

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI



NANO ÇİNKO VE NANO DEMİR UYGULAMALARININ
KURAKLIK STRESİ ALTINDAKİ FESLEĞEN BİTKİSİNİN
MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

TARLA BİTKİLERİ YÜKSEK LİSANS TEZİ

İBRAHİM SELVİKAYA

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Abdurrahim YILMAZ

BOLU, MAYIS 2025

KABUL VE ONAY SAYFASI

İbrahim SELVİKAYA tarafından hazırlanan “**NANO ÇİNKO VE NANO DEMİR UYGULAMALARININ KURAKLIK STRESİ ALTINDAKİ FESLEĞEN BİTKİSİNİN MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı Tarla Bitkileri Yüksek Lisans Programı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir.
23/05/2025

Jüri Üyeleri

Danışman
Doç. Dr. Abdurrahim YILMAZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Muhammad SAMEEULLAH
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Said YOLCU
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

İmza

.....

.....

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu ve Şablonuna uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir
- aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

.....
İBRAHİM SELVİKAYA

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, yeşil biyosentez yöntemiyle elde edilen çinko oksit (ZnO) ve demir oksit (FeO) nanopartiküllerinin, kuraklık stresine maruz bırakılan fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkilerinde morfolojik gelişim, antioksidan savunma sistemleri ve fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışma, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat Fakültesi yarı kontrollü araştırma serasında yürütülmüştür.

Nanoteknolojik uygulamaların tarımsal stres koşullarına karşı bitkilerde oluşturduğu tepkileri anlamaya yönelik bu deneysel çalışma süresince önemli bilimsel kazanımlar elde edilmiştir. Özellikle nanopartikül destekli yapraktan uygulamaların, kuraklık koşullarında bitki savunma mekanizmalarını aktive ederek oksidatif stresin etkilerini azaltabileceği yönündeki bulgular, sürdürülebilir tarım uygulamaları açısından dikkat çekicidir.

Bu tez çalışmasıyla elde edilen bulgular, nano gübre teknolojisinin kuraklık stresine karşı bitkisel dayanıklılığı artırmada etkili olduğunu ve sürdürülebilir tarım için umut vadeden bir yaklaşım sunduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen veriler, yalnızca akademik çevreler için değil, aynı zamanda tarım sektöründe yenilikçi çözümler arayan müteşebbisler için de yol gösterici niteliktedir. Bu bağlamda, çevre dostu nano formülasyonlara dayalı yeni ürünlerin geliştirilmesi ve ticarileştirilmesi yönünde yapılacak girişimlerin, geleceğin tarımı açısından büyük önem taşıyacağı kanaatine varılmıştır.

ÖZET

**NANO ÇİNKO VE NANO DEMİR UYGULAMALARININ KURAKLIK
STRESİ ALTINDAKİ FESLEĞEN BİTKİSİNİN MORFOLOJİK,
FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
İBRAHİM SELVİKAYA
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI
TARLA BİTKİLERİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ABDURRAHİM YILMAZ)**

**BOLU, MAYIS - 2025
XIII + 61 sayfa**

Bu çalışmada, nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altındaki fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkisinin morfolojik gelişimi ile biyokimyasal ve fizyolojik parametreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmada, AG Tohum firmasından temin edilen “Dino” çeşidi fesleğen bitkisi kullanılmış ve çalışma Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat Fakültesi yarı-kontrollü serasında yürütülmüştür. Deneme, iki farklı sulama düzeyi (%100 ve %50 tarla kapasitesi) ve dört farklı nanopartikül uygulamasını (kontrol, Zn NP, Fe NP ve Zn+Fe NP) içerecek şekilde, üç tekerrürlü olarak kurulmuştur. Zn ve Fe nanopartikülleri, adaçayı (*Salvia officinalis* L.) ekstraktı kullanılarak yeşil biyosentez yöntemiyle elde edilmiş ve karakterizasyonları SEM ve EDS analizleri ile yapılmıştır. Araştırma bulgularına göre, gelişim parametreleri arasında bitki boyu ve bitki ağırlığı üzerinde tüm nanopartikül uygulamaları olumlu etki gösterirken, yaprak sayısı ve yaprak ağırlığında en yüksek artış Zn+Fe NP uygulamasıyla elde edilmiştir. Fe NP ve Zn NP uygulamaları SOD enzim aktivitesini anlamlı düzeyde artırmıştır. Toplam fenol, flavonoid içeriği ile CAT ve APX enzim aktiviteleri bakımından en yüksek değer, %50 sulama altındaki Zn+Fe NP uygulamasında tespit edilmiştir. Buna karşılık, aynı sulama düzeyinde nanopartikül uygulanmamış kontrol grubunda MDA ve H₂O₂ düzeyleri en yüksek seviyede tespit edilmiştir. Antioksidan kapasite değerlendirmelerinde, DPPH, FRAP ve CUPRAC testlerinin tümünde en yüksek değer Zn NP uygulamasında belirlenmiş ve bu uygulama istatistiksel olarak en yüksek grupta yer almıştır. Toplam klorofil ve karotenoid içerikleri açısından ise Zn+Fe NP uygulamaları istatistiksel olarak en yüksek grupta yer almıştır. Elde edilen bulgular, Zn ve Fe nanopartiküllerinin bitkilerdeki oksidatif hasarı hafifleterek stres toleransını artırabildiğini göstermektedir. Bu yönüyle çalışma, nanoteknolojinin sürdürülebilir tarım uygulamalarındaki potansiyelini ortaya koymaktadır.

ANAHTAR KELİMELELER: Fesleğen, Kuraklık stresi, Nanopartiküller, Antioksidan enzimler, Yeşil sentez

ABSTRACT

EFFECT OF NANO ZINC AND NANO IRON APPLICATIONS ON MORPHOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF BASIL PLANT UNDER DROUGHT STRESS

MASTER THESIS

İBRAHİM SELVİKAYA

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF FIELD CROPS

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. ABDURRAHİM YILMAZ)

BOLU, MAY 2025

XIII + 61 pages

In this study, the effects of nano zinc and nano iron applications on morphological development, as well as the biochemical and physiological parameters, of basil (*Ocimum basilicum* L.) plants under drought stress were investigated. The experiment was conducted in a semi-controlled greenhouse at the Faculty of Agriculture, Bolu Abant İzzet Baysal University, using the “Dino” cultivar of basil obtained from AG Tohum company. The experimental design included two irrigation levels (100% and 50% field capacity) and four nanoparticle treatments (control, Zn NP, Fe NP, and Zn+Fe NP), with three replications. Zn and Fe nanoparticles were synthesized via a green biosynthesis method using sage (*Salvia officinalis* L.) extract and characterized by SEM and EDS analyses. According to the results, all nanoparticle treatments had positive effects on plant height and biomass, while the highest increase in leaf number and leaf weight was observed with the Zn+Fe NP treatment. Fe NP and Zn NP applications significantly enhanced SOD enzyme activity. The highest values for total phenol and flavonoid contents, as well as CAT and APX enzyme activities, were recorded under 50% irrigation in the Zn+Fe NP treatment. In contrast, the highest levels of MDA and H₂O₂ were observed in the control group without nanoparticle application under the same irrigation regime. In the evaluation of antioxidant capacity, the highest values in all DPPH, FRAP, and CUPRAC assays were determined in the Zn NP treatment, and this treatment was placed in the statistically highest group. Zn+Fe NP application resulted in the highest levels of total chlorophyll and carotenoid content. Overall, the findings indicate that Zn and Fe nanoparticles can enhance drought tolerance in plants by alleviating oxidative damage. In this context, the study highlights the potential of nanotechnology in sustainable agricultural practices.

KEYWORDS: Basil, Drought stress, Nanoparticles, Antioxidant enzymes, Green synthesis

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ.....	xii
TEŞEKKÜR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL ve YÖNTEM	4
2.1 Deneme Yeri ve Zamanı	4
2.2 Bitki Materyali.....	4
2.3 Deneme Toprağı	4
2.4 Yeşil Biyosentez Yöntemiyle Fe Nanopartiküllerinin Üretimi	5
2.5 Yeşil Biyosentez Yöntemiyle Zn Nanopartiküllerinin Üretimi	5
2.6 Nanopartiküllerin karakterizasyonu.....	6
2.7 DeneySEL Tasarım ve Sulama Yönetimi.....	8
2.8 Fiziksel ve Morfolojik Analizler	9
2.9 Toplam Fenol ve Flavonoid İçerikleri	9
2.10 DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi	10
2.11 CUPRAC ve FRAP Aktivitesi	10
2.12 APX, CAT ve SOD Analizleri	11
2.13 Malondialdehit (MDA)	11
2.14 Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	12
2.15 Klorofil ve Karotenoid İçerikleri.....	12
2.16 İstatistiksel Analizler	13
3. BULGULAR.....	14
3.1 Bitki Boyu	14
3.2 Yaprak Sayısı	15
3.3 Bitki Ağırlığı	16
3.4 Yaprak Ağırlığı.....	18
3.5 Toplam Fenol	19
3.6 Toplam Flavonoid.....	20
3.7 CUPRAC.....	22
3.8 FRAP	23
3.9 DPPH	24

3.10 Katalaz (CAT)	26
3.11 Süperoksit Dismutaz (SOD)	27
3.12 Askorbat Peroksidaz (APX).....	29
3.13 Malondialdehit (MDA).....	30
3.14 Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	31
3.15 Klorofil A.....	32
3.16 Klorofil B.....	33
3.17 Klorofil A/B	35
3.18 Toplam Klorofil.....	36
3.19 Toplam Karotenoid.....	37
4. TARTIŞMA.....	39
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR.....	52

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 2.1** Çinko (solda) ve demir (sağda) nanopartiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü7
- Şekil 2.2.** Enerji Dağıtıcı X-ışını Spektroskopisi (EDS) kullanılarak adaçayından sentezlenen ZnO (üstte) ve FeO (altta) nanopartiküllerinin element bileşim analizi.....8



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Denemede kullanılan toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri	4
Tablo 3.1. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin bitki boyuna etkisine ait varyans analizi sonuçları.....	14
Tablo 3.2. Uygulamaların fesleğenin bitki boyuna (cm) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	15
Tablo 3.3. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin yaprak sayısına etkisine ait varyans analizi sonuçları	15
Tablo 3.4. Uygulamaların fesleğenin yaprak sayısına (adet bitki ⁻¹) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	16
Tablo 3.5. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin bitki ağırlığına etkisine ait varyans analizi sonuçları	17
Tablo 3.6. Uygulamaların fesleğenin bitki ağırlığına (g) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	17
Tablo 3.7. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin yaprak ağırlığına etkisine ait varyans analizi sonuçları	18
Tablo 3.8. Uygulamaların fesleğenin yaprak ağırlığına (g) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	19
Tablo 3.9. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin toplam fenol içeriğine etkisine ait varyans analizi sonuçları	19
Tablo 3.10. Uygulamaların fesleğenin toplam fenol içeriğine (mg ml GAE ⁻¹) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	20
Tablo 3.11. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin toplam flavonoid değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları.....	21
Tablo 3.12. Uygulamaların fesleğenin toplam flavonoid değerlerine (mM QUE Eq) ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	22
Tablo 3.13. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin CUPRAC değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları.....	22
Tablo 3.14. Uygulamaların fesleğenin CUPRAC değerlerine (mM AsA Eq) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	23
Tablo 3.15. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin FRAP değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	24
Tablo 3.16. Uygulamaların fesleğenin FRAP değerlerine (mM AsA Eq) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	24
Tablo 3.17. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin DPPH değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	25
Tablo 3.18. Uygulamaların fesleğenin DPPH değerlerine (mM AsA Eq) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	26
Tablo 3.19. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin katalaz değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	26
Tablo 3.20. Uygulamaların fesleğenin katalaz (U ml ⁻¹) değerlerine etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	27
Tablo 3.21. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin SOD değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	28

Tablo 3.22. Uygulamaların fesleğenin SOD değerlerine (U g^{-1}) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	28
Tablo 3.23. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin APX değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	29
Tablo 3.24. Uygulamaların fesleğenin APX değerlerine ($\mu\text{mol mg}^{-1}$) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	30
Tablo 3.25. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin MDA değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	30
Tablo 4.26. Uygulamaların fesleğenin MDA değerlerine (nmol g^{-1}) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	31
Tablo 3.27. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin H_2O_2 değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	31
Tablo 3.28. Uygulamaların fesleğenin H_2O_2 ($\mu\text{mol g}^{-1}$) değerlerine etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	32
Tablo 3.29. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin klorofil a değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	33
Tablo 3.30. Uygulamaların fesleğenin klorofil a değerlerine ($\mu\text{g g}^{-1}$) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	33
Tablo 3.31. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin klorofil b değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	34
Tablo 3.32. Uygulamaların fesleğenin klorofil b değerlerine ($\mu\text{g g}^{-1}$) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	34
Tablo 3.33. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin klorofil a/b değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	35
Tablo 3.34. Uygulamaların fesleğenin klorofil a/b değerlerine etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	36
Tablo 3.35. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin toplam klorofil içeriğine etkisine ait varyans analizi sonuçları	36
Tablo 3.36. Uygulamaların fesleğenin toplam klorofil ($\mu\text{g g}^{-1}$) içeriğine etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	37
Tablo 3.37. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin toplam karotenoid içeriğine etkisine ait varyans analizi sonuçları	37
Tablo 3.38. Uygulamaların fesleğenin toplam karotenoid içeriğine ($\mu\text{g g}^{-1}$) ait ortalamalar ve istatistiki gruplar	38

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

ANOVA	: Analysis of Variance
APX	: Askorbat Peroksidaz
AsA	: Askorbik Asit
BAİBÜ	: Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
CAT	: Katalaz
cm	: Santimetre
Cuprac	: CUPric Reducing Antioxidant Capacity
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EDS	: Enerji Dağıtıcı X-ışını Spektroskopisi
Eq	: Equivalent
Fe	: Demir
Fe NP	: Demir nanopartikülü
FeO	: Demir oksit
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power
g	: Gram
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HSD	: Honestly Significant Difference
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
nmol	: Nanomol
NP	: Nanopartikül
QUE	: Quercetin
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SEM	: Scanning Electron Microscope
SOD	: Süperoksit Dismutaz
U	: Unit
Zn	: Çinko
Zn NP	: Çinko nanopartikülü
ZnO	: Çinko oksit
µg	: Mikrogram
µmol	: Mikromol

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince, çalışmamın her aşamasında yanımda olan; desteklerini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Öncelikle araştırmamın tüm aşamalarında katkıları ve destekleriyle her daim yanımda olan, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren danışman hocam Doç. Dr. Abdurrahim Yılmaz'a teşekkür ederim. Araştırmamın hazırlık aşamasında destek sağlayan Tarla Bitkileri Bölümü son sınıf öğrencileri Mahmut Nedim Uma, Ali Savaş ve Ahmet Sertaç Taşal'a, nanopartiküllerin elde edilmesinde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Hilal Yılmaz hocama, laboratuvar analizlerimde desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Emrah Güler ve Dr. Öğr. Üyesi Murat Karakuş hocalarıma, tecrübesiyle bana yol gösteren ve desteklerini esirgemeyen kıymetli meslektaşım Zir. Yük. Mühendisi Berfin İşler'e, gösterdiği anlayış ve sunduğu imkanlar sebebiyle Mudurnu İlçe Tarım ve Orman Müdürü Erdoğan Gül'e ve değerli çalışma arkadaşlarıma, son olarak varlığıyla beni motive eden canım yeğenim Arya'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmayı 2024-TYL-6.12.57-0010 kodlu projeyle destekleyen BAİBÜ BAP Birimi'ne katkılarından dolayı şükranlarımı sunarım.

1. GİRİŞ

Küresel iklim değişikliği, tarım sektörünü doğrudan etkileyen en önemli çevresel tehditlerin başında gelmektedir (Habib-ur-Rahman vd., 2022). Bu değişim süreci, özellikle yağış rejimlerinde düzensizlik, sıcaklık artışı ve su kaynaklarında azalma gibi faktörlerle kendini göstermekte, tarımsal üretimi ve gıda güvenliğini tehdit eden yeni zorlukları beraberinde getirmektedir (Shigute vd., 2023; Muzammal vd., 2024; Onyeaka vd., 2024). Bu zorlukların başında ise, bitkisel üretimin tüm gelişim evrelerinde olumsuz etkiler oluşturan kuraklık stresi yer almaktadır (Seleiman vd., 2021). Kuraklık; su alımının, iletiminin ve kullanımının sınırlanmasıyla birlikte bitkilerde fotosentez, solunum, hücre bölünmesi, hormonal denge ve besin elementi taşınımı gibi temel fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri sekteye uğratmakta; bunun sonucu olarak büyüme geriliği, yaprak dökümü, verim kaybı ve kalite düşüşü gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır (Yang vd., 2021; Bijalwan vd., 2022; Qiao vd., 2024).

Kuraklık stresi aynı zamanda oksidatif stres ile doğrudan ilişkilidir (Yang vd., 2021). Su kıtlığı altında fotosentetik aktivitenin azalması ve stomatal kapanma gibi fizyolojik tepkiler, bitki hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimine yol açmaktadır. Oksijen radikalleri, özellikle kloroplast, mitokondri ve peroksizom gibi metabolik açıdan aktif organellerde birikir; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyolojik makromoleküllerle etkileşerek hücresel yapının bütünlüğünü bozmaktadır (Napolitano vd., 2021; Sachdev vd., 2021; Mittler vd., 2022). Bu durumun en önemli biyokimyasal göstergeleri arasında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve malondialdehit (MDA) gibi oksidatif hasar ürünleri yer almaktadır. Bitkiler bu zararlı molekülleri etkisiz hâle getirmek için hem enzimatik (SOD, CAT, APX vb.) hem de enzimatik olmayan (fenoller, flavonoidler, karotenoidler vb.) savunma sistemlerini aktive etmektedir (Carmo de Carvalho e Martins vd., 2022; Berwal vd., 2021; Chowdhary vd., 2022).

Son yıllarda, bitkilerin çevresel streslere karşı toleransını artırmak amacıyla yürütülen çalışmalarda nanoteknoloji temelli uygulamalar dikkat çekmektedir (Ullah vd., 2023; Shoukat vd., 2024). Nanometrik ölçekteki materyallerin kendine özgü fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden faydalanan nanoteknoloji, gıda endüstrisi, biyomedikal uygulamalar, çevresel mühendislik, savunma sanayi, su kaynaklarının yönetimi ve enerji dönüşümü gibi birçok alanda dönüşümsel etkiler

oluşturma potansiyeline sahiptir. Tarım alanında ise bu teknoloji, kuramsal yaklaşımlardan çıkarak giderek daha fazla uygulamaya dayalı çözümlere dönüşmektedir (Benzon vd., 2015). Bu baēlamda nano gübreler, bir ya da birden fazla besin elementini bitkiye saēlayarak büyüme ve gelişmeyi destekleyen nanoyapılı materyaller olarak tanımlanmakta olup, yavaş salınımlı yapıları sayesinde uzun süreli etkinlik göstermektedirler (Liu ve Lal, 2015; Chhipa ve Joshi, 2016). Ayrıca, bu gübrelerin yapraktan uygulama yoluyla verilmesi, toprakta fazla miktarda kimyasal gübre kullanımının önüne geçilmesini saēlamakta ve böylece optimum besin yönetimi yoluyla verim artışına katkı sunmaktadır (Mukherjee vd., 2015). Nanoform mikrobesein elementleri, yüksek yüzey alanları ve etkinliēi artırılmış biyoyararlanımları sayesinde düşük dozlarda dahi fizyolojik ve metabolik süreçlerde güçlü iyileştirici etkiler ortaya koyabilmektedir (Dhaliwal vd., 2022; Singh vd., 2023; Szuplewska vd., 2023). Bu kapsamda inko (Zn) ve demir (Fe), bitki metabolizması için vazgeçilmez iki mikroelementtir (Dhaliwal vd., 2021; Saudy vd., 2022). Çinko; protein sentezi, hücre bölünmesi, enzim aktivasyonu ve hormonal düzenlemelerde rol oynarken; demir, başta klorofil biyosentezi ve elektron taşıma zinciri olmak üzere fotosentez, solunum ve redoks reaksiyonlarında kritik işlevlere sahiptir (Hamzah Saleem vd., 2022; Liu vd., 2022; Costa vd., 2023; Sgi-Kazr vd., 2022; Higuchi ve Saito, 2022). Her iki elementin nanopartikül formda yapraktan uygulanması, stres koşullarındaki bitkilerde antioksidatif sistemleri destekleyerek ROS seviyelerini düşürme ve fizyolojik fonksiyonları sürdürme açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Szabo vd., 2021).

Tıbbi bitkiler saēlıēı korumak, hastalıkları önlemek veya tedavi etmek amaçlı kullanılmaktadır (Yılmaz, 2022). Lamiaceae familyasına mensup olan fesleēen (*Ocimum basilicum* L.), kökeni Orta Afrika ve Gneydoēu Asya'ya dayanan dikkat çekici ve deēerli bir tıbbi bitkidir (Yılmaz ve Karik, 2022). Fesleēen bitkisinin kolesterol seviyelerini düşürme (Harnafı vd., 2008), iltihaplanmayı azaltma (Rodrigues vd., 2016), kan şekeri düzenleyici etkileriyle diyabet tedavisine katkı saēlama (El-Beshbishy ve Bahashwan, 2012; Kadan vd., 2016), antidepresan etki gösterme (Ayuob vd., 2017) ve antimikrobiyal ile antioksidan özellikler taşıma (Stanojevic vd., 2017) gibi çok yönlü biyolojik aktivitelere sahip olduēu çeşitli bilimsel çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu zellikleri sayesinde yalnızca saēlık alanında farmasötik ürünlerde deēil, aynı zamanda gıda sektöründe ürün kalitesini artırmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla doēal bir koruyucu madde olarak da

değerlendirilmektedir (Pushpangadan ve George, 2012). Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.), sahip olduğu uçucu yağlar, fenolik bileşikler ve flavonoidler ile tıbbi ve aromatik bitkiler arasında öne çıkan hem tarımsal hem de endüstriyel değeri yüksek bir türdür (Kılıç ve Kaya, 2023; Öz ve Velioğlu, 2024; Saha vd., 2016). Bununla birlikte, özellikle kuraklık gibi çevresel streslere karşı hassasiyet göstermekte, bu da hem verim hem de kalite parametrelerinde kayıplara yol açmaktadır. Bu bağlamda, stres koşullarında fesleğen bitkisinin gelişimini destekleyecek yenilikçi ve çevre dostu uygulamaların geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Bu araştırmada, nano çinko ve nano demir uygulamalarının, farklı sulama düzeyleri (%100 ve %50 tarla kapasitesi) altında yetiştirilen fesleğen bitkisinin morfolojik gelişimi, fotosentetik pigment düzeyleri, oksidatif stres göstergeleri ve antioksidan savunma sistemleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulguların, kuraklık stresine karşı dayanıklı bitki yönetim stratejileri geliştirilmesine katkı sağlaması ve nanoteknoloji tabanlı uygulamaların sürdürülebilir tarım sistemlerine entegrasyonu açısından yol gösterici olması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1 Deneme Yeri ve Zamanı

Deneme, Haziran–Ağustos 2024 tarihleri arasında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’ne ait yarı kontrollü araştırma serasında yürütülmüştür.

2.2 Bitki Materyali

Bitkisel materyal olarak, AG Tohum firmasından temin edilen "Dino" geniş yapraklı fesleğen çeşidi kullanılmıştır.

2.3 Deneme Toprağı

Denemede kullanılan toprak, fakülte deneme alanından alınmış, laboratuvar koşullarında kurutulmuş ve 5 mm’lik elekten geçirilerek kullanılmaya hazır hale getirilmiştir. Bu toprağa %50-50 hacimsel karışımı oluşturmak üzere ‘Kekkila Dsm Serisi’ ithal torf ilave edilmiştir. Her biri 1,5 litre kapasiteli saksılar, ½ toprak ve torf karışımı ile doldurulmuştur. Kullanılan toprağa ait özellikler tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Denemede kullanılan toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri

Parametre	Sonuç	Derecesi	Analiz Metodu
Satürasyon %	68,31	Killi-Tınlı	TS 8333 (%10) (Hava Kuru)
pH	7,25	Nötr	Yurdakul 2018
Toplam Tuz %	0,09	Tuzsuz	TS 8334 (Çamurda)
Kireç %	1,44	Kireçli	TS EN ISO 10693 (Modifiye)
Organik Madde %	7,39	Yüksek	TS 8336
Alınabilir Fosfor (P ₂ O ₅ kg/da)	48,57	Orta-Çok Yüksek (Bray ve Kurtiz (1945)'e göre)	TS 8341 (Konsantrasyon)
Alınabilir Potasyum (K ₂ O kg/da)	294,51	Yüksek	Olsen (Absorpsiyon)

2.4 Yeşil Biyosentez Yöntemiyle Fe Nanopartiküllerinin Üretimi

Adaçayı (*Salvia officinalis*) yapraklarından nano demir (Fe) sentezi, Wang vd. (2015) tarafından tanımlanan yöntem baz alınarak, bazı modifikasyonlar ile gerçekleştirilmiştir. Bitki yaprak ekstraktının hazırlanması, Bolu Çampınar köyünden temin edilen 100 g adaçayı yaprağının öğütülmesini ve 500 mL Milli-Q suda 80°C’de 1 saat ısıtılmasını içermektedir.

Karışım 1 saat dinlendirilmesinin ardından, Whatman filtresi (No:1) ile süzölmüştür. Ayrıca 16,23 g FeCl₃ (Sigma-Aldrich) 1,0 L Milli-Q suda çözölerek 0,1 M FeCl₃ çözeltisi hazırlanmıştır. Yaprak ekstraktı FeCl₃ çözeltisi ile 1:2 hacim oranında birleştirilmiştir. Çözeltinin pH’sı, kademeli olarak 0,1 M NaOH eklenerek 11’e ayarlanmış ve ardından karışım 80°C’de ek olarak 10 dakika karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığına soğumaya bırakılmıştır. Fe nanopartiküllerinin (Fe NP) oluşumu, karışımın siyah renk almasıyla gözlemlenmiştir. Nanopartiküller, suyla en az üç kez yıkanmış ve suda çözölünebilen safsızlıkların giderilmesi için 4000 devirde santrifüjlenmiştir. Fe NP’ler, 70°C’de 24 saat boyunca kurutulmuş ve kurutulan nanopartiküller porselen havanda öğütölerek toz haline getirilmiştir. Nanopartiküller, kullanıma kadar +4°C’de buzdolabında, hava geçirmez renkli cam şişede saklanmıştır.

2.5 Yeşil Biyosentez Yöntemiyle Zn Nanopartiküllerinin Üretimi

Adaçayı yapraklarından nano çinko (Zn) biyolojik sentezi, Abomuti vd., (2021) tarafından tanımlanan yöntem göre yürütölmüştür. Adaçayı yapraklarının sulu ekstraktı, 5 g öğütölmüş kuru yaprağın 200 mL distile su içeren 250 mL’lik bir beher içersine konulmasıyla hazırlanmıştır. Beher, yaklaşık 2 saat boyunca 60°C’de ısıtılmak üzere manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Karışım, hava geçirmez bir şişede bir gece boyunca bekletilmiş ve ardından Whatman No.1 filtre kâğıdı kullanılarak süzölmüştür. Süzölen ekstrakt analiz yapıłncaya kadar buzdolabında saklanmıştır.

500 mL’lik bir beherde 100 mL 0,2 M Zn(NO₃)₂ eklenmiş ve 50°C’de 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra aynı sıcaklığı getirilmiş 100 ml adaçayının sulu ekstraktı çinko nitrat çözeltisi içersine ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımı, Zn²⁺ iyonlarının sulu yaprak ekstraktındaki biyomoleküller ile elektrostatik etkileşimini desteklemek için 2 saat boyunca sürekli karıştırılmış ve deneysel karışımın rengi, ekstraktın fitokimyasalları Zn²⁺ iyonlarını kaplayarak

ZnO NP'lerin çekirdeklenmesini başlattığı için açık sarıya dönmüştür. Çekirdeklenme devam ettikçe, fitokimyasal moleküller bu süreci stabilize etmiş ve sistem düşük pH (2,0) değerinde dengeye ulaşmıştır.

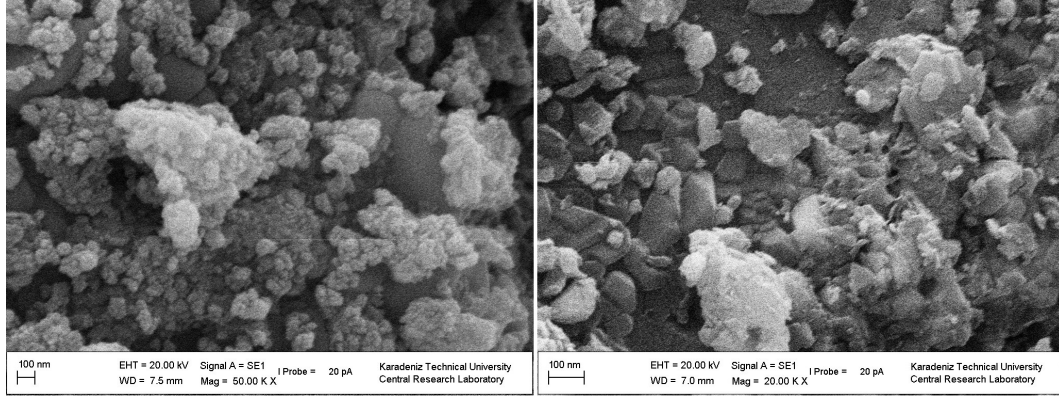
Reaksiyon karışımının pH değeri, sürekli karıştırma altında taze hazırlanmış NaOH (2,0 M) çözeltisi damla damla eklenerek 12'ye yükseltilmiştir. 50°C'de sürekli karıştırma sırasında, reaksiyon karışımında açık sarı bir çökelti oluşmuş ve bu durum ZnO NP'lerin oluşumunu göstermiştir.

Reaksiyon karışımının 10.000 devirde 20 dakika boyunca santrifüj edilmesiyle çökelti toplanmıştır. Çökelti, biyolojik sentezlenmiş materyalin yüzeyinden herhangi bir ek safsızlık veya reaksiyona girmemiş maddeleri uzaklaştırmak amacıyla birkaç kez etanol ve distile su ile yıkanmıştır. Sentezlenen materyal 80°C'de 24 saat boyunca etüvde tamamen kurutulmak üzere bırakılmıştır. Daha sonra kurutulan çökelti porselen havanda iyice ezilmiş ve ince ZnO NP tozu, ileri çalışmalar ve yüzey karakterizasyonu için kullanılmıştır.

2.6 Nanopartiküllerin karakterizasyonu

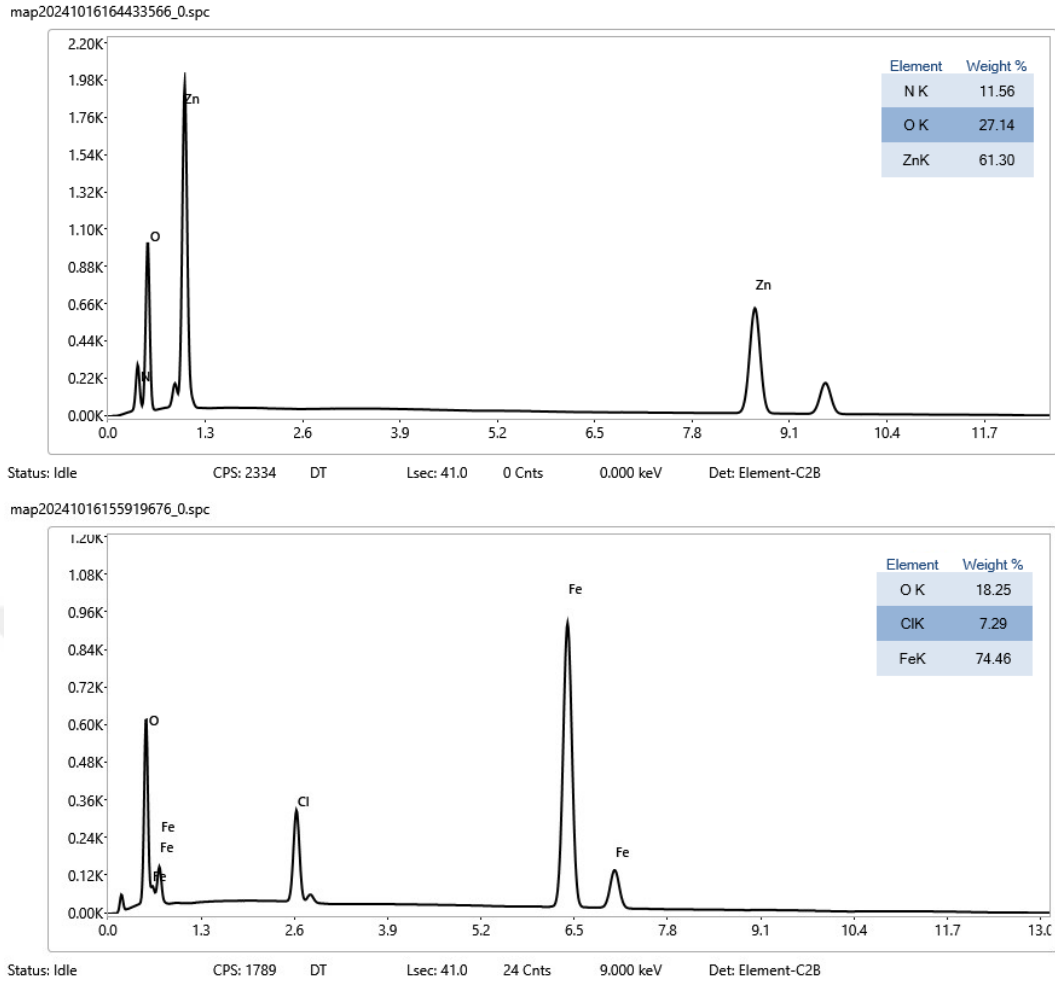
Çinko ve demir nanopartiküllerinin morfolojik karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (ZEISS EVO LS 10) kullanılarak Karadeniz Teknik Üniversitesi Merkezi Laboratuvarda gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.1). Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri, nanopartiküllerin baskın olarak bir miktar kümeleşme ile küresel bir şekil sergilediğini ortaya koymuştur. Parçacıklar, 100 nm ölçek çubuğuna göre yaklaşık 50-250 nm olduğu tahmin edilen ortalama bir çapla, boyut olarak nispeten düzgün görünmektedir.

SEM analizinin sağladığı yüksek büyütme ve ayrıntılı çözünürlük, nanopartiküllerin biyolojik aktiviteleri için kritik olan nano skala boyutlara tamamıyla olmasa da parça parça sahip olduğunu doğrulamaktadır.



Şekil 2.1 Çinko (solda) ve demir (sağda) nanopartiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü

Yeşil sentezlenen nanopartiküllerin element bileşimi, Şekil 2.2'de gösterildiği gibi Enerji Dağıtıcı X-ışını Spektroskopisi (EDS) kullanılarak analiz edilmiştir. Çinko için sonuçlar, sırasıyla %61,30, %27,14 ve %11,56 ağırlık yüzdeleriyle önemli miktarda çinko (Zn), oksijen (O) ve azot (N) içerdiğini ortaya koymuştur. Yüksek çinko ve oksijen oranı, yeşil yaklaşımla sentezlenen nanopartiküllerin ağırlıklı olarak ZnO'den oluştuğunu ve çinko oksit yapılarının başarılı bir şekilde oluştuğunu doğrulamaktadır. Oksijen içeriği (%27,14) çinko ve oksijen arasında bağ oluşumunu desteklemekte olup, numunenin çinko oksit (ZnO) formunda sentezlendiğini desteklemektedir. %11,56 oranında azot ise adaçayı ekstraktından nano demir sentezlenmesinde kullanılan $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ çözeltisinden kaynaklanmaktadır. Demir için alınan sonuçlar, sırasıyla %74,46, %18,25 ve %7,29 ağırlık yüzdeleriyle önemli miktarda demir (Fe), oksijen (O) ve klor (Cl) içerdiğini ortaya koymuştur. Yüksek demir ve oksijen oranı, yeşil yaklaşımla sentezlenen nanopartiküllerin ağırlıklı olarak FeO'den oluştuğunu ve demir oksit yapılarının başarılı bir şekilde oluştuğunu doğrulamaktadır. Oksijen içeriği (%18,25), demir ve oksijen arasında bağ oluşumunu desteklemekte olup, numunenin demir oksit (FeO) formunda olduğunu göstermektedir. %7,29 oranında klor ise adaçayından nano demirin sentezlenmesinde kullanılan FeCl_3 çözeltisinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 2.2. Enerji Dağıtıcı X-ışını Spektroskopisi (EDS) kullanılarak adaçayından sentezlenen ZnO (üstte) ve FeO (altta) nanopartiküllerinin element bileşim analizi

2.7 Deneysel Tasarım ve Sulama Yönetimi

Daha önce sera koşullarında fide haline getirilen fesleğenler her saksıda yalnızca bir bitki olacak şekilde haziran ayında şaşırtılmıştır. Deney tasarımı Kontrol, Nano Zn (100 mg L^{-1}), Nano-Fe (100 mg L^{-1}) ve Nano Fe+Zn mix (50 mg Fe L^{-1} , 50 mg Zn L^{-1}) nanopartikül uygulamaları ile iki farklı sulama rejimini (100% Tarla Kapasitesi ve 50% Tarla Kapasitesi) içermektedir. Nano-Zn dozu, Khan vd. (2021) tarafından belirtilen protokole göre, Nano-Fe dozu ise Kilic vd., (2024) tarafından belirtilen protokole göre uyarlanmıştır. Deneme süresi boyunca saksılar, tarla kapasitesine ulaşacak miktarda saf su ile sulanmıştır. Tarla kapasitesi, toprağın suyla doyurulup 24 saat boyunca drenajına izin verilerek belirlenmiştir (Özel vd., 2016). Çevre sıcaklığına bağlı olarak, saksılar her 2–3 günde bir tartılarak buharlaşma ve terleme yoluyla kaybedilen su miktarı hesaplanmış ve saksılar,

belirlenen tarla kapasitesi seviyelerine saf su eklenerek geri döndürülmüştür. 50% tarla kapasitesi sulama uygulaması, fesleğen fideleri şaşırtıldıktan 3 haftalık adaptasyon süreci sonrasında kademeli olarak başlatılmıştır. Su kısıtı uygulamasının başlatılmasından 4 gün sonra, nano çinko, nano demir ve nano demir+çinko uygulamaları yapraktan püskürtülerek uygulanmıştır. Su kısıtı uygulaması yapılan 15 günlük süre içerisinde toplam dört kez yapraktan nano Fe, Zn ve Fe+Zn mix uygulamaları yapılmıştır. Hassas uygulamayı sağlamak amacıyla, püskürtme sırasında her saksının yüzeyi örtülmüş ve bitkiler rüzgârsız bir ortama alınmıştır. Bitkiler ağustos ayında toplam 60 günlük büyüme sürecinin ardından hasat edilmiştir.

2.8 Fiziksel ve Morfolojik Analizler

Hasat öncesinde, bitki boyu (cm) ölçülmüş ve yaprak sayısı (adet bitki⁻¹) titizlikle belirlenmiştir. Daha sonra saksılardan dikkatlice çıkarılan bitki örneklerinin kök kısımları makasla ayrılmış; bitki ve yaprak ağırlıkları (g bitki⁻¹) ise 0,0001 g hassasiyetli analitik terazide tartılarak kaydedilmiştir. Böylece, bitki büyüme parametreleri olan bitki boyu, yaprak sayısı, bitki ağırlığı ve yaprak ağırlığı hasat zamanında tespit edilmiştir.

2.9 Toplam Fenol ve Flavonoid İçerikleri

Toplam fenolik içeriği (TPC), Waterhouse (2002)'un modifiye edilmiş yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Kısaca, 1,6 ml distile su, 50 µl metanolik ekstrakt ve 50 µl Folin-Ciocalteu reaktifi birleştirilmiş ve nazikçe karıştırılmıştır. Karışıma 300 µl kalsiyum karbonat çözeltisi (7% w/v) eklenmiştir. Vortekslemenin ardından karışım, oda sıcaklığında karanlıkta 2 saat bekletilmiş ve karışımın absorbansı, 760 nm'de bir UV-Vis spektrofotometre (SP-UV1100, DLAB, Pekin, Çin) ile ölçülmüştür. Standart eğri için ($R^2 = 0,99$), 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 mM gallik asit ile hazırlanan çözeltilerin absorbansı aynı prosedürle analiz edilmiştir.

Toplam flavonoid içeriği, alüminyum klorür testi kullanılarak ölçülmüştür (Qing vd., 2020). 10 mg Quercetin standardı tartılmış, 10 ml'lik şişede son hacme gelinceye kadar %60 etanol eklenmiş, ısıtılarak çözülmüş ve hacim oda sıcaklığında sabitlenmiştir. Böylece stok solüsyonu 1000 µg/ml (1 mg/ml) konsantrasyonunda olmuştur. 1000 mg bitki örneği 100 ml'lik balonjoje 'ye konmuş ve ardından üzerine 50 mL %60 etanol içeren sulu çözelti eklenmiştir. Daha sonra 30 ile 40°C

arasında su banyosunda 60 dakika boyunca bekletilmiştir. Ardından filtre kağıdında süzülen örneğin son hacmi 100 ml'ye (%60 etanol) tamamlanmıştır.

Sırasıyla 2,0 ml, 4,0 ml, 6,0 ml, 8,0 ml ve 10,0 ml Quercetin standardı ve 0,5 ml numune çözeltisi alınmış, üzerine 2,5 ml %5 sodyum nitrit çözeltisi, 2,5 ml %10 alüminyum nitrat ($AlCl_3$) çözeltisi ve 20,0 ml %4 sodyum hidroksit çözeltisi eklenmiştir. Son olarak hacim %60 etanol çözeltisi ile 50,0 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti her bir işlemten sonra vorteksleme yapılarak 15 dakika bekletilmiştir. Absorpsiyon farklı dalga boylarında 1,0 cm kuvars küvet ile ölçülmüş, spektrumlar ve pikler kaydedilmiştir.

2.10 DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi

DPPH radikal süpürme yeteneği çoğunlukla metanol veya etanol gibi organik çözücülerde 517 nm'de absorbans düşüşünün ölçülmesiyle belirlenmiştir (Brand-Williams vd., 1995). DPPH süpürücü aktivitesini ölçmek için 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. Analiz için nihai absorbans aralığı 0,7–0,8 olarak belirlenmiştir. Protokol, optimum metanol ekstrakt miktarını 2 ml olarak belirlemiştir. Analiz için, 50 µl örnek, 1,45 ml etanol ve 0,5 ml DPPH çözeltisi tüpe eklenmiş ve vortekslenmiştir. 15 dakika sonra, çözeltinin absorbansı 520 nm'de bir UV-Vis spektrofotometre ile ölçülmüştür. Ortaya çıkan DPPH süpürücü kapasitesi aşağıdaki formüle göre absorbanslar kullanılarak hesaplanmıştır:

$$DPPH\% \text{ inhibisyon} = (\text{kontrol absorbansı} - \text{örnek absorbansı} / \text{kontrol absorbansı}) \times 100$$

2.11 CUPRAC ve FRAP Aktivitesi

1000 mg bitki örneği (fesleğen yaprakları) üzerine 3 ml metanol çözeltisi ilave edilerek homojenize edilmiştir. Oluşan solüsyon oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 13000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. FRAP ölçümü Benzie ve Strain'den (1996) uyarlanmıştır. 100 µL bitki ekstraktı, 1900 µL FRAP (10 mM TPTZ; 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$; 300 mM asetat tamponu pH 3,6; oran 1:1:10 (v/v/v)) ile karıştırılmıştır. Karışımlar 25 °C'de 15 dakika inkübe edilmiş ve absorbans 630 nm'de okunmuştur. Denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Bitki ekstraktının bakır iyonu azaltıcı antioksidan kapasitesinin (CUPRAC) değerlendirilmesi Apak vd. (2007)'in metoduna göre yapılmıştır. 100 µL bitki ekstraktı, 1900 µL 1×10^{-2} M bakır (II) klorür çözeltisi ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; amonyum asetat tamponu pH 7,0; $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) etanolde; 1:1:1, v:v:v) ile karıştırılmış ve 30 dakika sonra 450 nm'de absorbansı okunmuştur. Fesleğen yapraklarının CUPRAC ve FRAP antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için askorbik asit standartları kullanılmıştır.

2.12 APX, CAT ve SOD Analizleri

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi, 290 nm'deki absorbans azalması izlenerek ölçülmüştür. 200 mg'lık bir örnek, 2 ml ekstraksiyon tamponu (0,1 M sodyum fosfat, 0,5 mM sodyum EDTA ve 1 mM askorbik asit) ile homojenize edilmiş ve 15.000 RPM'de santrifüjlenmiştir. APX için reaksiyon karışımı, 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7,0), 0,5 mM askorbik asit ve 0,1 mM EDTA içermiştir. Bu karışıma 0,1 ml ekstrakt ve 0,1 ml %0,1 H_2O_2 eklenmiş ve reaksiyon 60 dakika boyunca devam ettirilmiştir. Aktivite, askorbik asit standart eğrisi ile karşılaştırılmıştır (Yılmaz ve Kulaz, 2019). Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, nitroblue tetrazolyumun (NBT) fotokimyasal indirgenmesinin inhibisyonu ölçülerek belirlenmiştir (Beuchamp ve Fridovich, 1971). 200 mg'lık bir örnek, ekstraksiyon tamponu (0,1 M sodyum fosfat ve 0,5 mM sodyum EDTA) ile homojenize edilmiş ve karışım 15.000 RPM'de santrifüjlenmiştir. Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü için, süpernatantın 0,1 ml'si, metiyonin, NBT, EDTA, sodyum fosfat tamponu, sodyum karbonat ve riboflavin içeren bir reaksiyon karışımına eklenmiştir. Reaksiyon, karışımın $75 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (40 W) ışığa 15 dakika maruz bırakılması ile başlatılmış ve absorbans 560 nm'de okunmuştur.

Katalaz (CAT) aktivitesi, %0,036 hidrojen peroksit ve 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7) içeren bir reaksiyon karışımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu çözeltiden 3 ml kuvars küvete yerleştirilmiş ve SOD ekstraksiyonundan elde edilen süpernatantın 100 µl'si eklenmiştir. Absorbans 240 nm'de 0 ve 60 saniye sonrasında kaydedilmiştir (Beers ve Sizer, 1952).

2.13 Malondialdehit (MDA)

Lipit peroksidasyon seviyeleri, lipit peroksidasyonunun bir ana göstergesi olan malondialdehit (MDA) içeriği ölçülerek belirlenmiştir. 500 mg bitki örneği,

%0,1'lik trikloroasetik asit (TCA) içeren 10 ml çözelti içinde homojenize edilmiş ve homojenat 15.000 RPM'de santrifüjlenmiştir. Süpernatant'tan 1 ml alınarak, %20 TCA ve %0,5 tiyobarbitürik asit içeren 4 ml'lik reaksiyon çözeltisi ile karıştırılmıştır. Numuneler 30 dakika boyunca 95°C'de inkübe edilmiş ve ardından hızlı bir şekilde soğutulmuştur. Absorbans 532 ve 600 nm'de ölçülmüştür (Sairam ve Saxena, 2000).

2.14 Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, KI ile reaksiyona girdikten sonra spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Alexieva vd., 2001). 500 mg yaprak örneği 2,5 mL %0,1 trikloroasetik asit (TCA) ile homojene edilmiştir. Homojenat 12.000 RPM'de 15 dakika boyunca santrifüjlenmiş ve 0,5 ml süpernatant kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı, 0,5 ml yaprak ekstraktı süpernatantı, 0,5 ml 100 mM K-fosfat tamponu (pH: 7) ve 2 ml reaktif (1 M KI) içermektedir. Reaksiyon, karanlıkta 1 saat boyunca bekletilmiş ve örneklerin absorbansı 390 nm'de ölçülmüştür. Hidrojen peroksit miktarı, bilinen H₂O₂ konsantrasyonları (100µM'dan seri sulandırılarak) ile hazırlanan standart bir eğri kullanılarak hesaplanmıştır.

2.15 Klorofil ve Karotenoid İçerikleri

Toplam klorofil ve karotenoid içeriği ile klorofil a ve b, Arnon'un yöntemiyle (Arnon, 1949) belirlenmiştir. Klorofil analizi için, 0,1 g yaprak dokusu %80 asetonda homojenize edilmiş ve absorbans 663, 645 ve 470 nm'de bir UV-görünür spektrofotometre ile ölçülmüştür. Karotenoid analizi için, 100 mg yaprak dokusu %80 (v/v) asetonda homojenize edilmiş ve filtre kağıdından süzölmüştür. Süzölmüş solüsyonun absorbansı 470 nm'de ölçülerek karotenoid içeriği belirlenmiştir. Karotenoid, klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil konsantrasyonları, mg/g taze ağırlık cinsinden şu formüllerle ifade edilmiştir:

$$\text{Karotenoid (mg/g)} = [(1000 \times A_{470}) - (2,27 \times \text{Chla}) - (81,4 \times \text{Chlb})] / 227 \times V/g$$

$$\text{Klorofil a (mg/g T.A.)} = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times V / 1000 \times g$$

$$\text{Klorofil b (mg/g T.A.)} = (22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times V / 1000 \times g$$

$$\text{Toplam klorofil (mg/g T.A.)} = (20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}) \times V / 1000 \times g$$

Burada V, ekstrakt hacmini, g ise örnek ağırlığını temsil etmektedir. Chla klorofil a'yı, Chlb klorofil b'yi ve A, belirtilen dalga boylarındaki absorbansı ifade etmektedir.

2.16 İstatistiksel Analizler

Araştırma, her bir muamele için üç tekerrürlü olacak şekilde tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre yürütülmüştür. Sulama rejimi ve nanopartikül uygulamalarının araştırma parametreleri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla iki yönlü varyans analizi (Two-Way ANOVA) uygulanmıştır. Faktörler arası etkileşimler de analiz edilmiştir. Anlamlı farklılık gösteren parametrelerde ortalamalar arasındaki farklar, Tukey HSD testi ile belirlenmiştir. Tüm istatistiksel analizler, JMP Pro 17 yazılımı kullanılarak ve %5 ile daha anlamlı düzeyler dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.



3. BULGULAR

3.1 Bitki Boyu

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin boy uzunluğuna etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.1’de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre hem sulama rejimlerinin hem de nanopartikül uygulamalarının bitki boyu üzerinde istatistiksel olarak oldukça anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Varyans analizine göre, sulama rejimi faktörü en etkili değişken olarak öne çıkmıştır. Nanopartikül uygulamaları da bitki boyunu önemli ölçüde etkilemiştir ($p<0,001$). Ancak, sulama rejimi ile nanopartikül uygulamaları arasındaki etkileşim (SxNP) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olup, nanopartikül etkilerinin sulama düzeylerinden bağımsız gerçekleştiği anlaşılmaktadır.

Tablo 3.1. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin bitki boyuna etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	325,61	369,48***
Nanopartikül uygulaması	3	36,42	41,32***
SxNP	3	0,31	0,35
Hata	16	0,88	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının bitki boyuna etkisine ait ortalama değerler ve istatistiksel gruplar Tablo 3.2’de verilmiştir. Ortalama değerlere göre, %100 sulama koşullarında yetiştirilen bitkilerin boy uzunluğu %50 sulamaya kıyasla daha yüksek bulunmuş ve sırasıyla 32,25 cm ve 24,88 cm olarak ölçülmüştür. NP uygulamaları açısından değerlendirildiğinde, Zn+Fe NP (30,28 cm), Fe NP (29,95 cm) ve Zn NP (29,08 cm) uygulamaları, kontrol grubuna (24,95 cm) göre daha uzun bitki boyu sağlamıştır. İstatistiksel gruptandırmaya göre, tüm nanopartikül uygulamaları kontrol grubundan anlamlı şekilde ayrılmıştır. Ancak Zn+Fe NP uygulaması, Fe NP ve Zn NP uygulamalarıyla istatistiksel olarak aynı

grupta yer almış ve bu nedenle bu üç uygulama arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 3.2. Uygulamaların fesleğenin bitki boyuna (cm) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	21,17	25,53	26,00	26,83	24,88 B
%100	28,73	32,63	33,90	33,73	32,25 A
Ortalama	24,95 B	29,08 A	29,95 A	30,28 A	28,57

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.2 Yaprak Sayısı

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altındaki fesleğen bitkisinin yaprak sayısına etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.3'te sunulmuştur. Elde edilen bulgulara göre hem sulama rejimlerinin hem de nanopartikül uygulamalarının yaprak sayısı üzerinde istatistiksel olarak yüksek düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Ayrıca sulama ve nanopartikül uygulamaları arasındaki etkileşim de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve uygulamaların birlikte değerlendirilmesiyle yaprak sayısında farklılıklar oluştuğu ortaya konmuştur ($p < 0,001$).

Tablo 3.3. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin yaprak sayısına etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	1536,00	341,33***
Nanopartikül uygulaması	3	230,50	51,22***
SxNP	3	49,44	10,99***
Hata	16	4,50	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Fesleğen bitkisinin yaprak sayısına ait ortalama değerler ve istatistiksel gruplar Tablo 3.4'te sunulmuştur. %100 sulama koşullarında yetiştirilen bitkilerin yaprak sayıları, %50 sulama koşullarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Tam sulama altında uygulanan Zn+Fe NP kombinasyonu ile en yüksek yaprak sayısı (74,33 adet bitki⁻¹) elde edilmiş ve bu değer tüm diğer uygulamalardan istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklılık göstermiştir. En düşük yaprak sayısı ise yarım sulama altında kalan kontrol grubunda (40,33 adet bitki⁻¹) gözlemlenmiş ve bu değer, tüm diğer uygulamalardan istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha düşük bulunmuştur. Zn+Fe NP uygulaması (63,50 adet bitki⁻¹) en yüksek yaprak sayısını sağlamış ve istatistiksel olarak Fe NP (59,83 adet bitki⁻¹) ile Zn NP (56,00 adet bitki⁻¹) uygulamalarından anlamlı biçimde daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu (49,00 adet bitki⁻¹) ise diğer tüm nanopartikül uygulamalarına göre anlamlı düzeyde daha düşük yaprak sayısı elde etmiştir.

Tablo 3.4. Uygulamaların fesleğenin yaprak sayısına (adet bitki⁻¹) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	40,33 e	52,00 d	51,33 d	52,67 d	49,08 B
%100	57,67 c	60,00 c	68,33 b	74,33 a	65,08 A
Ortalama	49,00 D	56,00 C	59,83 B	63,50 A	57,08

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.3 Bitki Ağırlığı

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin taze ağırlığına etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.5'te verilmiştir. Fesleğen bitkisinin taze ağırlığı üzerine yapılan istatistiksel analizde hem sulama rejiminin hem de nanopartikül uygulamalarının etkili olduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Buna karşılık, sulama ile nanopartikül uygulamaları arasındaki etkileşim anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 3.5. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin bitki ağırlığına etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	257,55	1956,11***
Nanopartikül uygulaması	3	2,38	18,05***
SxNP	3	0,37	2,78
Hata	16	0,13	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının fesleğen bitkisinin taze ağırlığına etkisine ilişkin ortalama değerler ve istatistiksel gruplar Tablo 3.6’da verilmiştir. %100 sulama koşullarında yetiştirilen bitkilerin taze ağırlıkları, %50 sulama koşullarına göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha yüksek bulunmuştur. En yüksek ortalama taze ağırlık değeri, tam sulama altında uygulanan Zn NP (14,04 g) ile elde edilmiştir. Bunu Zn+Fe NP (13,52 g) ve Fe NP (13,17 g) uygulamaları takip etmiştir. Yarım sulama koşullarında ise Fe NP uygulaması (7,14 g) diğer uygulamalara göre daha yüksek bir ortalama sağlamış, kontrol grubu ise 5,82 g ile en düşük değeri göstermiştir. NP uygulama ortalamaları değerlendirildiğinde, Zn NP (10,43 g), Zn+Fe NP (10,16 g) ve Fe NP (10,16 g) uygulamaları istatistiksel olarak aynı grupta yer almış; bu üç uygulama kontrol grubundan (9,05 g) anlamlı biçimde daha yüksek taze ağırlık sağlamıştır.

Tablo 3.6. Uygulamaların fesleğenin bitki ağırlığına (g) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	5,82	6,82	7,14	7,02	6,70 B
%100	12,27	14,04	13,17	13,52	13,25 A
Ortalama	9,05 B	10,43 A	10,15 A	10,27 A	9,98

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.4 Yaprak Ağırlığı

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin yaprak ağırlığına etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.7’de verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda hem sulama rejimlerinin hem de nanopartikül uygulamalarının yaprak ağırlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Ayrıca sulama ve nanopartikül uygulamaları arasındaki etkileşim de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

Tablo 3.7. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin yaprak ağırlığına etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	145,04	1816,71 ^{***}
Nanopartikül uygulaması	3	1,67	20,91 ^{***}
SxNP	3	0,45	5,68 ^{**}
Hata	16	0,08	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının fesleğen bitkisinin yaprak ağırlığına etkisine ilişkin ortalama değerler ve istatistiksel gruplar Tablo 3.8’de verilmiştir. %100 sulama altında yetiştirilen bitkilerin, %50 sulama koşullarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek yaprak ağırlığına sahip olduğu belirlenmiştir. En yüksek ortalama değer %100 sulama altında Zn+Fe NP uygulamasında (10,17 g) kaydedilmiş; bunu aynı istatistiki grupta yer alan Zn NP (10,02 g) uygulaması takip etmiştir. En düşük yaprak ağırlığı ise %50 sulama altında kontrol grubunda (4,03 g) gözlemlenmiştir. NP uygulama ortalamaları değerlendirildiğinde, Zn+Fe NP (7,51 g), Zn NP (7,30 g) ve Fe NP (7,08 g) uygulamaları kontrol grubuna (6,30 g) göre anlamlı şekilde daha yüksek değerler sağlamıştır.

Tablo 3.8. Uygulamaların fesleğenin yaprak ağırlığına (g) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	4,03 e	4,57 d	4,90 d	4,85 d	4,59 B
%100	8,57 c	10,02 a	9,25 b	10,17 a	9,50 A
Ortalama	6,30 C	7,30 AB	7,08 B	7,51 A	7,05

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.5 Toplam Fenol

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin toplam fenol içeriğine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.9’da verilmiştir. Yapılan varyans analizine göre, fesleğen bitkisinin toplam fenol içeriği üzerinde sulama düzeyinin anlamlı bir etkisi olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Nanopartikül uygulamaları da istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturmuştur ($p<0,01$). Ayrıca sulama rejimi ile nanopartikül uygulamaları arasındaki etkileşim yüksek düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

Tablo 3.9. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin toplam fenol içeriğine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	410,65	91,91 ^{***}
Nanopartikül uygulaması	3	36,21	8,10 ^{**}
SxNP	3	173,16	38,76 ^{***}
Hata	16	4,47	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının fesleğen bitkisinin toplam fenol içeriğine etkisine ilişkin ortalama değerler ve oluşan istatistiki gruplar Tablo 3.10’da sunulmuştur. Yarım sulama koşullarında uygulanan Zn+Fe NP uygulaması 50,08 mg ml GAE⁻¹ ile tüm uygulamalar arasında en yüksek toplam fenol içeriğini sağlamış ve istatistiksel olarak diğer tüm uygulamalardan anlamlı düzeyde farklı

bulunmuştur. Aynı sulama düzeyinde Zn NP (43,68 mg ml GAE⁻¹), Fe NP (37,13 mg ml GAE⁻¹) ve kontrol grubu (32,74 mg ml GAE⁻¹) ise daha düşük gruplarda yer almıştır. Tam sulama koşullarında ise kontrol grubu 35,18 mg ml GAE⁻¹ ile en yüksek değere ulaşmış, ancak bu değer Zn NP (34,07 mg ml GAE⁻¹) ve Fe NP (33,80 mg ml GAE⁻¹) uygulamalarıyla istatistiksel olarak aynı grupta bulunmuştur. Zn+Fe NP uygulaması bu gruptan daha düşük bir değere sahip olmuş (27,49 mg ml GAE⁻¹) ve istatistiksel olarak anlamlı şekilde ayrılmıştır. NP uygulama ortalamaları değerlendirildiğinde, Zn NP (38,88 mg ml GAE⁻¹) ve Zn+Fe NP (38,78 mg ml GAE⁻¹) uygulamaları istatistiksel olarak aynı grupta yer almış, kontrol grubu (33,96 mg ml GAE⁻¹) ve Fe NP (35,47 mg ml GAE⁻¹) uygulamaları bu gruptan anlamlı biçimde ayrılmıştır.

Tablo 3.10. Uygulamaların fesleğenin toplam fenol içeriğine (mg ml GAE⁻¹) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	32,74 d	43,68 b	37,13 c	50,08 a	40,91 A
%100	35,18 cd	34,07 cd	33,80 cd	27,49 e	32,64 B
Ortalama	33,96 B	38,88 A	35,47 B	38,78 A	36,77

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.6 Toplam Flavonoid

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin toplam flavonoid değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.11’de sunulmuştur. Sulama rejimi, nanopartikül uygulamaları ve bu iki faktörün etkileşimi toplam flavonoid düzeyi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturmuştur ($p < 0,001$).

Tablo 3.11. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin toplam flavonoid değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	5622,69	351,14***
Nanopartikül uygulaması	3	803,41	50,17***
SxNP	3	151,18	9,44***
Hata	16	16,01	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının fesleğen bitkisinin toplam flavonoid değerlerine etkisine ait ortalama değerler ve istatistiki gruplar Tablo 3.12’de sunulmuştur. %50 sulama koşullarında en yüksek toplam flavonoid değeri 119,97 mM ile Zn+Fe NP uygulamasında kaydedilmiş olup, bu değer diğer tüm uygulamalardan istatistiksel olarak anlamlı biçimde ayrılmıştır. Aynı sulama düzeyinde Fe NP (94,48 mM) ve Zn NP (95,99 mM) uygulamaları istatistiksel olarak aynı grupta yer almış, kontrol grubu (80,84 mM) ise bu uygulamalardan anlamlı biçimde düşük bulunmuştur. %100 sulama koşullarında toplam flavonoid düzeyleri genel olarak daha düşük gerçekleşmiş; Zn+Fe NP uygulaması 78,00 mM ile en yüksek değeri sağlamış, bu değer diğer tüm %100 sulama uygulamalarından istatistiksel olarak farklı bir grupta yer almıştır. Fe NP (62,09 mM), Zn NP (65,47 mM) ve kontrol grubu (63,27 mM) birbirine benzer düzeylerde bulunmuş ve aynı istatistiksel grupta yer almıştır. NP uygulama ortalamaları dikkate alındığında Zn+Fe NP uygulaması 98,98 mM ile en yüksek değeri sağlamış ve diğer tüm uygulamalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ayrılmıştır. Zn NP (80,73 mM) ve Fe NP (78,29 mM) aynı istatistiksel grupta yer alırken, kontrol grubu (72,06 mM) bu gruptan daha düşük bir düzeyde bulunmuştur.

Tablo 3.12. Uygulamaların fesleğenin toplam flavonoid değerlerine (mM QUE Eq) ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	80,84 c	95,99 b	94,48 b	119,97 a	97,82 A
%100	63,27 d	65,47 d	62,09 d	78,00 c	67,21 B
Ortalama	72,06 C	80,73 B	78,29 B	98,98 A	82,51

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.7 CUPRAC

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin CUPRAC değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.13'te verilmiştir. Yapılan varyans analizine göre hem sulama rejiminin hem de nanopartikül uygulamalarının fesleğen bitkisinin CUPRAC değeri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Ayrıca, sulama rejimi ile nanopartikül uygulamaları arasındaki etkileşim de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

Tablo 3.13. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin CUPRAC değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	1379,06	248,19***
Nanopartikül uygulaması	3	1071,00	192,75***
SxNP	3	296,44	53,35***
Hata	16	5,56	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının CUPRAC değerlerine etkisine ait ortalama değerler ve istatistiksel gruplar Tablo 3.14'te sunulmuştur. CUPRAC düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, %50 sulama koşullarında Zn NP (68,34 mM) ve Fe NP (68,71 mM) uygulamaları, tüm diğer uygulamalardan istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek CUPRAC değerleri sağlamıştır. Aynı koşullarda

Zn+Fe NP uygulaması da 53,14 mM ile orta düzeyde bir etki göstermiştir. Tam sulama koşullarında, en yüksek CUPRAC değeri Zn+Fe NP (56,78 mM) ile elde edilmiş, bunu sırasıyla Zn NP (49,07 mM) ve Fe NP (35,99 mM) uygulamaları takip etmiştir. Kontrol grubunun ortalama değeri 28,93 mM olarak belirlenmiş ve bu değer istatistiksel olarak tüm nanopartikül uygulamalarından anlamlı biçimde düşük bulunmuştur. NP ortalamalarına göre Zn NP (58,71 mM), Zn+Fe NP (54,96 mM) ve Fe NP (52,35 mM) uygulamaları sırasıyla farklı istatistiki gruplarda yer alırken, kontrol grubu bu uygulamalardan anlamlı şekilde ayrılmıştır.

Tablo 3.14. Uygulamaların fesleğenin CUPRAC değerlerine (mM AsA Eq) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	29,07 f	68,34 a	68,71 a	53,14 c	54,82 A
%100	28,79 f	49,07 d	35,99 e	56,78 b	42,66 B
Ortalama	28,93 D	58,71 A	52,35 C	54,96 B	48,74

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.8 FRAP

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin FRAP değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.15'te verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda hem sulama rejiminin hem de nanopartikül uygulamalarının fesleğenin FRAP düzeyleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Sulama ile nanopartikül uygulamaları arasındaki etkileşim etkisi ise anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.15. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin FRAP değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	47857,24	262,00***
Nanopartikül uygulaması	3	7855,65	43,01***
SxNP	3	432,24	2,37
Hata	16	182,70	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının fesleğen bitkisinin FRAP değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve istatistiki gruplar Tablo 3.16’da verilmiştir. Zn NP uygulaması en yüksek FRAP değerini sağlamış, bunu sırasıyla Fe NP ve Zn+Fe NP uygulamaları takip etmiştir. Ancak bu üç uygulama istatistiki olarak benzer grupta yer almış ve kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek FRAP değerleri elde edilmiştir. Sulama düzeylerine göre yapılan değerlendirmede, %50 sulama koşullarında elde edilen ortalama FRAP değeri (276,10 mM), %100 sulamaya göre (186,79 mM) istatistiki olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 3.16. Uygulamaların fesleğenin FRAP değerlerine (mM AsA Eq) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	211,57	312,47	294,57	285,80	276,10 A
%100	147,07	210,43	201,89	187,79	186,79 B
Ortalama	179,32 C	261,45 A	248,23 AB	236,80 B	231,45

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.9 DPPH

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin DPPH değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.17’de verilmiştir. DPPH radikal süpürme aktivitesi üzerine yapılan varyans

analizinde sulama rejiminin istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturduğu ($p<0,001$), nanopartikül uygulamalarının ise istatistiksel olarak düşük düzeyde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Sulama $\times$ nanopartikül etkileşimi ise yüksek düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

Tablo 3.17. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin DPPH değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	150031,80	366,74***
Nanopartikül uygulaması	3	1808,00	4,42*
SxNP	3	12915,60	31,57***
Hata	16	409,10	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$, *: $p < 0,05$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının DPPH değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve istatistiki gruplar Tablo 3.18’de verilmiştir. DPPH düzeyleri %50 sulama koşullarında %100 sulamaya kıyasla istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bu durum özellikle Zn NP (695,21 mM) ve Zn+Fe NP (658,16 mM) uygulamalarıyla belirginleşmiştir. Kontrol, Zn NP ve Fe NP uygulamaları ortalama DPPH düzeyleri açısından aynı grupta yer alarak Zn+Fe NP uygulamasından anlamlı düzeyde yüksek çıkmıştır. Zn NP uygulaması yarım sulama altında en yüksek değeri (695,21 mM) vererek tüm uygulamalar arasında en yüksek istatistiki grupta yer almıştır. Diğer taraftan Zn+Fe NP uygulaması ise tam sulama altında en düşük değeri (415,65 mM) vererek tüm uygulamalar arasında en düşük istatistiki grupta yer almıştır.

Tablo 3.18. Uygulamaların fesleğenin DPPH değerlerine (mM AsA Eq) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	594,00 c	695,21 a	610,00 c	658,16 b	639,34 A
%100	531,68 d	462,57 e	514,95 d	415,65 f	481,21 B
Ortalama	562,84 A	578,89 A	562,48 A	536,91 B	560,28

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.10 Katalaz (CAT)

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin katalaz değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.19’da verilmiştir. Katalaz enzim aktivitesine ilişkin varyans analizinde, sulama düzeyi, nanopartikül uygulamaları ve etkileşim etkisinin her birinin istatistiksel olarak son derece anlamlı düzeyde farklılık oluşturduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$).

Tablo 3.19. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin katalaz değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	1670,88	1677,78***
Nanopartikül uygulaması	3	127,86	128,36***
SxNP	3	216,21	217,06***
Hata	16	1,00	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin katalaz değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve oluşan istatistiki gruplar Tablo 3.20’de sunulmuştur. Ortalama değerlere göre, Zn+Fe NP uygulaması ($19,59 \text{ U ml}^{-1}$) en yüksek katalaz aktivitesini sağlamıştır ve istatistiksel olarak diğer uygulamalardan üstün grupta yer almıştır. Bu uygulamayı Zn NP ($17,09 \text{ U ml}^{-1}$) ve Fe NP ($13,71 \text{ U ml}^{-1}$) uygulamaları izlemiş, kontrol grubu ($8,93$

U ml⁻¹) ise bu üç uygulamadan anlamlı düzeyde daha düşük bir seviyede kalmıştır. Sulama seviyeleri karşılaştırıldığında, %50 sulama koşullarında elde edilen ortalama değerler (23,17 U ml⁻¹), %100 sulama koşullarına (6,48 U ml⁻¹) kıyasla anlamlı biçimde daha yüksek gerçekleşmiştir. %50 sulama koşullarında Zn+Fe NP uygulaması 35,67 U ml⁻¹ ile tüm uygulamalar arasında en yüksek istatistiki grupta bulunurken, aynı uygulama %100 sulama altında 3,52 U ml⁻¹ ile en düşük istatistiki grupta yer almıştır.

Tablo 3.20. Uygulamaların fesleğenin katalaz (U ml⁻¹) değerlerine etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	11,72 d	27,10 b	18,20 c	35,67 a	23,17 A
%100	6,13 f	7,08 f	9,21 e	3,52 g	6,48 B
Ortalama	8,93 D	17,09 B	13,71 C	19,59 A	14,83

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.11 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin SOD değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.21’de sunulmuştur. Varyans analizine göre, nanopartikül uygulamalarının SOD enzim aktivitesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Sulama rejimi faktörü de anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Ancak sulama $\times$ nanopartikül etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 3.21. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin SOD değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	44,70	16,57***
Nanopartikül uygulaması	3	69,27	25,68***
SxNP	3	3,02	1,12
Hata	16	2,70	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin SOD değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve istatistiki gruplar Tablo 3.22’de verilmiştir. Ortalama değerlere göre Fe NP uygulaması $38,79 \text{ U g}^{-1}$ ile en yüksek SOD aktivitesini sağlamış ve Zn NP ile istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. Zn+Fe NP uygulaması ise $36,77 \text{ U g}^{-1}$ ile bu iki uygulamadan biraz daha düşük bir düzey göstermiş ve Fe NP uygulamasından farklı bir istatistiki grupta bulunmuştur. Kontrol grubunda kaydedilen $31,07 \text{ U g}^{-1}$ ’lik ortalama değer, diğer uygulamalara kıyasla istatistiksel olarak daha düşük bir grupta yer almıştır. Sulama düzeyleri karşılaştırıldığında ise %50 sulama koşullarında elde edilen ortalama ($37,38 \text{ U g}^{-1}$), %100 sulamaya ait ortalamaya ($34,65 \text{ U g}^{-1}$) göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek gerçekleşmiştir.

Tablo 3.22. Uygulamaların fesleğenin SOD değerlerine (U g^{-1}) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	32,35	38,17	41,17	37,83	37,38 A
%100	29,80	36,67	35,74	35,72	34,65 B
Ortalama	31,07 C	37,42 AB	38,79 A	36,77 B	35,93

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.12 Askorbat Peroksidaz (APX)

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin APX değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.23'te verilmiştir. Varyans analizine göre, APX enzimi üzerine hem sulama düzeyinin hem de nanopartikül uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Ayrıca, sulama $\times$ nanopartikül etkileşimi de anlamlı düzeyde oldukça etkili olmuştur ($p<0,001$).

Tablo 3.23. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin APX değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	5339,76	2974,34***
Nanopartikül uygulaması	3	808,51	450,55***
SxNP	3	1201,39	669,19***
Hata	16	1,80	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin APX değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve istatistiksel gruplar Tablo 3.24'te sunulmuştur. Ortalama değerlere göre, Zn+Fe NP uygulaması $79,40 \mu\text{mol mg}^{-1}$ ile diğer tüm uygulamalardan anlamlı biçimde yüksek bulunmuş ve en üstün istatistiksel grupta yer almıştır. Bu uygulamayı Zn NP ($55,80 \mu\text{mol mg}^{-1}$), Fe NP ($56,07 \mu\text{mol mg}^{-1}$) ve kontrol ($56,70 \mu\text{mol mg}^{-1}$) uygulamaları takip etmiş, bu üç uygulama birbirine yakın ortalamalarla aynı istatistiksel grupta yer almıştır. Sulama düzeyleri kıyaslandığında, %50 sulama koşulunda elde edilen ortalama APX değeri ($76,91 \mu\text{mol mg}^{-1}$), %100 sulamaya göre ($47,08 \mu\text{mol mg}^{-1}$) anlamlı düzeyde yüksek gerçekleşmiştir. Ayrıca, %50 sulama altında Zn+Fe NP uygulaması $114,92 \mu\text{mol mg}^{-1}$ ile tüm gruplar arasında en yüksek istatistiki grupta yer almış; aynı uygulama %100 sulama altında $43,87 \mu\text{mol mg}^{-1}$ ile istatistiksel açıdan en düşük gruba gerilemiştir.

Tablo 3.24. Uygulamaların fesleğenin APX değerlerine ($\mu\text{mol mg}^{-1}$) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	61,71 c	68,56 b	62,44 c	114,92 a	76,91 A
%100	51,70 d	43,05 e	49,70 d	43,87 e	47,08 B
Ortalama	56,70 B	55,80 B	56,07 B	79,40 A	61,99

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.13 Malondialdehit (MDA)

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin MDA değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.25'te verilmiştir. MDA düzeylerine ait varyans analizi sonuçlarına göre, sulama rejimi ve nanopartikül uygulamaları MDA birikimi üzerinde istatistiksel olarak $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı farklılık oluşturmuştur. Ayrıca sulama $\times$ nanopartikül etkileşimi de $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Tablo 3.25. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin MDA değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	426,18	477,19***
Nanopartikül uygulaması	3	50,15	56,15***
SxNP	3	6,55	7,33**
Hata	16	0,89	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının MDA değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler Tablo 3.26'da sunulmuştur. NP ortalama değerlerine göre, Zn NP ($8,52 \text{ nmol g}^{-1}$), Fe NP ($8,61 \text{ nmol g}^{-1}$) ve Zn+Fe NP ($7,59 \text{ nmol g}^{-1}$) uygulamaları benzer seviyelerde bulunmuş ve kontrol grubuna ($13,95 \text{ nmol g}^{-1}$) göre anlamlı düzeyde daha düşük istatistiksel grupta yer almıştır. %50 sulama koşullarında tespit edilen ortalama değerler ($13,88 \text{ nmol g}^{-1}$), %100 sulama

koşullarında elde edilen değerlere ($5,45 \text{ nmol g}^{-1}$) göre belirgin şekilde daha yüksek bulunmuş, bu fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır. %50 sulama altında en yüksek MDA düzeyi kontrol grubunda ($19,04 \text{ nmol g}^{-1}$) tespit edilmiş ve bu değer istatistiksel olarak diğer tüm uygulamalardan üstün bir grupta yer almıştır. Buna karşılık, %100 sulama altında en düşük MDA değeri $3,70 \text{ nmol g}^{-1}$ ile Fe NP uygulamasında elde edilmiş ve bu değer, Zn NP ($4,46 \text{ nmol g}^{-1}$) ve Zn+Fe NP ($4,79 \text{ nmol g}^{-1}$) uygulamalarıyla birlikte en düşük istatistiki grupta değerlendirilmiştir.

Tablo 3.26. Uygulamaların fesleğenin MDA değerlerine (nmol g^{-1}) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	19,04 a	12,58 b	13,51 b	10,38 c	13,88 A
%100	8,85 c	4,46 d	3,70 d	4,79 d	5,45 B
Ortalama	13,95 A	8,52 B	8,61 B	7,59 B	9,66

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.14 Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin H_2O_2 değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.27’de verilmiştir. Varyans analizine göre, H_2O_2 birikimi üzerinde sulama rejimi, nanopartikül uygulamaları ve bu iki faktörün etkileşimi istatistiksel olarak oldukça anlamlı düzeyde farklılık oluşturmuştur ($p < 0,001$).

Tablo 3.27. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin H_2O_2 değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	2672,33	639,51***
Nanopartikül uygulaması	3	641,94	153,62***
SxNP	3	171,12	40,95***
Hata	16	4,18	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin H_2O_2 değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve oluşan istatistiki gruplar Tablo 3.28’de sunulmuştur. Ortalama değerlere göre en yüksek H_2O_2 düzeyi, %50 sulama altında uygulanan kontrol grubunda $64,66 \mu\text{mol g}^{-1}$ olarak belirlenmiş ve bu uygulama istatistiksel olarak tüm diğer uygulamalardan farklı olarak en yüksek grupta yer almıştır. En düşük H_2O_2 değeri ise %100 sulama koşullarında Zn+Fe NP uygulamasında $19,05 \mu\text{mol g}^{-1}$ olarak ölçülmüş ve bu uygulama en düşük istatistiksel grupta yer almıştır. Fe NP uygulamasını, aynı düzeydeki Zn+Fe NP uygulaması takip etmiş; bunlardan sonra Zn NP uygulaması istatistiki olarak farklı grupta yer almıştır. Her üç nanopartikül uygulaması da kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük gruplarda yer almıştır. Ayrıca, sulama düzeyleri karşılaştırıldığında, %100 sulama koşullarında elde edilen ortalama H_2O_2 değeri ($24,06 \mu\text{mol g}^{-1}$), %50 sulamaya kıyasla ($45,16 \mu\text{mol g}^{-1}$) istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha düşük bulunmuştur.

Tablo 3.28. Uygulamaların fesleğenin H_2O_2 ($\mu\text{mol g}^{-1}$) değerlerine etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	64,66 a	50,58 b	31,22 c	34,19 c	45,16 A
%100	31,68 c	23,81 d	21,68 de	19,05 e	24,06 B
Ortalama	48,17 A	37,19 B	26,45 C	26,62 C	34,90

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.15 Klorofil A

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin klorofil a değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.29’da verilmiştir. Klorofil a düzeylerine ilişkin varyans analizinde yalnızca sulama rejiminin istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Nanopartikül uygulamaları ve sulama $\times$ nanopartikül etkileşimi anlamlı fark oluşturmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.29. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin klorofil a değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	0,25	4,75*
Nanopartikül uygulaması	3	0,09	1,77
SxNP	3	0,06	1,20
Hata	16	0,05	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, *: $p < 0,05$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin klorofil a değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve oluşan istatistiki gruplar Tablo 3.30’da verilmiştir. Ortalama değerler incelendiğinde, Zn+Fe NP uygulaması $1,77 \mu\text{g g}^{-1}$ ile en yüksek klorofil a düzeyini göstermiştir. Ancak tüm uygulamalar aynı istatistiksel grupta yer aldığından aralarında anlamlı fark bulunmamıştır. Sulama düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, %50 sulama uygulamaları $1,69 \mu\text{g g}^{-1}$ değeriyle %100 sulamaya göre istatistiksel olarak daha yüksek klorofil a içeriği sağlamıştır.

Tablo 3.30. Uygulamaların fesleğenin klorofil a değerlerine ($\mu\text{g g}^{-1}$) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	1,58	1,58	1,60	2,02	1,69 A
%100	1,43	1,57	1,44	1,53	1,49 B
Ortalama	1,50	1,58	1,52	1,77	1,59

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.16 Klorofil B

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin klorofil b değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.31’de verilmiştir. Klorofil b içeriği üzerine yapılan varyans analizinde,

yalnızca nanopartikül uygulamalarının istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Sulama düzeyinin ve etkileşimin etkisi ise anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.31. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin klorofil b değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	0,002	0,87
Nanopartikül uygulaması	3	0,09	27,49***
SxNP	3	0,006	1,93
Hata	16	0,003	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin klorofil b değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve oluşan istatistiki gruplar Tablo 3.32’de verilmiştir. Ortalama değerlere göre Zn+Fe NP uygulaması $0,74 \mu\text{g g}^{-1}$ ile en yüksek klorofil b içeriğini sağlamış ve istatistiksel olarak diğer uygulamalardan anlamlı düzeyde daha yüksek bir grupta yer almıştır. Zn NP ve Fe NP uygulamaları ise benzer düzeylerde bulunmuş, kontrol grubu ise bu uygulamalardan istatistiksel olarak daha düşük bir grupta yer almıştır.

Tablo 3.32. Uygulamaların fesleğenin klorofil b değerlerine ($\mu\text{g g}^{-1}$) etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	0,40	0,64	0,61	0,77	0,61
%100	0,47	0,60	0,60	0,69	0,59
Ortalama	0,44 C	0,62 B	0,60 B	0,74 A	0,60

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.17 Klorofil A/B

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin klorofil a/b değerlerine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.33'te verilmiştir. Klorofil a/b oranı üzerine yapılan varyans analizinde hem sulama rejiminin ($p<0,05$) hem de nanopartikül uygulamalarının ($p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. Sulama $\times$ nanopartikül etkileşimi ise anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.33. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin klorofil a/b değerlerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	0,58	4,70*
Nanopartikül uygulaması	3	1,55	12,53***
SxNP	3	0,27	2,22
Hata	16	0,12	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$, *: $p < 0,05$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin klorofil a/b değerlerine etkisine ilişkin ortalama değerler ve oluşan istatistiki gruplar Tablo 3.34'te verilmiştir. Ortalama değerlere göre kontrol grubu 3,49 ile en yüksek klorofil a/b oranına ulaşmış ve diğer uygulamalardan anlamlı düzeyde farklı bir grupta yer almıştır. Zn NP, Fe NP ve Zn+Fe NP uygulamaları ise benzer düzeylerde bulunmuş ve kontrol grubundan istatistiksel olarak daha düşük oranlar vermiştir.

Tablo 3.34. Uygulamaların fesleğenin klorofil a/b değerlerine etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	3,93	2,50	2,60	2,56	2,90 A
%100	3,06	2,65	2,42	2,21	2,59 B
Ortalama	3,49 A	2,57 B	2,51 B	2,39 B	2,74

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.18 Toplam Klorofil

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin toplam klorofil içeriğine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.35'te verilmiştir. Varyans analizine göre, toplam klorofil içeriği üzerine hem sulama rejimi hem de nanopartikül uygulamaları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkili olmuştur ($p < 0,01$). Sulama $\times$ nanopartikül etkileşimi ise anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 3.35. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin toplam klorofil içeriğine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	0,69	14,52**
Nanopartikül uygulaması	3	0,48	10,01**
SxNP	3	0,09	1,80
Hata	16	0,05	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, **: $p < 0,01$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin toplam klorofil içeriğine etkisine ilişkin ortalama değerler ve oluşan istatistiki gruplar Tablo 3.36'da verilmiştir. Ortalama değerlere göre Zn NP, Fe NP ve Zn+Fe NP uygulamaları benzer seviyelerde bulunmuş ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bir grupta yer almıştır. Kontrol uygulaması ise $1,92 \mu\text{g g}^{-1}$ değeriyle diğer uygulamalara göre anlamlı düzeyde daha düşük

bulunmuştur. Ayrıca %50 sulama altında elde edilen ortalama toplam klorofil değeri, %100 sulamaya kıyasla istatistiki olarak daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 3.36. Uygulamaların fesleğenin toplam klorofil ($\mu\text{g g}^{-1}$) içeriğine etkisine ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	2,06	2,42	2,57	2,89	2,49 A
%100	1,78	2,38	2,15	2,28	2,15 B
Ortalama	1,92 B	2,40 A	2,36 A	2,58 A	2,31

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

3.19 Toplam Karotenoid

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin toplam karotenoid içeriğine etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Tablo 3.37’de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, toplam karotenoid içeriği üzerinde hem sulama rejimi hem de nanopartikül uygulamaları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkili olmuştur ($p < 0,001$). Sulama $\times$ nanopartikül etkileşimi ise anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 3.37. Farklı sulama rejimlerinin ve nanopartikül uygulamalarının fesleğenin toplam karotenoid içeriğine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sulama rejimi	1	86657,99	159,21***
Nanopartikül uygulaması	3	9924,52	18,23***
SxNP	3	1168,35	2,14
Hata	16	544,30	
Genel	23		

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, ***: $p < 0,001$

Nano çinko ve nano demir uygulamalarının kuraklık stresi altında yetişen fesleğen bitkisinin toplam karotenoid içeriğine etkisine ilişkin ortalama değerler ve oluşan istatistiki gruplar Tablo 3.38’de verilmiştir. Ortalama değerlere göre Zn+Fe

NP uygulaması 503,00 $\mu\text{g g}^{-1}$ ile en yüksek toplam karotenoid düzeyini sağlamış ve istatistiksel olarak kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek bir grupta yer almıştır. Zn NP ve Fe NP uygulamaları da kontrol grubuna kıyasla daha yüksek toplam karotenoid içeriği göstermiştir. Ayrıca, %50 sulama koşullarında elde edilen karotenoid miktarı %100 sulamaya göre anlamlı biçimde daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 3.38. Uygulamaların fesleğenin toplam karotenoid içeriğine ($\mu\text{g g}^{-1}$) ait ortalamalar ve istatistiki gruplar

S / NP	Kontrol	Zn NP	Fe NP	Zn+Fe NP	Ortalama
%50	459,44	544,49	511,41	548,04	515,85 A
%100	351,07	388,99	384,65	457,96	395,67 B
Ortalama	405,26 C	466,74 AB	448,03 B	503,00 A	455,76

S: Sulama rejimi, NP: Nanopartikül uygulaması, Zn: Çinko, Fe: Demir, Farklı harfler istatistiki farklılıkları yansıtmaktadır

4. TARTIŞMA

Bu araştırmada, farklı sulama rejimleri ve nanopartikül uygulamalarının fesleğen bitkisinin boy uzunluğu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. %100 sulama koşullarında yetiştirilen bitkiler, %50 sulama uygulamasına göre belirgin şekilde daha uzun boylanmış ve bu durum, kuraklığın bitki gelişimini sınırlandırıcı etkisini ortaya koymuştur. Nitekim su stresi, hücre bölünmesi ve genişlemesini baskılayarak bitki boyunu doğrudan azaltmaktadır (Farooq vd., 2012; Anjum vd., 2017). Bununla birlikte, Zn, Fe ve Zn+Fe nanopartikül uygulamaları, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bitki boyu değerleri sağlamıştır. En yüksek ortalama Zn+Fe NP uygulamasında gözlenmiş olmakla birlikte, bu değer istatistiksel olarak diğer nanopartikül uygulamalarından farklılık göstermemiştir. Bu durum, çinko ve demirin bitki büyümesindeki tamamlayıcı rollerine bağlanabilir. Çinko, oksin metabolizması ve hücre bölünmesi üzerinde önemli rol oynarken; demir, klorofil sentezi, elektron taşınımı ve genel fotosentetik aktiviteler için kritik bir mikroelementtir (Zhao vd., 2019; López-Millán vd., 2016). Ayrıca bu elementlerin nano formda uygulanması, yaprak yüzeyinden emilimini ve dokuya taşınmasını kolaylaştırarak biyoyararlılıklarını artırmakta; bu da bitki gelişimi üzerinde doğrudan olumlu bir etki oluşturmaktadır (Avellan vd., 2021; Rani vd., 2023). Sonuç olarak, nano çinko ve demir uygulamaları, özellikle yeterli sulama koşullarında fesleğen bitkisinin boy gelişimini desteklemiş ve bu yönüyle nano gübrelerin bitkisel büyüme parametreleri üzerindeki potansiyel katkısını ortaya koymuştur.

Farklı sulama düzeyleri ve nanopartikül uygulamalarının fesleğen bitkisinin yaprak sayısı üzerinde anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. Tam sulama (%100) koşullarında yetiştirilen bitkilerin daha fazla yaprak oluşturduğu görülmüş, bu durum suyun bitki büyümesindeki temel rolünü bir kez daha ortaya koymuştur. Kuraklık koşulları, yaprak oluşumunu sınırlandırarak bitkilerin su kaybını azaltmak amacıyla morfolojik adaptasyonlar geliştirmesine neden olmaktadır (Bandurska, 2022; Zahedi vd., 2025). Yaprak sayısı bakımından en yüksek değer, tam sulama altında uygulanan Zn+Fe NP karışımı ile elde edilmiştir ve bu uygulamayı Fe NP ve Zn NP takip etmiştir. Çinko ve demir elementleri, bitkide temel metabolik süreçlerde görev alan kritik mikro besinlerdir. Çinko, protein sentezi, hormonal denge ve enzim aktivitesi üzerinde etkiliyken; demir, klorofil sentezi, fotosentez ve

solunumda görev alan enzimlerin kofaktörü olarak işlev görmektedir (Kolbert vd., 2022; Asad vd., 2024). Her iki elementin birlikte uygulanması, sinerjik bir etki oluşturarak bitkisel gelişimi daha güçlü biçimde desteklemiş olabilir. Nitekim Vaghar vd. (2021), nano çinko ve demir uygulamalarının yaprak gelişimini teşvik ettiğini ve bitki biyokütlesini artırdığını bildirmiştir. Bu bulgular, nanopartikül uygulamalarının yaprak sayısını artırarak fotosentetik yüzey alanını genişletebileceğini ve böylece potansiyel verimi olumlu yönde etkileyebileceğini göstermektedir.

Çalışmada tam sulama koşullarında elde edilen taze bitki ağırlıkları, yarım sulama uygulamasına kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, kuraklık stresinin biyokütle üretimini sınırladığına işaret etmektedir. Su stresi, fotosentez oranını düşürerek karbon asimilasyonunu azaltmakta ve bu durum bitki dokularının gelişimini doğrudan yavaşlatmaktadır (Zhao vd., 2022; Zou vd., 2022). Bitki ağırlığı bakımından en yüksek ortalamalar, tam sulama koşullarında uygulanan Zn NP, Zn+Fe NP ve Fe NP uygulamalarında gözlenmiştir. Genel ortalamalar açısından da bu üç uygulama, kontrol grubuna göre daha yüksek taze ağırlık değerleri sağlamış ve anlamlı farklılık oluşturmuştur. Özellikle çinko, protein ve karbonhidrat metabolizmasında görev alan birçok enzimin aktivasyonunu destekleyerek biyokütle artışına katkıda bulunmaktadır (Suganya vd., 2020). Demir ise fotosentez ve solunum gibi enerji üretim yollarında görev yapan enzimlerin kofaktörü olması nedeniyle bitki gelişimi için vazgeçilmezdir (Rout ve Sahoo, 2015). Elde edilen bulgular, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin fesleğen bitkisinde biyokütle üretimini artırıcı etkiler oluşturduğunu ve bu etkinin sulama düzeyinden bağımsız şekilde sürdürülebildiğini göstermektedir.

Yaprak ağırlığı, çalışmada hem sulama düzeyinden hem de nanopartikül uygulamalarından önemli ölçüde etkilenmiştir. Tam sulama (%100) koşullarında yetiştirilen fesleğen bitkileri, yarım sulama (%50) uygulamasına kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek yaprak ağırlığına sahip olmuştur. Bu durum, kuraklık stresinin yaprak gelişimini kısıtlayıcı etkisini desteklemekte ve fotosentetik doku gelişiminin yeterli su teminiyle doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir (Anjum vd., 2017; Moshelion vd., 2015). Yaprak ağırlığı bakımından Zn NP, Zn+Fe NP ve Fe NP uygulamaları istatistiksel olarak benzer değerlere ulaşmış ve kontrol grubuna kıyasla daha yüksek yaprak ağırlıkları sağlamıştır. Bu bulgu, her üç uygulamanın da yaprak gelişimini desteklediğini ortaya koymaktadır. Zn, stomatal açılma ve

protein sentezinde rol oynayan birçok enzimin kofaktörü olarak yaprak dokusunun gelişimini desteklerken; Fe, klorofil oluşumunda ve fotosentezde görevli enzimlerin aktivitesinde etkili olmaktadır (Faizan vd., 2021; dos Santos vd., 2021). Yaprak ağırlığı sonuçları, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin özellikle su kısıtlı olmayan koşullarda yaprak biyokütlesini artırmada etkili olduğunu ve bu etkinin kontrollü üretim sistemlerinde verim yönünden önemli bir avantaj sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

Toplam fenol içeriği üzerine yapılan değerlendirmelerde hem sulama düzeyinin hem de nanopartikül uygulamalarının istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. %50 sulama koşullarında toplam fenol düzeylerinin %100 sulamaya kıyasla daha yüksek gerçekleşmesi, su stresinin sekonder metabolitlerin üretimini uyarıcı yönde etkilediğini göstermektedir. Bitkiler, kuraklık gibi abiyotik stres koşullarına karşı savunma mekanizması olarak fenolik bileşik sentezini artırabilmekte; bu bileşikler, antioksidan özellikleri sayesinde serbest radikallerin etkisini azaltmakta ve oksidatif hasarı sınırlandırmaktadır (Sakihama vd., 2002; Albuquerque vd., 2021). Zn+Fe NP uygulaması, özellikle yarım sulama koşullarında en yüksek toplam fenol içeriğine ulaşmıştır. Literatürde Zn ve Fe'nin fenol sentezinde görevli bazı enzimlerin yapısal ya da işlevsel bileşenleri olduğu bildirilmektedir (Kejik vd., 2021; Mahato vd., 2021). Ayrıca nanopartikül formunda sunulan bu elementler, hücre içi alım kolaylığı nedeniyle daha etkili bir biyolojik yanıtı neden olabilmektedir. Bu bağlamda, Zn+Fe nanopartikül uygulamasının kuraklık koşullarında toplam fenol içeriğini artırıcı etkisi, bitkinin stres savunma kapasitesini destekleyici önemli bir bulgu olarak değerlendirilmektedir.

Çalışmada hem sulama düzeylerinin hem de nanopartikül uygulamalarının toplam flavonoid içeriği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. %50 sulama koşullarında elde edilen toplam flavonoid düzeylerinin %100 sulamaya kıyasla daha yüksek olması, su stresinin sekonder metabolit üretimini uyarıcı yönde etkilediğini göstermektedir. Flavonoidler, bitkilerde oksidatif stresi baskılayan güçlü antioksidan bileşikler olup genellikle çevresel stres koşullarına karşı adaptif bir yanıt olarak birikmektedir (Alsawaf vd., 2022). Ortalama değerlere göre, Zn+Fe NP uygulaması en yüksek toplam flavonoid içeriğini sağlamış ve diğer uygulamalardan istatistiksel olarak anlamlı biçimde ayrılmıştır. Bu sonuç, Zn ve Fe nanopartiküllerinin fenolik metabolizmayı sinerjik

olarak uyarabileceğini göstermektedir. Zn, flavonoid sentezinde görevli bazı enzimlerin yapısal bileşeni olarak işlev görürken (Ferrer vd., 2008), Fe, hidroksilasyon ve redoks reaksiyonlarında rol oynayan önemli bir kofaktör olarak bilinmektedir (Huang vd., 2013). Nanopartikül formundaki bu elementlerin hücre içi taşınım kolaylığı ve biyoyararlanım düzeyinin yüksek olması, metabolik tepkilerin etkinliğini artırabilmektedir. Sonuç olarak, Zn+Fe NP uygulamasının kuraklık koşullarında toplam flavonoid içeriğini artırıcı etkisi, fesleğen bitkisinin antioksidatif savunma sisteminin güçlenmesine katkı sağladığını göstermektedir.

Araştırma sonuçları, fesleğen bitkisinin CUPRAC değeri üzerine hem sulama rejimlerinin hem de nanopartikül uygulamalarının anlamlı etkiler gösterdiğini, ayrıca interaksiyon etkisinin de önemli olduğunu ortaya koymuştur. CUPRAC, bitkinin toplam antioksidan kapasitesini yansıtan önemli bir gösterge olup, çevresel stres faktörlerine karşı geliştirilen antioksidatif savunma sistemlerinin gücünü ölçmektedir (Apak vd., 2007). Kuraklık stresinin CUPRAC düzeylerini yükselttiği ve bu etkinin Zn ve Fe gibi mikro elementlerin nanopartikül formda uygulanmasıyla daha da belirginleştiği gözlemlenmiştir. Zn, membran stabilitesini artıran ve SOD gibi metaloenzimlerin kofaktörü olan bir elementtir (Tufail vd., 2018; Castillo-González vd., 2018), Fe ise redoks enzimatik döngülerin ana bileşeni olarak oksidatif stresin dengelenmesinde rol oynamaktadır (Pang ve Wang, 2010; Fujita ve Hasanuzzaman, 2022). Çalışmada Zn NP, Fe NP ve Zn+Fe NP uygulamaları, CUPRAC düzeylerini kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artırmıştır. Bu bulgu, bu uygulamaların bitkinin toplam antioksidan kapasitesini güçlendirdiğini göstermektedir. Ayrıca nanoformda uygulanan bu elementlerin bitki bünyesinde daha etkili taşınması, CUPRAC gibi toplam antioksidan kapasite ölçümlerinde belirgin artışlara neden olabilmektedir (Kılıç vd., 2025). CUPRAC verileri, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin kuraklık koşullarında fesleğen bitkisinin antioksidatif savunmasını destekleyici önemli ajanlar olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymuştur.

FRAP analizine ait bulgular hem sulama rejimi hem de nanopartikül uygulamalarının fesleğen bitkisinin indirgeme kapasitesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturduğunu göstermiştir. FRAP, bitkisel dokularda antioksidan bileşenlerin demir (Fe^{3+}) iyonlarını indirgeme yeteneğini ölçerek, total antioksidan kapasitenin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Vifirta vd., 2022). Araştırmada %50 sulama altında elde edilen FRAP değerlerinin %100

sulama koşullarına göre daha yüksek olması, bitkilerin kuraklık stresi altında antioksidan sistemlerini daha güçlü aktive ettiğini göstermektedir. Bitkiler, abiyotik stres koşullarında oksidatif hasarı sınırlamak amacıyla fenolik bileşikler, flavonoidler ve enzimatik olmayan antioksidanları artırmakta ve bu da FRAP gibi parametrelerde artışa neden olmaktadır (Ashraf vd., 2019; Ahmed vd., 2013). Zn NP, Fe NP ve Zn+Fe NP uygulamalarının FRAP düzeyleri kontrol grubundan anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, her üç uygulamanın da antioksidan kapasiteyi artırıcı etkiler oluşturduğunu ve nanoformda uygulanan Zn ve Fe elementlerinin oksidatif stresle mücadelede etkili olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, sulama rejimi ile nanopartikül uygulamaları arasındaki etkileşimin istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması, her iki faktörün bağımsız etkilerinin ön planda olduğunu göstermektedir. Zn, antioksidan enzimlerin yapısal bileşeni olması nedeniyle redoks dengesinin korunmasında aktif rol oynamakta; Fe ise sitokromlar ve peroksidaz gibi redoks proteinlerinin işleyişi için gereklidir (Oteiza, 2012; Battistuzzi vd., 2010). FRAP analiz bulguları, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin toplam indirgeme gücünü artırarak fesleğen bitkisinin oksidatif stres koşullarına karşı direncini yükseltebildiğini ortaya koymuştur.

DPPH radikal süpürme kapasitesi, bitkisel dokularda bulunan antioksidan bileşiklerin serbest radikalleri nötralize etme yeteneğini ölçen yaygın ve güvenilir bir analiz yöntemidir (Gulcin ve Alwasel, 2023). Bu çalışmada, sulama rejimi ile nanopartikül uygulamaları arasında DPPH aktivitesi üzerinde anlamlı bir etkileşim tespit edilmiştir. DPPH düzeylerinin %50 sulama koşullarında daha yüksek gerçekleşmesi, kuraklık stresinin antioksidan savunma mekanizmalarını uyarıcı etkisini desteklemektedir. Bitkiler, su stresi gibi abiyotik faktörlere karşı sekonder metabolit üretimini artırarak reaktif oksijen türlerini baskılamaya çalışmakta ve bu da radikal süpürme kapasitesine doğrudan yansımaktadır (Yeshe vd., 2022). Zn+Fe NP uygulamasının tam sulama altında anlamlı düzeyde daha düşük bir değere sahip olması dikkat çekicidir. Bu durum, tam sulama koşullarında stres yanıtının daha az aktive olmasıyla ilişkilendirilebilir. Nitekim DPPH aktivitesi, stresle uyarılan savunma sistemlerinin bir çıktısı olup (Bekka vd., 2022) stresin baskılanması durumunda bu kapasitenin sınırlı kalması beklenebilir. Elde edilen bulgular, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin özellikle su stresi koşullarında DPPH radikal süpürme kapasitesini artırarak fesleğen bitkisinin oksidatif stresle mücadele yeteneğini

desteklediğini ve bu yönüyle çevresel strese karşı önemli bir biyoteknolojik çözüm sunduğunu ortaya koymaktadır.

Katalaz (CAT), hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türlerini zararsız ürünlere dönüştürerek bitkilerin oksidatif stresle mücadelesinde görev alan temel enzimlerden biridir (Sharma ve Ahmad, 2014). Bu çalışmada hem sulama rejiminin hem de nanopartikül uygulamalarının ayrı ayrı ve birlikte katalaz aktivitesi üzerinde güçlü etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. Kuraklık koşullarında gözlenen yüksek CAT aktivitesi, bitkilerin su stresi altında reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı daha güçlü bir savunma yanıtı geliştirdiğini göstermektedir (Bian ve Jiang, 2009). Zn+Fe NP uygulamasında elde edilen en yüksek ortalama değer, bu iki elementin sinerjik etkisini ortaya koymaktadır. Zn, katalaz enziminin yapısal stabilitesini destekleyerek aktivitesini artırabilirken; Fe, enzimin aktif merkezinde yer alan temel bir bileşendir (Qi vd., 2024; Ghosh vd., 2008). Ayrıca, Zn'nun stomatal kapanmayı düzenleyerek su dengesini koruması ve lipid peroksidasyonu sınırlaması, CAT aktivitesini artırıcı yönde katkı sağlamaktadır (Umair Hassan vd., 2020). Fe'in H_2O_2 detoksifikasyonunda doğrudan yer alması ise, oksidatif hasarın azaltılmasında merkezi bir rol oynamaktadır (Huang vd., 2015). Sonuç olarak, ZnO ve FeO nanopartikülleri, özellikle kuraklık koşullarında katalaz aktivitesini artırarak fesleğen bitkisinin oksidatif stres toleransını güçlendirmiştir. Bu durum, nanoformda sunulan mikro elementlerin enzimatik antioksidan savunmayı destekleme potansiyelini açıkça ortaya koymaktadır.

Süperoksit dismutaz (SOD), bitkilerde oksidatif stresin ilk savunma hattında yer alan temel bir antioksidan enzimdir (Alscher vd., 2002). Bu enzim, hücrede süperoksit radikallerini ($O_2^{\bullet-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürerek zararlı etkilerini azaltır ve böylece diğer enzimatik mekanizmaların (örneğin katalaz, askorbat peroksidaz) devreye girmesini sağlar (R Buettner, 2011; Wang vd., 2018). Bu çalışmada sadece nanopartikül uygulamalarının SOD aktivitesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etki gösterdiği belirlenmiş, sulama rejimi ve etkileşim faktörü ise anlamlı bulunmamıştır. Zn NP ve Fe NP uygulamaları, kontrol grubuna kıyasla SOD aktivitesini artırmış ve bu iki uygulama istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. Zn ve Fe, SOD enzimlerinin metal kofaktörleri olarak görev yapmaktadır (Miller, 2012). Bu nedenle her iki elementin ayrı ayrı uygulanması, enzimin aktivitesini yükseltmiş ve bitkisel dokuda oksidatif dengenin sağlanmasına katkı sağlamıştır. Zn+Fe NP uygulaması ise diğer uygulamalarla benzer SOD

düzeyleri göstermiştir ve istatistiksel olarak farklı bir üstünlük oluşturmamıştır. Bu durum, bazı antioksidan enzimlerde sinerjistik etkilerin sınırlı kalabileceğini ya da optimal doz aralığının aşılması durumunda etkide doygunluk oluşabileceğini düşündürmektedir. Genel olarak, SOD aktivitesindeki artış, nanopartikül uygulamalarının bitkinin oksidatif stres yanıtını güçlendirdiğini ve ROS birikimine karşı etkili bir koruma sağladığını göstermektedir.

Askorbat peroksidaz (APX), bitkilerin reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı geliştirdiği enzimatik savunma sistemlerinden biridir ve özellikle hidrojen peroksit (H_2O_2) detoksifikasyonunda kritik rol oynar (Caverzan vd., 2012; Ozyigit vd., 2016). Bu çalışmada, sulama düzeyi, nanopartikül uygulamaları ve etkileşim faktörlerinin tamamı APX aktivitesi üzerinde istatistiksel olarak oldukça anlamlı etkiler oluşturmuştur. Ortalama değerlere göre Zn+Fe NP uygulaması en yüksek APX aktivitesini sağlamış ve tüm diğer uygulamalardan anlamlı olarak ayrılmıştır. Bu sonuç, çinko ve demirin birlikte uygulanmasının APX enziminin aktivasyonunu önemli ölçüde artırdığını göstermektedir. Çinko, APX gen ekspresyonunu uyararak lipid peroksidasyonunu baskılamakta ve böylece enzimatik savunma sistemlerinin sürdürülebilirliğini desteklemektedir (Wu vd., 2011; Li vd., 2013). Demir ise, APX enzimatik reaksiyonlarında kofaktör olarak görev almakta ve H_2O_2 detoksifikasyonunun etkinliğini artırmaktadır (Ranieri, 2003). Zn+Fe NP kombinasyonunun, Zn NP ve Fe NP'ye göre daha yüksek aktivite sağlaması, bu iki mikroelementin sinerjik biçimde APX sistemini aktive ettiğini düşündürmektedir. Su kısıtı koşullarında Zn+Fe NP uygulamasının $114,92 \mu\text{mol mg}^{-1}$ düzeyine ulaşması, bu etkinliğin pratikte de belirgin şekilde yansıdığını ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, APX verileri, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin özellikle kuraklık koşullarında askorbat peroksidaz aktivitesini artırarak fesleğen bitkisinin antioksidatif savunmasını önemli ölçüde güçlendirdiğini ortaya koymaktadır.

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun bir son ürünü olarak hücre zarlarının oksidatif hasara uğradığını gösteren önemli bir biyokimyasal belirteçtir (Mohideen vd., 2023). Yüksek MDA düzeyleri, bitkisel hücre zarlarının stres koşullarında zarara uğradığını ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisini artırdığını gösterir (Esfandiari vd., 2007). Bu çalışmada hem sulama rejiminin hem de nanopartikül uygulamalarının MDA düzeyleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturduğu belirlenmiştir. %50 sulama koşullarında kontrol grubunda tespit edilen yüksek MDA düzeyi, kuraklık stresinin hücresel zar bütünlüğünü

bozduğunu ve oksidatif zararları artırdığını açıkça ortaya koymuştur. Buna karşılık, Zn NP, Fe NP ve Zn+Fe NP uygulamaları MDA düzeylerini anlamlı ölçüde düşürmüştür; böylece bu uygulamaların oksidatif stresin zararlı etkilerini hafifletici potansiyel taşıdığı ortaya konmuştur. Zn+Fe NP uygulamasının MDA birikimini en düşük düzeye indirmesi, iki elementin antioksidan sistem üzerinde sinerjik bir etki gösterdiğini düşündürmektedir. Zn, membran stabilitesini koruyarak lipid peroksidasyonunu sınırlandırırken; Fe, oksidatif dengeyi sağlayan birçok enzimatik sistemin yapısında yer almaktadır (Girotti vd., 1985; Gammella vd., 2016). Nanopartikül formunda uygulanmaları, bitki bünyesindeki emilim ve taşınımını kolaylaştırarak bu etkiyi daha etkin hale getirmiştir. Netice olarak, ZnO ve FeO nanopartikülleri özellikle kuraklık koşullarında MDA birikimini azaltarak zar yapısının korunmasına katkı sağlamakta, bu yönüyle fesleğen bitkisinin stres toleransını artırıcı etki göstermektedir.

Hidrojen peroksit (H_2O_2), reaktif oksijen türlerinden biri olup bitkilerde stres koşullarında hızla birikerek hücre yapılarında oksidatif hasara yol açabilmektedir (Slesak vd., 2007; Hossain vd., 2015). H_2O_2 'nin seviyesi, bitkisel hücrelerin oksidatif stres altındaki yükünü ve buna karşı geliştirdiği savunma yanıtlarının etkinliğini değerlendirmede yaygın olarak kullanılmaktadır (Saxena vd., 2016). Bu çalışmada, kuraklık stresine bağlı olarak özellikle kontrol grubunda yüksek düzeyde H_2O_2 birikimi gözlenmiş ve bu durum oksidatif yükün arttığını göstermiştir. Öte yandan Zn NP, Fe NP ve özellikle Zn+Fe NP uygulamaları ile H_2O_2 seviyelerinde anlamlı azalmalar kaydedilmiş; Zn+Fe NP uygulaması en düşük düzeyi sağlayarak sinerjik etkiyi ortaya koymuştur. Zn ve Fe elementleri, SOD, CAT ve APX gibi temel antioksidan enzimlerin aktivasyonunu teşvik ederek H_2O_2 'nin detoksifikasyonunu hızlandırmaktadır (Hao vd., 2022; Marreiro vd., 2017; VanderWal vd., 2017). Bu etkilerin nanopartikül formunda daha güçlü biçimde ortaya çıkması, bu uygulamaların biyoteknolojik potansiyelini desteklemektedir. Sonuç itibarıyla, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin, özellikle su kısıtı altında, H_2O_2 birikimini sınırlayarak fesleğen bitkisinin oksidatif stres toleransını artırmada etkili olduğu belirlenmiştir.

Klorofil a, bitkilerde ışık enerjisinin yakalanmasında ve fotosentetik reaksiyonların yürütülmesinde ana pigment olarak görev yapmaktadır (Björn vd., 2009; Simkin vd., 2022). Bu nedenle, klorofil a düzeyleri bitkisel fizyolojinin sürdürülebilirliği ve çevresel stres faktörlerine karşı duyarlılığın belirlenmesinde

önemli bir göstergedir. Çalışmada yalnızca sulama düzeyinin klorofil a içeriği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir; nanopartikül uygulamaları ve etkileşim etkisi anlamlı bulunmamıştır. Ortalama değerlere göre %50 sulama koşullarında klorofil a içeriği, %100 sulamaya kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bu durum literatürde zaman zaman gözlemlenen ve “klorofil stabilizasyonu” olarak adlandırılan bir yanıtla açıklanabilir (Arunyanark vd., 2008). Bitkiler, hafif düzeydeki su stresine karşı telafi edici bir yanıt olarak klorofil sentezini korumaya veya hatta artırmaya çalışabilmektedir (Chaves vd., 2009). Ayrıca yapraklarda su miktarının azalması, klorofil konsantrasyonunun taze ağırlık bazında hesaplanmasında nispi bir artışla sonuçlanabilmektedir (Pirzad vd., 2011). Nanopartikül uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir; ancak Zn+Fe NP uygulamasında klorofil a düzeyi en yüksek değer olarak dikkat çekmiştir. Bu bulgu, çinko ve demirin klorofil biyosentezinde tamamlayıcı rollerine işaret etmekle birlikte, bu etkinin istatistiksel anlam düzeyine ulaşmaması, muhtemelen uygulama süresi, doz veya ortam koşullarıyla ilişkili olabilir. Bu çalışmada klorofil a düzeyi esas olarak sulama rejimi tarafından etkilenmiş, nanopartikül uygulamalarının etkisi ise sınırlı kalmıştır. Bununla birlikte, Zn ve Fe destekli uygulamaların klorofil metabolizması üzerindeki potansiyel etkilerinin daha uzun süreli ya da farklı stres düzeylerinde tekrar araştırılması faydalı olabilir.

Klorofil b, klorofil a'ya kıyasla daha dar bir spektrumda ışık soğurmakla birlikte, ışık hasatlama komplekslerinde tamamlayıcı pigment olarak görev yapmakta ve fotosentez verimliliğinin desteklenmesinde önemli rol oynamaktadır (Kume vd., 2018; Simkin vd., 2022). Bu çalışmada, yalnızca nanopartikül uygulamalarının klorofil b içeriği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturduğu belirlenmiş, sulama rejiminin ve etkileşim etkisinin anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir. Ortalama değerlere göre Zn+Fe NP uygulaması, klorofil b içeriği bakımından diğer tüm uygulamalardan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Zn NP ve Fe NP uygulamaları da kontrol grubuna göre daha yüksek değerler sağlamış, ancak Zn+Fe NP kombinasyonundan ayrı istatistiksel grupta yer almamıştır. Bu durum, çinko ve demirin birlikte uygulanmasının, klorofil b sentezinde veya stabilizasyonunda daha güçlü bir etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Çinko, protein yapılarının korunmasında görev alırken, demir ise klorofil sentezinde görev yapan enzimlerin yapısında bulunan esansiyel bir elementtir (Powell, 2000;

Pushnik vd., 1984). Özellikle Fe eksikliği, klorofil b'nin sentezini doğrudan baskılayabilmektedir (Liv vd., 2021). Kuraklık stresinin klorofil b üzerine anlamlı bir etki göstermemesi, çalışmadaki su kısıtı seviyesinin henüz fotosentetik pigmentleri olumsuz etkileyecek düzeye ulaşmamış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca fesleğen bitkisinin metabolik esnekliği sayesinde pigment düzeylerini belirli sınırlar içinde koruduğu değerlendirilebilir. Netice olarak, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin özellikle kombinasyon halinde uygulandığında klorofil b içeriğini artırıcı yönde etkili olduğu ve bu etkinin fotosentetik kapasite açısından olumlu katkılar sağlayabileceği görülmektedir.

Klorofil a/b oranı, bitkinin ışık hasatlama sistemi içerisindeki pigment dengesini ve fotosentetik aparatın organizasyonunu yansıtan önemli bir fizyolojik göstergedir (Nyongesah vd., 2015). Bu oran genellikle klorofil a düzeyinin baskınlığı ile ilişkilendirilir ve çevresel koşullardaki değişimlere bağlı olarak farklılık gösterebilir. Çalışmada hem sulama rejiminin hem de nanopartikül uygulamalarının klorofil a/b oranı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda gözlenen en yüksek klorofil a/b oranı (3,49), stres koşullarında klorofil b sentezinin görece olarak daha fazla baskılandığını ve klorofil a'nın baskın kaldığını göstermektedir. Buna karşılık, Zn NP, Fe NP ve Zn+Fe NP uygulamaları bu oranı düşürmüş, bu da klorofil b düzeyinde görece bir artışı işaret etmektedir. Nanopartikül uygulamalarıyla bu oranın dengelenmesi, bitkinin ışık soğurma kapasitesinin daha homojen bir dağılımla optimize edildiğini ve fotosentetik sistemin daha stabil bir yapıya kavuştuğunu düşündürmektedir. Zn+Fe NP uygulamasının klorofil a/b oranını en düşük düzeye indirerek, klorofil a ve b arasındaki farkı minimize etmesi, bu kombinasyonun pigment sentez yolları üzerinde daha düzenleyici bir rol oynadığını göstermektedir. Sonuç olarak, ZnO ve FeO nanopartikül uygulamaları klorofil a/b oranını dengeleyerek fotosentetik pigmentlerin daha stabil bir yapıya ulaşmasına katkı sağlamış; bu durum özellikle stres koşullarında bitkinin fotosentetik verimliliğini koruyabilmesi açısından önemli bir avantaj olarak değerlendirilmiştir.

Toplam klorofil içeriği, bitkinin fotosentetik kapasitesinin genel bir göstergesi olarak değerlendirilmekte ve çevresel koşullara karşı duyarlılığı açısından önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir (Croft vd., 2017; Croft vd., 2020). Bu çalışmada toplam klorofil içeriği üzerinde hem sulama düzeyinin hem de nanopartikül uygulamalarının istatistiksel olarak anlamlı etkiler

oluşturduğu tespit edilmiştir. Zn NP, Fe NP ve Zn+Fe NP uygulamaları, kontrol grubuna kıyasla toplam klorofil içeriğini artırmış ve bu üç uygulama istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. Bu durum, çinko ve demirin ayrı ayrı ya da birlikte uygulanmasının klorofil biyosentezini destekleyici etkileri olduğunu göstermektedir. Klorofil a'da da görüldüğü üzere ilginç bir şekilde, %50 sulama koşullarında toplam klorofil değerleri %100 sulamaya göre daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, bazı bitkilerde hafif düzeydeki su stresinin klorofil yıkımını baskılayarak pigmentlerin stabilizasyonuna neden olabileceğini gösteren çalışmalarla uyumludur (Zhou vd., 2017; Tzortzakakis vd., 2020). Çalışma sonucunda, ZnO ve FeO nanopartikül uygulamaları toplam klorofil içeriğini artırarak fesleğen bitkisinin fotosentetik kapasitesini desteklemiş; bu etki özellikle hafif su stresi altında daha belirgin hâle gelmiştir. Bu bulgu, nanoteknoloji destekli gübre uygulamalarının bitkilerin fotosentetik verimliliğini korumada etkili bir strateji olabileceğini göstermektedir.

Karotenoidler, bitkilerde klorofil pigmentlerini tamamlayıcı nitelikte görev yapan ve aynı zamanda oksidatif stres koşullarında reaktif oksijen türlerini (ROS) etkisiz hâle getirerek fotoproteksiyon sağlayan önemli antioksidan bileşiklerdir (Pérez-Gálvez vd., 2020). Bu çalışmada hem sulama düzeyinin hem de nanopartikül uygulamalarının toplam karotenoid içeriği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturduğu belirlenmiştir. Kuraklık stresi uygulanan (%50 sulama) bitkilerde, karotenoid düzeyleri %100 sulamaya kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin savunma refleksi olarak karotenoid üretimini artırdığını ve bu pigmentlerin ROS'ları baskılayarak fotosentetik aparatın korunmasına katkı sağladığını göstermektedir (Uarrota vd., 2018). Zn+Fe NP uygulaması, tüm uygulamalar arasında en yüksek toplam karotenoid içeriğini sağlamış ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ayrılmıştır. Zn NP ve Fe NP uygulamaları da toplam karotenoid düzeylerini artırmış ancak Zn+Fe NP uygulaması kadar belirgin bir etki göstermemiştir. Bu bulgu, çinko ve demirin birlikte uygulandığında karotenoid metabolizmasında sinerjik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Zn, karotenoidleri stabilize eden protein yapıların korunmasında etkili olurken; Fe, karotenoid biyosentezine katılan enzimlerin yapısında yer almaktadır (Umair Hassan vd., 2020; Davis vd., 2022). Sonuç olarak hem ZnO hem de FeO nanopartikülleri, özellikle kombinasyon hâlinde uygulandığında, karotenoid

içeriğini artırarak fesleğen bitkisinin fotosentetik sistemini ve oksidatif savunma kapasitesini güçlendirmiştir. Bu sonuç, nanopartikül bazlı mikrobelerin uygulamalarının bitkisel fotoproteksiyon açısından önemli katkılar sunabileceğini göstermektedir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, nano çinko ve nano demir uygulamalarının, kuraklık stresi altında yetiştirilen fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) bitkisi üzerindeki morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini değerlendirmek amacıyla yürütülmüştür. Farklı sulama rejimlerinde (tam ve yarım sulama) uygulanan nanopartiküllerin bitki gelişimi ve antioksidatif savunma mekanizmaları üzerindeki etkileri detaylı biçimde incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, kuraklık stresi bitki boyu, yaprak sayısı, bitki ve yaprak ağırlığı gibi morfolojik özellikleri olumsuz etkilemiş; buna karşın Zn, Fe ve özellikle Zn+Fe NP kombinasyonu bu olumsuzlukları önemli ölçüde azaltmıştır. Zn+Fe NP uygulaması, özellikle toplam fenol, flavonoid gibi antioksidan kapasitelerde ve APX ile CAT enzim aktivitelerinde öne çıkarken, MDA birikimini düşürerek oksidatif zararın sınırlandırılmasına katkı sağlamıştır. Ayrıca bu uygulamalar, toplam klorofil ve karotenoid içeriklerini artırarak fotosentetik kapasitenin korunmasına destek olmuştur. Sonuçlar, nano çinko ve nano demir uygulamalarının hem tek başına hem de birlikte uygulanmaları hâlinde, kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde fizyolojik dayanıklılığı artırarak verimliliği destekleyebileceğini ortaya koymuştur. Özellikle Zn+Fe NP kombinasyonunun birçok parametrede istatistiksel olarak üstünlük sağlaması, bu karışımın bitki stres yönetiminde potansiyel bir strateji olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bu bağlamda, ZnO ve FeO nanopartiküllerinin birlikte uygulanması, kuraklık koşullarında üretim yapan yetiştiriciler için etkili ve uygulanabilir bir strateji olarak önerilebilmektedir. Ancak, bu yaklaşımın farklı bitki türleri, çeşitler ve çevresel koşullar altında da benzer etkiyi gösterip göstermediğinin ortaya konulması için ilave araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Öte yandan, nanoform gübre uygulamalarının toprak sağlığı, mikrobiyal denge ve uzun vadeli ürün kalitesi üzerindeki potansiyel etkilerinin de kapsamlı biçimde değerlendirilmesi, bu teknolojinin sürdürülebilir tarım ilkeleriyle uyumlu hâle getirilmesi açısından gelecek çalışmalarda öncelikli olarak ele alınması gereken konular arasında yer almaktadır.

KAYNAKLAR

- Abbasifar, A., Shahrabadi, F., & ValizadehKaji, B. (2020). Effects of green synthesized zinc and copper nano-fertilizers on the morphological and biochemical attributes of basil plant. *Journal of Plant Nutrition*, 43(8), 1104–1118.
- Abomuti, M. A., Danish, E. Y., Firoz, A., Hasan, N., & Malik, M. A. (2021). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Salvia officinalis* leaf extract and their photocatalytic and antifungal activities. *Biology*, 10(11), 1075.
- Ahmed, I. M., Cao, F., Han, Y., Nadira, U. A., Zhang, G., & Wu, F. (2013). Differential changes in grain ultrastructure, amylase, protein and amino acid profiles between Tibetan wild and cultivated barleys under drought and salinity alone and combined stress. *Food chemistry*, 141(3), 2743-2750.
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & function*, 12(1), 14-29.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 24(12), 1337–1344.
- Al-Huqail, A., El-Dakak, R. M., Sanad, M. N., Badr, R. H., Ibrahim, M. M., Soliman, D., & Khan, F. (2020). Effects of climate temperature and water stress on plant growth and accumulation of antioxidant compounds in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leafy vegetable. *Scientifica*, 2020, 3808909.
- Alsawaf, S., Alnuaimi, F., Afzal, S., Thomas, R. M., Chelakkot, A. L., Ramadan, W. S., ... & Vazhappilly, C. G. (2022). Plant flavonoids on oxidative stress-mediated kidney inflammation. *Biology*, 11(12), 1717.
- Alscher, R. G., Erturk, N., & Heath, L. S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of experimental botany*, 53(372), 1331-1341.
- Anjum, S. A., Ashraf, U., Zohaib, A., Tanveer, M., Naeem, M., Ali, I., ... & Nazir, U. (2017). Growth and development responses of crop plants under drought stress: a review.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496–1547.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1–15.
- Arunyanark, A., Jogloy, S., Akkasaeng, C., Vorasoot, N., Kesmala, T., Nageswara Rao, R. C., ... & Patanothai, A. (2008). Chlorophyll stability is an indicator of drought tolerance in peanut. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(2), 113-125.
- Asad, F., Batool, N., Nadeem, A., Bano, S., Anwar, N., Jamal, R., & Ali, S. (2024). Fe-NPs and Zn-NPs: Advancing aquaculture performance through nanotechnology. *Biological Trace Element Research*, 202(6), 2828-2842.

- Ashraf, M. A., Riaz, M., Arif, M. S., Rasheed, R., Iqbal, M., Hussain, I., & Mubarik, M. S. (2019). The role of non-enzymatic antioxidants in improving abiotic stress tolerance in plants. In *Plant tolerance to environmental stress* (pp. 129-144). CRC Press.
- Avellan, A., Yun, J., Morais, B. P., Clement, E. T., Rodrigues, S. M., & Lowry, G. V. (2021). Critical review: Role of inorganic nanoparticle properties on their foliar uptake and in planta translocation. *Environmental science & technology*, 55(20), 13417-13431.
- Ayuob, N. N., Firgany, A. E. D. L., El-Mansy, A. A., & Ali, S. (2017). Can *Ocimum basilicum* relieve chronic unpredictable mild stress-induced depression in mice?. *Experimental and molecular pathology*, 103(2), 153-161.
- Azizah, N. S., Irawan, B., Kusmoro, J., Safriansyah, W., Farabi, K., Oktavia, D., Doni, F., & Miranti, M. (2023). Sweet basil (*Ocimum basilicum* L.)—A review of its botany, phytochemistry, pharmacological activities, and biotechnological development. *Plants*, 12(24), 4148.
- Bandurska, H. (2022). Drought stress responses: coping strategy and resistance. *Plants*, 11(7), 922.
- Battistuzzi, G., Bellei, M., Bortolotti, C. A., & Sola, M. (2010). Redox properties of heme peroxidases. *Archives of biochemistry and biophysics*, 500(1), 21-36.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276–287.
- Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 195(1), 133–140.
- Bekka, S., Tayeb-Hammani, K., Boucekkine, I., Aissiou, M. E. A., & Djazouli, Z. E. (2022). Adaptation strategies of *Moringa oleifera* under drought and salinity stresses. *Ukrainian Journal of Ecology*, 12(4), 8-16.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76.
- Benzon, H. R. L., Rubenecia, M. R. U., Ultra Jr, V. U., & Lee, S. C. (2015). Nano-fertilizer affects the growth, development, and chemical properties of rice. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 7(1), 105-117.
- Berwal, M. K., Kumar, R., Prakash, K., Rai, G. K., & Hebbar, K. B. (2021). Antioxidant defense system in plants against abiotic stress. In *Abiotic stress tolerance mechanisms in plants* (pp. 175-202). CRC Press.
- Bian, S., & Jiang, Y. (2009). Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 120(2), 264-270.
- Bijalwan, P., Sharma, M., & Kaushik, P. (2022). Review of the effects of drought stress on plants: a systematic approach. *Preprints*, 2022020014.
- Björn, L. O., Papageorgiou, G. C., Blankenship, R. E., & Govindjee. (2009). A viewpoint: why chlorophyll a?. *Photosynthesis research*, 99, 85-98.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Bray, R. H., & Kurtz, L. T. (1945). Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science*, 59(1), 39–46.
- Carmo de Carvalho e Martins, M. D., Martins, da Silva Santos Oliveira, A. S., da Silva, L. A. A., Primo, M. G. S., & de Carvalho Lira, V. B. (2022). Biological indicators of oxidative stress [malondialdehyde, catalase, glutathione peroxidase, and superoxide dismutase] and their application in nutrition. In *Biomarkers in Nutrition* (pp. 1-25). Cham: Springer International Publishing.

- Castillo-González, J., Ojeda-Barrios, D., Hernández-Rodríguez, A., González-Franco, A. C., Robles-Hernández, L., & López-Ochoa, G. R. (2018). Zinc metalloenzymes in plants. *Interciencia*, 43(4), 242-248.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., & Margis-Pinheiro, M. (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and molecular biology*, 35, 1011-1019.
- Chaves, M. M., Flexas, J., & Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of botany*, 103(4), 551-560.
- Chhipa, H., & Joshi, P. (2016). Nanofertilisers, nanopesticides and nanosensors in agriculture. *Nanoscience in food and agriculture* 1, 247-282.
- Chowdhary, V., Alooparampil, S., Pandya, R. V., & Tank, J. G. (2022). Physiological function of phenolic compounds in plant defense. *Phenolic Compounds: Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications*, 185.
- Costa, M. I., Sarmiento-Ribeiro, A. B., & Gonçalves, A. C. (2023). Zinc: from biological functions to therapeutic potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4822.
- Croft, H., Chen, J. M., Luo, X., Bartlett, P., Chen, B., & Staebler, R. M. (2017). Leaf chlorophyll content as a proxy for leaf photosynthetic capacity. *Global change biology*, 23(9), 3513-3524.
- Croft, H., Chen, J. M., Wang, R., Mo, G., Luo, S., Luo, X., ... & Bonal, D. (2020). The global distribution of leaf chlorophyll content. *Remote Sensing of Environment*, 236, 111479.
- Davis, I., Geng, J., & Liu, A. (2022). Metalloenzymes involved in carotenoid biosynthesis in plants. In *Methods in enzymology* (Vol. 671, pp. 207-222). Academic Press.
- Dhaliwal, S. S., Sharma, V., & Shukla, A. K. (2022). Impact of micronutrients in mitigation of abiotic stresses in soils and plants—A progressive step toward crop security and nutritional quality. *Advances in Agronomy*, 173, 1-78.
- Dhaliwal, S. S., Sharma, V., Shukla, A. K., Verma, V., Behera, S. K., Singh, P., ... & Hossain, A. (2021). Comparative efficiency of mineral, chelated and nano forms of zinc and iron for improvement of zinc and iron in chickpea (*Cicer arietinum* L.) through biofortification. *Agronomy*, 11(12), 2436.
- Dola, D. B., Mannan, M. A., Sarker, U., Mamun, M. A. A., Islam, T., Ercisli, S., ... & Marc, R. A. (2022). Nano-iron oxide accelerates growth, yield, and quality of *Glycine max* seed in water deficits. *Frontiers in Plant Science*, 13, 992535.
- dos Santos, L. R., Paula, L. D. S., Pereira, Y. C., da Silva, B. R. S., Batista, B. L., Alsahli, A. A., & Lobato, A. K. D. S. (2021). Brassinosteroids-mediated amelioration of iron deficiency in soybean plants: beneficial effects on the nutritional status, photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40, 1803-1823.
- Duan, H. X., Luo, C. L., Wang, X., Cheng, Y. S., Abrar, M., & Batool, A. (2024). Responses of legumes to rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi: A global meta-analysis. *[In press]*
- El-Beshbishy, H. A., & Bahashwan, S. A. (2012). Hypoglycemic effect of basil (*Ocimum basilicum*) aqueous extract is mediated through inhibition of α -glucosidase and α -amylase activities: an in vitro study. *Toxicology and Industrial Health*, 28(1), 42-50.
- Esfandiari, E., Shakiba, M. R., Mahboob, S. A., Alyari, H., & Toorchi, M. (2007). Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5(1), 149.

- Faizan, M., Bhat, J. A., Noureldeen, A., Ahmad, P., & Yu, F. (2021). Zinc oxide nanoparticles and 24-epibrassinolide alleviates Cu toxicity in tomato by regulating ROS scavenging, stomatal movement and photosynthesis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 218, 112293.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., & Siddique, K. H. M. (2012). Drought stress in plants: an overview. *Plant responses to drought stress: From morphological to molecular features*, 1-33.
- Ferrer, J. L., Austin, M. B., Stewart Jr, C., & Noel, J. P. (2008). Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(3), 356-370.
- Fujita, M., & Hasanuzzaman, M. (2022). Approaches to enhancing antioxidant defense in plants. *Antioxidants*, 11(5), 925.
- Gammella, E., Recalcati, S., & Cairo, G. (2016). Dual role of ROS as signal and stress agents: iron tips the balance in favor of toxic effects. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016(1), 8629024.
- Ghaffarzadeh, Z., Iranbakhsh, A., & Ebadi, M. (2021). Evaluation of potential physiological and molecular responses of basil (*Ocimum basilicum*) to the application of Fe₂O₃ nanoparticles. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 1-9.
- Ghosh, A., Mitchell, D. A., Chanda, A., Ryabov, A. D., Popescu, D. L., Upham, E. C., ... & Collins, T. J. (2008). Catalase– peroxidase activity of Iron (III)– TAML activators of hydrogen peroxide. *Journal of the American Chemical Society*, 130(45), 15116-15126.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Girotti, A. W., Thomas, J. P., & Jordan, J. E. (1985). Inhibitory effect of zinc (II) on free radical lipid peroxidation in erythrocyte membranes. *Journal of free radicals in biology & medicine*, 1(5-6), 395-401.
- Guillén-Enríquez, R. R., Zuñiga-Estrada, L., Ojeda-Barrios, D. L., Rivas-García, T., Trejo-Valencia, R., & Preciado-Rangel, P. (2022). Efecto de la nanobiofortificación con hierro en el rendimiento y compuestos bioactivos en pepino. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(SPE28), 173-184.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248.
- Habib-ur-Rahman, M., Ahmad, A., Raza, A., Hasnain, M. U., Alharby, H. F., Alzahrani, Y. M., ... & El Sabagh, A. (2022). Impact of climate change on agricultural production; Issues, challenges, and opportunities in Asia. *Frontiers in Plant Science*, 13, 925548.
- Hamzah Saleem, M., Usman, K., Rizwan, M., Al Jabri, H., & Alsafran, M. (2022). Functions and strategies for enhancing zinc availability in plants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1033092.
- Hao, P., Lv, X., Fu, M., Xu, Z., Tian, J., Wang, Y., ... & Han, Z. (2022). Long-distance mobile mRNA CAX3 modulates iron uptake and zinc compartmentalization. *EMBO reports*, 23(5), e53698.
- Harnafi, H., Caid, H. S., el Houda Bouanani, N., Aziz, M., & Amrani, S. (2008). Hypolipemic activity of polyphenol-rich extracts from *Ocimum basilicum* in Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. *Food chemistry*, 108(1), 205-212.
- Heidari, M., & Golpayegani, A. (2012). Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(1), 57-61.

- Higuchi, K., & Saito, A. (2022). Elucidation of efficient photosynthesis in plants with limited iron. *Soil Science and Plant Nutrition*, 68(5-6), 505-513.
- Hossain, M. A., Bhattacharjee, S., Armin, S. M., Qian, P., Xin, W., Li, H. Y., ... & Tran, L. S. P. (2015). Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. *Frontiers in plant science*, 6, 420.
- Huang, J., Jones, A., Waite, T. D., Chen, Y., Huang, X., Rosso, K. M., ... & Zhang, H. (2021). Fe (II) redox chemistry in the environment. *Chemical Reviews*, 121(13), 8161-8233.
- Huang, X., Ding, J., & Zhong, Q. (2015). Catalytic decomposition of H₂O₂ over Fe-based catalysts for simultaneous removal of NO_x and SO₂. *Applied Surface Science*, 326, 66-72.
- Kadan, S., Saad, B., Sasson, Y., & Zaid, H. (2016). In vitro evaluation of anti-diabetic activity and cytotoxicity of chemically analysed *Ocimum basilicum* extracts. *Food chemistry*, 196, 1066-1074.
- Kejík, Z., Kaplánek, R., Masařík, M., Babula, P., Matkowski, A., Filipenský, P., ... & Jakubek, M. (2021). Iron complexes of flavonoids-antioxidant capacity and beyond. *International journal of molecular sciences*, 22(2), 646.
- Khan, M. T., Ahmed, S., Shah, A. A., Noor Shah, A., Tanveer, M., El-Sheikh, M. A., & Siddiqui, M. H. (2021). Influence of zinc oxide nanoparticles to regulate the antioxidants enzymes, some osmolytes and agronomic attributes in *Coriandrum sativum* L. grown under water stress. *Agronomy*, 11(10), 2004.
- Kılıç, G. Ç., Şeker, M. G., Gutul, T., Süzerer, V., Dursun, İ., & Çiftçi, Y. Ö. (2025). The influence of nanosized zero-valent iron (nZVI) on the micropropagation, antioxidant activity, and phenolic compound content of cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 160(3), 68.
- Kılıç, S., & Kaya, H. (2023). Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.)'nin mikro-morfolojik yapılarına ve sekonder metabolit içeriğine kuraklığın etkisi. *Turkish Journal of Forestry*, 24(1), 18-24.
- Kilic, S., Onder, S., Onder, D., Kaya, H., & Sencan, A. (2024). Morpho-physiological traces of exogenous biogenic iron oxide nanoparticles in basil seedlings. *BioResources*, 19(3), 4434.
- Kolbert, Z., Szöllösi, R., Rónavári, A., & Molnár, Á. (2022). Nanoforms of essential metals: from hormetic phytoeffects to agricultural potential. *Journal of experimental botany*, 73(6), 1825-1840.
- Kume, A., Akitsu, T., & Nasahara, K. N. (2018). Why is chlorophyll b only used in light-harvesting systems?. *Journal of Plant research*, 131, 961-972.
- Lala, S. (2021). Nanoparticles as elicitors and harvesters of economically important secondary metabolites in higher plants: A review. *IET Nanobiotechnology*, 15(1), 28-57.
- Lankarani, S. M. J., Karimi, J., & Rezaei, A. (2024). Impact of zinc oxide nanoparticles and iron on *Stevia rebaudiana* Bertoni growth, nutrient uptake, and bioactive compounds under in vitro conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 159(1), 18.
- Li, J., Cao, X., Jia, X., Liu, L., Cao, H., Qin, W., & Li, M. (2021). Iron deficiency leads to chlorosis through impacting chlorophyll synthesis and nitrogen metabolism in *Areca catechu* L. *Frontiers in Plant Science*, 12, 710093.
- Li, X., Yang, Y., Jia, L., Chen, H., & Wei, X. (2013). Zinc-induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 89, 150-157.
- Liu, R., & Lal, R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the total environment*, 514, 131-139.

- Liu, Z., Meng, J., Sun, Z., Su, J., Luo, X., Song, J., ... & Peng, X. (2022). Zinc application after low temperature stress promoted rice tillers recovery: Aspects of nutrient absorption and plant hormone regulation. *Plant Science*, 314, 111104.
- López-Millán, A. F., Duy, D., & Philippar, K. (2016). Chloroplast iron transport proteins—function and impact on plant physiology. *Frontiers in plant science*, 7, 178.
- Mahato, S., Meheta, N., Kotakonda, M., Joshi, M., Shit, M., Choudhury, A. R., & Biswas, B. (2021). Synthesis, structure, polyphenol oxidase mimicking and bactericidal activity of a zinc-schiff base complex. *Polyhedron*, 194, 114933.
- Marreiro, D. D. N., Cruz, K. J. C., Morais, J. B. S., Beserra, J. B., Severo, J. S., & De Oliveira, A. R. S. (2017). Zinc and oxidative stress: current mechanisms. *Antioxidants*, 6(2), 24.
- Miller, A. F. (2012). Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS letters*, 586(5), 586-590.
- Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B., Sebastiani, L., & Soldatini, G. F. (2003). H₂O₂ accumulation in sunflower leaves as a consequence of iron deprivation. *Journal of plant nutrition*, 26(10-11), 2187-2196.
- Mittler, R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y., & Van Breusegem, F. (2022). Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature reviews Molecular cell biology*, 23(10), 663-679.
- Mohideen, K., Chandrasekar, K., Ramsridhar, S., Rajkumar, C., Ghosh, S., & Dhungel, S. (2023). Assessment of oxidative stress by the estimation of lipid peroxidation marker malondialdehyde (MDA) in patients with chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Dentistry*, 2023(1), 6014706.
- Moshelion, M., Halperin, O., Wallach, R., Oren, R. A. M., & Way, D. A. (2015). Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water-stressed plants: crop water-use efficiency, growth and yield. *Plant, Cell & Environment*, 38(9), 1785-1793.
- Mukherjee, A., Sinha, I., & Das, R. (2015, March). Application of nanotechnology in agriculture: Future prospects. In *Outstanding Young Chemical Engineers (OYCE) Conference*, March (Vol. 13, p. 14).
- Muzammal, H., Zaman, M., Safdar, M., Adnan Shahid, M., Sabir, M. K., Khil, A., ... & Zaib, A. (2024). Climate Change Impacts on Water Resources and Implications for Agricultural Management. In *Transforming Agricultural Management for a Sustainable Future: Climate Change and Machine Learning Perspectives* (pp. 21-45). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Napolitano, G., Fasciolo, G., & Venditti, P. (2021). Mitochondrial management of reactive oxygen species. *Antioxidants*, 10(11), 1824.
- Nyongesah, M. J., Wang, Q., & Li, P. (2015). Effectiveness of photochemical reflectance index to trace vertical and seasonal chlorophyll a/b ratio in *Haloxylon ammodendron*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 1-11.
- Onyeaka, H., Nwauzoma, U. M., Akinsemolu, A. A., Tamasiga, P., Duan, K., Al-Sharif, Z. T., & Siyanbola, K. F. (2024). The ripple effects of climate change on agricultural sustainability and food security in Africa. *Food and Energy Security*, 13(5), e567.
- Oteiza, P. I. (2012). Zinc and the modulation of redox homeostasis. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(9), 1748-1759.
- Ozyigit, I. I., Filiz, E., Vatansever, R., Kurtoglu, K. Y., Koc, I., Öztürk, M. X., & Anjum, N. A. (2016). Identification and comparative analysis of H₂O₂-scavenging enzymes (ascorbate peroxidase and glutathione peroxidase) in selected plants employing bioinformatics approaches. *Frontiers in Plant Science*, 7, 301., 585-595.

- Öz, M. N. A., & Velioğlu, M. (2024). Balıkesir Yöresinden Toplanan Biberiye ve Fesleğen Bitkilerine Ait Uçucu Yağların Antioksidan ve Antimikotik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(3), 783-794.
- Özel, S. D., Gökkuş, A., & Alatürk, F. (2016). Farklı sulama seviyelerinin macar fiği (*Vicia pannonica* Crantz.) ve yem bezelyesinin (*Pisum arvense* L.) gelişimine etkileri. *Alinteri Journal of Agricultural Sciences*, 30(1), 46-52.
- Özkan Karabacak, A., Özoğlu, Ö., Durgut, S., Bağatırlar, S. R., Kaçar, O., Tamer, C. E., & Korukluoğlu, M. (2021). Development of purple basil (*Ocimum basilicum* L.) sherbet fortified with propolis extract using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 4972-4991.
- Pang, C. H., & Wang, B. S. (2010). Role of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in ascorbate-glutathione cycle and stress tolerance in plants. Ascorbate-glutathione pathway and stress tolerance in plants, 91-113.
- Pérez-Gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. *Antioxidants*, 9(6), 505.
- Pirzad, A., Shakiba, M. R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S. A., Darvishzadeh, R., & Samadi, A. (2011). Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(12), 2483-2488.
- Powell, S. R. (2000). The antioxidant properties of zinc. *The Journal of nutrition*, 130(5), 1447S-1454S.
- Pushnik, J. C., Miller, G. W., & Manwaring, J. H. (1984). The role of iron in higher plant chlorophyll biosynthesis, maintenance and chloroplast biogenesis. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1-5), 733-758.
- Pushpangadan, P., & George, V. (2012). Basil. In *Handbook of herbs and spices* Cilt 1. ss. 55-72. Woodhead publishing, Sawston, Birleşik Krallık.
- Qi, Y., Li, X., Guo, S., He, F., & Liu, R. (2024). Insights into the potential toxicity of Zn (II) to catalase and their binding mechanisms. *Journal of Molecular Liquids*, 394, 123760.
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., & Gao, H. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13), 1808.
- Qing, D., Li, W., Yang, S., Duo, J., Li, Q., & Xue, Y. (2020). Detection and development on total flavonoids by the way of $Al(NO_3)_3$ ultraviolet colorimetry. *Research and Investigations in Sports Medicine*, 7(2), RISM.000658.
- R Buettner, G. (2011). Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 11(4), 341-346.
- Rani, S., Kumari, N., & Sharma, V. (2023). Uptake, translocation, transformation and physiological effects of nanoparticles in plants. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 69(9), 1579-1599.
- Rodrigues, L. B., Martins, A. O. B. P. B., Cesário, F. R. A. S., e Castro, F. F., de Albuquerque, T. R., Fernandes, M. N. M., ... & de Menezes, I. R. A. (2016). Anti-inflammatory and antiedematogenic activity of the *Ocimum basilicum* essential oil and its main compound estragole: In vivo mouse models. *Chemico-biological interactions*, 257, 14-25.
- Rout, G. R., & Sahoo, S. (2015). Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science*, 3, 1-24.

- Sachdev, S., Ansari, S. A., Ansari, M. I., Fujita, M., & Hasanuzzaman, M. (2021). Abiotic stress and reactive oxygen species: Generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants*, 10(2), 277.
- Sági-Kazár, M., Solymosi, K., & Solti, Á. (2022). Iron in leaves: Chemical forms, signalling, and in-cell distribution. *Journal of Experimental Botany*, 73(6), 1717-1734.
- Saha, S., Monroe, A., & Day, M. R. (2016). Growth, yield, plant quality and nutrition of basil (*Ocimum basilicum* L.) under soilless agricultural systems. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2), 181-186.
- Sairam, R. K., & Saxena, D. C. (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184(1), 55–61.
- Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C., & Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177(1), 67-80.
- Saudy, H. S., El-Samad, G. A. A., El-Temseh, M. E., & El-Gabry, Y. A. E. G. (2022). Effect of iron, zinc, and manganese nano-form mixture on the micronutrient recovery efficiency and seed yield response index of sesame genotypes. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-11.
- Saxena, I., Srikanth, S., & Chen, Z. (2016). Cross talk between H₂O₂ and interacting signal molecules under plant stress response. *Frontiers in plant science*, 7, 570.
- Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., ... & Battaglia, M. L. (2021). Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, 10(2), 259.
- Sencan, A., Kilic, S., & Kaya, H. (2024). Stimulating effect of biogenic nanoparticles on the germination of basil (*Ocimum basilicum* L.) seeds. *Scientific Reports*, 14(1), 1715.
- Sharma, I., & Ahmad, P. (2014). Catalase: a versatile antioxidant in plants. In *Oxidative damage to plants* (pp. 131-148). Academic press.
- Shigate, M., Alamirew, T., Abebe, A., Ndehedehe, C. E., & Kassahun, H. T. (2023). Analysis of rainfall and temperature variability for agricultural water management in the upper Genale river basin, Ethiopia. *Scientific African*, 20, e01635.
- Shoukat, A., Pitann, B., Zafar, M. M., Farooq, M. A., Haroon, M., Nawaz, A., ... & Saqib, Z. A. (2024). Nanotechnology for climate change mitigation: Enhancing plant resilience under stress environments. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 187(5), 604-620.
- Simkin, A. J., Kapoor, L., Doss, C. G. P., Hofmann, T. A., Lawson, T., & Ramamoorthy, S. (2022). The role of photosynthesis related pigments in light harvesting, photoprotection and enhancement of photosynthetic yield in planta. *Photosynthesis Research*, 152(1), 23-42.
- Singh, A., Rajput, V. D., Pandey, D., Sharma, R., Ghazaryan, K., & Minkina, T. (2023). Nano zinc-enabled strategies in crops for combatting zinc malnutrition in human health. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 28(8), 158.
- Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., & Miszalski, Z. (2007). The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. *Acta Biochimica Polonica*, 54(1), 39-50.
- Sohrabi, Y., Sharifi Kalyani, F., Heydari, M., Yazdani, M., Omer, K. M., & Yousefi, A. R. (2022). Plant-based nano-fertilizer prepared from *Paulownia tomentosa*: Fabrication, characterization, and application on *Ocimum basilicum*. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9(1), 82.

- Sreelakshmi, B., Induja, S., Adarsh, P. P., Rahul, H. L., Arya, S. M., Aswana, S., ... & Vishnudasan, D. (2021). Drought stress amelioration in plants using green synthesised iron oxide nanoparticles. *Materials Today: Proceedings*, 41, 723–727.
- Stanojevic, L. P., Marjanovic-Balaban, Z. R., Kalaba, V. D., Stanojevic, J. S., Cvetkovic, D. J., & Cakic, M. D. (2017). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(6), 1557-1569.
- Suganya, A., Saravanan, A., & Manivannan, N. (2020). Role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize (*Zea mays* L.) grains: An overview. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, 51(15), 2001-2021.
- Szabo, R., Bodolea, C., & Mocan, T. (2021). Iron, copper, and zinc homeostasis: Physiology, physiopathology, and nanomediated applications. *Nanomaterials*, 11(11), 2958.
- Szuplewska, A., Sikorski, J., Matczuk, M., Ruzik, L., Keppler, B. K., Timerbaev, A. R., & Jarosz, M. (2023). Enhanced edible plant production using nano-manganese and nano-iron fertilizers: Current status, detection methods and risk assessment. *Plant Physiology and Biochemistry*, 199, 107745.
- Tavallali, V., Rowshan, V., Gholami, H., & Hojati, S. (2020). Iron-urea nano-complex improves bioactive compounds in essential oils of *Ocimum basilicum* L. *Scientia Horticulturae*, 265, 109222.
- Tufail, A., Li, H., Naeem, A., & Li, T. X. (2018). Leaf cell membrane stability-based mechanisms of zinc nutrition in mitigating salinity stress in rice. *Plant biology*, 20(2), 338-345.
- Tzortzakis, N., Chrysargyris, A., & Aziz, A. (2020). Adaptive response of a native mediterranean grapevine cultivar upon short-term exposure to drought and heat stress in the context of climate change. *Agronomy*, 10(2), 249.
- Uarrota, V. G., Stefen, D. L. V., Leolato, L. S., Gindri, D. M., & Nerling, D. (2018). Revisiting carotenoids and their role in plant stress responses: from biosynthesis to plant signaling mechanisms during stress. *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*, 207-232.
- Ullah, I., Toor, M. D., Basit, A., Mohamed, H. I., Gamal, M., Tanveer, N. A., & Shah, S. T. (2023). Nanotechnology: An integrated approach towards agriculture production and environmental stress tolerance in plants. *Water, Air, & Soil Pollution*, 234(11), 666.
- Ulus, F. (2023). Su stresi altında *Ocimum basilicum* L.'ye çinko gübre uygulamaları: Toplam fenolik ve flavonoid içeriğinde, esansiyel yağ bileşiklerinde ve morfolojik özelliklerde değişimler. *Tarımsal Üretim Dergisi*, 4(2), 117–127.
- Umair Hassan, M., Aamer, M., Umer Chattha, M., Haiying, T., Shahzad, B., Barbanti, L., ... & Guoqin, H. (2020). The critical role of zinc in plants facing the drought stress. *Agriculture*, 10(9), 396.
- Vaghar, M. S., Sayfzadeh, S., Zakerin, H. R., Kobraee, S., & Valadabadi, S. A. (2020). Foliar application of iron, zinc, and manganese nano-chelates improves physiological indicators and soybean yield under water deficit stress. *Journal of Plant Nutrition*, 43(18), 2740-2756.
- VanderWal, A. R., Makthal, N., Pinochet-Barros, A., Helmann, J. D., Olsen, R. J., & Kumaraswami, M. (2017). Iron efflux by PmtA is critical for oxidative stress resistance and contributes significantly to group A *Streptococcus* virulence. *Infection and immunity*, 85(6), 10-1128.
- Vifta, R. L., Nurlaila, D., & Yanti, S. (2022). Alginate-based nanoencapsulation on ultrasonic-assisted extraction of Parijoto fruit (*Medinilla speciosa* Blume) and its antioxidant activity. *Walisongo Journal of Chemistry*, 5(2), 145-152.

- Wang, Y., Branicky, R., Noč, A., & Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, 217(6), 1915-1928.
- Wang, Z., Fang, C., & Mallavarapu, M. (2015). Characterization of iron–polyphenol complex nanoparticles synthesized by sage (*Salvia officinalis*) leaves. *Environmental Technology & Innovation*, 4, 92–97.
- Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Vol. 6, pp. 11.1.1–11.1.8). John Wiley & Sons.
- Wu, C., Zhang, W., Mai, K., Xu, W., & Zhong, X. (2011). Effects of dietary zinc on gene expression of antioxidant enzymes and heat shock proteins in hepatopancreas of abalone *Haliotis discus hannai*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 154(1), 1-6.
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. (2021). Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 50.
- Yeshe, K., Crayn, D., Ritmejeriyè, E., & Wangchuk, P. (2022). Plant secondary metabolites produced in response to abiotic stresses has potential application in pharmaceutical product development. *Molecules*, 27(1), 313.
- Yilmaz, A. (2022). Mixed consortium of microbial inoculants improves yield and essential oil profile of coriander. *Journal of bioscience and bioengineering*, 134(5), 462-470.
- Yilmaz, A., & Karik, Ü. (2022). AMF and PGPR enhance yield and secondary metabolite profile of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Industrial Crops and Products*, 176, 114327.
- Yilmaz, A., Yildirim, E., Yilmaz, H., Soydemir, H. E., Güler, E., Ciftci, V., & Yaman, M. (2023). Use of arbuscular mycorrhizal fungi for boosting antioxidant enzyme metabolism and mitigating saline stress in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Sustainability*, 15(7), 5982.
- Yilmaz, H., & Kulaz, H. (2019). The effects of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant activity in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under salt stress. *Legume Research*, 42(1), 72–76.
- Zahedi, S. M., Karimi, M., Venditti, A., Zahra, N., Siddique, K. H., & Farooq, M. (2025). Plant adaptation to drought stress: the role of anatomical and morphological characteristics in maintaining the water status. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 25(1), 409-427.
- Zhao, F. Y., Han, X. L., & Zhang, S. Y. (2019). Combined treatment with cadmium and zinc enhances lateral root development by regulating auxin redistribution and cell-cycle gene expression in rice seedlings. *Russian Journal of Plant Physiology*, 66, 597-608.
- Zhao, W., Liu, L., Shen, Q., Yang, J., Han, X., Tian, F., & Wu, J. (2020). Effects of water stress on photosynthesis, yield, and water use efficiency in winter wheat. *Water*, 12(8), 2127.
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C. O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., ... & Wu, Z. (2017). Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC plant biology*, 17, 1-13.
- Zou, J., Hu, W., Loka, D. A., Snider, J. L., Zhu, H., Li, Y., ... & Zhou, Z. (2022). Carbon assimilation and distribution in cotton photosynthetic organs is a limiting factor affecting boll weight formation under drought. *Frontiers in plant science*, 13, 1001940.