glisin betain gibi belirli metabolitlerin birikimi yoluyla dehidrasyona direnç geliştirilerek yapısal bütünlüğün korunmasında ve bitkinin işlevselliğinin sürdürülmesinde etkilidir (Pinhero ve Paliyath, 2001). Toplam mevsimsel evapotranspirasyon ve dolayısıyla verimin azalmasına yol açan uzun süreli stomatal kapanma, CO₂ derişiminde sınırlama ve

rubisco aktivitesindeki azalma nedeniyle fotosentez oranını azaltmaktadır (Pinheiro ve ark., 2004).

1.3.1 Mısır bitkisi ve kuraklık

Kuraklık stresi, tüm dünyada mısır verimi ve kalitesini olumsuz şekilde etkileyen en önemli abiotik streslerin başında gelmektedir. Su kaynaklarının azalması ve yüksek sıcaklıkla kombine halinde kuraklık, ülkemizin mısır üretimini ve kalitesini olumsuz bir şekilde etkilemektedir (Erdal, 2014). Mısır tarımı su olmadan düşünülemez. Mısır, toplam kuru madde üretimi açısından verimli bir su kullanıcısıdır ve tahıllar arasında potansiyel olarak en yüksek verimli tahıl ürünüdür. Maksimum üretim için orta olgunluktaki bir tahıl ürünü, iklime bağlı olarak 500 ila 800 mm arasında suya ihtiyaç duymaktadır. Mısır bitkisi için en kritik dönem, tepe püskülü çıkışının hemen öncesi ile koçan püskülü çıkarma arasında geçen 10 günlük periyottur. Bu zamanda mısırın kuraklığa maruz kalması bitkide önemli verim kaybına neden olur (Babaoğlu, 2017).

Mısırdaki kuraklığın etkileri;

1. Kuraklık altında mısır bitkisinin yaprakları yanık durumuna gelir ve ölür.
2. Kuraklık devam ettikçe genç yapraklar ölür ve tepe püskülü zarar görerek görevlerini kaybeder.
3. Bitkide buruşma ve solma meydana gelir.
4. Bitki tepe püskülü oluşmadan önce kuraklığa maruz kalmışsa bitkinin boyu kısa kalır. Bu durumda bitki sonradan ihtiyacı kadar su alırsa boy kısalması verim kaybına neden olmaz.
5. Tozlanma döneminde kuraklığa maruz kalan mısır tane bağlama oranı düşer. Polenler dışarı çıkmaz, polenler ölebilir, koçan püskülü polenleri kabul etmez böylece tohum oluşmaz ya da verimsiz tohumlar oluşur.

Mısır için çiçeklenme döneminde toprak neminin azlığı tepe püskülü için hızlandırıcı bir etmendir, ancak koçan püskülünün çıkışını olumsuz etkiler (adana.tarim.gov.tr, 2019).

1.4 Bitkilerin Strese Karşı Geliştirdikleri Çeşitli Savunma Stratejileri

Bitkiler stresin neden olduğu toksik radikalleri temizlemek ve kendilerini oksidatif zarardan korumak için moleküler savunma mekanizmalarına sahiptirler. Bu savunma sistemleri savunma sistemleridir, iki tür (enzimatik ve enzimatik olmayan)

antioksidan savunma sistemleri vardır. Antioksidan enzimler: Süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT) ve glutatyon redüktaz (GR) ve enzimatik olmayıp: membran ile ilişkili antioksidanlar (α -tokoferol, β -karoten) ve suda çözünen indirgeyiciler (glutatyon, askorbat) içeren düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar olarak bilinmektedir (Sarma, 2011; Zaimoglu ve ark., 2011). Kuraklık sırasında bitkilerde iyon içerikleri ile ilgili farklı savunma sistemlerinin olduğu belirlenmiştir (Daşgan ve ark., 2006). Stres sırasında hormonal sistemlerde farklılıklar meydana gelerek antioksidan sistemde yer alırlar (Shinozaki ve Yamaguchi-Shinozaki, 2007).

1.4.1 Bitkilerde oksidatif stres ve serbest oksijen türleri

Reaktif oksijen türleri yüksek enerjiye sahip moleküllerdir. Bu bileşenler biyolojik sistemlerdeki metabolizmada yer alan yapısal moleküller (proteinler, lipidleri, nükleik asitleri gibi) ile kimyasal reaksiyona girerek işlevlerini bozar bu maddelerin aktif yapılarını kaybetmelerine sebep olur. Bu etkilerinden dolayı bunlara reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS) denir (Halliwell, 1996; Stadtman, 2002).

Bitkilerin ağır metal toksisitesi oksidatif strese neden olmaktadır. Oksidatif stres sonucu meydana gelen $\bullet\text{O}_2$, H_2O_2 ve $\bullet\text{OH}$ gibi reaktif oksijen türleri (ROS), yüksek düzeyde ağır metallerle maruz kalan bitkilerin oluşturduğu ilk cevaplardır (Mithöfer ve ark., 2004). Serbest radikaller, hücrelerde içsel ve dışsal nedenlerden kaynaklı olarak eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve bağlanma potansiyeli yüksek moleküller olarak tanımlanırlar (Eltner, 1982).

Kuraklığın bitkilerde neden olduğu oksidatif etki, oksijenin reaktif oksijen türleri oluşturarak, canlının makromoleküllerinde dönüşümsüz hasar meydana getirmesi diye tanımlanmaktadır (Çavdar ve ark., 1997). Suyun kısıtlı olduğu dönemlerde, vejetatif bitki dokularında oksidatif stresin en yaygın nedeni kloroplastta gerçekleşen ışık-klorofil etkileşimleri olarak düşünülmektedir (Farrant, 2000). Kuraklık altındaki bitki daha fazla su kaybetmemek için, genelde, stomalarını kapatır; bu da fotosentezle fiksasyon için gerekli CO_2 'nin alımının kısıtlanmasına neden olur. Bu durum; kuantum verimini azaltır ve fotosentetik aparatın reaksiyon merkezlerindeki uyarma (eksitasyon) enerjisinin aşırılığına neden olur (Stuhlfauth ve ark., 1990). NADP^+ (fotosentezdeki e-akseptörü) kısıtlı hale gelir ve ferrodoksin NADP^+ yerine oksijeni bağlayarak fotosistem I (PSI)'in elektronları O_2 'ye transferi sonucunda reaktif O_2^- radikali üretilir (Mehler reaksiyonu) (Tambussi ve ark., 2000). Birçok bitki türünde kuraklık stresi altında artan

O_2^- yağların yükseltgenmesiyle yağ asidi doygunluğuna ve sonuçta membranların bütünüyle zarar görmesine neden olur (Sgherri ve ark., 1996).

Bu radikallerin yarılanma ömürleri birkaç mili saniye ile dakikalar hatta saatler arasında değişebilmektedir. Reaktif oksijen türleri (ROS) eşlenmemiş elektron taşıyıp taşıyamamalarına göre gruplandırılırlar (Çavdar ve ark., 1997).

1.4.2 Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşturan kaynaklar

1.4.2.1 Süperoksit radikali (O_2^-)

Süperoksit radikali oksijene bir elektronun aktarılması sonucu oluşur. Bu reaksiyon çeşitli organellerde enzimler vasıtasıyla meydana gelebilir. Moleküler oksijenin, oksidatif fosforilasyon esnasında NADPH-oksidaz veya ksantin-oksidaz gibi enzimlerin katalizörlüğünde süperoksit radikali meydana gelir. Oldukça reaktif moleküldür. Süperoksit radikalının yarılanma ömrü hücrelerin farklı yerlerinde bulunan süperoksit dismutaz enziminin varlığına bağlıdır (Stahl ve Sies, 2002). Şu yollarla üretilmektedirler: İndirgeyici özellikteki moleküler oksitlenirken oksijene tek elektron verirken, flavinler, tiyoller gibi indirgenmiş nükleotitler aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit oluşur (Corpas ve ark., 2001). Plazma membranlarında da süperoksit üreten NAD(P)H oksidaz enziminin varlığı belirlenmiştir (Vianello ve Macri, 1991). Ayrıca süperoksit enzimatik olmayan reaksiyonlarla, örneğin kloroplast, mitokondri ve plazma membranındaki elektron transport sisteminin yeterince düşük redoks potansiyeline sahip bileşenleri ve ferrodoksin tarafından da üretilir. Kloroplastlarda PS I ve PS II tarafından süperoksitin üretildiği belirlenmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin etkisiyle dismutasyona girerek derişimi azalır ve bu tepkime dismutasyon tepkimesi olarak adlandırılır. Biyokimyasal tepkimelerde yağların ve diğer bileşenlerin oksidasyonuna sebep olur (Fridovich, 1995; Halliwell, 1984). Oldukça reaktif olan bu radikalın; lipid peroksidasyonu, hücrel toksisite, membran hasarı ve DNA'daki tek zincir kırıklarıyla alakalı olduğu belirtilmektedir (Yetişsin, 2015).

1.4.2.2 Singlet oksijen ($^1O_2$)

Moleküler oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen, fotosentez reaksiyonu sırasında meydana gelir. Molekül, oksijenin yüksek

enerji ile uyarılmış formudur. Radikal değildir çünkü ortaklaşmamış elektron çifti bulunmaz, ancak yüksek ölçüde reaktiftir (Akkuş, 1995). Bitkilerde $^1\text{O}_2$ 'nin başlıca kaynağı fotosentetik elektron transport sistemindeki klorofil pigmentleridir (Hallwell ve Gutteridge, 1989). Pigmentlerin oksijen varlığında ışığı absorblamasıyla, $-\text{O}_2$ 'nin dismutasyon tepkimesi sırasında, hidroperoksitlerin metal tepkimelerinde oluşur (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Singlet oksijenin DNA, protein ve lipid gibi biyolojik moleküller ile reaksiyona girdiği bilinmektedir (Ekici ve Sağdıç, 2008). Singlet oksijenin yarılanma ömrü 10^{-6} ile 10^{-5} saniye arasında olup karbon-karbon bağları ile tepkimeye girme eğilimi yüksektir (Stahl ve Sies, 2002). Singlet oksijen yine moleküller oksijene dönüşmek için aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi olarak verebilirler.

1.4.2.3 Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit biyolojik sistemlerde oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya enzimatik olmayan SOD katalizli dismutasyon tepkimeleri sonucu oluşur. Süperoksitin oluştuğu yerlerde önemli miktarda H_2O_2 'de üretilir. Eşleşmemiş elektron içermediği için radikal değildir, ancak biyolojik membranları geçerek hücrelerin arasına veya içine kolayca difüze olabilir ve uzun ömürlü bir oksidandır. Bakır ve demir gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalının öncülü olarak davranır bundan dolayı oksitleyici bir türdür. Fotosentetik elektron transport zinciri H_2O_2 'nin üretiminden sorumludur. H_2O_2 bir radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri (ROS) içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Çünkü geçiş metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu sonucu; süperoksit radikali varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve daha çok hasar verici olan hidroksil radikale geçer. H_2O_2 özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Demirle tepkimeleri oldukça hızlıdır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliğinden dolayı biyolojik sistemlerden hidrojen peroksidin uzaklaşması gereklidir. Antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz oluşan H_2O_2 'sistemden uzaklaştırır Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz yerine getirir (Halliwell, 1984; Halliwell ve ark., 2000; Slesak ve ark., 2007).

1.4.2.4 Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$)

Hidroksil radikali, en aktif ve en toksik oksijen radikali olup bulunduğu her yerde birçok molekül ile reaksiyon verir. Hidroksil radikali, su moleküllerinin homolitik kırılması ve biyolojik sistemlerde üretilen hidroksil radikalının ($\cdot\text{OH}$) önemli bir kısmı canlılarda hidrojen peroksitin tam indirgenmemesi sonucu gerçekleşmektedir. Hidrojen peroksit molekülünün indirgenmemesi sonucunda olduğu gibi hidrojen peroksit molekülünün metaller ile reaksiyonu sonucunda eksik indirgenmesi ile de oluşabilir. Hidroksil radikali geçiş metalleri varlığında H_2O_2 'nin indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) ile katalizlenir (Sigel ve Sigel, 1999; Stahl ve Sies, 2002). Biyolojik sistemlerdeki en çok hasar verici radikal türüdür. Kısa ömürlü olduğu halde su dahi karşılaştığı bütün biyolojik tepkimelere girerek büyük hasarlara yol açar. Elektronca zengin molekülleri özellikle hedef alır (Akkuş, 1995; Halliwell ve Gutteridge, 1990). Paylaşmamış elektron çiftinden kaynaklanmaktadır. Hidroksil radikalının sebep olduğu en önemli hasar, lipid peroksidasyonudur böylece hücre zarının bozulmasına ve hücre ölümüne neden olur (Nishiyama ve ark., 1998).

1.4.3 Antioksidan sistemler

Antioksidan terimi, zararlı bir hale dönüşmeksizin reaktif oksijen türleri (ROS)'ni temizleyebilen bileşikler için kullanılmaktadır. Bitki dokuları stres koşullarında hücreleri ROS etkisinden korumak için savunma mekanizması geliştirirler. Abiyotik ve biyotik stres koşullarında etkinliği artan ROS, antioksidan genlerin ekspresyonunu aktive ederek hücrel savunma sistemini uyarmaktadır (Dixon ve Paiva, 1995). (Greene, 2002). Bu mekanizmalar “antioksidan savunma sistemleridir” (Çizelge 3). Antioksidanlar; enzimatik olmayan antioksidanlar (C vitamini, E vitamini, karotenoidler gibi), antioksidan enzimler ise (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz) olarak sınıflandırılabilir (Jung, 2004; Pinheiro ve ark., 2004; Reddy ve ark., 2004; Srivalli ve ark., 2003). Stresle ilgili çalışmalarda amaç ROS'ları hapseden antioksidanların arayışıdır.

Organizmada hücrel savunma mekanizmasının ortadan kaldırıldığından daha fazla reaktif oksijen türleri (ROS) oluşabilir. Antioksidan savunma sistemlerin vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla reaktif oksijen türlerinin (ROS) meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır.

Bu durumda antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliğinin nedenlerinin araştırılması tarımsal verimin artması açısından hem de insan sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Çizelge 3. Genel olarak antioksidanların görevleri (Büyük ve ark., 2012)

Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	Rolü	HücreSEL Lokasyonu
Askorbik Asit	Direk olarak $O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$ ve H_2O_2 'i temizler.	Kloroplast, apoplast, vakuol, sitozol
Tokoferoller	Lipit peroksidasyonunu kırar. Lipit peroksitlerini $O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$ 'i temizler.	Bitkilerin tüm kısımlarında bulunur. Kloroplast membranlarında tokoferol yoğun olarak bulunur. Sitozol, vakuol
Karotenoidler	Peroksi radikalleri ile $O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$ 'i temizler.	Sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri
Fenolik Bileşikler	Redoks döngüsünün bir substratı olarak, $OH^{\cdot}$ ile $^1O_2$ 'nin direk temizlenmesinde yararlıdır.	Sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Antioksidan özelliklerini iyi birer hidrojen veya elektron vericisi olmaları, zincir kırıcı özellikleri ve geçiş metalleri ile şelat oluşturmaları ile gösterirler.	Sitozol, vakuol
Süperoksit Dismutaz (SOD)	$O_2^{\cdot -}$ 'i H_2O_2 'ye dönüştürür	Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksizom
Askorbat Peroksidaz (APX)	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir.	Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksizom
Katalaz (CAT)	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir	Peroksizom
Glutatyon Peroksidaz (GPX)	H_2O_2 'yi ve lipit peroksitlerini etkisizleştirir.	Kloroplast, sitozol, mitokondri, endoplazmik retikulum

Bitkiler ağır metal stresine karşı savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Krämer ve ark., 1996). Bazı enzimleri sentezleyerek, ağır metalleri vakuol içerisinde biriktirerek ya da şelatlanma oluşturarak ortadan yok etme yoluna giderler. Bakır süperoksitin aşırı birikimi, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasına sebep olur. (Tie ve ark., 2012). Toksik etkili ağır metallere dayanıklı olan bir bitki ya alınan ağır metalleri derhal detoksifiye etmeli ya da hücreye alınımını sınırlamalıdır (Cumming ve Taylor, 1990).

Kuraklık stresine maruz kalan bitkiler antioksidan savunma sistemlerinin bazılarının ya da tamamının aktivasyonu ile oksidatif stresin üstesinden gelebilirler. Bununla beraber, uzun süreli ve akut; hatta bazen kısa süreli stres durumunda bile, savunma mekanizmalarının kapasiteleri aşılar ve bu durum, gözle görülür zararlara ve hatta bitki ölümüne neden olabilir (Kalefetoğlu ve Ekmekci, 2005). Fakat radikal

üretimi, antioksidan savunma sisteminin kapasitesini aşacak kadar fazla olursa, o zaman bitkide meydana gelecek hasar geri dönüşümsüz olmaktadır.

1.4.4 Enzimatik antioksidan sistemler

1.4.4.1 Süperoksit dismutaz (SOD)

Serbest radikallere karşı organizmadaki ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktır (Kuzu, 2015). Süperoksidin daha az toksik olan H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizler başlangıçta bir bakır depo proteini olduğu düşünülmüştür.

SOD aktivitesi kuraklık stresi altındaki çeltik ve buğday bitki türlerinde proteinin ifade seviyesindeki artışlara neden olduğu yapının çalışmalarda belirlenmiştir (Ji ve ark., 2012). *Hypnum cupressiforme*'nin bakır uygulanmış örneklerinde süperoksit dismutaz, peroksidaz aktivitelerinde artış belirlenmiştir (Kuzu, 2015).

1.4.4.2 Katalaz (CAT)

Katalaz doğada çok yaygın dağılım göstermektedir. Yüksek moleküler ağırlığa sahip, protein yapısındadır. Oksidoredüktazlar grubunun enzimidir, yani yükseltgenme indirgenme reaksiyonlarını katalizleyen enzimdir. Peroksizomda üretilir ve mitokondri matriksinde bulunur, aerobik mikroorganizmaların hepsinde, omurgalılarda, bitkilerde ve mantarlarda bulunmaktadır.(Fridovich, 1986; Streb ve ark., 1993)

Katalaz kararsız bir enzimdir. Stres altındaki bitki hücrelerinde oluşan H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarıyla inhibe edilebilir (Uğurlar, 2019). Zehir etkisi yapan hidrejen peroksiti parçalayarak su ve oksijene çevirir. H_2O_2 'nin uzaklaştırılmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Fridovich, 1986). Siyanid, azid, süperoksit ve indirgenmiş glutatyon tarafından da katalaz aktivitesinin inhibe edildiği rapor edilmiştir. Ayrıca H_2O_2 'ye olan zayıf affinitesi bu enzimin etkinliğini kısıtlamaktadır (Foyer ve ark., 1994). Katalazın en temel işlevi, oksijen varlığında H_2O_2 'in ve ROOH gibi bir peroksidin radikalliğini gidererek, özellikle membranlarda oluşturabilecekleri geri dönüşümsüz hasarları engellemektir (Chaudière ve Ferrari-Iliou, 1999). Tuz konsantrasyonu yüksek topraklarda katalaz enziminin aktivitesinin arttığı bulunmuştur (Çimen ve ark., 2005). Bitkilerde kükürt uygulamasına bağlı olarak CAT enziminin aktivitesi artış göstermiştir (Güneş ve Sönmez, 2019). Bakır stresi altındaki *Spirodela*

polyrhiza (Upadhyay ve Panda, 2010) *Atriplex halimus* (Brahim ve Mohamed, 2011) bitkilerinde CAT aktivitesinin uyarıldığı bildirilmektedir. *Capia* tipi kırmızı tatlı biber bitkisinin H₂S uygulaması CAT aktivitesinin arttığı belirlenmiştir.

1.4.4.3 Askorbat peroksidaz (APX)

ROS' un etkilerine karşı rol alan en etkili antioksidandır. Bitkilerdeki temel rolü H₂O₂' in zararlı etkilerini ve diğer toksik oksijen türevlerinin etkilerini zarar görmeden atlatmaktır. Bu mekanizma ile H₂O₂, askorbat peroksidaz aracılığıyla suya indirgenmektedir. Bunun için askorbik asit kullanılmakta ve monodehidroaskorbat (MDHA) açığa çıkmaktadır. Mitokondride sentezlenmektedir ve diğer hücrelere kolaylaştırılmış difüzyon yolu ile taşınmaktadır. APX ailesi, thylakoid ve mikrozomal membran bağlı formlarda bulunabildiği gibi çözünür formda stromal, sitosolik ve apoplastik enzimleri de içeren tAPX, gmAPX, sAPX, cAPX gibi en az beş farklı izoformdan oluşur (Asada, 1987; Noctor ve Foyer, 1998). Fotosentez sırasında oluşan H₂O₂'nin uzaklaştırılmasında katalaza yardımcı olur (Davis ve Swanson, 2001).

Stresle ilgili yapılan çalışmalarda APX aktivitesinde ve gen ekspresyonunda artışlar olduğu gözlenmiş ve bu artışların stres savunmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Kireççi, 2018). Su stresine maruz kalan duyarlı buğday çeşitlerinde askorbat peroksidaz aktivitesinin uyarıldığı, toleranslı buğdayda ise sadece yüksek stres yoğunluğunda arttığı kaydedilmiştir (Sgherri ve ark., 2001). Bakır stresi koşullarında, Akpınar ve 31G98'de iki mısır çeşidinde H₂O₂, GSH ve SA uygulamalarının APX enzim aktivitesini bakır uygulamasına göre önemli oranda arttırdığı belirlenmiştir (Yetişsin, 2015).

1.4.4.4 Glutasyon redüktaz (GR)

İlk defa eritrositlerde ve mayalarda tespit edilmiştir (Meldrum ve Tarr, 1935) Glutasyon (GR) hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunur (Creissen ve ark., 1994). H₂O₂ detoksifikasyonundan sorumlu antioksidandır. GR stres sırasında indirgenmiş glutasyon havuzunun (GSH) korunmasında önemli yere sahiptir. GR'de artış bitkilerde aktivite, glutasyon (GSH) seviyelerinin birikmesine neden olur ve sonuç olarak bitkilere tolerans sağlar (Kireççi, 2018). Glutasyonun indirgenmiş halde kalması birçok antioksidan enzim aktivitesi için önemlidir. GR, bitkilerin kuraklık ve çeşitli stres etkileri sonucu meydana oksidatif stresin olumsuz etkilerinin düzenleyip ve strese bir direnç oluşturur (Meister, 1983). Farklı bakır konsantrasyonlarına maruz bırakılan

mısır bitkisinde GR aktivitesinin önemli miktarda arttığı belirlenmiştir (Tanyolac ve ark., 2007).

1.4.4.5 Guaikol peroksidaz

Guaikol peroksidaz (GPX) hücre duvarlarında ve sitoplazmada bulunan bir enzimdir (Demiral, 2003). Stres ve metabolizma sonucu oluşan H_2O_2 'yi temizler. Lignin biyosentezinde hayati bir rol oynayıp indol asetik asidi (IAA) bozarak ve H_2O_2 'yi de kullanarak biyotik strese karşı savunur. GPX, guaikol ve pirogalol (Asada, 1999), gibi aromatik bileşikler elektron donörü olarak tercih eder. GPX hücre duvarında (sitosol, vakuol) aktif olduğu için H_2O_2 'nin hücreden çıkarılmasında anahtar enzim olarak kabul edilir (Kireççi, 2018).

1.4.4.6 Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR)

MDHAR kısa ömürlü Monodehidroaskorbat (MDHA)'dan, NADPH'yi bir indirgeyici ajan olarak kullanarak, hücresel askorbik asittin (AsA) üretilmesinden sorumludur, bunu gerçekleştiren tek enzimdir. Oksidatif stresin neden olduğu olumsuzlukları azaltmada önemli bir role sahiptir (Sekulić, 2019). AsA'nın yeniden oluşmasını sağlar ve H_2O_2 'i ve askorbat peroksidazı (APX) temizler bu sırada AsA'yı oksitler (Kireççi, 2018). MDHAR'ın NADH ile olan aktivitesi NADPH ile olan aktivitesinden iki kat daha fazladır (Hossain ve Asada, 1984; Sano ve ark., 1995). MDHA birçok enzimin inaktive edilmesini sağlar Enzimlerin inaktive olmaması için belirli konsantrasyonlarda tutulması gereklidir (Sağlam, 2011).

MDHAR, birçok canlıda bulunur. Bitkilerde, hayvanlarda, mantarlarda, alglerde ve tek hücreli canlılarda tespit edilmiştir (Arrigoni ve ark., 1981; Hossain ve Asada, 1984). Bitkilerde kloroplastlarda bulunur. Kloroplastlardaki MDHAR, stromaya yerleşik olarak bulunur ve yapısı tilakoid membrana bağlıdır. Hücrede glioksizomlarda, peroksizomlarda, mitokondri ve sitozolde bulunduğu belirlenmiştir (Donaldson, 1990; Yamauchi ve ark., 1984). MDHAR'ın izoformlarının kloroplast, sitozol, peroksizom ve mitokondride bulunduğu belirtilmiştir (Jimenez ve ark., 1997).

1.4.4.7 Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR)

DHAR bütün canlılarda bulunur bitkilerde tohumda, köklerde ve yeşil filizlerinde bol miktarda bulunur. Çeşitli bitkilerin dokularında DHAR aktivitesi olduğu da bildirilmiştir (Anjum ve ark., 2014). DHAR, bütün canlılarda bulunan, tek bir

polipeptid zincirinden oluşmuş bir tiyol enzim olup, glutatyon (GSH) aracılığıyla dehidroaskorbatın (DHA) askorbata dönüştürür. pH 6'dan büyük olduğu zaman dehidroaskorbat kararsızdır ve tartarat ile oksalata dönüşebilir. Bu dönüşümü önlemek için dehidroaskorbat elektron verici olarak glutatyonu kullanan dehidroaskorbat redüktaz tarafından askorbata dönüşür ve bu reaksiyon sonucu oluşan okside glutatyon (GSSG), glutatyon redüktaz (GR) tarafından tekrardan GSH'a indirgenir (Foyer ve Halliwell, 1976).

1.4.5 Lipid peroksidasyonu

Stresin etkisiyle oluşan serbest radikaller bitkilerde lipid peroksidasyonunu gerçekleşmesine neden olur. Malondialdehit ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Malondialdehit (MDA) bileşiği yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşmaktadır ve yüksek seviyede MDA birikimi aşırı lipid peroksidasyonunu göstermektedir. Oksidasyon sırasında çoklu doymamış yağ asitleri bir hidrojen atomu koparılmasıyla lipid peroksidasyonun başlar. Hücrenin membranında ve dokularında hasar meydana getirir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Stresle ilgili çalışmalarda stres direk olarak ölçülmediği için incelenen stres parametresidir. Stres altında lipidlerin oksidasyonu iki veya üç kat artabilir. Örneğin, kuraklık stresi altındaki buğday ve mısır çeşitlerinde MDA içeriği artarken strese toleransı yüksek bitkilerde lipid peroksidasyonu düşük oranda meydana gelir (Sairam ve ark., 1998).

MDA hücre içinde tek başına etkili değildir. Etkisini proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidlere veya nükleik asitlere bağlanarak gösterir. Lipid peroksidasyon fenton reaksiyonu sonucu oluşan hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$) ile başlar. Peroksidasyon sonucunda ise lipid peroksitleri (LOOH) oluşmaktadır ve lipid peroksitleri yıkıldığında da aldehitler oluşmaktadır. Aldehitler hücre içindeki hasarı yayarak hücrenin diğer bileşenlerine zarar verebilir, hücre düzeyinde metabolize edebilirler. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur (Halliwell, 1994; Panda ve ark., 2003).

1.4.6 Antioksidan sistemin enzimatik olmayan bileşenleri

1.4.6.1 Glutasyon (GSH)

Glutasyon hücrelerde düşük konsantrasyonda bulunur ve enzimatik olmayan antioksidandır. Bitkilerde çoğunlukla indirgenmiş formda bulunan glutasyon; sitoplazma, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri, kloroplast, apoplast peroksizomlar neredeyse bütün hücre kısımlarında bulunur (Doğru, 2019; Mittler ve Zilinskas, 1992). Glutamin, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan ve bir tripeptid olan glutasyon, ROS'ların neden olduğu oksidatif strese karşı en önemli savunma mekanizmalarından birini oluşturmaktadır. Yapılan araştırmalara göre glutasyon büyüme gelişmede önemli role sahiptir. Bitki metabolizmasında birçok olayda rol oynar; hücre farklılaşması, hücre ölümü, patojen direnci ve enzimatik düzenlemeleri yapar (Khan ve Singh, 2008). İndirgenmiş glutasyon konsantrasyonunun miktarı hücrelerin hemolize olan dayanıklılığını belirler. Yüksek düzeyde indirgenmiş glutasyon, hemolize daha dayanıklıdır (Akın, 2019).

Fitokelatin (PCs) : Ağır metal stresine maruz kalan bitkilerde sentezlenen polipeptidlere verilen isimdir (Chen ve Goldsbrough, 1994). Glutasyon oligomeridir. Bir fitokelatin öncülü olan GSH; demir ve bakırın bağlı formda kalmasını ve proteinlerdeki -SH gruplarının indirgenmiş halde tutulmasını sağlayarak biyomoleküllerin oksidasyonunu önlemektedir (Rennenberg, 1980).

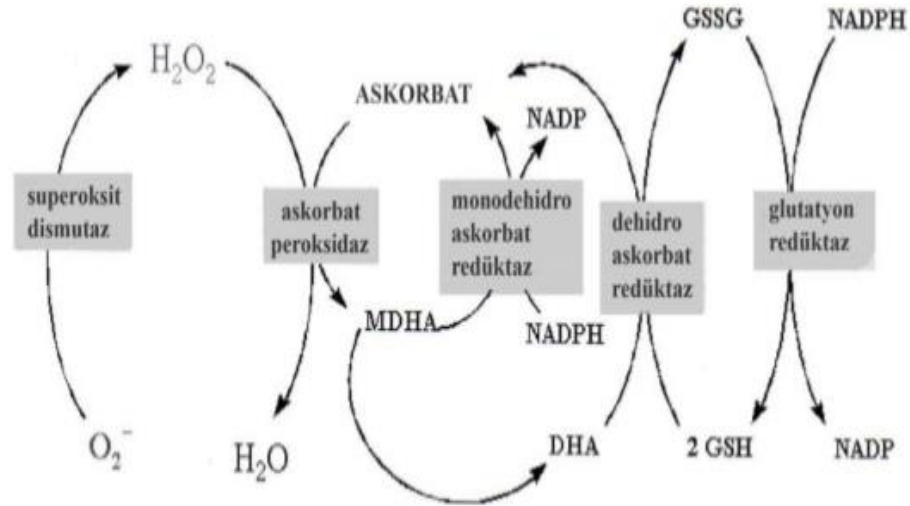
GSH, DNA sentezinde ve hasarlı DNA parçalarının onarılmasında, membran yapısını kararlı olmasını (Foyer ve ark., 1994), protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engellenmesini (Alscher ve Hess, 2017) , fitoaleksinin biyosentezi ile bağlantılı savunucu gen ürünlerinin miktarlarını artmasını sağlar (Wingate ve ark., 1988).

Okside glutasyonun konsantrasyonunun aşırı derecede artışı birçok enzime zarar vermekte; proteinlerdeki sülfidril grupları ile etkileşime girerek protein-glutasyon disülfidril yapılarını meydana getirmektedir (Alscher ve Hess, 2017).

1.4.6.2 Askorbat (L-askorbik asit, C vitamin)

Askorbat, mitokondride sentezlenir. Güçlü bir antioksidandır ve sulu ortamlarda serbest radikallerle tepkimeye girebilme yeteneğinde olan suda çözünür bir vitamindir. Diğer hücrelere proton-elektrokimyasal mekanizma veya kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla taşınır. Bitkilerde normal koşullarda yaprak ve kloroplastlarda az miktarda

bulunurken, fotosentetik hücrelerde ve meristemlerde fazla miktarda bulunur. Yapılan çalışmalarda askorbatın bitki büyümesinde ve gelişmesinde önemli olduğu gibi, çevresel stres koşullarında önemli bir role sahip olduğu görülmüştür. Bitkinin stresle karşılaşması durumunda konsantrasyonu artar. Stres durumunda konsantrasyonu artan askorbik asit, O_2^- ve OH^- radikallerinin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlar (Büyük ve ark., 2012; Conklin, 2001). Askorbatın süperoksit tepkimeleri SOD tepkimelerine benzer. Diğer taraftan hidrojen peroksitle olan reaksiyonu askorbat peroksidaz tarafından katalizlenir (Sağlam, 2011). Askorbat ketenepoksidazın kofaktörü gibi davranarak aşırı uyarım enerjisinin yayılmasını sağlar (Dat ve ark., 2000). Bir başka görevi de NADPH/NADP⁺⁺ oranını düşürerek elektronların PS1'den oksijene verilme potansiyelini azaltır ve ROS oluşumunu önler. Bu sistemle bitkileri oksijenin toksikliğinden korur (Sağlam, 2011). Askorbat okside olmuş glutatyon (GSSG), tokoferoksil ya da fenoksil radikallerinin, Halliwell Asada (askorbat-glutatyon) döngüsü ile redüklenmesinde dolaylı yoldan etkileyen antioksidan özellikler göstermektedir (Eryılmaz, 2007; Noctor ve Foyer, 1998). Şekil 2'de Halliwell-Asada yolu şematize edilmiştir.



Şekil 2. Halliwell-Asada yolu (Askorbat-Glutatyon Döngüsü) (Eryılmaz, 2007).

1.4.6.3 Karotenoidler (β-Karotin, A Vitamini)

Doğada meydana gelen 600'den fazla karotenoid vardır. Karotenoidler, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan, konjuge çift bağ içeren, sarı-kırmızı ve turuncu renk veren 40 atomlu pigmentlerdir. Kararsız bir yapıya sahip oldukları için

ROS'a karşı savunma yaparlar, zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını düşürürler. Karotenoidler antioksidan aktivitelerini serbest radikal reaksiyonlarına katılarak zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını azaltmak suretiyle gösterirler. Işığın absorblanmasına yardımcı olur ve yıkıcı fotooksidan zararlara karşı klorofillerin korunmasında da görev alır (Büyük ve ark., 2012; Güleşçi ve Aygöl, 2016). Mısır bitkisi karotenoid bakımından oldukça zengindir.

1.4.6.4 α -Tokoferol (E vitamini)

Bitkisel yağlarda bulunan bir vitamindir. Yer fıstığı, badem, pamuk yağı, ketentohumunda bulunur. E vitamini ve diğer antioksidanlar, belirli kanser türlerine karşı çeşitli şekillerde koruma sağlar. Antioksidan etkisi Glutasyon ve askorbik asit ile daha çok artar (De Zwart ve ark., 1999). Eksojen olan E vitamini ve bazı mineraller, hücreleri lipid peroksidasyonuna karşı korurlar. Vitaminler oksidatif reaksiyonlar sırasında üretilen reaktif oksijen radikallerinin saldırısından direkt olarak korurlar veya süperoksit dismutaz, glutasyon (Sağlam, 2011) peroksidaz sistemi tarafından bu radikalleri etkisiz hale getirilir (Altınar ve ark., 2017).

1.4.6.5 Prolin

Proteinleri oluşturan 20 aminoasitten biri olan prolin sitoplazmada ve son yıllarda az da olsa kloroplastlarda sentezlendiği gösterilmiştir (Székely ve ark., 2008). İnsan derisinde bulunan kolajenlerin yapısında bolca bulunur. Prolin, stres tarafından oluşturulan ROS'un temizlenmesinde görev yapan proteinlerdir. Osmotik ayarlayıcı ve ozmoprotektan olarak rol oynarlar. Sitoplazmada suyu tutulmasını sağlar ve hücresel yapıları korur (Sağlam, 2011; Smirnoff, 1998).

Kuraklık stresiyle prolin arasında pozitif bir korelasyon olduğunu, MDA aktivitesindeki artışın klorofil miktarındaki artıştan kaynaklanmadığını göstermektedir. Kuraklık uygulamasına bağlı olarak bitkilerin su seviyelerini belirli düzeyde tutmak için osmotik potansiyellerini düşürdükleri, klorofil ve MDA değerlerinin kuraklık stresiyle değiştiği fark edilmiştir. Kuraklık stresinde klorofil seviyesinin azaldığı belirlenmiştir. Aynı şekilde prolin miktarının artması da strese karşı verilen bir cevap olarak algılanmıştır (Kayabaşı, 2011).

1.5 Absisik Asit

Absisik asit (ABA), bitkide doğal olarak sentezlenen ve bitki gelişmesinin düzenlenmesinde görev alan büyüme inhibitörüdür. ABA'nın yaprak, kök, gövde, tohum ve meyve dokularında mevalonik asitten sentezlendiği belirtilmiştir ve ABA'nın büyük bir çoğunluğu plastidlerde sentezlenmektedir. ABA genç dokularda yüksek seviyededir, ancak ABA'dan yoksun mutant bitkiler ciddi şekilde bodurlaşmıştır. Kapalı kimyasal formülü $C_{15}H_{20}O_4$ ve molekül ağırlığı 264.32g/mol olan ABA, seskiterpen yapısındadır. Kimyasal yapısında asimetric karbon atomu bulunduran ABA, optik (enantiomer) ve geometrik izomerizim özelliğine sahiptir (Ergül, 2020).

ABA'nın embriyo olgunlaşması, tohum uyku hali, çimlenme, iyon-su taşınımı, hücre bölünmesi ve uzaması, çiçeklenme ve kuraklık, tuzluluk, soğuk, patojen saldırısı ve UV radyasyonu, gibi çevresel streslere yanıt gibi birçok fizyolojik olayda görev almaktadır (Finkelstein, 2013). ABA ayrıca, birleşik glukozil ester formunun hücrel depolarından sıvı kaybı ile aktiveleştirilen veya stabilize edilen glukanaazlar tarafından hızla salınabilir.

ABA'nın antioksidan savunmada ROS ile etkileşime girerek antioksidan sistemini etkinleştirmede önemli bir hormondur. (Jiang ve Zhang, 2002). Kuraklık stresi altında ABA miktarı 50 kat (Taiz ve Zeiger, 2002) kadar artar (Çırak ve Esenal, 2006). Strese bağlı olarak ABA ve etilen gibi hormonların üretiminde ve çeşitli genlerin ifadelerinde değişimler meydana gelmektedir. ABA'nın tuz stresine yanıt veren genlerin promoterlerinde H4 asetilasyon seviyelerini değiştirerek düzenlenmesinde rol oynadığı belirlenmiştir (Ullah ve ark., 2020). Yapılan araştırmalarda ABA'nın stresli uygulamalarda prolin miktarını artırdığını, kuraklık stresi altında SOD aktivitesinin artırdığını belirlenmiştir (Jiang ve Zhang, 2002).

1.6 Salisilik Asit

Latince Salix (söğüt) sözcüğünden gelmektedir. Bitki büyümesinin düzenlenmesinde ve gelişiminde oldukça etkili bir hormondur. Bitkilerin çevresel streslere cevabında önemli bir rol oynamaktadır Yapılan araştırmalarda salisilik asitin (SA) membran depolarizasyonunu etkilediği, klorofil içeriğini artırdığı alıştırma cevaplarına aracılık ettiği, stres hormonu olan etilenin öncü maddesi olan ACC'nin sentezlenmesini geciktirdiği bitkilerin strese karşı toleranslı artırdığı belirlenmiştir (Sevimay, 2009).

Termojenik (ısı üreten) bitkilerde, pirinç bitkisinin yapraklarında, söğüt ağacının yapraklarında daha birçok bitkide bulunur.

Bitkilerde SA, oluşumu için iki metabolik yolun bulunduğu ileri sürülmektedir. Tütün (*Nicotiana tabacum L.*) bitkisinde yaprakların hücrelerarası boşluklarında (Yalpani ve ark., 1991) ve domates (*Lycopersicon esculentum L.*) salisilik asidin yaygın biyosentez yolunun; şikimik asitten benzoik asit ve kumarik asit yolu ile sentezlenmektedir (Davies, 2013). Bakır stresi altında mısır üzerine belirli konsantrasyonlarda ki SA uygulamasının stres parametreleri üzerine iyileştirici etkisi olduğu belirlenmiştir (Yetişsin, 2015). Hem endojen hem de ekzojen olarak uygulamaları araştırılıp incelenmiştir.

1.7 Fenolik Bileşikler

Yapılarında bir fenol grubu bulunduran, benzen halkası içeren organik maddeler fenolik bileşikler olarak adlandırılmaktadır. Non-enzimatik antioksidan grubundadırlar (Yılmaz, 2010). Bitkilerde hücre çeperinde birikerek odun dokusunu oluşturur. Fenolik bileşikler bitkiler aleminde çok miktarda bulunan sekonder (ikincil) metabolitlerdir (Nizamlioğlu, 2010). Hücresel aktivitede antioksidan etkisi göstererek reaktif oksijen türlerinden karşı rol alır, bağlı olarak stres koşullarına karşı dayanıklılık sağlar. Antioksidan etkisinin yanında oksidasyonuna enzimatik esmerleşmeye de neden olmaktadır. Reaktif oksijen türlerine karşı şelatlama, fenton tepkimelerinin sonlandırılması ve zincir kırma gibi görevleri vardır. Fenoliklerin antioksidatif lipid metabolizması modifikasyonu ve zarların akışkanlığının azaltılması mekanizması ile flavonoidlerin peroksidasyon kinetiğini değiştirebilmekteler (Rice-Evans ve ark., 1997; Schroeter ve ark., 2002).

Yapılan çalışmalarda insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri kaydedilmiştir. Yaklaşık 8000 kadar fenolik madde tanımlanmış olup bunların büyük çoğunluğu flavonoidlerdir. Kimyasal açıdan flavonoid olmayanlar (hidroksisinnamik, hidroksibenzoik asit ve türevleri, fenolik alkoller) ve flavonoidler (antosiyeninler, flavon-3-ol monomerleri ve polimerleri, flavonoller ve proantosiyenidinler) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Benzoik asitlerin esterleşmesi sonucu oluşan hidrolize olabilen tanenler ve proantosiyenidinler (kondense tanenler), tanenler kategorisinde değerlendirilebilir (Akalın, 2011; Gayon ve ark., 2000). Fenolik bileşikler tüm özelliklerinden dolayı stresle ilgili çalışmalarında ele alınan bir bileşiktir

1.8 Mısır Bitkisinin Tarihi ve Genel Özellikleri

Mısır, binlerce yıldan beri tarımı yapılan birkaç ender bitkiden biridir. Ilıman ve tropik bölgelerde tarımı yapılan bir bitki olan mısırın kökeni ve gen merkezi Amerika kıtası olarak kabul edilmektedir. Dünyaya Amerikan'dan yayıldığı bilinmektedir. Mısırın kesin orijini ve tarihine ilişkin kesin bir bilgi yoktur. ABD' de yapılan kazılarda bulunan mısır taneleri ve mısır koçanı parçalarının yaklaşık 5000 yıllık oldukları tespit edilmiştir. Bir başka araştırma da Mexico City'de yapılan kazılarda, toprağın 50-60 m derinliğinde, yaklaşık 7000 yıllık olduğu belirlenen mısır çiçek tozlarına rastlanmıştır. Babaoğlu (2017) 'ye göre yapılan araştırmalardan elde edilen bulgular, mısır bitkisinin 8,000 ile 10,000 yıllık bir geçmişi olduğunu göstermektedir

Bitkinin sistematikteki yeri aşağıdaki şekildedir.

Alem: Plantae

Şube: Magnoliophyta

Sınıf: Liliopsida

Takım: Cyperales

Familiya: Poaceae (buğdaygil ailesi)

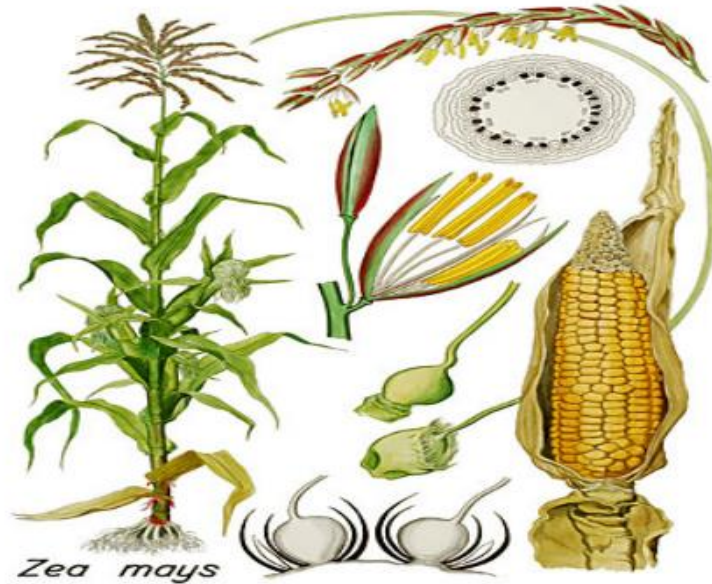
Cins: Zea

Tür: *Zea mays*, Corn, Mais

Çiçekleri monoik yapıda olup, erkek (tepe püskülü) ve dişi çiçekler (koçan) aynı bitki üzerinde fakat farklı yerlerde bulunmaktadır. Tek yıllık, otsu, tahıl bir bitkisidir Mısır, $2n=20$ kromozomlu olup diploid bir bitkidir. Mısır bitkisi 2009 yılında genetik sekansı tamamlanan, $2n=20$ kromozomlu diploid bir bitki olmasına rağmen 10 tane haploid kromozomu üzerinde yerleşmiş 39469 gen bulunduran ve 2,4 milyar bazdan oluşan büyük bir genoma sahiptir (Schnable ve ark., 2009) Genetik bir model sistemi olarak mısır, bitki gelişimi ve evrimi anlayışına önemli katkıda bulunmuştur ve daha yakın zamanda bu bilgi miRNA genlerinin düzenleyici işlevlerini açıklamak için kullanılmıştır. MicroRNA'lar (miRNA'lar), bitki büyümesi, gelişimi ve stres tepkisinde önemli rol oynayan küçük, kodlayıcı olmayan RNA'lardır (Zhang ve ark., 2009). Mısır birçok araştırmanın kilit bitkisi konumundadır.

Mısır adaptasyon kabiliyeti nedeniyle dünyanın birçok bölgesinde kültürü yapılabilmektedir (Sağlam, 2011). Mısır bitkisinin hemen hemen her kısmı ekonomik değere sahiptir. Mısırdaki olduğu kadar hiçbir tahıl bitkisi çok şekilde kullanılamaz. Tahıl şu şekilde tüketilebilir: İnsan gıdası, fermente üretiminde, hayvan yemi, nişasta, yağ,

şeker, protein, selüloz, bitkisel yağ, biyodizel yakıtı ve etil alkol gibi çok geniş kullanım yelpazesine sahiptir (Morris, 2002). Mısırın yapısında birçok kimyasal bileşik vardır. Olgun bir mısır danesi en çok %70-75 oranında nişasta, % 8-10 protein ve % 4-5 yağ içerir. Toprakta nem seviyesi tohum ağırlığının %30'dan fazla olduğunda ekim için uygundur. Boyu yetiştiği bölgeye göre 1,5-3 metre arasında olabilir. Radikuladan gelişen kalın ana kök ve çok sayıda yan kökten oluşan, saçaklı ağsı yapıda bir kök sistemine sahiptir. Yaprak yapısı ise; uca doğru sivrileşen, uzun ince yapıdadır. Mısır bitkisi tepede sapın ucunda karışık salkım (tepe püskülü) şeklinde erkek çiçekler ve sapın orta kısmında yaprak koltuğunda koçan şeklinde dişi çiçekler bulunur. Şekil 3'te genel mısır görünümü verilmiştir. Mısır yabancı tozlanan bir bitkidir. Danelerin oluştuğu koçan boyu yetiştirme şartları ve çeşide bağlı olarak 10-40 cm arasında değişir. Bir mısır koçanında 500 ile 1000 arasında tohum oluşur. Mısırdaki bakır noksanlığında yaprak uçları açık yeşil olur, yaprağı kıvrılır ve büyüme durur. Toprak ve iklim özelliklerine bağlı olarak; mısır bazı dönemleri itibarıyla su ihtiyacının mutlaka karşılanması gereken bir bitkidir. Toprak yapısına, yetiştirme süresindeki sıcaklığa, hava nemine gibi koşullara bağlı olarak yapılır (Eryılmaz, 2007; İşler, 2017)



Şekil 3. Mısır bitkisinin genel görünümü ve başlıca kısımlar (Thomé, 1885)

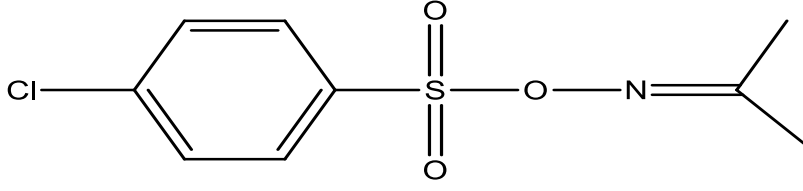
1.9 Aseton O-(4-Klorofenilsülfonil)Oksim (Ia) Maddesinin Özellikleri

Moleküler ağırlığı 247,02 gr/mol'dür ve sentetik olan Aseton O-(4-Klorofenilsülfonil)oksim (Ia) maddesinin yapısı (Şekil 4) gereği radikallerin C=C çift bağına katılmaları, C=N veya C=S bağına katılmalarına göre daha kolaydır. Çünkü C=N veya C=S bağlarının C-N'ye veya C-S'ye dönüşmesi, C=C'nin C-C'ye dönüşmesinden daha çok enerji gerektirir. Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim yapısında bulunan C=N, S=O ve C=C yapıları sayesinde radikallerin bu yapılara tutunmalarının sağlanabileceği söylenebilir. Ayrıca yapıda bulunan elektron çekici -Cl grubu radikallerin kararlılığını artırabilecek özelliğe sahiptir. Çünkü molekül yapısında bulunan elektronegatif veya elektropozitif grupların radikallerin kararlılığını arttırdığı bilinmektedir. Bu durumda yapıdaki -Cl grubunun, radikallerin yapıya hapsedilmesine katkı sunacağı tahmin edilmektedir. Ayrıca, yapıdaki konjugasyon radikallerin kararlılığını arttırarak yapıya antioksidan özellik kazandırabilir (Korkmaz, 2021). Ia ketoksimine benzer moleküller daha çok, organik, analitik, anorganik kimya, endüstri ve sanayide sıklıkla kullanılmaktadır. Örneğin, ketoksim türevleri boyalar ve epoksit reçinelerinin geliştirilmesi için katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Carlos ve David, 1972; Lecterc ve ark., 1980). Ayrıca, ketoksim türevlerinin ilaç aktif ve fizyolojik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Özellikle, 3-hidroksi-5-hidroksimetil-2-metilisonikotinaldoksım (piridoksal oksim) bileşiğinin epilepside (Chanvattey ve ark., 1970), (eritomisin oksimlerin antibiyotik ve O-(w-aminoalkil) oksimlerin lokal anestezi ve analjezide kullanıldığı rapor edilmiştir (Kurihara ve ark., 1980). Bu yapıların, birçok özelliğinin ortaya çıkması araştırmacıların bu yapılara ilgisini arttırmıştır. Ek olarak, ketoksim yapısında sülfö grubu bulunduran bileşiklerin herbisidlerde kullanıldığı belirtilmiştir (Belluci, 1985). Alkil-aril grubu içeren ketoksimlerin insektisidlerde kullanıldığı tespit edilmiştir (Epstein ve Bodor, 1981).

Ketoksimlerle, antiproliferatif aktivitesi ve inhibisyonu (Surkau ve ark., 2010)), anti-enflamatuar (Abdel-Aziz ve ark., 2020), antitümör (Huang ve ark., 2020), in vitro sitotoksik aktivite (Dan ve ark., 2020), antimikrobiyal etkisi (Singh ve ark., 2020), kolinesteraz inhibitörleri (Ratković ve ark., 2020), optik (Karthik ve ark., 2021) gibi birçok çalışma mevcuttur.

Geleneksel adlandırma

Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim

propan-2-one *O*-((4-chlorophenyl)sulfonyl) oxime**Şekil 4.** Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim maddesinin moleküler yapısı

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kuraklık ve bakır stresi bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyen çevresel streslerin en başında gelmektedir. Yapılan çalışmalar ışığında kuraklık ve bakır stresi bitkilerde büyüme, gelişme, ürün verimliliği, ürün kalitesi, tane ağırlığı üzerine engelleyici etkiler gösterdiği bilinmektedir (Alghabari ve Ihsan, 2018). Bu nedenle kuraklık ve bakır stresinin bitki büyüme ve gelişmesine, bitkinin fizyolojik, morfolojik, anatomik ve biyokimyasal özelliklerine hücresel, dokusal ve moleküler düzeyde bir takım olumsuz etkilere sebep olduğuna dair yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda listelenmiştir.

Tüm abiyotik streslerin bitki yetiştiriciliği üzerindeki zararlı etkilerini azaltmanın en önemli yollarından biri bu stres faktörlerine dayanaklı bitki çeşitleri üretmektir. Bu nedenle abiyotik streslerin fizyolojik, biyokimyasal, hücresel ve moleküler düzeydeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak veya yok etmek için bazı araştırmacılar çeşitli hormonlar, büyüme düzenleyicileri ve vitaminler gibi koruyucu faktörlere sahip maddeleri kullanmışlardır (Özmen, 2020).

Yetişsin ve Kurt (2020) yılında yapılan çalışmada bakır stresi altındaki mısır fidelerine, gallik asit (GA) uygulamasının fizyolojik parametreler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada sonucunda bakır stresi altındaki mısır bitkisinde GA'nın bakır stresinden kaynaklanan oksidatif strese karşı iyileştirici etkisinin olduğunu, GA'nın herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı belirtmişlerdir. Bu etkinin gallik asitin yüksek şelasyon potansiyelinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Bakır uygulaması yapılmış mısır bitkisinin kök ve gövdesinde önemli derecede azot, fosfor ve potasyum miktarının azaldığı bulunmuştur (Ali ve ark., 2002). Bakıra maruz bırakılan mısır bitkisinin üçüncü yapraklarında kalsiyum ve magnezyum miktarlarında artış, magnezyum miktarında hafif bir düşüş kaydedilmiştir (Mocquot ve ark., 1996). Ayrıca bakırın *Triticum aestivum* ve *Zea mays*’da protein miktarını azalttığı bildirilmiştir (Lanaras ve ark., 1993; Stiborova ve ark., 1986).

Bakır bitkiler için hayati bir mikro besindir. Bitkilerin normal büyümesi ve gelişmesi için gerekli olup çeşitli hücresel enzimleri düzenler ve bir dizi oksidasyon-indirgeme reaksiyonunun önemli bir faktörü olarak hareket eder. Bakır fazlalığı bitkilerde kök hücrelerine zarar verdiğinden kök uzamasını engellemektedir (Keller ve Hammer, 2004) ve demir eksikliğine neden olmaktadır (Ouzounidou ve ark., 1998). Nazir ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada bakır stresi altındaki domates

bitkisine doğal bir hormon olan Epibrassinolide (EBL) ve H_2O_2 uygulamasının fotosentetik mekanizmayı, stomatal hareketi, kök morfolojisini ve hücre canlılığı üzerine, EBL'nin hem de H_2O_2 'in kök morfolojinde, protein içeriğinde ve canlılığında iyileşme olduğunu belirtmişlerdir.

Bitki dokularında ağır metal birikimi ve fotosentez olayını olumsuz etkiler (Lidon ve ark., 1993). Bakır toksisitesinin hıyar bitkisindeki fotosentez oranı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 0 ve 10 $\mu g/g$ Cu uygulanmıştır. Hıyar yapraklarının bakır stresine karşı oluşturdıkları tepkiler büyüme dönemine göre değişmiştir. Fotosentezin olgun yapraklarda kontrole göre %52, genç yapraklarda ise %27 oranında azaldığı belirlenmiş olup, fotosentez oranının olgun yapraklarda daha fazla azalmasının nedeni olarak; olgun yapraklardaki stomal hareket ve dolayısıyla CO_2 asimilasyonun daha fazla azalması gösterilmiştir (Vinit-Dunand ve ark., 2002).

Ağır metal stresine cevaben bitkiler, çok miktarda prolin biriktirir. Birçok bitkinin ağır metal stresine maruz kaldığında prolin biriktirdiği gösterilmiştir (Bassi ve Sharma, 1993; Costa ve Morel, 1994; Talanova ve ark., 2000). Bununla ilgili olarak Çoşkun (2020) tarafından yapılan çalışmada dışsal olarak belirli konsantrasyonlarda uygulanan prolinin bakır fazlalığına karşı yatıştırıcı etkiler gösterdiği sonucuna ulaşmıştır.

Antioksidan enzimler değişen çevresel şartlar altında aktifleşirler ve birçok bitkide stres toleransı ile ilişkilidirler (Kadioglu ve Terzi, 2007). Farklı konsantrasyonlarda (Kontrol, 50, 100, 250, 500, 1000 ve 1500 μM) Cu uygulanmış mısır fidelerindeki antioksidan enzim aktiviteleri ile ilgili bir çalışma yapan Eryılmaz (2007), bitkiler Cu'nın teşvik ettiği oksidan strese karşı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemlerini düzenleyerek yanıt vermektedir. Cu'a bağlı fitotoksisitenin oksidan stresten kaynaklandığını gösterir şekilde, bakırın toksik dozlarına maruz bırakılmış fidelerin yüksek düzeylerde reaktif oksijen türlerini (ROS) ürettiği ve ilgili antioksidan bileşik ve enzimlerinin aktivitelerinin değiştiği ortaya konmuştur.

Bitkilerin strese karşı tolerans artırmasında antioksidan sistemlerin aktif hale getirilmesi önemli rol oynar. Antioksidan aktivite özelliğine sahip fenolik bileşikler, yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran serbest radikallere hidrojen vererek onları etkisiz hale getirmektedir (Es-Safi ve ark., 2007; Ruiz ve ark., 2003).Yapılan bir çalışmada; tuz stresi altındaki iki farklı mısır çeşidinde yapraklarında oksidatif etkilere karşı polifenol değişimi incelenmiştir. Tuz stresi altında yapraklarda polifenol birikimi görülmüştür. Genç yapraklarda polifenol birikimi yaşlı yapraklardan daha fazla

artmıştır. Genç yapraklar reaktif oksijen türlerine karşı bitkinin daha korunaklı olmasını sağlamıştır. (Hichem ve Mounir, 2009).

Mısır bitkisi üzerine yapılan bir çalışmada, kadmiyum (Cd) stresine maruz kalan genç mısır fidelerine (*Zea mays L.hibrit*) salisilik asit (SA) uygulamasının etkisi incelenmiştir. SA uygulaması Cd'ın toksik etkisinin neden olduğu oksidatif hasarı azalttığı görülmüştür (Szalai ve ark., 2005).

Stresin etkilerini inceleyen bir çalışmada, mısır fidelerine uygulanan bakır klorür (CuCl_2) bitkide bakır konsantrasyonunun artışına bağlı olarak prolin içeriği artış göstermiştir (Wen ve ark., 2013). Yapılan bir çalışmada artan konsantrasyonlarda bakırın mısır köklerinde çeşitli aktivitelerin azalmasına ve kök hücrelerinde fizyolojik hasarlara neden olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2014).

Anjum ve ark. (2014), bitkilerin kuraklık stresine morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal cevabı ile ilgili olarak yapmış oldukları çalışmalarında, kuraklık stresinin büyümeyi, kuru maddeyi ve elde edilen ürün verimliliğini olumsuz etkilediğini, ayrıca stomaların su eksikliğinde kapanmasına paralel olarak su alımında ve fotosentez seviyesinde azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Kasim ve ark. (2013), buğday bitkisinde kuraklık stresinin neden olduğu etkileri bakterilerle yenmeye çalışmışlardır. Yaptıkları çalışmada kuraklık stresinin, stresin 7. gününde ölçülen parametrelere göre taze ağırlık, kuru ağırlık ve su içeriğinde aşırı miktarda bir azalma gösterdiğini belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmalar kuraklık stresinin bitkilerde yaprakların nispi su miktarının ve su potansiyelinin azalmasına neden olarak, fotosentetik reaksiyonları olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir (Lawlor ve Cornic, 2002). Kuraklık stresinin bitki yapraklarındaki fotosentetik pigment miktarının azalmasına yol açtığı da belirlenmiştir (Richardson ve arkadaşları, 2004)

Bitki hücrelerinde turgor basıncının sürekliliği, büyümenin sağlanabilmesi için önemli bir faktördür. Ayrıca kuraklık stresi altındaki bitki hücrelerinde birikim gösterdiği bilinen prolin adlı aminoasidin, su eksikliğine karşı bitki hücrelerinin adaptasyonunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Hare ve Cress, 1997). Tekiş (2016) kuraklık stresi (%25 PEG konsantrasyon) altındaki mısır fidelerine dışarıdan selenyum ($5 \mu\text{M}$ ve $15 \mu\text{M}$) uygulamasının prolin ve lipid peroksidasyonu seviyelerine, büyüme parametreleri, su durumu, glisin betain içeriği, karbonhidrat içeriği üzerine etkisini incelemiş ve selenyumun stres koşullarında bitkinin toleransını arttırmada olumlu etki gösterdiğini bildirmiştir.

Kuraklık stresine maruz bırakılan arpada dışsal poliamin ön uygulamasının fizyolojik ve moleküler etkilerini incelemiştir. Özmen (2020) Yapmış olduğu çalışmada poliaminlerin kuraklık stresi altında fide büyümesini, tohum çimlenmesini gibi fizyolojik parametrelerle, mitotik indeks, hücre döngüsü ve toplam protein miktarları üzerinde iyileştirici etki gösterdiğini kaydedilmiştir.

Noman (2018), kuraklık stresi altında turp bitkisine dışardan ilave olarak verilen askorbik asidin (C vitamini) fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini incelemiştir. Buna göre ilave verilen askorbik asit, strese bağlı olarak azalma gösteren büyüme, biyokütle ve fotosentetik pigmentler üzerine iyileştirici etki gösterdiğini belirtirken, strese cevap olarak üretilen SOD ve POD miktarında artış olduğunu ispat etmişlerdir

Shao ve ark. (2018), bambu bitkisine eksojen olarak verilen poliaminlerden spermidinin (Spd) kuraklık stresi üzerine yaptıkları çalışmada eksojen olarak uygulanan Spd'in bitkinin bağıl su içeriği miktarında, klorofil miktarında artış , süperoksit serbest radikali, MDA, POX ve CAT aktivitelerini normal seviyeye getirmiş. Eksojen olarak verilen Spd'in kuraklık stresinin neden olduğu bir dizi fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri etkili bir şekilde hafifletebileceğini belirtmişler.

Sadiq ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada kuraklık stresi şartlarında Maş Fasulyesi (*Vigna radiata*) bitkisinde bir lipofilik antioksidan olan E vitaminin (alfa tokoferol) etkisini incelemiştir. Yaptıkları çalışmaya göre, su stresi koşullarında eksojen olarak E vitamini uygulaması sonucunda toplamda çözünür protein, çözünebilir şeker, prolin, fenolikler, toplam amino asit, klorofil a, b, SOD, POD ve CAT miktarlarında önemli derecede iyileşme kaydetmişler. Çalışmamızda da dışarıdan verilen Ia maddesi ile kuraklık stresinin etkilerine bakılmıştır, bu açıdan çalışmamıza benzer bir çalışmadır.

Avşar (2018) tarafında yapılan bir çalışmada, kuraklık stresi altında fenilalanin uygulamasının reyhan (*Ocimum basilicum L.*) bitkisinde antioksidan aktiviteleri, fenolik bileşikler ve stres parametreleri incelenmiştir. Kuraklık uygulamasına bağlı olarak yeşil ve mor reyhan genotiplerinde yaş ve kuru ağırlıkta protein içeriğinde, total klorofil, klorofil a, klorofil b ve karotenoid miktarları önemli oranda azalttığı kaydetmiştir. Kuraklık stresi altında SOD aktivitesinde artış. POD aktivitesinde azalma kaydetmiştir.

Bitkiler maruz kaldıkları stresli koşullarla mücadele etmek ve hayatta kalabilmek için birçok sisteme sahiptirler. Bu sistemlerden en önemlilerden birisi de enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerden oluşan antioksidan sistemdir. Antioksidan sistem stresli koşullarda devreye girer ya da aktiviteleri artar (Fu ve Huang,

2001; Zhao ve ark., 2010). Doğan ve Aslıhan (2013), kuraklık stresine karşı borun antioksidant enzimler üzerine etkisi araştırılması amacıyla soya (*Glycine max.* L., cv., “A3935”) tohumlarına bor uygulamışlardır. Çalışmaya göre borun CAT aktivitesinde artışa, GR, APX ve SOD aktivitelerinde azalma neden olduğunu kaydetmişlerdir.

Kuraklık hücre bölünmesini etkileyerek besin elementi alınımının azalmasına ve büyüme hızının düşmesine neden olmaktadır. Bununla ilgili olarak Aydın ve ark. (2016), kuraklık stresi altındaki buğdayın (*Triticum aestivum* L.) fide gelişimi ve hücre bölünmesi üzerine putresin uygulaması yapmışlardır. Araştırmaya göre; kuraklığın şiddeti artıkça kök sayısı, kök uzunluğu, koleoptil uzunluğu, sürgün uzunluğu ve hücre bölünmesi çok önemli derecede azalmıştır. Diğer taraftan, putresinin özellikle 1 mM’lık dozu, PEG 6000 ile oluşturulan kuraklığın olumsuz etkilerini azaltmıştır.

Sajedi ve ark. (2011), kuraklık stresi altında mısır (*Zea mays* L.) bitkisine selenyum (Se) ve diğer mikro besin uygulamalarını yapıp antioksidan aktiviteleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma bulgularına göre, stres seviyesinin artmasıyla eklenen Se ve mikro besin uygulanması kuraklık stresi altındaki mısır tanelerinde verime neden olduğunu kaydetmişlerdir.

Bitkilerin büyüme ve gelişmesini etkileyen çok fazla faktör vardır. Günümüzde hızla artan sanayileşme ve su kaynaklarının dengesiz kullanımı bitkileri olumsuz etkilemektedir. Bununla beraber olarak stres etkilerini en aza indirmek için bitkilere dışsal uygulamalar yapılmaktadır. Yapılan literatür taramasında hem kuraklık stresi hem de bakır stresi altındaki mısır bitkisine aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim maddesinin ön uygulamasını ele alan her hangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Strese karşı yapılan çalışmalarda streslerin olumsuz etkileri ne kadar çok azaltılırsa tarımsal verim o kadar artar. Mevcut çalışmada, hem kuraklık stresinin hem de bakır stresinin bitkiler üzerinde oluşturduğu olumsuz etkilerin iyileştirilmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada stres koşulları üzerine etkileri incelenen Aseton O-(4-Klorofenilsülfonil)oksim maddesi sentetik olarak elde edilmiştir. Uygulama yapılan mısır tohumları (Ada 523) ise Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. Daha önceden temin edilen tohum ve Ia maddesi denemenin kurulması aşamasına kadar +4 °C'de saklandı. Toz halde temin edilen Ia maddesi çözelti haline getirilerek yine +4 °C'de saklandı.

Ada 523 mısırı FAO 700 grubundadır. Yaprakları yeşil, taneleri sarı atdışidir. Yapraklarının şekli dik ve geniş yapıdadır. 130-135 günde yetişen, boyu 265-300 cm olan sağlam saplı ve geniş yapraklı mısır çeşididir. Yaklaşık olarak koçan büyüklüğü 130-150 cm ve silindirik ve orta düzeydedir Verim olarak 1350-1650 kg/da tane olarak ise 9-10 ton/da silaj verimine sahiptir. Tanelerinde protein oranı % 8.6 oranındadır. Ada 523 mısırının en belirgin özelliği yaprak yanıklığı, sap ve koçan çürüklüğüne dayanıklılığıdır.

3.2 Yöntem

Aseton O- (4-klorofenilsülfonil) oksim literatürde sentezlenmiş yöntemle göre hazırlanmıştır. Asetonoksim (13.70 mmol), DMF (4mL) ve trietilamin (1.9 mL), 100 mL'lik şişeye yerleştirilerek şişe buz banyosuna daldırılarak ve manyetik bir karıştırıcı üzerine karıştırılmıştır. Daha sonra 4-klorofenilsülfonil klorür (13.70 mmol) dikkatlice parça parça 5-10 dakika karıştırılarak eklenmiştir. Elde edilen reaksiyon karışımı 1 saat buz banyosunda tutularak karıştırma işlemi yapılmıştır. Daha sonra reaksiyon karışımının 50 mL buzlu su ilave edilerek yavaşça seyreltilmesiyle beyaz katı oluşturulmuştur. Bu ham ürün, vakum altında süzme ve bir kurutucuda kurutulma işlemi yapılmıştır. Kuru beyaz katı, heksan-benzen (5: 1) karışımından (1.962 g,% 58, en 89-92 ° C) kristalleşmiştir (Korkmaz, 2021).

Tohumlar Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında bitki büyütme odasında kontrollü koşullarda (22 °C gündüz/18 °C gece sıcaklığında, %65±5 bağıl nemde ve 400 µmol m⁻²s⁻¹ ışık yoğunluğunda) saksılara ekilerek belirli sürelerle sulama yapılarak, 25±3 gün düzenli olarak kontrol edildi (Şekil 5).



Şekil 5. Mısır fide oluşumu

Deneysel amaçlar için yeteri olgunluğa ulaşan mısır fideleri toprak yüzeyinden 2 cm yukarıdan kesilerek etiketlendi. Kesim yapıldıktan hemen sonra mısır fidelerinin yaralanma stresini atmak için bir saat saf suda bekletildi (Şekil 6).



Şekil 6. Mısır fideleri kesildikten sonra, yaralanma stresini atlatması için bir saat süre ile saf suda bekletilmesi

3.2.1 Aseton O-(4-Klorofenilsülfonil)oksim maddesinin en iyi konsantrasyonun belirlenmesi

Çözelti dimetil sülfoksit (DMSO) haline getirilen Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim farklı konsantrasyonlarda bitkilere uygulayarak iyileştirici konsantrasyonu belirlendi. Kesilmiş olan fidelere aşağıdaki gibi 8 farklı konsantrasyonlarda Ia ön uygulaması yapıldı (Çizelge 4).

Çizelge 4. Uygulama grupları (PEG: polietilen glikol)

1.	6 saat saf su+12 saat %3 PEG
2.	6 saat 0.01 mM Ia+12 saat %3 PEG
3.	6 saat 0.05 mM Ia+12 saat %3 PEG
4.	6 saat 0.25 mM Ia+12 saat %3 PEG
5.	6 saat 0.5 mM Ia+12 saat %3 PEG
6.	6 saat 0.75 mM Ia+12 saat %3 PEG
7.	6 saat 1 mM mM Ia+12 saat %3 PEG
8.	6 saat 5 mM mM Ia+12 saat %3 PEG

Çalışmanın ilk aşamasında uygulanacak olan **Ia** konsantrasyonunu tespit etmek için kesilmiş fidelere ön uygulamalar yapıldı. H₂O₂ ve MDA içeriği üzerine yapılan ölçümler sonucunda 0.66 mM konsantrasyondaki **Ia** maddesinin uygulanmasına karar verildi.

3.2.2 Stres uygulaması

Stresin olumsuz etkilerini hafifletici konsantrasyon belirlendikten sonra 6 farklı deney grubu düzeneği kuruldu (Çizelge 5).

Çizelge 5. Uygulama grupları

1)	18 saat saf suda kontrol grubu	(K)
2)	6 saat (Ia), 12 saat saf su	(Ia)
3)	6 saat saf su, 12 saat %3'luk PEG	(Ku)
4)	6 saat saf su, 12 saat 1mM CuSO ₄ .5H ₂ O	(Cu)
5)	6 saat (Ia), 12 saat %3'luk PEG	(Ia +Ku)
6)	6 saat (Ia), 12 saat 1mM CuSO ₄ .5H ₂ O	(Ia +Cu)

(K: kontrol, Ia: Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim, Ku: kuraklık stresi, Cu: bakır stresi)

Uygulama yapmak için yukarıdaki her grup için altı mısır fidesi kesildi.

Uygulamalardan sonra elde edilen fideler aşağıdaki parametrelere bakılması için uygun bir şekilde -20 °C’de saklandı. Strese bitki yanıtlarının belirlenmesi için: HPLC ile fenolik madde içeriği, FAAS ile bakır içeriği, H₂O₂ içeriği, malondialdehid içeriği, fotosentetik pigment içeriği, prolin içeriği, protein içeriği spektrofotometrik olarak belirlendi. Yaprak nispi su içeriği ile antioksidan sistemin önemli enzimleri olan CAT, GPX, SOD ve APX enzim aktivitelerinin tayini yapıldı.



Şekil 7. Stres uygulanması ve la uygulanması ve belirlenen sürelerde bekletilmesi

3.2.3 Lipid peroksidasyonun miktarı tayini

Malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin göstergesi olarak kullanılır. Lipid peroksidasyonun bir ürünü olan malondialdehid içeriği Heath ve Packer (1968) metodu kullanılarak ölçüldü. Bu metod bir stres göstergesi olan lipid peroksidasyonu için kolay, uygun ve hızlı bir yöntemdir. MDA Spektrofotometrede rengini en iyi 532 nm’de verir ve TBA (tiyobarbitürik asit) ile kırmızımsı bir renk verir reaktif ürün olarak MDA TBA’yi kullanır. Lipid peroksidasyonu için elde edilen veriler formülde ($A = E \cdot c \cdot l$) yerine konularak malondialdehit konsantrasyonu hesaplandı. Bu yöntem için, daha önceden kesilen ve uygun şartlarda muhafaza edilen mısır

numunelerinden 0.25 gr alındı. Ekstraksiyon çözeltisi için % 0.1 TCA hazırlamak için 50 ml için 0.05 gr TCA tartılıp ekstraksiyon çözeltisi hazırlandı. Kısaca 0.25 taze yaprak dokusu, 5 ml % 0.1 TCA ile öğütüldü. Tüm numune gruplarına aynı işlem yapıldı. Homojenat 15000 g'de 5 dakika santrifüjlendi. Süpernatantın 1 ml'sine 4 ml %20 TCA içerisinde hazırlanmış %0.5 tiobarbiturik asit ilave edildikten sonra, süpernatanın absorbansı 532 nm'de kaydedildi. Değerler 600 nm'de okunan absorbans çıkarılarak spesifik olmayan absorpsiyon için düzeltildi spesifik olmayan absorpsiyon için okunan değer hesaptan çıkarıldı.

3.2.4 Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarı tayini

Hidrojen peroksit tayini için birçok yöntem geliştirilmiştir. Çalışmamızda H₂O₂ içeriği Velikova ve ark, (2000) metodu kullanıldı 50 ml % 0.1 lik TCA ekstraksiyon çözeltisi hazırlamak için 0.05 gr TCA tartılıp üzerine 0.1 gr aktif kömür eklendi ve numunelerden 0,25 gr alınarak 5 ml % 0.1 TCA içerisinde homojenize edildi. İki tane 2.5 ml lik santrifüj tüplerine aktarıldı. Her uygulama grubuna aynı işlem yapıldı. Homojenat 15,000 g'de + 4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttan 1000 µl alınarak üzerine 1000 µl 10 mM potasyum fosfat tamponu ve 1500 µl 1 M KI ilave edildikten sonra vortekslenip 15 dakika karanlık ortamda bekletildi. Tüplerde sarı renk meydana geldi ve numuneler 390 nm'de spektrofotometredeki belirlenen standart grafikten okundu.

3.2.5 Prolin tayini

Prolin içeriğinin belirlenmesi ninhidrin yöntemine göre yapıldı. Ekstraksiyon çözeltisi için % 3'lük sülfosalisilik asit hazırlandı. Taze yaprak numunelerden 0.25 gr yaprak dokusu alınarak 5 ml % 3'lük sülfosalisilik asit ile homojenizasyon edildi. 22 °C'de 5,000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Ninhidrin, asetik asit ve orto-fosforik asit kullanılarak hazırlandı. Süpernatant kısımlarından 1 ml alınarak üzerine 1 ml glisial asetik asit ve 1 ml ninhidrin konuldu. Daha sonra tüplere konulan örnekler 1 saat 100 °C'de su banyosunda tutuldu ve reaksiyon buzda sonlandırıldı. Soğutma işleminden sonra örneklerin üzerine 1 ml toluen eklenerek, vorteksle karıştırıldı. Santrüj tüplerine alınan örnekler 5,000 g'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası pipetle üst faz sarsılmadan spektrofotometre küvetlerine alındı ve 520 nm dalga boyunda spektrofotometrede her bir örnek üçer tekrarlı olarak okundu. Sonuçlar prolin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplandı yaş ağırlık (YA) başına µmol prolin g⁻¹ olarak ifade edildi.

3.2.6 Fotosentetik pigmentlerin tayini

Pigment sentezinin bakır stresinden etkilendiği bilinmektedir. Fotosentetik pigmentlerin (karotenoid ve klorofil) tayini Arnon (1949)'a göre belirlendi. Tampon için %80'lik aseton çözeltisi hazırladı mısır numunelerinden 0.1 gr tartıldı. Alınan numuneler tüplerde % 80'lik aseton çözeltisine aktarıldı. +4 °C'de 24 saat bekletildi. Daha sonra ekstraksiyon işlemi her numune için yapıldı (Bu işlem sırasında asetonun uçuculuğu göz önünde bulundurulmalıdır). Homojenize edilen numuneler iki tane 2.5 ml santrifüj tüplerine aktarıldı. 5 dakika 5000 g'de santrüj yapıldı. Santrifüj sonrası daha büyük tüplere aktarılan süpernatantın üzerine 9 ml aseton çözeltisi eklenerek spektrofotometre küvetlerine alındı. Numuneler spektrofotometrede 450 nm, 645 nm ve 663 nm de okundu, her bir örnek tekrarlı olarak okundu.

3.2.7 Yaprak su içeriği

Yaprak su içeriğini belirlemek için nisbi su içeriği (RWC) ölçüldü Barr ve Weatherley (1962). Örneklerin taze ağırlıkları belirlendi ve not edildi (Yaş Ağırlık). Sonrasında örnekler 16 saat süre ile saf suda ve 4 °C'de bekletildi ve sonrasında ağırlıkları tekrar tartıldı (Turgit Ağırlık). Örneklerin fazla suyu alınarak 16 etüve alındı ve 65 °C 72 saat süre ile tüm su içeriklerinin uzaklaşması sağlandı (Kuru Ağırlık). Elde edilen sonuçlar Smart ve Bingham (1974) denkleminde yerine konularak nisbi su içeriği belirlendi.

3.2.8 Antioksidan enzim aktivitelerinin tayini

3.2.8.1 Enzimler için ekstrakt hazırlanması

GPX, SOD, APX, CAT enzimlerinin ölçümleri için tek seferde ekstrakt hazırlandı. Ekstraksiyon için 50 mM pH 7'lik potasyum fosfat tamponu (K_2HPO_4) ve 1 mM EDTA karıştırılıp hacim 100 ml tamamlandı. Yaprak numunesinden 0.5 gr alındı. Sıvı azot, 0.05 gr % 1 PVPP(polivinilprolidon) ve 5 ml ekstraksiyon çözeltisi eklenip ekstre edildi. Numuneler 20000 rpm +4 °C'de 20 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonrası pipetle üst faz sarsılmadan yeni tüplere aktarıldı. Elde edilen süpernatant enzim aktivitesinin tayini için kullanıldı.

3.2.8.2 Guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesinin tayini

GPX'in, hücre duvarında aktif olduğu için H_2O_2 'nin çıkarılmasında belirleyici enzim bir olarak kabul edilir. Guaiakol peroksidaz aktivitesi, Urbanek ve ark., (1991) yöntemine göre belirlendi. Enzim aktivitesini belirlemek için 25 mM asetat tamponu (pH 5), 10 mM guaiakol çözeltisi hazırlandı ve 30 μ l enzim ekstraktı içeren karışımının 470 nm'de 1 dakika süreyle ölçümler okunarak belirlendi. Guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesi $\epsilon=26.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ekstrikasyon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

3.2.8.3 Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini

Askorbat H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda anahtar rol oynar. Askorbat peroksidaz aktivitesi Nakano ve Asada (1981) tarafından belirlenen yöntemle askorbat oranı izlenerek belirlendi. Bu yöntemle 290 nm'de absorbansdaki askorbat miktarındaki optik yoğunluktaki azalmaya bağlı olarak belirlendi. Enzim ekstraksiyonu için: 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 250 μ M askorbik asit (ASC), 5 mM H_2O_2 ve 20 μ l enzim ekstraktı içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımı spektrofotometrede 290 nm dalga boyunda 0. ve 60. saniye arasındaki değerler alındı. Değerlendirme bir dakika süreyle ölçümler okunarak belirlendi. Askorbat peroksidaz aktivitesi $\epsilon=2.8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ekstrikasyon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

3.2.8.4 Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini

Katalaz kinetiği normal paterna uymaz bu nedenle tayini için tercih edilen ultraviyole (UV) spektrofotometredir. Katalaz aktivitesi, Aebi (1983) yöntemine göre belirlendi. Enzim aktivitesi, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7), 30 mM H_2O_2 ve 30 μ l enzim ekstraktı içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımının 240 nm'de, Uygun bir tampon içerisinde bulunan H_2O_2 'in katalaz enzimi etkisiyle yıkılması sonucunda 240 nm'de absorbansta azalma meydana gelir. Absorbansta meydana gelen bu azalma, hızı katalaz aktivitesi ile orantılıdır. 25 °C'de 5 dakika süreyle absorbansların okunmasıyla belirlendi. Katalaz aktivitesi, H_2O_2 için $\epsilon=39.4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ekstrikasyon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

3.2.8.5 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin tayini

Süperoksit dismutaz aktivitesi (Beauchamp ve Fridovich, 1971) metoduna göre belirlendi. 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 0.1 mM EDTA, 13 mM metiyonin, 75 μ M nitro blue tetrazolyum (NBT) ve 50 μ l ekstrakt ihtiva eden 1 ml

reaksiyonun başlaması için en son su ile hazırlanan 2 µM riboflavin ilave edildi. Bu karışımın numuneleri 10 dakika boyunca 375 µmol m⁻² s⁻¹ şiddetinde beyaz ışığa maruz bırakıldı. Oluşan mavi renkli karışım saf su ile sıfırlanan spektrofotometrede 560 nm’de absorbanların okunmasıyla belirlendi.

3.2.9 HPLC ile fenolik madde içeriğinin belirlenmesi

Ekstraksiyon tamponu olarak; 10 ml Acetonitril/90 ml %1’lik Asetik asit oranındaki 100 ml solüsyona 100 ml Metanol ilave edilerek 200 ml ekstraksiyon tamponu elde edildi. 1 gr bitki yaprak numunesine 10 ml ekstraksiyon tamponu ilave edildikten sonra, doku parçalayıcı cihaz ile dokular iyice parçalandı. Santrifüje edilen ekstraksiyondan 50 µl alınarak 0.45 µm’lik membran filtreden geçirildikten sonra viyallere aktarılarak HPLC cihazına verildi (Tapan, 2016). Ölçümler Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Merkezinde hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi.

3.2. Bakır içeriğinin belirlenmesi

1000 mg taze yaprak numunesi kurutuldu. Birkaç damla su ile toz haline getirilen numunelere 5 ml nitrik asit eklendikten bir süre sonra evapore edildi. Kömürleşmiş malzeme görünmeyene kadar parçalamaya devam edildi. 5 ml nitrik asit ve 5 ml perklorik asit ilave edildi. Solüsyonun rengi berraklaşana kadar hafifçe ısıtıldıktan sonra tekrar evapore edildi. Filtre kağıdında süzüldü ve süzüntü balon jode 50 ml tamamlandıktan sonra Agilent Flame Atomic Absorption Spectrometry cihazında ölçüm yapıldı. Ölçümler Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Merkezinde hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi.

3.3 İstatistiksel Analizler

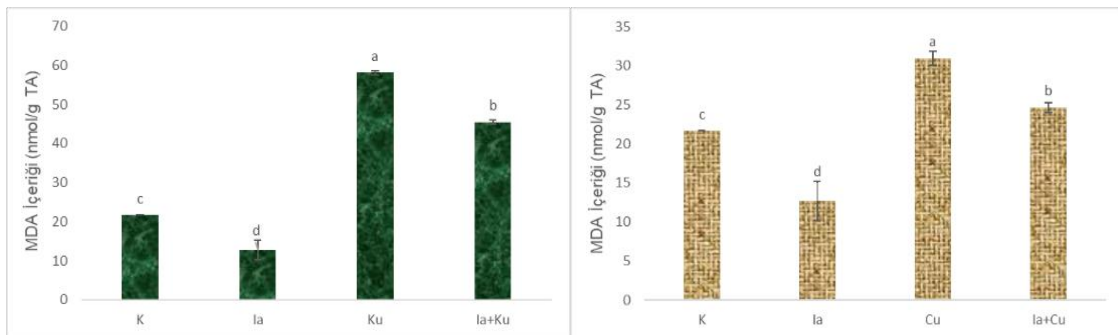
Çalışma deneme, tesadüf parseller deneme desenine göre en az üç tekrarlı olarak planlandı. Stres ve ön muamele işlemlerine bağlı olarak yapılacak örneklemeler ve ekstraksiyonlar sonucu elde edilecek olan sayısal ve oransal değerler, windows tabanlı, lisanslı bir paket program olan Statistic Package for Social Sciences (SPSS) ile bilgisayar ortamında ANOVA varyans analiz testleri, korelasyon ve regresyon testleri ile değerlendirildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

4.1 Stres Altındaki Mısır Fideleri Üzerine Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)Oksim Uygulamasının Stresi Parametreleri Üzerine Etkileri

4.1.1 Lipid peroksidasyonu üzerine etkisi

MDA içeriği, oksidatif stres koşulları tarafından oluşturulan önemli bir parametredir (Irigoyen ve ark., 1992). Uygulanan kuraklık (%3'lük PEG) ve bakır (1mM CuSO₄.5H₂O) stresi lipid peroksidasyonu üzerinde kontrol grubuna göre önemli bir artışın olduğu tespit edildi. Ayrıca Ia uygulaması hem kuraklık hemde bakır stresi uygulamalarında kontrollerine göre önemli iyileştirmeler sağladığı belirlendi. MDA miktarında gözlenen değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Lipid peroksidasyon oluşumu, stresörlere maruz kalmanın bir sonucu olarak serbest radikaller tarafından indüklenebilir (Thompson ve ark., 1987). Mevcut çalışmaya paralel olarak, tütün bitkisine uygulanan kuraklık ve tuz stresi MDA içeriğinde bir artışa neden olmasına rağmen, uygulanan melatonin ile MDA içeriğinde önemli bir azalmanın olduğu görülmüştür (Armağan ve Memet, 2018). Çalışmamızdan elde edilen bulgular ışığında MDA içeriğinin Ia uygulaması ile azalmış olması Ia'nın strese karşı antioksidan fonksiyonlara sahip olduğunu ya da antioksidan sistemin güçlü bir şekilde aktive olmayı sağladığını düşündürmektedir (Şekil 8).

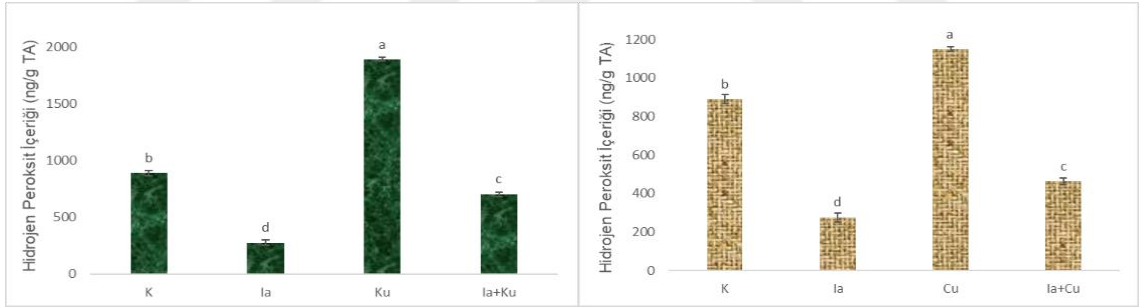


Şekil 8. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.2 Hidrojen peroksit içeriği üzerine etkisi

Redoks aktif bir ağır metal olan bakır, redoks reaksiyonlarına neden olur bunun sonucu olarak süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) ve H_2O_2 oluşumuna neden olur (Hossain ve ark., 2012). Daha sonra, Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinen H_2O_2 ve süperoksidin ($O_2^{\bullet-}$)

reaksiyonu ile hidroksil radikalleri ($\bullet$ OH) oluşur. Bakır gibi hücrel demir ve geçiş metal içeriklerinin artması, Fenton reaksiyonunun meydana gelmesine neden olarak oksidatif hasara neden olabilir (Smirnoff, 1998). Oksitleyici özellikleri nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir (Mittler, 2006). Çalışmamızda yapılan uygulamalar kontrol grubuna göre stressiz ortamda uygulanan Ia kimyasal maddemizin H_2O_2 miktarını önemli ölçüde düşürdüğü tespit edilmiştir. Her iki stres koşulunda içeriği artan H_2O_2 'nin, Ia uygulaması ile düşmüş olması Ia maddesinin olumlu etkisi olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada strese bağlı olarak artan H_2O_2 içeriğinin Ia ön uygulaması ile H_2O_2 'nin temizlenmiş olması ve ROS'ların zararının önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Lui ve ark, (2019) yılında *Oryza sativa* tohumları üzerinde yaptıkları bir çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde kuraklık stresinin MDA içeriğini artırdığını belirtmişlerdir. Ia maddesinin yapısında bulunan elektron çekici $-Cl$ grubu radikallerin kararlılığını artıracak özelliğe sahiptir (Korkmaz, yayındaki kabul edilmiş makale). Bu durumda Ia maddesinin streslerle oluşan H_2O_2 'nin temizlenmesinde antioksidan görevi gördüğü söylenebilir (Şekil 9).



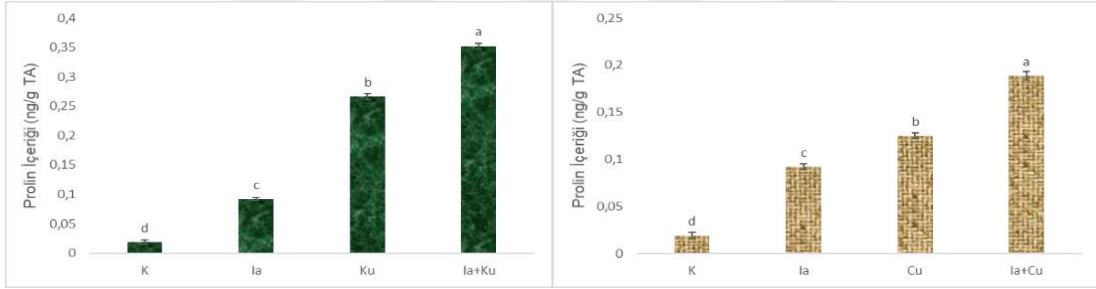
Şekil 9. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının hidrojen peroksit içeriği üzerine etkisi.

Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.3 Prolin içeriği üzerine etkisi

Bakır stresine karşı, bitkiler hücrelerin osmotik uyumunu sağlamak üzere prolin gibi koruyucu organik bileşiklerin birikimini uyarır (Eryılmaz, 2007). Bitki, prolin artışı ile strese karşı adaptasyon mekanizması geliştirir (Saradhi, 1991). Kadıoğlu ve ark. (2002) kuraklık stresi altında *C. setosa* bitkisinde stresin derecesine bağlı olarak osmotik ayarlama sağlamak için yaprakta prolin seviyesinin arttığını belirtmişlerdir. Bakır stresine maruz kalan bitkiler, stresi arttıran prolin içeriğine tepki verir ve daha fazla prolin biriktirir (Ku ve ark., 2012). Çalışmamızda yapılan uygulamalar sonucunda, kontrol grubuna göre tek başına uygulanan Ia kimyasal maddesinin mısırdaki prolin

miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Uygulanan streslerinde prolin içeriğinde beklenildiği gibi önemli bir artışa neden olduğu görülmüştür. Stresler ile birlikte uygulanan Ia maddesi kontrol gruplarına (Ku ve Cu) kıyasla prolin miktarında önemli ölçüde bir artış tespit edilmiştir. Çalışmamıza benzer bir çalışmada bakır stresi altındaki çeltik bitkisinde prolin içeriğinin bakır konsantrasyonunun artışına paralel olarak arttığını rapor etmişlerdir (Thounaojam ve ark., 2012). Jnandabhiram ve Sailen, (2012) tarafından yapılan çalışmada pirinç ve nohut bitkilerinde PEG kullanılarak oluşturdukları kuraklık stresinde total prolin içeriğinin arttığı rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmaya benzer bir başka çalışmada Yetişsin, (2015) tarafından bakır stresi altındaki mısır bitkisine uygulanan H_2O_2 , GSH ve SA ön uygulamasının prolin miktarında belirgin bir artışa neden olduğunu belirtmiştir. Mevcut çalışmadan elde edilen bulguların ışığında, Ia uygulamasının kuraklık ve bakır stresleri altındaki mısır fidelerinde prolin birikimin uyararak hem ozmotik düzenlemeye hem de ROS'ların temizlenmesine katkıda bulunduğu söylenebilir (Şekil 10).



Şekil 10. Bakır stresi ve kuraklık stresi koşullarında Ia uygulamasının prolin içeriği üzerine etkisi.

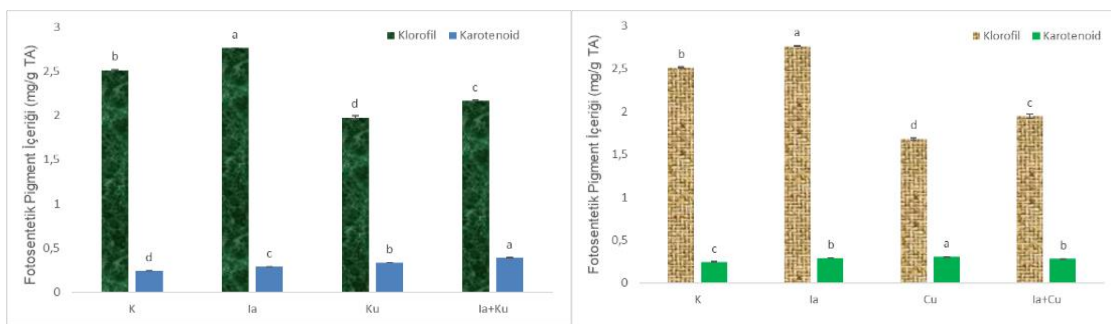
Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.4 Fotosentetik pigment içerikleri üzerine etkisi

Su eksikliği ROS oluşumuna neden olur. ROS, hücrede membran lipitleri, nükleik asitler, proteinler, klorofiller ve makro moleküllere zarar vermektedir (Kacar ve ark., 2006). Bakır stresi koşullarında mısır çeşitlerinde 0.05 mM GSH, 10 mM H_2O_2 ve 0.01 mM SA ön muamelelerinin fotosentetik verim üzerine iyileştirici etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Yetişsin, 2015). Çalışma bulgularına bakıldığında kontrol grubuna göre tek başına uygulanan Ia maddesi toplam klorofil ve karotenoid miktarlarında bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Uygulanan kuraklık ve bakır stresi ise; toplam klorofil miktarında kontrolle göre bir azalma, karotenoid miktarında ise önemli bir artış kaydedilmiştir. Ia+Ku uygulamasında kontrole (Ku) kıyasla hem toplam klorofil hem de karotenoid miktarında artma kaydedilmiştir. Ia+Cu uygulamasında ise kontrole (Cu)

kıyasla toplam klorofil içeriğinde artmaya, karotenoid miktarında azalmaya neden olmuştur. Çalışmamıza benzer bir çalışmada kuraklık stresi altında turp bitkisine dışsal olarak verilen askorbik asidin fotosentetik pigment içeriğinde iyileştirici etkisinin olduğunu kaydedilmiştir (Noman ve ark., 2018).

Ia'nın hem tek başına hem de streslerle uygulanması mısır bitkisindeki toplam klorofil içeriğinde bir artışa neden olmuştur. Kuraklık stresi altında karotenoid içeriğinde bir artış, bakır stresi altında ise karotenoid içeriğinde bir azalış oluşturmıştır. Bu durum Ia maddesinin fotosentetik aygıt üzerinde olumlu etkilerinin olabileceği şeklinde açıklanabilir (Şekil 11).



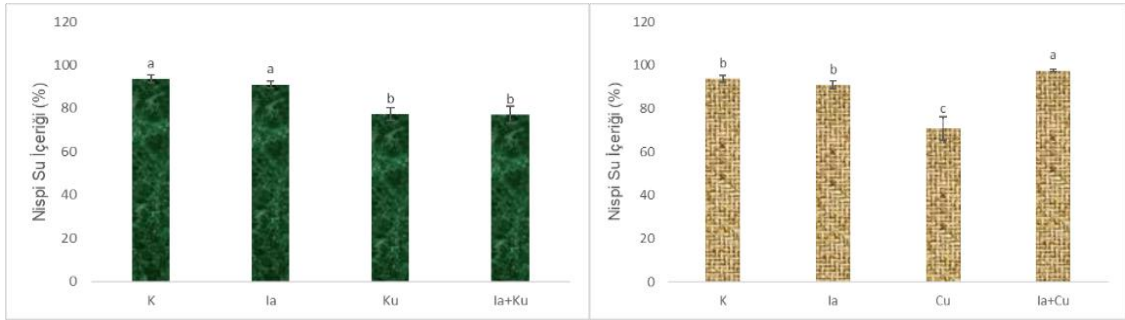
Şekil 11. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının fotosentetik pigment içeriği üzerine etkisi. Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.5 Nispi su içeriği (NSİ) üzerine etkisi

Cu stresi, su potansiyelinin azalmasına neden olur (Chatterjee ve Chatterjee, 2000). Ayrıca, toksik seviyelerde metal iyonlarının bitkilerdeki çeşitli organların su içeriğini azalttığı bildirilmiştir. Bakırın *Silene vulgaris*, *Helianthus annuus* yapraklarının ve *Oryza sativa* sürgünlerinin su içeriklerinde azalmaya neden olduğu bulunmuştur (Rucińska-Sobkowiak, 2016). Kuraklık stresi, RWC içeriğinin azalmasına neden olur ve RWC, kuraklık stresinden etkilenen en önemli parametrelerden biridir (Hussain ve ark, 2019). Kuraklık stresine maruz kalan *Oryza sativa*'nın su içeriğinin azalmasına neden olduğunu ve skandiyum uygulamasının su içeriğini iyileştirdiğini kaydetmiştir (Elbasan ve ark., 2020).

Çalışmamızdan elde edilen bulgular incelediğinde; kontrol grubuna kıyasla stresiz ortamda Ia uygulanması mısır bitkisinin nispi su içeriğinde istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı görülmektedir. Kuraklık ve bakır stresleri altındaki mısır fidelerinin nispi su içeriğinde kontrole göre önemli azalışlar görülmüştür. Ia+K uygulaması kuraklık ile karşılaştırıldığında önemli bir farkın olmadığı gözlenmektedir.

Şaşırtıcı bir şekilde Ia+Cu uygulanan fidelerde nispi su içeriği en yüksek bulunmuştur (Şekil 12).



Şekil 12. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının nispi su içeriği üzerine etkisi.

Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.6 Antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi

Reaktif oksijen türlerini süpürülmesi için antioksidan enzimlerin uyumlu bir şekilde çalışmasına ihtiyaç vardır (Borna ve ark., 2021).

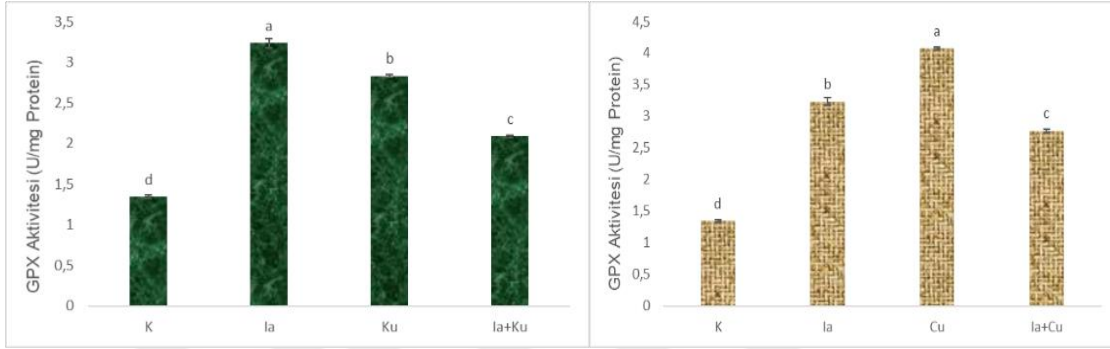
Kuraklık stresi ve bakır stresi altında Ia uygulamasının antioksidan enzimlerden guaikol peroksidaz (GPX), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX), enzimlerinin aktivitelerini nasıl etkilendiği incelenmiştir.

4.1.6.1 Guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesine etkisi

GPX, stres sırasında oluşan H_2O_2 'nin temizlenmesini sağlayarak oksidatif strese karşı koruma görevi yapar. Stres altındaki bitkilerde GPX aktivitesinin arttığı bilinmektedir (Gaspar, 1991). Örneğin yapılan bir çalışmada farklı konsantrasyonlarda uygulanan bakır stresi GPX aktivitesini arttırmıştır (Demirevska-Kepova ve ark., 2004). İran da yaygın bir yayılım gösteren Aslankuyruğu bitkisinin kuraklık stresi altında GPX aktivitesinde artış kaydedilmiştir (Borna ve ark., 2021). Çeşitli stres koşullarında glutatyon peroksidaz familyasına ait gen ailesinin ekspresyon seviyelerinde artış görülmüştür (Chen ve ark., 2017).

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular incelendiğinde; tek başına uygulanan Ia GPX aktivitesinde kontrole göre önemli bir artış görüldü. Bakır ve kuraklık stresi altındaki fidelerde GPX aktivitesinde kontrole göre önemli bir artış görüldü. Ia+Ku uygulamasının Ku uygulamasına göre GPX aktivitesinde önemli bir azalış kaydedildi. Ia+Cu uygulamasının da Cu uygulamasına göre GPX aktivitesinde ise önemli bir azalış kaydedildi. Guaiakol peroksidaz enzimi hidrojen peroksiti suya dönüştürür. Bu nedenle,

strese maruz kalan bitkilerde enzim aktivitesinin artması beklenir. Çalışmamıza benzer bir çalışma da bakır stresi koşullarında prolin ön uygulamasının GPX aktivitesinde azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir (Gill ve Tuteja, 2010). Stresli şartlarda Ia uygulamasının GPX aktivitesinde meydana getirdiği azalmanın bir sonucu olarak; Ia'nın oksidatif strese karşı korumada, H_2O_2 ve lipit peroksidasyon içeriklerini azaltılmasıyla kritik bir rol oynadığı söylenebilir (Şekil 13).



Şekil 13. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının GPX aktivitesi üzerine etkisi.

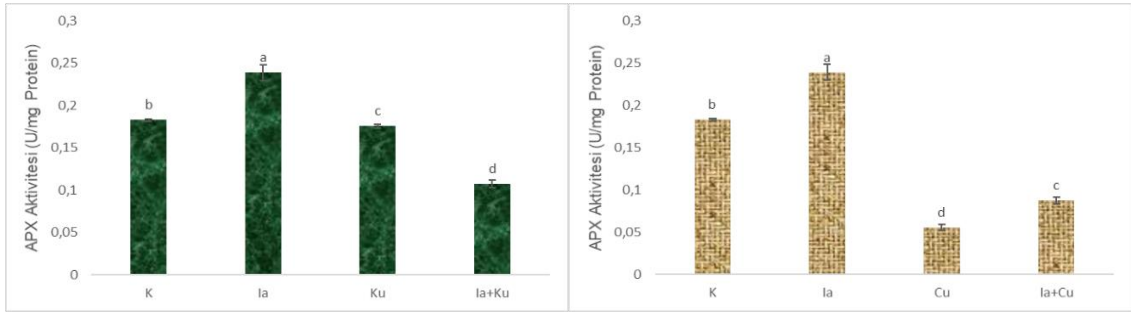
Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.6.2 Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesine etkisi

Askorbat peroksidaz, askorbik asiti kullanarak H_2O_2 ile enzimatik olarak tepkimeye girerek H_2O_2 'nin süpürülmesine yardımcı olmaktadır. H_2O_2 belirli konsantrasyonların üzerinde oldukça zararlı olması nedeniyle detoksifikasyonu çok önemlidir. Kloroplast ve mitokondrilerde H_2O_2 'i elemine etmede en önemli rolü askorbik asit oynamaktadır (Asada, 1999).

APX enzimi aktivitesine ilişkin bulgular incelendiğinde tek başına Ia muamelesi kontrole göre APX aktivitesinde artış kaydedildi. Ia+Ku uygulamasının Ku uygulamasına göre APX aktivitesinde önemli bir azalış kaydedildi. Ia+Cu uygulamasının da Cu uygulamasına göre APX aktivitesinde ise önemli bir artış belirlendi (Şekil 14).

Kabay ve Şensoy, (2016) tarafından yapılan bir çalışmada kuraklık stresi altındaki fasulye çeşitlerinde APX aktivitesinin strese bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada stres altında sodyum sülfidrat (NaSH) uygulamasının askorbat peroksidaz enzim aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2009). Kadmiyum stresine maruz bırakılan mısır fideleri üzerine yapılan bir çalışmada askorbat peroksidaz aktivitesi ölçülmüştür, metal toksitesine bağlı olarak APX aktivitesinde artış kaydedilmiştir (Deveci, 2015).



Şekil 14. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının APX aktivitesi üzerine etkisi.

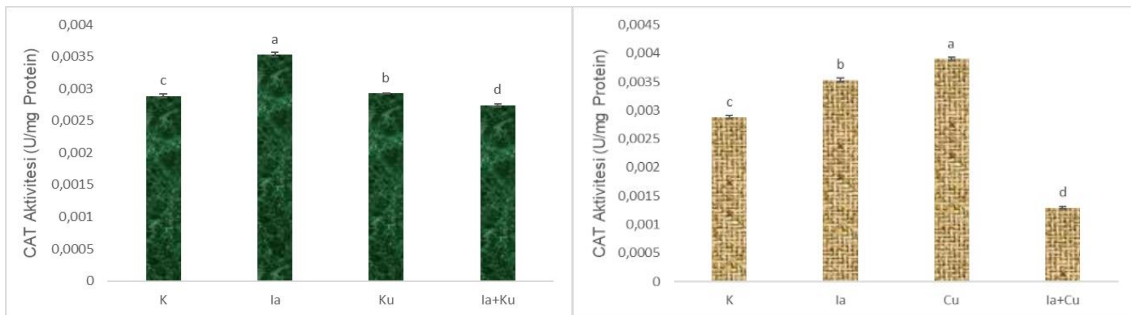
Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.6.3 Katalaz (CAT) aktivitesine etkisi

Bitki hücrelerinde stresli şartlarda oluşan H_2O_2 'nin katalaz enzimi tarafından parçalanabileceği ifade edilmektedir (Feierabend ve ark., 1992).

Çalışmamızın CAT enzimi aktivitesine ilişkin bulgular incelendiğinde stressiz olarak uygulanan Ia maddesi katalaz aktivitesinde kontrole göre artış meydana getirmiştir. Kuraklık ve bakır stresi CAT aktivitesinde kontrole göre önemli bir artışa neden oldu. Ia+Ku ve Ia+Cu uygulamalarında ise Ku ve Cu uygulamasına göre CAT aktivitesinde önemli bir azalış tespit edildi.

Yapılan bazı çalışmalarda; kuraklık stresi altında *Arabidopsis thaliana*da (Kubo ve ark., 1999), soyada (Doğan ve Aslıhan, 2014), alüminyum stresi altındaki buğday fidelerinde (Xu ve ark., 2011), kadmiyum stresi altındaki çeltikte (Hu ve ark., 2009) CAT aktivitesinin arttığı kaydedilmiştir. Çalışmamıza benzer yapılan bir çalışmada kadmiyum stresine maruz kalan zeytin fidanları üzerine prolin ön uygulaması CAT aktivitesini düşürmüştür (Zouari ve ark., 2016). Mevcut çalışmada stres koşullarında özellikle bakır stresi etkisinde katalaz aktivitesi önemli bir şekilde arttığı gözlenmektedir. Stresle uygulanan Ia'nın stresin olumsuz etkilerini hafiflettiği dolayısıyla CAT aktivitesinin azaldığı söylenebilir (Şekil 15).



Şekil 15. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının CAT aktivitesi üzerine etkisi.

Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.6.4 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkisi

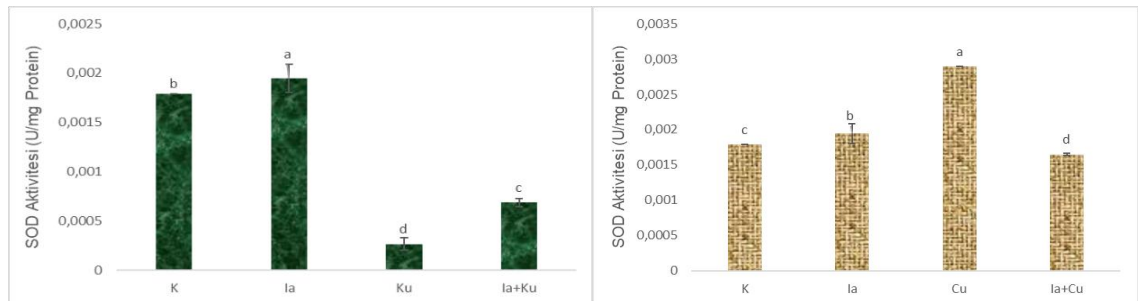
SOD, süperoksit radikalının moleküler su ile etkileşerek hidrojen perokside dönüşümün katalizleyen bir enzimdir. Oluşan hidrojen peroksit ise APX, CAT ve GPX tarafından suya ve oksijene dönüştürülür (Asada, 1999).

SOD enzimi aktivitesinin grafiğini incelediğimizde; stressiz koşulda uygulanan Ia maddesi SOD aktivitesinde istatistiksel olarak kontrole göre bir artışa neden olduğu tespit edildi. Kuraklık stresi altında SOD aktivitesinde önemli derecede azalma, bakır stresi altında SOD aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir artış kaydedildi. Ia+Ku uygulanması SOD aktivitesinde Ku uygulamasına kıyasla artma tespit edildi. Ia+Cu uygulamasında ise SOD aktivitesinde hem kontrole göre hem de bakır stresine göre azalma kaydedildi (Şekil 16).

SOD enzimi bütün canlı organizmalarda süperoksiti temizleyerek hidroksil radikalının oluşum riskini azaltır. Oksidatif strese karşı merkezi bir rolü vardır (Mehlhorn ve ark., 1996).

Kuraklık stresi altında arpa bitkisine 18 saat nanopartikül uygulaması sonucunda SOD aktivitesinde artış kaydedilmiştir (Akpınar, 2017). İngiliz çimi bitkisinin köklerinde SOD aktivitesinin bakır konsantrasyonundaki artışa paralel olarak uyarıldığı bildirilmiştir (Zhao ve ark., 2010).

Çalışmamızda bakır ve kuraklık stresine karşı farklı durumların kaydedilmesi şununla açıklanabilir. SOD enziminin farklı formlarının olması, hücrede farklı yerlerde bulunabilmesi ve SOD enzimini kodlayan genlerin strese duyarlı olması (Dixit ve ark., 2001) çeşitli stresler altında SOD aktivitesinde azalış veya artışa neden olabilir.



Şekil 16. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının SOD aktivitesi üzerine etkisi

Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

4.1.7 Fenolik bileşik içerikleri üzerine etkisi

Yapılan çalışmalarda antioksidan bileşenler ile fenolik bileşenler arasında bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Fenolik bileşikler serbest radikallere H vererek zararlı etkilerini ortadan kaldırmayı sağlamaktadırlar. Stres şartlarında fenolik bileşiklerin miktarında artış görülür. (Kaya ve Artuvan, 2016).

Çizelge 6. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının fenolik bileşikler içeriği üzerine etkisi ($\mu\text{g/g}$).

Fenolik maddeler	K	Ia	Ku	Ia+Ku
Absisik asit	12.46 $\pm$ 0.2 c	11.53 $\pm$ 0.04 d	167.41 $\pm$ 0.2 a	119.03 $\pm$ 0.2 b
Askorbik asit	146.97 $\pm$ 3.5 c	128.78 $\pm$ 0.4 d	149.57 $\pm$ 0.4 b	156.82 $\pm$ 4.3 a
Salisilik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
Gallik	N/A	N/A	N/A	N/A
Trans-p-kumarik asit	17.242 $\pm$ 0.004c	16.53 $\pm$ 0.04 d	19.9 $\pm$ 0.19 b	20.83 $\pm$ 0.005 a
Mirisetin	44.16 $\pm$ 0.5 a	30.42 $\pm$ 0.9 c	41.64 $\pm$ 0.6 b	44.54 $\pm$ 0.5 a
4-hidroksibenzoik asit	35.33 $\pm$ 0.15 b	28.84 $\pm$ 0.08 c	55.0 $\pm$ 0.05 a	11.51 $\pm$ 0.12 d
3,4-Dihidrobenzoik asit	15.29 $\pm$ 0.05 d	16.27 $\pm$ 0.09 c	25.61 $\pm$ 0.13 b	32.17 $\pm$ 0.27 a
Apigenin	17.42 $\pm$ 0.22 c	23.70 $\pm$ 0.19 b	10.15 $\pm$ 0.03 d	27.48 $\pm$ 0.03 a
Kaempferol	N/A	10.07 $\pm$ 0.02 b	12.31 $\pm$ 0.008 a	9.93 $\pm$ 0.004 b
Kurkumin	N/A	N/A	N/A	N/A
Kateşol	31.82 $\pm$ 0.03 a	6.26 $\pm$ 0.25 d	22.30 $\pm$ 0.01 b	11.60 $\pm$ 0.03 c
Vanilik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
Kafeik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
Sinamik asit	8.08 $\pm$ 0.03 b	7.59 $\pm$ 0.002 b	9.51 $\pm$ 0.03 a	9.64 $\pm$ 0.03 a
Kuarsetin	N/A	N/A	N/A	N/A
Fenolik maddeler	K	Ia	Cu	Ia+Cu
Absisik asit	12.46 $\pm$ 0.02b	11.53 $\pm$ 0.004c	36.27 $\pm$ 0.02a	12.72 $\pm$ 0.03b
Askorbik asit	146.97 $\pm$ 0.35b	128.78 $\pm$ 0.04c	122.05 $\pm$ 0.46d	179.23 $\pm$ 0.05a
Salisilik asit	N/A	N/A	6.94 $\pm$ 0.01b	73.42 $\pm$ 0.018a
Gallik	N/A	N/A	N/A	N/A
Trans-p-kumarik asit	17.24 $\pm$ 0.004b	16.53 $\pm$ 0.04c	17.28 $\pm$ 0.03b	19.5 $\pm$ 0.01a
Mirisetin	44.16 $\pm$ 0.05b	30.42 $\pm$ 0.09c	26.48 $\pm$ 0.01d	54.95 $\pm$ 0.07a
4-hidroksibenzoik asit	35.33 $\pm$ 0.15a	28.84 $\pm$ 0.08b	19.99 $\pm$ 0.16c	12.99 $\pm$ 0.12d
3,4-Dihidro benzoik asit	15.29 $\pm$ 0.05c	16.27 $\pm$ 0.09c	21.52 $\pm$ 0.04a	18.96 $\pm$ 0.01b
Apigenin	17.42 $\pm$ 0.22c	23.70 $\pm$ 0.19b	N/A	33.63 $\pm$ 0.02a
Kaempferol	N/A	10.07 $\pm$ 0.02a	N/A	8.67 $\pm$ 0.004b

Kurkumin	N/A	N/A	N/A	N/A
Kateşol	31.82±0.03c	6.26±0.25d	71.94±0.02a	46.83±0.01b
Vanilik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
Kafeik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
Sinamik asit	8.08±0.03c	7.59±0.002c	11.85±0.002b	12.63±0.001a
Rozmarinik asit	6.21±0.004c	6.94±0.002b	N/A	7.30±0.04a
Kuarsetin	N/A	N/A	N/A	N/A

Fenolik bileşikler, absisik asit, askorbik asit, salisilik asit, gallik, trans-p-kumarik asit, mirisetin, 4-hidroksibenzoik asit, 3,4-dihidrobenzoik asit, apigenin, kaempferol, kurkumin, kateşol, vanilik asit, kafeik asit, sinamik asit, rozmarinik asit, kuarsetin olarak belirlendi (Çizelge 6).

Absisik asit içeriğinde tek başına uygulanan Ia ile azalma, bakır ve kuraklık stresi uygulaması ile de artış görüldü. Ia+Ku uygulamasıyla absisik asit (ABA) içeriğinde kontrole göre artış ve kuraklık stresi uygulamasına göre azalma kaydedildi. Ia+ Cu uygulaması ile ABA miktarı kontrole göre kısmi bir artışa neden olduğu bakır stresine göre de bir azalışa neden olduğu belirlendi. Absisik asit kuraklık stresi sırasında iyon konsantrasyonunu azaltarak stomaların kapanmasını sağlayarak su kaybını engeller (Borel ve Simonneau, 2002). Yapılan bir çalışmada bakır stresi uygulanan buğday tohumlarında içsel ABA içeriğinin önemli oranda arttığı gösterilmiştir (Munzuroğlu ve ark., 2008). ABA kuraklık stresi sırasında genlerin ekspresyon seviyelerinde geçici artışlara ve koruyucu proteinlerin birikimi, antioksidanların seviyesinde değişikliklere yol açmaktadır (Bartels ve Sunkar, 2005; Taiz ve Zeiger, 2002). Çalışmamızda kuraklık ve bakır stresi ile uygulanan Ia'nın ABA içeriğini azaltmış olması stresin olumsuz etkilerini hafiflettiğini ve çalışmamızın literetür bilgisi ile uyumluluk gösterdiği söylenebilir.

Askorbik asit içeriğinde stresiz uygulanan Ia uygulamasında kontrole göre azalma kaydedildi. Kuraklık stresi altında AsA içeriğinde artış kaydedildi. AsA oksidatif strese tolerans sağlamada ve süperoksit ile hidroksil radikallerinin temizlenmesinde rol aldığından, stres koşullarında bitki hücrelerinde miktarı artmaktadır (Avşar, 2018). Çalışmamızda bakır stresi altında AsA içeriğinde kontrole göre azalış kaydedildi. Ia+Ku uygulamasında AsA içeriğinde hem kontrole göre hem de kuraklık stresine göre artış kaydedildi, benzer şekilde Cu+Ia uygulamasında da AsA içeriğinde artış saptandı. AsA'nın strese karşı mücadele etmesinden dolayı eksojen

olarak uygulamaları yapılmıştır. Buna örnek tuz stresi altındaki mısır bitkisine askorbik asit uygulamasının yapıp sonucun da iyileştirici etkisinin kaydedilmesi verilebilir (Doğru ve Torlak, 2020). Çalışmamızda stresle uygulanan Ia AsA içeriğinde meydana getirdiği artışlar APX aktivitesinin devamı içindir. APX Hidrojen peroksiti suya dönüştürülürken, AsA'yı kullanır. APX tarafından indirgenen askorbik asit MDHAR tarafından yeniden üretilir (Makino ve ark., 2002).

Salisilik asit içeriği kontrol, Ia ve kuraklık stresi uygulamalarında belirlenemezken, bakır stresi altında ilginç bir şekilde etki yapmıştır. Ia+Cu uygulaması SA içeriğinde Cu uygulamasına göre önemli derece artış kaydedildi. Salisilik biyotik ve abiyotik streslere karşı iyileştirme ve alışmada görev alan sinyal moleküldür. Kadmiyum stresi altındaki arpa (Metwally ve ark., 2003) ve mısır bitkisine (Krantev ve ark., 2006), bakır stresi altındaki mısır bitkisine (Yetişsin, 2015) SA uygulamaları yapılarak stresin etkilerini hafiflettiği belirlenmiştir. Kuraklık stresi altında SA uygulamaları kavun fidelerinde, domateste ve fasulyede kuraklık stresinin zararını azalttığı belirlenmiştir (Korkmaz ve ark. 2007). Çalışmamızda Ia uygulamasının SA içeriğinde meydana gelen değişim bitkinin gelişme dönemine, depo formundan aktif forma geçme durumu ya da Ia'nın uygulama dönemine bağlı olabilir.

Trans-p-kumarik asit içeriği tek başına uygulanan Ia ile kontrole göre azda olsa bir azalma görüldü. Kuraklık ve bakır stresi uygulaması ile kontrole göre azalma kaydedildi. Ia+Ku ve Ia+Cu uygulamalarında hem kontrol göre hem de stresli duruma göre trans-p-kumarik asit içeriğinde artış kaydedildi.

Mirisetin aktivitesinde; stressiz uygulanan Ia ile düşüş, kuraklık stresi ve bakır stresi altında kontrole göre düşüş görülürken, Ia+Ku ve Ia+Cu uygulamaları hem kontrole göre hem de stresli duruma göre artış görüldü.

3,4 dihidroksibenzoik asit içeriğinde stressiz uygulanan Ia aktivitesini kontrole göre azda olsa artırmıştır. Kuraklık ve bakır stresi ile 3,4 dihidroksibenzoik asit içeriğinde artış görüldü. Ia+Ku uygulaması hem kontrole hem de göre bakır stresine göre artış kaydedildi. Ia+Cu uygulaması kontrole göre artış, bakır stresine göre azalış kaydedildi.

4-hidroksibenzoik asit içeriği stressiz uygulanan Ia uygulaması kontrole düşüş, kuraklık stresi altında artış, bakır stresi altında kontrole göre azalış kaydedildi. Ia+Ku uygulaması ve Ia+Cu uygulaması 4-hidroksibenzoik asit aktivitesinde hem kontrole göre hem de bakır ve kuraklık stresine göre aktivitesinde azalma tespit edildi.

Kuarsetin, kurkumin, vanilik asit, kafeik asit ve gallik asit içeriklerinde herhangi bir değişim saptanmadı.

Apigenin aktivitesi tek başına uygulanan Ia ile artış, kuraklık stresi altında kontrole göre azalma, bakır stresi altında aktivite göstermediği, Ia+Ku ve Ia+Cu uygulamasıyla hem kontrole göre hem de stres altındaki uygulamalara göre artış kaydedildi.

Kaempferol içeriği kontrol grubunda etki göstermezken, tek başına uygulanan Ia, bakır ve kuraklık stresiyle etki gösterdiği görüldü. Uygulanan Ia+Ku uygulaması kuraklık stresine göre azalma görüldü ve Ia+Cu uygulamaları kaempferol bir etkinlik meydana getirdiği görüldü.

Kateşol içeriğinde tek başına uygulanan Ia kontrole göre azalış kaydedildi. Kuraklık stresi altında kateşol aktivitesinde kontrole azalış kaydedilirken bakır stresi altında kontrole göre önemli bir artış kaydedildi. Ia+Ku uygulaması kateşol içeriğinde hem kontrole göre hem de kuraklık stresine göre azalışa neden olduğu görüldü. Ia+Cu uygulaması kateşol içeriğinde kontrole göre artış, bakır stresine göre azalış saptandı.

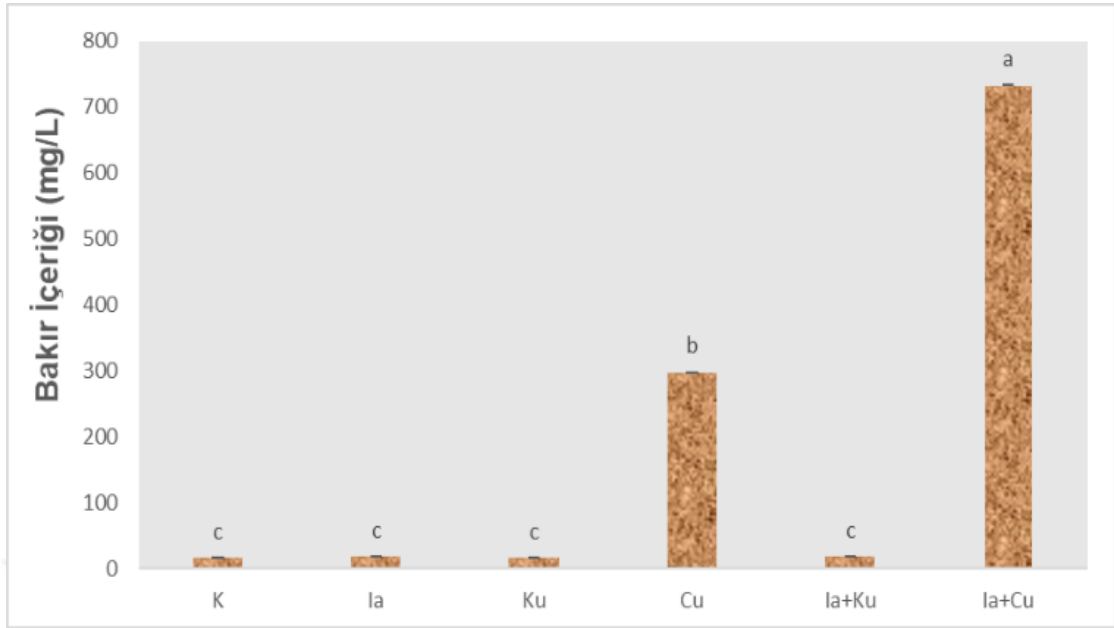
Sinamik asit içeriğinde; tek uygulanan Ia kontrole düşüş, kuraklık ve bakır stresi altında ise kontrole göre artış kaydedildi. Ia+Ku uygulaması sinamik asit içeriğinde kontrole göre artış görülürken kuraklık stresine göre neredeyse düşük miktarda artış saptandı. Ia+Cu uygulaması sinamik asit içeriğinde kontrole göre artış, bakır stresine göre de azalış kaydedildi.

Rozmarinik asit içeriği; stressiz uygulanan Ia ile azda olsa artış, stresli ortamda görülmezken, Ia+Ku uygulaması ve Ia +Cu uygulaması kontrole göre rozmarinik asit içeriğinde de azda olsa artış görüldü.

Kuraklık stresi altındaki *Vigna radiata* bitkisine E vitamini uygulanmıştır. Araştırma sonucunda fenolikler miktarında artış kaydedilmiştir (Sadiq ve ark., 2017). Stres koşulları altında yapılan çalışmalarda fenolik bileşik miktarlarında artış meydana geldiği gözlenmiştir.

4.1.8 Bakır içeriğine etkisi

Kuraklık ve bakır stresi altındaki mısır fidelerine Ia uygulamasının bakır içeriğinde meydana getirdiği değişimler (Şekil 17) gösterilmiştir.



Şekil 17. Kuraklık ve bakır stresi koşullarında Ia uygulamasının mısırdaki bakır içeriğine etkisi.

Kolonlar üzerindeki aynı harflerle gösterilen barlar arasında fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

Bakır içeriği grafiğine göre kontrol, Ia, Ku ve Ia+Ku uygulamaları arasında istatistiki olarak her hangi bir fark belirlenmemiştir. Bakır stresi uygulanmasında beklenildiği gibi bakır içeriğinde kontrole göre önemli bir artış meydana gelmiştir. Şaşırtıcı bir şekilde Ia+Cu uygulamasında Cu uygulamasına göre bakır içeriği yaklaşık olarak üç kat artmıştır. Çalışmamızda bakır stresinin olumsuz etkilerine karşı iyileştirici etkisi olduğu belirlenen Ia maddesinin Ia+Cu uygulamasında yaklaşık olarak üç kat daha fazla bünyesinde bakırı toplamış olması her ne kadar ters bir durum gibi görünsede, aslında Ia maddesinin bakır şelatlayıcı bir özelliğe sahip olduğunu ve vakoullerin üzerinde yerleşik olan COPT ve ZIP taşıyıcı kanal proteinlerini kodlayan genlerin ekspresyon seviyelerinin artışı ile bu durum meydana gelmiş olabilir. Bakır birikimini sağlayarak bitkiye zarar vermeden bitki bünyesinde toplanması oldukça önemli bir durumdur.

Bakır, bütün canlıların beslenmesi için gerekli olan elementlerden birisidir. Ancak, fazlalığında hayvanlarda ve bitkilerde bakır toksisitesine neden olmaktadır. Buna karşılık insanlarda kronik bakır zehirlenmesi ile pek karşılaşmamaktadır (Merian, 1984), bu insan sağlığı üzerine olumsuz etkisi yok demek değildir. Normal şartlarda toprağın bakır içeriği 2-40 ppm arasında değişirken, kirlenmiş topraklarda 1000 ppm'e kadar çıkabilmektedir (Sönmez ve ark., 2006) Bakır sülfat uygulamalarının

önemli ölçüde toprağı asitleştirdiğini ve bitki tarafından bazı elementlerin alımını kısıtladığı bilinmektedir (Olayinka ve Babalola, 2001).

Ağır metallerin bitkiler tarafından alınıp hücrel hasara neden olmadan önce topraktan temizlenmesi oldukça önemlidir. Örneğin madenlerin çıkarıldığı alanlara toprağı temizleyici, toleransı yüksek ya da tolerans artırılmış bitkilerin ekilmesi toprağın dengesini sağlayabilir. Çalışmamıza benzer çalışma (Kabadayı, 2018) tarafından bakır (II) biyogideriminde surfaktan kullanımı bir başka çalışmada ise lityum(I) temizlenmesinde mikroorganizmaların kullanılması (Yalçınkaya, 2019), toprağın ağır metallerden temizlenmesi bakımından oldukça önemlidir. Çalışmamızda kullandığımız aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim yapısında bulunan C=N, S=O ve C=C yapıları sayesinde bakır ile bağlanıp bakırı bitki bünyesinde toplamış olabileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu tez çalışmasında kuraklık ve bakır stresine maruz bırakılan mısır bitkisinde dışsal olarak uygulanan aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim (Ia) maddesinin stres parametreleri üzerine etkisi incelenmiştir.

Mevcut çalışmada % 3'lük PEG'in uyardığı kuraklık ve 1 mM'lık bakır stresi altındaki mısır fideleri üzerinde Ia maddesi için iyileştirici konsantrasyonun 0,66 mM olduğu tespit edildi. 0.66 mM konsantrasyonun bakır ve kuraklık stresine karşı toleransı arttırdığı ve tek başına uygulanan Ia maddesinin mısır fideleri üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı belirlendi.

Ia maddesinin kuraklık ve bakır stresi ile birlikte uygulanmasının biyokimyasal parametreler ve fotosentetik pigment içerikleri üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu belirlendi. Ia maddesinin nispi su içeriği üzerinde kuraklık uygulamasında önemli bir iyileşme gözlenemezken, bakır uygulamasında önemli bir iyileşmenin olduğu gözlemlendi.

Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)oksim (Ia) maddesinin antioksidan sistem üzerine etkisine bakıldığında; kuraklık ve bakır stresi altındaki mısır fidelerinde antioksidan sistemin enzimatik ve non-enzimatik bileşenleri üzerinde stresin olumsuz etkilerini iyileştirici işlevlere sahip olduğu tespit edildi.

Çalışmamızda incelenen fenolik bileşiklerin içerikleri önemli dalgalanmalar gösterse de; stres fizyolojisi açısından önemli olan ABA, SA ve AsA içerikleri stres durumları ile uyumlu olduğu, kuraklık ve bakır stresi altındaki mısır fidelerinde Ia maddesinin fenolik maddeler üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde Ia maddesinin önemli metabolik bir düzenleyici olabileceği belirlendi.

Ağır metallerin ekotoksitesi oldukça önemli bir kavramdır. Çalışmamızda bakır stresi altındaki fidelerde Ia maddesinin ön muamelesinin bakır içeriğini yaklaşık olarak üç kat artırdığı belirlendi. Bu durum Ia maddesinin hiper akümülatör bitkiler ile birlikte kullanılması durumunda aşırı bakır ile kirlenmiş topraklarda faydasının olabileceği gözlemlendi.

Çalışmamızın sonuçları bir bütün olarak analiz edildiğinde Ia maddesinin kuraklık ve bakır streslerine karşı 0.66 mM konsantrasyondaki ön uygulamasının toleransı artırdığı söylenebilir.

5.2 Öneriler

Küresel iklim değışikliğı, sanayileşme ve artan insan nüfusundan dolayı yeterli besin kaynakları ve artan enerji ihtiyacı gibi sorunlar gelecek için büyük tehlike oluşturmaktadır. Ürünlerin verimi üzerindeki etkilerine göre stres faktörleri sınıflandırıldığında doğal bir stres faktörü olan kuraklık stresi % 26'lık oranla en büyük paya sahiptir. Toprakta gereğinden fazla biriken ağır metaller ise bitki için bir stres faktörü oluşturmaktadır. Dünyadaki birçok toprak madencilik ve sanayileşme gibi sebeplerden dolayı ya doğrudan ya da besin zinciriyle insan, hayvan ve bitkiler üzerinde toksik etkileri olan bakır (Cu) kirlenmesine maruz kalmaktadır. Mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında Ia maddesinin kuraklığın etkili olduğu bölgelerde kuraklık stresi öncesinde uygulanarak stresin ürün verimi üzerindeki olumsuz etkileri hafifletilebilir. Bakır stresine maruz kalan tarım alanlarında da ürünlerin verimine katkı oluşturabilir. Ayrıca, aşırı bakırla kirlenmiş toprakların temizlenmesi çalışmalarında Ia maddesinin hiper akümülatör bitkiler ile birlikte kullanılması durumunda topraktaki aşırı bakır temizlenerek tarıma kazandırılabilir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Aziz, A.A.-M., El-Azab, A.S., AlSaif, N.A., Alanazi, M.M., El-Gendy, M.A., Obaidullah, A.J., Alkahtani, H.M., Almehizia, A.A., Al-Suwaidan, I.A. 2020. Synthesis, anti-inflammatory, cytotoxic, and COX-1/2 inhibitory activities of cyclic imides bearing 3-benzenesulfonamide, oxime, and β -phenylalanine scaffolds: a molecular docking study, *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 35 (1), 610-621.
- <https://www.tarimdanhaber.com/tarim-ve-ziraat-bilgi-bankasi/misir-yetistirciligi-h3314.html>
- Akalın, A.C. (2011), "Nar şaraplarında antioksidan fenolik bileşiklerin belirlenmesi", *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*,
- Akgül, B., Avcı, H., Budakoğlu, N., Özbek, S. 2017. Genetiği değiştirilmiş organizmalarda (GDO) antibiyotik dirençli marker genlerinin kullanılması, *Pegem Atıf İndeksi*, 25-44.
- Akın, G. (2019), "köpeklerde yaşlanmanın enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem üzerine etkisi", *Veteriner Fakültesi Biyokimya, Adnan Menderes Üniversitesi*, 1-52.
- Akkuş, İ. 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, *Mimosa Yayınları, Konya*, 1.
- Akpınar, A. (2017), "Ağır metal stresi koşullarında Verbascum olympicum Boiss. türünün enzimatik aktivitesi üzerinde araştırmalar", *Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa Uludağ Üniversitesi*, 10-60.
- Alaoui-Sossé, B., Genet, P., Vinit-Dunand, F., Toussaint, M.-L., Epron, D., Badot, P.-M. 2004. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents, *Plant Science*, 166 (5), 1213-1218.
- Alghabari, F., Ihsan, M.Z. 2018. Effects of drought stress on growth, grain filling duration, yield and quality attributes of barley (*Hordeum vulgare* L.), *Bangladesh Journal of Botany*, 47 (3), 421-428.
- Ali, N.A., Bernal, M.P., Ater, M. 2002. Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*, *Plant and Soil*, 239 (1), 103-111.
- Alscher, R.G., Hess, J.L., 2017, Antioxidants in higher plants, *CRC press*,
- Altınar, A., Atalay, H., Bilal, T. 2017. Bir antioksidan olarak E vitamini, *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6 (3), 149-157.
- 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 (6), 1265-1283.
- Armağan, K., Memet, İ. 2018. Kuraklık ve Tuz Streslerine Maruz Kalan Tütün (*Nicotiana tabacum* L.) Bitkisinde Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Melatoninin Etkileri, *Tarım ve Doga Dergisi*, 21 (4), 559.
- Arora, A., ark. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants, *Current science*, 1227-1238.
- Arrigoni, O., Dipierro, S., Borraccino, G. 1981. Ascorbate free radical reductase, a key enzyme of the ascorbic acid system, *FEBS letters*, 125 (2), 242-244.
- Asada, K. 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, *Photoinhibition*, 227-287.

- Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annual review of plant biology*, 50 (1), 601-639.
- Asri, F.Ö., Sönmez, S. 2006. Ağır metal toksitesinin bitki metabolizması üzerine etkileri, *Derim*, 23 (2), 36-45.
- Avşar, M. (2018), "Kuraklık stresinde fenilalanin uygulamasının reyhan (*ocimum basilicum* l.) bitkisinde fenolik bileşikler, antioksidan aktivite ve stres parametrelerine etkisi", *Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Osmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 5-70.
- Aydın, M., Pour, A.H., Tosun, M., Haliloğlu, K. 2016. Effect of application of putrescine on seedling growth and cell division of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26 (3), 319-332.
- Aydoğdu, M.H., Altun, M. 2019. Mısır ekimi yapan çiftçilerin tarımsal yayım ve danışmanlık hizmetleri için ödemeye yönelik tutumları: şanlıurfa örnekleme, *Al Farabi Uluslararası Sosyal Bilimler Dergisi*, 3 (2), 109-115.
- Ayhan, B., Ekmekçi, Y., Tanyolaç, D. 2005. Bitkilerde ağır metal zararları ve korunma mekanizmaları.
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=89>
- Bartels, D., Sunkar, R. 2005. Drought and salt tolerance in plants, *Critical reviews in plant sciences*, 24 (1), 23-58.
- Bassi, R., Sharma, S.S. 1993. Changes in proline content accompanying the uptake of zinc and copper by *Lemna minor*, *Annals of botany*, 72 (2), 151-154.
- Bayram, S.E. 2018. Su Stresi ve Bitkilerde Su Stresine Bağlı Fizyolojik Değişimler *Tralleis Elektronik Dergisi*, 3, 219-228.
- Beauchamp, C., Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, *Analytical biochemistry*, 44 (1), 276-287.
- Belluci, S. 1985. Gerber, HR.
- Bidwell, R.G.S., 1974, Plant Physiology (The Macmillan biology), New York,
- Blum, A., Jordan, W.R. 1986. Breeding crop varieties for stress environments, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2 (3), 199-238.
- Borel, C., Simonneau, T. 2002. Is the ABA concentration in the sap collected by pressurizing leaves relevant for analysing drought effects on stomata? Evidence from ABA-fed leaves of transgenic plants with modified capacities to synthesize ABA, *Journal of Experimental Botany*, 53 (367), 287-296.
- Borna, F., Nazeri, V., Ghaziani, F., Shokrpour, M. 2021. Morphological and physiological response of some Iranian ecotypes of *Leonurus cardiaca* L. to drought stress, *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, 37-50.
- Brahim, L., Mohamed, M. 2011. Effects of copper stress on antioxidative enzymes, chlorophyll and protein content in *Atriplex halimus*, *African Journal of Biotechnology*, 10 (50), 10143-10148.
- Büyük, İ., Aras, S. 2016. Genome-wide in silico identification, characterization and transcriptional analysis of the family of growth-regulating factors in common bean (*Phaseolus vulgaris* l.) subjected to polyethylene glycol-induced drought stress, *Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, Ankara, Turkey*, 1-10.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S., Aras, S. 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar, *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji*, 69 (2).

- Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F.-W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A.M., Francia, E., Marè, C., Tondelli, A., Stanca, A.M. 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics, *Field Crops Research*, 105 (1-2), 1-14.
- Chanvattey, S., Azum-Gelade, M., Duch-Kan, P. 1970. Researches on the pharmacology of derivatives with oxime function: 3-hydroxy-5-hydroxy methyl-2-methyl isonicotinaldoxime, *Therapie*, 25 (3), 539-552.
- Chatterjee, J., Chatterjee, C. 2000. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower, *Environmental pollution*, 109 (1), 69-74.
- Chaudière, J., Ferrari-Iliou, R. 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms, *Food and chemical toxicology*, 37 (9-10), 949-962.
- Chen, J., Goldsbrough, P.B. 1994. Increased activity of [gamma]-glutamylcysteine synthetase in tomato cells selected for cadmium tolerance, *Plant physiology*, 106 (1), 233-239.
- Chen, M., Li, K., Li, H., Song, C.-P., Miao, Y. 2017. The glutathione peroxidase gene family in *Gossypium hirsutum*: genome-wide identification, classification, gene expression and functional analysis, *Scientific reports*, 7 (1), 1-15.
- Clarkson, D.T., Lüttge, U. 1989. Mineral nutrition: divalent cations, transport and compartmentation. in: *Progress in botany*, Springer, pp. 93-112.
- Conklin, P.L. 2001. Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants, *Plant, Cell & Environment*, 24 (4), 383-394.
- Corpas, F.J., Barroso, J.B., del Río, L.A. 2001. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells, *Trends in plant science*, 6 (4), 145-150.
- Costa, G., Morel, J.-L. 1994. Water relations, gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce, *Plant physiology and biochemistry (Paris)*, 32 (4), 561-570.
- Cramer, G.R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., Shinozaki, K. 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective, *BMC plant biology*, 11 (1), 163.
- Creissen, G.P., Edwards, E.A., Mullineaux, P.M. 1994. Glutathione reductase and ascorbate peroxidase, *Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants*, 343, 364.
- Cumming, J., Taylor, G. 1990. Mechanisms of metal tolerance in plants: physiological adaptations for exclusion of metal ions from the cytoplasm, *Plant biology (USA)*, 36-40.
- Cuypers, A., Koistinen, K.M., Kokko, H., Kärenlampi, S., Auriola, S., Vangronsveld, J. 2005. Analysis of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins affected by copper stress, *Journal of plant physiology*, 162 (4), 383-392.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T. 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk nefroloji diyaliz ve transplantasyon dergisi*, 3 (4), 92-95.
- Çimen, Ç., Çiğdem, Ö., Demir, H., Savran, A. 2005. Rat eritrositlerinden elde edilen katalaz enziminin karakterizasyonu ve kinetiğinin incelenmesi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (1), 15-20.
- Çırak, C., Esendal, E. 2006. Soyada kuraklık stresi, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21 (2), 231-237.
- Çoşkun, F. (2020), "Bakır stresine maruz kalmış iki farklı domates çeşidinde prolinin bakır stresine karşı iyileştirici etkilerinin araştırılması", *Artvin Çoruh Üniversitesi/Lisansüstü Eğitim Enstitüsü*,
- Dan, N.T., Quang, H.D., Van Truong, V., Cuong, N.M., Cuong, T.D., Toan, T.Q., Bach, L.G., Anh, N.H.T., Mai, N.T., Lan, N.T. 2020. Design, synthesis, structure, in

- vitro cytotoxic activity evaluation and docking studies on target enzyme GSK-3 β of new indirubin-3'-oxime derivatives, *Scientific reports*, 10 (1), 1-12.
- Daşgan, H.Y., Koç, S., Ekici, B., Aktaş, H., Abak, K. 2006. Bazı fasulye ve börülce genotiplerinin tuz stresine tepkileri, *alatarım*, 5 (1), 23-31.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Breusegem, F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses, *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57 (5), 779-795.
- Davies, P.J., 2013, Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology, *Springer Science & Business Media*,
- Davis, D.G., Swanson, H.R. 2001. Activity of stress-related enzymes in the perennial weed leafy spurge (*Euphorbia esula* L.), *Environmental and experimental botany*, 46 (2), 95-108.
- De Zwart, L.L., Meerman, J.H., Commandeur, J.N., Vermeulen, N.P. 1999. Biomarkers of free radical damage: applications in experimental animals and in humans, *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (1-2), 202-226.
- Demiral, T. 2003. Genç Prinç Fidelerine Dışarıdan Glisinbetain Uygulamasıyla, Tuza toleransının Arttırılmasında Antioksidant Enzim Aktivitelerinin Rolünün Araştırılması, *Ege üniversitesi, fen bilimleri enstitüsü*.
- Demirevska-Kepova, K., Simova-Stoilova, L., Stoyanova, Z., Hölzer, R., Feller, U. 2004. Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese, *Environmental and Experimental Botany*, 52 (3), 253-266.
- Deveci, D. 2015. Mısır (*Zea mays* L.) bitkilerinde kadmiyumun toksitesisi ile nitrik oksit arasındaki ilişkinin incelenmesi/Corn (*Zea mays* L.) plants nitric oxide toxicity of cadmium in the investigation of the relationship between.
- Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R. 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad), *Journal of Experimental Botany*, 52 (358), 1101-1109.
- Dixon, R.A., Paiva, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism, *The plant cell*, 7 (7), 1085.
- Doğru, A. 2019. Bitkilerde Antioksidan Sistemler ve Tuz Stresine Verdikleri Yanıtlar, *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi*, 1 (2), 164-185.
- Doğru, A., Bayram, N.E. 2016. Bazı mısır (*Zea mays* L.) kùltivarlarında kuraklık stresi toleransı üzerine bir çalışma, *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20 (3), 509-519.
- Doğru, A., Torlak, E. 2020. Tuz Stresi Altındaki Mısır Bitkilerinde Eksojen Askorbik Asit Uygulamasının Etkileri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30 (Ek sayı (Additional issue)), 919-927.
- Donaldson, R.P. 1990. Ascorbate free-radical reduction by glyoxysomal membranes, *Plant Physiology*, 94 (2), 531-537.
- Ekici, L., Sağdıç, O. 2008. Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu, *GIDA*, 33 (5), 251-260.
- Elbasan, F., Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E., Kucukoduk, M. 2020. Rare-earth element scandium improves stomatal regulation and enhances salt and drought stress tolerance by up-regulating antioxidant responses of *Oryza sativa*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 152, 157-169.
- Eltner, E.F. 1982. Oxygen activation and oxygen toxicity, *Annual review of plant physiology*, 33 (1), 73-96.
- Epstein, J., Bodor, N.S. 1981. Novel pyridiniumaldoximes having micellar characteristics, Google Patents.

- Erdal, Ş. (2014), "Kendilenmiş Mısır (zea mays l.) hatlarının kuraklık stresine tolerans düzeylerinin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu", *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*,
<https://acikders.ankara.edu.tr/mod/resource/view.php?id=65098>
- Eryılmaz, F. (2007), "Bakır (Cu) uygulanmış mısır (Zea mays L.) fidelerindeki antioksidan aktivitelerin fizyolojik ve anatomik yönden incelenmesi", *Doktora tezi*,
- Es-Safi, N.-E., Kollmann, A., Khelifi, S., Ducrot, P.-H. 2007. Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L. structure–activity relationship, *LWT-Food science and technology*, 40 (7), 1246-1252.
- Farrant, J.M. 2000. A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species, *Plant Ecology*, 151 (1), 29-39.
- Feierabend, J., Schaaf, C., Hertwig, B. 1992. Photoinactivation of catalase occurs under both high-and low-temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II, *Plant Physiology*, 100 (3), 1554-1561.
- Finkelstein, R. 2013. Absciscic acid synthesis and response, *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists*, 11.
- Fischer, R., Wood, J. 1979. Drought resistance in spring wheat cultivars. III.* Yield associations with morpho-physiological traits, *Australian Journal of Agricultural Research*, 30 (6), 1001-1020.
- Foyer, C., Descourvieres, P., Kunert, K. 1994. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants, *Plant, Cell & Environment*, 17 (5), 507-523.
- Foyer, C.H., Halliwell, B. 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism, *Planta*, 133 (1), 21-25.
- Frankart, C., Eullaffroy, P., Vernet, G. 2002. Photosynthetic responses of *Lemna minor* exposed to xenobiotics, copper, and their combinations, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53 (3), 439-445.
- Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical, *Archives of biochemistry and biophysics*, 247 (1), 1-11.
- Fridovich, I. 1995. Superoxide radical and superoxide dismutases, *Annual review of biochemistry*, 64 (1), 97-112.
- Fu, J., Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress, *Environmental and Experimental Botany*, 45 (2), 105-114.
- Gaspar, T. 1991. Penel. C.; hagege, d.; greppin, H. Peroxidases in plant growth, differentiation, and development processes, *Lobarzewski, J.; Greppin, H.; Penel, C*, 249-280.
- Gayon, P.R., Dubourdieu, D., Doneche, B., Lonvaud, A. 2000. Handbook of Enology a. Volume II: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, Wiley.
- Ghosh, M., Singh, S. 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products, *Asian J Energy Environ*, 6 (4), 18.
- Gill, S.S., Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, *Plant physiology and biochemistry*, 48 (12), 909-930.
- Greene, R. 2002. Oxidative stress and acclimation mechanisms in plants, *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 1.

- Guzel, S., Terzi, R. 2013. Exogenous hydrogen peroxide increases dry matter production, mineral content and level of osmotic solutes in young maize leaves and alleviates deleterious effects of copper stress, *Botanical studies*, 54 (1), 26.
- Güleşci, N., Aygöl, İ. 2016. Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerikli çerezler, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5 (1), 109-129.
- Güneş, A., Sönmez, O. 2019. Kükürt Uygulamalarına Bağlı Olarak Hıyar Bitkisinin (Cucumis Sativus L.) Antioksidant Enzim Aktivitesindeki Değişimler, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (2), 1186-1192.
- Habashi, F. 1997. Handbook of extractive metallurgy, volume, WILEY-VCH, Federal republic of Germany.
- Hale, M.G., Orcutt, D.M., 1987, The physiology of plants under stress, *John Wiley & Sons.*,
- Halliwell, B. 1996. Antioxidants in human health and disease, *Annual review of nutrition*, 16 (1), 33-50.
- Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutrition reviews*, 52 (8), 253-265.
- Halliwell, B. 1984. Toxic effect of oxygen on plant tissues, *Chloroplast metabolism*, 180-206.
- Halliwell, B., Clement, M.V., Long, L.H. 2000. Hydrogen peroxide in the human body, *FEBS letters*, 486 (1), 10-13.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M. 1990. [1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. in: *Methods in enzymology*, Vol. 186, Elsevier, pp. 1-85.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. 1989. Free radicals in biology and medicine, *Clarendon Press, Oxford, UK*, 216, 217.
- Hare, P., Cress, W. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants, *Plant growth regulation*, 21 (2), 79-102.
- He, L., Gao, Z. 2009. Pretreatment of seed with H₂O₂ enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings, *African Journal of Biotechnology*, 8 (22).
- He, Z., Li, J., Zhang, H., Ma, M. 2005. Different effects of calcium and lanthanum on the expression of phytochelatin synthase gene and cadmium absorption in *Lactuca sativa*, *Plant Science*, 168 (2), 309-318.
- Hichem, H., Mounir, D. 2009. Differential responses of two maize (*Zea mays* L.) varieties to salt stress: changes on polyphenols composition of foliage and oxidative damages, *Industrial Crops and Products*, 30 (1), 144-151.
- Hossain, M.A., Asada, K. 1984. Purification of dehydroascorbate reductase from spinach and its characterization as a thiol enzyme, *Plant and Cell Physiology*, 25 (1), 85-92.
- Hossain, M.A., Piyatida, P., da Silva, J.A.T., Fujita, M. 2012. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation, *Journal of Botany*, 2012.
- Hu, Y., Ge, Y., Zhang, C., Ju, T., Cheng, W. 2009. Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment, *Plant Growth Regulation*, 59 (1), 51-61.
- Huang, G., Chen, Q., Wu, W., Wang, J., Hu, J., Mao, J., Chu, P.K., Bai, H., Tang, G. 2020. A hybrid eukaryotic-prokaryotic nanoplatfrom with photothermal modality for enhanced antitumor vaccination, *Advanced Materials*, 32 (16), 1908185.

- Hunter, R., Welkie, G. 1977. Growth of copper-treated corn roots as affected by EDTA, IAA, succinic acid-2, 2-dimethyl hydrazide, vitamins and potassium, *Environmental and Experimental Botany*, 17 (1), 19-26.
- Irigoyen, J., Emerich, D., Sánchez-Díaz, M. 1992. Alfalfa leaf senescence induced by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution, *Physiologia Plantarum*, 84 (1), 67-72.
<http://www.mku.edu.tr/files/898-fe5b342c-8921-409b-a52e-86dcecd1f4.pdf>[03.29.2020].
- Ji, K., Wang, Y., Sun, W., Lou, Q., Mei, H., Shen, S., Chen, H. 2012. Drought-responsive mechanisms in rice genotypes with contrasting drought tolerance during reproductive stage, *Journal of plant physiology*, 169 (4), 336-344.
- Jiang, M., Zhang, J. 2002. Role of abscisic acid in water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings, *Free Radical Research*, 36 (9), 1001-1015.
- Jimenez, A., Hernandez, J.A., del Río, 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.
- Johansson, L., Xydas, C., Messios, N., Stoltz, E., Greger, M. 2005. Growth and Cu accumulation by plants grown on Cu containing mine tailings in Cyprus, *Applied Geochemistry*, 20 (1), 101-107.
- Jung, S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought, *Plant Science*, 166 (2), 459-466.
- Kabadayı, H.K. (2018), "Bakır (II) biyogideriminde surfaktan kullanımı", *Fen bilimleri enstitüsü, Ankara Üniversitesi*,
- Kabata-Pendias, A. 1995. Agricultural problems related to excessive trace metal contents of soils. in: *Heavy metals*, Springer, pp. 3-18.
- Kacar, B., Katkat, A., Öztürk, Ş. 2006. Bitki Fizyolojisi (2. Baskı), *Nobel Yayın Dağıtım, Ankara*, 563.
- Kadioglu, A., Terzi, R. 2007. A dehydration avoidance mechanism: leaf rolling, *The Botanical Review*, 73 (4), 290-302.
- Kadıoğlu, A., 2011, Bitki Fizyolojisi, *Gündüz Ofset Matbaacılık, Trabzon.*, 370.
- Kalefetoğlu, T., Ekmekci, Y. 2005. The effects of drought on plants and tolerance mechanisms, *Gazi University Journal of Science*.
- Karamanos, A., Papatheohari, A. 1999. Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the water potential index, *Crop science*, 39 (6), 1792-1797.
- Karthik, G., Selvakumar, N., Jayaraj, S., Barshilia, H.C. 2021. Sprayable PEDOT: PSS based spectrally selective coating for solar energy harvesting, *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 221, 110906.
- Kasim, W.A., Osman, M.E., Omar, M.N., Abd El-Daim, I.A., Bejai, S., Meijer, J. 2013. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria, *Journal of plant growth regulation*, 32 (1), 122-130.
- Kaya, B., Artuvan, Y. 2016. *Alchemilla cimilensis* 'in farklı polaritedeki ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi', *El-Cezeri Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3 (1), 27-54.
- Kayabaşı, S. (2011), "Kuraklık stresinde yetiştirilen soya'da (*Glycine max. L.*) bazı fizyolojik parametreler ile prolin birikiminin araştırılması/Drought stress in the soybean (*Glycine max. L.*) with some physiological parameters investigation of accumulations proline",

- Keller, C., Hammer, D. 2004. Metal availability and soil toxicity after repeated croppings of *Thlaspi caerulescens* in metal contaminated soils, *Environmental Pollution*, 131 (2), 243-254.
- Khan, N.A., Singh, S. 2008. Abiotic stress and plant responses, *IK International, New Delhi*, 205-215.
- Kinnersley, A. 1993. The role of phytochelates in plant growth and productivity, *Plant growth regulation*, 12 (3), 207-218.
- Kireççi, O.A. 2018. Bitkilerde Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidanlar, *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7 (2), 473-483.
- Korkmaz, A. 2021. Copper-Catalyzed Electrophilic Amination of Diarylcadmium Reagents Utilizing Acetone O-(4-chlorophenylsulphonyl) oxime and Acetone O-(2-naphthylsulphonyl) oxime as Amination Agent. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(3), 2102-2111. <https://doi.org/10.21597/jist.845894>.
- Kozłowski, T., Pallardy, S. 2002. Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses, *The botanical review*, 68 (2), 270-334.
- Köseoğlu, E. (2019), "Ağır metal stresine maruz kalmış fasulye çeşitlerinde camta ve yabby genlerinin gen ifadesi düzeyinde incelenmesi", *Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi*, 1-100.
- Krämer, U., Cotter-Howells, J.D., Charnock, J.M., Baker, A.J., Smith, J.A.C. 1996. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel, *Nature*, 379 (6566), 635-638.
- Krantev, A., Yordanova, R., Popova, L. 2006. Salicylic acid decreases Cd toxicity in maize plants, *General and Applied Plant Physiology*, 3, 45-52.
- Ku, H.-M., Tan, C.-W., Su, Y.-S., Chiu, C.-Y., Chen, C.-T., Jan, F.-J. 2012. The effect of water deficit and excess copper on proline metabolism in *Nicotiana benthamiana*, *Biologia plantarum*, 56 (2), 337-343.
- Kubo, A., Aono, M., Nakajima, N., Saji, H., Tanaka, K., Kondo, N. 1999. Differential responses in activity of antioxidant enzymes to different environmental stresses in *Arabidopsis thaliana*, *Journal of Plant Research*, 112 (3), 279-290.
- Kuzu, İ. (2015), "İki farklı biryofit türünün fotosentetik pigment içeriği ve antioksidan mekanizması üzerine ağır metallerin (bakır ve kurşun) etkisinin araştırılması", *Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*,
- Lanaras, T., Moustakas, M., Symeonidis, L., Diamantoglou, S., Karataglis, S. 1993. Plant metal content, growth responses and some photosynthetic measurements on field-cultivated wheat growing on ore bodies enriched in Cu, *Physiologia Plantarum*, 88 (2), 307-314.
- Lawlor, D.W., Cornic, G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants, *Plant, cell & environment*, 25 (2), 275-294.
- Levitt, J., 1980, Responses of Plants to Environmental Stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses, *Academic Press., New York*,
- Lidon, F.C., Ramalho, J.C., Henriques, F.S. 1993. Copper inhibition of rice photosynthesis, *Journal of plant physiology*, 142 (1), 12-17.
- Lim, H.-S., Lee, J.-S., Chon, H.-T., Sager, M. 2008. Heavy metal contamination and health risk assessment in the vicinity of the abandoned Songcheon Au–Ag mine in Korea, *Journal of Geochemical Exploration*, 96 (2-3), 223-230.
- Liu, J., Hasanuzzaman, M., Wen, H., Zhang, J., Peng, T., Sun, H., Zhao, Q. 2014. High temperature and drought stress cause abscisic acid and reactive oxygen species accumulation and suppress seed germination growth in rice, *Protoplasma*, 256 (5), 1217-1227.

- Luo, C., Shen, Z., Li, X. 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS, *Chemosphere*, 59 (1), 1-11.
- Madejón, P., Ramírez-Benítez, J.E., Corrales, I., Barceló, J., Poschenrieder, C. 2009. Copper-induced oxidative damage and enhanced antioxidant defenses in the root apex of maize cultivars differing in Cu tolerance, *Environmental and experimental botany*, 67 (2), 415-420.
- Mahajan, S., Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *ScienceDirect*, 444 (2,2005), 139-158.
- Maheswari, M., Yadav, S. K., Shanker, A.K.M., Kumar, A., Venkateswarlu, B., 2012, Overview of Plant Stresses: Mechanisms, Adaptations and Research Pursuit. *Crop Stress and its Management*, 1-18.
- Makino, A., Miyake, C., Yokota, A. 2002. Physiological functions of the water–water cycle (Mehler reaction) and the cyclic electron flow around PSI in rice leaves, *Plant and Cell physiology*, 43 (9), 1017-1026.
- Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H., Foyer, C. 1996. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases, *FEBS letters*, 378 (3), 203-206.
- Meister, A. 1983. Selective modification of glutathione metabolism, *Science*, 220 (4596), 472-477.
- Meldrum, N.U., Tarr, H.L.A. 1935. The reduction of glutathione by the Warburg-Christian system, *Biochemical Journal*, 29 (1), 108.
- Merian, E. 1984. *Metalle in der Umwelt*. Verlag Chemie, Weinheim, S, 493, 459.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., Dietz, K.-J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings, *Plant physiology*, 132 (1), 272-281.
- Mithöfer, A., Schulze, B., Boland, W. 2004. Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals, *FEBS letters*, 566 (1-3), 1-5.
- Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination, *Trends in plant science*, 11 (1), 15-19.
- Mittler, R., Zilinskas, B. 1992. Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase, *Journal of Biological Chemistry*, 267 (30), 21802-21807.
- Mocquot, B., Vangronsveld, J., Clijsters, H., Mench, M. 1996. Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and enzyme activities, *Plant and soil*, 182 (2), 287-300.
- Morelli, E., Scarano, G. 2004. Copper-induced changes of non-protein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum*, *Plant Science*, 167 (2), 289-296.
- Morris, M.L., 2002, Impacts of international maize breeding research in developing countries, 1966-98, *Cimmyt*,
- Munzuroglu, O., Geckil, H. 2002. Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43 (2), 203-213.
- Munzuroğlu, Ö., Zengin, F.K., Yahyagil, Z. 2008. The abscisic acid levels of wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Çakmak 79) seeds that were germinated under heavy metal (Hg⁺⁺, Cd⁺⁺, Cu⁺⁺) stress, *Gazi University Journal of Science*, 21 (1), 1-7.
- Nazir, F., Fariduddin, Q., Hussain, A., Khan, T.A. 2021. Brassinosteroid and hydrogen peroxide improve photosynthetic machinery, stomatal movement, root

- morphology and cell viability and reduce Cu-triggered oxidative burst in tomato, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 207, 111081.
- Nellessen, J.E., Fletcher, J.S. 1993. Assessment of published literature on the uptake, accumulation, and translocation of heavy metals by vascular plants, *Chemosphere*, 27 (9), 1669-1680.
- Nishiyama, Y., Ikeda, H., Haramaki, N., Yoshida, N., Imaizumi, T. 1998. Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure, *American heart journal*, 135 (1), 115-120.
- Nizamlioğlu, N.M. 2010. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri.
- Noctor, G., Foyer, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control, *Annual review of plant biology*, 49 (1), 249-279.
- Noman, A., Ali, Q., Maqsood, J., Iqbal, N., Javed, M.T., Rasool, N., Naseem, J. 2018. Deciphering physio-biochemical, yield, and nutritional quality attributes of water-stressed radish (*Raphanus sativus* L.) plants grown from Zn-Lys primed seeds, *Chemosphere*, 195, 175-189.
- Nriagu, J.O., Pacyna, J.M. 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals, *nature*, 333 (6169), 134-139.
- Olayinka, A., Babalola, G. 2001. Effects of copper sulphate application on microbial numbers and respiration, nitrifier and urease activities, and nitrogen and phosphorus mineralization in an alfisol, *Biological agriculture & horticulture*, 19 (1), 1-8.
- Ouzounidou, G., Constantinidou, H. 1999. Changes in growth and physiology of tobacco and cotton under Ag exposure and recovery: are they of direct or indirect nature?, *Archives of environmental contamination and toxicology*, 37 (4), 480-487.
- Ouzounidou, G., Ilias, I., Tranopoulou, H., Karataglis, S. 1998. Amelioration of copper toxicity by iron on spinach physiology, *Journal of Plant Nutrition*, 21 (10), 2089-2101.
- Özcan, S., Babaoğlu, M., Gürel, E. 2004. Bitki Biyoteknolojisi Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, *Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları*, 2, 456.
- Özmen, S. (2020), "Kuraklık Stresine Maruz Bırakılan ArpadaDışsal Poliamin Ön Uygulamasının Fizyolojik Ve Moleküler Etkileri", *Biyoloji Anabilim Dalı, Süleyman Demirel Üniversitesi*, 10- 40.
- Panda, S., Chaudhury, I., Khan, M. 2003. Heavy metals induce lipid peroxidation and affect antioxidants in wheat leaves, *Biologia Plantarum*, 46 (2), 289-294.
- Pinheiro, H.A., DaMatta, F.M., Chaves, A.R., Fontes, E.P., Loureiro, M.E. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought, *Plant science*, 167 (6), 1307-1314.
- Pinhero, R.G., Paliyath, G. 2001. Antioxidant and calmodulin-inhibitory activities of phenolic components in fruit wines and its biotechnological implications, *Food Biotechnology*, 15 (3), 179-192.
- Pourakbar, L., Khayami, M., Khara, J., Farbodnia, T. 2007. Copperinduce change in antioxidative system in maize (*Zea mays* L.), *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (20), 3662-3667.
- Ratković, A., Pavlović, K., Barić, D., Marinić, Ž., Grgičević, I., Škorić, I. 2020. Modeling and synthesis of novel oxime derivatives as potential cholinesterase inhibitors, *Journal of Molecular Structure*, 1200, 127149.

- Reddy, A.R., Chaitanya, K., Jutur, P., Sumithra, K. 2004. Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars, *Environmental and experimental botany*, 52 (1), 33-42.
- Redondo-Gómez, S. 2013. Abiotic and biotic stress tolerance in plants. in: *Molecular stress physiology of plants*, Springer, pp. 1-20.
- Rennenberg, H. 1980. Glutathione metabolism and possible biological roles in higher plants, *Phytochemistry*, 21 (12), 2771-2781.
- Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in plant science*, 2 (4), 152-159.
- Rosegrant, M.W., Paisner, M.S., Meijer, S., Witcover, J., 2001, Global food projections to 2020: emerging trends and alternative futures, *International Food Policy Research Institute*,
- Rucińska-Sobkowiak, R. 2016. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses, *Acta Physiologiae Plantarum*, 38 (11), 1-13.
- Ruiz, J.M., Rivero, R.M., Lopez-Cantarero, I., Romero, L. 2003. Role of Ca²⁺ in the metabolism of phenolic compounds in tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.), *Plant Growth Regulation*, 41 (2), 173-177.
- Sadiq, M., Akram, N.A., Ashraf, M. 2017. Foliar applications of alpha-tocopherol improves the composition of fresh pods of *Vigna radiata* subjected to water deficiency, *Turkish Journal of Botany*, 41 (3), 244-252.
- Sağlam, A. (2011), "Kurak koşullardaki mısır çeşitlerinde yaprak kıvrılması sırasında fotosentetik aygıttaki değişimlerin araştırılması ", *Fen bilimleri enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi*, 10_31.
- Sairam, R., Deshmukh, P., Saxena, D. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress, *Biologia plantarum*, 41 (3), 387-394.
- Sajedi, N.A., Ardakani, M.R., Madani, H., Naderi, A., Miransari, M. 2011. The effects of selenium and other micronutrients on the antioxidant activities and yield of corn (*Zea mays* L.) under drought stress, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 17 (3), 215-222.
- Salisbury, F., Ross, C.W. 1992. Plant Physiology. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.
- Sano, S., Miyake, C., Mikami, B., Asada, K. 1995. Molecular characterization of monodehydroascorbate radical reductase from cucumber highly expressed in *Escherichia coli*, *Journal of Biological Chemistry*, 270 (36), 21354-21361.
- Saradhi, P.P. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress, *Journal of Plant Physiology*, 138 (5), 554-558.
- Sarma, H. 2011. Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology, *Journal of Environmental Science and Technology*, 4 (2), 118-138.
- Schnable, P.S., Ware, D., Fulton, R.S., Stein, J.C., Wei, F., Pasternak, S., Liang, C., Zhang, J., Fulton, L., Graves, T.A. 2009. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics, *science*, 326 (5956), 1112-1115.
- 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 (5), 861-880.
- Sekulić, R. (2019), "Učinak selena na ekspresiju gena askorbat-glutathionskog ciklusa kod pšenice (*Triticum aestivum* L.)", *Josip Juraj Strossmayer University of Osijek. Department of biology.*,
- Sevimay, N. (2009), "Kuraklık stresini altındaki marul bitkilerinde salisilik asidin etkileri", *Namık Kemal Üniversitesi*,

- Sgherri, C., Milone, M.T.A., Clijsters, H., Navari-Izzo, F. 2001. Antioxidative enzymes in two wheat cultivars, differently sensitive to drought and subjected to subsymptomatic copper doses, *Journal of plant physiology*, 158 (11), 1439-1447.
- Sgherri, C., Quartacci, M.F., Navari-Izzo, F. 2007. Early production of activated oxygen species in root apoplast of wheat following copper excess, *Journal of plant physiology*, 164 (9), 1152-1160.
- Sgherri, C.L., Pinzinc, C., Navari-Izzo, F. 1996. Sunflower seedlings subjected to increasing stress by water deficit: Changes in O₂⁻ production Aated to the composition of thylakoid membranes, *Physiologia Plantarum*, 96 (3), 446-452.
- Shao, S., Abate, M., Du, X., Ying, Y. 2018. exogenous spermidine improves drought tolerance, *Pak. J. Bot*, 50 (3), 921-928.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance, *Journal of experimental botany*, 58 (2), 221-227.
- Sigel, A., Sigel, h. 1999. Interrelations between Free Radicals and Metal Ions in Life Processes, *Annali di microbiologia ed enzimologia*, 49 (2), 163-164.
- Singh, B.P., Ghosh, S., Chauhan, A. 2020. Control of bacterial biofilms for mitigating antimicrobial resistance. in: *Sustainable Agriculture Reviews 46*, Springer, pp. 147-176.
- Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., Miszalski, Z. 2007. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses, *Acta Biochimica Polonica*, 54 (1), 39-50.
- Smirnoff, N. 1998. Plant resistance to environmental stress, *Current opinion in Biotechnology*, 9 (2), 214-219.
- Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, *New phytologist*, 125 (1), 27-58.
- Sönmez, S., Kaplan, M., Sönmez, N., Kaya, H. 2006. Topraktan yapılan bakir uygulamalarinin toprak ph'si ve bitkİ besin maddesi içerikleri üzerine etkisi, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19 (1), 151-158.
- Srivalli, B., Sharma, G., Khanna-Chopra, R. 2003. Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery, *Physiologia Plantarum*, 119 (4), 503-512.
- Stadtman, E.R. 2002. Importance of individuality in oxidative stress and aging, *Free Radical Biology and Medicine*, 33 (5), 597-604.
- Stahl, W., Sies, H. 2002. Introduction: Reactive oxygen species, *Research Monographs*, 1-2.
- Stephan, U.W., Scholz, G. 1993. Nicotianamine: mediator of transport of iron and heavy metals in the phloem?, *Physiologia Plantarum*, 88 (3), 522-529.
- Stiborova, M., Hromadkova, R., Leblova, S. 1986. Effect of ions of heavy metals on the photosynthetic characteristics of maize (*Zea mays* L.), *Biologia (Bratislava)*, 41 (12), 1221-1228.
- Streb, P., Michael-Knauf, A., Feierabend, J. 1993. Preferential photoinactivation of catalase and photoinhibition of photosystem II are common early symptoms under various osmotic and chemical stress conditions, *Physiologia Plantarum*, 88 (4), 590-598.
- Stuhlfauth, T., Scheuermann, R., Fock, H.P. 1990. Light energy dissipation under water stress conditions: contribution of reassimilation and evidence for additional processes, *Plant Physiology*, 92 (4), 1053-1061.

- Surkau, G., Böhm, K.J., Müller, K., Prinz, H. 2010. Synthesis, antiproliferative activity and inhibition of tubulin polymerization by anthracenone-based oxime derivatives, *European journal of medicinal chemistry*, 45 (8), 3354-3364.
- Szalai, G., Páldi, E., Janda, T. 2005. Effect of salt stress on the endogenous salicylic acid content in maize (*Zea mays* L.) plants, *Acta Biologica Szegediensis*, 49 (1-2), 47-48.
- Székely, G., Ábrahám, E., Cséplő, Á., Rigó, G., Zsigmond, L., Csiszár, J., Ayaydin, F., Strizhov, N., Jásik, J., Schmelzer, E. 2008. Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis, *The Plant Journal*, 53 (1), 11-28.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2002. Stress fizyolojisi, *Bitki Fizyolojisi, Üçüncü baskıdan çeviri. Editör: Prof. Dr. İsmail Türkan. Palme Yayıncılık, Ankara*, 602-611
- Talanova, V., Titov, A., Boeva, N. 2000. Effect of increasing concentrations of lead and cadmium on cucumber seedlings, *Biologia Plantarum*, 43 (3), 441-444.
- Tambussi, E.A., Bartoli, C.G., Beltrano, J., Guiamet, J.J., Araus, J.L. 2000. Oxidative damage to thylakoid proteins in water-stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum*), *Physiologia Plantarum*, 108 (4), 398-404.
- Tani, F., Barrington, S. 2005. Zinc and copper uptake by plants under two transpiration rates. Part I. Wheat (*Triticum aestivum* L.), *Environmental Pollution*, 138 (3), 538-547.
- Tanyolac, D., Ekmekçi, Y., Ünal, Ş. 2007. Changes in photochemical and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) leaves exposed to excess copper, *Chemosphere*, 67 (1), 89-98.
- Tapan, S. 2016. Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6 (2), 157-166.
- Tekiş, S.A. (2016), "Kuraklık stresi altındaki mısır fidelerine (*Zea mays* L.) dışarıdan selenyum (Se) uygulamalarının büyüme parametreleri, su durumu ve lipid peroksidasyonu üzerine iyileştirici etkilerinin belirlenmesi", *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*,
- Terzi, R., Kadioglu, A. 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system, *Acta Biologica Cracoviensis Series Botanica*, 48, 89-96.
- <https://tr.pinterest.com/pin/43206477649490439/>[03.09.2020].
- Thompson, J.E., Legge, R.L., Barber, R. 1987. The role of free radicals in senescence and wounding, *New Phytologist*, 105 (3), 317-344.
- Thounaojam, T.C., Panda, P., Mazumdar, P., Kumar, D., Sharma, G.D., Sahoo, L., Sanjib, P. 2012. Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice, *Plant physiology and biochemistry*, 53, 33-39.
- Tie, S.G., Tang, Z.J., Zhao, Y.M., Li, W. 2012. Oxidative damage and antioxidant response caused by excess copper in leaves of maize, *African Journal of Biotechnology*, 11 (19), 4378-4384.
- Turner, N.C. 1986. Crop water deficits: a decade of progress. in: *Advances in agronomy*, Vol. 39, Elsevier, pp. 1-51.
- Uğurlar, F. (2019), "Hidrojen sülfid'in bor toksisitesinde yetişen biber bitkisinin fizyolojik gelişimine etkisinin araştırılması/Investigation of the effect of hydrogen sulfide on the physiological development of pepper plants under boron toxicity",

- Ullah, F., Xu, Q., Zhao, Y., Zhou, D.X. 2020. Histone deacetylase HDA710 controls salt tolerance by regulating ABA signaling in rice, *Journal of Integrative Plant Biology*.
- Upadhyay, R., Panda, S.K. 2010. Zinc reduces copper toxicity induced oxidative stress by promoting antioxidant defense in freshly grown aquatic duckweed *Spirodela polyrrhiza* L., *Journal of hazardous materials*, 175 (1-3), 1081-1084.
- Vianello, A., Macri, F. 1991. Generation of superoxide anion and hydrogen peroxide at the surface of plant cells, *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 23 (3), 409-423.
- Vinit-Dunand, F., Epron, D., Alaoui-Sossé, B., Badot, P.-M. 2002. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants, *Plant science*, 163 (1), 53-58.
- Waligarski, P., Kula, M., Saja, D., Libik-Konieczny, M. 2017. Influence of salicylic acid pretreatment on seeds germination and some defence mechanisms of *Zea mays* plants under copper stress, *Plant physiology and biochemistry*.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance, *Planta*, 218 (1), 1-14.
- Wen, J.-F., Gong, M., Liu, Y., Hu, J.-L., Deng, M.-h. 2013. Effect of hydrogen peroxide on growth and activity of some enzymes involved in proline metabolism of sweet corn seedlings under copper stress, *Scientia Horticulturae*, 164, 366-371.
- Wingate, V.P., Lawton, M.A., Lamb, C.J. 1988. Glutathione causes a massive and selective induction of plant defense genes, *Plant Physiology*, 87 (1), 206-210.
- Xiong, Z.-T., Liu, C., Geng, B. 2006. Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64 (3), 273-280.
- Xu, F.J., Jin, C.W., Liu, W.J., Zhang, Y.S., Lin, X.Y. 2011. Pretreatment with H₂O₂ alleviates aluminum-induced oxidative stress in wheat seedlings, *Journal of Integrative Plant Biology*, 53 (1), 44-53.
- Yalçinkaya, G.B. (2019), "Lityum (I) biyogideriminde mikroorganizmaların kullanımı", *Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü*, Ankara Üniversitesi.
- Yalpani, N., Silverman, P., Wilson, T., Kleier, D.A., Raskin, I. 1991. Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis-related proteins in virus-infected tobacco, *The Plant Cell*, 3 (8), 809-818.
- Yamauchi, N., Yamawaki, K., Ueda, Y., Chachin, K. 1984. Subcellular localization of redox enzymes involving ascorbic acid in cucumber fruits, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 53 (3), 347-353.
- Yau, P., Loh, C., Azmil, I. 1991. Copper toxicity of clove [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and Perry] seedlings, *Mardi Research Journal*, 19, 49-53.
- Yetişsin, F. (2015), "Bakır stresine maruz bırakılan hassas ve dayanıklı mısır çeşitlerinde glutatyon, hidrojen peroksit ve salisilik asit uygulamalarının fotosentetik verim üzerine etkilerinin araştırılması ",Doktora tezi, *Fen bilimleri enstitüsü* Karadeniz teknik üniversitesi, 1-10.
- Yetişsin, F., Kurt, F. 2020. Gallic acid (GA) alleviating copper (Cu) toxicity in maize (*Zea mays* L.) seedlings, *International Journal of Phytoremediation*, 22 (4), 420-426.
- Yıldız, T. (2014), "Mısır (*Zea mays* L.) fidelerinde kadmiyum ve bakır'ın yol açtığı fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler üzerine salisilik asit uygulamasının etkileri/The effects of salicylic acid application on the physiologic and

- biochemical variations induced by cadmium and copper in corn (*Zea mays* L.) seedling", *fen bilimleri enstitüsü*, Fırat üniversitesi, 2-18.
- Yılmaz, İ. 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres, *Journal of Inonu University Medical Faculty*, 17 (2), 143-153.
- Zaimoglu, Z., Koksall, N., Basci, N., Kesici, M., Gulen, H., Budak, F. 2011. Antioxidative enzyme activities in *Brassica juncea* L. and *Brassica oleracea* L. plants under chromium stress, *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9 (1), 676-679.
- Zhang, J., Kirkham, M. 1996. Enzymatic responses of the ascorbate-glutathione cycle to drought in sorghum and sunflower plants, *Plant Science*, 113 (2), 139-147.
- Zhang, L., Chia, J.-M., Kumari, S., Stein, J.C., Liu, Z., Narechania, A., Maher, C.A., Guill, K., McMullen, M.D., Ware, D. 2009. A genome-wide characterization of microRNA genes in maize, *PLoS genetics*, 5 (11).
- Zhao, S., Liu, Q., Qi, Y., Duo, L. 2010. Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in turfgrass, *Acta Biologica Cracoviensia s. Botanica*.
- Zouari, M., Ahmed, C.B., Elloumi, N., Bellassoued, K., Delmail, D., Labrousse, P., Abdallah, F.B., Rouina, B.B. 2016. Impact of proline application on cadmium accumulation, mineral nutrition and enzymatic antioxidant defense system of *Olea europaea* L. cv Chemlali exposed to cadmium stress, *Ecotoxicology and environmental safety*, 128, 195-205.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İnci KARDEŞ

