

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

**DIŞARIDAN UYGULANAN SİTRÜLİN'İN BUĞDAY FİDELERİNİN
BAKIR STRESİNE CEVABI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ezgi KOÇOĞLU

**EKİM 2025
TRABZON**



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**DIŞARIDAN UYGULANAN SİTRÜLİN'İN BUĞDAY FİDELERİNİN BAKIR STRESİNE
CEVABI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ezgi KOÇOĞLU

ORCID : - - -

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"YÜKSEK LİSANS(MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK)
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 15 / 09 / 2025

Tezin Savunma Tarihi : 27 / 10 / 2025

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Aykut SAĞLAM
ORCID : - - -

Trabzon 2025

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında
Ezgi KOÇOĞLU Tarafından Hazırlanan**

**DIŞARIDAN UYGULANAN SİTRÜLİN'İN BUĞDAY FİDELERİNİN BAKIR STRESİNE
CEVABI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 02 / 10 / 2025 gün ve 2122 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.**

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Rabiye TERZİ

Üye : Prof. Dr. Aykut SAĞLAM

Üye : Doç. Dr. Sertan ÇEVİK

**Prof. Dr. Asim KADIOĞLU
Enstitü Müdürü**

ÖNSÖZ

“Dışarıdan Uygulanan Sitrülinin Buğday Fidelerinin Bakır Stresine Cevabı Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” isimli bu tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı’nda hazırlanmıştır. Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Tez çalışmam boyunca her daim destek olan ve üniversite eğitim hayatım boyunca kıymetli bilgileriyle ve tecrübesiyle yoluma ışık tutan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Aykut SAĞLAM’a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, yapıcı eleştirileri ve önerileri ile tezime büyük katkıları bulunan saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Asım KADIOĞLU ’na ve eğitim öğretim hayatımda katkısı olan tüm hocalarıma şükranlarımı sunmak isterim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşarak desteklerini esirgemeyen ve her zaman sabırla bana yardımcı olan Arş. Dr. Dilek ÜNLÜER BİRİNCİ’ ye, Arş. Gör. Dr. Selda DURMUŞOĞLU’na ve Dr. Asiye SEZGİN MUSLU’ya, ayrıca çalışmalarım boyunca bana yardımcı olan ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim değerli laboratuvar arkadaşlarım Merve Miray ARDA ve Sebahat Duygu GÜMRÜKÇÜ ŞİMŞEK’e teşekkür ederim.

Son olarak, doğduğum günden beri elimi hiç bırakmayan, hayatım boyunca her anımda ve karşılaştığım tüm zorluklarda maddi manevi yanımda olan kızları olmaktan gurur duyduğum bu günlere gelmemde çok emekleri olan annem Zehra KOÇOĞLU ve babam Halil İbrahim KOÇOĞLU’na, varlıkları ile bana her zaman huzur veren kardeşlerim Fatmanur KOÇOĞLU ve Atakan KOÇOĞLU’na sonsuz teşekkürlerimi sunarım

Ezgi KOÇOĞLU

Trabzon 2025

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Dışarıdan Uygulanan Sitrülinin Buğday Fidelerinin Bakır Stresine Cevabı Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Aykut Sağlam’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 27/10/2025

Ezgi KOÇOĞLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Stres ve Stres Çeşitleri.....	5
1.2.1. Ağır Metal Stresi	5
1.2.2. Bitkilerde Bakır (Cu) Toksisitesi	7
1.3. Bitkilerde Bakır Emilimi ve Taşınımı	8
1.4. Antioksidan Sistem.....	9
1.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	10
1.4.2. Katalaz (KAT).....	10
1.4.3. Askorbat Peroksidaz (APX).....	11
1.4.4. Glutasyon Redüktaz (GR)	12
1.4.5. Glutasyon Peroksidaz (GPX)	12
1.5. Buğday.....	13
1.5.1. Buğdayın Morfolojisi	14
1.5.2. Buğday Genomu	15
1.6. L-Sitrülin	16
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	18
2.1. Bitki Büyütülmesi ve Stres Uygulamaları.....	18
2.2. Bitki Büyümesinin ve Osmotik Dengesinin Nasıl Etkilendiğinin Belirlenmesi.....	19
2.2.1. Bitki Sürgün Uzunluğu	19
2.2.2. Bitki Toplam Kuru Ağırlığı	19
2.2.3. Yüzde Su Kaybı	19

2.2.4.	Fotosentetik Pigment Tayini	20
2.2.5.	İçsel Prolin Tayini	20
2.2.6.	Toplam Çözünebilir Şeker Tayini	20
2.2.7.	Lipid Peroksidasyonu (Malondialdehit İçeriği)	21
2.2.8.	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Seviyesinin Belirlenmesi	21
2.2.9.	Toplam Fenolik Madde Tayini	21
2.3.	Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	21
2.3.1.	Katalaz Aktivitesinin Ölçümü	22
2.3.2.	Süperoksit Dismutaz Aktivitesi	22
2.3.3.	Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesi	22
2.3.4.	Peroksidaz Aktivitesi	23
2.3.5.	Askorbat Peroksidaz Aktivitesi	23
2.4.	Protein Tayini	23
2.5.	Moleküler Çalışmalar	23
2.5.1.	Toplam RNA İzolasyonu ve cDNA Eldesi	23
2.5.2.	Gen İfadelerinin Real Time (RT) PCR Analizleri ile Belirlenmesi	24
2.6.	Bakır İçeriğinin Belirlenmesi	25
2.7.	İstatistiksel Analizler	25
3.	BULGULAR	26
3.1.	Bitki Büyümesinin ve Osmotik Dengesinin Nasıl Etkilendiğinin Belirlenmesi	26
3.1.1.	Bitki Sürgün Uzunluğu	26
3.1.2.	Yaş ve Kuru Ağırlığı	27
3.1.3.	Yüzde Su Kaybı	28
3.1.4.	Fotosentetik Pigmentlerin Tayini	28
3.1.5.	İçsel Prolin Tayini	29
3.1.6.	Toplam Şeker Tayini	29
3.1.7.	Lipid Peroksidasyonu Tayini	30
3.1.8.	İçsel H ₂ O ₂ Tayini	31
3.2.	Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidan Tayinleri	32
3.2.1.	Katalaz Aktivitesi	32
3.2.2.	Süperoksit Dismutaz Aktivitesi	32
3.2.3.	Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesi	33
3.2.4.	Peroksidaz Aktivitesi	34
3.2.5.	Askorbat Peroksidaz Aktivitesi	34

3.2.6. GSH İçeriği	35
3.2.7. Toplam Fenolik İçeriği.....	35
3.3. Gen İfade Değişimleri	36
3.3.1. Copper Transporter 6-Like (COPT6) Gen İfadesi	36
3.3.2. Copper Transporter 3-Like (COPT3) Gen İfadesi	37
3.3.3. Prolin-5-Karboksilat Sentaz (P5CS) Gen İfadesi.....	38
3.3.4. Prolin-5-Karboksilat Redüktaz (P5CR) Gen İfadesi.....	38
3.3.5. Glutasyon Sentetaz (Gs) Gen İfadesi	39
3.3.6. Glutasyon-S-Transferaz (GST) Gen İfadesi	40
3.4. Toplam Bakır İçeriği	40
4. TARTIşMA	42
5. SONUÇLAR.....	58
6. ÖNERİLER.....	59
7. KAYNAKLAR	60
ZGEMİş	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

DIŞARIDAN UYGULANAN SİTRÜLİN'İN BUĞDAY FİDELERİNİN BAKIR STRESİNE CEVABI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ezgi KOÇOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Aykut SAĞLAM
2025, 71 Sayfa

Bu tez çalışmasında buğday üzerinde dışarıdan uygulanan sitrülünün bakır stresinin etkilerini hafifletici rolü incelenmiştir. Çalışmada fidelere öncelikle 2 gün boyunca 1 mM sitrülün uygulaması yapılmıştır ardından 3 gün süreyle 400 µM CuSO₄ stresine maruz bırakılmıştır. Sitrülün uygulamasının lipid peroksidasyonunu, içsel hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarını, prolin birikimini, glutatyon içeriğini ve yüzde su kaybını azalttığını göstermiştir. Sitrülün, özellikle glutatyon (GSH) ve fenolik bileşikler gibi enzimatik olmayan güçlü antioksidanların birikimini tetiklemiştir. Bu durum süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) ve guaiakol peroksidaz (GPX) gibi antioksidanların aşırı aktivasyonunu azaltarak daha verimli bir savunma mekanizması sağlamıştır. Katalaz (KAT) aktivasyonundaki artış ise enzimatik savunma hattının da aktif olduğunu kanıtlamaktadır. Sitrülün uygulamasının Cu stresini hafiflettiği *Copper transporter 3-like (COPT3)*, *copper transporter 6-like (COPT6)*, *Prolin-5-karboksilat sentaz (P5CS)* gen ifadelerinin azalması ile desteklenmiştir, *Gs* ve *GST* gen analizleri incelendiğinde buğdayın glutatyon tabanlı antioksidan savunma sistemini güçlendirerek bakır stresine karşı toleransını arttırdığı kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak ise dışarıdan uygulanan sitrülün buğday bitkisinde bakır stresine karşı etkili bir savunma mekanizması geliştirmiştir. Sitrülünün antioksidan sistemi aktive edebilen, kritik genlerin regülasyonunu düzenleyen etkili bir stres azaltıcı olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Buğday, Sitrülün, Ağır Metal, Antioksidan Sistem

Master's Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF EXOGENOUS APPLIED CITRULLINE ON THE RESPONSE OF WHEAT SEEDLINGS TO COPPER STRESS

Ezgi KOÇOĞLU

Karadeniz Technical University
Institute of Science and Technology
Department of Molecular Biology and Genetics
Advisor: Prof. Aykut SAĞLAM
2025, 71 Pages

This study investigated the role of exogenously applied citrulline in alleviating the effects of copper stress in wheat. Seedlings were initially treated with 1 mM citrulline for 2 days and then exposed to 400 μ M CuSO₄ for 3 days. Citrulline application was shown to reduce lipid peroxidation, endogenous hydrogen peroxide (H₂O₂), proline accumulation, and percent water loss, while increasing levels of potent non-enzymatic antioxidants, particularly glutathione (GSH) and phenolic compounds. This led to a more balanced activation of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR), and guaiacol peroxidase (GPX), resulting in a more efficient defense mechanism. The increased activity of catalase (CAT) further demonstrates the active engagement of enzymatic antioxidant defenses. Citrulline application alleviated copper stress, as evidenced by the downregulation of *Copper Transporter 3-like (COPT3)*, *Copper Transporter 6-like (COPT6)*, and *Proline-5-Carboxylate Synthase (P5CS)* genes. Furthermore, expression analysis of *GS* and *GST* genes demonstrated that citrulline enhances wheat's tolerance to copper stress by strengthening its glutathione-based antioxidant defense system.

Consequently, exogenous citrulline serves as an effective stress alleviator by activating antioxidant responses and modulating the expression of key stress-responsive genes.

Keywords: Wheat, Citrulline, Heavy Metal Stress, Antioxidant Defense, Copper Toxicity

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Kontrol grubu ve uygulama yapılan bitkilerin görselleri	26
Şekil 2. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde sürgün uzunluğu üzerinde etkisi	27
Şekil 3. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde yaş kuru ağırlığı üzerinde etkisi.	27
Şekil 4. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde % su kaybı üzerinde etkisi.	28
Şekil 5. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam klorofil içeriğine etkisi.....	29
Şekil 6. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam prolin içeriği üzerinde etkisi	29
Şekil 7. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam çözünebilir şeker içeriğine etkisi.	30
Şekil 8. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam MDA içeriğine etkisi	31
Şekil 9. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam H ₂ O ₂ içeriğine etkisi	31
Şekil 10. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde CAT aktivitesi üzerinde etkisi.	32
Şekil 11. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde SOD aktivitesi üzerinde etkisi.	33
Şekil 12. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde GR aktivitesi üzerinde etkisi	33
Şekil 13. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde GPX aktivitesi üzerinde etkisi.	34
Şekil 14. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde APX aktivitesi üzerinde etkisi.	35
Şekil 15. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde GSH içeriğine etkisi.....	35
Şekil 16. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam fenolik içeriğine etkisi	36
Şekil 17. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde <i>COPT6</i> gen ifadesi üzerinde etkisi	37
Şekil 18. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde <i>COPT3</i> gen ifadesi üzerinde etkisi	37
Şekil 19. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde <i>P5CS</i> gen ifadesi üzerinde etkisi	38

Şekil 20.	Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde <i>P5CR</i> gen ifadesi üzerinde etkisi	39
Şekil 21.	Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde <i>GS</i> gen ifadesi üzerinde etkisi.	39
Şekil 22.	Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde <i>GST</i> gen ifadesi üzerinde etkisi.	40
Şekil 23.	Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde bakır içeriği üzerinde etkisi.....	41



TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin gruplandırılması.....	5
Tablo 2. 100g buğday da bulunan bazı besin değerleri.....	14
Tablo 3. Buğdayın sistematik konumu	16
Tablo 4. Deney grupları ve yapılan uygulamalar.....	18
Tablo 5. İfadeleri belirlenen genlere ait primerler	24



SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
APX	: Askorbat Peroksidaz
ACT	: Aktin
AsA	: Askorbik Asit
ASC	: Askorbat
B1	: Tiamin
B2	: Riboflavin
B3	: Niasin
CAT	: Katalaz
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
COPT	: Copper Transporter Protein
CTR	: Copper Transporter
Cu	: Bakır
CuSO ₄	: Bakır Sülfat
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
G250	: Coomassie Brilliant Blue G-250
GA ₃	: Gibberellik Asit
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GPX	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyonu
GSSG	: Glutasyon Disülfür (yükseltgenmiş form)
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HMA	: Ağır Metal Taşıyıcı ATPase
IAA	: İndol-3-asetik Asit
K ₂ HPO ₄	: Dipotasyum Hidrojen Fosfat
kDa	: Kilodalton
KI	: Potasyum Iyodür

KOH	: Potasyum Hidroksit
MBD	: Methyl-CpG-Binding Domain
MDA	: Malondialdehit
mPa	: Millipascal
Na ₂ CO ₃	: Sodyum Karbonat
NADPD	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (indirgenmiş formu)
NA	: Nikotinamin
NO	: Azot Monoksit
NRAMP	: Natural Resistance-Associated Macrophage Protein
O ²⁻	: Süperoksit Anyonu
OH-	: Hidroksil Radikali
P5C	: Δ'-pirolin-5-karboksilat
P5CDH	: Δ-1-pirolin-5-karboksilat Dehidrojenaz
P5CR	: Δ'-pirolin-5-karboksilat Redüktaz
P5CS	: Δ'-pirolin-5-karboksilat Sentetaz
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PS I	: Fotosistem I
PS II	: Fotosistem II
PVPP	: Polyvinilprolidon
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RuBisCo	: Ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz-oksijenaz
SiNP	: Si-nanopartikülleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiobarbitürik Asit
TBARS	: Tiobarbitünik asit reaktif maddeler
TCA	: Trikloro Asetik Asit
TRIS	: Tris(hidroksimetil)aminometan
YSL	: Yellow Stripe-Like
μL	: Mikrolitre

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bitkiler, kendileri için en uygun çevresel koşullar sağlandığında maksimum gelişim gösterir ve bu durum, alınan verimin en üst düzeye ulaşmasını mümkün kılar. Ancak bitkiler, doğal yaşam döngüleri boyunca sıklıkla beklenmedik çevresel koşullara maruz kalabilmektedir. Bu olumsuz koşulların süreklilik göstermesi ya da periyodik olarak tekrar etmesi, bitki büyüme ve gelişimini ciddi biçimde aksatmakta; fizyolojik bozukluklara, hastalıklara ve doku hasarlarına yol açmaktadır (Sevgi ve Leblebici, 2022). Bu durum hem ürün veriminde hem de kalite özelliklerinde belirgin düşüslere neden olmaktadır. Bitkilerin gelişimini olumsuz etkileyen tüm bu çevresel değişkenler, genel olarak “stres faktörleri” olarak tanımlanmaktadır. Stres faktörleri, kaynaklarına göre iki ana grupta incelenir: abiyotik stresler ve biyotik stresler. Abiyotik stresler; kuraklık, tuzluluk, aşırı sıcaklık, don, UV radyasyonu, besin noksanlıkları ve ağır metal toksisitesi gibi çevresel etmenlerden kaynaklanmaktadır (Du, vd., 2024). Bu stres türleri, bitkisel üretim sistemlerinde verimliliği sınırlayan başlıca etkenler arasında yer almaktadır (Tuna ve Eroğlu, 2017).

Son yıllarda, dünya genelindeki tarım alanlarında stres faktörlerine bağlı olarak önemli oranda verim kayıpları yaşanmaktadır. Özellikle iklim değişikliği, toprak bozulumu ve çevresel streslerin artışı, bitkisel üretimi ciddi şekilde tehdit etmektedir (Kopecká vd.,2023). Öte yandan, dünya nüfusunun hızla artması, buna paralel olarak gıda talebinin de sürekli yükselmesine yol açmakta; bu durum, bitkisel üretimin sürdürülebilirliğini ve verimliliğini küresel düzeyde öncelikli bir konu haline getirmektedir. Bitkisel üretimin artırılması için iki temel strateji öne çıkmaktadır: tarıma elverişli alanların genişletilmesi ya da mevcut üretim alanlarından elde edilen verimin artırılması (Coşkun ve Aksu, 2024). Ancak günümüzde, ekilebilir tarım arazilerinin büyük ölçüde maksimum kapasiteye ulaşmış olması nedeniyle, mevcut ekim alanlarından alınan verimin artırılmasına yönelik çalışmalar sürdürülebilir üretim açısından en uygulanabilir çözüm olarak değerlendirilmektedir (Yağmur vd., 2021).

Ağır metal kirliliği, son yıllarda dünya genelinde tarım alanlarını tehdit eden ve mahsul verimini düşüren oldukça ciddi bir çevre sorunu haline gelmiştir. Bu kirleticiler, başta litosfer ve hidrosfer tabakaları olmak üzere doğal kaynaklarda birikmekte ve besin zinciri döngüsü aracılığıyla tüm canlıların sağlığını ve yaşamını tehdit etmektedir (Atta vd., 2023).

Kökleri ile toprağa bağlı olan bitkiler, çevresel ağır metal kirliliğine doğrudan maruz kalmakta; bu durum, büyüme ve gelişmelerinin olumsuz etkilenmesine, verimliliğin düşmesine ve ürün kalitesinde kayıplara yol açmaktadır (Sevgi ve Leblebici, 2022). Genellikle 5 g/cm^3 'ten daha yüksek yoğunluğa sahip elementler "ağır metaller" olarak tanımlanmakta olup, bu metallerin bir kısmı doğada biyolojik olarak parçalanamaz özelliktedir (Saini vd., 2021; Kosakivska vd., 2021). Bu nedenle çevrede birikme eğilimindedirler. Hareketsiz formda olan ağır metallerin yanı sıra, bazı hareketli ağır metaller, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla bitkilerin kök sistemleri tarafından emilebilir (Ghori vd., 2019). Bitki dokularına taşınan bu metaller, bitkilerin fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeydeki birçok sürecini olumsuz yönde etkileyebilmekte veya tamamen durdurabilmektedir (Yerli vd., 2020). Maruziyet süresi ve metalin konsantrasyonuna bağlı olarak, bu toksik etkiler bitkilerde hücresel tahribata ve hatta ölüme kadar ilerleyebilmektedir.

Son yıllarda toprakta çevre kirliliğine neden olan ağır metallerden biri de bakırdır (Cu). Atom numarası 29 olan bakır, 8.96 g/cm^3 yoğunluğa ve 63.5 g/mol atom kütlesine sahip, kahverengi renkli bir geçiş metalidir ve ağır metal kategorisinde yer almaktadır (Zhang vd., 2008). Cu, bitkiler için yaşamsal öneme sahip bir mikro besin elementi olup; metal dengesinin korunmasından, çeşitli biyolojik süreçlerin düzenlenmesine kadar birçok işlevde rol almaktadır. Toprakta alınan Cu, bitkilerin sağlıklı gelişimini desteklemek amacıyla çeşitli dokulara ve hücresel organellere taşınır, dağıtılır ve bölümlendirilir (Habiba vd., 2015). Cu, özellikle düzenleyici proteinlerin yapısında yer alarak; oksidatif stres tepkilerinin düzenlenmesi, fotosentetik elektron taşınımı, mitokondriyal solunum, hücre duvarı metabolizması ve hormon sinyalleme gibi birçok temel fizyolojik süreçte görev üstlenir (Yruea, 2005). Ayrıca Cu iyonları, Cu/Zn süperoksit dismutaz (SOD), amino oksidaz, lakkaz, sitokrom c oksidaz, plastosiyanin ve polifenol oksidaz gibi önemli enzimlerin kofaktörü olarak, bu enzimlerin düzenli işlev görmesini sağlar (Nikolić vd., 2023). Hücresel düzeyde ise transkripsiyon süreçlerinde, oksidatif fosforilasyon mekanizmalarında ve demir mobilizasyonunda etkin rol oynamaktadır (Yruea, 2005). Dolayısıyla Cu, bitkiler için vazgeçilmez mikro elementlerden biridir. Cu eksikliği durumunda ise, özellikle genç yaprakların uçlarından başlayan ve yaprak boyunca ilerleyen klorotik belirtiler ve nekrotik lezyonlar şeklinde kendini gösteren fizyolojik bozukluklar ortaya çıkabilmektedir.

Bakır, bitkiler için hayati bir mikro besin elementi olmakla birlikte, aşırı miktarda alındığında toksik etkilere neden olabilmektedir. Fazla Cu alımı, öncelikle kök sisteminde

başlayan ve genç dokulara kadar ilerleyen ciddi fizyolojik hasarlara yol açabilir. Bu durum, bitkilerin büyüme ve gelişim süreçlerinde gözle görülür aksamalara neden olmakta; ayrıca, yaprak pigmentlerinin azalmasına bağlı olarak fotosentez oranında düşüş meydana gelmektedir (Rob vd.,2024). Bununla birlikte, aşırı Cu birikimi; besin elementlerinin alımını azaltmakta, kök gelişimini ve yaprak oluşumunu olumsuz yönde etkilemektedir (Shabbir vd., 2020). Cu fazlalığı, Fenton tipi reaksiyonları katalizleyerek DNA, lipit ve protein yapılarında oksidatif hasara yol açan hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır ve bu mekanizma, Cu'nun toksik etkilerinin temel kaynaklarından biridir (Lequeux vd., 2010). Aynı zamanda, Cu toksisitesi bitkilerde oksidatif stresin önemli bir tetikleyicisidir ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunda katalitik bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, Cu'nun homeostatik düzeyde tutulması bitkisel metabolizmanın sürdürülebilirliği açısından kritik öneme sahiptir.

Buğday (*Triticum aestivum* L.), dünya genelinde temel bir besin kaynağı olarak hayati önem taşımaktadır. Ancak son yıllarda artan ağır metal kirliliği, buğday verimini önemli ölçüde olumsuz etkilemektedir. Özellikle Cu toksisitesi, bitkinin fizyolojik ve morfolojik yapısında ciddi hasarlara yol açmaktadır. Ma vd. (2025), buğday fideleri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, 100 μM toksik Cu uygulamasının etkilerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, Cu stresine maruz kalan bitkilerde biyokütle, büyüme oranı ve gaz değişim özelliklerinde belirgin azalmalar gözlenmiştir. Bununla birlikte, malondialdehit (MDA) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) seviyelerinde anlamlı artışlar tespit edilerek, oksidatif stresin bitki üzerindeki zararları ortaya konmuştur. Bakır stresinin neden olduğu zararlı etkileri azaltmak amacıyla, salisilik asit (SA), melatonin (MT) ve askorbik asit (AA) gibi farklı antioksidan ajanlar uygulanarak bitkilerde savunma mekanizmalarının aktive edilmesi sağlanmıştır. Bu uygulamalar sonucunda, Cu stresine maruz kalan bitkilerde klorofil içeriği, biyokütle üretimi ve gaz değişim parametrelerinde iyileşmeler gözlemlenmiş; söz konusu ajanların, bakır toksisitesine karşı etkili bir koruyucu rol üstlendiği ortaya konmuştur. Benzer şekilde, Li ve arkadaşları (2023) tarafından yürütülen bir diğer çalışmada, buğday fideleri 100, 300 ve 500 μM Cu konsantrasyonlarıyla muamele edilmiş ve sonuçlar, önceki bulgularla paralellik göstermiştir. Özellikle Fotosistem II'nin (PS II) potansiyel verimliliğinde (F_v/F_m) belirgin düşüşler, klorofil içeriği ve fotosentetik pigment düzeylerinde ise anlamlı azalmalar gözlenmiştir. Ayrıca gaz değişim parametrelerinde de ciddi gerilemeler rapor edilmiştir.

Yapılan birçok çalışma da Cu stresinin sadece buğdayda değil, farklı bitki türlerinde de benzer fizyolojik ve biyokimyasal hasarlara yol açtığını ortaya koymuştur (Cambrollé vd., 2015; Yuce vd., 2024; Alshegaihi vd., 2024). Bu olumsuz etkilerin azaltılması ve bitkilerin strese karşı tolerans geliştirebilmesi amacıyla dışarıdan uygulanan uygulamalara başvurulmuş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bu tür uygulamalarda, genellikle uyumlu çözünebilir maddeler olarak bilinen astarlama ajanları kullanılmıştır. Bunlar arasında sistein, SA, absisik asit (ABA), prolin ve mannitol gibi bileşikler öne çıkmaktadır. Ancak, karpuzda doğal olarak bulunan ve bilinen birçok osmolite kıyasla daha etkili bir H_2O_2 süpürücüsü olduğu gösterilen L-sitrülinin, özellikle ağır metal kaynaklı oksidatif strese karşı potansiyel koruyucu etkileri üzerine yapılan çalışmalar son derece sınırlıdır (Hafeez vd., 2025).

Bu çalışmanın temel hipotezi, dışarıdan uygulanan L-sitrülinin, yüksek konsantrasyonda bakıra maruz kalan buğday fidelerinde oksidatif stresi azaltarak ve antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirerek bitki büyümesini ve fizyolojik sağlığını iyileştireceği üzerine kurulmuştur. Bu hipotez doğrultusunda çalışmanın amacı, buğday (*Triticum aestivum* L.) fidelerine daha önce literatürde çok az incelenmiş olan L-sitrülinin dışarıdan uygulamasının ardından 400 μM $CuSO_4$ uygulanmasıyla, bakır toksisitesinin neden olduğu oksidatif stres üzerindeki iyileştirici etkilerini araştırmaktır. Bu kapsamda, Cu toksisitesine maruz bırakılan ve bırakılmayan, aynı zamanda dışarıdan uygulanan L-sitrülin uygulanan ve uygulanmayan buğday bitkileri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Deneysel uygulamalar sonucunda bitkilerde büyüme parametreleri, su kaybı oranı, osmolit birikimi (prolin ve çözünebilir şekerler), antioksidan sistemin enzimatik bileşenlerindeki değişimler ve toplam fenolik madde içeriği analiz edilmiştir. Buna ek olarak, bakır birikiminin nasıl düzenlendiğini belirlemek amacıyla bitki dokularının toplam bakır içeriği ve bakır taşıyıcı proteinleri kodlayan copper transporter 3-like (*COPT3*) ve copper transporter 6-like (*COPT6*) genlerinin ifade düzeyleri analiz edilmiştir. Ayrıca, prolin sentezinden sorumlu genler olan Prolin-5-Karboksilat Sentaz (*P5CS*) ve Prolin-5-Karboksilat Redüktaz (*P5CR*) ile glutatyon metabolizmasında görev alan Glutatyon Sentetaz (*GS*) ve Glutatyon-S-Transferaz (*GST*) genlerinin ifade düzeyleri belirlenerek, L-sitrülin uygulamasının moleküler düzeydeki etkileri ortaya koyulmuştur. Literatürde L-sitrülinin Cu toksisitesine karşı koruyucu etkilerinin dışarıdan uygulama yoluyla incelendiği çalışma sayısının oldukça az olması, bu araştırmanın alana özgün bir katkı sunma potansiyelini artırmaktadır (Hafeez vd., 2025).

1.2. Stres ve Stres Çeşitleri

Daha önce de belirtildiği gibi, bitkileri etkileyen stres faktörleri kökenlerine göre biyotik ve abiyotik olarak sınıflandırılır (Tablo 1). Bu çalışmada odaklanılan ağır metal stresi, en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Strese maruz kalan bitkilerin gen ekspresyonlarında, büyüme ve gelişme süreçlerinde, verimlilik düzeylerinde ve hücrel metabolik faaliyetlerinde çeşitli bozulmalar meydana gelmektedir. Özellikle abiyotik stres faktörlerinden biri olan Cu toksisitesi, ağır metal stresi kapsamında değerlendirilmekte olup, ROS birikimine neden olarak oksidatif stres oluşturmakta ve bitki yaşamını ciddi şekilde sınırlamaktadır.

Tablo 1. Biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin gruplandırılması

Abiyotik stres faktörleri	Biyotik stres faktörleri
Sıcaklık	Virüs
Soğuk	Bakteri
Kuraklık	Herbivorlar
Radyasyon	Mantarlar
Tuzluluk	Nematodlar
Su fazlalığı	Böcekler
Ağır metaller	
Çeşitli kimyasallar	
Besin yetersizliği	

1.2.1. Ağır Metal Stresi

Son yıllarda gelişen sanayileşme, hızlı nüfus artışı, çarpık kentleşme, madencilik faaliyetleri, tarım alanlarının bilinçsiz kullanımı ile gübre ve pestisitlerin kontrolsüz uygulanması, çevre kirliliğinde ciddi bir artışa yol açmaktadır (Wang vd., 2024). Bu durumun en önemli sonuçlarından biri ise, toprakta ağır metal birikiminin hızla artmasıdır. Toprakta eser miktarda bulunan ve bitkiler için mikro besin elementi olarak işlev görebilen bazı ağır metaller; fotosentez, antioksidan savunma sistemi, mineral beslenme, fitohormon dengesi ve amino asit türevli moleküller gibi birçok hayati süreci doğrudan veya dolaylı

olarak etkileyebilmektedir (Sharma vd., 2022). Ancak bu elementlerin bilinçsiz şekilde çevreye salınımı, biyosferde antropojenik bozulmalara neden olmakta, ekosistem dengesini tehdit etmektedir. Topraklar, bu tür antropojenik faaliyetler sonucu salınan ağır metallerin birikim alanı hâline gelmiştir. Üstelik bu metallerin büyük bir kısmı, kimyasal veya mikrobiyal bozunmaya uğramaz (Afzal vd., 2021). Bozunmayan bu metaller, toprakta uzun süre yüksek konsantrasyonlarda kalarak canlı yaşamı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Khan vd., 2015; Nagajyoti vd., 2010). Bu kirlenme, yeryüzündeki doğal kaynakların bulunabilirliğini azaltmakta ve temel yaşamsal bileşenlerin kalitesini ciddi biçimde düşürmektedir (Emamverdian vd., 2015).

Ağır metaller, bitkiler açısından en önemli abiyotik stres faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Ağır metallerin bitkiler ile ilk teması köklerde olur ve genellikle belirli taşıyıcı proteinler ile plazma membranından kökler aracılığıyla gerçekleşmekte ve bu plazma zarından, özgül taşıyıcı proteinler aracılığıyla alınmaktadır (Tang vd., 2023). Alınan ağır metaller, daha sonra ksilem ya da floem dokuları aracılığıyla bitkinin farklı bölgelerine taşınır. Stresle ilk karşılaşan kök dokusunda canlılık kaybı, büyüme geriliği ve kök uzunluğunda azalma gibi olumsuz etkiler gözlenmektedir (Kul vd., 2021). Yüksek ağır metal konsantrasyonları, fotosentez, solunum, temel besin maddelerinin alımı ve taşınımı ile hormonal düzenleme gibi yaşamsal süreçleri bozarak bitki büyümesini ve gelişimini ciddi şekilde sınırlandırmaktadır. Bu durumun bir sonucu olarak, yapraklardaki klorofil miktarında azalma meydana gelir ve bu da karbondioksit (CO₂) asimilasyonunu gözle görülür biçimde düşürür (Farid vd., 2017). Ayrıca ağır metaller; kloroplast yapısında bozulmalara, ışık Emiliminde azalmaya, elektron taşıma sisteminin aksamasına ve Calvin döngüsünde görev alan enzimlerin aktivitesinde düşüşe neden olarak fotosentezi olumsuz yönde etkiler (Hoque vd., 2021). Bu metaller hem serbest hem de bağlı radikal türlerinin üretimini tetiklemekte ve ROS üretimi ile detoksifikasyonu arasındaki dengeyi bozarak oksidatif stresin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Oluşan bu durum, proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerde oksidatif hasarlara yol açar membranın dengesizleşmesine ve iyon dökülmesine neden olur, klorofil parçalanmasına yol açar ve bitki metabolizmasında bozukluklara neden olur (Bashir vd., 2021). Bu tür stres koşullarında, bitkiler aşırı ROS birikimi ile başa çıkabilmek için gelişmiş bir antioksidan savunma sistemini devreye sokmakta ve enzimatik ya da enzimatik olmayan bileşenler aracılığıyla bu zararlı etkileri sınırlamaya çalışmaktadır.

1.2.2. Bitkilerde Bakır (Cu) Toksisitesi

Bakırın bitki dokulardaki konsantrasyonu optimal seviyeyi ($10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ kuru ağırlık) aştığında büyüme ve gelişimi sınırlayan toksik bir stres faktörüne dönüşür (Bernal, vd., 2006).

Son yıllarda Cu içeren mantar ilaçlarının yoğun kullanımı, bilinçsiz gübre uygulamaları, kanalizasyon sularının tarım alanlarına karışması ve artan madencilik faaliyetleri gibi birçok antropojenik etken, topraktaki Cu miktarını belirgin şekilde artırmıştır (Rob vd., 2024). Bitkiler ihtiyaçları olan Cu 'ı topraktan kökleri aracılığıyla alırlar. Bu nedenle, topraktaki Cu konsantrasyonunun artışıyla birlikte ilk teması sağlayan organ köklerdir ve dolayısıyla stresle ilk karşılaşan doku da kök sistemidir. Cu stresine bağlı olarak kök morfolojisinde gözle görülür değişiklikler meydana gelir; genellikle kök uzunluğu azalırken kök çapında artış görülür (Feil vd., 2020). Yapılan çalışmalar, Cu iyonlarının bitki kök hücrelerinde oksin, absisik asit ve melatonin gibi hormonların düzenlenmesinde rol oynayarak kök meristem hücrelerinin bölünme hızını değiştirebildiğini ve bu yolla kök gelişimini etkileyebildiğini göstermektedir (Chen vd., 2022).

Artan Cu konsantrasyonu, bitkilerin genel büyüme parametrelerini olumsuz yönde etkileyerek biyokütlede azalmaya ve yapraklarda klorotik semptomların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ayrıca Cu toksisitesi, bitkinin diğer besin elementlerinin alımını da olumsuz yönde etkilemektedir. Yapılan bazı çalışmalar, yüksek Cu konsantrasyonunun bitkilerde mineral besin dengesizliklerine yol açtığını ve bunun temel nedenlerinden birinin transmembran taşıyıcı proteinlerin işlevselliğindeki bozulmalar ya da kök hücre zarlarının geçirgenliğinde meydana gelen değişiklikler olduğunu bildirmiştir (Feil, vd., 2020). Bu durum sonucunda özellikle potasyum (K) ve fosfor (P) alımının engellendiği belirtilmiştir (Chen vd., 2022).

Aşırı Cu birikimi, bitki hücrelerinde oksidatif strese neden olabilen elektron taşıyıcılarının ve fotosentetik pigmentlerin içeriğini azaltarak fotosentezdeki elektron transferini engelleyebilen kloroplast ve tilakoid membranların bileşimine müdahale etmektedir (Chen, vd.,2022). Cu toksisitesinin en çok etkilediği yapılar arasında PSII yer almaktadır. Cu iyonları, PSII'nin elektron donör ve akseptör bölgelerine doğrudan zarar verebilir. Özellikle akseptör bölgesinde yer alan Fe^{2+} ve sitokrom b559'a bağlanarak, elektron akışını engelleyebilir. Donör tarafında ise, oksijen oluşturma kompleksinde (OEC) yer alan mangan (Mn) kümesiyle yarışarak bu bölgedeki Mn'un yerini alabilir veya dış

protein yapılarına zarar vererek oksijen üretimini durdurabilir (Xu vd., 2024). Buna ek olarak, Cu toksisitesinin neden olduğu ROS, PSII'nin ışığa duyarlı ve en hassas bileşenlerinden biri olan D1 protein kompleksine zarar vererek döngünün işleyişini bozar. Bu durum, fotosentetik verimliliğin ciddi biçimde düşmesine ve bitkide enerji üretiminin aksamasına neden olur (Lupínková ve Komenda, 2004; Gupta vd., 2017).

1.3. Bitkilerde Bakır Emilimi ve Taşınımı

Bitkilerde bakır alımı çoğunlukla aktif taşıma mekanizmaları aracılığıyla gerçekleşmektedir (Upadhyay, 2021). Cu'nun yüksek dozlara ulaştığında ROS üretimini artırarak toksik etki oluşturduğu bilinmektedir. Bu nedenle, Cu homeostazisinin bitki bünyesinde titizlikle korunması büyük önem taşımaktadır (Wairich vd., 2022). Bakır taşıyıcılarının bir kısmı, elementin topraktan alınmasından bitki içinde taşınması ve depolanmasına kadar birçok düzenleyici süreçte görev yapar. Topraktan Cu alımı kökler aracılığıyla gerçekleşir ve bu süreç genellikle dört aşamada tanımlanır: (1) kökler tarafından emilim; (2) ksilem ve floem dokularında yükleme ; (3) ksilem ve floem yoluyla taşınım; (4) hedef dokulara ulaşım ve yeniden dağıtım; (5) Hücre içi izolasyon (vakuoler depolama) (Chen vd., 2022). Cu taşınımını düzenleyen farklı taşıyıcı protein aileleri mevcuttur. Cu taşınımının genellikle COPT (Copper Transporter Protein)/CTR (Copper Transporter) ailesine ait taşıyıcılar tarafından yürütülse de , P-tipi ATPazlar, Cu şaperonları, sarı şerit benzeri (YSL) proteinleri ve çok değerlikli metal taşıyıcı protein ailesi (NRAMP) taşıyıcıları da bu görevde yer alır.

COPT taşıyıcıları, CTR ailesine ait hücre zarı proteinleri olup, kök hücrelerinden sitozole Cu^+ alımını sağlar. Bu taşıyıcılar, yüksek afiniteye sahip olup, toprakta bulunan indirgenmiş formdaki Cu^+ iyonlarını kolaylaştırılmış difüzyon (gradyan farkına bağlı pasif taşıma) yoluyla hücreye alırlar. Ancak, yükseltgenmiş formdaki Cu^{2+} iyonlarını doğrudan taşıyamazlar (Huang vd., 2024). *Arabidopsis thaliana* bitkisinde COPT ailesinin altı üyesi tanımlanmıştır. COPT1, kök plazma membranında görev alarak doğrudan Cu alımını gerçekleştirirken; COPT2, kök-sürgün arası taşımada daha etkindir. COPT3 ve COPT5 ise hücre içi Cu depolarından yeniden mobilizasyonu sağlar (Burkhead vd., 2009).

P-tipi ATPaz taşıyıcıları, iki değerlikli ağır metallerin membranlar arası taşınımında görev yapar ve bu süreçte ATP kullanırlar (Cruz vd., 2022). Bu proteinler; sekiz transmembran bölgesi (M1–M8), N- ve C-terminal metal bağlama alanları (MBD'ler) ve üç

işlevsel alan (aktüatör (A-), fosforilasyon (P-) ve nükleotid bağlayıcı (N-)) içermektedir (Chen vd., 2022; Salustros vd., 2022). Model bitki *A. thailana* bitkisinde toplam sekiz adet Ağır Metal Taşıyıcı ATPaz (HMA) üyesi tanımlanmıştır ; AtHMA1, AtHMA6 ve AtHMA8, kloroplastta bulunan yüksek afiniteli Cu taşıyıcılarıdır ve kloroplastta Cu taşınımında görev yapmaktadır.

YSL proteinleri, özellikle demir ve bakırın bitki içinde uzun mesafe taşınımında rol almaktadır. Serbest Cu iyonları sitotoksik özellikte olduğundan dolayı, bu taşıyıcılar Cu nikotinamin (NA) ile Cu-NA kompleksleri oluşturarak taşınmasını sağlar (Zhang vd., 2018). *A. thailana*'da sekiz YSL ailesi üyesi (AtYSL1–AtYSL8) ve çeltikte (*Oryza sativa*) 18 üyesi (OsYSL1–OsYSL18) tanımlanmıştır.

Bakır şaperonları, Cu iyonlarının hücre içinde kontrollü şekilde taşınmasından sorumlu düşük molekül ağırlıklı bağlayıcı proteinleridir. Bu proteinler, sitozolde serbest halde bulunan ve toksik etki oluşturabilecek Cu iyonlarına bağlanarak hücreyi oluşabilecek toksik etkilerinden korur ve bakırın hedeflenen enzim veya organellere iletilmesini sağlar (Shin vd., 2012). Böylece Cu, belirlenen taşıyıcılar aracılığıyla gerekli biyolojik süreçlere güvenli şekilde yönlendirilmiş olur.

Özetle, Cu'nın bitkideki taşınımı son derece düzenli bir sistem üzerinden yürütülmektedir. Toprakta kök epidermis hücrelerine alınan Cu, özellikle COPT1 taşıyıcısı aracılığıyla hücre içine geçirilir ve burada diğer taşıyıcı sistemler aracılığıyla hedef dokulara aktarılır. Bu kompleks taşınım ve regülasyon mekanizmaları, Cu'un hem toksik etkilerinden korunmak hem de gerekli fizyolojik süreçlerde kullanılmasını sağlamak açısından büyük önem taşır.

1.4. Antioksidan Sistem

Bitkiler, hem normal biyolojik metabolik süreçleri sırasında hem de çevresel stres faktörlerine maruz kalmaları sonucunda canlılar için oldukça zararlı olan ROS olarak bilinen zararlı moleküller üretirler. Bu moleküllere hidroksil radikalleri (OH^-), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ve H_2O_2 örnek olarak verilebilir (Wang vd., 2022). ROS birikimi, hücresel bileşenlerde hasara yol açarak oksidatif stres oluşumuna neden olmaktadır (Doğru, 2019). Oksidatif stres, proteinler, lipitler, DNA ve pigmentler gibi biyomoleküllerde yapısal ve işlevsel bozulmalara yol açarak bitkisel büyüme ve gelişimi olumsuz yönde etkiler (Mishra vd., 2023). Bitkiler, bu zararlı ROS birikimini sınırlamak ve detoksifiye etmek

amacıyla evrimsel süreçte çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bu savunma sistemlerinin temelini oluşturan antioksidan savunma sistemi, ROS ile başa çıkmada kritik bir rol oynar. Antioksidanlar, yapılarına ve görevlerine göre iki ana gruba ayrılır: enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar (Doğru, 2019). Bu sistemler birlikte çalışarak ROS seviyelerini dengede tutar ve bitki hücrelerini oksidatif hasardan korur.

1.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, bitki hücrelerinde bilinen en güçlü antioksidan enzimlerden biridir ve oksidatif stresle mücadelede görev yapan ilk savunma hattını oluşturur (Hasanuzzaman vd., 2020). Bu enzim, hücreler için oldukça zararlı olan süperoksit anyonunun daha az toksik olan hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürerek önemli bir koruyucu rol üstlenir (Rajput vd., 2021). SOD, aktivitesi için metal iyonlarına ihtiyaç duyan bir metaloenzim olup, aktif bölgesinde bulunan metalin türüne göre farklı izoformlara ayrılmaktadır. Bu izoformlar; bakır/çinko bulunduran Cu/Zn-SOD, manganez bulunduran Mn-SOD ve demir bulunduran Fe-SOD olarak sınıflandırılmaktadır (Stephenie vd., 2020).

Bitkilerde Cu/Zn-SOD hem kloroplastta hem de sitozolde lokalize olarak görev yapar. Fe-SOD ise genellikle bazı bitki türlerinin kloroplastlarında bulunur (Ighodaro ve Akinloye, 2018). SOD aktivitesi, biyotik ve abiyotik stres koşullarında artan reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı bitkilerin geliştirdiği temel savunma tepkilerinden biridir. Yapılan birçok çalışmada, stres koşullarının şiddetlenmesiyle birlikte SOD aktivitesinde artış gözlemlendiği ve bu durumun bitkisel canlılığın korunmasında kritik bir rol oynadığı bildirilmiştir. Wu vd., (2025) pamuk bitkisinde yaptığı bir çalışmada 100 μM Cu stresi altında inceledikleri iki farklı genotipteki pamuk fidelerinde yaprak ve köklerde SOD aktivitesinin önemli ölçüde arttığı sonucuna ulaşmışlardır.

1.4.2. Katalaz (KAT)

Oksijen kullanan tüm canlılarda bulunan katalaz enzimi canlılar için zararlı olan H_2O_2 'nin su (H_2O) ve oksijen (O_2) katalizinden sorumludur (Zhang vd.,2022). Hücrelerde genellikle peroksizomlarda bulunan bu enzim tetramer yapıda, hem grubu içeren ve molekül ağırlığı nispeten yüksek olan en yüksek dönüşüm oranına sahip yaygın bir antioksidan enzimdir. Dakikada yaklaşık olarak 6 milyon H_2O_2 su ve oksijene parçalayabilmektedir. Bitkilerde katalazlar üç grupta incelenebilmektedir; birinci sınıf katalazlar en yaygın olarak

fotosentetik dokularda bulunur ve foto-respirasyon esnasında üretilen H_2O_2 'nin yok edilmesinde rol oynar. İkinci sınıf katalazlar ABA' ya yanıt olarak ve senesens sırasında vasküler dokularda ve lignifikasyonda rol oynayabilirler (Rajput, vd.2021). Üçüncü sınıf katalazlar tohumlarda ve üreme organlarında oldukça fazla bulunur. Üçüncü sınıf CAT'lar glioksizomlarda gerçekleşen gliksilat döngüsü sırasında yağ asitlerinin yıkımı sonucu ortaya çıkan aşırı miktardaki H_2O_2 'yi uzaklaştırmakla görevlidir. Yapılan bir çalışmada 300 μ M Cu uygulanan *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (*Caryophyllaceae*) bitkilerinde CAT aktivitesinin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, CAT enziminin ağır metal stresine karşı önemli bir antioksidatif yanıt mekanizması olduğunu desteklemektedir (Contreras vd., 2018).

1.4.3. Askorbat Peroksidaz (APX)

APX mayalar, insanlar ve yüksek bitkiler de dahil olmak üzere birçok canlıda bulunan I. Sınıf hem grubu içeren bir enzimdir. İlk olarak 1979 yılında keşfedilmiştir. Hücre içi ROS seviyesini dengede tutar ve Askorbat-Glutatyon (ASC-GSH) döngüsünün önemli bir bileşenidir (Li, 2023). Bitki hücrelerinde oluşan H_2O_2 'nin temizlenmesinde kritik bir rol oynayan bu enzim elektron verici olarak askorbatı kullanır ve ROS süpürme işlemini gerçekleştirir (Anjum vd., 2016). APX'ler askorbat yokluğunda kararsızdır ve 20 μ M'nin altına düşen askorbat konsantrasyonlarında aktivitelerini hızla kaybederler (Rajput, vd.2021). APX enzimi, bitkilerde farklı hücrel kompartmanlarda lokalize olur ve bulunduğu bölgeye göre farklı izoformları mevcuttur. Örneğin; sitosolik izoformlar (cAPX), mitokondri izoformları (mit APX) ve peroksizomal ve glioksizomal izoformlar (mAPX) dahil olmak üzere mikro cisimler ve APX'in kloroplastik izoformları (chAPX) tanımlanmıştır (Anjum, vd. 2016). Farklı organellerde bulunan bu izoformlar hücrelerde sürekli olarak sentezlenmektedir ve dolayısıyla organellerde üretilen H_2O_2 organelin kendisi tarafından süpürülmektedir. CAT benzeri işlev gören APX'in temel farkı ; CAT peroksizomlarda H_2O_2 'yi temizlerken, APX sitozol ve kloroplastta biriken H_2O_2 'yi temizlemektedir (Das ve Roychoudhury, 2014). Zhang ve ark. (2022) tarafından yürütülen bir çalışmada, domates (*Solanum lycopersicum*) bitkilerine 100 μ M Cu uygulanmış ve bu stres koşullarında APX enzim aktivitesinin anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, APX'in ağır metal stresine karşı bitkisel savunma mekanizmasında önemli bir antioksidan enzim olduğunu göstermektedir.

1.4.4. Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz birçok farklı bitki dokusundan saflaştırılmış ve oldukça iyi korunmuş flavoprotein yapısında bulunan, NAD(P)H-bağımlı ve askorbat-glutasyon yolunun önemli bir bileşen olan oksidoredüktaz enzimdir (Kundu vd., 2018). Aktif bölgesinde bulunan iki sistein kalıntısı, katalitik işleyiş için kritik olan disülfür bağlarının oluşmasını sağlar (Tanwir vd., 2021).

GR enzimi, bitkilerde başlıca kloroplastlarda lokalize olmasına rağmen; az miktarda da olsa peroksizomlar, mitokondriler ve sitozolde de bulunmaktadır. Bu enzim doğrudan ROS ile etkileşime girmez; ancak indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (NADPH) kullanarak glutasyon disülfidi (GSSG) indirger ve indirgenmiş glutasyon (GSH) üretimini sağlar. Bu mekanizma sayesinde singlet oksijen ve hidroksil radikalleri gibi zararlı ROS bileşikler dolaylı yoldan nötralize edilir ve hücre içi GSH/GSSG redoks oranı korunur (Saxena vd., 2023).

GR, diğer antioksidan enzimler gibi ASC-GSH döngüsünün de temel bir parçası olup, oksidatif stres koşullarında bitkisel hücre redoks dengesinin sürdürülebilirliğinde önemli bir rol oynamaktadır (Mir ve Khah, 2024). Mostofa vd. (2015), pirinçte bakır stresine karşı trehaloz kaynaklı toleransı incelemiştir. 100 µM CuSO₄ stresine maruz kalan bitkilerde GR enzim aktivitesinin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışma GR enziminin ağır metal stresine karşı önemli bir antioksidatif yanıt mekanizması olduğunu desteklemektedir.

1.4.5. Glutasyon Peroksidaz (GPX)

GPX oksidatif strese karşı bitki savunma mekanizmasında görev alan temel enzimatik antioksidanlardan biridir. Yaklaşık 40–50 kDa moleküler ağırlığında olan, hem grubu ve aktif bölgesinde sistein içeren birden fazla izoenzimden oluşan bir enzim ailesini temsil eder. GPX enzimleri genel olarak mitokondrilerde lokalize olmaktadır fakat az miktarda olsa da sitozolde de bulunabilmektedirler (Zhou vd., 2018).

Bu enzim hem normal koşullarda hem de stresli koşullarda hücrelerdeki fazla H₂O₂ 'yi suya; lipit peroksitleri ise alkollere indirgeyen önemli bir hücre içi enzimdir. Bu özelliğiyle GPX, hücresel redoks dengesinin korunmasında ve oksidatif zararın önlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır (Ighodaro ve Akinloye, 2018). Bitki dokuları reaksiyon esnasında tiyoredoksin kullanır; ayrıca aromatik bileşik olan guaiakol ve pyragallol'de elektron donörü olarak tercih ederler (Bela vd., 2022). Bunun yanı sıra lignin biyosentezinde önemli

bir rol oynar ve H₂O₂'yi de kullanarak indol asetik asidi (IAA) parçalayarak bitkileri biyotik strese karşı korur (Kireççi, 2018).

Wang vd. (2022) yaptıkları çalışmada *A. thaliana* fidelerine uygulanan farklı dozlarda CuSO₄ (5, 20 ve 60 µM) sonucunda GPX aktivitesinde anlamlı değişimler rapor edilmiştir. Özellikle düşük ve orta düzeyde Cu uygulamaları (5 ve 20 µM) hem kök hem sürgün dokularda GPX aktivitesini artırmış, yüksek dozda (60 µM) ise köklerde aktivitenin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, GPX'in bakır stresine karşı duyarlı bir enzim olduğunu doğrulamaktadır.

1.5. Buğday

Buğday, dünya genelinde ve ülkemizde en çok üretilen tarım ürünlerinden biri olup, insan beslenmesinde temel bir besin kaynağıdır. Yaklaşık 15.000 yıl önce avcılık ve toplayıcılıktan yerleşik tarıma geçilen Neolitik Dönem'de buğdayın ekimine başlandığı ve evcilleştirildiği öngörülmektedir. Yapılan arkeolojik ve genetik araştırmalar, buğdayın orijininin Fırat ve Dicle nehirleri arasında kalan ve günümüzde Türkiye sınırları içerisinde yer alan "Bereketli Hilal" bölgesi olduğunu tespit etmiştir (Atar 2017).

Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), genellikle ılıman iklim kuşağında; daha düşük oranda ise subtropikal bölgelerde yetiştirilmektedir (Bonjean ve Angus, 2001). Çin'den Rusya'ya Hindistan'dan Arjantin'e kadar oldukça geniş bir ekim alanına sahiptir ve dünya genelinde en yaygın yetiştirilen buğday türüdür. Sahip olduğu yüksek besin değeri (Tablo 2) ve çok yönlü kullanım alanları, buğdayı dünyada en fazla yetiştirilen ikinci tahıl ürünü konumuna taşımıştır. Geniş adaptasyon kapasitesi, kolay üretilebilirliği, taşınabilirliği, depolanabilirliği ve işlenebilirliği gibi avantajların yanı sıra; yüksek ve çeşitli besin içeriği nedeniyle dünya nüfusunun yaklaşık %36'sı kalori ihtiyacını buğdaydan karşılamaktadır (IDRC, 2010). Buğdayın birincil kullanım alanı, un haline getirilerek ekmek üretiminde değerlendirilmesidir. Bunun yanı sıra, hayvan yemi, endüstriyel kullanım ve tohumluk olarak da yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Günümüzde buğdayın küresel önemi giderek artmaktadır. Hızlı nüfus artışı, değişen beslenme alışkanlıkları, artan biyodizel talebi, tarım alanlarının bozulması, verim kayıpları gibi nedenler, 2050 yılı itibarıyla dünya nüfusunun yaklaşık %4'ünün açlık riskiyle karşı karşıya kalacağına işaret etmektedir. Bu öngörü doğrultusunda, gelecekte karşılaşılabilecek olası gıda krizlerinin önüne geçebilmek için; tarım alanlarının genişletilmesi ve korunması,

mevcut verimli alanların sürdürülebilir yönetimi, bitki veriminin artırılması, biyotik ve abiyotik streslere karşı daha dayanıklı buğday çeşitlerinin geliştirilmesi gibi tarımsal ıslah stratejilerinin hayata geçirilmesi büyük önem taşımaktadır (Dadrasi vd., 2023).

Tablo 2. 100g buğday da bulunan bazı besin değerleri

Kalori (kcal) :	315 kcal
Toplam yağ:	2,5 g
Kolesterol:	0 mg
Sodyum:	42 mg
Potasyum:	390 mg
Karbonhidrat:	72 g
Protein :	13.2 g

Kaynak: Proteinocean, 2023

1.5.1. Buğdayın Morfolojisi

Buğday, boyu yaklaşık 60-120 cm'ye kadar uzayabilen, tek yıllık otsu bir bitki olup; kök sistemi yaklaşık iki metre derinliğe ulaşabilmektedir. Ekiminden itibaren 120-150 gün sonra hasat edilebilmektedir. Gövdesi, düğüm ve boğumlardan oluşan, içi boş ve saman yapısında olan bir sapa sahiptir. Sap boyunca, düğüm noktalarından çıkan uzun ve dar yapraklara sahiptir. Bitkinin gelişiminin ileri aşamalarında oluşan son yaprak bayrak yaprağı olarak adlandırılmakta olup, diğer yapraklara kıyasla daha yoğun yapılıdır ve daha yüksek fotosentetik kapasiteye sahiptir. Buğday bitkisinin üst kısmında yer alan başak yapısı, 20 ila 100 çiçek içeren çiçek salkımından oluşur. Başak, bir veya birden fazla çiçek içeren başakçıklar şeklinde düzenlenmiştir. Bayrak yaprağı, başak için gerekli olan karbonhidratların büyük bir kısmını üretir ve dolayısıyla verim üzerinde doğrudan etkilidir.

Buğday başakları hem erkek hem de dişi üreme organlarını bünyesinde barındırır. Bu yapı sayesinde, buğday bitkileri büyük oranda yaklaşık %98 oranında kendi kendine tozlaşma (otogami) ile döllenir. Bu süreç genellikle rüzgârın etkisiyle gerçekleşir ve buğdayın genetik stabilitesine katkı sağlar.

Buğday tanesinin kimyasal bileşeni incelendiğinde, yaklaşık olarak %12 su, %12 protein, %70 karbonhidrat, %2 yağ, %1,8 mineral (özellikle bakır, magnezyum, çinko, demir

ve fosfor) ve %2,2 ham lif içerdiği görülmektedir. Ayrıca buğday; tiamin (B₁), riboflavin (B₂), niasin (B₃) ve az miktarda A vitamini gibi çeşitli vitaminleri de bünyesinde barındırmaktadır (The Editors of Encyclopaedia Britannica, 2025).

Buğday çeşitleri, morfolojik özelliklerine bağlı olarak kılçıklı veya kılçıksız yapıda olabilir. Kılçıklı çeşitlerde, dane ayıklama işlemi kılçıklar nedeniyle daha zor olabilmektedir. Ancak kılçıklar, özellikle fotosentez verimliliği açısından avantaj sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar, kılçıkların su kullanım etkinliğini artırarak fotosentez kapasitesine katkıda bulunduğunu göstermektedir (Duwayri, 1984). Bu nedenle, kılçık oluşumu, genellikle sıcak ve kurak iklim koşullarında daha belirgin hale gelmekte; bu özellik, kılçıklı buğday çeşitlerinin bu tür çevre koşullarında daha yaygın yetiştirilmesine olanak tanımaktadır.

1.5.2. Buğday Genomu

Yaklaşık 10.000 yıllık geçmişe sahip buğday hem doğal hem de yapay seçim süreçleri sonucunda birçok melez form geliştirilmiştir. Bu evrimsel süreçler sonucunda, buğday genomunun haritalandırılması ve tür isimlendirmesi karmaşık hale gelmiştir. Buğday türleri genetik yapılarına göre diploid (2n), tetraploid (4n) ve hekzaploid (6n) olmak üzere üç ana grupta sınıflandırılmaktadır. Günümüzde dünya genelinde en yaygın ekilen tür, hekzaploid ($2n = 6x = 42$) yapıya sahip olan ekmeklik buğdaydır (*Triticum aestivum*) (Tadesse vd., 2019).

Buğday türleri genetik yapılarına göre Hekzaploid ekmeklik buğday (alloheksaploid, BBAADD genom yapısı) ve tetraploid yapıya sahip olan sert buğday (*Triticum durum*, allotetraploid, $2n = 4x = 28$, BBAA) dünya buğday üretiminin sırasıyla yaklaşık %95 ve %5'ini karşılamaktadır (Khalid vd., 2023).

Buğday, oldukça büyük ve kompleks bir genoma sahiptir. Hekzaploid buğdayın DNA'sı yaklaşık 17 milyar baz çiftinden oluşur ve 94.000–96.000 arasında gen içerdiği tahmin edilmektedir (Brenchley vd., 2012). Hekzaploid buğday genomu, yedi kromozomun her birinden altı kopya taşıyan bir yapıya sahiptir ve bu yapı toplamda 42 kromozomdan oluşur. Bu büyük ve çoklu genom yapısı, buğdayın adaptasyon kabiliyetini artırsa da moleküler düzeyde çalışmaları karmaşık hâle getirmektedir.

Tablo 3. Buğdayın sistematik konumu.

Alem:	Plantae
Bölüm:	Kapalı Tohumlu
Sınıf:	Tek Çenekli
Takım:	Poales
Familya:	Poaceae
Cins:	Triticum
Tür:	<i>Triticum aestivum</i> L.

1.6. L-Sitrülin

Kuraklık, tuzluluk, ışık, sıcaklık ve ağır metaller gibi çevresel koşullar bitkilerde abiyotik stres oluşturarak, ROS birikimine, antioksidan savunma sisteminin aktivasyonuna, lipid peroksidasyonunda bozulmalara ve çeşitli uyumlu çözünebilir madde (osmolit) birikimine yol açmaktadır (Ghosh, vd., 2021).

Bitkiler, bu tür stres koşullarına yanıt olarak, molekül ağırlıkları düşük olan çeşitli çözünebilen uyumlu maddeler (osmolitler) üretirler. En yaygın osmolitler arasında organik şekerler, poliaminler, glisin betainler ve amino asitler yer alır. Bu bileşikler, hücre içinde sentezlenir, taşınır ve tutulur; böylece hücre içi ozmotik denge (homeostaz) korunur. Bu mekanizma sayesinde bitki hücreleri, stres koşullarında dahi turgor basıncını koruyarak büyüme ve gelişmesini sürdürebilir (Bohnert ve Jensen, 1996; Malambane vd., 2023).

Proteinlerin yapıtaşları olan amino asitler, yalnızca büyüme süreçlerinde değil, aynı zamanda stres koşullarında bitkinin savunma yanıtlarını başlatan öncü moleküller olarak da görev alırlar. Bu bağlamda, non-proteinojenik bir amino asit olan L-sitrülin, son yıllarda dikkat çekmeye başlamıştır. İlk olarak karpuz bitkisinde tanımlanan L-sitrülin (Wada, 1930), en yaygın olarak karpuz, kavun, salatalık ve balkabağı gibi Cucurbitaceae familyasına ait türlerde bulunmakla birlikte; hayvanlar, insanlar, bakteriler ve mantarlar dahil olmak üzere birçok organizmada da doğal olarak bulunmaktadır (Joshi ve Fernie, 2017). *Citrullus lanatus* yapraklarında yapılan metabolomik ve transkriptomik analizler, kuraklık stresi altında L-sitrülinin yapraklarda 38 kat, gövdede ise 16 kat oranında arttığını göstermiştir (Song vd., 2020). Bu değişim, sitrülin biyosentez genlerindeki ekspresyon artışlarını da içermektedir.

L-sitrülin, üre döngüsünün bir ara ürünü olup, aynı zamanda arginin biyosentezinde önemli bir rol oynar. Bu döngü aracılığıyla nitrik oksit (NO) üretimi uyarılır. NO'nun artışı, stomal iletkenlik üzerinde düzenleyici bir etki oluşturarak bitkilerin gaz alışverişi mekanizmalarını destekler. Aynı zamanda L-sitrülin, ROS'ların süpürülmesinde kritik bir rol üstlenir. Yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda, L-sitrülinin, prolin, mannitol ve glisin betain gibi bilinen osmolitlere kıyasla hidroksil radikallerini temizlemede daha etkili olduğu gösterilmiştir (Akashi vd., 2001).

Kawasaki vd. (2000) tarafından çöl koşullarında yapılan bir çalışmada, yüksek sıcaklık, yoğun güneş ışığı ve şiddetli su kıtlığı altında dahi yabani karpuz bitkisinin yapraklarında solma ve sararma belirtilerinin gözlenmediği, bitkilerin canlılığını sürdürdüğü belirlenmiştir. Araştırmada, söz konusu toleransın karpuz yapraklarında L-sitrülin birikimi ile yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Böylece, kuraklık stresine karşı L-sitrülinin koruyucu ve iyileştirici etkisini kanıtlayan önemli bulgular ortaya koyulmuştur.

L-sitrülin ile ilgili çalışmalar henüz sınırlı sayıda olsa da bu amino asidin abiyotik stres toleransını artırmadaki potansiyel rolü, araştırmacıların son dönemlerde sıkça ele aldığı bir konu haline gelmiştir. Bu tez çalışmasının temel amacı, L-sitrülinin dışarıdan uygulanan uygulamasının, bakır (Cu) toksisitesi altındaki buğday (*Triticum aestivum*) bitkisi üzerindeki fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini incelemek ve bu alanda literatüre özgün katkılar sağlamaktır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Bitki Büyütülmesi ve Stres Uygulamaları

Tez süreci boyunca yapılan çalışmalarda Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen Pehlivan buğday çeşidi (*Triticum aestivum* L.) tohumları kullanılmıştır. Yüzey sterilizasyonunun ardından (0.1 % çamaşır suyu, 5dk) Flora Series besin çözeltisi ile sulanan viyollere doldurulmuş vermikülit destek ortamında ekim gerçekleştirildi. Hazırlanan deney düzeneği 22-25 °C'de, 16/8 ışık/karanlık ortamında, %50-60 oranda nem içeren yetiştirme odasında yerleştirildi. Bitkiler Flora Series besin çözeltisi ile 10 gün büyütüldü. 11. Gün bitkilere flora series besin çözeltisi ile hazırlanan 1mM l-sitrülin (Ahmadi vd., 2020) uygulandı 2 gün sitrülin de bekletilen bitkiler sonra flora series besin çözeltisi ile hazırlanan 400µM CuSO₄ stresine maruz bırakıldı 3 gün süreyle CuSO₄ 'e maruz kalan bitkiler 15. gün hasat edildi sıvı azot ile muamele edilerek enzimatik analizler ve gen ifade analizleri için -20 °C'de saklandı (Tablo 4).

Tablo 4. Deney grupları ve yapılan uygulamalar.

Gruplar	Flora Series besin çözeltisi	1mM l-sitrülin Uygulaması	400µM CuSO ₄ Uygulaması	Süre
Kontrol	Bitkiler 10 gün boyunca Flora Series besin çözeltisi ile muamele edilmiştir.	Bitkilere uygulama yapılmamıştır. Flora Series besin çözeltisi 2 gün daha uygulanmıştır	Bitkilere uygulama yapılmamıştır. Flora Series besin çözeltisi 2 gün daha uygulanmıştır	15
Bakır	Bitkiler 10 gün boyunca Flora Series besin çözeltisi ile muamele edilmiştir.	Bitkilere uygulama yapılmamıştır. Flora Series besin çözeltisi 2 gün daha uygulanmıştır	Bitkiler 3 gün boyunca 400µM CuSO ₄ uygulaması yapılmıştır	15

Tablo 4'ün devamı

L-sitrülin	Bitkiler 10 gün boyunca Flora Series besin çözeltisi ile muamele edilmiştir.	Bitkilere 2 gün 1mM l-sitrülin uygulaması yapılmıştır.	Bitkilere 3 gün Flora Series besin çözeltisi uygulanmıştır.	15
Bakır + L-sitrülin	Bitkiler 10 gün boyunca Flora Series besin çözeltisi ile muamele edilmiştir.	Bitkilere 2 gün 1mM l-sitrülin uygulaması yapılmıştır.	Bitkiler 3 gün boyunca 400µM CuSO ₄ uygulaması yapılmıştır	15

2.2. Bitki Büyümesinin ve Osmotik Dengesinin Nasıl Etkilendiğinin Belirlenmesi

2.2.1. Bitki Sürgün Uzunluğu

15 gün büyütülen bitki fidelerinden birbirine en yakın 10 bitkinin sürgün boyu bir cetvel yardımı ile cm olarak ölçülmüştür.

2.2.2. Bitki Toplam Kuru Ağırlığı

Her gruptan 10 adet fidenin bitki yaş ağırlıkları terazi yardımı ile ölçülmüştür daha sonrasında bitkiler 80 °C de 48 saat boyunca etüvde kurutularak kuru ağırlıklar g cinsinden tartılmıştır.

2.2.3. Yüzde Su Kaybı

Her gruptan birbirine yakın boyutlardaki 4 yaprak seçildi. Her yaprak eşit şekilde 4 parçaya bölündü. Her parçanın g cinsinden taze ağırlıkları belirlendi. Yapraklar laboratuvar

koşullarında 3 saat boyunca kurumaya bırakıldı. 3 saat boyunca saat başı yaprakların ağırlıkları tartıldı. İlk ve son ağırlık arasındaki fark alınarak % su kaybı belirlenmiştir.

2.2.4. Fotosentetik Pigment Tayini

Her bir gruptan 0,1g taze yaprak tartıldı. Bitkiler 1.8mL %80'lik aseton çözeltisi ile homojenize edildi. Homojenizasyon işleminin ardından 10 dakika 10.000 rpm de santrifüj yapıldı. Bitki süpernatantları toplam klorofil içeriğini belirlemek için kullanıldı. Örneklerin absorbans değerleri 663, 645, 450 nm'de spektrofotometrede okunmuş ve hesaplanmıştır (Lichtenthaler ve Welburn ,1983).

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = (12.7 \times A_{663}) - (2.59 \times A_{645})$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = (22.9 \times A_{645}) - (4.7 \times A_{663})$$

$$\text{Toplam klorofil (mg/g)} = (8.2 \times A_{663}) + (20.2 \times A_{645})$$

2.2.5. İçsel Prolin Tayini

Prolin tayini için her gruptan 0,1 g yaprak örneği tartılmıştır. Örnekler %40'lık etanol ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat 1 gece boyunca +4 C 'de (mikro karıştırıcı içerisinde) bekletilmiştir. Ardından 14.000 g 'de 15 dk santrifüj yapıldı. Elde edilen süpernatantlar alınmıştır. % 60 Asetik asit, %1 ninhidrin ve %20 etanol içeren reaksiyon karışımı hazırlandı. 1mL süpernatant üzerine 2 mL reaksiyon karışımı eklendi. Sonrasında örnekler 95°C' etüvde 30 dakika bekletildi ve ardından oda sıcaklığına inmesi amacıyla 15 dk. bekletildi absorbans değerleri 520 nm' de ölçüldü (Carillo vd., 2008).

2.2.6. Toplam Çözünabilir Şeker Tayini

Kurutulmuş 0,1 g bitki örnekleri 5mL %70'lik etanol ile homojenize edildi. Elde edilen homojenat cam tüplere aktarıldı. Sonra cam tüpler üzerleri parafilm ile kaplanarak sıcak su banyosunda 70-80 °C'de 5-8 dk kaynatıldı. Örnekler oda sıcaklığına geldiğinde 14000 g' de 15 dk santrifüj yapıldı. Spektrofotometrik ölçüm yapmak üzere 100 µL süpernatant 900 µL distile su ile seyreltildi üzerine 1 mL %5'lik fenol ve %96'lık sülfirik asit eklenerek vorteks yapıldı. Karışım oda sıcaklığına geldiğinde 490 nm de absorbans değerleri ölçüldü. Sonuçlar glikoz kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı (Dubois vd., 1956).

2.2.7. Lipid Peroksidasyonu (Malondialdehit İçeriği)

Her bir gruptan tartılan 0,1g yaprak örnekleri doku parçalayıcıda parçalandı. Sonra 1.8mL% 0.1'lik trikloroasetik asit (TCA) eklenerek tekrar homojenize edildi ve ardından 15000 g'de 20 dk +4°C'de santrifüj yapıldı. 1mL süpernatant üzerine 4mL % 0.5 tiobarbitürik asit (TBA) ilave edilen % 20' lik TCA çözeltisi eklendi. Deney tüpleri 30 dk 95 °C'de inkübe edildi sonrasında hızlıca buz banyosuna aktarılarak reaksiyon sonlandırıldı. Daha sonra tekrar 1000 g'de 10 dk santrifüj yapılarak süpernatantlar spektrofotometrik ölçüme hazır hale getirildi. 532 ve 600 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçüldü. Ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=155 \text{ nmol.cm}^{-1}$) kullanılarak MDA konsantrasyonu, hesaplandı ve nmol.g-1 TA olarak ifade edildi (Madhava Rao ve Sresty, 2000).

2.2.8. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Seviyesinin Belirlenmesi

Her bir gruptan alınan 0,1g yaprak örnekleri %0,1'lik TCA solüsyonu ile homojenize edildi. Homojenat +4 °C'de 15000 g'de 15-20 dk santrifüj edildi. Süpernatant üzerine potasyum fosfat tamponu ve potasyum iyodür (KI) eklendi. Elde edilen karışım 10dk karanlıkta bekletildi ve beklenen sarı renk oluşumu gözlemlendi. Elde edilen süpernatantın absorbansı, 390 nm dalga boyunda bir H₂O₂ standardına karşı ölçüldü (Velikova vd., 2000).

2.2.9. Toplam Fenolik Madde Tayini

Her bir gruptan tartılan 0,1 g yaprak örnekleri %95'lik metanol ile homojenize edildi. Sonra +4 °C 'de 15000 g'de 15-20 dk santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Cam tüplere toplam hacim 3mL olacak şekilde ; süpernatant, distile su, %2'lik Na₂CO₃ ve 2N folin eklendi. Tüpler 20 dk karanlıkta bekletildikten sonra 765 nm de belirlenen standarta göre ölçüldü (Folin ve Ciocalteu, 1927).

2.3. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ekstraksiyon işlemi için her bir gruptaki bitkiden 0,1 g yaprak örnekleri sıvı azot ile muamele edilerek toz haline getirildi. Doku parçalayıcıda tekrar parçalandı ve ardından 1.6ml ekstraksiyon tamponu (50 mM K₂HPO₄, 1 mM etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) pH 7,0, %1 PVPP) eklenerek tekrar homojenize edildi. APX enzim aktivitesi ölçümünde

kullanılacak ekstrakt için mevcut ekstraksiyon tamponuna ilave olarak 5 mM askorbik asit eklendi. Ekstrakt +4 °C'de 20000 g'de 20 dk santrifüj edildi. Süpernatantlar deneylerde kullanılmak üzere ependorfa aktarıldı (Angelini vd., 1990).

2.3.1. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü

CAT (EC 1.11.1.6) aktivitesi Aebi (1983)'e göre gerçekleştirildi. 50 µL enzim ekstraktı, potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), H₂O₂ içeren 1 mL'lik reaksiyon karışımının 240 nm dalga boyunda absorbands değerlerinde azalma, 25 °C 3 dakika boyunca ölçülmesiyle belirlendi. Aktivite hesaplamalarında, H₂O₂ için molar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=39,4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılmıştır.

2.3.2. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

Süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1) aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971) belirlediği metoda göre gerçekleştirilmiştir. Enzim aktivitesi tayini için kuvars küvetlere toplam hacim 1mL olacak şekilde ; 50 mM fosfat tamponu (pH 7,8), 0,1 mM EDTA, 13 mM metionin, 75 mM nitro blue tetrazolyum (NBT) içeren karışıma 50 µL enzim ekstraktı ilave edildi son olarak 2 µM riboflavin ilave edilerek kuvars küvetler $375 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ şiddetindeki beyaz ışığa yerleştirilerek reaksiyon başlatıldı. 10 dakika süreyle ışığa maruz bırakıldı. Ardından karışımın ışık kaynağının uzaklaştırılmasıyla reaksiyon sonlandırıldı ve oluşan reaksiyon ürününün absorbands değeri hiç bekletilmeden 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü.

2.3.3. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesi

Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) aktivitesi Foyer ve Halliwell (1976)'in metoduna uygun olarak spektrofotometrik ölçüm ile belirlenmiştir. Aktivite tayini için, 200 ml 0,5 mM EDTA içerisinde hazırlanmış 50 mM Tris-HCl (pH 7,8), 250 µL GSSG ve 500 µL NADPH ihtiva eden karışıma 50 µL enzim ekstraktı ilave edildi. NADPH'ın oksidasyonu 340 nm'de 3 dakika boyunca azalmanın ölçülmesiyle belirlendi. GR aktivitesi, NADPH için $6,22 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

2.3.4. Peroksidaz Aktivitesi

Peroksidaz (EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi toplam hacim 2 mL olacak şekilde 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 0,1 mM EDTA, 5 mM guaiakol, 15 mM H₂O₂ ve 50 µL enzim ekstratı içeren karışımının 470 nm’de 1 dk süreyle ölçülmesiyle belirlendi (Urbanek vd., 1991).

2.3.5. Askorbat Peroksidaz Aktivitesi

Askorbat peroksidaz (APX, EC 1.11.1.11) enzim aktivitesi 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 250 µM askorbat (ASC), 5 mM H₂O₂ ve 100 µL enzim ekstraktı içeren 1 mL’lik reaksiyon karışımının 290 nm dalga boyunda 3 dk boyunca ölçülmesiyle absorbanstaki azalışa bağlı olarak Nakano ve Asada (1987)’nin önerdiği yöntem doğrultusunda belirlendi.

2.4. Protein Tayini

Antioksidan enzim aktiviteleri için hazırlanan ekstraktan 100 µL alındı ve üzerine 900 µL steril su ve 5mL Coomassie Brilliant Blue G250 protein boyası eklendi. Hazırlanan karışım 10dk karanlıkta bekletildi ve sonra köre karşı 595 nm’de spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirildi. Protein konsantrasyonu mg cinsinden hesaplanarak, enzim aktivitelerinin ifade edilmesinde kullanıldı (Bradford 1976).

2.5. Moleküler Çalışmalar

Toplam RNA izolasyonu, cDNA eldesi ve RT PCR ile genlerin ekspresyon seviyesinde analizleri yapılmıştır.

2.5.1. Toplam RNA İzolasyonu ve cDNA Eldesi

Hasat esnasında her grup bitkiden alınan ve -20 °C’de muhafaza edilen 0.1g bitki örnekleri sıvı azot ile muamele edilip donduruldu ardında doku parçalayıcısıyla parçalandı. Toplam RNA eldesi için RNA izolasyonları FavorPrep Plant Total RNA Purification Mini Kit kullanılarak üreticinin belirlediği protokole göre yapılmıştır. Elde edilen RNA örneklerinin miktarı ve kalitesi nanodrop spektrofotometre (Thermo Scientific, Nanodrop

2000, Amerika) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorbans değerlerinin oranı (A260/A280) kalite kontrolü için kullanılmıştır. Elde edilen toplam RNA örnekleri cDNA eldesi için -20 °C’de saklanmıştır.

İzole edilen RNA örneklerinden her grup 2000 ng olacak şekilde cDNA sentezi gerçekleştirildi. cDNA sentezi Applied marka (High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit 4368814, Applied Biosystems Amerika) cDNA sentez kiti kullanılarak ve üretici firmanın talimatları ile gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA ‘lar RT PCR uygulaması için -20 °C’de muhafaza edildi.

2.5.2. Gen İfadelerinin Real Time (RT) PCR Analizleri ile Belirlenmesi

Elde edilen cDNA’lar, gen ifadelerinin belirlenmesi için Real Time PCR analizlerinde kullanılmıştır. Analizler için Syber Green qPCR Supermix ve CFX Connect Real Time PCR System (BioRad, Amerika) cihazı kullanılmıştır. RT PCR reaksiyon ortamı 10µL süper mix, 0,6µL forward primer , 0,6µL reverse primer, 7,8µL nükleaz içermeyen su ve 1µL cDNA içeren toplam konsantrasyon 20µL olarak hazırlandı. Referans geni olarak aktin gen primerleri kullanıldı.

RT PCR protokolü ise Solis Biodyne yöntemleri modifiye edilerek; 95°C’de 30 saniyelik başlangıç denatürasyon adımı uygulanmıştır. Ardından, her döngü için 95°C’de 10 saniyelik denatürasyon ve 60 °C’de 30 saniyelik annealing/uzama adımları toplam 40 döngü boyunca tekrarlanmıştır. Döngüler tamamlandıktan sonra, spesifikliğı kontrol etmek amacıyla 65 °C’den başlayarak 95 °C’ye kadar 0.5 °C’lik artışlarla gerçekleştirilen melt curve analizi gerçekleştirilmiştir. Her biyolojik tekrar, 3 teknik tekrar şeklinde analiz yapılmıştır. Ortalama teknik hata 0,5 (±1) Cq values şeklinde belirlenmiştir.

Tablo 5. İfadeleri belirlenen genlere ait primerler.

Gen Adı	NCBI Erişim No	Primer Adı ve Sekansı
Aktin	KC775782.1	TaACTIN_F:GCGAATTTTGCCCCAATGGT TaACTIN_R:GAAGCACTTCCTGTGGACGA
TaP5CR	AY880317.1	TaP5CR_F:GGTAAACATCCAGGGCAGCT TaP5CR_R: GCATCTTGTTGTGGCAGCAA

Tablo 5'in devamı

TaP5CS	AY888045.1	TaP5CSF: TGAAATGGCTGTTGCTGCAC TaP5CSR: TGCCTCTAAAGCATCCGCAA
Ta Copper Transporter3- like	XM_044494337 .1	TaCT3L_F: AGATCCTCTTCCACGGGTGGCC TaCT3L_R: CGAGCGCAAAGACGACGAGGAG
Ta Cooper transporter 6 like	XM_044464005 .1	TaCT6L_F: TACCTGGTGATGCTGGCCGTCA TaCT6L_R: CCACAGAGCTCAGGGGATGCGA
Ta glutathione synthetase	XM_044555874 .1	TaGS_F: AGAACGAACAGGGAGAGGCGCT TaGS_R: CTCAAAGCAGACACCGCCCTGG
Ta glutathione S transferase 1 like	XM_044576540 .1	TaGST_F: TCAGCCTCGCGGACCTTAACCA TaGST_R: GGCCAGACCACCAGGCTTTCAC

2.6. Bakır İçeriğinin Belirlenmesi

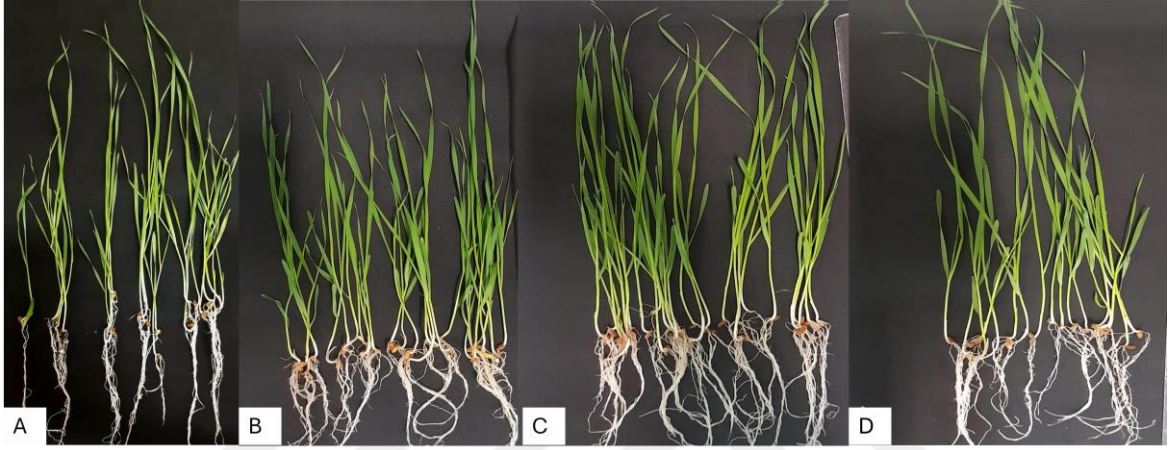
Ölçüm için her grup bitkiden 0.5g kuru örnek hazırlandı ve ölçüm yapılması için Erzincan Binalı Yıldırım Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezine gönderilerek atomik absorpsiyon spektroskopisi ile toplam Cu içeriği ölçüldü.

2.7. İstatistiksel Analizler

Denemeler, tesadüf parseller deneme deseni planına göre kurulmuş olup en az üç farklı numuneden 3 tekrarlı olacak şekilde yapıldı. Yapılan analizler sonucunda elde edilen verilerin varyans analizi Windows tabanlı program olan Statistical Package for Social Sciences (SPSS) paket programı içerisinde yer alan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi'ne göre belirlenmiştir.

3. BULGULAR

15 gün boyunca yapılan gözlemler sonucunda buğday fidelerinin genel olarak sağlıklı gelişim gösterdikleri belirlenmiştir. Bakır uygulanan grupta nekroz ve kloroz gibi morfolojik semptomlar gözlemlenmemiştir (Şekil 1.)

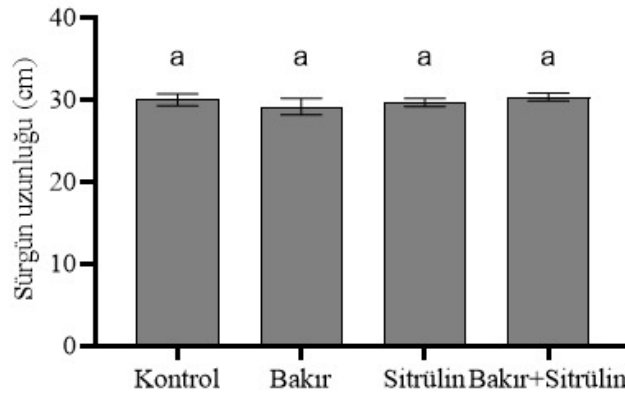


Şekil 1. Şekilde yer alan örnekler çalışma gruplarına göre harflendirilmiştir: (A)kontrol grubunu, (B) sitrülün uygulanan grubu,(C) bakır uygulanan grubu ve (D) bakır ile sitrülünün birlikte uygulandığı grubu göstermektedir

3.1. Bitki Büyümesinin ve Osmotik Dengesinin Nasıl Etkilendiğinin Belirlenmesi

3.1.1. Bitki Sürgün Uzunluğu

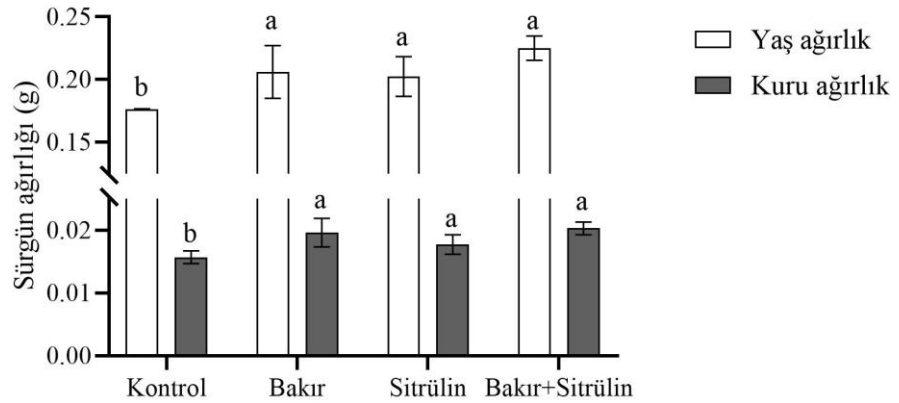
Yapılan uygulamalardan sonra buğday fidelerinin sürgün uzunlukları ve yaş/kuru ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sürgün uzunluklarında istatistiksel olarak bir fark olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 2.).



Şekil 2. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde sürgün uzunluğu üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.1.2. Yaş ve Kuru Ağırlığı

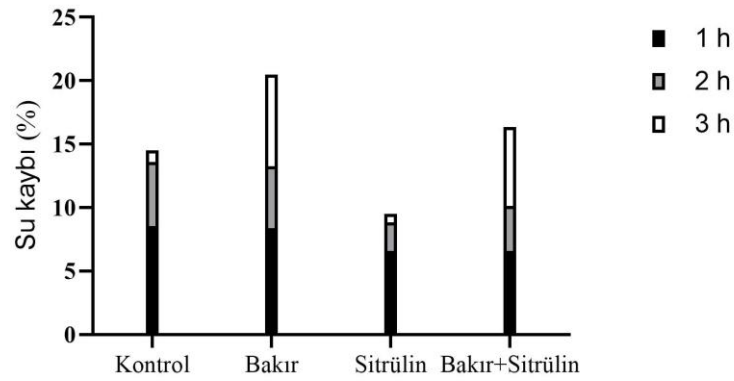
Yapılan uygulamalar sonucunda kontrol grubunun hem yaş hem de kuru ağırlığının diğer gruplara kıyasla düşük olduğu görülmüştür. Cu, sitrülin ve Cu + sitrülin gruplarının yaş/kuru ağırlıklarının kontrole oranla yaklaşık 1.5 kat artış gösterdiği ve birbirleriyle istatistiksel olarak oldukça yakın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde yaş kuru ağırlığı üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.1.3. Yüzde Su Kaybı

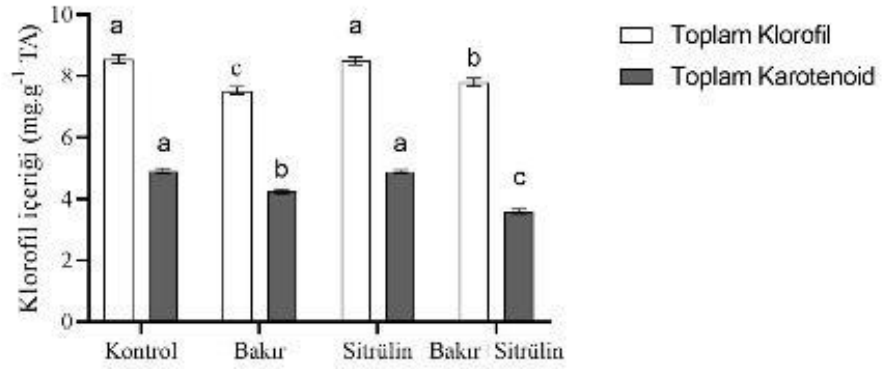
Yapılan analizlerin istatistiksel değerlendirilmesi ile CuSO_4 uygulamasının bitkilerde su kaybını arttırdığı sitrülün uygulamasının ise su kaybını azalttığı sonucuna ulaşılmıştır. Özellikle 3. zaman aralığında CuSO_4 uygulaması kontrole kıyasla bakır grubunda % su kaybını yaklaşık olarak 1.5 kat arttırmıştır. Sitrülün uygulaması kontrole göre su kaybını 1.6 kat azaltmış ve Cu + sitrülün grubunda ise bakır grubuna göre 1.2 kat bir azalma belirlenmiştir (Şekil 4.).



Şekil 4. Sitrülün uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde % su kaybı üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.1.4. Fotosentetik Pigmentlerin Tayini

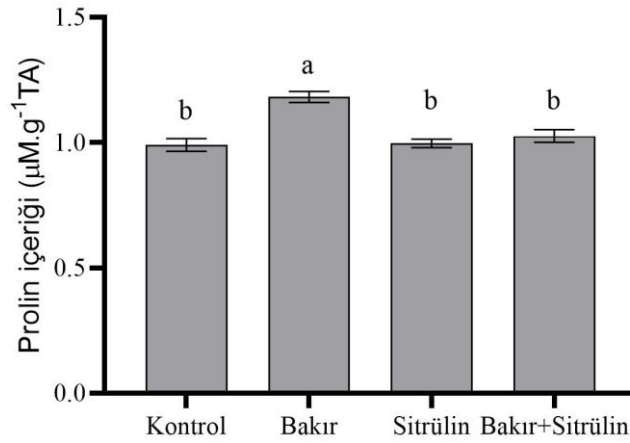
Uygulamalar sonucunda klorofil içeriğinin yalnızca bakır uygulanan grupta kontrol grubuna göre 1.13 kat bir azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir. Sitrülünün tek başına uygulaması toplam klorofil içeriğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmamış fakat Cu + sitrülün uygulamasının klorofil içeriğini yalnız bakır uygulamasına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırmıştır (Şekil 5.).



Şekil 5. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam klorofil içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.1.5. İçsel Prolin Tayini

Bakır uygulaması sonucunda bitkilerdeki prolin içeriği kontrol grubuna göre bakır grubunda yaklaşık 1.2 kat artış göstermiştir. Sitrülin grubunda ve Cu + sitrülin grubunda ise kontrole kıyasla neredeyse hiç fark oluşmamıştır (Şekil 6.).

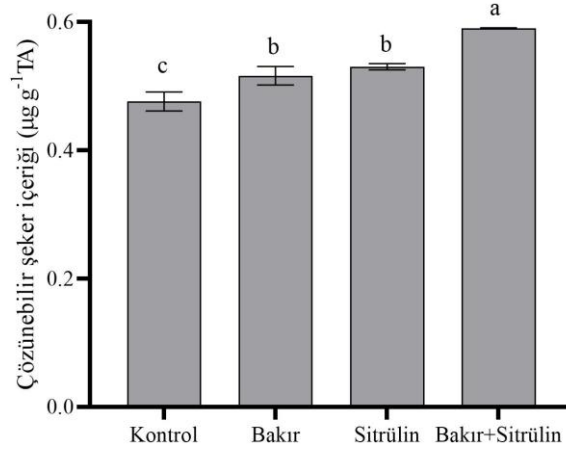


Şekil 6. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam prolin içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.1.6. Toplam Şeker Tayini

Uygulamalar sonucunda toplam şeker içeriği bakır grubunda kontrol grubuna göre yaklaşık 1.05 kat artış göstermiştir. Sitrülin uygulaması ise kontrole göre yaklaşık 1.06

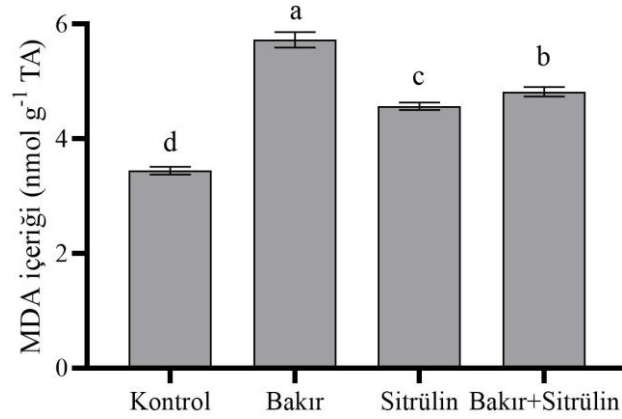
oranında bir artış oluşturmıştır. Cu + sitrülün uygulamasında ise kontrol grubuna göre 1.08 kat olan en yüksek artış tespit edilmiştir (Şekil 7.).



Şekil 7. Sitrülün uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam çözünebilir şeker içeriği üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.1.7. Lipid Peroksidasyonu Tayini

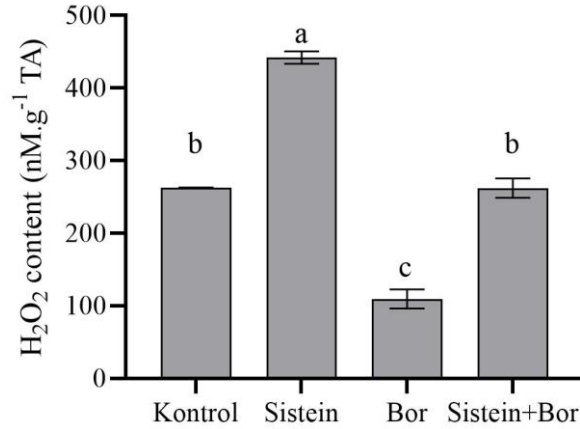
Malondialdehit (MDA) içeriğinin bakır stresi altındaki buğday fidelerinde en yüksek seviyede; kontrol grubunda ise en düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Bakır uygulaması MDA içeriğini kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1.6 kat arttırırken ; Cu + sitrülün uygulaması bakır uygulamasına kıyasla yaklaşık 1,8 kat azaltmıştır (Şekil 8).



Şekil 8. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam MDA içeriğine etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir.

3.1.8. İçsel H₂O₂ Tayini

Yapılan CuSO₄ uygulaması sonucu H₂O₂ içeriği kontrole göre 1.7 kat bir artış ile bakır grubunda en yüksek belirlenmiştir. Sitrülin uygulaması kontrole göre 2.4 kat bir azalma oluşturmuştur ve en düşük H₂O₂ içeriğini gözlemlenmiştir. Cu + sitrülin uygulaması ise bakır grubuna göre 1.67 kat azalarak anlamlı bir fark oluşturmuştur (Şekil 9).

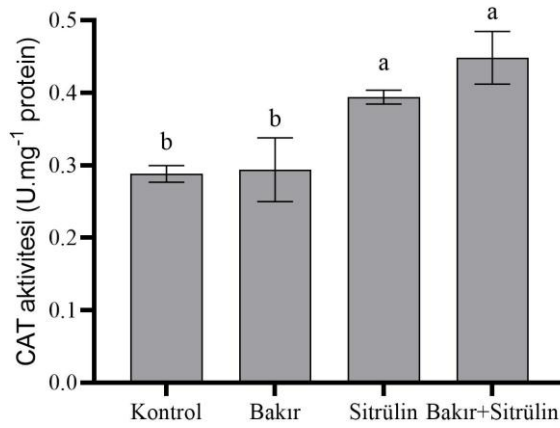


Şekil 9. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam H₂O₂ içeriğine etkisi. Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir.

3.2. Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidan Tayinleri

3.2.1. Katalaz Aktivitesi

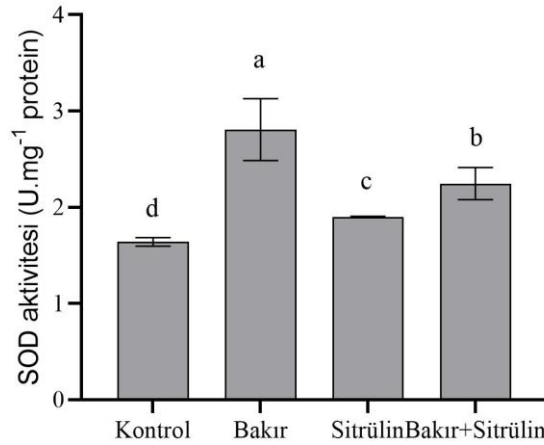
Katalaz aktivitesi sitrülin uygulaması ile kontrole kıyasla artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Fakat bakır uygulamasının kontrol grubuna göre önemli bir fark yapmadığı tespit edilmiştir. Buna ilaveten Cu + sitrülin uygulamasının kontrol grubuna göre katalaz aktivitesini yaklaşık 1.5 kat arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 10.).



Şekil 10. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde CAT aktivitesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar  zerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir.

3.2.2. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

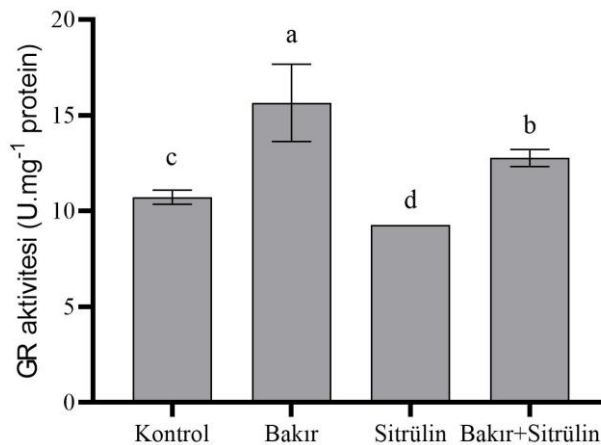
Bakır stresinin etkisiyle SOD aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1.75 kat artarak önemli bir fark oluşturduğu gözlemlenmiştir. Yalnızca Sitrülin uygulaması kontrol grubuna göre önemli bir fark oluşturmazken Cu + sitrülin uygulaması yalnızca bakır uygulanan gruba göre yaklaşık 1.25 kat azalma gözlemlenmiştir (Şekil 11.).



Şekil 11. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde SOD aktivitesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir.

3.2.3. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesi

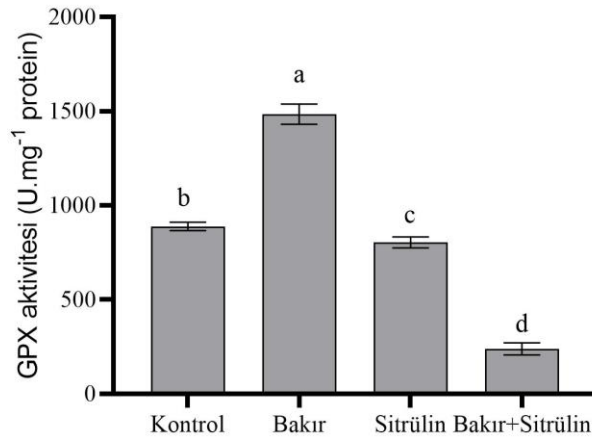
Yapılan analizler sonucunda yalnızca bakır uygulaması yapılan grupta GR aktivitesinin kontrole göre yaklaşık 1.5 kat artarak önemli bir fark oluşturduğu gözlemlenmiştir. Yalnızca sitrülin uygulaması en düşük GR aktivitesine sahipken ; Cu + sitrülin uygulamasının kontrol ve sitrülin gruplarından daha yüksek fakat yalnızca bakır uygulanan gruptan yaklaşık 1.25 kat düşük olduğu görülmüştür (Şekil 12.).



Şekil 12. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde GR aktivitesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir.

3.2.4. Peroksidaz Aktivitesi

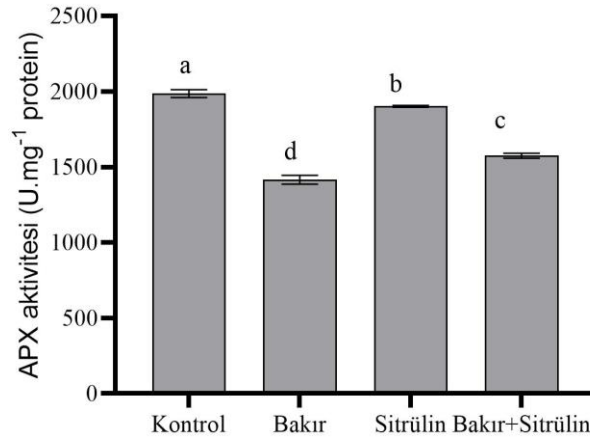
GPX aktivitesinin bakır uygulamasıyla birlikte kontrole kıyasla yaklaşık 1.6 kat artarak önemli bir fark oluşturduğu gözlemlenmiştir. Kontrol grubunun ve yalnızca sitrülün uygulanan grubun verileri birbirine oldukça yakın ve her iki grupta yalnızca bakır uygulanan gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca Cu + sitrülün uygulamasının GPX aktivitesini bakır grubuna kıyasla 6 kat azalttığı rapor edilmiştir (Şekil 13).



Şekil 13. Sitrülün uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde GPX aktivitesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir.

3.2.5. Askorbat Peroksidaz Aktivitesi

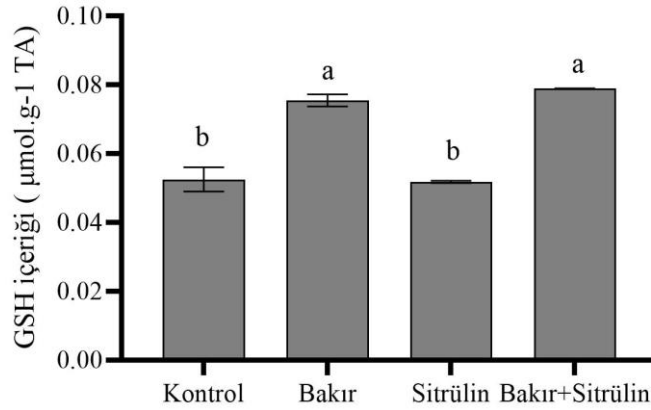
Yapılan analizler sonucunda kontrol grubunun en yüksek APX aktivitesine sahip olduğu ve sitrülün uygulamasının kontrole yakın bir değer gösterdiği gözlemlenmiştir. Bakır stresine maruz bırakılan buğday fidelerinde ise APX aktivitesinin kontrole kıyasla yaklaşık 1.4 kat azaldığı tespit edilmiştir. Cu + sitrülün uygulamasının yalnızca bakır uygulamasına göre APX aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 14).



Şekil 14. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde APX aktivitesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.2.6. GSH İçeriği

GSH miktarı kontrol ve yalnız sitrülin uygulanan gruplarda benzer seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir. Yalnız Cu ve Cu + sitrülin uygulamasında ise GSH içeriğinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ve oldukça yakın değerlerde olduğu gösterilmiştir (Şekil 15).

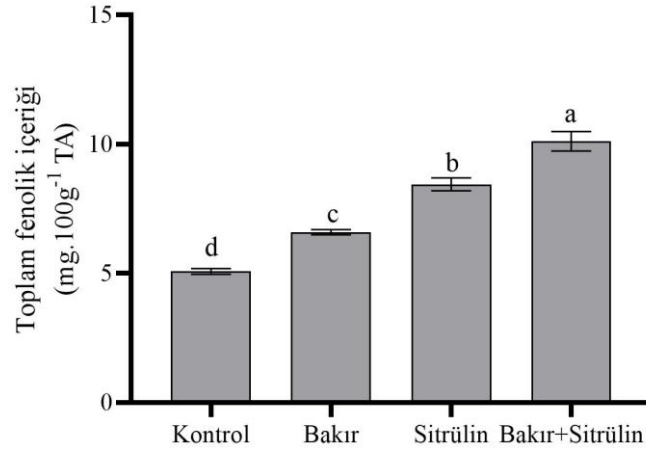


Şekil 15. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde GSH içeriği üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.2.7. Toplam Fenolik İçeriği

Toplam fenolik içeriği Cu + sitrülin uygulamasıyla kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat artış göstererek en yüksek seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca kontrol grubunun

en düşük toplam fenolik içeriğine sahip olduğu ve bakır uygulamasının kontrol grubuna kıyasla fenolik içeriğini yaklaşık 1.3 kat arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 16).

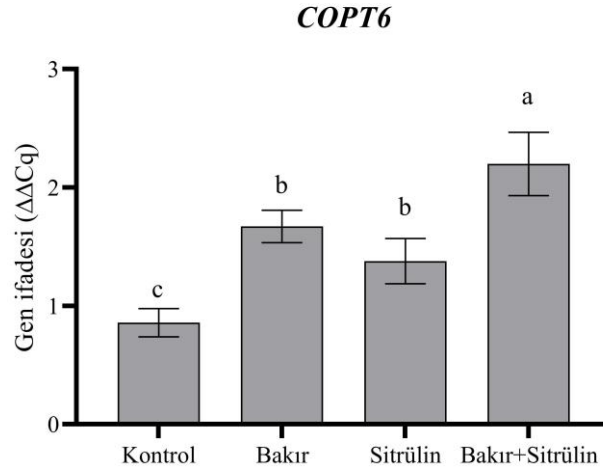


Şekil 16. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde toplam fenolik içeriğine etkisi. Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.3. Gen İfade Değişimleri

3.3.1. Copper Transporter 6-Like (COPT6) Gen İfadesi

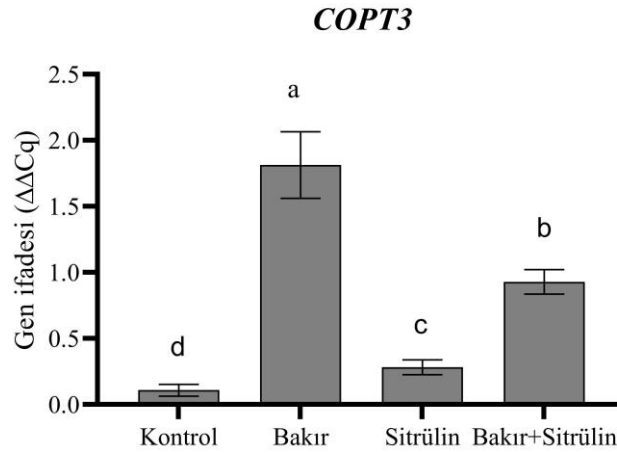
Copper Transporter 6-Like (COPT6) gen ifadesinin CuSO_4 uygulamasıyla birlikte kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1.9 kat artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Sitrülin uygulamasının yalnızca bakır uygulanan gruba göre daha düşük fakat kontrol grubuna göre yaklaşık 1.6 kat arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca Cu + sitrülin uygulamasının en yüksek gen ifadesini gösterdiği rapor edilmiştir (Şekil 17).



Şekil 17. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde COPT6 gen ifadesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.3.2. Copper Transporter 3-Like (COPT3) Gen İfadesi

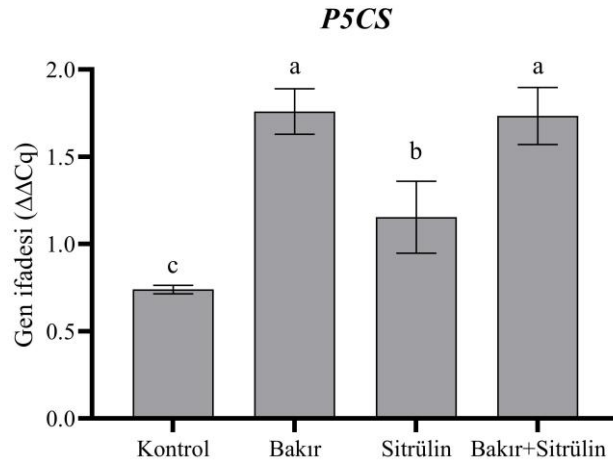
Copper Transporter 3-Like (COPT3) gen ifadesinin CuSO_4 uygulamasıyla birlikte kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 16,7 kat artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Sitrülin uygulamasının yalnızca bakır uygulanan gruba göre daha düşük fakat kontrol grubuna göre yaklaşık 2,6 kat arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca Cu + sitrülin uygulamasının yalnızca bakır uygulanan gruptan düşük fakat kontrol ve yalnızca sitrülin uygulanan gruptan yaklaşık 10 kat daha fazla ekspresyona uğradığı tespit edilmiştir (Şekil 18.).



Şekil 18. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde COPT3 gen ifadesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.3.3. Prolin-5-Karboksilat Sentaz (P5CS) Gen İfadesi

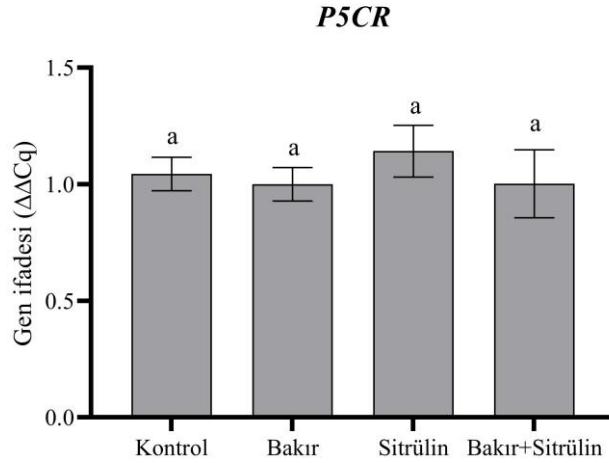
Prolin-5-karboksilat sentaz (P5CS) gen ifadesinin yalnızca bakır uygulaması ve Cu + sitrülün uygulamasında çok yakın değerlerde olduğu gözlemlenmiştir. Fakat her iki grubunda kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2.4 kat uyarıldığı tespit edilmiştir. Yalnızca sitrülün uygulamasının ise gen ifadesini kontrol grubuna göre yaklaşık 1.5 kat arttırdığı belirlenmiştir (Şekil19).



Şekil 19. Sitrülün uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde P5CS gen ifadesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.3.4. Prolin-5-Karboksilat Redüktaz (P5CR) Gen İfadesi

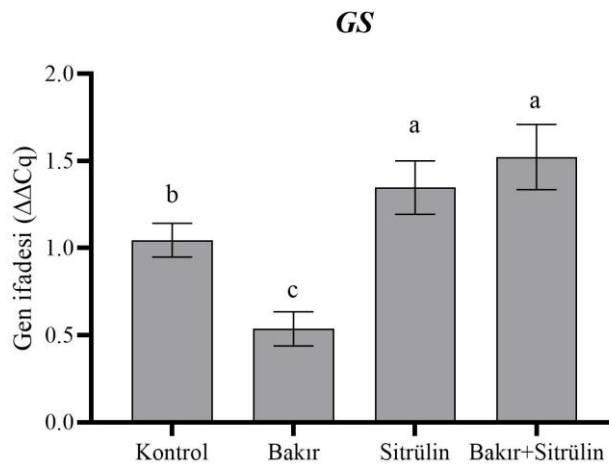
Yapılan uygulamalar sonucunda P5CR gen ifadesinde kontrol, bakır ve Cu + sitrülün gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Ancak yalnızca sitrülün uygulaması P5CR gen ifadesini diğer gruplara göre az da olsa attırdığı tespit edilmiştir (Şekil 20).



Şekil 20. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde P5CR gen ifadesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.3.5. Glutasyon Sentetaz (Gs) Gen İfadesi

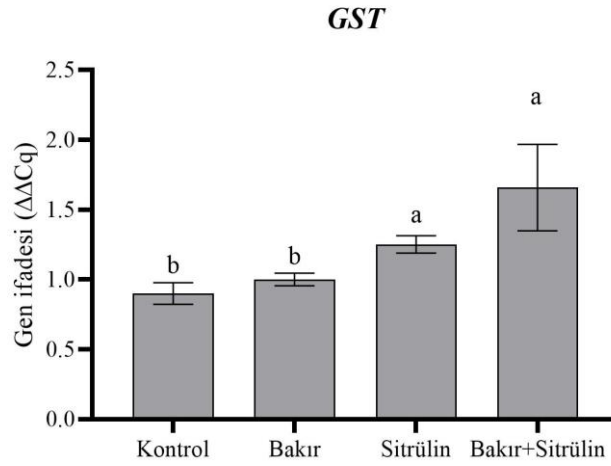
Glutasyon sentetaz gen ifadesinin, bakır uygulamasıyla kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat baskılandığı gözlemlenmiştir. Yalnızca sitrülin uygulamasının GS gen ifade düzeyini bakır uygulamasına göre yaklaşık 2.5 kat; kontrol grubuna göre ise 1.2 kat daha fazla uyardığı gözlemlenmiştir. Ayrıca Cu +sitrülin uygulamasının GS gen ifadesinin kontrol grubuna göre 1.5 kat; bakır uygulamasına göre 2.8 kat arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde GS gen ifadesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir

3.3.6. Glutasyon-S-Transferaz (GST) Gen İfadesi

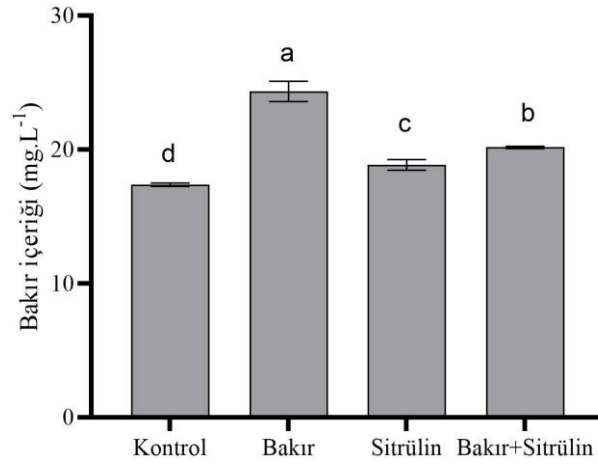
Yapılan analizler sonucunda GST gen ekspresyonu Cu + sitrülin grubunda kontrol grubuna kıyasla yaklaşık olarak 1.9 kat daha fazla uyarıldığı gözlemlenmiştir. Fakat yalnızca bakır uygulamasının kontrol grubuyla neredeyse aynı olduğu; yalnızca sitrülin uygulamasının ise GST gen ifadesini kontrol grubuna göre yaklaşık 1.4 kat arttırdığı belirlenmiştir (Şekil 22).



Şekil 22. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde GST gen ifadesi üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar  zerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir.

3.4. Toplam Bakır İ eriğı

Bakır uygulamasının buğday fidelerindeki bakır içeriğini kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 1.4 kat arttırdığı gözlemlenmiştir. Yalnızca sitrülin uygulamasının kontrol grubuna yakın bir değer de olduğu tespit edilmiştir. Cu + sitrülin uygulamasının ise kontrol ve yalnızca sitrülin uygulanan gruba kıyasla daha yüksek fakat yalnızca bakır uygulanan gruptan yaklaşık 1.2 kat daha düşük bakır içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. Sitrülin uygulamasının bakır stresi altında buğday fidelerinde bakır içeriği üzerinde etkisi. Barlar ortalamaların standart sapmasını belirtmektedir (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki önemli farkları ($P \leq 0.05$) göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Son yıllarda artan çevre kirliliği tarımsal üretimi tehdit etmekle beraber insan sağlığını da olumsuz etkilemektedir. Günümüzün önemli çevre sorunlarından bir tanesi de toprakta biriken ağır metallere. Doğadaki ağır metaller modernleşme, hızlı sanayileşme, yoğun tarım ve yaygınlaşan madencilik faaliyetleri gibi küresel fenomenlerin etkisiyle hızla artmaktadır (Emamverdian vd., 2015; Feng vd., 2023). Buğday (*Triticum aestivum* L.) dünya üzerinde en çok tüketilen tahıl ürünlerinden bir tanesidir. Ağır metal stresi ise canlıların maruz kaldıkları abiyotik stresler arasında ürün verimini doğrudan etkileyen *T. aestivum* üretimi için önemli bir risk oluşturmaktadır (Ashraf vd., 2022). Tarım alanlarında sıkça kullanılmakta olan Cu son yıllarda ciddi toprak kirliliğine neden olmakla beraber tarım ürünleri için stres koşullarını oluşturmaktadır. Bitkilerde yüksek bakır birikimi, kadmiyum (Cd), çinko (Zn), nikel (Ni) ve kurşun (Pb) gibi diğer ağır metallerle kıyasla bitkiler için daha toksik olabilmektedir. Çünkü aşırı bakır birikimi bitki fotosistemi için daha toksik etkiler oluşturmakla beraber kök ve yapraklardaki birikimi DNA ve RNA, lipitler, protein, enzimler, dahil olmak üzere neredeyse tüm hücrel makromolekülleri hedef alan oksidatif strese neden olur ve hücrel ROS oluşumunu tetikler (Khan vd., 2024). Oluşan stres koşullarına karşı bitkiler savunma sistemlerini aktive ederek ozmotik, iyonik ve oksidatif stresleri hafifletmek üzere programlanmışlardır (Khan vd., 2024). Dışarıdan ekzojen olarak uygulanan silisyum, melatonin, salisilik asit, glisin betain ve askorbik asit gibi astaralama ajanlarının, çeşitli abiyotik streslere karşı bitki toleransını artırdığı yaygın olarak bildirilmiştir (Ma vd., 2025).

Etkili bir H₂O₂ temizleyicisi olduğu bilinen ve karpuzda doğal olarak bol miktarda bulunan sitrülünün potansiyeli dikkat çekmektedir. Ancak, sitrülünün bu bağlamdaki etkileri üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Yapılan bu çalışmada Buğday (*Triticum aestivum* L.) fidelerinin sitrülün ön muamelesiyle bakır stresine verdikleri fizyolojik ve morfolojik cevaplar araştırılmıştır.

Oksidatif strese maruz kalan bitkilerde genel olarak fizyolojik bulgular strese maruz kalan bitkilerde düşük sürgün uzunluğu ve düşük yaş kuru ağırlık oluşması yönündedir. Literatürde bu bulguyu kanıtlayan oldukça fazla çalışma mevcuttur. Nitekim yapılan bir çalışmada Cu stresine maruz kalan domates bitkilerinde sürgün uzunluğu, yaş ağırlık ve kuru ağırlık kontrole kıyasla düşük değerlerde ölçülmüştür. Melatonin (MT) in dışarıdan

uygulaması stresi hafifletme yönünde eğilim göstererek değerleri arttırmada başarılı olmuştur (Zhang vd., 2022). Literatürde sıkça rastladığımız verilerin aksine yapılan bir çalışmada yüksek kurşun ve bakır seviyelerine maruz bırakılan balkabağı (*Cucurbita moschat a Duch.*) bitkilerinin metal toleranslı bitkiler gibi davranarak herhangi bir görünür toksisite semptomu göstermedi ve gövde uzunlukları artan bir eğilim gösterdi. Benzer şekilde yaş ve kuru ağırlık verileri de anlamlı bir fark göstermedi ve birbirine oldukça yakın sonuçlar verdi (Sevgi ve Leblebici, 2025).

Bu tez kapsamında elde edilen morfolojik bulgular, Cu uygulamasının bitki büyümesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir gerilemeye yol açmadığını göstermiştir. Bu durum, ilk bakışta bakırın toksik etkisinin beklenenden az olduğu şeklinde yorumlanabilir; ancak uygulanan stres süresinin kısa olması, bu sonucun altında yatan temel faktör olarak değerlendirilmektedir. Ağır metal stresinin büyüme üzerindeki baskılayıcı etkileri genellikle daha uzun süreli maruziyetlerde ortaya çıkan, geç evre bir yanıttır. Çalışmamızdaki kısa süreli maruziyet, bitkinin henüz morfolojik olarak çöküşe geçmediği, ancak stresle başa çıkmak için erken evre savunma mekanizmalarını yoğun bir şekilde aktive ettiği bir "anlık görüntü" sunmaktadır.

Bu erken evre yanıtı, özellikle gen ifadesi ve glutatyon metabolizması bulgularıyla açıkça görülmektedir. Örneğin, bitkinin başlangıçta daha hızlı ve enerji açısından daha verimli olan mevcut GSH havuzunu geri dönüştürme (GR enzimi aracılığıyla) stratejisine öncelik verdiğini düşündürmektedir. Uzun süreli bir streste bu geri dönüşüm mekanizması yetersiz kalabilir ve yeni GSH üretimi zorunlu hale gelebilirdi. Dolayısıyla, GS genindeki baskılanma, stresin erken bir aşamada gözlemlendiğinin moleküler bir kanıtı olarak yorumlanabilir. Nitekim, Burkhead vd. (2009), COPT taşıyıcılarının, bakır alımı, taşınması ve depolanmasında rol aldığını, özellikle COPT3 ve COPT5'in hücre içi Cu depolarından yeniden mobilizasyonu sağladığını belirtir. Wairich vd. (2022), Cu'nun yüksek dozlarda toksik etki oluşturduğunu ve Cu homeostazisinin bitki bünyesinde titizlikle korunmasının büyük önem taşıdığını vurgular.

Benzer şekilde, *COPT3* gibi acil durum taşıyıcı genlerinin ifadesindeki çok yüksek katlı artışlar (16.7 kat), bitkinin Cu tehdidini algıladığını ve büyüme gibi fizyolojik süreçler henüz gözle görülür şekilde etkilenmeden önce, toksik iyonları hücre içinde güvenli bölmelere taşımak için acil bir moleküler savunma başlattığını göstermektedir. Bu hızlı ve güçlü transkripsiyonel yanıt, bitkinin hücresel bütünlüğü koruma çabasıdır ve bu çaba, deneyin kısa süresi içinde büyümenin olumsuz etkilenmesini engellemiştir.

Sonuç olarak, büyüme verilerindeki anlamsız fark, bir stres yokluğuna değil, aksine stresin erken ve moleküler düzeyde başarılı bir şekilde yönetildiğine işaret etmektedir. Gen ifadesi ve GSH metabolizmasındaki anlık değişimler, bitkinin kısa süreli Cu stresine karşı verdiği ilk ve kritik tepkilerdir. Bu erken savunma mekanizmaları, stresin morfolojik hasara ve biyokütle kaybına yol açmasını, en azından deney süresi boyunca, etkili bir şekilde ertelemiştir.

Yapraklardan su kaybı miktarları, bitkilerin abiyotik stres koşullarına karşı verdikleri ilk fizyolojik tepkiler arasında yer almaktadır. Daha önce yapılan çalışmalardan örnek vermek gerekirse; Khan vd., 2024 'te Ilmi piriç çeşidi (*Oryza sativa* L.) ile yaptıkları çalışmada piriç fidelerinin Gama Aminobütirik Asit (GABA) uygulaması ile farklı konsantrasyonlarda (50 μ M, 100 μ M ve 200 μ M) bakır stresine cevabı araştırılmıştır. Elde edilen bulgular artan bakır konsantrasyonu ile birlikte bağıl su içeriğinin anlamlı derecede azaldığını göstermiştir. GABA uygulamasının stres grupları üzerindeki iyileştirici etkisi bağıl su içeriğinin artmasıyla net bir şekilde açıklanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada buğday fideleri Krom (100 μ M) ve Bor (2,0 mM) stresine maruz bırakılarak oksidatif stres oluşturulmuştur. Stres uygulamasından 10 gün sonra astarlama ajanı olarak taurin (50, 100 ve 150 mg L⁻¹) uygulaması yapılmıştır. Strese maruz kalan fidelede bağıl su içeriğinde önemli bir azalma gözlemlenmiştir buna ek olarak taurin uygulaması ile bağıl su içeriğinin arttığı rapor edilmiştir (Ashraf vd., 2022).

Çalışmamızda elde edilen bulgular, literatürle büyük ölçüde örtüşmektedir. 400 μ M bakır uygulanan buğday fidelerinde su kaybı en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Sitrülin uygulaması yapılan grupta en az su kaybı gözlemlenmiştir. Özellikle bakır + sitrülin kombinasyonu, sadece bakır uygulamasına kıyasla belirgin bir iyileşme sağlamış ve su kaybını anlamlı düzeyde düşürmüştür. Bu sonuçlar, ağır metallerin bitki hücre zar yapısını ve stoma geçirgenliğini bozarak su kaybını artırdığını, ancak dışarıdan uygulanan astarlama ajanlarının bu etkileri hafifletmede etkili olabileceğini göstermektedir.

Bakır stresine maruz kalan bitkilerde fotosentez mekanizması ilk etkilenen sistemlerden bir tanesidir ve fotosentetik pigment içeriğinde belirgin bir azalmaya yol açmaktadır. Yapılan bir çalışmada keçi otu (*Aegilops tauschii*) fidelerinin büyümesi ve biyokimyasal tepkileri üzerinde farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 200 ve 300 mg·kg⁻¹) nikel, kurşun ve bakır stresinin etkileri araştırılmış. Elde edilen bulgular artan konsantrasyonlar ile toplam klorofil içeriği anlamlı şekilde azaldığını göstermiştir (Wang vd., 2024). Riaz vd., 2022 sürdürdüğü benzer bir çalışmada ise Si-nanopartiküllerin

(SiNP'ler) buğday fidelerindeki Cu^{2+} stresine cevaptaki rolü araştırılmıştır. 500 μM Cu^{2+} uygulamasının toplam klorofil içeriğini istatistiksel olarak ciddi oranda azalttığı buna kıyasla 500 μM Cu^{2+} + 2,5 mM SiNP uygulamasının bakır grubuna oranla klorofil içeriğini arttırdığı rapor edilmiştir. Ağır metal toksisitesine başka bir örnek vermek gerekirse Niyofasha, vd., 2023 prinç bitkisi üzerine yaptıkları çalışmada dışarıdan uygulanan Sodyum Nitroprusid (SNP) uygulaması ile cıva (Hg), krom (Cr), bakır (Cu) ve çinko (Zn) kaynaklı ağır metal stresini hafifletmeyi amaçlamışlardır. Sadece ağır metallerin uygulandığı deney gruplarında klorofil içeriği çok ciddi bir azalma göstermiştir. Fakat ağır metallere ek olarak uygulanan SNP kontrol grubuna kıyasla toplam klorofil içeriğini ciddi ölçüde arttırmıştır. Yapılan çalışmaların hemen hemen tamamı aynı sonuçları rapor etmektedir ve ağır metal stresinin bitki klorofil içeriğini azalttığını göstermektedir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgularda literatürle uyumlu olarak bakır stresli altındaki bitkilerde klorofil içeriğinin önemli ölçüde azaldığını göz önüne koymaktadır. Yalnız bakır uygulanan grup kontrol grubuna göre ciddi bir azalma göstermiştir. Bakır + sitrülün grubu ise toplam klorofil içeriğini yalnızca bakır uygulanan gruba kıyasla ciddi derecede arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuç, sitrülünün klorofil sentezini koruyarak veya teşvik ederek bakır stresine karşı etkili bir önleyici ajan olabileceğini göstermektedir.

Bitkiler, osmotik stres gibi çevresel olumsuzluklara karşı büyüme ve gelişmelerini sürdürebilmek amacıyla çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmektedir. Bu mekanizmalardan biri de serbest prolin birikimidir. Strese maruz kalan bitkiler, prolini reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi ve osmoliti olarak kullanarak stresin olumsuz etkilerini azaltmaya çalışırlar. Prolin sentezi bitkilerde P5CS ve P5CR enzimleri tarafından gerçekleşir (Adamipour vd., 2025). Sentez esas olarak glutamattan gerçekleşir ve iki basamaktan meydana gelir; glutamat, pirolin-5-karboksilat sentetaz (P5CS) enzimi aracılığıyla glutamat-semialdehite (GSA) indirgenir ve bu ara madde, kendiliğinden pirolin-5-karboksilata (P5C) dönüşür. Ardından, pirolin-5-karboksilat (P5C), P5C redüktaz (P5CR) tarafından proline indirgenir (Saibi et al., 2015). Nitekim Yusuf vd., (2021), farklı Cu konsantrasyonlarına (25, 50, 100 μM) maruz bırakılan salatalık (*Cucumis sativus*) bitkilerinde prolin içeriğinde anlamlı artışlar gözlemlenmiştir. Bu bulguyu destekleyen başka bir çalışmada, bakır stresine maruz kalan ıspanak (*Spinacia oleracea* L.) fidelerinde prolin birikiminin belirgin şekilde arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca, gibberellik asit (GA_3) uygulamasının bakır stresini hafiflettiği ve prolin birikimini azalttığı, özellikle 3–5 mg L^{-1} GA_3 dozlarının bu etkiyi sağladığı belirtilmiştir (Gong vd., 2021). Benzer şekilde, domates

fidelerinde yapılan bir çalışmada MT uygulamasının iyileştirici etkisi ele alınmıştır. Cu uygulamasına maruz kalan bitkilerde prolin içeriği kontrole göre %116,6 oranında artarken, dışarıdan uygulanan MT uygulaması bu artışı %99,9 oranında azaltmıştır (Zhang vd., 2022).

Çalışmamızda elde edilen veriler de literatürle uyumludur. Bakır stresine maruz kalan buğday fidelerinde prolin birikimi anlamlı şekilde artmıştır. Bununla birlikte, dışarıdan uygulanan sitrülün, bakır stresinin neden olduğu prolin artışını baskılayarak prolin içeriğini kontrol seviyelerine yakın tutmuştur. Prolin sentezinde sorumlu olan *P5CS* ve *P5CR* gen ekspresyonları incelendiğinde; *P5CS* gen aktivasyonu yalnız sitrülün uygulamasıyla kontrole kıyasla düşük de olsa anlamlı bir artış göstermiştir. Nitekim Cu ve Cu + sitrülün uygulamasıyla beraber maksimum seviyeye ulaşmıştır. Bu durum Cu uygulamasıyla artan prolin miktarını destekler nitelikte bir bulgudur. *P5CR* geninde ise yalnız sitrülün uygulamasında çok az bir artış olsa da genel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Bu durum *P5CS* 'nin sentez sırasında hız sınırlayıcı olması ve regülasyonunun daha belirgin olması; *P5C*'nin proline dönüşümünün ise hız sınırlayıcı bir adım olmaması ve *P5CR* aktivitesinin kontrollü olarak sabit kalması durumuyla bağdaştırılabilmektedir (Szabados ve Savouré 2010).

Literatürde, abiyotik streslere maruz kalan bitkiler fruktoz, glikoz ve sakkaroz gibi indirgenmiş şekerlerin üretimini artırdığı belirtilmektedir. Şekerler, bitkilerde büyüme gelişme, fotosentez, membran bütünlüğünü koruma, bitki metabolizmasını modüle etme gibi birçok farklı işlevde gereklidir. Hintyağı (*Ricinus communis* L.) bitkisinde farklı Cu konsantrasyonları (80 ve 160 μ M) ile yapılan bir çalışmada toplam şeker miktarının arttığı rapor edilmiştir. 15 μ M konsantrasyonunda kinetin (KIN) ve 6-benzilaminopurin (BAP) gibi sitokininlerin yapraktan ekzojen uygulaması sonucu şeker içeriğinde azalma gözlemlenmiştir (Sameena ve Puthur, 2022). Wu vd., (2025) yaptığı bir çalışmada 10 gün boyunca 100 μ M Cu stresi işlemine tabi tutulan pamuk (*Gossypium hirsutum*) fidelerinde çözünebilir şeker içeriğinde önemli artışlar kaydedilmiştir. Strese maruz kalan bitkilerde çözünür şeker üretimi ve toplanması direk olarak radikal temizlemeye, ozmotik ayarlamaya ve Ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz-oksijenaz (RuBisCo) gibi protein yapılarının stabilizasyonuna katkı sağlamaktadır (Ghosh vd., 2021)

Bu çalışmadan elde edilen veriler literatür bilgilerini desteklemektedir. En yüksek artış, bakır ve sitrülünün birlikte uygulandığı grupta gözlemlenirken, en düşük değer kontrol grubunda ölçülmüştür. Tek başına uygulanan bakır ve sitrülün grupları ise istatistiksel olarak birbirine yakın ve kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek değerler göstermiştir.

Bu çalışmada, 400 μ M bakır ve 1 mM sitrülünün tek başına ve birlikte uygulanmasının bitkilerde çözünebilir şeker içeriği üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, kontrol grubuna kıyasla tüm uygulama gruplarında çözünebilir şeker içeriğinde anlamlı artışlar olduğunu ortaya koymuştur. En yüksek artış, bakır ve sitrülünün birlikte uygulandığı grupta gözlemlenmiştir; bu sinerjik etki, sitrülünün bakır kaynaklı oksidatif stresi azaltırken aynı zamanda karbonhidrat metabolizmasını uyararak şeker birikimini artırmasıyla açıklanabilir. Şekerler, ROS süpürme mekanizmalarını güçlendirerek (örneğin, H_2O_2 ve MDA seviyelerini düşürerek) hücrel hasarı önler ve antioksidan enzimlerin (SOD, CAT) aktivitesini destekler. Bu kombinasyonun oluşturduğu sinerjik etki hem savunma mekanizmalarını hem de metabolik aktiviteyi optimize etmiş olabilir.

Hidrojen peroksit (H_2O_2), bitkilerde düşük dozlarda stres sinyalizasyonunda görev alan kararlı bir ROS olarak tanımlanmaktadır (Zhang vd., 2022). Artan çevresel stres koşulları altında, H_2O_2 düzeylerinde hızlı ve belirgin bir artış gözlemlenmekte olup bu artış, oksidatif stresin erken belirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir. H_2O_2 seviyesindeki bu artışa paralel olarak membran lipidlerinin peroksidasyonu da artmakta ve bu durum, serbest radikallerin neden olduğu hücrel stresin önemli bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Feng vd., 2023). Bu süreçte hem malondialdehit (MDA) hem de endojen H_2O_2 seviyelerinde anlamlı artışlar meydana gelmektedir.

Singh ve Jha (2018), bakır (Cu) stresine maruz bırakılan buğday fidelerinde, Cu-tolerant bir bakteri olan *Pantoea sp.* ZNP-5'in inokülasyonunun oksidatif stresin azaltılmasında etkili olduğunu bildirmiştir. 100–300 mg kg^{-1} Cu uygulanan fidelede, Cu dozu arttıkça H_2O_2 içeriği %107'ye, MDA içeriği ise %65'e varan oranlarda artış göstermiştir. Ancak bakteri uygulaması sonucunda hem H_2O_2 hem de MDA düzeylerinde kayda değer azalmalar gözlemlenmiştir.

Benzer şekilde, Mnafigui vd., (2022) tarafından yapılan bir başka çalışmada, kurşun (Pb) stresi altındaki *Trigonella foenum-graecum* L. bitkisine dışsal olarak uygulanan EDTA, IAA ve $FeSO_4$ 'un, Pb kaynaklı oksidatif stresi hafiflettiği ve H_2O_2 ile MDA seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğü rapor edilmiştir. Yüksek Pb konsantrasyonları H_2O_2 ve MDA artışına neden olurken, bu kimyasal uygulamalar stresin etkilerini belirgin şekilde azaltmıştır.

Cu ile kirlenmiş ve kirlenmemiş toprakta bezelye (*Pisum sativum* L.) bitkilerine yapraktan GA_3 uygulamalarının bakır stresine karşı savunma mekanizması geliştirdiğini gözler önüne koymaktadır. Cu^{+} toprakta yetiştirilen fiderler en yüksek H_2O_2 ve MDA

içeriğini gösterdi. GA₃ dışarıdan uygulanan olarak (0, 10, 50 ve 100 mg·L⁻¹) uygulandığında MDA ve H₂O₂ içeriğini Cu⁺ topraklarda (sırasıyla %54,12, %58,79 ve %57,66) azalttı. Bu sonuç . GA₃'in oksidatif stresi hafifletmede etkili bir uygulama olduğunu kanıtlamaktadır (Javed vd., 2021)

Bu bulgular hem biyolojik hem de kimyasal astarlama stratejilerinin ağır metal stresi altında bitkilerin oksidatif stres tepkilerini azaltmada etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bu doğrultuda yapılan pek çok çalışma, H₂O₂ ve MDA gibi biyokimyasal parametrelerin bitki stres fizyolojisinde önemli göstergeler olduğunu ve stres azaltıcı uygulamaların etkinliğinin değerlendirilmesinde güvenilir biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışması kapsamında uygulanan Cu stresi, literatürdeki bulgularla uyumlu olarak, kontrol grubuna kıyasla hem H₂O₂ hem de MDA düzeylerinde anlamlı artışa neden olmuştur. Bu durum, Cu stresinin bitkilerde oksidatif hasarı tetiklediğini ve lipid peroksidasyonunu artırdığını göstermektedir. Dışarıdan uygulanan sitrülün, yalnızca Cu uygulanan gruba karşılaştırıldığında, MDA içeriğini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır. Benzer şekilde, Cu + sitrülün kombinasyonunun uygulandığı grupta da MDA seviyelerinde düşüş gözlemlenmiştir. Bu bulgular, sitrülünün Cu kaynaklı oksidatif stresin azaltılmasında etkili bir ajan olduğunu göstermektedir.

H₂O₂ içeriği açısından da benzer sonuçlar rapor edilmiştir. Özellikle yalnızca sitrülün uygulanan grupta, kontrol grubuna kıyasla H₂O₂ seviyelerinde azalma kaydedilmiştir. Bu durum, sitrülünün yalnızca ağır metal kaynaklı değil, aynı zamanda bitkinin bazal düzeydeki oksidatif yükünü de düşürebildiğini ve savunma sistemine katkı sağladığını işaret etmektedir.

Genel olarak bu bulgular, sitrülünün bitkisel savunma mekanizmaları üzerinde pozitif etkiler oluşturduğunu ve Cu stresine karşı potansiyel bir biyo-koruyucu ajan olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

Bitkilerin abiyotik streslere karşı geliştirdiği savunma mekanizmalarından biri de fenolik bileşiklerin sentezidir. Sekonder metabolitler sınıfında yer alan bu bileşikler, ROS ve serbest radikallerin zararlı etkilerini minimize eden antioksidan özellikleriyle bilinmektedir. Çevresel stres faktörleri altında bitkiler, fenolik madde üretimini artırarak oksidatif stresle mücadelede önemli bir adaptif yanıt göstermektedirler. Nitekim El-Beltagi vd., (2020), Cu stresine maruz kalan keten (*Linum usitatissimum* L.) bitkilerinde yapılan çalışmada, silisyum (Si) uygulamasının oksidatif hasarı azalttığını ve fenolik madde

içeriğinde anlamlı artışlara yol açtığını rapor etmişlerdir. Cu ve Si'nin hem tek tek hem de birlikte uygulanması durumunda fenolik bileşik düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir. Bu bulgular, ağır metal stresinin fenolik bileşik sentezini uyardığını ve bitkinin antioksidan savunma sistemini aktive ettiğini göstermektedir.

Benzer şekilde Jańczak-Pieniżek vd. (2023), Cu ve Pb uygulanan kışlık buğday bitkilerinde çimlenme oranlarında azalma, ancak artan dozlarla birlikte fenolik bileşik birikiminde artış tespit etmişlerdir. Buran vd. (2022) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise biberiye (*Salvia rosmarinus*) ve lavanta (*Lavandula angustifolia*) bitkilerine uygulanan Cu ve Cd çözeltileri, kontrol gruplarına kıyasla toplam fenolik içeriğin yükseldiğini ortaya koymuştur.

Bu tez kapsamında yapılan deneysel çalışma, yukarıda belirtilen literatür verileriyle uyumludur. Kontrol grubuna kıyasla, bakır uygulanan bitkilerde toplam fenolik madde seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu artış, ağır metal stresinin bitkilerde fenolik bileşik üretimini uyararak savunma mekanizmalarını etkinleştirdiğini göstermektedir.

Öte yandan, sitrülünün tek başına uygulanması da fenolik madde düzeylerinde artışa neden olmuş, özellikle bakır + sitrülün kombinasyonu en yüksek fenolik içerik değerlerine ulaşmıştır. Bu durum, sitrülünün fenolik metabolizmayı pozitif yönde etkilediğini ve oksidatif stresle baş etmede bitkiye destek sağladığını ortaya koymaktadır. Sitrülün uygulamasının antioksidan savunmayı destekleyici rolü, bitkisel stres toleransının artırılmasında potansiyel bir biyokimyasal araç olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, elde edilen veriler, fenolik bileşiklerin ağır metal stresi altında detoksifikasyon süreçlerine katılarak hücresel düzeyde koruyucu rol oynadığını ve sitrülünün bu süreçleri destekleyici etkiler sağlayabileceğini göstermektedir.

Çevresel stres koşullarının artması, canlılarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini hızlandırmakta ve bu durum hücresel düzeyde ciddi oksidatif hasarlara yol açmaktadır. Bitkiler, bu oksidatif stresle başa çıkabilmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemlerini devreye sokarak ROS'u detoksifiye etmeye çalışırlar. Bu kapsamda, CAT, SOD, APX, GPX ve GR gibi enzimatik antioksidanlar kritik bir rol oynamaktadır. Nitekim, Oloumi vd. (2024) tarafından fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) fidelerinde gerçekleştirilen çalışmada, çinko (Zn) ve bakır (Cu) toksisitesine karşı melatonin (MT) uygulamasının etkileri incelenmiştir. Araştırma sonucunda, Cu ve Zn maruziyeti bitkilerde CAT, GPX, APX ve GR enzim aktivitelerinde belirgin artışa neden olmuştur.

Ayrıca melatonin uygulamasının bu artışı daha da güçlendirdiği, özellikle CAT, APX ve GPX enzimlerinin melatoninle daha yüksek düzeyde aktive olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, melatoninin stres azaltıcı rolünü destekler niteliktedir.

Benzer şekilde, Nazir vd. (2019) çalışmasında da Cu toksisitesine maruz kalan bitkilerde CAT, POX ve SOD aktivitelerinde artış rapor edilmiştir. Özellikle H_2O_2 ile kök daldırma uygulaması ve Cu stresi beraber uygulandığında, bu enzimatik aktivitelerin daha da yükseldiği gösterilmiş ve bu durumun oksidatif stres toleransını artırdığı öne sürülmüştür.

Ayrıca, mikroalg türleri olan *Chlorella sorokiniana* ve *Scenedesmus acuminatus*'ta yapılan başka bir çalışmada, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ formunda uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cu stresine karşı savunma yanıtları incelenmiştir. Stres altındaki örneklerde H_2O_2 içeriği sırasıyla 1,9 ve 1,7 kat artış göstermiş; bu da Cu konsantrasyonu arttıkça ROS oluşumunun arttığını göstermiştir. Özellikle *C. sorokiniana*'da APX, GR ve SOD aktivitelerinde anlamlı artışlar kaydedilmiştir (Hamed vd., 2017). Bu sonuçlar, ağır metal stresine karşı antioksidan sistemin konsantrasyona duyarlı bir şekilde aktive olduğunu göstermektedir. *Cucurbita pepo* bitkisinde yapılan bir çalışmada farklı formda uygulanan bakırın bitkinin köklerinde CAT ve APX aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla ciddi bir düşüş meydana getirmiştir. Yapraklarda bakır birikimi tespit edilmesine rağmen CAT ve APX enzim aktiviteleri kontrole göre anlamlı bir değişim sergilememiştir (Tamez vd., 2019).

Çalışmamızda, CAT enzimi aktivitesinin farklı uygulamalara bağlı olarak anlamlı şekilde değiştiği gözlemlenmiştir. Bakır uygulamasının CAT aktivitesinde anlamlı bir artış sağlamamıştır. Bu durumun, yüksek dozlarda uygulanan Cu'nun enzim sistemlerine zarar vermesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Jouili ve El Ferjani, 2004). Sitrülin uygulaması tek başına CAT aktivitesinde önemli bir artışa neden olmuş, bu artış bakır + sitrülin kombinasyonunda daha da belirgin hâle gelmiştir. Bu sonuçlar, sitrülinin oksidatif stres koşullarında antioksidan savunma sistemlerini aktive edebileceğini ve bitkinin stresle baş etme kapasitesini artırabileceğini göstermektedir.

Salisilik asit (SA) ve askorbik asitle (AsA) ön işleme tabi tutulan pamuk fidelerinde Cu stresinin etkileri değerlendirildiğinde; SOD enzim aktivitesi Cu uygulamasıyla beraber kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. Ancak SA veya AsA ile muamele edilen pamuk bitkilerinde muamele edilmeyen Cu stresi altındaki fidelere kıyasla önemli ölçüde daha düşük enzim aktivitesi kaydedilmiştir. Bu durum, dışsal uygulamaların oksidatif stresin etkilerini hafiflettiğini desteklemektedir. (Mei vd., 2015).

Bu tez kapsamında elde edilen bulguların, literatürde yer alan veriler ile büyük ölçüde uyumlu olduğu belirlenmiştir. Bakır uygulaması, SOD aktivitesini kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artırmıştır. Bu artış, Cu'nun oksidatif stresi tetikleyerek ROS oluşumunu artırması ve SOD enziminin bu ROS' u gidermek için daha aktif hâle gelmesiyle açıklanabilir. Öte yandan, bakır + sitrülün uygulaması, yalnızca bakır uygulamasına göre SOD aktivitesinde düşüşe neden olmuştur. Bu durum, sitrülünün ROS düzeylerini azaltarak antioksidan sistemleri dengeleyici bir rol oynadığını ve aşırı enzim aktivasyonunu engellediğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda, bir diğer savunma hattı olan GR enzimi, SOD enzimiyle benzer bir aktivite profili sergilemiştir. Cu stresine maruz kalan bitkilerde GR aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Bu durum, oksidatif stresin etkisiyle savunma mekanizmalarının aktive olduğunu göstermektedir. Sitrülün uygulaması ise, GR aktivitesinde anlamlı bir azalma sağlamış ve stresin bulunmadığı ortamda enzimin baskılandığını ortaya koymuştur. Bakır + sitrülün uygulamasında ise GR aktivitesi, sadece bakır uygulamasına göre düşük; ancak yalnızca sitrülün uygulamasından daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, sitrülünün ROS oluşumunu baskılayarak oksidatif hasarı azalttığını ve bu yolla antioksidan sistemleri dengelediğini göstermektedir.

GPX ve APX enzimleri, hücrelerde bir ROS türü olan H_2O_2 detoksifiye ederek oksidatif stresi azaltan önemli enzimatik antioksidanlardır. Bitkilerde ağır metal stresine bağlı olarak artan ROS seviyeleri, genellikle bu enzimlerin aktivitesinde değişimlere yol açar. Nitekim, Böğürtlen zambağı (*Belamcanda chinensis*) kalluslarında yapılan bir çalışmada, 0 (kontrol), 50, 100 ve 200 mg/L $CuCl_2$ uygulamalarıyla oluşturulan Cu stresine karşı antioksidan yanıtlar değerlendirilmiş ve GPX aktivitesinin 50 ve 100 mg/L Cu konsantrasyonlarında en yüksek değerlere ulaştığı, ancak 200 mg/L'de azaldığı bildirilmiştir. Bu durum, yüksek Cu düzeylerinin GPX enzime doğrudan zarar verebileceğini düşündürmektedir (Zhu vd., 2020).

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda, bakır uygulamasıyla hücresel oksidatif stresin arttığı ve buna karşılık GPX aktivitesinde adaptif bir yükselme gözlemlendiği belirlenmiştir. Bu durum, ROS artışına karşı hücresel savunma mekanizmalarının devreye girdiğini göstermektedir. Öte yandan, yalnızca sitrülün uygulanan grupta GPX aktivitesi anlamlı şekilde azalmış, bu da sitrülünün oksidatif stres üzerinde bir etkisi olabileceğine işaret etmektedir. Özellikle bakır + sitrülün kombinasyonunda GPX aktivitesinin belirgin şekilde düşmesi, sitrülünün bakır kaynaklı oksidatif baskıyı modüle etme potansiyeline sahip

olduğunu düşündürmektedir. Bu bulgu, literatürde henüz yeterince çalışılmamış bir kombinasyon etkisine işaret etmekte olup, mekanistik açıdan daha fazla araştırma ile desteklenmelidir.

Yapılan bir çalışmada Cu stresi altındaki hardal tohumlarında APX aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaltmıştır. SNP uygulamasıyla beraber APX aktivitesinde %99,5 oranında bir artış gözlemlenmiştir (Rahter vd., 2020). Nitekim başka bir çalışmada yaz kabağı (*C. pepo* L.) bitkisinde Cu uygulaması tek başına APX ve GPX aktivitesinde önemli bir düşüş meydana getirmiştir. Zn uygulamasıyla beraber APX içeriğinde artış kaydedilmiştir ve Zn uygulamasının Cu toksik etkisini hafiflettiği düşünülmüştür (Behtas vd., 2022).

Bizim çalışmamızda incelenen bir diğer önemli antioksidan enzim olan APX, Cu stresine maruz kalan gruplarda kontrol grubuna kıyasla literatür bulgularıyla desteklenir şekilde anlamlı bir azalma gerçekleşmiştir

H₂O₂ seviyelerindeki artışa rağmen APX aktivitesindeki düşüş, bakır stresinin oluşturduğu şiddetli oksidatif hasarın APX gibi hassas enzimleri doğrudan inaktive etmesine bağlanmaktadır. Buna karşın sitrülün uygulaması, GSH düzeylerini ve GS geninin ekspresyonunu artırarak hücrel antioksidan savunmayı güçlendirmiş; böylece APX'in işlevselliğinin kısmen korunmasına ve enzimin tamamen inaktive olmasının önlenmesine katkı sağlamıştır. Yalnızca sitrülün uygulanan grupta ise, APX aktivitesi kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte, Cu grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bakır + sitrülün uygulanan grupta ise, APX aktivitesi bakır grubuna göre daha yüksek, ancak yalnız sitrülün grubuna göre daha düşüktür. Bu durum, sitrülünün APX aktivitesi üzerinde düzenleyici bir etki gösterdiğini ve ağır metal stresine karşı hücrel savunmayı kısmen dengelediğini ortaya koymaktadır.

Bitkiler, bakır (Cu) gibi abiyotik stres faktörlerinin tetiklediği oksidatif hasara karşı, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemlerini içeren karmaşık ve katmanlı bir savunma ağı kullanır. Bu çalışmada gözlemlenen antioksidan enzim aktivitelerindeki değişken yanıtlar, bu savunma ağının dinamik ve bütünleşmiş doğasını yansıtmaktadır.

Bakır stresine maruz kalan bitkilerde SOD, GR ve GPX enzim aktivitelerinin artması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına karşı verilen tipik bir birincil savunma tepkisidir. Ancak sitrülün varlığında (Cu + sitrülün grubu) bu enzimlerin aktivitelerinin, tek başına bakır uygulanan gruba göre daha düşük seviyelerde kalması, ilk bakışta çelişkili görünebilir. Bu durum, sitrülünün bitkinin savunma stratejisini değiştirdiğini göstermektedir. Sitrülün,

özellikle glutatyon (GSH) ve fenolik bileşikler gibi enzimatik olmayan güçlü antioksidanların birikimini tetiklemiştir. Artan bu enzimatik olmayan savunma kalkanı, ROS'u doğrudan nötralize ederek genel oksidatif yükü azaltır. Sonuç olarak, bitkinin SOD, GR ve GPX gibi enzimleri aşırı seviyelerde aktive etme ihtiyacı azalır ve böylece daha verimli bir savunma sağlanmış olur.

Bu bütünleşmiş savunma modelini en iyi açıklayan bulgu, APX enziminin davranışdır. Diğer enzimlerin aksine, APX aktivitesi yüksek Cu stresi altında anlamlı şekilde azalmıştır. Bu durum, APX' in yüksek Cu konsantrasyonlarına karşı hassas olduğunu ve doğrudan enzimatik inhibisyona veya hasara uğramış olabileceğini düşündürmektedir. Ancak Cu + sitrülün grubunda APX aktivitesinin, tek başına Cu grubuna kıyasla daha yüksek olması, sitrülünün koruyucu bir rol oynadığını göstermektedir. Bu koruma, sitrülünün GSH metabolizması üzerindeki pozitif etkisiyle açıklanabilir. APX, Askorbat-Glutatyon döngüsünün kritik bir parçasıdır ve bu döngünün etkinliği, yüksek oranda indirgenmiş GSH'nin varlığına bağlıdır. Çalışmamızda sitrülünün, yeni GSH sentezini (GS geni aracılığıyla) teşvik ettiği ve mevcut havuzun geri dönüşümünü (GR aktivitesiyle) desteklediği gösterilmiştir. Bu sayede güçlenen GSH sistemi, hem APX'in işlevsel kalmasına yardımcı olmuş hem de genel oksidatif stresi azaltarak enzimi doğrudan hasardan korumuştur. Benzer şekilde, CAT aktivitesinin de Cu grubunda artmazken sitrülün varlığında en yüksek seviyeye ulaşması, sitrülünün H₂O₂ temizleme kapasitesini enzimatik olmayan sistemlere ek olarak enzimatik yollarla da güçlendirdiğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, enzim aktivitelerindeki farklılıklar, bitkinin kaynaklarını en verimli şekilde kullandığı dinamik bir savunma stratejisinin göstergesidir. Sitrülün, özellikle GSH ve fenolikler gibi enzimatik olmayan antioksidanları güçlendirerek genel bir koruma sağlar. Bu güçlü kalkan hem ROS'u temizler hem de APX gibi strese duyarlı enzimleri koruyarak tüm savunma ağının daha dengeli ve etkin bir şekilde çalışmasına olanak tanır.

Glutatyon (GSH), bitkilerde oksidatif stresin azaltılmasında kritik rol oynayan, tripeptid yapısında, enzimatik olmayan bir antioksidandır. Stres koşullarında biriken reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonunda aktif olarak görev alır. GSH'nin indirgenmiş formda tutulmasından sorumlu olan glutatyon redüktaz (GR) enzimi, NADPH'ı elektron donörü olarak kullanarak GSSG'yi yeniden GSH'ye dönüştürür (Anderson ve Stopper, 2021). Ayrıca GSH, serbest metal iyonlarıyla şelat oluşturarak bu iyonların toksisitesini

azaltır ve böylece ağır metal stresine karşı tolerans gelişiminde önemli rol oynar (Kim vd., 2017).

Gao vd. (2022), kadmiyum (Cd) stresi altındaki ıspanak (*Spinacia oleracea* L.) bitkisinde tiyollerin rolünü inceledikleri çalışmalarında, GSH içeriğinin 1 mg/L Cd uygulaması altında 5. gün hariç kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğunu raporlamışlardır. Benzer şekilde, Ahmad vd. (2023), glutatyonun dışarıdan uygulanan uygulanmasının kurşun stresi altındaki brokoli (*Brassica oleracea* L.) bitkilerinde fizyolojik ve kimyasal süreçleri anlamlı biçimde iyileştirdiğini göstermiştir. GSH'ın tohumlara ön uygulaması, yalnızca Pb stresine maruz kalan gruba kıyasla metabolik faaliyetlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde iyileşme sağlamıştır.

Bir başka çalışmada ise Cao vd. (2019), Cu stresine maruz bırakılan bitkilerde melatoninin dışarıdan uygulanan uygulanmasının bu stresi hafiflettiğini rapor etmişlerdir. Araştırmada, kök dokularındaki GSH içeriği hem yalnızca Cu uygulamasında hem de Cu + melatonin (MT) kombinasyonunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Bu bulgu, ağır metal stresi altında GSH düzeyinin arttığını ve glutatyon temelli savunma mekanizmalarının aktive olduğunu göstermektedir.

Bu tez çalışmasında sonuçlar Cu stresinin GSH birikimini arttırdığı yöndedir. Ancak bu birikim, büyük ölçüde yeni üretimden ziyade, mevcut GSH havuzunun Glutatyon Redüktaz (GR) enzimi aracılığıyla yoğun bir şekilde geri dönüştürülmesine dayandığı düşünülmektedir. Çünkü çalışma kapsamında yapılan gen ekspresyonlarının sonucunda Cu uygulamasının yeni GSH üretimini sağlayan *Glutatyon Sentetaz (GS)* geninin ifadesini baskılıyor gibi görünmektedir. Gen ifadesinin baskılanması uygulanan Cu dozuna ve uygulama süresine, gen ekspresyonunun ölçüldüğü zaman aralığına bağlı olarak beklenenin tersi yönde bir sonuç vermiş olabileceği düşünülmektedir. Ancak sitrülün ve bakır + sitrülün uygulamasıyla beraber gen ekspresyonunun indüklendiği ve GSH üretimine katkı sağladığı sonuçlarla kanıtlanmaktadır. Burada sitrülünün tek başına ve bakır ile uygulanmasında GS genlerinin aktifliğini korumasında katkı sağladığı gösterilmektedir. Buna bağlı olarak dışarıdan uygulanan sitrülün, tek başına GSH seviyesini anlamlı bir fark oluşturmayıp ancak bir hazırlayıcı (priming agent) görevi görerek *GS* gen ifadesini artırıp yeni sentezi desteklemektedir.

Sitrülün ile ön-muamele edilen bitkiler bakır stresine maruz kaldığında, en etkili savunma yanıtını vermektedir. Çünkü bu bitkiler, sadece bakır stresine maruz kalan bitkiler gibi GSH'ı geri dönüştürmekle kalmaz, aynı zamanda sitrülün sayesinde aktif tuttıkları *GS*

genleri aracılığıyla dengeli bir şekilde yeni GSH sentezleyebilirler. Bu çift yönlü strateji (hem yeni üretim hem de geri dönüşüm), bitkinin en yüksek GSH seviyesine ulaşmasını ve bakırın toksik etkileriyle daha başarılı bir şekilde başa çıkmasını sağlar.

GSH'nin detoksifikasyonunda görev alan *Glutasyon S-transferaz (GST)* genine ait ekspresyon analizleri, Cu uygulamasının *GST* gen ifadesinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığını göstermiştir. Buna karşın, yalnızca sitrülün ve özellikle Cu + sitrülün uygulamaları, *GST* gen ekspresyonunu hem kontrol grubuna hem de yalnızca Cu uygulanan gruba kıyasla anlamlı düzeyde artırmıştır. En yüksek gen ifadesi Cu + sitrülün grubunda gözlenmiştir. Bu durum, sitrülünün "hazırlayıcı" (priming) etkisiyle *GST* genini stres öncesinde aktive ettiği ve bu aktivasyonun Cu stresine birleştiğinde daha da kuvvetlendiği şeklinde yorumlanmaktadır. Kısacası, sitrülün, buğdayın glutasyon tabanlı antioksidan savunma sistemini güçlendirerek bakır stresine karşı toleransını artırmaktadır.

Yüksek konsantrasyonda Cu'ya maruz bırakılan bitkilerde, beklendiği gibi, dokulardaki Cu içeriğinin en yüksek seviyeye ulaştığı gözlemlenmiştir. Bu durum, literatürdeki ağır metal stresi çalışmalarıyla uyumludur ve bitkinin toksik düzeyde metal stresine maruz kaldığını doğrular niteliktedir (Hafeez vd., 2025 ; Mei vd., 2015 ; Riaz vd., 2022). Bu strese yanıt olarak, bitkinin *COPT3* geninin transkripsiyon seviyesinde artış saptanmıştır. Yalnız bakır uygulanan grupta gözlemlenen 16,7 katlık artış, bitkinin şiddetli bir toksisiteyle karşılaştığını ve acil bir savunma mekanizmasını devreye soktuğunu göstermektedir. *COPT3*'ün bu denli yüksek bir ifade göstermesi, sitoplazmada biriken toksik Cu iyonlarını vakuol gibi daha güvenli bölmelere taşıma amaçlı reaktif bir detoksifikasyon mekanizmasını yansıttığı şeklinde yorumlanabilir. Dolayısıyla, *COPT3* ifadesinin yüksekliği, şiddetli içsel Cu stresinin bir göstergesi veya biyobelirteci olarak kabul edilebilir.

Sitrülün ön muamelesinin uygulandığı Cu + sitrülün grubunda ise *COPT3* ifadesindeki artış 10 kat ile sınırlı kalmıştır. Bu durum, sitrülünün Cu stresini tamamen ortadan kaldırmadığını, ancak bitkinin strese verdiği tepkiyi modüle ederek azalttığını göstermektedir. Bu etkinin moleküler temelini, proaktif bir savunma hattı olarak görev aldığı düşünülen *COPT6* geninin regülasyonu ile ilişkili olduğu öngörülmektedir.

Sitrülün ön muamelesinin en dikkat çekici etkisi, Cu stresine maruz kalan bitkilerdeki toplam Cu birikimini önemli ölçüde azaltmasıdır. Bu korumanın moleküler temelini, *COPT6* geninin regülasyonu ile alakalı olduğu öngörülmektedir. Zira *COPT6* ifadesi, en etkili korumanın gözlemlendiği Cu + Sitrülün grubunda en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Bu bulgu, sitrülünün bitkiyi strese karşı hazırlayarak (priming), *COPT6* aracılığıyla yürütülen proaktif

ve verimli bir detoksifikasyon yolunu aktive ettiğini göstermektedir. *COPT6*'nın bu rolünün, Cu'nun vakuolar sekestrasyonunu (birikimini) artırmak veya kökten sürgüne taşınımını kısıtlamak suretiyle gerçekleştiği hipotezi kurulabilir.

Bu bağlamda, *COPT3* ve *COPT6* genlerinin Cu homeostazisinde farklı ancak bütünleşik roller üstlendiği bir model önerilebilir. Sitrülin tarafından aktive edilen *COPT6*, Cu yönetimi için birincil ve proaktif bir savunma hattını temsil ederken *COPT3* bu ilk savunmaya rağmen hücre içinde tehlikeli seviyelere ulaşan Cu'ya karşı devreye giren reaktif bir acil durum mekanizması olarak işlev görmektedir. Sitrülinin *COPT6*'yı etkinleştirmesiyle sağlanan daha verimli Cu yönetimi, genel stres seviyesini düşürmekte ve bu sayede *COPT3*'ün daha şiddetli bir şekilde (16,7 kat yerine 10 kat) indüklenmesine olan ihtiyacı kısmen azaltmaktadır. Bu durum, Cu + Sitrülin grubundaki daha düşük *COPT3* ifadesini mantıksal olarak açıklamaktadır.

Sitrülin ön muamelesinin en dikkat çekici fizyolojik faydalarından bir diğeri de , Cu stresine maruz kalan bitkilerdeki toplam Cu birikimini önemli ölçüde azaltmasıdır. Bu korumanın moleküler temelini, Cu alımını ve dağılımını düzenleyen COPT transporter genlerinin (özellikle *COPT6*) ifadesinin modüle edilmesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Azalan bu metal birikimi, sadece bir biyokimyasal veri olmanın ötesinde, bitkinin genel sağlığı ve büyümesi üzerinde doğrudan etkilere sahiptir.

Yüksek konsantrasyonlardaki bakır, hücrel makromoleküllere (DNA, proteinler, lipitler) zarar veren oksidatif stresi tetikler, fotosentez gibi temel metabolik süreçleri engeller ve enzim sistemlerini inhibe eder. Bu hücrel hasar, bitkinin enerji ve kaynaklarını büyüme yerine savunma ve onarım mekanizmalarına yönlendirmesine neden olur, bu da literatürde sıklıkla rapor edilen biyokütle kaybına yol açar.

Bu çalışma kapsamında sitrülinin, Cu birikimini sınırlayarak bu toksik etkileri hafiflettiği açıktır. Azalan bakır yükü sayesinde hücrel hasar en aza indirilmiş ve metabolik faaliyetlerin devamlılığı sağlanmıştır. Bu durum, bitkinin enerji ve kaynaklarını daha verimli bir şekilde büyüme ve biyokütle üretimi için kullanabilmesine olanak tanımıştır. Nitekim yaş ve kuru ağırlık parametrelerinde, stres altındaki bitkilerde beklenen azalmanın aksine, büyümenin devam ettiği ve kontrol grubuna kıyasla hafif artışlar gözlemlenmiştir. Her ne kadar uygulanan stresin süresinin kısa olması nedeniyle gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir büyüme farkı oluşmamış olsa da sitrülinin bakır birikimini azaltarak büyümenin inhibisyonunu önlediği ve bitkinin gelişimsel potansiyelini koruduğu açıktır. Dolayısıyla,

COPT genlerinin regülasyonu aracılığıyla sağlanan azaltılmış Cu içeriği, sitrülünün strese rağmen bitki büyümesini ve sağlığını sürdürmesindeki temel mekanizmalardan biridir

Sonuç olarak, bu çalışma, dışarıdan uygulanan sitrülün uygulamasının, buğdayda Cu toleransını artırmak için umut verici bir strateji olduğunu göstermektedir. Sitrülün, *COPT* taşıyıcılarının ifadesini düzenleyerek bitkinin Cu birikimini etkin bir şekilde yönetmesini sağlamaktadır. Gelecekteki çalışmaların, *COPT3* ve *COPT6* proteinlerinin subselüler lokalizasyonlarını (örneğin, tonoplast veya plazma zarı) ve gerçek fonksiyonlarını doğrulamak üzere immünohistokimyasal veya gen susturma (gene silencing) gibi tekniklere odaklanması, bu mekanizmanın daha derinlemesine anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Bu bulgular, stres toleransı yüksek bitkiler geliştirme ve ağır metal kirliliğine sahip topraklarda sürdürülebilir tarım uygulamaları için yeni olanaklar sunmaktadır.

5. SONUÇLAR

Yapılan alışmalar sonucunda dışarıdan uygulanan sitrülinin ağır metal stresine karşı etkili bir savunma mekanizması geliştirdiğı belirlenmiştir. Sürgün uzunluğu ve yaş kuru ağırlık gibi morfolojik gözlemlerde belirgin bir fark gözlemlenmemiş olsa da özellikle gen ifadesi ve GSH metabolizması bulgularıyla stres tepkileri açıkça görülmektedir. Cu stresi, buğday bitkilerinde prolin birikimi ve lipid peroksidasyon düzeylerinde artışa neden olmuştur. Sitrülin uygulamasının Cu stresine karşı savunma mekanizmalarında teşvik edici bir rol oynadığı ve buğday bitkisinin dayanıklılığını arttırdığı tespit edilmiştir. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar, gen analizleri, prolin metabolizması, toplam şeker metabolizması oksidatif strese karşı bütünleşik bir savunma mekanizması oluşturarak sitrülin uygulamasının oksidatif strese karşı dayanıklılıkta kritik bir rol oynadığı çalışmanın bulgularıyla uyumlu olarak kanıtlanmıştır.

Sonuç olarak pehlivan çeşidi buğday bitkilerinin sitrülin uygulamasıyla birlikte Cu stresine karşı dayanıklılıklarının arttığı oksidatif hasarı belirli seviyelerde azaltabileceği tespit edilmiştir. Bu bulgular sitrülinin ağır metaller ile kirlenmiş topraklarda verimin arttırılması için umut verici bir astarlama ajanı olarak kullanılabileceğini vurgulamaktadır.

6. ÖNERİLER

Sitrülin uygulamasının, ağır metal kirliliğine sahip topraklarda yetiştirilen bitkiler üzerindeki etkisini değerlendirmek için sera ve tarla denemeleri tasarlanmalıdır. Bu tür çalışmalar, sitrülinin gerçek tarımsal koşullardaki etkinliğini, verim ve ürün kalitesi üzerindeki etkilerini ve sürdürülebilir tarım uygulamaları için potansiyelini ortaya koyacaktır.

Gelecek çalışmalarda, sitrülin uygulamasının bitkinin genel metabolizması ve gen ifadesi üzerindeki etkilerini bütünsel olarak anlamak için metabolomik (metabolitlerin geniş ölçekli analizi) ve transkriptomik (RNA-Seq ile gen ifadesinin geniş ölçekli analizi) yaklaşımlar kullanılabilir. Bu, Cu stresine karşı toleransta rol oynayan yeni ve beklenmedik yolların veya moleküllerin keşfedilmesini sağlayabilir.

Gelecek araştırmalar, Cu ve sitrülinin kök mimarisi (ana kök uzaması, yan kök oluşumu, kök tüyü yoğunluğu), kök hücre canlılığı ve köklerin su/besin alım kapasitesi üzerindeki etkilerini detaylı olarak incelemelidir.

Bitkilerin kendi sitrülin üretim kapasitelerini artırmaya yönelik genetik mühendislik stratejileri geliştirilebilir. Sitrülin sentez yolağında görevli anahtar genlerin buğdayda aşırı ifadesi (overexpression), bitkilerin dışarıdan bir uygulamaya ihtiyaç duymadan, stresi hissettiklerinde kendi koruyucu moleküllerini daha fazla üretmelerini sağlayabilir.

7. KAYNAKLAR

- Adamipour, N., Nazari, F., Nalouisi, A. M., & Teixeira Da Silva, J. A. (2025). Evaluation of The Molecular Mechanism Underlying Proline Metabolic and Catabolic Pathways and Some Morpho-Physiological Traits of Tobacco (*Nicotiana Tabacum* L.) Plants Under Arsenic Stress. *BMC Plant Biology*, 25, 258.
- Aebi, H. E. (1983). Catalase. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis* (pp. 273–286). Verlag Chemie, Weinheim.
- Afzal, J., Wang, X., Saleem, M. H., Sun, X., Hussain, S., Khan, I., & Hu, C. (2021). Application of Ferrous Sulfate Alleviates Negative Impact of Cadmium in Rice (*Oryza Sativa* L.). *Biocell*, 45(6), 1631–1649.
- Ahmad, M., Ahmed, S., Yasin, N. A., Wahid, A., & Sardar, R. (2023). Exogenous Application of Glutathione Enhanced Growth, Nutritional Orchestration and Physiochemical Characteristics of Brassica Oleracea L. Under Lead Stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 29(8), 1103–1116. doi.org/10.1007/s12298-023-01346-0
- Ahmadi, H., Babalar, M., Sarcheshmeh, M. A. A., Morshedloo, M. R., & Shokrpour, M. (2020). Effects of Exogenous Application of Citrulline on Prolonged Water Stress Damages in Hyssop (*Hyssopus Officinalis* L.): Antioxidant Activity, Biochemical Indices, and Essential Oils Profile. *Food Chemistry*, 333, 127433. doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127433
- Akashi, K., Miyake, C., & Yokota, A. (2001). Citrulline, a Novel Compatible Solute in Drought-Tolerant Wild Watermelon Leaves, is an Efficient Hydroxyl Radical Scavenger. *FEBS Letters*, 508(3), 438–442.
- Alshegaihi, R. M., Saleem, M. H., Saleem, A., Ali, B., Aziz, H., Fahad, S., Alataway, A., Dewidar, A. Z., & Elansary, H. O. (2024). Silicon and Titanium Dioxide Mitigate Copper Stress in Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Through Regulating Antioxidant Defense Mechanisms. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43(3), 1519–1535.
- Anderson, M. E., & Stopper, A. R. (2021). Glutathione. In J. Jez (Ed.), *Encyclopedia of Biological Chemistry III* (3rd ed., pp. 71–78). Elsevier. doi.org/10.1016/B978-0-12-819460-7.00342-X
- Angelini, R., Manes, F., & Federico, R. (1990). Spatial and Functional Correlation Between Diamine-Oxidase and Peroxidase Activities and Their Dependence Upon De-Etiolation and Wounding in Chick-Pea Stems. *Planta*, 182(1), 89–96.
- Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., & Tuteja, N. (2016). Catalase and Ascorbate Peroxidase—Representative H₂O₂-Detoxifying Heme Enzymes in Plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 19002–19029. doi.org/10.1007/s11356-016-7309-6

- Ashraf, M. A., Rasheed, R., Hussain, I., Iqbal, M., Farooq, M. U., Saleem, M. H., & Ali, S. (2022). Taurine Modulates Dynamics of Oxidative Defense, Secondary Metabolism, and Nutrient Relation to Mitigate Boron and Chromium Toxicity in *Triticum Aestivum* L. Plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(30), 45527–45548.
- Atar, B. (2017). Gıdamız Buğdayın, Geçmişten Geleceğe Yolculuğu. *Yalvaç Akademi Dergisi*, 2(1), 1–12.
- Atta, M. I., Zehra, S. S., Dai, D.-Q., Ali, H., Naveed, K., Ali, I., Sarwar, M., Ali, B., Iqbal, R., Bawazeer, S., Abdel-Hameed, U. K., & Ali, I. (2023). Amassing of Heavy Metals in Soils, Vegetables and Crop Plants Irrigated With Wastewater: Health Risk Assessment of Heavy Metals in Dera Ghazi Khan, Punjab, Pakistan. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1080635. doi.org/10.3389/fpls.2022.1080635
- Bashir, S. S., Hussain, A., Hussain, S. J., Wani, O. A., Zahid Nabi, S., Dar, N. A., & Mansoor, S. (2021). Plant Drought Stress Tolerance: Understanding Its Physiological, Biochemical and Molecular Mechanisms. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 1912–1925.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276–287.
- Behtash, F., Abedini, F., Ahmadi, H., Mosavi, S. B., Aghae, A., Morshedloo, M. R., & Lorenzo, J. M. (2022). Zinc Application Mitigates Copper Toxicity by Regulating Cu Uptake, Activity of Antioxidant Enzymes, and Improving Physiological Characteristics in Summer Squash. *Antioxidants*, 11(9), 1688.
- Bela, K., Riyazuddin, R., & Csiszár, J. (2022). Plant Glutathione Peroxidases: Non-Heme Peroxidases With Large Functional Flexibility as a Core Component of ROS-Processing Mechanisms and Signalling. *Antioxidants*, 11(8), 1624.
- Bernal, M., Ramiro, M. V., Cases, R., Picorel, R., & Yruela, I. (2006). Excess Copper Effect on Growth, Chloroplast Ultrastructure, Oxygen-Evolution Activity and Chlorophyll Fluorescence in Glycine Max Cell Suspensions. *Physiologia Plantarum*, 127(2), 312–325.
- Bohnert, H. J., & Jensen, R. G. (1996). Strategies for Engineering Water-Stress Tolerance in Plants. *Trends in Biotechnology*, 14(3), 89–97. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(96\)80929-2](https://doi.org/10.1016/0167-7799(96)80929-2)
- Bonjean, A. P., & Angus, W. J. (Eds.). (2001). *The World Wheat Book: A History of Wheat Breeding* (1st ed., ~1131 pp.). Intercept Ltd.
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities Utilizing the Principle of Protein Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Brenchley, R., Spannagl, M., Pfeifer, M., Barker, G. L. A., D'Amore, R., Allen, A. M., & Hall, N. (2012). Analysis of the Bread Wheat Genome Using Whole-Genome Shotgun Sequencing. *Nature*, 491(7426), 705–710.

- Buran, A., Durğun, M. E., & Karaman, E. (2022). Ağır Metal (Cu^{2+} , Cd^{2+}) Stresi Uygulanan *Lavandula Angustifolia* (Lavanta) ve *Salvia Rosmarinus* (Biberiye) Bitkilerinin Toplam Fenolik, Antioksidan, Klorofil ve Karotenoid Miktarının Belirlenmesi. *Bartın University International Journal of Natural and Applied Sciences*, 5(1), 65–77.
- Burkhead, J. L., Gogolin Reynolds, K. A., Abdel-Ghany, S. E., Cohu, C. M., & Pilon, M. (2009). Copper Homeostasis. *The New Phytologist*, 182(4), 799–816.
- Cambrollé, J., García, J. L., Figueroa, M. E., & Cantos, M. (2015). Evaluating Wild Grapevine Tolerance to Copper Toxicity. *Chemosphere*, 120, 171–178.
- Cao, Y.-Y., Qi, C.-D., Li, S., Wang, Z., Wang, X., Wang, J., Ren, S., Li, X., Zhang, N., & Guo, Y.-D. (2019). Melatonin Alleviates Copper Toxicity via Improving Copper Sequestration and ROS Scavenging in Cucumber. *Plant and Cell Physiology*, 60(3), 562–574.
- Carillo, P., & Gibon, Y. (2011). Protocol: Extraction and Determination of Proline. PrometheusWiki, 1–5.
- Chen, G., Li, J., Han, H., Du, R., & Wang, X. (2022). Physiological and Molecular Mechanisms of Plant Responses to Copper Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12950.
- Contreras, R. A., Pizarro, M., Köhler, H., & Zúñiga, G. E. (2018). Copper Stress Triggers Antioxidant Responses and Accumulation of Sugars and Phytochelatins in the Antarctic Plant *Colobanthus Quitensis* (Kunth) Bartl. *Biological Research*, 51(1), 48.
- Coşkun, E., & Aksu, G. (2024). Kuraklık ve Tuz Stresi Altında Yeşil Ceviz Kabuğu Kompostu Uygulanan Mısır Bitkisinin Fizyolojisi. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(1), 78–88.
- Cruz, J. R., Ferreira, R. L. da C., Conceição, S. S., Lima, E. U., Oliveira Neto, C. F. de, Galvão, J. R., ... Viegas, I. de J. M. (2022). Copper Toxicity in Plants: *Nutritional, Physiological, and Biochemical Aspects*. IntechOpen. doi.org/10.5772/intechopen.105212
- Dadrasi, A., Chaichi, M., Nehbandani, A., Sheikhi, A., Salmani, F., & Nemati, A. (2023). Addressing Food Insecurity: An Exploration of Wheat Production Expansion. PLoS One, 18(12), e0290684. doi.org/10.1371/journal.pone.0290684
- Das, K., & Roychoudhury, A. (2014). Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants as ROS-Scavengers During Environmental Stress in Plants. *Environmental Science*.
- Doğru, A. (2019). Bitkilerde Antioksidan Sistemler ve Tuz Stresine Verdikleri Yanıtlar. *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi*, 1(2), 164–185.
- Du, B., Haensch, R., Alfarraj, S., & Rennenberg, H. (2024). Strategies of Plants to Overcome Abiotic and Biotic Stresses. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 99(4), 1524–1536.

- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356.
- Duwayri, M. (1984). Effect of Flag Leaf and Awn Removal on Grain Yield and Yield Components of Wheat Grown Under Dryland Conditions. *Field Crops Research*, 8, 307–313. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(84\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0378-4290(84)90077-7)
- El-Beltagi, H. S., Sofy, M. R., Aldaej, M. I., & Mohamed, H. I. (2020). Silicon Alleviates Copper Toxicity In Flax Plants by Up-Regulating Antioxidant Defense and Secondary Metabolites and Decreasing Oxidative Damage. *Sustainability*, 12(11), 4732. <https://doi.org/10.3390/Su12114732>
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F., & Xie, Y. (2015). Heavy Metal Stress And Some Mechanisms of Plant Defense Response. *The Scientific World Journal*, 756120.
- Farid, M., Ali, S., Rizwan, M., Ali, Q., Abbas, F., Bukhari, S. A., . . . Wu, L. (2017). Citric Acid Assisted Phytoextraction of Chromium By Sunflower; Morpho-Physiological And Biochemical Alterations in Plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*(145), 90-102.
- Feil, S. B., Pii, Y., Valentinuzzi, F., Tiziani, R., Mimmo, T., & Cesco, S. (2020). Copper Toxicity Affects Phosphorus Uptake Mechanisms at Molecular and Physiological Levels in Cucumis Sativus Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 157, 138-147.
- Feng, D., Wang, R., Sun, X., Liu, L., Liu, P., Tang, J., Zhang, C., & Liu, H. (2023). Heavy Metal Stress in Plants: Ways to Alleviate With Exogenous Substances. *The Science of the Total Environment*, 897, 165397. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165397
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On Tyrosine and Tryptophane Determinations in Proteins. *Journal of Biological Chemistry*
- Foyer, C.H., & Halliwell, B. (1976) The Presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplasts: A Proposed Role in Ascorbic Acid Metabolism. *Planta*, 133, 21-25
- Gao, Y., Li, H., Song, Y., Zhang, F., & Yang, Z. (2022). The Response of Thiols to Cadmium Stress in Spinach (*Spinacia Oleracea* L.). *Toxics*, 10(8), 429.
- Ghori, N. H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V., & Ozturk, M. (2019). Heavy Metal Stress and Responses in Plants. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(3), 1807–1828.
- Ghosh, U. K., Islam, M. N., Siddiqui, M. N., & Khan, M. A. R. (2021). Understanding the Roles of Osmolytes for Acclimatizing Plants to Changing Environment: A Review of Potential Mechanism. *Plant Signaling & Behavior*, 16(8), E1913306. [Doi.Org/10.1080/15592324.2021.1913306](https://doi.org/10.1080/15592324.2021.1913306)
- Gong, Q., Li, Z., Wang, L., Zhang, X., Liu, Y., & Zhao, G. (2021). Effect of Gibberellic Acid Application on Biomass, Oxidative Stress Response, and Photosynthesis in

- Spinach (*Spinacia Oleracea* L.) Seedlings Under Copper Stress. *Environmental Science And Pollution Research*, 28(42), 53594–53604.
- Gupta S K, Sharma M, Deeba F, & Pandey V. 2017. Role of Reactive Oxygen Species in Photophosphorylation and Damage to D1 Protein: Past and Present. *Reactive Oxygen Species in Plants: Boon or Bane-Revisiting the Role of ROS*, 165-186.
- Habiba, U., Ali, S., Farid, M., Shakoor, M. B., Rizwan, M., Ibrahim, M., & Ali, B. (2015). EDTA enhanced plant growth, antioxidant defense system, and phytoextraction of copper by *Brassica napus* L. *Environmental science and pollution research international*, 22(2), 1534–1544.
- Hafeez, A., Rasheed, R., Ashraf, M. A., Hussain, S., Riaz, M., Gul, A., & Raza, A. (2025). Citrulline reduces copper toxicity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by modulating photosynthesis, osmoregulation, redox homeostasis, and nutrient relations. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 25, 7565–7587. doi.org/10.1007/s42729-025-02614-6
- Hamed, S. M., Selim, S., Klöck, G., & AbdElgawad, H. (2017). Sensitivity of two green microalgae to copper stress: Growth, Oxidative and Antioxidants Analyses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 19–25.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hoque, M. N., Arif, M. T.-U., Hannan, A., Sultana, N., Akhter, S., Hasanuzzaman, M., & Brestič, M. (2021). Melatonin Modulates Plant Tolerance to Heavy Metal Stress: Morphological Responses to Molecular Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 11445.
- Huang, S., Yamaji, N., & Ma, J. F. (2024). Metal Transport Systems In Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 75.
- Ighodaro, O., & Akinloye, O. (2018). First Line Defence Antioxidants—Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in the Entire Antioxidant Defence Grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293.
- International Development Research Centre. (2010). Facts and figures on food and biodiversity. IDRC Communications.
- Jańczak-Pieniążek, M., Cichoński, J., Michalik, P., & Chrzanowski, G. (2023). Effect of Heavy Metal Stress on Phenolic Compounds Accumulation in Winter Wheat Plants. *Molecules*, 28(1), 241.
- Javed, T., Ali, M. M., Shabbir, R., Anwar, R., Afzal, I., & Mauro, R. P. (2021). Alleviation of Copper-Induced Stress in Pea (*Pisum Sativum* L.) Through Foliar Application of Gibberellic Acid. *Biology*, 10(2), 120.

- Joshi, V., & Fernie, A. R. (2017). Citrulline Metabolism In Plants. *Amino Acids*, 49(9), 1543–1559. doi.org/10.1007/s00726-017-2468-4
- Jouili, H., & El Ferjani, E. (2004). Effect Of Copper Excess on Superoxide Dismutase, Catalase, and Peroxidase Activities in Sunflower Seedlings (*Helianthus Annuus* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 26(1), 29–35.
- Kawasaki, S., Miyake, C., Kohchi, T., Fujii, S., Uchida, M., & Yokota, A. (2000). Responses of Wild Watermelon to Drought Stress: Accumulation of an ArgE Homologue and Citrulline in Leaves During Water Deficits. *Plant and Cell Physiology*, 41(7), 864–873.
- Khalid, A., Hameed, A., & Tahir, M. F. (2023). Wheat quality: A review on Chemical Composition, Nutritional Attributes, Grain Anatomy, Types, Classification, and Function of Seed Storage Proteins in Bread Making Quality. *Frontiers in Nutrition*, 10, Article 1053196. doi.org/10.3389/fnut.2023.1053196
- Khan, A., Khan, S., Khan, M. A., Qamar, Z., & Wagas, M. (2015). The Uptake and Bioaccumulation of Heavy Metals by Food Plants, Their Effects On Plants Nutrients, and Associated Health Risk: A Review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 13772-13799.
- Khan, D., Yang, X., He, G., Khan, R. A. A., Usman, B., Hui, L., Khokhar, A. A., Zaman, Q. U., & Wang, H.-F. (2024). Comparative Physiological and Transcriptomics Profiling Provides Integrated Insight Into Melatonin Mediated Salt and Copper Stress Tolerance in *Selenicereus Undatus* L. *Plants*, 13(24), 3602. Doi.Org/10.3390/Plants13243602
- Khan, Z., Jan, R., Asif, S., Farooq, M., & Kim, K.-M. (2024). Exogenous GABA Enhances Copper Stress Resilience in Rice Plants Via Antioxidant Defense Mechanisms, Gene Regulation, Mineral Uptake, and Copper Homeostasis. *Antioxidants*, 13(6), 700. Doi.Org/10.3390/Antiox13060700
- Kim, Y.-O., Bae, H.-J., Cho, E., & Kang, H. (2017). Exogenous Glutathione Enhances Mercury Tolerance by Inhibiting Mercury Entry Into Plant Cells. *Frontiers in Plant Science*, 8, 683. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00683
- Kireççi, O. A. (2018). Bitkilerde Enzimatik Ve Enzimatik Olmayan Antioksidanlar. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 473–483.
- Kopecká, R., Kameniarová, M., Černý, M., Brzobohatý, B., & Novák, J. (2023). Abiotic Stress in Crop Production. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6603. doi.org/10.3390/ijms24076603
- Kul, R., Ekinci, M., Turan, M., Ors, S., & Yildirim, E. (2021). How Abiotic Stress Conditions Affects Plant Roots. *Intech open* doi.org/10.5772/intechopen.95286
- Kundu, P., Gill, R., Ahlawat, S., Anjum, N. A., Sharma, K. K., Ansari, A. A., Hasanuzzaman, M., Ramakrishna, A., Chauhan, N., Tuteja, N., & Gill, S. S. (2018). Targeting the Redox Regulatory Mechanisms for Abiotic Stress Tolerance in Crops. In S. H. Wani (Ed.), *Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for*

Combating Abiotic Stress Tolerance in Plants (Pp. 151–220). *Academic Press*.
Doi.Org/10.1016/B978-0-12-813066-7.00010-3

- Lequeux, H., Hermans, C., Lutts, S., & Verbruggen, N. (2010). Response to Copper Excess in *Arabidopsis Thaliana*: Impact on The Root System Architecture, Hormone Distribution, Lignin Accumulation and Mineral Profile. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(8), 673–682.
- Li, S. (2023). Novel Insight Into Functions of Ascorbate Peroxidase in Higher Plants: More Than a Simple Antioxidant Enzyme. *Redox Biology*, 64, 102789.
- Li, Y., Shi, S., Zhang, Y., Zhang, A., Wang, Z., & Yang, Y. (2023). Copper Stress-Induced Phytotoxicity Associated with Photosynthetic Characteristics and Lignin Metabolism in Wheat Seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 254, 114739. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114739
- Lichtenthaler, H.K. (1987) Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382. Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39, 205–207.
- Lupíková, L., & Komenda, J. (2004). Oxidative Modifications of the Photosystem II D1 Protein by Reactive Oxygen Species: from Isolated Protein to Cyanobacterial Cells. *Photochemistry and Photobiology*, 79(2), 152–162.
- Ma, J., Zou, M., Peijnenburg, W., & Chen, F. (2025). Priming Agents Combat Copper Stress in Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Under Hydroponic Conditions: Insights in Impacts On Morpho-Physio-Biochemical Traits and Health Risk Assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 291, 117899. Doi.Org/10.1016/J.Ecoenv.2025.117899
- Madhava Rao, K.V., & Sresty, T.V.S., 2000. “Antioxidative Parameters in the Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses”. *Plant Science*, 157, 113–128
- Malambane, G., Madumane, K., Sewelo, L. T., & Batlang, U. (2023). Drought Stress Tolerance Mechanisms and their Potential Common Indicators to Salinity, Insights from the Wild Watermelon (*Citrullus lanatus*): A review. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 1074395. doi.org/10.3389/fpls.2022.1074395
- Mei, L., Daud, M. K., Ullah, N., Ali, S., Khan, M., & Zhu, S. J. (2015). Pretreatment with Salicylic Acid and Ascorbic Acid Significantly Mitigate Oxidative Stress Induced by Copper in Cotton Genotypes. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(13), 9922–9931.
- Mir, R. A., & Khah, M. A. (2024). Recent Progress in Enzymatic Antioxidant Defense System in Plants Against Different Environmental Stresses. In M. A. Ahanger, J. A. Bhat, P. Ahmad, & R. John (Eds.), *Improving stress resilience in plants* (pp. 203–224). *Academic Press*. doi.org/10.1016/B978-0-443-18927-2.00014-5

- Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., & Shen, G. (2023). Achieving Abiotic Stress Tolerance in Plants Through Antioxidant Defense Mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622. doi.org/10.3389/fpls.2023.1110622
- Mnafgui, W., Hajlaoui, H., Rizzo, V., Muratore, G., & Elleuch, A. (2022). Priming With EDTA, IAA And Fe Alleviates Pb Toxicity in *Trigonella Foenum-Graecum* L. Growth: Phytochemicals and Secondary Metabolites. *Journal of Biotechnology*, 356, 42–50.
- Mostofa, M. G., Hossain, M. A., Fujita, M., & Tran, L.-S. P. (2015). Physiological and Biochemical Mechanisms Associated with Trehalose-Induced Copper Stress Tolerance in Rice. *Scientific Reports*, 5, 11433. doi.org/10.1038/srep11433
- Nagajyoti, P., Lee, K., & Sreekanth, T. (2010). Heavy Metals, Occurrence and Toxicity for Plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8, 199-216.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981) Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880
- Nazir, F., Hussain, A., & Fariduddin, Q. (2019). Hydrogen Peroxide Modulate Photosynthesis and Antioxidant Systems in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) Plants Under Copper Stress. *Chemosphere*, 230, 544–558.
- Nikolić, D., Bosnić, D., & Samardžić, J. (2023). Silicon in Action: Between Iron Scarcity and Excess Copper. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1039053. doi.org/10.3389/fpls.2023.1039053
- Niyoifasha, C. J., Borena, B. M., Ukob, I. T., Minh, P. N., Al Azzawi, T. N. I., Imran, M., Ali, S., Inthavong, A., Mun, B. G., Lee, I. J., Khan, M., & Yun, B. W. (2023). Alleviation of Hg-, Cr-, Cu-, and Zn-Induced Heavy Metals Stress by Exogenous Sodium Nitroprusside in Rice Plants. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(6), 1299.
- Oloumi, H., Zamani, A., Ghotbzadeh, S., & Mozaffari, H. (2024). Zinc and Copper Toxicity In Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Seedlings: Role of Melatonin in Mitigating Stress. *Plant Stress*, 11, 100365. Doi.Org/10.1016/J.Stress.2024.100365
- Proteinocan. (2023, 9 Ocak). *Buğday Besin Değerleri! 100 Gram Kaç Kalori? Diyetle Yenir Mi?* Proteinocan. <https://proteinocan.com/blog/bugday-besin-degerleri-100-gram-kac-kalori-diyette-yenir-mi>
- Rather, B. A., Mir, I. R., Masood, A., Anjum, N. A. ve Khan, N. A. (2020). Nitric Oxide Pre-Treatment Advances Seed Germination and Alleviates Copper-Induced Photosynthetic Inhibition in Indian Mustard. *Plants*, 9(6), 776.
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Meena, M., Gour, V. S., Minkina, T., Sushkova, S., & Mandzhieva, S. (2021). Recent Developments in Enzymatic Antioxidant Defence Mechanism in Plants with Special Reference to Abiotic Stress. *Biology*, 10(4), 267.
- Riaz, M., Zhao, S., Kamran, M., Ur Rehman, N., Mora-Poblete, F., Maldonado, C., Hamzah Saleem, M., Parveen, A., Ahmed Al-Ghamdi, A., Al-Hemaid, F. M., Ali, S., &

- Elshikh, M. S. (2022). Effect Of Nano-Silicon on the Regulation of Ascorbate-Glutathione Contents, Antioxidant Defense System and Growth of Copper Stressed Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 13, 986991. doi.Org/10.3389/Fpls.2022.986991
- Rob, M. M., Akhter, D., Islam, T., Bhattacharjya, D. K., Shoaib Khan, M. S., Islam, F., & Chen, J. (2024). Copper Stress in Rice: Perception, Signaling, Bioremediation and Future Prospects. *Journal of Plant Physiology*, 302, 154314. doi.org/10.1016/j.jplph.2024.154314
- Saibi, W., Feki, K., Yacoubi, I., & Brini, F. (2015). Bridging Between Proline Structure, Functions, Metabolism, and Involvement in Organism Physiology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176(7), 2107–2119.
- Saini, S., Kaur, N., & Pati, P. K. (2021). Phytohormones: Key Players in the Modulation of Heavy Metal Stress Tolerance in Plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, 112578.
- Salustros, N., Grønberg, C., Abeyrathna, N. S., Lyu, P., Orädd, F., Wang, K., Andersson, M., Meloni, G., & Gourdon, P. (2022). Structural Basis of Ion Uptake in Copper-Transporting P1B-type ATPases. *Nature Communications*, 13(1), 5121.
- Sameena, P. P., & Puthur, J. T. (2022). Exogenous application of cytokinins confers copper stress tolerance in *Ricinus communis* L. seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41, 3395–3409.
- Saxena, A., Lakshmi, J., Bhattacharjya, R., Singh, P. K., Mishra, B., & Tiwari, A. (2023). The role of antioxidant enzymes in diatoms and their therapeutic role. In *Marine Antioxidants* (pp. 89–118). Academic Press.
- Sevgi, K., & Leblebici, S. (2022). Bitkilerde Ağır Metal Stresine Verilen Fizyolojik ve Moleküler Yanıtlar. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 7(4), 528-536.
- Sevgi, K., ve Leblebici, S. (2025). Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) tolerates high levels of lead and copper by modulating ecophysiological characteristics and antioxidant defense system. *BioMetals*. doi.org/10.1007/s10534-025-007261
- Shabbir, Z., Sardar, A., Shabbir, A., Abbas, G., Shamshad, S., Khalid, S., & Shahid, M. (2020). Copper uptake, essentiality, toxicity, detoxification and risk assessment in soil-plant environment. *Chemosphere*, 127436(259).
- Sharma, A., Kapoor, D., Gautam, S., Landi, M., Kandhol, N., Araniti, F., & Zheng, B. (2022). Heavy metal induced regulation of plant biology: Recent insights. *Physiologia plantarum*, 174(3), e13688.
- Shin, L. J., Lo, J. C., & Yeh, K. C. (2012). Copper chaperone antioxidant protein1 is essential for copper homeostasis. *Plant physiology*, 159(3), 1099–1110.
- Singh, R. P., & Jha, P. N. (2018). ACC Deaminase-Producing Bacteria Alleviate Copper Toxicity, Improve Oxidative Stress Tolerance And Promote Phytoremediation

- Potential In Wheat. *Environmental Science And Pollution Research*, 25(33), 33755–33767.
- Song, Q., Joshi, M., DiPiazza, J., & Joshi, V. (2020). Functional relevance of citrulline in the vegetative tissues of watermelon during abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 11, 512. doi.org/10.3389/fpls.2020.00512
- Stephenie, S., Chang, Y. P., Gnanasekaran, A., Esa, N. M., & Gnanaraj, C. (2020). An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. *Journal of Functional Foods*, 68, 103917.
- Szabados, L., & Savouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89–97.
- Tadesse, W., Sanchez-Garcia, M., Assefa, S. G., Amri, A., Bishaw, Z., Ogbonnaya, F. C., & Baum, M. (2019). Genetic gains in wheat breeding and its role in feeding the world. *Crop Breeding, Genetics and Genomics*, 1, e190005. doi.org/10.20900/cbagg20190005
- Tamez, C., Hernandez-Molina, M., Hernandez-Viezcas, J. A. & Gardea-Torresdey, J. L. (2019). Uptake, transport, and effects of nano-copper exposure in zucchini (*Cucurbita pepo*). *The Science of the Total Environment*, 665, 100–106. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.029
- Tang, Z., Wang, H. Q., Chen, J., Chang, J. D., & Zhao, F. J. (2023). Molecular mechanisms underlying the toxicity and detoxification of trace metals and metalloids in plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 65(3), 570–593.
- Tanwir, K., Amna, Javed, M. T., Shahid, M., Akram, M. S., & Ali, Q. (2021). Antioxidant defense systems in bioremediation of organic pollutants. In M. Hasanuzzaman & M. N. V. Prasad (Eds.), *Handbook of bioremediation* (pp. 505–521). *Academic Press*. doi.org/10.1016/B978-0-12-819382-2.00032-6
- The Editors of Encyclopaedia Britannica. (2025, June 19). Wheat. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/plant/wheat>
- Tuna, A. L., & Eroğlu, B. (2017). Tuz stresi altındaki biber (*Capsicum Annuum* L.) bitkisinde bazı organik ve inorganik bileşiklerin antioksidatif sisteme etkileri. *Andolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 32(1), 121-131.
- Upadhyay, S. K. (Ed.). (2021). Cation transporters in plants. *Academic Press*.
- Urbanek, H., Kuzniak-Gebarska, E., & Herka, K., (1991). Elicitation of Defense Responses in Bean Leaves By Botrytis cinerea Polygalacturanase. *Acta Physiologiae Plantarum*, 13, 43-50.
- Velikova, V., Yordanov, I. ve Edreva, A., 2000. Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants, Protective Role of Exogenous Polyamines. *Plant Science*, 151, 59-66.

- Wada, M. (1930). On the occurrence of a new amino acid in watermelon, *Citrullus vulgaris*, Schrad. Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan, 6(1–5), 32–34.
- Wairich, A., De Conti, L., Lamb, T. I., Keil, R., Neves, L. O., Brunetto, G., Sperotto, R. A., & Ricachenevsky, F. K. (2022). Throwing Copper Around: How Plants Control Uptake, Distribution, and Accumulation of Copper. *Agronomy*, 12(5), 994.
- Wang, J., Moeen-Ud-Din, M., Yin, R., & Yang, S. (2022). ROS Homeostasis Involved in Dose-Dependent Responses of Arabidopsis Seedlings to Copper Toxicity. *Genes*, 14(1), 11.
- Wang, N., Chen, H. & Tian, Y. Effects Of Nickel, Lead, And Copper Stress On The Growth And Biochemical Responses Of *Aegilops Tauschii* Seedlings. *Sci Rep* 14, 24832 (2024). Doi.Org/10.1038/S41598-024-77143-W
- Wang, R. X., Wang, Z. H., Sun, Y. D., Wang, L. L., Li, M., Liu, Y. T., & Yu, Y. H. (2024). Molecular mechanism of plant response to copper stress: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 218, 105590.
- Wu, J., Wang, T., Huang, Y., Luo, X., & Tang, F. Y. (2025). Genotypic Difference in Response to Copper Stress in Upland Cotton as Revealed by Physiological and Molecular Expression Analyses. *BMC Plant Biology*, 25, 21. doi.org/10.1186/s12870-024-06025-0
- Xu, E., Liu, Y., Gu, D., Zhan, X., Li, J., Zhou, K., Zhang, P., & Zou, Y. (2024). Molecular Mechanisms of Plant Responses to Copper: From Deficiency to Excess. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 6993. doi.org/10.3390/ijms25136993
- Yağmur, M., Sözen, Ö., & Pala, D. (2021). Yarı Kurak Şartlarda Farklı Tohum Miktarlarının İki Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşidinde Tane Verimi ve Bazı Verim Öğeleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 11(1), 10-20.
- Yerli, C., Çakmakcı, T., Şahin , Ü., & Tüfenkçi, Ş. (2020). Ağır Metallerin Toprak, Bitki, Su ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9(özel sayı), 103-114.
- Yruela, I. (2005). Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1).
- Yuce, M., Ekinci, M., Turan, M., Agar, G., Aydin, M., Ilhan, E., & Yildirim, E. (2024). Chrysin Mitigates Copper Stress by Regulating Antioxidant Enzymes Activity, Plant Nutrient and Phytohormones Content İn Pepper. *Scientia Horticulturae*, 328, 112887.
- Yusuf, M., Almehrzi, A. S. S., Alnajjar, A. J. N., Alam, P., Elsayed, N., Khalil, R., & Hayat, S. (2021). Glucose Modulates Copper İnduced Changes İn Photosynthesis, İon Uptake, Antioxidants And Proline İn *Cucumis Sativus* Plants. *Carbohydrate Research*, 501, 108271.

- Zhang, C., Lu, W., Yang, Y., Shen, Z., Ma, J. F., & Zheng, L. (2018). OsYSL16 is Required for Preferential Cu Distribution to Floral Organs in Rice. *Plant & Cell Physiology*, 59(10), 2039–2051.
- Zhang, L. P., Mehta, S. K., Liu, Z. P., & Yang, Z. M. (2008). Copper-Induced Proline Synthesis is Associated with Nitric Oxide Generation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant and Cell Physiology*, 49(3), 411–419.
- Zhang, Q., Dai, X., Wang, H., Wang, F., Tang, D., Jiang, C., Zhang, X., Guo, W., Lei, Y., Ma, C., Zhang, H., Li, P., Zhao, Y., & Wang, Z. (2022). Transcriptomic Profiling Provides Molecular Insights Into Hydrogen Peroxide-Enhanced Arabidopsis Growth and its Salt Tolerance. *Frontiers In Plant Science*, 13, 866063.
- Zhang, T., Wang, Y., Ma, X., Ouyang, Z., Deng, L., Shen, S., Dong, X., Du, N., Dong, H., Guo, Z., Meng, G., Piao, F., & Sun, K. (2022). Melatonin Alleviates Copper Toxicity via Improving ROS Metabolism and Antioxidant Defense Response in Tomato Seedlings. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 11(4), 758. doi.org/10.3390/antiox11040758
- Zhang, Y., Zheng, L., Yun, L., Ji, L., Li, G., Ji, M., Shi, Y., & Zheng, X. (2022). Catalase (CAT) Gene Family in Wheat (*Triticum aestivum* L.): Evolution, Expression Pattern and Function Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 542.
- Zhou, Y., Hu, L., Ye, S., Jiang, L., & Liu, S. (2018). Genome-wide Identification of Glutathione Peroxidase (GPX) Gene Family and their Response to Abiotic Stress in Cucumber. *3 Biotech*, 8(3), 159. doi.org/10.1007/s13205-018-1185-3
- Zhu, Y., Chen, Y. H., Zhang, X., Xie, G. Y., & Qin, M. J. (2020). Copper Stress-Induced Changes in Biomass Accumulation, Antioxidant Activity and Flavonoid Contents in *Belamcanda chinensis* calli. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 142(2), 299–311.

ÖZGEÇMİŞ

İlköğrenimini Harmanlı İlköğretim Okulu'nda bitirdikten sonra lise eğitimini Trabzon Özel Kavram Lisesi'nde tamamladı. 2017 yılında KTÜ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünü kazandı. 2021 yılında Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünden mezun oldu. Ara vermeyerek, aynı yıl KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Aykut SAĞLAM danışmanlığında Yüksek Lisans eğitimine başladı.

