

**KURAKLIĞA DUYARLI VE TOLERANSLI MISIR (*Zea mays* L.)
BİTKİSİNDE KURAKLIK STRESİ ALTINDA YAPILAN BAKIR
UYGULAMALARININ OLUŞTURDUĞU OKSİDATİF HASAR VE
SAVUNMA CEVAPLARININ ARAŞTIRILMASI**

**HATİCE ÇETİNKAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURAKLIĞA DUYARLI VE TOLERANSLI MISIR (*Zea mays* L.) BİTKİSİNDE
KURAKLIK STRESİ ALTINDA YAPILAN BAKIR UYGULAMALARININ
OLUŞTURDUĞU OKSİDATİF HASAR VE SAVUNMA CEVAPLARININ
ARAŞTIRILMASI**

HATİCE ÇETİNKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Burcu SEÇKİN DİNLER

SİNOP –2015

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma, jürimiz tarafından 03/02/2015 tarihinde yapılan sınav ile Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye : Yrd. Doç. Dr. Burcu SEÇKİN DİNLER



Üye : Yrd. Doç. Dr. Halil KOÇ



Üye : Yrd. Doç. Dr. Ömer ELKİRAN



ONAY :

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

19/02/2015


Doç. Dr. Hünker Avni DUYAR
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**KURAKLIĞA DUYARLI VE TOLERANSLI MISIR (*ZEA MAYS L.*)
BİTKİSİNDE KURAKLIK STRESİ ALTINDA YAPILAN BAKIR
UYGULAMALARININ OLUŞTURDUĞU OKSİDATİF HASAR VE SAVUNMA
CEVAPLARININ ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışma kuraklık stresine toleranslı ve duyarlı mısır kültürlerine (71May69, Shemal) 5 gün süre ile kuraklık stresi (%20 PEG -0.40 MPa) altında bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM CuSO₄.5H₂O) uygulamasının mısır yapraklarında antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisini belirlemek için yapıldı. Bakır uygulaması, kontrol gruplarına göre; her iki kültürde hidrojen peroksit (H₂O₂) ve malondialdehit (MDA) miktarını azaltırken; bağıl su içeriği (BSİ), bağıl büyüme oranı (BBO), stoma iletkenliği, ABA ve prolin miktarını değiştirmedir. Birlikte uygulama (kuraklık ve bakır) ise PEG kaynaklı kuraklık stresinin zararını azalttı. Kuraklık stresi altında toleranslı kültürde; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon reduktaz (GR), peroksidaz (POX) enzim aktivitelerini arttırırken; glutatyon -s- transferaz (GST) enzim aktivitesini azalttı. Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesini ise değiştirmedir. Duyarlı kültürde SOD, KAT, APX enzim aktiviteleri azalttı. GST ve POX enzim aktivitelerini arttırırken; GR enzim aktivitesini değiştirmedir. Bunun yanında yalnız bakır uygulaması her iki mısır kültüründe; SOD, KAT ve APX enzim aktivitelerini arttırdı. Ayrıca birlikte uygulama, PEG uygulamasına göre duyarlı kültürde; SOD, KAT, APX enzim aktivitelerini arttırırken; GR ve GST aktivitelerini sadece (PEG+ 1.5 mM) uygulaması ile arttırdı. POX enzim aktivitesi duyarlı kültürde değişmedi. Sonuç olarak bu çalışmada mısır bitkisine dışarıdan uygulanan bakır metalinin; kuraklığa bağlı oluşan oksidatif hasarın iyileştirilmesinde, antioksidan enzim aktivitelerinin etkili olduğu tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Bakır, mısır, kuraklık stresi, antioksidan enzimler.

INVESTIGATION OF EFFECTS OF COPPER TREATMENTS UNDER DROUGHT STRESS INDUCED OXIDATIVE DAMAGE AND ANTIOXIDANT DEFENCE RESPONSES IN DROUGHT - SENSITIVE AND DROUGHT - TOLERANT CORN (*ZEA MAYS* L.) PLANT

ABSTRACT

The present study was conducted to present the responses of drought-sensitive (Shemal) and drought-tolerant (71may69) maize cultivars under drought condition (20 % Polyethylene glycol, -0.40 MPa) and three different copper concentrations (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM CuSO₄.5H₂O) for 5 days to determine the antioxidant enzyme responses of copper treatment in maize leaves. Copper treatments alone did not change stomatal conductance, relative water content and growth rate, proline, hydrogen peroxide (H₂O₂), malondialdehyde (MDA) content decreased and abscisic acid (ABA) level according to control groups. Combined treatment (drought and copper) alleviated the damage of PEG- induced drought stress in maize leaves. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione reductase (GR), peroxidase (POX) activity increased and glutathione -S transferase (GST) activity decreased, while ascorbate peroxidase (APX) activity did not change under drought stress in the tolerant cultivar. SOD, CAT and APX decreased and GST, POX activities were increased while GR did not change in sensitive cultivar. Also SOD, APX and CAT activity increased by copper treatment alone in both cultivars. Otherwise combined treatment increased SOD, APX and CAT activity at all concentrations, but GR and GST activity increased only by (PEG+1.5 mM) treatment when compared with PEG treatment alone in sensitive ones. POX did not change in Shemal. As a result, exogenous copper alleviated drought stress, while it induced an oxidative damage by increasing antioxidant enzyme activities differently from drought tolerance.

Keywords: copper, maize, drought stress, antioxidant enzymes.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda engin fikirleriyle yetişmeme ve gelişmeme katkıda bulunan, akademik anlamdaki katkılarının yanı sıra; çok yönlü, enerjik, sevgi ve merhamet dolu kişiliği ile kişisel gelişimime büyük katkılarda bulunan, maddi ve manevi açıdan hakkını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Burcu SEÇKİN DİNLER (Sinop Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı)'e,

Laboratuvar çalışmalarım esnasında bilgi aktarımı ve cihaz temini konusunda yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Yaşar ERTÜRK (Bozok Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü)'e, bilimsel anlamda desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Yasemin ÖZDENER (Ondokuzmayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümü)'e,

Çalışmalarım süresince eğitime verdikleri destek ve önemi vurgulamış ve dolayısı ile katkı sağlamış olan Sinop Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanı Hümmet DURAN ve Şube müdürü Soner PEKTAŞ'a, yazım aşamasında biçimsel düzenlemede büyük desteklerini gördüğüm diğer mesai arkadaşlarıma,

Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen sevgili Eda TAŞÇI'ya, bilimsel çalışmalarım süresince ilgi, anlayış, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili dostlarım Belgin AKALIN, Şefik VURAL, Ayben TÜRK ve ismini belirtmediğim bir çok arkadaşşıma;

Hayatım boyunca ve çalışmamın her aşamasında birçok fedakarlık göstererek beni destekleyen aileme ve ismini zikredemediğim tüm arkadaşlarıma sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım.

Hatice ÇETİNKAYA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
	No
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER	ixi
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
3. MATERYAL ve METOD	16
3.1. Bitki materyali ve Deneme düzeneği	16
3.2. Büyüme parametreleri	18
3.2.1. Uzunluk ölçümü	18
3.2.2. Yaş, Kuru Ağırlıkları	18
3.2.3. Bağlı Büyüme Oranı	18
3.2.4. Bağlı Su İçeriği	19
3.3. Klorofil içeriği	19
3.4. Stoma iletkenliği	19
3.5. Lipit peroksidasyonu (MDA)	19
3.6. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı	20
3.7. ABA Hormon Düzeyi	20
3.8. Prolin Miktarı	20
3.9. İçsel Kalsiyum ve Bakır Miktarı	20
3.10. Antioksidan Enzim Aktiviteleri	21
3.10.1. Süperoksit dismutaz (SOD; EC: 1.15.1.1.) Enzim ve İzoenzim Aktiviteleri	21
3.10.2. Katalaz (KAT; EC 1.11.1.6) Enzim Aktivitesi	22
3.10.3. Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzim Aktivitesi	22
3.10.4. Glutatyon Redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) Enzim Aktivitesi	22

3.10.5. Glutasyon S- Transferaz (GST; EC 2.5.1.18) Enzim Aktivitesi	23
3.10.6. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzim Aktivitesi	23
3.11. İstatistik Analizler	23
4. BULGULAR	24
4.1. Büyüme Parametrelerinin Sonuçları	24
4.1.1. Kök ve Gövde Uzunlukları	24
4.1.2. Yaş ve Kuru ağırlık	25
4.2. Bağlı Büyüme Oranı ve Bağlı Su İçeriği	30
4.3. Klorofil Miktarı	31
4.4. Stoma İletkenliği	32
4.5. Lipit Peroksidasyonu (MDA)	33
4.6. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı	34
4.7. Absisik Asit (ABA) Hormon Düzeyi	35
4.8. Prolin Miktarı	36
4.9. İçsel Kalsiyum ve Bakır Miktarı	37
4.10. Antiosidan Enzim Aktiviteleri	39
4.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi	39
4.10.2. Katalaz (KAT) Enzim Aktivitesi	42
4.10.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim Aktivitesi	43
4.10.4. Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesi	44
4.10.5. Glutasyon -s transferaz (GST) Enzim Aktivitesi	45
4.10.6. Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesi	46
5. TARTIŞMA	47
5.1. Büyüme Parametreleri	47
5.1.1. Uzunluk	47
5.1.2. Ağırlık	48
5.1.3. Bağlı Büyüme Oranı (BBO)	50
5.1.4. Bağlı Su İçeriği (BSİ)	50
5.2. Klorofil Miktarı	51
5.3. Stoma İletkenliği	52
5.4. Lipit Peroksidasyonu (MDA)	52
5.5. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı	53
5.6. ABA Düzeyi	54

5.7. İçsel Bakır ve Kalsiyum Miktarı	55
5.8. Antioksidan Enzim Aktiviteleri	56
5.8.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi	56
5.8.2. Katalaz (KAT) Enzim Aktivitesi	57
5.8.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim Aktivitesi	58
5.8.4. Glutasyon Reduktaz (GR) Enzim Aktivitesi	59
5.8.5. Glutasyon S-Transferaz (GST) Enzim Aktivitesi	60
5.8.6. Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesi	61
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	62
7. KAYNAKLAR	63
8. ÖZGEÇMİŞ	80

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

SEMBOLLER

%	Yüzde
€	Ekstraksiyon katsayısı
⁰ C	Santigrat derece
cm	Santimetre
CO ₂	Karbondiyoksit
dI	Deiyonize
dk	Dakika
gr	Gram
ha	Hektar
kg	kilogram
m	metre
ml	Mililitre
mM	Milimolar
MPa	Megapaskal
O ₂	Oksijen
SC-1	Stoma Ölçer
t1	İlk hasat
t2	Son hasat zamanı
UV	Ultraviyole

KISALTMALAR

ABA	Absisik asit
AES	Atomik Emisyon Spektrometresi
AOT	Aktif oksijen türleri
APX	Askorbat peroksidaz
BBO	Bağlı Büyüme Oranı
BSİ	Bağlı Su İçeriği
CDNB	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
DAB	3,3'-Diaminobenzidin Tetrahidrokloroid
DHAR	Dehidroaskorbat Redüktaz
DNA	Deoksiribonükleikasit
EC	Enzim Numaraları
EDTA	Etil Diaminotetra Asetikasit
FD	Ferrodoksin
FNR	Ferrodoksin NADPH Redüktaz
GPX	Glutatyon Peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	Glutatyon
GSSG	Okside Glutatyon

GST	Glutasyon –S transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
ICP- OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi
IM	İç membran
IMS	İç membran alanı
KA	Kuru Ağırlık
KAT	Katalaz
MDA	Malondialdehid
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinukleotid Fosfat
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
PEG	Polietilen glikol
PEPC	Fosfoenol Pürivat Karboksilaz
POX	Peroksidaz
PSI	Fotosistem I
PSII	Fotosistem II
Rubisco	Rubiloz 1-5 Karboksilaz
SOD	Süperoksit dismutaz
TA	Turgorlu Ağırlık
TBA	Tiobarbutrik asit

TCA	Trikloroasetik asit
TEPGE	Tarımsal Ekonomi ve Geliştirme Enstitüsü
Tyl	Tilakoid
UV-VIS	Ultra viole –Görünür Bölge Spektroskopisi
YA	Yaş Ağırlık

ŞEKİLLER ve ÇİZELGELER

ŞEKİLLER

		Sayfa
		No
Şekil 2.1.	Bitki hücresinde bakır toksisitesinin fotosistem 2 (PSII) üzerindeki taşınımı (Yruela, 2005)	6
Şekil 2.2.	AOT'ların kimyası. AOT'lar genellikle moleküler oksijenin kademeli indirgenmesi ile oluşur (Desikan ve ark., 2005)'den değiştirilerek	7
Şekil 2.3.	Bitki hücresinde AOT'ları enzimatik mekanizmalar ile yok etme yolları (Mittler ve ark., 2004)'den değiştirilerek	8
Şekil 2.4.	Dünya mısır, arzı ve kullanımı (milyon ton), (Taşdan, 2013)'den değiştirilerek	13
Şekil 2.5.	Dünya mısır üretiminde önemli ülkeler ve üretimdeki payları (Taşdan ve ark., 2011)	13
Şekil 2.6.	Türkiye mısır ekim alanı, üretimi ve verimi(Taşdan ve ark., 2012)	14
Şekil 2.7.	Türkiye'nin mısır ve mısır ürünleri dış ticaretinin ülkelere göre dağılımı 2010/2011 (mısır eşdeğeri olarak), (Taşdan ve ark., 2011)	14
Şekil 3.1.	Bitkilere ait genel görünüm	16
Şekil 3.2.	Bitki gruplarına ait kök ve gövde uzunlukları	18
Şekil 4.1.	İki farklı mısır kültürü (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde klorofil içeriğinde (mg^{-1}YA) gözlenen değişimler	31

Şekil 4.2.	İki farklı mısır k�ltivarının (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde stoma iletkenliğinde (<i>gs</i>) gözlenen değişimler	32
Şekil 4.3.	İki farklı mısır kültivarında (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde malondialdehid miktarında (nmol/g^{-1} YA) gözlenen değişimler	33
Şekil 4.4.	İki farklı mısır kültivarında (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.gününde hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarında ($\mu\text{mol/g}^{-1}$ YA) gözlenen değişimler	34
Şekil 4.5.	İki farklı mısır kültivarında (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde ABA düzeyinde gözlenen değişimler	35
Şekil 4.6.	İki farklı mısır kültivarında (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.gününde prolin miktarında ($\mu\text{mol/g}^{-1}$ YA) gözlenen değişimler	36
Şekil 4.7.	İki farklı mısır k�ltivarının (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde SOD enzim aktivitesinde (�nite/mg^{-1} protein) gözlenen değişimler	39
Şekil 4.8.	Mısır k�ltivarının (71May69)'de PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde SOD izoenzim aktivitesinde (�nite/mg^{-1} proteing�zlenen değişimler	40
Şekil 4.9.	Mısır k�ltivarının (Shemal)'de PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde SOD	41

	izoenzim aktivitesinde (ünite/mg ⁻¹ proteingözlenen değişimler	
Şekil 4.10.	İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde KAT enzim aktivitesinde (ünite/mg ⁻¹ protein) gözlenen değişimler	42
Şekil 4.11.	İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde APX enzim aktivitesinde (ünite/mg ⁻¹ protein) gözlenen değişimler	43
Şekil 4.12.	İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM,1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.gününde GR aktivitesinde (ünite/mg ⁻¹ protein) gözlenen değişimler	44
Şekil 4.13.	İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde GST enzim aktivitesinde (ünite/mg ⁻¹ protein) gözlenen değişimler	45
Şekil 4.14.	İki farklı mısır kültüründe (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde POX enzim aktivitesinde(ünite/mg ⁻¹ protein) gözlenen değişimler	46

ÇİZELGELER

	Sayfa
	No
Çizelge 4.1. İki farklı mısır kültürünün(71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.günde kök ve gövde uzunluklarında (cm) gözlenen değişimler	24
Çizelge 4.2. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.günde kök yaş ve kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler	26
Çizelge 4.3. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.günde gövde yaş ve kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler	28
Çizelge 4.4. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.günde bağıl büyüme oranında ($\text{mg}^{-1}\text{d}^{-1}$) ve yaprak bağıl neminde (%) gözlenen değişimler	30
Çizelge 4.5. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde içsel bakır miktarı ve kalsiyum miktarında (%) gözlenen değişimler	37

1.GİRİŞ

Ağır metaller arasında yer alan bakır; bitkiler tarafından az miktarda ihtiyaç duyulmasına rağmen en önemli iyonlardan biridir (Monni ve ark., 2000). Hücresel seviyede bakır, protein sentezi esnasında; transkripsiyon faktörlerinin oluşumunda sinyal görevini üstlenmektedir. Ayrıca oksidatif fosforilasyon ve demir hareketinin sağlanmasında önemli rol oynar (Yruela, 2005). Biyolojik sistemlerin yapısal bileşeni olarak karbonhidrat ve yağ metabolizmasında da önemli yer tutmaktadır (Kacar ve ark., 2006). Bunun yanında strese yanıt oluşturma esnasında enzim aktivitelerinde kofaktör görevindedir. Bitki gelişimi için mutlak gerekli element olmasının yanında fazla miktarda bulunması; bitkilerin doku ve organlardaki aşırı birikimi, vejetatif ve generatif organlarının gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir (Gür ve ark., 2004). Bakır metalinin toprakta yüksek konsantrasyonda bulunması büyümeyi engellemektedir (Ouzounidou, 1994; Monni ve ark., 2000). Toprakta 100 mg/kg, bitki kuru ağırlığında ise 15-30 mg/kg'dan fazla bakır toksik etkilidir. Bakır toksisitesi genellikle bitki kök sistemlerinde açığa çıkar ve bitki bünyesinde protein sentezi, fotosentez, solunum, iyon alımı ve hücre membran stabilitesi gibi bazı fizyolojik olayların bozulmasına neden olur (Sossé ve ark., 2004).

Bitkisel üretimi sınırlandıran abiyotik stres faktörlerinden biri olan ağır metal stresinin yanında kuraklık stresi en önemlilerinden biridir (Sankar ve ark., 2008). Sürekli kuraklık etkisinde kalan bitkilerde önce solgunluk, ilerleyen dönemde kuruma görülür. Kuraklık; bitkilerde metabolizma ve hücre yapısının bozulmasının yanında enzimle katalizlenen reaksiyonların durmasına neden olacak düzeyde su kaybı olarak ifade edilir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Fizyolojik kuraklık; toprakta yeterli miktarda su olmasına karşın, bitkilerin çeşitli nedenlerle kökleriyle yeterli suyu alamaması sonucu oluşur. Kuraklık, bitkilerde fotosentezin engellenmesi sonucu klorofil içeriği ve bileşenlerinde değişikliklere neden olur. Kelvin döngüsünde görevli enzim ve fotokimyasal aktivitelerde aksaklıklara yol açar. Bitkinin fotosentetik düzeninde oluşan aksamalar sonucu, aktif oksijen türleri (AOT) ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki denge bozulur. Stres sonucu, AOT birikimine neden olarak proteinlerin ve diğer hücresel bileşenlerin yapısı bozulmaktadır. Diğer birçok stres

faktöründe olduğu gibi su stresi altındaki bitkiler su kaybını azaltmak için stomalarını kapatmakta, böylece CO₂ gazının girişi de engellenmektedir.

Kuraklık; dünya tarım alanlarının büyük bir bölümünde bitkisel üretimi sınırlandıran önemli faktördür. Dünya üzerindeki ekilebilir alanlarda görülen stres faktörleri içinde kuraklık stresinin payı % 26'lık pay ile en büyük dilimi almaktadır (Kalafatoğlu ve Ekmekçi, 2005). Dünyada ve Türkiye'de kullanılabilir su miktarında meydana gelen azalma özellikle tarım sektörünü önemli ölçüde etkilemektedir. Yağışların azalması ve su kaynaklarının sınırlandırılması kuraklığı da beraberinde getirmektedir (Anonymous, 2009).

Bitkilerde antioksidanlar; kuraklık stresi sonucu oluşan AOT'nin oksidatif hasara dönüşümünü engelleyen en önemli savunma mekanizmaları arasında yer almıştır. Bunlardan enzimatik olmayanlar vitamin E, vitamin C, glutatyon ve karotenoidler gelirken; enzimatik olan antioksidanlar ise süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT), peroksidaz (POX) gibi enzimler en etkin antioksidan enzimler arasında yer almaktadır (Zabalza ve ark., 2008).

Kuraklık stresinden en çok etkilenen bitki türlerinden biri olan mısır genellikle çok nemli iklim bölgelerinde yetiştirilebilen, tek yıllık bitkilerden olup, özellikle yağ içeriği açısından doymamış yağ asiti grubunda olan bir tarım bitkisidir. Tanesindeki ham yağ, yulaftan sonra en yüksek değer veren besin maddesidir. Meksika ve Orta Amerika kökenli olup; 1600 yıllarında Suriye yoluyla Mısır'dan ülkemize gelmiştir. Ülkemizde 2000' li yıllarda mısır üretimi en çok yetiştirilen bölgeler arasında karadeniz bölgesi ilk sıralarda olmasına rağmen diğer bölgelerde de yetiştirmektedir. Son yıllarda karadeniz bölgesinde mısır tarımının yerini sebze, meyve yetiştiriciliği almıştır.

Çalışmada iki farklı mısır kültüvarı (71may69, Shemal) yapraklarında; farklı konsantrasyonlarda uygulanan bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) metalinin kuraklık stresi altında meydana getirdiği etkileri; fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde aydınlatmaktır. Bunun yanında besleyici olarak bitki bünyesinde çok önemli bir yere sahip olan bakır metalinin dışardan verildiğinde; stres faktörlerine karşı etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemek, diğer amaçlardan biri olmuştur. Ayrıca daha önceki yıllarda bakır metalinin oluşturduğu stres üzerine ve bakır metalinin oluşturduğu

kuraklık üzerinde durulmuş, fakat kuraklık stresi altındaki bakırın etkisine değinilmemiştir. Kuraklık stresine toleransı ve duyarlılığı belirli mısır kùltivarlarının, bakır metaline karşı göstermiş olduğu tepkiyi ortaya koymak; literatürdeki açığı gidermek açısından önem taşıdığı düşüncesindeyiz.

2. GENEL BİLGİLER

Stres genel anlamda; bir veya birden fazla etmene bağı olarak canlının yaşamında büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyen etmendir. Bitkilerde stres kavramı ise; bitkinin yaşadığı ortama büyüme ve gelişimine olumsuz yönde etki eden, verimin düşmesine sebep olan nedenler bütünüdür. Bitkilerin maruz kaldıkları çevre faktörleri kalite ve verimlilik üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bitkiler allelopati, rekabet, parazitizm, insan ve hayvan tahribi, hastalıklar gibi birçok biyotik stresin yanında; radyasyon, ışık, besleyici elementler, tuzluluk, yetersiz su, yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, ağır metal ve bitki için faydalı suyun tarla kapasitesinin altında olması gibi çeşitli abiyotik stres koşullarına maruz kalırlar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bitkilerin stres koşulları altında %50 azalan verim kalitesinin artırılması; fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler olarak meydana gelen değişimlerin gözlenerek oluşturduğu zararların azaltılması ve tarımsal üretimde verimliliğin artırılabilmesi yolunda çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Vij ve Tyagi, 2007).

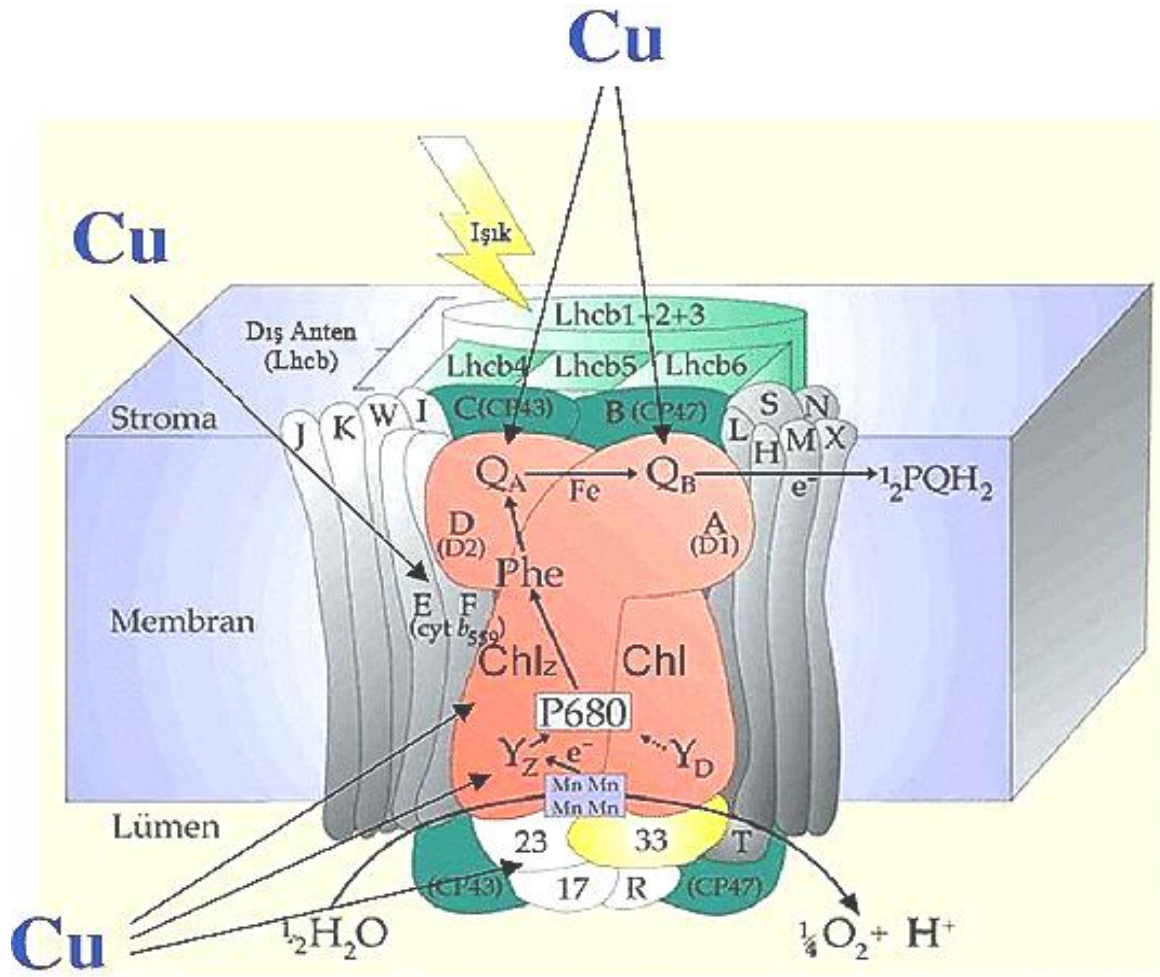
Ağır metal toksisitesi en büyük çevre sorunlarından biri olmuştur. Ağır metal stresi; doğal kaynaklar (rüzgarla taşınan toz, çürüyen bitki örtüsü, orman yangınları) ve insan faaliyetleri (madencilik, metal üretimi, odun üretimi ve fosfat gübre) sonucu oluşur. Ağır metaller arasında yer alan bakır (Cu)'ın ortamda yüksek konsantrasyonda bulunması, tüm organizmalar için ciddi bir soruna yol açmaktadır. Bakır kirliliği insan aktivitesi sonucu oluşan emisyon ve atmosferik atıklar, pestisid kullanımı, kanalizasyon atıklarının gübre olarak değerlendirilmesi, kömür ve maden yataklarından kaynaklanmaktadır.

Ağır metaller arasında yer alan bakır; bitkilerde büyüme, gelişme ve çeşitli biyokimyasal süreçler için oldukça önemli mikro besleyicidir. Bakır metali konsantrasyonu; toprakta 100 mg/kg, bitki dokularının kuru ağırlık içeriğinde 10mg/g¹ değerindedir (Baker ve Senef, 1995). Bakır metali kök ve yaprak yapısında birçok morfolojik ve fizyolojik olayların oluşumunda oldukça etkinlik sağlamıştır. Bakır; bitkide enzim aktivasyonu, karbonhidrat ve lipid metabolizması gibi birçok biyolojik olaylarda yer alması nedeniyle önemli elementler arasında yer almaktadır (Kacar ve ark., 2006). Bakır metali, yapısal proteinlerin düzenlenmesinde, fotosentetik elektron

taşınmasında, mitokondrial solunumda, oksidatif stres cevaplarında, hücre duvarı metabolizmasında ve hormon sinyallemede görev almaktadır (Fernandes ve Henriques, 1991; Marschner, 1995; Raven ve ark., 1999). Ayrıca bakır iyonları, Cu/Zn süperoksit dismutaz (SOD), sitokrom c oksidaz, amino oksidaz, plastosiyanin ve polifenol oksidaz gibi birçok enzimin kofaktörü olarak rol oynamaktadır (Şekil 2.1). Böylece antioksidan cevapların oluşumunda oldukça etkili olmaktadır (van Assche ve Clijsters, 1990; Meharg, 1994).

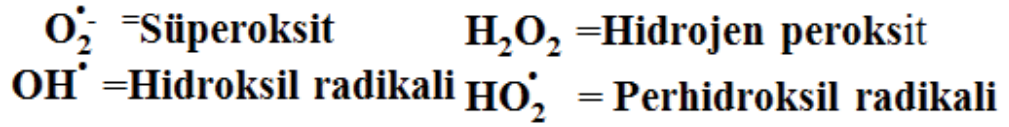
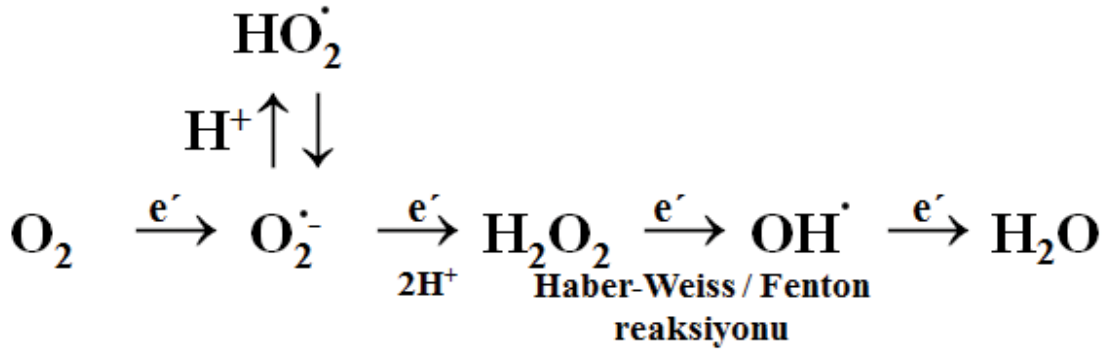
Bakır metali bitkide; düşük konsantrasyonlarda bakır eksikliğine, yüksek konsantrasyonlarda bakır toksisitesine neden olmaktadır (Geatke ve Chow 2003). Bakır metali eksikliğinde ilk olumsuz etkiler genç bitki yapraklarında ve üreme organlarında görülmektedir. Yaprakların uç kısımlarında kıvrılma ve nekroz dokuları görülmektedir (Marschner, 1995). Bitki kuru madde ağırlığında 15- 30 mg/kg'dan fazla bakır toksik etki göstermektedir. Bakır toksisitesinde oluşan AOT'i genellikle bitki kök sisteminde açığa çıkmaktadır. Bunlar süperoksit (O_2^-), hidroksil radikalleri (OH), singlet oksijen (O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2)' den oluşmaktadır (Şekil 2.2). En zararlı AOT O_2^- olup, H_2O_2 diğerlerine göre daha az zararlıdır (Sossé ve ark., 2004). AOT bitki bünyesinde solunum, iyon alımı ve hücre membran kararlılığının bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca bakır toksisitesi ürün veriminde (Xu ve Zhou, 2006), fotosentez oranında (Vinit-Dunand ve ark., 2002) ve köklerden yapraklara kalsiyumun taşınımında azalmaya neden olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Ouzounidou ve ark., 1997).

Fotosentezdeki azalma; fotosistem 1 (PS1)'de elektron taşıma sisteminde meydana gelen bozulmanın tilakoid membranlara zarar vererek kloroplastın parçalanmasına neden olmaktadır (Baszynski ve ark., 1978; Shikanai ve ark., 2003). Gerçekleşen parçalanma sonucunda fotosistem II (PSII)'de azalma olduğu bildirilmiştir (Droppa ve ark., 1987; Henriques, 1989). Fotosentezde meydana gelen azalma sonucu klorofil pigmentlerinde azalma olmaktadır. Pigmentlerde meydana gelen bu azalmanın doymamış yağ asit içeriğinin ve plastokinin sentezinin azalması ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Baron ve ark., 1992).



Şekil 2.1. Bitki hücresinde bakır toksisitesinin fotosistem II (PS II) üzerindeki taşınımı (Yruela, 2005)

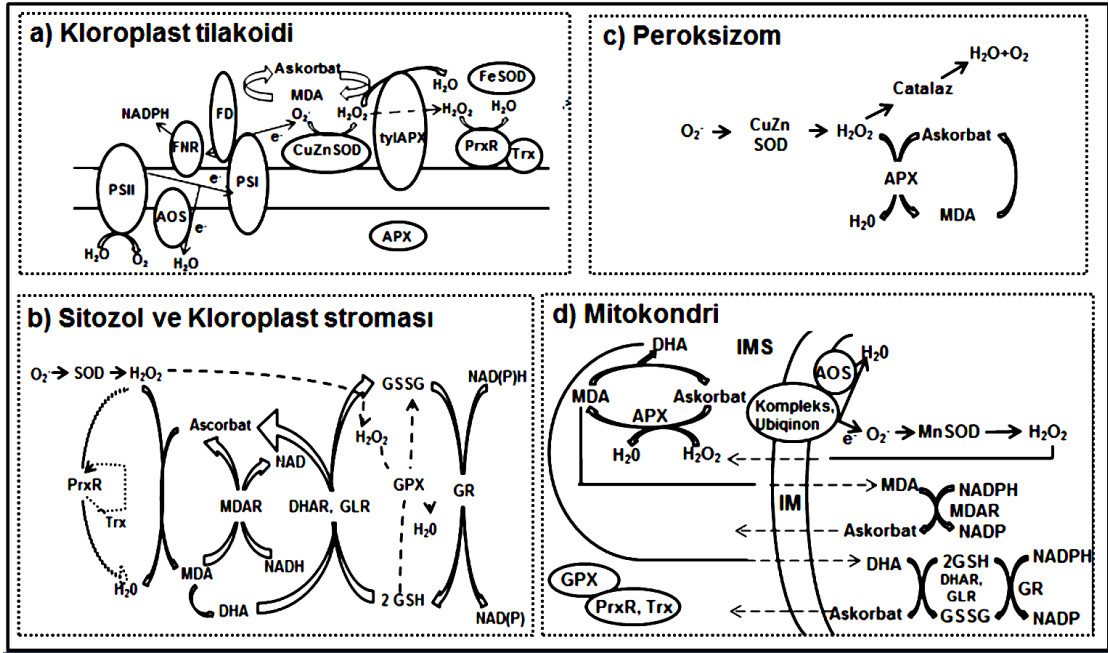
Bakırın hücre duvarına bağlanması direk ya da kalsiyumu yerinden çıkarmak suretiyle iki şekilde meydana gelmektedir. Bu durumda hücre duvarı elastikiyeti bozulmuş ve hücrenin turgoru azalmaktadır. Böylece köklerden yapraklara kalsiyum taşınımı engellenmektedir (Ouzounidou, 1994).



Şekil 2.2. AOT'ların kimyası. AOT'lar genellikle moleküler oksijenin kademeli indirgenmesi ile oluşur (Desikan ve ark., 2005)'den değiştirilerek.

Yüksek bakır konsantrasyonları, hücresele seviyede proteinlerdeki sülfür gruplarına bağlanarak, DNA, lipitler, enzim aktivitesi ve protein fonksiyonlarının bozulmasına, gerekli iyonların eksikliğine veya fazlalığına, diğer biyomoleküllerin hasarı ile oksidatif hasara neden olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Meharg, 1994; Guo ve ark., 2009). Bakır, HabereWeiss ve Fenton reaksiyonları aracılığıyla aktif oksijen türlerinin (AOT) üretimini arttırdığı tespit edilmiştir (Aust ve ark., 1985).

Bakır metalinin reaktif oksijen türlerinin zararsız hale getirilmesinde; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), peroksidaz (POX), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GPX), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) gibi çeşitli antioksidan enzimler oldukça etkinlik sağlamaktadır (Zabalza ve ark., 2008; Mittler ve ark., 2004).



Şekil 2.3. Bitki hücresinde AOT'ları enzimatik mekanizmalar ile yok etme yolları (Mittler ve ark., 2004)

SOD (EC.1.15.1.1) enzimi aktif bölgesi 3 kofaktörden (Mn, Fe veya CuZn) oluşan bir metaloenzimler sınıfında yer almaktadır (Moran ve ark., 2003). Kloroplastlarda; tilakoid membranlarda fotosentez esnasında oluşan AOT'ın Mehler reaksiyonu ile temizlenmesinde; SOD aktif oksijen türlerinin farklı forma dönüştürmektedir (Rich, 1978). APX (EC.1.11.1.11); H_2O_2 suya dönüşümünü indirgenmiş askorbat yardımı ile zararlı etkisinin ortadan kaldırarak sağlamaktır (Noctor ve Foyer, 1998). APX, KAT'a göre daha büyük afiniteye sahip olup; AOT sinyallerinin algılanmasını sağlayarak kararlı duruma geçmesinde etkindir. Ayrıca KAT ile birlikte fotosentetik bitki hücrelerinde bulunan özel peroksizomlar tarafından toplu halde AOT'ın süpürülmesinde etkili olmaktadır. KAT (EC.1.11.1.6) fotorespirasyonla peroksizomlarda üretilen H_2O_2 'nin dönüşümü için etkinlik sağlamaktadır (Chang ve ark., 1984). POX (EC.1.11.1.7), hücre oluşumu, meyve gelişimi, etilen biyosentezi gibi biyokimyasal ve fizyolojik süreçlerde etkili olduğu gibi çevresel streslere cevapta etkindir (Matamoros ve ark., 2003). GR (EC.1.6.4.2), Askorbat-glutasyon döngüsünün son enzimi olup; GSH olarak birçok bitkide bulunan düşük molekül ağırlıklı tiyol bileşiğidir (Kunert ve Foyer, 1993). Glutasyon olarak enzimlerin tiyol gruplarını korumuş; direk antioksidan enzim görevinde, okside olmuş askorbik asit (AsA)'in geri dönüşümünde, O_2^- ve OH^- ile reaksiyona girerek indirgeyici olarak görev yapmaktadır (Şekil 2.3).

Suyun kısıtlı olduğu dönemlerde vejetatif bitki dokularında oksidatif stresin en yaygın nedeni, kloroplastta gerçekleşen ışık-klorofil etkileşimleridir (Farrant, 2000). Su kısıtlı hale gelirken, bitkiler daha fazla su kaybetmemek için genelde stomalarını kapatır (Stuhlfauth ve ark., 1990). Stomaların bitki fizyolojisindeki önemi, yaprağın hücreler arası boşluğu ile atmosfer arasındaki gaz alışverişinin sağlanması ve su buharı çıkışına izin vermesinden kaynaklanmaktadır. Kuraklık stresi altında bitkilerin stomalarını kapatması önemli adaptasyon mekanizmalarından biridir. Bekçi hücrelerinin su kıtlığına bağlı olarak turgorlarını kaybetmesi ile hidropasif olarak stomaların kapanmasına sebep olur. Bu durum hava neminin düşük olması, bekçi hücrelerinden suyun kaybı ile komşu epidermis hücrelerinden bekçi hücrelerine su taşınımını dengeleyemeyecek kadar hızlı olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca bitki kök ve yaprakları su kaybedince stomaların kapanmasına neden olur. Hidroaktif kapanma dediğimiz bu durum bekçi hücrelerindeki metabolik faaliyetlere bağlıdır. Bekçi hücrelerindeki çözünmüş madde miktarının azlığı, su kaybına, turgorun düşmesine ve stomaların kapanmasını neden olmaktadır. Stomaların kapanması rubisko aktivitesini azaltırken, buna bağlı olarak da CO₂ alınımının da azaltmış ve fotosentez oranı düşürmektedir (Bota ve ark., 2004). Bu durum fotosentez fiksasyonu için gerekli CO₂'nin alınımının kısıtlanmasına neden olur (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Su stresi fotosentezin yanında büyümekte olan yapraklardaki fotosentetik ürünlerinin tüketimini azaltarak, yapraklardan diğer bitki kısımlarına suyun gönderiminin azalmasına neden olmaktadır (Malakouti ve ark., 2005). Floemdeki taşınım su potansiyeline bağlı olduğundan; stres esnasında su potansiyelinin azalması, fotosentez ürünlerinin taşınımını engellemektedir. Su stresinin erken dönemlerinde bitkiler stomalarını kapatarak su kullanma etkinliğini arttırmaktadırlar.

Stomaların kapanmasını kontrol eden iki mekanizma gelişmiştir. Bunlar hormonal ve iyon kontrol mekanizmalarıdır. Yaprığın su içeriğinin azalması; bekçi hücrelerindeki çözünmüş madde miktarının azalmasını başlatmaktadır. Bu olayın gerçekleşmesinde; absisik asit (ABA) hormonunun rolü oldukça önemlidir. ABA bir stres hormonu olup; özellikle kuraklık stresi altındaki yapraklarda konsantrasyonu 50 kat artmaktadır. ABA biyosentezi; mezofil hücrelerinde düşük bir hızla sürekli sentezlenen ABA, kloroplastlarda birikme eğilimindedir. ABA'nın eşit olmayan dağılımı, yaprak içindeki gradientlerine, zayıf asidik özellikte oluşuna ve hücre zarının geçirgenliğine bağlı olarak

stomaların kapanmasında çok etkili olmaktadır. Stresin algılanması ile ABA sentezinin artması, yaprak apoplastında daha fazla ABA birikimi ile daha önceki kapatıcı etkisinin atmasına ya da süresinin uzamasına neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda; ABA konsantrasyonu çiçeklenmenin düzenlenmesine, vegetatif büyümeye, yaprakların yaşlanmasına, kurumasına ve bitkinin kuraklığa tolerans düzeylerine göre değişmektedir. Bitki hücrelerinde genetik düzeylerde yapılan araştırmalarda, su yetersizliğinde oluşacak olumsuzluklara karşı stresle mücadelede ABA hormonunun anahtar rol oynadığı ortaya konmuştur (Xiang ve ark., 2007).

Bitkilerde kuraklık stresinin diğer bir etkisi vejetatif büyümenin, özellikle sürgün gelişiminin yavaşlamasıdır. Kuraklık stresine bağlı olarak bitki yaprak yüzeyinin küçülmesi ve transpirasyonun azalması, kuraklık stresine toleransı arttırmaktadır. Kuraklık stresi; birçok bitki yapraklarında yaşlanma sürecini ve yaşlı yaprakların absisyonunu (ayrılma) hızlandırırken; köklerde toprağın derin katmanlarındaki suya ulaşabilmek için kök sistemini gelişimine neden olduğu bildirilmiştir (Mahajan ve Tuteja, 2005).

Kuraklık stresi altında genlerinin ifadesine ve protein düzeyinde meydana gelen değişikliklere bakıldığında; fosfolipitlerin hidrolizi, denatüre proteinleri uzaklaştıran LEA (late embryogenesis abundant)/ dehidrin genleri ile moleküler şaparonların ve proteazların ifade düzeylerinde değişiklikler görülmektedir. Ayrıca AOT'nin uzaklaştırılmasında, diğer detoksifikasyon proteinlerinin üretilmesinde rol oynayan çeşitli enzimlerin aktivasyonunun arttığı tespit edilmiştir (Zhu, 2002).

Kuraklık koşulları altında ozmotik dengenin, membranların ve makromoleküllerin korunmasında anahtar rol oynayan çok sayıda bileşik sentezlenmektedir. Bu bileşiklerin başında prolin, glutamat, glisin-betain, karnitin, mannitol, sorbitol, fruktan, polioliol, trehaloz, sükroz, oligosakkarit ve K⁺ gibi inorganik iyonları artmaktadır. Bu bileşikler, dehidrasyon durumunda hücrenin korunmasına yardım ederek kuraklık ve su kaybına karşı hücrenin direnç kazanmasını sağlamaktadır (Hoekstra ve ark., 2001; Ramanjulu ve Bartels, 2002).

Karipçin (2009)'da küresel ısınmanın arttığı, iklim değişimlerinin belirgin şekilde gözlendiği günümüzde su stresi üzerine yapılan çalışmaların giderek artış gösterdiğini

bildirmiştir. Bu alanda yapılan çalışmalar sadece tarla denemeleri ile kalmamış, iklimlendirme odalarında da yapılmaya başlanmıştır. Aktif bir polimerin olan polietilen glikol kuraklık oluşturmak amacı ile iklimlendirme odalarında en çok kullanılan kimyasal maddelerin başında gelmektedir (Nepomuceno ve ark., 1998; Bhargava ve Paranjpe, 2004). Belirli bir molekül ağırlığı ve osmotik açıdan nötr olan bir gruptur. PEG 6000 besin çözeltilerinin su potansiyelini azaltarak dehidrasyonun oluşturulmasında etkinlik sağlamaktadır. Merrill ve Eckard (1971), PEG 6000'in büyük moleküllü bir yapıya sahip olduğunu, daha küçük molekül yapılarına göre toprakta su açığının sağlanmasında daha etkin olduğunu bildirmişlerdir.

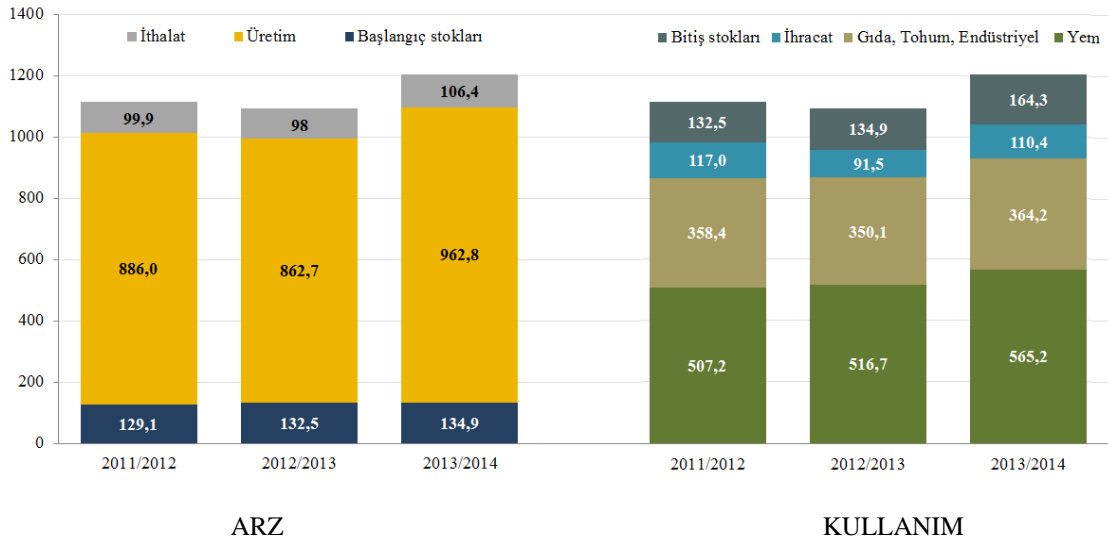
Çevresel streslere bağlı olarak ortaya çıkan su eksikliğinde bitkilerin büyüme ve gelişmeleri etkilenmektedir. Bitkilerde atmosferik karbondioksitin karbondihidratlara dönüşümü esnasında kullandıkları karbon kaynağına göre bitkiler C3, C4 ve CAM bitkileri olarak sınıflandırılmaktadır. C3 bitkileri, 15-25° C' de karbondioksit asimilasyonu yaparlar. Dünyanın sıcak bölgelerinde yetişen bitkilerdir. C3 bitkileri; C4 bitkilerine göre su eksikliğinden daha fazla etkilenmektedir. C4 bitkilerinde iki fotosentez yolu birlikte çalışır ve bu bitkilerin fotosentez kapasiteleri daha fazladır. Oldukça düşük CO₂ yoğunluklarında ve stomaların kapalı olduğu durumlarda bile fotosentez kapasiteleri daha fazla olmaktadır. C4 bitkilerinde CO₂' i yakalayan iki enzim bulunmaktadır. Metabolik yolunda; mezofil hücrelerinin kloroplastlarında ve aynı yaprağın demet kını hücrelerinin kloroplastlarında fotosentez gerçekleşmektedir. PEP karboksilaz enzimi C4 bitkilerinde çok yüksek aktiviteye sahip olup, CO₂'e duyarlılığı çok fazladır. PEP-karboksilazın bikarbonatla ilgisi rubisko enziminin CO₂'e olan ilgisinden daha fazla olmaktadır. Buna bağlı olarak C4 bitkilerinin fotosentez hızları; çok düşük CO₂ derişimlerinde bile yüksek olmaktadır (Kadioğlu, 2007).

C4 bitkilerinde rubisko enzim aktivitesi yüksek CO₂ konsantrasyonunda, fotorespirasyonu baskılamaktadır. PEP-karboksilaz enzimi diğer birçok enzim gibi büyük değişikliklere adaptasyon sağlayarak, yüksek fotosentez oluşumu ile CO₂ fiksasyonu ve karbondihidrat sentezini oluşturur (Leegood ve Osmond, 1990). PEP karboksilaz kinaz aktivitesini düzenleyen mekanizmaları ortaya çıkarmak için birçok çalışma yapıldığı bildirilmiştir (Chollet ve ark., 1996; Huber ve ark., 1994).

Mısır bir C4 bitkisi olduğu bilinen ve binlerce yıldan beri tarımı yapılan birkaç ender bitkiden biri olduğu bildirilmiştir (Berry ve Björkman, 1980; Edwards ve Walker, 1983). Anavatanı Amerika kıtası olup buradan dünyanın her yerine yayıldığı bilinmektedir. A.B.D' nin New Mexico eyaletinde yapılan arkeolojik kazılarda, kayalardan oluşmuş barınaklarda ve mağaralarda bulunan mısır taneleri ve mısır koçanı parçalarının yaklaşık 5000 yıllık oldukları tespit edilmiştir. Öte yandan 1954 yılında, Meksika'nın başkenti Mexico City' de yapılan arkeolojik kazılarda ise, toprağın 50-60 m derinliğinde, yaklaşık 7000 yıllık olduğu belirlenen mısır çiçeği tozlarına rastlanmıştır. Yabani mısır bugüne kadar bulunamadığı için, mısırın orijini ve tarihine ilişkin kesin bir bilgi elde edilememiş, bu konuda çeşitli teoriler üretilmiş ve hepsi de günümüzde hala tartışılmaktadır. Ancak, yapılan tüm arkeolojik kazılardan elde edilen bulgular, mısır bitkisinin 8.000 ile 10.000 yıllık bir geçmişi olduğunu göstermektedir. Mısırın ülkemize girişi ise, kuzey Afrika üzerinden girmiştir. Bu bitkiye mısır adının verilmiş olması ülkemize Mısır ve Suriye üzerinden girdiğinin bir göstergesidir. Mısır, tropik, subtropik ve ılıman iklim kuşaklarında yetişebildiği için, dünyanın hemen hemen tüm ülkelerinde az çok mısır tarımı yapılmaktadır. Bugün, Antartika haricinde, dünyanın her yerinde mısır yetişebilmektedir. Dünya üzerinde, 58° kuzey ve 40° güney enlemleri arasında kalan alanlarda, deniz seviyesinden başlayarak 4000 m' ye kadar yetiştirilebilmektedir.

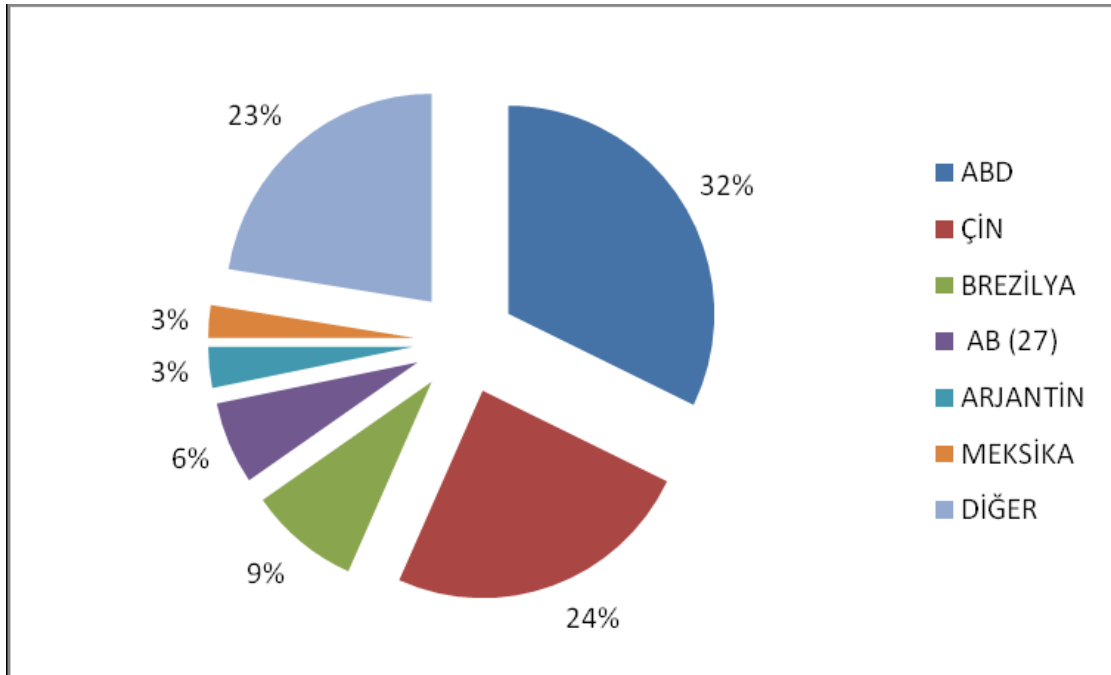
Elde edilen veriler ülkeye ve yetiştirilen mısır çeşitlerinin bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ortalama tane verimi yaklaşık dekara 50-60 kg olan ülkelerin yanında, yine dekara 1 ton ve üzerinde verimlerin alınabildiği ülkeler de mevcuttur.

Dünyada ve Türkiye'de mısır üretimiyle ilgili rakamlar Şekil 2.4' de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Dünya mısır, arzı ve kullanımı (milyon ton), (Taşdan, 2013)

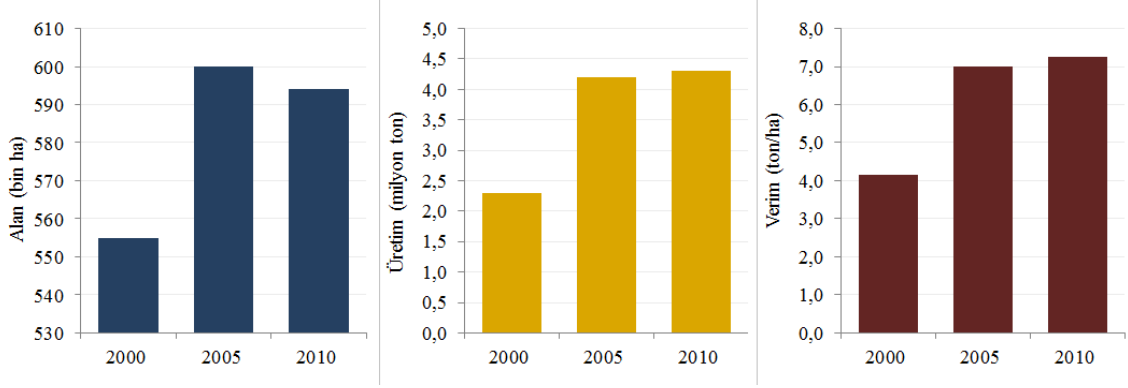
Dünya mısır ithalatı ve başlıca ithalat yapan ülkeler (Bin Ton) Şekil 2.5' de verilmiştir.



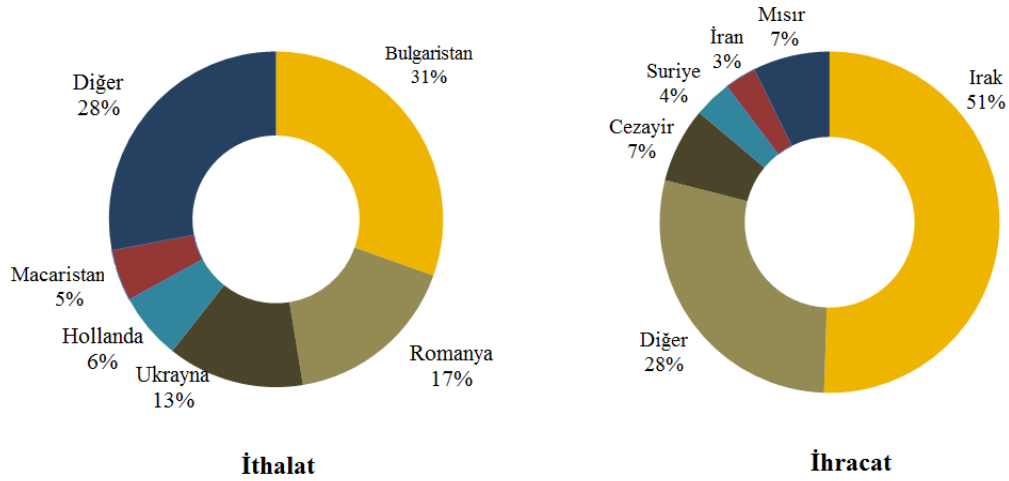
Şekil 2.5. Dünya mısır üretiminde önemli ülkeler ve üretimdeki payları (Taşdan ve ark., 2011)

Mısır, dünyada buğday ve çeltikten sonra en fazla tarımı yapılan bir tahıl bitkisidir. Dünya üzerinde, 70 milyon çiftçi ailesi, ki bunun yaklaşık % 80'i gelişmekte olan ülkelerdedir, mısır tarımı ile uğraşmaktadır. Dünya mısır üretimi 813.4 milyon ton, arzı ise 1050.9 milyon tondur. Mısır kullanımı 810.2 milyon ton ve % 59.6'sı yem sanayinde kullanılmaktadır (Şekil 2.4). Dünya mısır ticaret hacmi yaklaşık 187.2 milyon

tondur. Türkiye’de ise mısır üretimi 4.3 milyon ton ve mısır kullanımı 4.7 milyon ton olmuştur (Şekil 2.6). Türkiye mısır ithalatı 570 bin tondur (Şekil 2.7), (Taşdan ve ark., 2011).



Şekil 2.6. Türkiye mısır ekim alanı, üretimi ve verimi (Taşdan ve ark., 2011)



Şekil 2.7. Türkiye'nin mısır ve mısır ürünleri dış ticaretinin ülkelere göre dağılımı 2010/2011 (mısır eşdeğeri olarak), (Taşdan ve ark., 2011)

Literatürde, bitki türlerinin stres toleransı ve antioksidan enzimi ile ilgili birçok çalışma vardır. Bakır stresi ile ilgili olarak, birbirinden farklı bitki türleri bakır metaline maruz kalma süresi ve konsantrasyon farklılığına bağlı antioksidan cevaplarda, farklılıklara neden olduğu rapor edilmiştir (Rama ve Prasad, 1998; Luna ve ark., 1994; Vangronsveld, 1993; Weckx ve Clijsters. 1996).

Daha önceki yıllarda; birçok stres faktörü, bitkilerin doğal ortamlarında maruz kaldıkları gibi çalışılmaya başlanmıştır. Son yıllarda artan kuraklık stresi ve bitkilerde metal iyonlarının birikimi en çok tartışılan konular arasındadır. Artan dünya nüfusu ile birlikte besin kıtlığı sorunu gündeme gelmekte; stres koşullarına uyum sağlamış bitkilerin üretimini arttırmak ön plana çıkmaktadır.

Bitkilerde oksidatif hasara karşı oluşan antioksidan cevaplarda bakır metalinin rolü yapılan birçok çalışmada belirlenmiştir. Fakat Sgherri ve ark. (2001)'de bildirdiklerine göre; bitkilerde kuraklık stresine toleransın sağlanmasında bakır metali ile olan ilişkisini ortaya koyan herhangi bir literatür çalışmasına rastlanmamıştır. Buna bağlı olarak; çalışmamızda kuraklığa duyarlı ve toleranslı mısır bitkisinde; kuraklık stresi altında bakır uygulaması ile kuraklığa duyarlı ya da toleranslı bir bitkinin bakır metaline olan toleransını ortaya koymak amaçlarımızdandır. Çalışmamızda mısır bitikini seçmemimizin en önemli sebepleri arasında; ülkemiz ekonomisinde 3. önemli tahıl grubu içerisinde yer alması, yem, besin maddesi, yağ ve biyodizel olarak kullanılmasıdır. Bu nedenle çalışmamızda mısır bitkisinin kuraklık stresi altında bakır uygulaması ile verdiği antioksidan cevapların ortaya konulması oldukça önemlidir. Ayrıca farklı kültürlerdeki mısır bitkilerine dışarıdan farklı konsantrasyonlarda uygulanan bakır metalinin kuraklık stresi altında oksidatif hasarın iyileştirilmesindeki rolünü ortaya koymak amaçlarımız arasında yer almıştır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Bitki materyali ve Deneme düzeneği

Denemede kuraklığa toleranslı (71May69) ve kuraklığa duyarlı (Shemal) iki farklı mısır kùltürü kullanılmıştır. Mısır tohumları Bursa MAY-Agro tohum şirketinden alınmıştır. 3 tekrarlı toprak kùltüründe bitki yetiştirilmesi yapılmıştır. Denemede kullanılan PEG solüsyonları ve uygulanan bakır konsantrasyonları; literatür desteği ile ön denemeler kurularak uygun konsantrasyonlar tespit edilmiştir.



şekil 3. 1. Bitkilere ait genel görünüm

Plastik saksılar (10cm x14cm) içine her saksıya 5 tane olmak üzere mısır tohumları ekilmiştir. Daha sonra 23 °C ± 1°C de 3-5 gün boyunca çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenme süresince deiyonize su ile sulama yapılmıştır. Çimlenen tohumlar 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyotta 23 °C ± 1°C de 500µmol m²s⁻¹ ışık altında % 60 nem oranına sahip iklim odasında toprak kùltüründe yetiştirilmiştir (şekil 3.1).

Bitkilerin genel beslenmesi, uygulama aşamasına kadar Hoagland besin çözeltisi ile sağlanmıştır (Hothem ve ark., 2003).

Deneme düzeneği aşağıdaki gibi düzenlenmiştir:

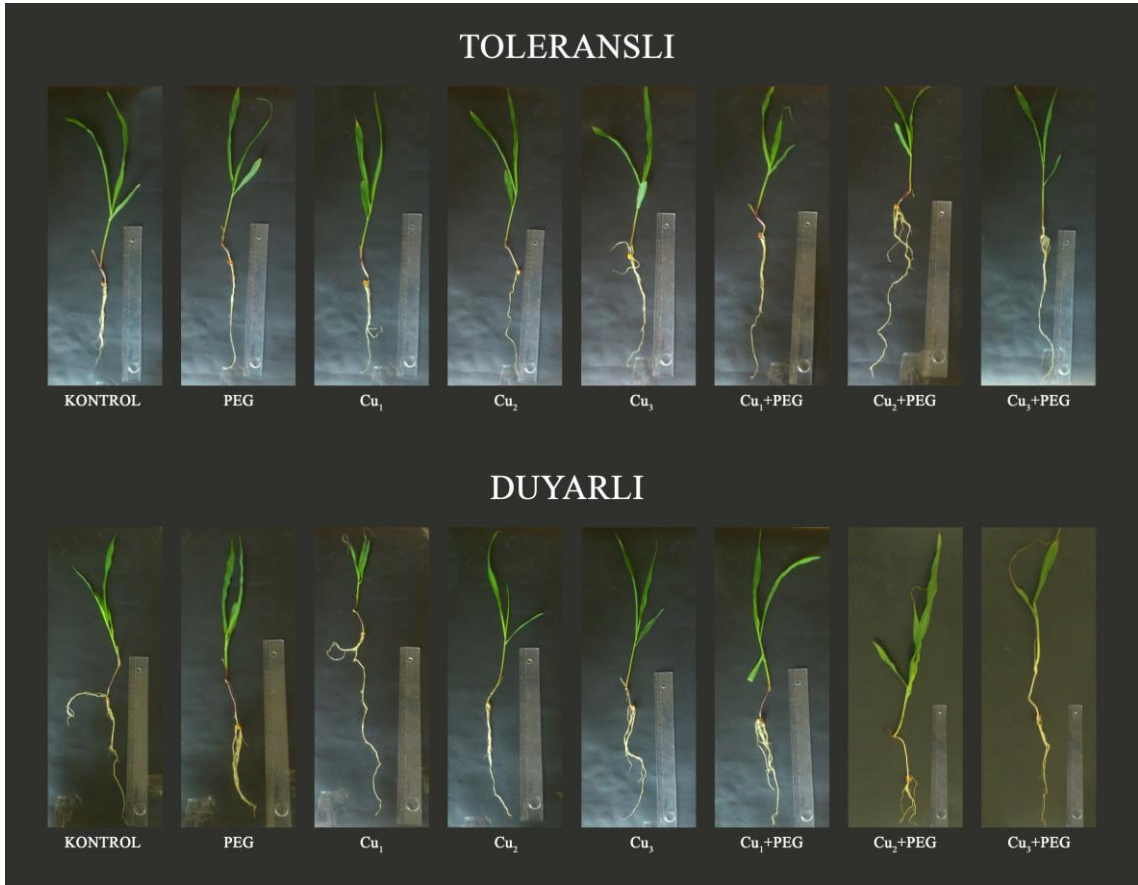
1. Kontrol (PEG içermeyen grup) + Besin çözeltisi
2. PEG + Besin çözeltisi
3. Besin çözeltisi+ 0.5 mM Cu ⁺⁺
4. Besin çözeltisi+ 1 mM Cu ⁺⁺
5. Besin çözeltisi+ 1.5 mM Cu ⁺⁺
6. PEG + Besin çözeltisi+ 0.5 mM Cu ⁺⁺
7. PEG + Besin çözeltisi+ 1 mM Cu ⁺⁺
8. PEG + Besin çözeltisi+ 1.5 mM Cu ⁺⁺

Bitkilere 5 gün boyunca bakır metali (0.5 mM, 1 mM ve 1.5 mM) Houglound içinde çözündürülerek toprağa uygulanmıştır. Kuraklık stresi oluşturmak amacıyla % 20 PEG 6000 (Polietilen glikol 6000 MA) osmotik potansiyeli -0.40 MPa (Türkan ve ark., 2005) kullanılmış ve Houglound içinde çözündürülerek toprağa uygulanmıştır. PEG+Bakır uygulaması yapılan gruplara uygulama eş zamanlı olarak uygulanmıştır. Bitkiler uygulama sonrası (5. gün) hasatı yapılmıştır. Alınan örnekler yapılacak analizlere uygun şekilde -20° C de derin dondurucuda saklanmıştır.

3.2. Büyüme parametreleri

3.2.1. Uzunluk ölçümü

Kuraklık ve bakır uygulamasının 5. gününde her bitki grubundan bitki örnekleri alınarak gövdeleri ve kökleri birbirinden ayrılmıştır. Kök ve gövde uzunlukları ölçülmüştür.



Şekil 3.2. Bitki gruplarına ait kök ve gövde uzunlukları (ölçüm 30 cm 'lik cetvel ile yapılmıştır)

3.2.2. Yaş, Kuru Ağırlıkları

Her grup için 6 tekrarlı yaş ağırlıkları tartıldıktan sonra örnekler 70 °C de 72 saat bekletilerek kuru ağırlıkları da tartılmıştır.

3.2.3. Bağlı Büyüme Oranı

Kuraklık ve bakır uygulamasının 0. ve 5. gününde yapraklara ait başlangıç ve son kuru ağırlık değerleri (70 °C' de 72 saat kurutulmuş) ölçülerek bağlı büyüme oranları hesaplanmıştır (Venus ve Causton, 1979).

BBO= (Kuru ağırlık 2- Kuru ağırlık1) / (t2-t1) t2: Son hasat zamanı,

3.2.4. Bağlı Su İçeriği

Kuraklık uygulamasının 0. ve 5. günlerinde her iki kültürün tüm grupları için 6 ‘ lı yaprak örneği alınarak yaş ağırlıkları ölçülmüştür. (Smart ve Bingham 1974). 6saat boyunca dI-H₂O içinde petrilere bekletilerek turgorlu hale gelmeleri sağlanmıştır. Daha sonra turgorlu halleri ölçüldü. 70 °C de 72 saat bekletilerek kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları saptanmıştır.

Bağlı su içerikleri % olarak (YA-KA)/ (TA-KA)×100 bağlantısına göre hesaplanmıştır.

3.3. Klorofil içeriği

Bitki yapraklarından 100 mg alınmıştır. Örnekler porselen havanda 1-2 mL % 80’lik aseton ile yapraktan tüm klorofil alınmaya kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra ekstraktın son hacimi 10 ml olacak şekilde % 80’lik asetonla tamamlanmış ve 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Klorofil a için 662 nm, klorofil b için 645 nm Shimatzu UV mini tip spektrofotometrede asetona karşı (tanık) okunmuştur.

Klorofil a ve klorofil b hesaplamaları Lichtenthaler ve Wellburn (1983)’e göre aşağıdaki formüller kullanılarak yapılmıştır.

Klorofil a= 11.75A₆₆₂ – 2.35A₆₄₅

Klorofil b = 18.61A₆₄₅ – 3.96A₆₆₂

3.4. Stoma iletkenliği

Stoma iletkenliği kuraklık ve bakır uygulamasının 5. günü stoma ölçer (SC-1) cihazı yardımı ile 6 tekrarlı olarak tüm gruplarda ölçüm yapılmıştır.

3.5. Lipit peroksidasyonu (MDA)

Lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA miktarı, tiobarbiturik reaksiyonunu kullanarak Madhavo ve Stresty (2000) yöntemine göre belirlenmiştir. Bunun için her gruptan 0.5 gr yaprak örneği TCA (trikloroasetik asit) ile homojenize edilmiştir. Santrifüjden sonra süpernatanta TBA (tiobarbiturik asit) ve TCA içeren reaksiyon karışımı pipetlenmiştir. Tüm deney tüpleri 95 °C’ de 30 dakika ısıtılmıştır. Karışım 10.000g X 15 dakika santrifüjlendi. Oluşan süpernatantın 532 ve 600 nm’deki

absorbans değerleri okunmuştur. Malondialdehid (MDA) konsantrasyonu, ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.6. Hidrojen peroksit (H₂O₂) Miktarı

H₂O₂ düzeyi Velikova ve ark., (2000) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntemle göre her gruptan 0.1 gr yaprak örneği 5 ml TCA (trikloroasetik asit) ile homojenize edilmiştir. 15 dakika boyunca 12.000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Süpernatant 0.5 ml, buffer (potasyum fosfat 10 mM, pH: 7) solusyonu 0.5 ml ve 1 ml, 1M KI tampon maddesi ile karıştırıldı. UV-VIS spektrofotometre yardımı ile 390 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür.

3.7. ABA Hormon Düzeyi

ABA hormon seviyesine Flores ve ark., (2011) yöntemine uygun olarak UHPLC-MS/MS cihazı ile yapılmıştır. Bileşiklerin stok standart çözeltileri (200 ile 300 mg / L arasında değişen konsantrasyonlarda) ayrı ayrı tartılarak hazırlanmıştır. Bitki materyali Sigma dan alınan metanol (HPLC-için) içerisinde çözüldürülmüştür.

3.8. Prolin Miktarı

Kuraklık stresi uygulanmış mısır bitkisinin yapraklarında serbest prolin miktarları Bates ve ark. (1973)'nin saptadığı yöntemle göre belirlenmiştir. Taze bitki materyalinin 0.5 gr'ı tartılmış ve % 3(w/v)'lük 5 mL sülfosalisilik asit kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenatlar filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen süpernatant 1 ml ninhidrin ve 1 ml glasiyel asetik asit ilave edilerek karıştırmıştır. Bu karışım 100 °C'de 1 saat su banyosunda bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüpler alınarak buz içerisine sokulmuş ve reaksiyon sonlandırılmıştır. Reaksiyon karışımı 4 mL toluen ile ekstrakte edilmiş ve 15-20 saniye tüp karıştırıcıda (vorteks) çalkalanmıştır. Toluene içeren renkli sıvı oda sıcaklığında bekletilmiş ve karışımın toluene içeren üst fazı 520 nm dalga boyunda spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Bitki dokularındaki prolin miktarları ($\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık) kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır.

3.9. İçsel Kalsiyum ve Bakır Miktarı

Bitki yapraklarında içsel Kalsiyum ve Bakır metali Hanlon (1998) (AAS), Isaac ve Johnson, (1998) (ICP-OES) yöntemine göre kurumuş yaprak örneklerinin yaş yakma

metodu ile Jhonson ve Ulrich (1959) nitrik ve perklorik asit kullanılarak belirlenmiştir. Süzüntü 0.1 N perklorik asit ile sulandırılıp atomik absorpsiyon spektrofotometresinde tespit edilmiştir.

ICP okuma (ppm)* SF(100)

3.10. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Antioksidan enzimlerin ekstraksiyonu için derin dondurucuda saklanmış olan yapraklardan 0.5 gr yaprak örneği 1 mM EDTA.Na₂ ve % 2 polivinil –polipirolidin (PVPP) içeren 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH: 7.8) ile homojenize edilir. Homojenatlar, 12.000g'de 30 dakika 4°C' de santrifüj edilmiştir. Bu süpernatantlar enzim aktivitesi ölçümlerinde kullanılmıştır. Ekstraksiyon prosedürünün tümü ± 4 °C de gerçekleştirilmiştir.

3.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD; EC: 1.15.1.1.) Enzim ve İzoenzim Aktiviteleri

SOD aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971)'e göre, SOD'un fotokimyasal olarak nitro blue tetrazolium'un (NBT) indirgenmesini inhibe etme yeteneğinin ölçülmesiyle tayin edilmiştir. 3 ml reaksiyon karışımı; 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.8), 33 mM NBT, 10 mM L-metionin, 0.66 mM EDTA. Na₂, 0.0033 mM ribofilavin içermektedir. Süpernatant seyreltikten sonra karışım 10 dk 300 mmol m²s¹ ışık şiddeti altında bekletilmiş ve daha sonra reaksiyon karışımının 560 nm'de verdiği absorbans değerleri okunmuştur. SOD için 1 enzim birimi; ışıkla indirgenmenin % 50 engellenmesine neden olan protein miktarı (mg) olarak tanımlandığından, yaprak örneklerindeki SOD aktiviteleri buna göre belirlenmiştir.

SOD izoenzim aktivitesi; Laemli (1970)' e göre eşit miktarda protein içeriği, sodyum dodesil sülfat dışında denatüre edici olmayan poliakrilamid jel elektroforez (PAGE)'e yüklenmiştir. SOD izozimlerinin ayrımı için; % 4.5 staking ve % 12.5 separating solüsyonları kullanılmış ve sabit akımda (60 mA), 0-4 °C' de jeller yürütülmüştür. SOD aktivitesinde jeller Beauchamp ve Fridovich (1971)' e göre riboflavin ve NBT ile fotokimyasal boyama yapılarak tespit edilmiştir. Boyanmış olan jeller; Software (4.6.00.0; UVP Bioluminescence systems, UK) programına göre görüntülenmiştir. SOD aktivitelerinin densitometrik analizleri için; kontrol grupları

%100 olarak alınmış ve elde edilen değerler % olarak gösterilmiştir. Elde edilen veri; birbirinden bağımsız 3 jelin ortalaması alınarak elde oluşturulmuştur.

3.10.2. Katalaz (KAT; EC 1.11.1.6) Enzim Aktivitesi

Katalaz enziminin aktivitesi Bergmeyer (1970)' in metoduna göre gerçekleştirilmiştir. H₂O₂'in miktarında oluşan azalma; 240 nm'de gösterdiği maksimum absorbanstaki düşüşle belirlenmiştir. 1 ml'lik son hacime sahip kuvartz küvetlerdeki reaksiyon karışımı; 0.1 mM EDTA, 50 mM Na-fosfat tamponu (pH: 7), dI-H₂O ve % 0.3 H₂O₂'den oluşmaktadır. Reaksiyon boyunca absorbansta oluşan düşüş 180 sn boyunca takip edilmiştir. KAT aktivitesi dakikada harcanan µmol H₂O₂ olarak ifade edilmiştir.

3.10.3. Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzim Aktivitesi

APX aktivitesinin tayini Nakano ve Asada (1981)'ya göre yapılmıştır. Askorbat okside oldukça spektrofotometreden 290 nm'deki absorbansta oluşan azalma okunmuş ve hesaplamalar askorbatın ekstinksiyon katsayısı kullanılarak ($2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yapılmıştır. Reaksiyon karışımı 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH:7), 0.5 mM askorbat, 0,1 mM EDTA Na₂ ve 1.2 mM H₂O₂'den oluşmuştur. Askorbatın oksidasyonu, enzim ekstraktının ek ilave edilmesiyle başlatılmış ve absorbanstaki düşüş 180 sn boyunca izlenmiştir. 1 birim APX aktivitesi dakikada okside olan 1 mmol ml^{-1} askorbat ifade edilmiştir.

3.10.4. Glutasyon Redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) Enzim Aktivitesi

Glutasyon redüktaz aktivitesi, 340 nm'deki absorbanstaki düşüş göz önüne alınarak hesaplanmıştır (Foyer ve Halliwell, 1976). NADPH varlığında, okside glutasyon miktarındaki azalma, kuvartz küvette, köre karşı 180 sn boyunca takip edilmiştir. Hesaplamalar glutasyon redüktaz enziminin ekstinksiyon katsayısı kullanılarak ($6.2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yapılmıştır. Spesifik enzim aktivitesi, dakikada indirgenen 1 mmol ml^{-1} GSSG miktarı olarak ifade edilmiştir.

3.10.5. Glutasyon S- Transferaz (GST; EC 2.5.1.18) Enzim Aktivitesi

Glutasyon S- transferaz aktivitesi Habig ve ark. (1974) yöntemine göre belirlenmiştir. Glutasyon S-transferaz, 1-kloro- 2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile glutasyonun –SH grubu arasındaki tepkimeyi katalizlemiştir. Enzim aktivitesi 340 nm’de GSH ve CDNB kullanılarak dakikada oluşan S-2,4-dinitrofenilglutasyonun 1 mikro molünü katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. GST aktivitesi, CDNB ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon = 9.6 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.10.6. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzim Aktivitesi

POX aktivitesi Herzog ve Fahimi (1973)’ ye göre belirlenmiştir. Aktivite 465 nm’de 3,3’-diaminobenzidin tetrahidrokloroid (DAB)’in oksidasyonu ile absorbansta meydana gelen artış izlenerek hesaplanmıştır. Polystren küvetteki reaksiyon karışımı, DAB solüsyonu, % 0.6’lık H_2O_2 , dI- H_2O ve enzim ekstraktından oluşturulmuştur. Reaksiyon H_2O_2 ’nin ilave edilmesiyle başlatılmış ve 180 sn boyunca absorban artışları izlenmiştir. Spesifik enzim aktivitesi dakikada tüketilen $\mu\text{mol ml}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$ olarak ifade edilmiştir.

3.11. İstatistik Analizler

Elde edilen veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One – way ANOVA) ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Lowest Standard Deviations (LSD) test, ile karşılaştırılmıştır. $P < 0.05$ olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Büyüme Parametrelerinin Sonuçları

4.1.1. Kök ve Gövde Uzunlukları

İki farklı mısır kültivarına (71May69, Shemal) PEG uygulaması altında bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması 5 gün süre ile yapılmıştır. Uygulamayı takiben 5. gün hasatı yapılmış olan bitkilerin kök ve gövde uzunluklarında (cm) meydana gelen değişimler Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. İki farklı mısır kültivarının (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde kök ve gövde uzunluklarında (cm) gözlenen değişimler

	Kultivarlar	71may69	Shemal
KÖK	Kontrol	21.7±0.87 ^a	23.1±0.86 ^b
	PEG	25.2±0.66 ^b	16.9±0.66 ^a
	0.5 mM Cu	22.6±0.96 ^a	24.4±0.74 ^b
	1 mM Cu	22.5±0.89 ^a	24.4±1.04 ^b
	1.5mM Cu	30.8±0.74 ^c	24.3±0.66 ^b
	PEG+0.5mM Cu	22.4±0.63 ^a	24±0.54 ^b
	PEG+1 mM Cu	21.8±0.25 ^a	24±0.89 ^b
	PEG+1.5mM Cu	22.2±0.81 ^a	28.2±0.74 ^c
	GÖVDE	Kontrol	42.3±0.20 ^b
PEG		41.7±0.66 ^b	38.4±0.8 ^a
0.5 mM Cu		42.9±0.53 ^b	45.5±0.70 ^c
1 mM Cu		42.7±0.7 ^b	45.1±0.6 ^c
1.5 mM Cu		42.8±0.35 ^b	45.2±0.85 ^c
PEG+0.5mM Cu		37.6±0.23 ^a	41.5±0.89 ^a
PEG+1 mM Cu		37.4±0.31 ^a	42.2±0.35 ^a
PEG+1.5mM Cu		37.8±0.22 ^a	42±0.63 ^a

PEG uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültürde kök ve gövde uzunluklarını farklı etkilemiştir. Kök uzunluğunu; 71May69'da % 16.1 oranında arttırırken; Shemal'de ise % 26.9 oranında azaltmıştır.

PEG uygulamasının kontrol gruplarına göre gövde uzunluğunu; 71May69'da değiştirmezken, Shemal'de ise % 16.5 oranında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

Bakır uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültürde kök uzunluğunu farklı etkilemiştir. 71May69'da en fazla artış bakır (1.5 mM) uygulaması ile % 41.9 oranında olduğu tespit edilirken, Shemal'de ise değişime neden olmadığı gözlenmiştir.

Bakır uygulaması, kontrole göre her iki kültürde (71May69, Shemal) gövde uzunluğunu değiştirmediği tespit edilmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasının, PEG uygulamasına göre her iki kültürde kök uzunluğunu iyileştirdiği tespit edilmiştir. Bu iyileşme oranı; 71May69'da en fazla PEG+bakır (0.5 mM) uygulaması ile % 21.8, Shemal'de ise en fazla PEG+bakır (1.5 mM) uygulaması ile % 66.2 oranında olduğu tespit edilmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre gövde uzunluğunu her iki kültürde (71May69, Shemal) azalttığı gözlenmiştir.

4.1.2. Yaş ve Kuru ağırlık

İki farklı mısır kültürüne (71May69, Shemal) PEG uygulaması altında bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması 5 gün süre ile yapılmıştır. Uygulamayı takiben 5.gün hasatı yapılmış olan bitkilerin sırası ile kök ve gövdeye ait yaş, kuru ağırlık değerleri Çizelge 4. 2 ve 4. 3'te verilmiştir.

Çizelge 4.2. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde kök yaş ve kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler

Gruplar		71may69	Shemal
Kontrol	YA.	0.338±0.031 ^c	0.22±0.031 ^c
	KA.	0.022±0.003 ^c	0.036±0.008 ^c
%20 PEG	YA.	0.101±0.003 ^a	0.086±0.016 ^a
	KA.	0.014±0.004 ^a	0.015±0.004 ^a
0.5 mM Cu	YA.	0.365±0.017 ^d	0.246±0.081 ^d
	KA.	0.028±0.007 ^d	0.044±0.006 ^d
1 mM Cu	YA.	0.369±0.104 ^d	0.244±0.033 ^d
	KA.	0.027±0.009 ^d	0.044±0.008 ^d
1.5 mM Cu	YA.	0.375±0.128 ^d	0.254±0.054 ^d
	KA.	0.024±0.007 ^d	0.043±0.074 ^d
%20 PEG+0.5mMCu	YA.	0.246±0.067 ^b	0.180±0.085 ^b
	KA.	0.018±0.011 ^b	0.026±0.010 ^b
%20 PEG+1mMCu	YA.	0.224±0.016 ^b	0.186±0.071 ^b
	KA.	0.016±0.004 ^b	0.021±0.004 ^b
%20 PEG+1.5mM Cu	YA.	0.206±0.005 ^b	0.184±0.054 ^b
	KA.	0.017±0.003 ^b	0.018±0.004 ^b

PEG uygulaması, kontrole göre her iki kültürde kök yaş ve kuru ağırlığını azaltmıştır. Bu azalma oranı; kök yaş ağırlığını 71May69'da % 71, Shemal'de ise % 59 olarak gözlenmiştir. Kök kuru ağırlığında ise; 71May69'da % 45, Shemal'de ise % 55 oranında azalmaya neden olmuştur.

Bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, kök yaş ve kuru ağırlığını her iki kültürde arttırmıştır. Kök yaş ağırlığında en fazla artış bakır (1.5 mM) uygulaması ile 71May69'da % 12, Shemal'de ise % 13.6 oranında olarak tespit edilmiştir. Kök kuru ağırlığında, 71May69'da % 45.5, Shemal'de ise % 27.7 oranında artışa neden olmuştur.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasının PEG uygulamasına göre; her iki kültürde kök yaş ve kuru ağırlığını iyileştirdiği tespit edilmiştir. Kök yaş ağırlığını; 71May69'da en fazla bakır (1.5 mM) uygulaması ile 1.4 kat arttırmıştır. Shemal'de ise en fazla bakır (1 mM) uygulaması ile 1.1 kat arttırdığı tespit edilmiştir. Kök kuru ağırlığında ise PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması PEG uygulamasına göre; 71May69'da % 28.5, Shemal'de ise % 66 oranında artışa neden olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.3. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde gövde yaş ve kuru ağırlığında (gr) gözlenen değişimler

Gruplar		71may69	Shemal
Kontrol	YA.	1.370±0.536 ^b	1.321±0.323 ^b
	KA.	0.132±0.017 ^b	0.132±0.032 ^b
%20 PEG	YA.	0.684±0.299 ^a	0.830±0.01 ^a
	KA.	0.134±0.017 ^a	0.083±0.008 ^a
0.5 mM Cu	YA.	1.369±0.166 ^b	1.329±0.270 ^b
	KA.	0.135±0.007 ^b	0.138±0.025 ^b
1 mM Cu	YA.	1.376±0.429 ^b	1.319±0.274 ^b
	KA.	0.132±0.028 ^b	0.135±0.010 ^b
1.5 mM Cu	YA.	1.368±0.261 ^b	1.323±0.301 ^b
	KA.	0.132±0.016 ^b	0.135±0.027 ^b
%20 PEG+0.5mMCu	YA.	1.090±0.327 ^b	0.954±0.147 ^a
	KA.	0.107±0.010 ^b	0.116±0.039 ^a
%20 PEG+1mMCu	YA.	0.99±0.426 ^b	0.936±0.123 ^a
	KA.	0.108±0.024 ^b	0.112±0.031 ^a
%20 PEG+1.5mM Cu	YA.	0.94±0.156 ^b	0.89±0.213 ^a
	KA.	0.106±0.010 ^b	0.104±0.008 ^a

PEG uygulamasının kontrole göre her iki kültürde gövde yaş ağırlığını azaltmıştır. Bu azalmanın; 71May69'da % 50, Shemal'de ise % 37 oranında olduğu

gözlenmiştir. Gövde kuru ağırlığında ise PEG uygulamasının kontrole göre; 71May69'da değişime neden olmazken; Shemal'de ise % 30 oranında azaltmıştır.

Bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasının kontrole göre her iki kültürde (71May69, Shemal) gövde yaş ve kuru ağırlığını değiştirmediği gözlenmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasının PEG uygulamasına göre gövde yaş ağırlığını; 71May69'da % 37 oranında arttırmış, Shemal'de ise değiştirmediği tespit edilmiştir. Gövde kuru ağırlığında ise PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasının PEG uygulamasına göre; 71May69'da % 14.9, Shemal'de % 36.1 oranında arttırdiği gözlenmiştir.

4.2. Bağıl Büyüme Oranı ve Bağıl Su İçeriği

Bağıl büyüme oranı ve bağıl su içeriği Çizelge 4. 4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde bağıl büyüme oranında ($\text{mg}^{-1}\text{d}^{-1}$) ve yaprak bağıl neminde (%) gözlenen değişimler

	Kültivarlar	71may69	Shemal
BSİ	Kontrol	92.48±3.12 ^b	94.09±1.95 ^b
	PEG	87.84±4.74 ^a	90.68±5.07 ^a
	0.5 mM Cu	92.79±1.73 ^b	92.44±4.17 ^b
	1 mM Cu	91.85±3.85 ^b	94.60±2.37 ^b
	1.5 mMCu	91.80±3.07 ^b	94.07±1.39 ^b
	PEG+0.5mMCu	90.54±1.01 ^b	92.94±2.52 ^b
	PEG+1 mMCu	90.7±4.13 ^b	93.30±2.54 ^b
	PEG+1.5mMCu	91.12±1.97 ^b	93.89±3.76 ^b
BBO	Kontrol	0.15±0.03 ^b	0.12±0.01 ^b
	PEG	0.08±0.01 ^a	0.07±0.006 ^a
	0.5 mM Cu	0.13±0.00 ^b	0.15±0.01 ^b
	1 mM Cu	0.14±0.01 ^b	0.12±0.005 ^b
	1.5 mMCu	0.10±0.01 ^b	0.14±0.01 ^b
	PEG+0.5mMCu	0.10±0.01 ^b	0.13±0.008 ^b
	PEG+1 mMCu	0.14±0.01 ^b	0.15±0.008 ^b
	PEG+1.5mMCu	0.11±0.02 ^b	0.10±0.04 ^b

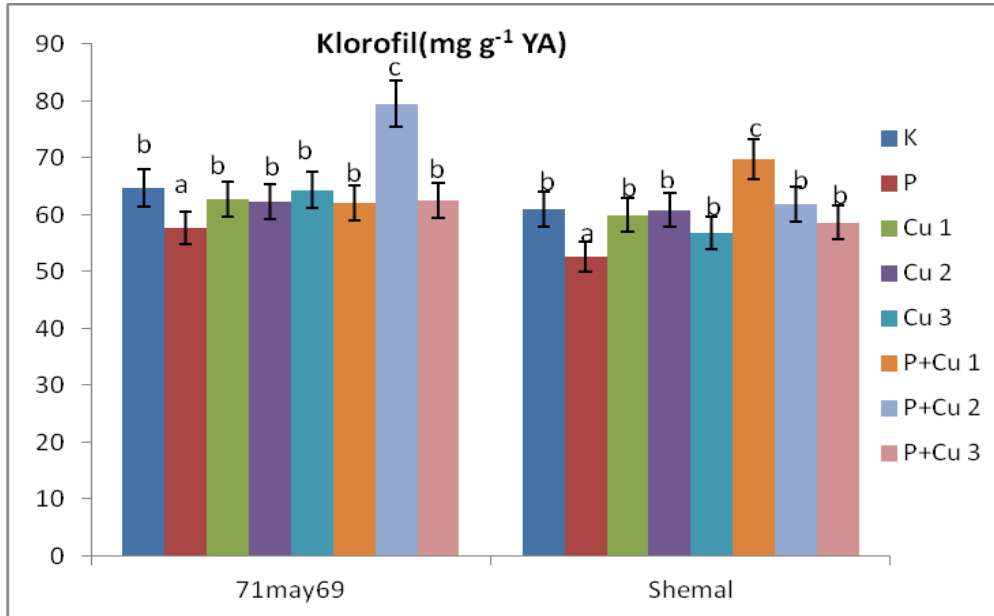
PEG uygulaması kontrol gruplarına göre; her iki kültürde bağıl büyüme oranını azaltmıştır. Bu azalma; 71May69'da % 48.8, Shemal'de ise % 35.3 oranında olduğu tespit edilmiştir. PEG uygulaması, kontrole göre her iki kültürde (71May69, Shemal), bağıl su içeriğini azaltmıştır.

Bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması kontrol gruplarına göre her iki kültürde (71May69, Shemal) bağıl büyüme oranını değiştirmemiştir. Bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, kontrole göre her iki kültürde (71May69, Shemal), bağıl su içeriğini değiştirmemiştir.

PEG+bakır uygulama, PEG uygulamasına göre bağıl büyüme oranını her iki kültürde arttırmıştır. Bu artış; 71May69'da % 21.2, Shemal'de ise % 39.1 oranında olduğu gözlenmiştir. PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması PEG uygulamasına göre her iki kültürde (71May69, Shemal) bağıl su içeriğini arttırdığı tespit edilmiştir.

4.3. Klorofil Miktarı

Klorofil miktarı Şekil 4.1 ile gösterilmiştir.



Şekil 4.1. İki farklı mısır kültürü (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde klorofil içeriğinde (mg g⁻¹YA) gözlenen değişimler

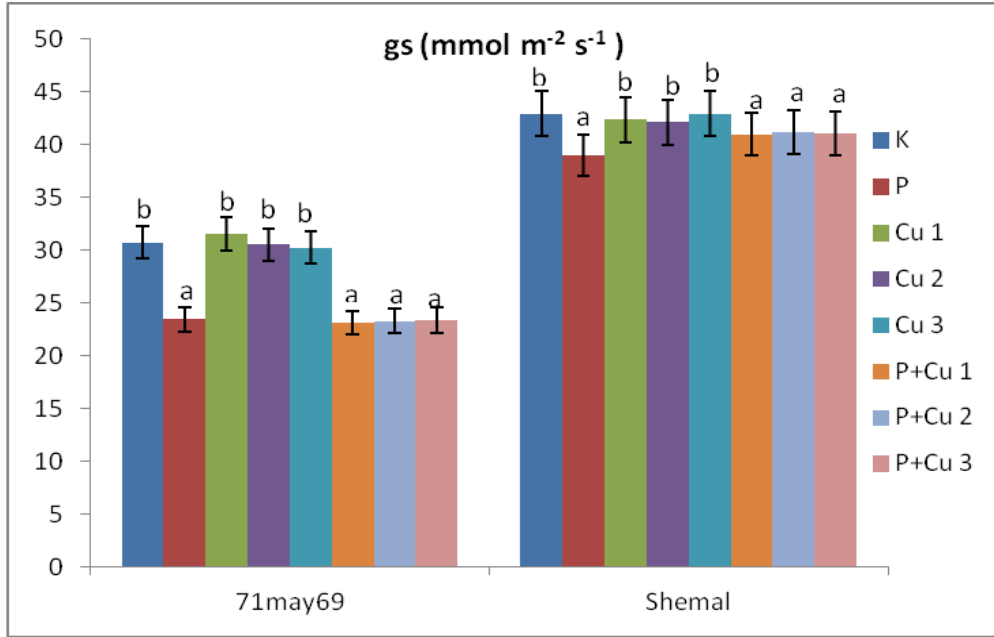
PEG uygulaması kontrol grubuna göre; klorofil içeriğini her iki kültürde azaltmıştır. Bu azalma; 71May69'da %10, Shemal'de ise % 14.6 oranında olduğu belirlenmiştir.

Bakır (0.5 mM,1 mM,1.5 mM) uygulaması kontrol grubuna göre; klorofil içeriğini her iki kültürde (71May69, Shemal) değiştirmemiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre klorofil içeriğini her iki kültürde arttırdığı gözlenmiştir. Bu artma; 71May69'da % 27.4, Shemal'de ise % 32.9 oranında olduğu tespit edilmiştir.

4.4. Stoma İletkenliği

Stoma iletkenliğinde meydana gelen değişimler Şekil 4.2 ile gösterilmiştir.



Şekil 4.2. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde stoma iletkenliğinde (*gs*) gözlenen değişimler

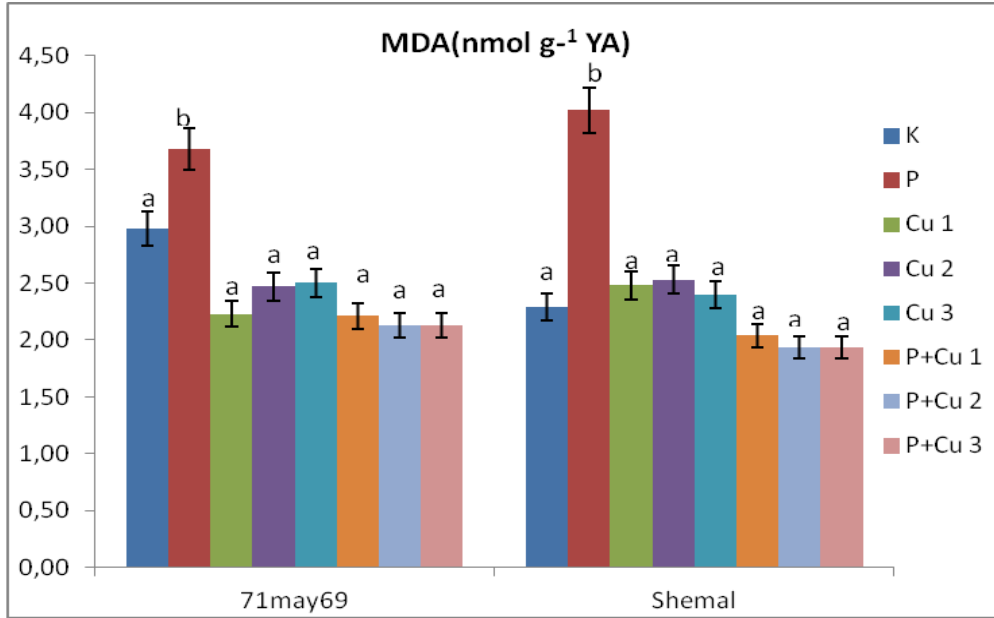
PEG uygulaması, kontrol grubuna göre stoma iletkenliğini; 71May69 'da % 23.6, Shemal'de ise % 8.3 oranında azaltmıştır.

Bakır uygulaması, kontrol grubuna göre her iki kültürde (71May69, Shemal) stoma iletkenliğini değiştirmemiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde (71May69, Shemal) stoma iletkenliğini değiştirmemiştir.

4.5. Lipit Peroksidasyonu (MDA)

Lipit peroksidasyonun (malondialdehid)' da meydana gelen değişimler Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. İki farklı mısır kùltivarında (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde malondialdehid miktarında (nmol/g⁻¹ YA) gözlenen değişimler

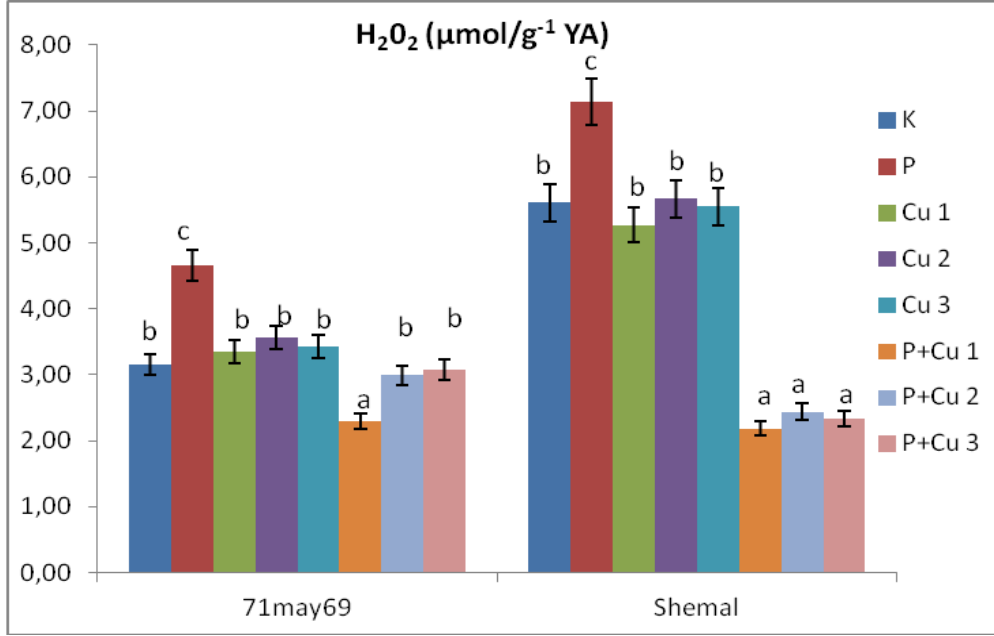
PEG uygulaması, kontrol gruplarına göre MDA miktarını; 71May69 'da % 45, Shemal' de ise % 75.5 oranında arttırmıştır.

Bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kùltivarda MDA miktarını değiştirmemiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kùltivarda MDA miktarını azaltmıştır. Bu azalış; 71May69'da % 42.1, Shemal'de ise % 52 oranında olduğu tespit edilmiştir.

4.6. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı

Hidrojen peroksit miktarında meydana gelen değişimleri Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. İki farklı mısır kültüründe(71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarında (µmol/g⁻¹ YA) gözlenen değişimler

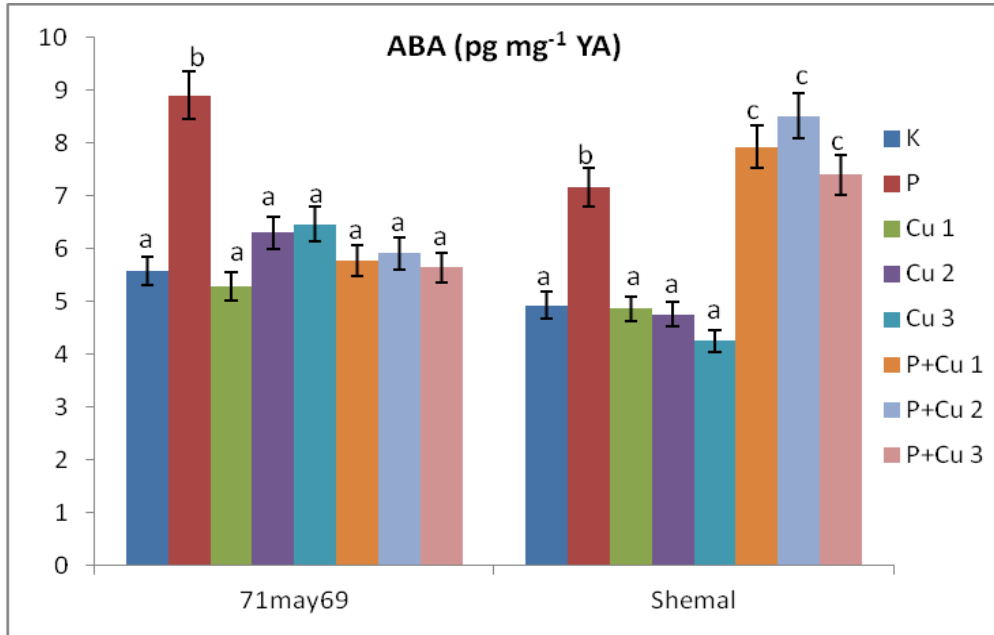
PEG uygulaması, kontrol grubuna göre H₂O₂ miktarını; 71May69'da % 47.4, Shemal'de ise %27.2 oranında arttırdığı tespit edilmiştir.

Bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, kontrole göre her iki kültürde hidrojen peroksit miktarını değiştirmedeği gözlenmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde hidrojen peroksit miktarını azaltmıştır. Bu azalmanın; 71May69'da % 69, Shemal'de ise % 50.6 oranında olduğu tespit edilmiştir.

4.7. Absisik Asit (ABA) Hormon Düzeyi

ABA düzeyi ile ilgili her iki kültüvara ait veriler Şekil 4.5' te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. İki farklı mısır kültüründe (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde ABA düzeyinde (pg mg⁻¹ YA) gözlenen değişimler

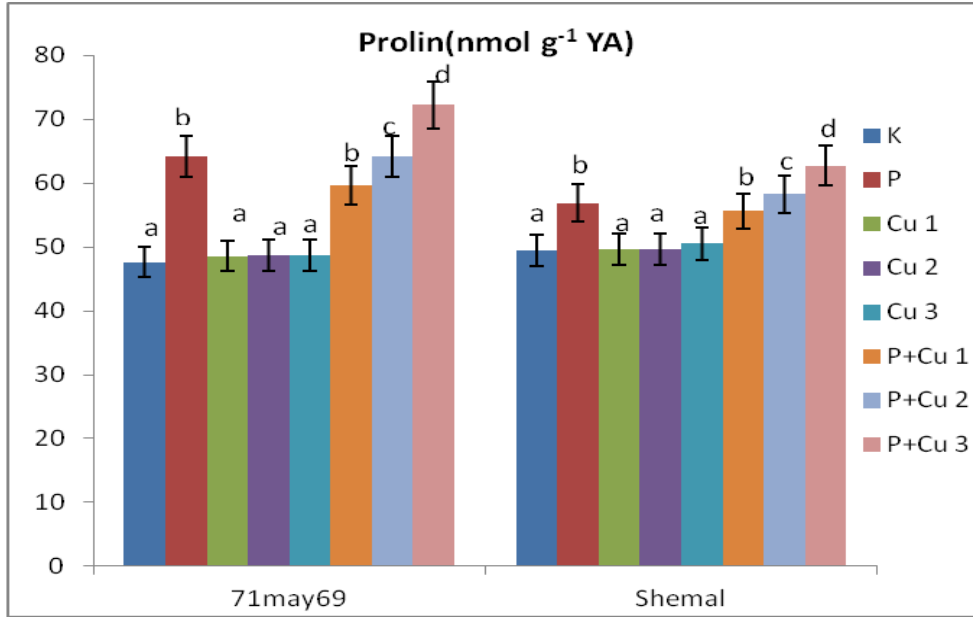
PEG uygulaması, kontrole göre ABA düzeyini; 71May69'da % 59, Shemal'de ise % 45.4 oranında arttırdığı tespit edilmiştir.

Bakır uygulaması, kontrole göre her iki kültürde ABA düzeyini değiştirmediği gözlenmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde ABA düzeyini arttırmıştır. 71May69'da en fazla artış PEG+bakır (1.5 mM) uygulaması ile % 36.5 iken, Shemal'de en fazla artış PEG+bakır (1 mM) uygulaması ile % 18.9 oranında olduğu tespit edilmiştir.

4.8. Prolin miktarı

Prolin miktarı ilgili her iki kültüvare ait veriler Şekil 4.6' da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. İki farklı mısır kültivarında (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde prolin miktarında ($\mu\text{mol/g}^{-1}$ YA gözlenen değişimler

PEG uygulamasının kontrol gruplarına göre prolin miktarını; 71May69'da % 34.4, Shemal'de ise % 14.9 oranında arttırdığı tespit edilmiştir.

Bakır uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültüvarda prolin miktarını değiştirmemiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültüvarda prolin miktarını en fazla PEG+bakır (1.5 mM) uygulaması ile arttırmıştır. Bu artış; 71May69'da % 12.5, Shemal'de ise % 10.7 oranında olduğu tespit edilmiştir.

4.9. İçsel Kalsiyum ve Bakır Miktarı

İçsel bakır seviyesi ile ilgili her iki kültüvara ait veriler çizelge 4.5’ da gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde içsel bakır ve kalsiyum miktarında (%) gözlenen değişimler

	Kültivarlar	71may69	Shemal
Ca ⁺⁺ (%)	Kontrol	0.47±0.002 ^c	0.54±0.004 ^b
	PEG	0.46± 0.002 ^c	0.54±0.004 ^b
	0.5 mM Cu	0.46±0,003 ^c	0.49±0,003 ^b
	1 mM Cu	0.45±0.003 ^c	0.53±0.003 ^b
	1.5 mM Cu	0.50±0.01 ^c	0.48±0.003 ^b
	PEG+0.5mM Cu	0.39±0.002 ^b	0.44±0.003 ^a
	PEG+1 mM Cu	0.38±0.004 ^b	0.37±0.006 ^a
	PEG+1.5mM Cu	0.29±0.004 ^a	0.32±0.004 ^a
Cu ⁺⁺ (%)	Kontrol	7.3±0.02 ^a	13.8±0.05 ^b
	PEG	7.7±0.04 ^a	7.7±0.005 ^a
	0.5 mM Cu	13.4±0.05 ^b	15.9±0.02 ^a
	1 mM Cu	11.7±0.02 ^b	15.9±0.03 ^b
	1.5 mM Cu	23±0.05 ^c	39.7±0.04 ^c
	PEG+0.5mM Cu	20.5±0.05 ^c	29.6±0,03 ^c
	PEG+1 mM Cu	19.8±0.01 ^c	23.7±0.04 ^c
	PEG+1.5mM Cu	21±0.01 ^c	20.7±0.09 ^c

PEG uygulaması, kontrole göre her iki kültürde içsel bakır miktarını; 71May69’da değiştirmemiş; Shemal’de ise % 44.2 oranında arttırmıştır. PEG

uygulamasý, kontrol gruplarına göre her iki kltivarda içsel kalsiyum miktarýnı deęiřtirmemiřtir.

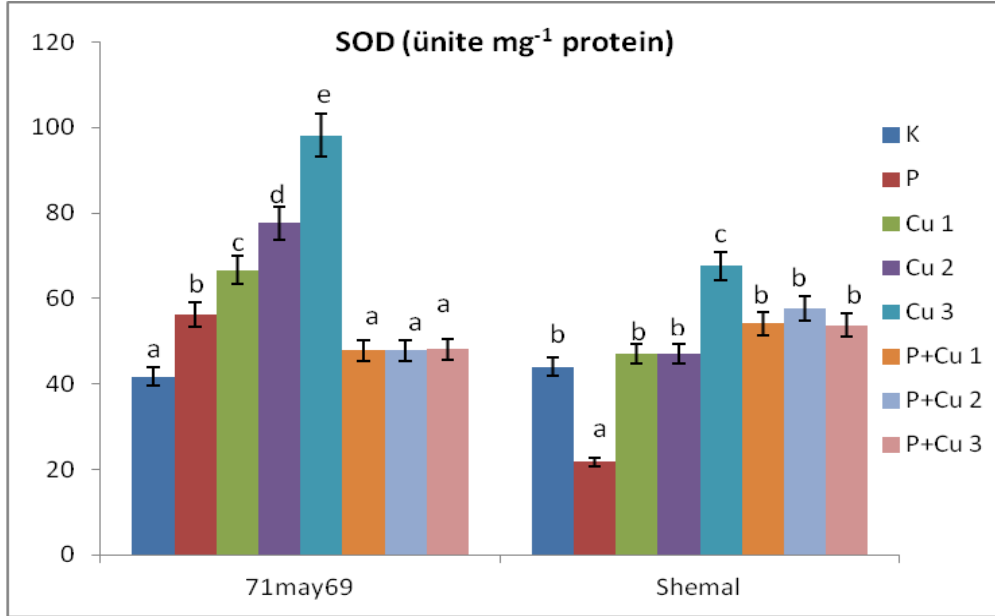
Bakır uygulamasý, kontrol gruplarına göre her iki kltivarda içsel bakır miktarýnı arttırmıřtır. Bu artıř; 71May69'da 2.3 kat, Shemal'de ise 1.8 kat olarak tespit edilmiřtir. Bakır uygulamasý, kontrol gruplarına göre her iki kltivarda içsel kalsiyum miktarýnı deęiřtirmemiřtir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasý, PEG uygulamasýna göre her iki kltivarda bakır miktarýnı 71May69'da 1.7 kat, Shemal'de ise 2.8 kat artıřa neden olmuřtur. PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasý, PEG uygulamasýna göre her iki kltivarda kalsiyum miktarýnı azaltmıřtır. Bu azalmanın 71May69'da % 17.3, Shemal'de ise % 40.7 oranında olduęu tespit edilmiřtir.

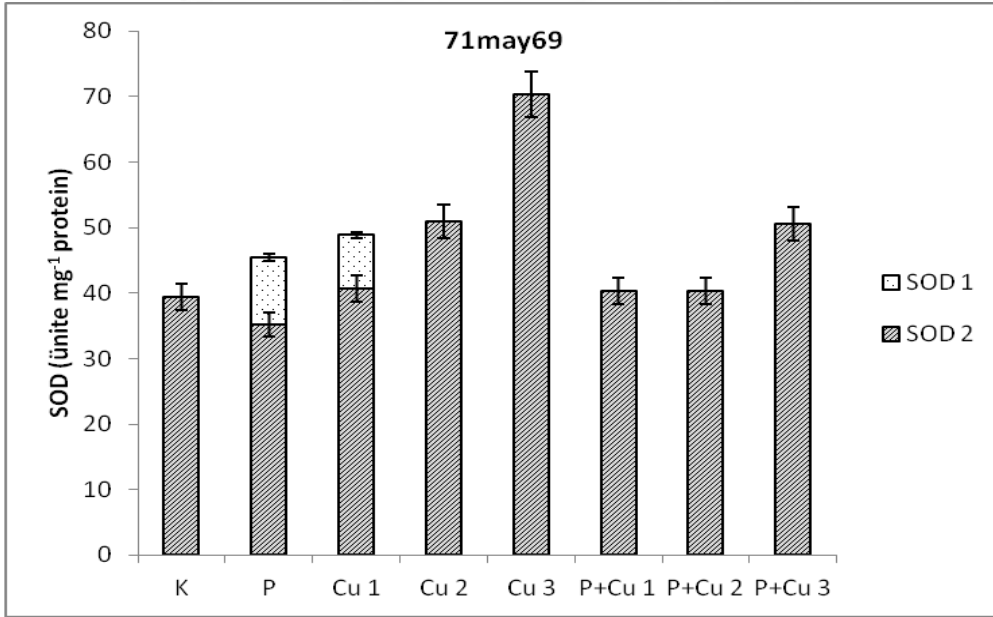
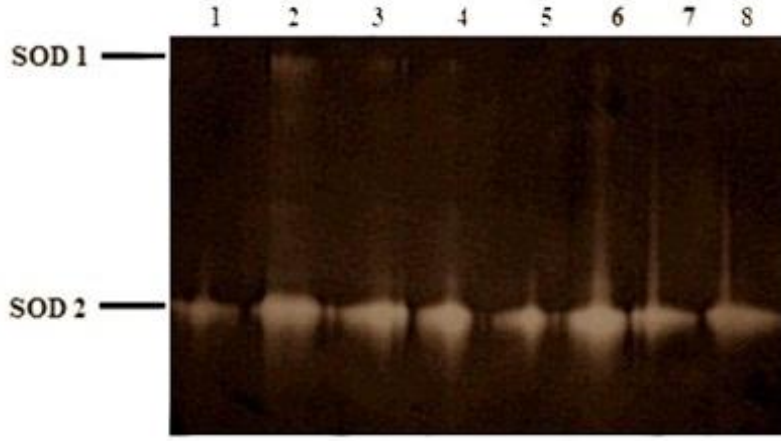
4.10. Antiosidant Enzim Aktiviteleri

4.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi

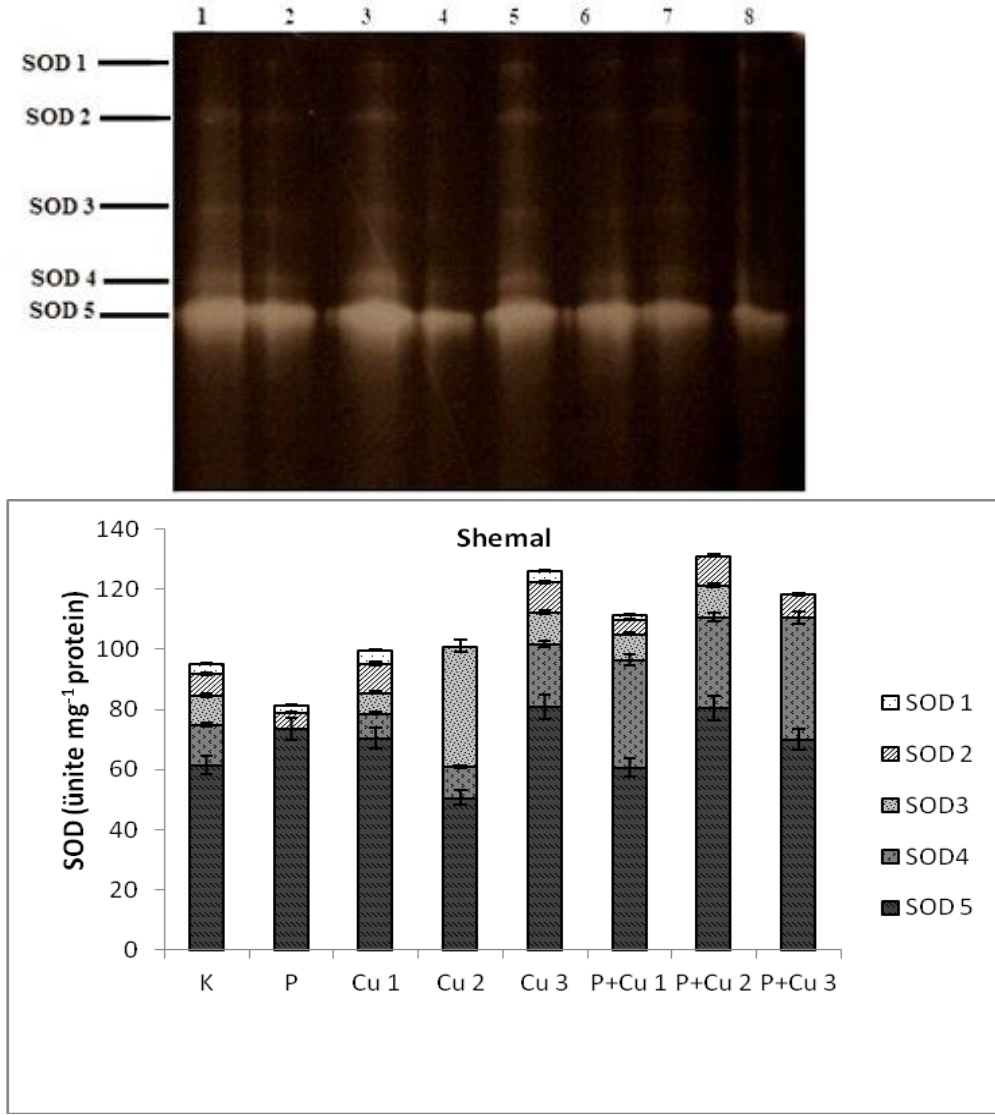
Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi ile ilgili her iki kültüvara ait veriler Şekil 4.7' de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. İki farklı mısır kültürünün(71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde SOD enzim ve izoenzim aktivitesinde (ünite/mg⁻¹protein) gözlenen değişimler



Şekil 4.8. Mısır kültürü (71May69)' nın PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. günde SOD izoenzim aktivitesinde (ünite/mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler



Şekil 4.9. Mısır kültüvarı (Shemal)'nın PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.günde SOD izoenzim aktivitesinde (ünite/mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler

PEG uygulaması, kontrole göre her iki kültüvarda SOD enzim aktivitesini farklı etkilemiştir. 71May69'da % 34.7 oranında arttırırken; Shemal'de % 50 oranında azalttığı gözlenmiştir.

Bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, kontrole göre her iki kültüvarda SOD enzim aktivitesini arttırmıştır. Bu artışın; en fazla bakır (1.5 mM) uygulaması ile 71May69'da 1.3 kat, Shemal'de ise % 53 oranında olduğu tespit edilmiştir.

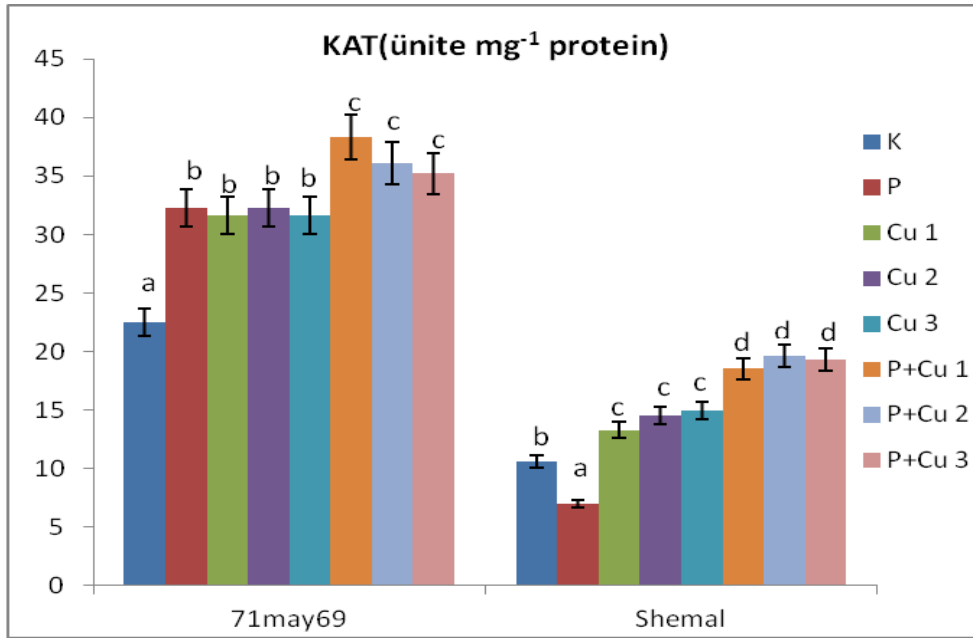
PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültüvarda SOD enzim aktivitesi; 71May69' da en fazla PEG+bakır (1 mM) uygulaması

ile % 14.4 oranında azaltmıştır. Shemal’ de ise en fazla PEG+bakır (1 mM) uygulaması ile 1.6 kat arttırmıştır.

Kuraklık stresi altında bakır uygulaması ile iki farklı mısır kültüründe SOD izoenzimlerinde meydana gelen değişimde; 71May69’ da iki izoenzim (SOD1, 2), Shemal’de ise beş izoenzim (SOD 1, 2, 3, 4, 5) belirlenmiştir. PEG uygulaması ile 71May69’ da SOD 1 (% 10.25) ve SOD 2’ de (% 35.2) oranında artmaya neden olurken; Shemal’de ise SOD 1, 2 ve 5 izoenziminde artma, SOD 3 ve 4 izoenziminde azalma olduğu tespit edilmiştir. PEG+bakır uygulaması 71May69’ da SOD izoenziminde azalma; Shemal’de ise SOD izoenziminde artmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

4.10.2. Katalaz (KAT) Enzim aktivitesi

Katalaz (KAT) enzim aktivitesi ile ilgili her iki kültüvare ait veriler Şekil 4.10’ da gösterilmiştir.



Şekil 4.10. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde KAT enzim aktivitesinde (ünite/mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler

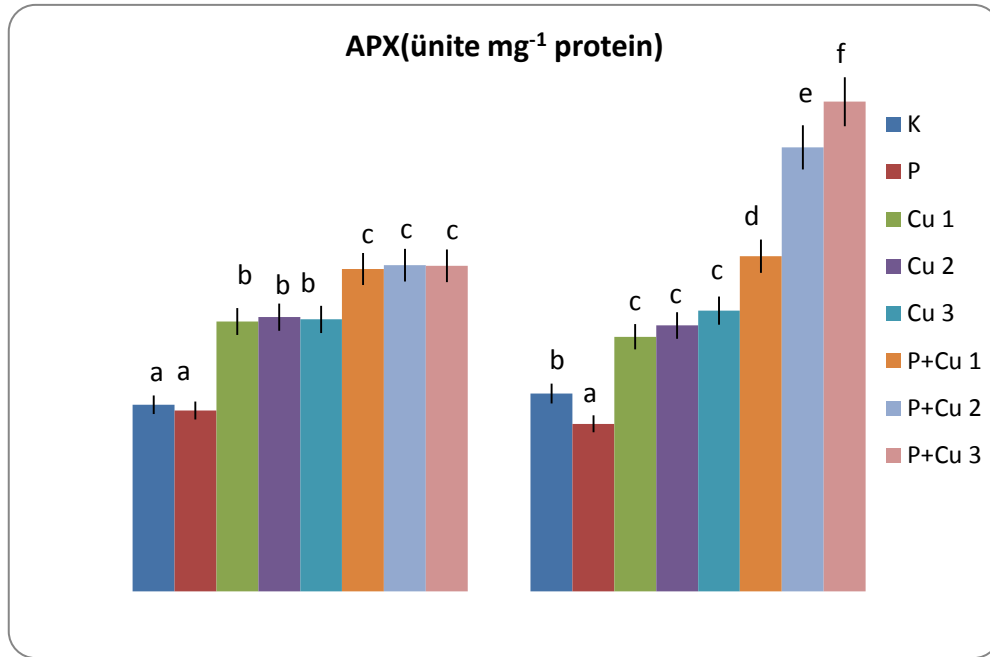
PEG uygulamasının kontrol gruplarına göre katalaz aktivitesini, 71May69’da % 43.5 oranında arttırırken, Shemal’de ise % 33.8 oranında azaltmış olduğu gözlenmiştir.

Bakır (0.5 mM,1 mM,1.5 mM) uygulaması, kontrole göre her iki kültürde katalaz enzim aktivitesini arttırmıştır. Bu artış; 71May69’da en fazla bakır (1 mM) uygulaması ile % 43.5, Shemal’de ise en fazla bakır (1.5 mM) uygulaması ile % 40.1 oranında olduğu gözlenmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde katalaz enzim aktivitesini arttırmıştır. Bu artış; 71May69’da en fazla PEG+bakır (0.5 mM) uygulaması ile % 18.5 oranında, Shemal’de ise en fazla PEG+bakır (1 mM) uygulaması ile 1.8 kat olduğu tespit edilmiştir.

4.10.3.Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim aktivitesi

Askorbat peroksidaz enzim aktiviteleri ile ilgili her iki kültüreye ait veriler Şekil 4.11’ te gösterilmiştir.



Şekil 4.11. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5.günde APX enzim aktivitesinde (ünite/mg⁻¹ protein) gözlenen değişimler

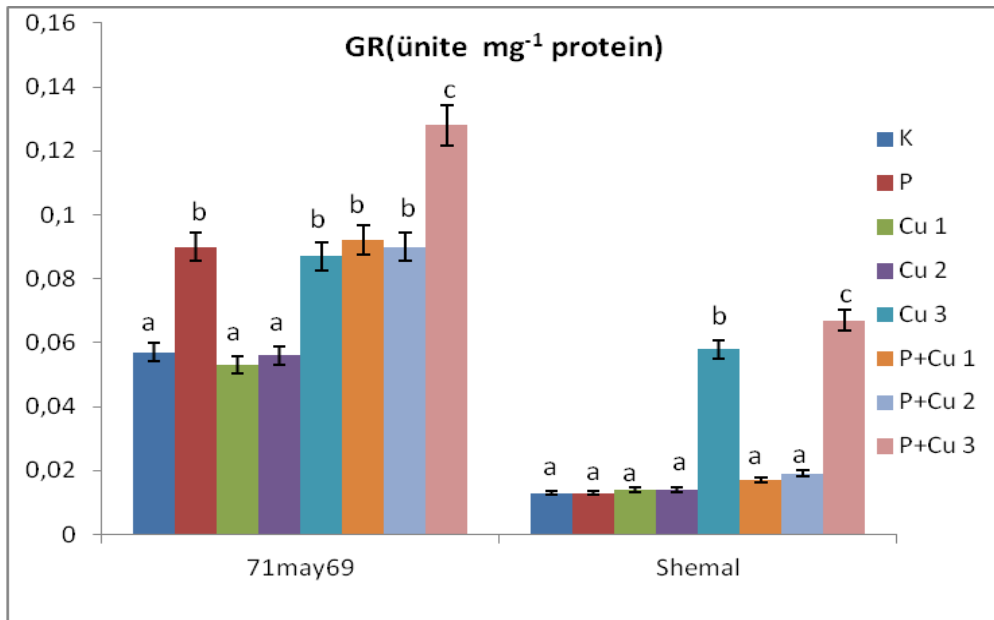
PEG uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültürde APX enzim aktivitesini 71May69’da değişime neden olmamış, Shemal’de ise % 15.3 oranında azaltmıştır.

Bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültürde APX enzim aktivitesini arttırmıştır. 71May69’da en fazla artış; bakır (1 mM) uygulaması ile % 45.6, Shemal’de ise en fazla artış; bakır (1.5 mM) uygulaması ile % 41.9 oranında olduğu tespit edilmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasının PEG uygulamasına göre her iki kültürde APX aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir. Bu artışın; 71May69’da % 80 oranında, Shemal’de ise 1.9 kat olduğu gözlenmiştir.

4.10. 4. Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesi

Glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi Şekil 4.12’ de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde GR aktivitesinde (ünite/mg⁻¹protein) gözlenen değişimler

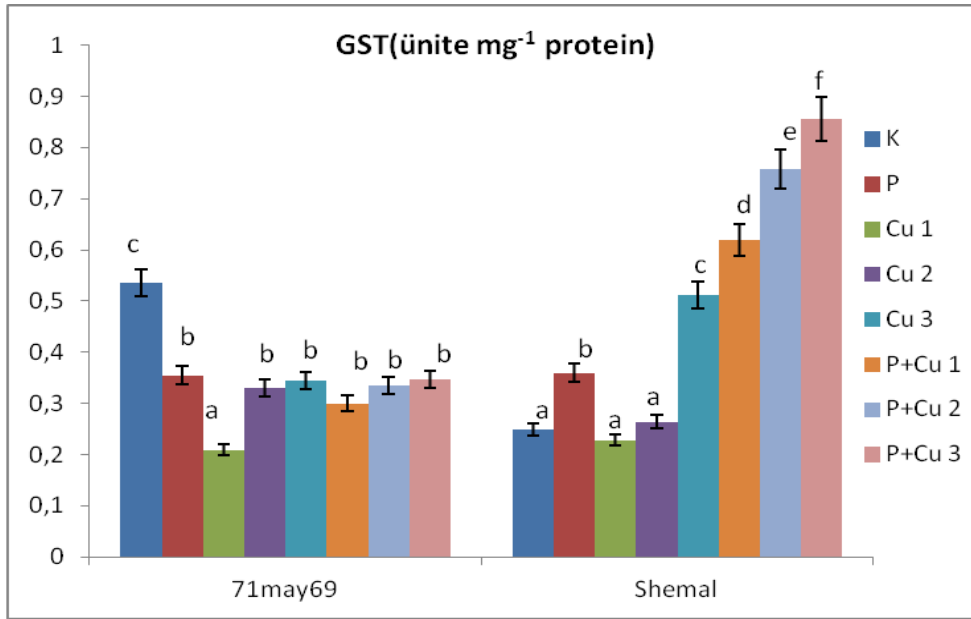
PEG uygulaması, kontrol grubuna göre GR enzim aktivitesini, 71May69’da % 52.6 oranında arttırırken; Shemal’de değiştirmedığı gözlenmiştir.

Bakır uygulaması, kontrole göre her iki kültürde GR enzim aktivitesini; en fazla bakır (1.5 mM) uygulaması ile 71May69’da % 52.6 oranında, Shemal’de ise 3 kat arttırdığı tespit edilmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde GR enzim aktivitesini arttırmıştır. Bu artış; 71May69'da % 42.2 oranında; Shemal'de ise 3.8 kat olarak gözlenmiştir.

4.10.5. Glutasyon s- transferaz (GST) Enzim Aktivitesi

Glutasyon s- transferaz (GST) enzim aktivitesi ile ilgili her iki kültüvare ait veriler Şekil 4.13' de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. İki farklı mısır kültürünün (71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde GST enzim aktivitesinde (ünite/mg⁻¹protein) gözlenen değişimler

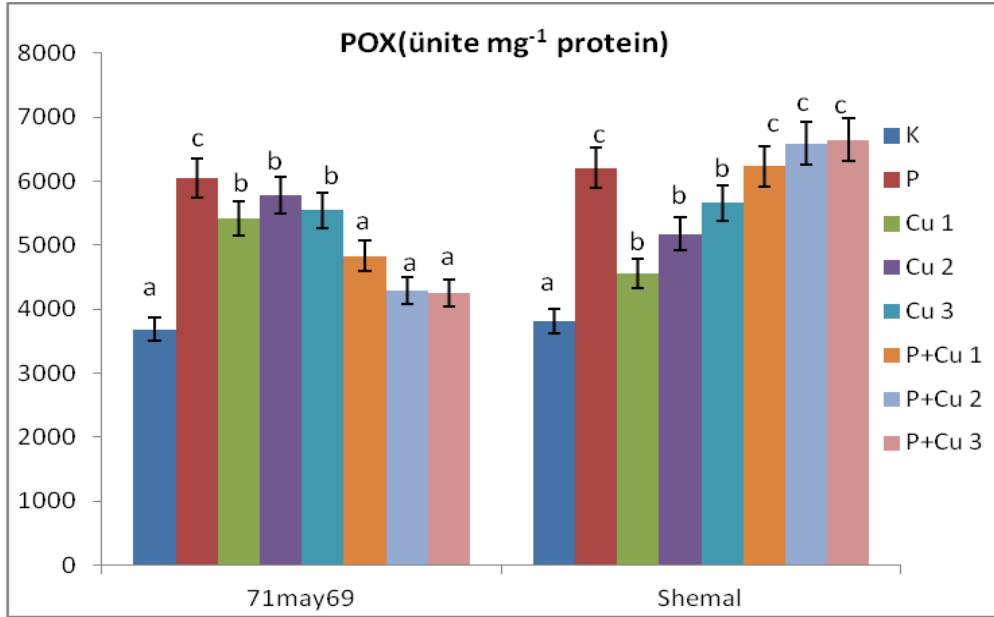
PEG uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültürde GST enzim aktivitesini 71May69'da % 33.9 oranında azaltırken; Shemal'de % 45.8 oranında arttırdığı gözlenmiştir.

Bakır uygulaması kontrol gruplarına göre her iki kültürde GST enzim aktivitesini; 71May69'da % 33 oranında azaltırken, Shemal'de ise 1 kat arttırdığı tespit edilmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde GST enzim aktivitesinde farklı tepki vermiştir. 71May69’da değişim gözlenmezken; Shemal’de 1.4 kat arttırmış olduğu gözlenmiştir.

4.10.6. Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesi

POX enzim aktivitesi ile ilgili her iki kültüvare ait veriler Şekil 4.14’de gösterilmiştir.



Şekil 4.14. İki farklı mısır kültüründe(71May69, Shemal), PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasını takiben 5. gününde POX enzim aktivitesinde (ünite/mg⁻¹protein) gözlenen değişimler

PEG uygulaması, kontrol grubuna göre her iki kültürde POX enzim aktivitesini arttırmıştır. Bu artış; 71May69’da % 64, Shemal’de ise % 62 oranında olduğu gözlenmiştir.

Bakır uygulaması, kontrol grubuna göre her iki kültürde POX enzim aktivitesini; 71May69’da en fazla artış bakır (1 mM) uygulaması ile % 56.9 iken, Shemal’de ise en fazla artışın bakır (1.5 mM) uygulaması ile % 40.8 oranında olduğu tespit edilmiştir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde POX enzim aktivitesinde farklı tepki vermiştir. 71May69’da en fazla PEG+bakır (1.5 mM) uygulaması ile % 20.9 oranında azaltırken; Shemal’de değişime neden olmadığı gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA

5.1. Büyüme Parametreleri

5.1.1. Uzunluk

Bitkide kuraklık stresi altında ortaya çıkan oksidatif hasar sonucu morfolojik, fizyolojik ve moleküler yapılarda bozulmalar olmuştur (Schmidhalter ve Oertli, 1991; El-Tayeb ve Hassanein, 2000; Le Thiec ve Manninen, 2003). Bitkiler kuraklık stresi ile başa çıkmak için birtakım stratejiler geliştirmişlerdir (Farooq ve ark., 2009).

Çalışmamızda PEG uygulaması kontrol gruplarına göre kök uzunluğunu, toleranslı mısır kültüründe arttırmış, duyarlı mısır kültüründe ise azaltmıştır. Bunun yanında gövde uzunluğunu her iki kültürde değiştirmemiştir. Türkan ve ark. (2005)'de yaptıkları çalışmada; kuraklığa duyarlı ve toleranslı fasulye (*Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus acutifolius*) bitkilerinde PEG uygulamasının; kök ve gövde uzunluklarını toleranslı kültürde arttırmış, duyarlı kültürde ise azaltmış olduğu rapor edilmiştir. Diğer bir çalışmada ise, kuraklık stresine bağlı olarak üç farklı mısır kültüründe fide uzunluklarının azaldığı bildirilmiştir (Efeoğlu ve ark., 2009). Benzer şekilde domates bitkisinde kuraklık stresi altında yaprak su içeriğinde meydana gelen azalmanın; kök ve gövde gelişimini engellediği bildirilmiştir (Sanchez-Rodriguez ve ark., 2010). Aslam ve ark. (2013)' te kuraklık stresi altında mısır (*Zea mays* L.) bitkisinde yaptıkları çalışmada; kök gelişiminde artış gözlenirken, gövde gelişiminin azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak çalışmamızda; kuraklığa toleranslı olan mısır kültürü tolerans mekanizmalarını geliştirerek kök uzunluğunu arttırmış ve daha derin su kaynaklarına ulaşma şeklinde adaptasyon mekanizması geliştirmiş olduğu düşünülebilir.

Doğal olarak toprakta bulunan bakır metalinin; yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu bitkide fotosentez ve solunum gibi hücrel faaliyetleri etkileyerek büyümeyi engellediği rapor edilmiştir (Prasad ve Strzalka, 1999; Marschner, 1995). Çalışmamızda bakır (1.5 mM) uygulaması kök uzunluğunu en fazla toleranslı mısır kültüründe arttırırken; duyarlı mısır kültüründe kök uzunluğunu değiştirmemiştir (Çizelge 4.1). Bakır uygulamasının kontrol gruplarına göre her iki kültürde gövde uzunluğunu değiştirmedeği gözlenmiştir. Ayrıca bakır uygulamasının bağıl su içeriği ve

bağıl büyüme oranını değiştirmemiş olması; uygulanan bakırın bitkide stres oluşturacak düzeyde olmayışı ile açıklanabilir. Bunun yanında içsel bakır miktarında artışın yalnızca bakır (1.5 mM) uygulanan grupta gözlenmesi; kökte bakırın tutularak, gövdeye taşınımının engellenmesi sonucu olduğu düşüncesindeyiz. Domates bitkisinde yapılan bir çalışmada; topraktan (kontrol, 1000 ve 2000 ppm) ve yapraktan (bakır oksiklorid ve metalik bakır) artan düzeylerde bakır uygulaması; sadece toprak ya da sadece yapraktan uygulamalara göre toprak ve yapraktan birlikte uygulandığında; toplam verim, meyve sayısı, kök kuru ağırlığı ve bitki boyunda azalmanın daha fazla olduğu bildirilmiştir (Sönmez ve ark., 2006). Tanyolaç ve ark. (2007)'de yaptıkları çalışmada; iki farklı mısır kùltivarına dışardan bakır uygulaması ile duyarlı kùltivarda kök uzunluğunun değişmediği, gövde uzunluğunun ise azaldığı tespit edilmiştir. Thounaojm ve ark. (2012)'de prinçte (*Oryza sativa* L. var. MSE-9) yaptıkları çalışmada; bakır (10, 20, 100 µM) uygulaması kök ve gövde gelişimini engellemiştir. Bu sonuçların çalışma sonuçlarımıza zıt olması; uygulama yapılan bitki farklılığının yanı sıra uygulama süresi ve konsantrasyon farklılığından kaynaklı olduğu şeklinde düşünölebilir.

PEG+bakır uygulaması, her iki kùltivarda kök uzunluğunu kontrole göre arttırmış, gövde uzunluğunu değiştirmemiştir (Çizelge 4.1). Kalefetoğlu ve Ekmekçi, (2009)'da nohut (*Cicer arietinum* L.) bitkisinde yaptıkları çalışmada, kuraklık+tuz stresi altında bitki kök ve gövde uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca Li ve ark. (2004)'te yaptıkları çalışmada; bakıra toleransı olan bitkilerin, köklerde bakırı biriktirerek büyümeyi arttırırken; bakıra duyarlı olan bitkilerin ise gövdeye taşınımının engellenemediği için büyümeyi arttırmadığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlara bağlı olarak; çalışmamızda PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması ile kök uzunluğunda meydana gelen artışın, kökten gövdeye bakır taşınımını engelleyerek sağladığı şeklinde yorumlanabilir.

5.1.2. Ağırlık

Su stresi, bitkilerde hücre bölünmesi ve hücre genişlemesini engelleyerek; bitkinin fotosentez kapasitesi, solunum mekanizması, iyon alınımı, karbohidratlar ve diğer besin metabolizmaları gibi bir çok fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri engellemektedir (Blum, 1996; Chaitanya ve ark., 2003; Bhatt ve ark., 2005). Çalışmamızda PEG uygulaması her iki kùltivarda kök ve gövde yaş, kuru ağırlıklarını kontrole göre

azaltmıştır. Daha önce yapılmış olan birçok çalışmada kuraklık stresine bağlı kök ve gövde ağırlığının azaldığı bildirilmiştir (Alexieva ve ark., 2001; Hamayun ve ark., 2010). Ayrıca Jbir ve ark. (2001)'de yaptıkları çalışmada iki farklı buğday (*Triticum* durum var. Ben Béchir-*Triticum aestivum* var. Tanit)'da tuz stresine bağlı olarak kök ve gövde ağırlığının azaldığı rapor edilmiştir.

Daha önce yapılmış olan birçok çalışmada; bitkilere uygulanan yüksek düzeyde bakırın; bitkide metal stresi oluşturup ağırlığı azalttığı bildirilmiştir (Elisa ve ark., 2007; Andrade ve ark., 2010; Thounaojam ve ark., 2012). Çalışmamızda bakır uygulaması kontrol gruplarına göre her iki kültürde kök ağırlığını arttırmış, gövde ağırlığını değiştirmemiştir (Çizelge 4.2). Bu sonuçlara zıt olarak; bakır uygulaması kabak (*Cucumis sativus*)'ta Ca^{++} , Mg ve K^{+} üzerine olumsuz etki yaparak; kök ve gövde ağırlığını azalttığı bildirilmiştir (Alaoui-Sosse ve ark., 2004). Fidalgo ve ark. (2013)'de patlıcan (*Solanum nigrum* L.)' da yaptıkları çalışmada; bakır (100 μ m, 200 μ m) uygulamasın kök ve gövde ağırlığında azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda bakır uygulamasının her iki mısır kültüründe; Bağıl büyüme oranını ve klorofil içeriğini değiştirmemiş olması; bakırın kökten gövdeye taşınımı engellenmesi sonucu gerçekleştirdiği düşünülebilir. Bunun yanında BSI, MDA ve ABA hormon seviyelerinde herhangi bir değişimin olmaması; oluşan AOT'ın stres oluşturacak düzeyde olmayışı ile ilgili olduğu söylenilebilir.

PEG+bakır uygulaması; her iki kültürde kök ve gövde yaş, kuru ağırlığını arttırmıştır (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3). Buna paralel olarak; biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bitkisine tuz stresi (50 mM) + bakır (1 μ m)'ın birlikte uygulanması, kök ve gövde kuru ağırlıklarında değişim gözlenmemesi; uygulanan tuz ve bakırın bitkide stres oluşturacak düzeyde olmayışı ile ilişkilendirilmiştir (Hejazi-Mehrzi ve ark., 2012). Çalışmamızdan farklı olarak buğday (*Triticum aestivum* L.) fidelerinde sıcaklık stresi altında bakır ve kadmiyum uygulaması ile çözünür protein içeriklerinde azalma gözlenmiştir. Bu azalmanın kadmiyum uygulanan grupta daha fazla olduğu bildirilmiştir (Muslu ve Ergün, 2012). Bu sonuçlara bağlı olarak; PEG+bakır uygulamasının PEG uygulamasına göre kök ve gövde ağırlığını arttırması, uygulanan bakırın bitkide prolin ve bakırın kökte birikerek su dengesini koruduğu düşünülebilir.

5.1.3. Bağlı Büyüme Oranı (BBO)

Çalışmamızda PEG uygulaması, kontrol gruplarına göre Bağlı büyüme oranını her iki kültürde azaltmıştır. Buna paralel olarak; fasülye (*Phaseolus vulgaris*) bitkisinde kuraklık stresi altında yapılan çalışmada; BBO'da azalma olduğu bildirilmiştir (Costa Franca ve ark., 2000). Olszewska ve ark. (2008)'de İngiliz çimi (*Lolium perenne* L.) ve Domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) bitkilerinde tuz stresi altında yaptıkları çalışmada; uygulanan tuz konsantrasyonlarının BBO'nunu azalttığını tespit etmişlerdir.

Bakır uygulaması, kontrole göre BBO'nı her iki kültürde değiştirmemiştir. Çalışmamıza paralel olarak hardal (*Brassica* sp.) yapraklarına dışarıdan uygulanan bakırın BBO 'nı engellemediği bildirilmiştir (Li ve ark., 2009). Çalışmamızdan farklı olarak; Lombardini ve Sebastiani, (2005)'te *Prunus cerasifera*'da yaptıkları çalışmada; dışarıdan uygulanan bakırın büyümeyi engellediği rapor edilmiştir. Ayrıca pirinç (*Oryza sativa*)'te dışarıdan kadmiyum uygulaması ile yapılan çalışmada; büyümenin engellendiği bildirilmiştir (Chun-hua ve Ying, 2008). Çalışmamızda mısır kültürlerine uygulamış olduğumuz bakır metalinin MDA, H₂O₂ miktarını arttırmayıp, büyümeyi engellememiş olması; bitkide stres oluşturmaması ile ilişkilendirilebilir.

PEG+bakır uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde bağlı büyüme oranını arttırmıştır (Çizelge 4.4). Anjum ve ark. (2011)'de yaptıkları çalışmada; doğal bir gübre olan fulvik asitin kuraklık stresi altında mısır bitkisine uygulandığında; bitkide kökte membran geçirgenliğini arttırmış ve su açığını azaltarak ve bağlı büyüme oranını arttırdığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak uyguladığımız bakır metali bitkide stres oluşturmayıp; kuraklık stresi altında bitki su dengesini ABA hormonundan bağımsız prolin artışı ile sağlayarak büyümeği arttırdığı şeklinde yorumlanabilir.

5.1.4. Bağlı Su İçeriği (BSİ)

Bağlı su içeriği; bitkide yaprak oransal su içeriğini % olarak ifade eder. Çalışmamızda iki farklı mısır kültürü (71May69,Shemal)'na PEG uygulanması sonucu BSİ kontrol gruplarına göre azaldığı gözlenmiştir. Buna paralel olarak; Abdalla ve El-Khoshiban, (2007)'de yaptıkları çalışmada; buğday bitkisine uygulanan kuraklık stresinin BSİ'ni azalttığı tespit edilmiştir. Türkan ve ark.(2005)'te fasülye bitkisinde, Romanello ve ark. (2008)'de hint kamışı (*Acorus americanus*) bitkisinde yaptıkları

çalışmalarda; kuraklık stresine bağlı bağlı su içeriğinin azaldığı rapor edilmiştir. Çalışmamızda PEG uygulaması; duyarlı kültürde toleranslı kültüvare göre yaprak su içeriğini daha fazla azaltmış olması; ABA artışına bağlı olarak stoma iletkenliğinin azalması ile ilişkilidir. Çalışmamıza benzer şekilde Kramer ve Boyer, (1995)'te yaptıkları çalışmada; kuraklık stresinin stomaların kapanmasına neden olarak, fotosentezi engellediği bildirilmiştir.

Çalışmamızda bakır uygulaması, kontrol grubuna göre BSİ'ni değiştirmemiştir (Çizelge 4.4). Pirinçte yapılan çalışmada dışarıdan uygulanan bakırın; bağlı su içeriğini değiştirmedeği bildirilmiştir (Chen ve ark., 2001). Bu sonuçlardan farklı olarak; Hejazi-Mehrizi ve ark. (2012)' de biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisinde yaptıkları çalışmada bakır (0.5 ve 1 mM) uygulamasının BSİ 'ni azalttığı rapor edilmiştir. Diğer bir çalışmada ise ayçiçeği (*Heliantus annuus*) bitkisinde; dışarıdan uygulanan bakır; BSİ' ni azaltmıştır (Kastori ve ark., 2008).

PEG+bakır uygulaması; PEG uygulanan gruba göre her iki kültürde BSİ' ni arttırmıştır. Bu sonuçlardan farklı olarak bir çok çalışmada; tuz (50, 100 mM)+bakır uygulaması BSİ' ni azaltmıştır (Izzo ve ark., 1991; Villora, 2000; Hejazi-Mehrizi ve ark., 2012). Çalışmamızda farklı konsantrasyonlarda uygulamış olduğumuz bakırın; bitkide ağır metal stresi oluşturacak düzeyde olmayışı, MDA ve hidrojen peroksit miktarında artma olmadığı, bitki tarafından besleyici mineral olarak kullanıldığı şeklinde yorumlanabilir (Çizelge 4. 4).

5.2. Klorofil Miktarı

Çalışmamızda PEG uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültürde klorofil miktarını azaltmıştır. Buna paralel olarak; deniz semizotu (*Sesuvium portulacastrum*)'na uygulanan PEG'in oluşturduğu kuraklık stresine bağlı olarak yapraklarda prolin artışı, yaprak su içeriği ve klorofil içeriğinde azalma ile K⁺ iyonu arasında pozitif ilişki olduğu bildirilmiştir (Slama ve ark., 2007). Diğer bir çalışmada PEG uygulamasının buğday (*Triticum durum*) bitkisi yapraklarında klorofil pigmentlerinde ve prolin içeriğinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (El Houssine ve ark., 1997).

Bakır uygulaması, kontrole göre her iki mısır kültüründe klorofil içeriğini değiştirmemiştir (Şekil 4.1). Çalışmamızdan farklı olarak; biber (*Capsicum annuum*) fidelerine dışardan uygulanan bakırın, toplam klorofil içeriğini azalttığı bildirilmiştir (Koç ve ark., 2009).

PEG+bakır uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde klorofil içeriğini arttırmıştır. Bu sonuçlara bağlı olarak uygulamış olduğumuz bakır metali kuraklığa tolerans sağlamada; ABA hormonunun etkisine bağlı olarak değil; prolin aminoasiti ve diğer osmolitlerin sentezini arttırarak sağladığı şeklinde yorumlanabilir.

5.3. Stoma İletkenliği

PEG uygulaması; kontrole göre her iki kültürde stoma iletkenliğini azaltmıştır. Bağlı Su İçeriğinin azalması; stoma hücrelerinin turgorunu kaybederek stomaların kapanmasına neden olmuştur. Daha önce yapılan çalışmada; stoma iletkenliği ve yaprak su içeriğinde meydana gelen değişimlerin, bitkinin içinde bulunduğu stresin yoğunluğuna göre değişim gösterdiği bildirilmiştir (Reddy ve ark., 2004). Bu sonuçlara bağlı olarak kuraklık stresi altında ABA düzeyinde meydana gelen artış, stomaların kapanmasını sağlamış, fakat su dengesini koruyamamıştır. Buna bağlı olarak bağlı su içeriğini azalttığı şeklinde yorumlanabilir.

Bakır uygulaması, kontrol gruplarına göre stoma iletkenliğini değiştirmemiştir. Bundan farklı olarak; Cárcomo ve ark. (2012)'de tuzluluk stresi (100 mM NaCl) altında mısır bitkisinde yaptıkları çalışmada; stoma iletkenliğinin azaldığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara bağlı olarak mısır bitkisine uyguladığımız bakırın; bitkide stres oluşturmamış olması; MDA klorofil, stoma, ABA ve BSİ' nin değişmemesi ile açıklanabilir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde stoma iletkenliğini arttırmıştır (Şekil 4.2). Buna paralel olarak; Waraich ve ark. (2011)'de yaptıkları çalışmada besleyici elementlerden olan bakır (Cu) ve bor (B)'un kuraklık stresine tolerans sağlamada stomalar üzerine pozitif etki yaparak; düzgün çalışmasını sağladığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak uyguladığımız bakır metali; kuraklık stresinin stoma üzerinde oluşturduğu olumsuz etkinin ortadan kaldırılmasını sağladığı düşünülebilir. Bunu ABA artışını belirli bir seviyede tutarak başarmıştır.

5.4. Lipit Peroksidasyonu (MDA)

Bitkilerde AOT' in lipitleri peroksidasyona uğratarak; MDA miktarında artış gözlenmesi stresin bir belirticidir. Çalışmamızda mısır yapraklarındaki oksidatif hasar,

lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) miktarına göre belirlenmiştir. PEG uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültürde MDA miktarını arttırmıştır. Buna paralel olarak kuraklık stresi altında iki farklı mısır kültüründe yapılan çalışmada; MDA miktarının arttığı tespit edilmiştir (Moussa ve Abdel-Aziz, 2008). Reedy ve ark. (2004)' de yaptıkları çalışmada; kuraklık stresinin bitki kök ve yapraklarda MDA miktarını arttırdığı rapor edilmiştir.

Bakır uygulaması, kontrole göre her iki kültürde MDA miktarını değiştirmemiştir (Şekil 4.3). Bu sonuçlardan farklı olarak; Posmyk ve ark. (2009)'da kırmızı lahanada (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) fidelerine dışardan uygulanan bakır (2.5 mM)' ın MDA miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada ise üzüm (*Solanum nigrum* L.)'e dışardan uygulanan bakırın prolin ve MDA miktarını arttırdığı bildirilmiştir (Fidalgo ve ark., 2013).

PEG+bakır uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde MDA miktarını azaltmıştır (Şekil 4.3). Bu sonuçlara bağlı olarak; mısır bitkisine kuraklık stresi altında dışardan uygulanan bakır (1 mM, 1.5 mM)'ın yapraklarındaki MDA ve H₂O₂ miktarını azaltarak oksidatif hasarın iyileştirilmesinde etkinlik sağladığı düşünülebilir.

5.5. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı

Kuraklık stresine bağlı olarak ortaya çıkan reaktif oksijen türlerinden olan; H₂O₂, OH⁻ ve O₂⁻ oksidatif hasara sebep olmaktadır. H₂O₂, hücre metabolizması için oldukça zararlı olan AOT türlerinden biridir (Azevedo Neto ve ark., 2005). Çalışmamızda PEG uygulaması, kontrol gruplarına göre her iki kültürde H₂O₂ miktarını arttırmıştır. Buna paralel olarak mısır bitkisinde kuraklık stresine bağlı olarak H₂O₂ miktarının; duyarlı mısır kültüründe, toleranslı mısır kültürüne göre daha fazla arttığı bildirilmiştir (Chugh ve ark., 2011; Hossain, 2013; Chugh ve ark., 2013). Ayrıca arpa (*Hordeum vulgare* L.)'da kuraklık stresine bağlı olarak H₂O₂ miktarının arttığı bildirilmiştir (Haluskova ve ark., 2009).

Çalışmamızda bakır uygulaması kontrol grubuna göre her iki kültürde hidrojen peroksit miktarını değiştirmemiştir. Bu sonuçlardan farklı olarak pirinç (*Oryza sativa*)'te bakır (50 µM, 100 µM) uygulaması ile H₂O₂ miktarı, artan bakır

konsantrasyonuna paralel olarak artış gösterdiği bildirilmiştir (Thounaojan ve ark., 2012).

PEG+bakır uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kültürde H_2O_2 miktarını azaltmıştır (Şekil 4.4). Çalışmamızdan farklı olarak; lahanada (*Brassia campestris*)'da tuzluluk ve kuraklık stresinin birlikte uygulanması H_2O_2 miktarında artışa neden olduğu bildirilmiştir (Hossin ve ark., 2013). Bu sonuçlara bağlı olarak kuraklık stresi altında uygulanan bakır metali H_2O_2 indirgenmesinde; bazı antioksidan enzim aktivitelerini uyularak, kuraklık stresinin oluşturduğu hasarı ortadan kaldırmada etkinlik sağladığı şeklinde yorumlanabilir.

5.6. ABA Düzeyi

ABA dehidrasyon koşulları altında üretilen ve kuraklık stresine yanıt oluşturmada oldukça önemli role sahip fito hormon olduğu bildirilmiştir (Shinozaki ve Yamaguchi-Shinozaki, 2000). Daha önce yapılmış olan çalışmada; bitkide stres koşulları altında ABA hormonu ile stoma iletkenliği arasında doğrudan bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Socias ve ark., 1997). Köklerde sentezlenen ve bekçi hücrelerine taşınan absisik asit (ABA), bekçi hücrelerindeki hipotetik ABA reseptörüne bağlanarak, kuraklık stresi koşulları altında stomaların kapanmasını sağlar (Taiz ve Zeiger, 1998). Bu çalışmada, ABA düzeyi her iki mısır kültüründe kuraklık stresine bağlı olarak artmış ve stomaların kapatılmasına yol açmıştır. Ayrıca prolin miktarında da her iki kültürde artış gözlenmiştir (Şekil 4.6). Bu sonuçlar, Garcia-Mata ve Lamattina, (2001)'da kuraklık stresi altında buğday (*Triticum aestivum*)'da yaptıkları çalışma ile benzer sonuçlar içerdiği tespit etmişlerdir.

Bakır uygulaması, kontrole göre her iki mısır kültüründe içsel ABA ve prolin düzeyini değiştirmemiştir (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6). Çalışmamızdan farklı olarak; Zengin ve Kirbag (2007)'de ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinde yaptıkları çalışmada, dışarıdan bakır uygulaması, ABA düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada, yalnız bakır uygulaması mısır yapraklarında stres oluşturmaması; ABA düzeyinde artış gözlenmemesi ile desteklenebilir.

PEG+bakır uygulaması, PEG uygulamasına göre toleranslı kültürde ABA düzeyini azaltmış olmasına rağmen, stoma iletkenliğini değiştirmemiştir (Şekil 4.5).

Duyarlı kùltivarda ise ABA dűzeyinde artıř olmasına rađmen, stoma iletkenliđinde deđiřim gűzlenmemiřtir. Bu durumda PEG+bakır uygulaması ABA dűzeyini arttırmıř, fakat bu artıř stoma hűcrelerini kapatacak dűzeyde olmamıř ve fotosentezi engellememiřtir. Ayrıca birlikte uygulama ile ABA dűzeyinde meydana gelen artıř, bakır uygulamasından bađımsız kuraklıđın etkisiyle ortaya çıktıđı dűřűnűlebilir. Bunun yanında birlikte uygulama, PEG uygulamasına gűre klorofil içeriđi ve BSI'ni arttırırken; bakır uygulaması yapraklarda prolin içeriđini arttırarak su dengesini koruduđu řeklinde yorumlanabilir. Çalıřmamızdaki bakır uygulamasında ABA artıřından bađımsız, prolin içeriđini ve diđer ozmolitlerin birikimine neden olarak kuraklık stresine tolerans sađlamada etkin olduđu dűřűnűlebilir. Bu sonuçlar Chen ve ark. (2001)'de yaptıkları çalıřma ile uyum içerisinde dir.

5.7. İçsel Bakır ve Kalsiyum Miktarı

Kalsiyum (Ca^{++}) iyonunun, stresin algılanması esnasında sinyal molekűl olarak hareket ederek hasarını iyileşmesine yardımcı olduğu bildirilmiştir (Palta, 2000).

Kuraklık uygulaması, kontrole gűre her iki kùltivarda Ca^{++} miktarını değiştirmemiştir (izelge 4.5). Fakat içsel Cu^{++} miktarını; toleranslı kùltivarda değiştirmemiş, duyarlı kùltivarda ise azaltmıştır.

Bakır uygulaması, kontrole gűre içsel Ca^{++} miktarını her iki kùltivarda değiştirmemiş, içsel Cu^{++} miktarını yalnız bakır (1.5 mM) uygulaması ile arttırmıştır (izelge 4.5). Buna paralel olarak Sűnmez ve ark. (2006b) 'da domates (*Lycopersicon esculentum*) bitkisinde yaptıkları çalışmada; topraktan uygulanmış olan bakır (1000 ve 2000 ppm)'in içsel bakır miktarını arttırdığı rapor edilmiştir.

PEG+bakır uygulaması, PEG uygulamasına gűre her iki kùltivarda içsel Ca^{++} miktarını azaltırken; içsel Cu^{++} miktarını arttırmıştır (izelge 4.5). Alaoui-Sosse ve ark. (2004) salatalık (*Cucumis sativus*) bitkisinde artan bakırın içsel Ca^{++} miktarını azalttığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara bağlı olarak; kuraklık stresi altında uygulanan bakırın içsel Ca^{++} miktarını azaltarak Ca^{++} un rolűnű űstlendiđi şeklinde yorumlanabilir.

5.8. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Bitkilerde strese bağlı meydana gelen hasarın ortadan kaldırılmasında antioksidan enzimler; AOT'ların oluşum sürecinin değişik aşamalarında ortaya çıkan ve bir sonraki enzime dnrebilen kimyasal maddelerdir (Anderson ve ark., 1995; Scebba ve ark., 1999). SOD enzimi, ilk önce oluşup görevini tamamladıktan sonra meydana gelen H_2O_2 ' in ortadan kaldırılmasında etkindir. Burada ilk etkin olan enzim KAT, eş zamanlı ve daha sonra GR ile APX devreye girer. Stresi takip eden farklı günlerdeki ölçümlerde enzim aktivitesi en yüksek olan bazen SOD, bazen KAT veya diğer iki enzim olabilmektedir (Sgherri ve ark., 2001; Posmyk ve ark., 2009; Fidalgo ve ark., 2013).

5.8.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi

Bitkiler AOT'ları temizlemek için enzimatik ve enzimatik olmayan geniş antioksidan sistemler geliştirmişlerdir. Enzimatik mekanizmalar arasında Süperoksit Dismutaz (SOD) nemli bir rol oynar. SOD (EC1.15.1.1), AOT'ları atma sistemlerinde ilk adım olarak, süperoksit dismutasyon iki molekül oksijen ve hidrojen peroksiti katalize eder (Fridovich, 1975). SOD enzimi metal kofaktrlerine göre mitokondride; Cu/FeSOD, kloroplastta; Cu/MnSOD ve sitozolde; Cu/ZnSOD olarak sınıflandırılır (Bowler ve ark., 1992).

Çalışmamızda PEG uygulaması, kontrole göre SOD enzim aktivitesini 71May69'da arttırmış, Shemal'de ise azaltmıştır (şekil 4.7). Buna paralel olarak ayçiçeği (*Helianthus annuus*), brlce (*Vigna sinensis*), buğday (*Triticum*) bitkilerinde kuraklık stresi altında SOD enzim aktivitesinde artma olduğu bildirilmiştir (Güneş ve ark., 2008; Manivannan ve ark., 2007, Csiszr ve ark., 2005)

Bakır uygulaması, kontrole göre her iki kltivarda SOD aktivitesini arttırmıştır. Toleranslı kltivarda en fazla artış bakır (1.5 mM) uygulamasında olduğu gözlenmiştir. Duyarlı kltivarda ise bakır (0.5 ve 1 mM)' de değişim gözlenmezken; bakır (1.5 mM) uygulaması SOD aktivitesini arttırmıştır (şekil 4.7). Tanyolaç ve ark. (2007)'de yapmış oldukları çalışmada bakır (1.5 mM) uygulaması; toleranslı kltivarda SOD enzim aktivitesini arttırdığı rapor edilmiştir. Fidalgo ve ark. (2013)' de köpek zm (*Solanum nigrum*)'da düşük dozda bakır uygulayarak yaptıkları çalışmada; SOD enzim aktivitesinin değişmediği gözlenmiştir. Buğday (*Triticum sp.*)' da dışarıdan uygulanan

bakır metalinin SOD enzim aktivitesini değiştirmediği gözlenmiştir (Sgherri ve ark., 2001). Çalışmamızdan farklı olarak yonca (*Medicago sativa* L.) bitkisinde bakır uygulaması ile SOD aktivitesinin değişmediği gözlenmiştir (Wang ve ark., 2011). Bu sonuçlara bağlı olarak alışmamızda SOD enzim aktivitesindeki artışı sağlayan en etkin konsantrasyonun bakır (1.5 mM) olduğu tespit edilmiştir.

PEG + bakır uygulaması, PEG uygulanan gruplara göre SOD enzim ve izoenzim aktivitesi toleranslı kùltivarda azaltmış, duyarlı kùltivarda ise arttırmıştır. Çalışmamıza paralel olarak; iki farklı yonca (*Medicago sativa*)’ da kuraklık + tuz stresi uygulandığında; kùklerde SOD enzim aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (Wang ve ark., 2009). Thounaojam ve ark. (2012)’ de yaptıkları çalışmada bakır uygulaması; pirinç (*Oryza sativa*) kùklerinde SOD enzim aktivitesini arttırmış, fakat bu artış konsantrasyon farklılıklarına göre değişmediği rapor edilmiştir. Çalışmamızda SOD izoenzim aktivitesinde gözlenen değişimler; total aktiviteyi destekler nitelikte olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Çalışmamızda her iki kùltivar arasında gözlenen farklılıkların bakır metaline olan duyarlılıktan kaynaklandığı şeklinde dùřünülebilir. Bu sonuçlara bağlı olarak duyarlı mısır kùltivarı yapraklarına uygulanan bakır metalinin; SOD enzim ve izoenzim aktivite artışını sağlayarak kuraklık uygulamasının oluşturduğu hasara karşı koruyucu etki yaptığı dùřünülebilir.

5.8.2. Katalaz (KAT) Enzim Aktivitesi

Antioksidan enzimler, hücre zarlarına zarar veren serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirmekte ve böylece koruyucu bir kalkan olarak hareket etmektedir. Bu enzimlerden biri olan KAT (EC.1.11.1.6.) fotosentetik bitki hücrelerinde bulunan özel peroksizomlar tarafından toplu halde AOT’ ların süpürülmesinde etkilidir.

Bu çalışmada; kuraklık stresi uygulaması kontrol gruplarına göre KAT enzim aktivitesini toleranslı mısır kùltivarında arttırmış, duyarlı mısır kùltivarında azaltmıştır. KAT, bitki hücresinde hidrojen peroksitin ortadan kaldırılmasında oldukça önemli bir enzimdir (Li ve ark., 2009). Duyarlı mısır kùltivarında SOD ve KAT enzim aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit miktarının artmasına neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4). Chugh ve ark. (2011)’de kuraklık stresi altında yaptıkları

çalışmada KAT aktivitesinin; toleranslı mısırdaki artışa neden olurken; duyarlı mısırdaki azalmaya neden olduğu görülmüştür.

Bakır uygulaması, kontrol grubuna göre her iki mısır kültüründe, KAT aktivitesini artırmıştır (Şekil 4.10). Benzer şekilde, Posmyk ve ark. (2009) ve Brahim ve Mohamed, (2011)'de kırmızı lahanada (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) ve sarmak (*Atriplex halimus*)'de yaptıkları çalışmalarda; dışardan uygulanan bakırın KAT aktivitesini arttırdığını rapor etmişlerdir. Çalışmamıza paralel olarak Posmyk ve ark., 2009'da lahanada (*Brassica oleracea* L. var. *rubrum*)'da yaptıkları çalışmada; bakır uygulamasının KAT aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca lahanada (*Brassica juncea*) ve ayçiçeğinde (*Helianthus annuus*) bitkilerinde bakır uygulaması ile yapılan çalışmalarda; KAT aktivitesinin engellendiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2004; Jouili ve Ferjani, 2003).

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki mısır kültüründe KAT aktivitesini artırmıştır. Fakat duyarlı mısır kültüründe PEG uygulaması ile KAT aktivitesi artış göstermezken; PEG+bakır uygulandığında KAT enzim aktivitesi artmıştır (Şekil 4.10). Bu sonuçlara bağlı olarak; duyarlı mısır kültüründe kuraklık uygulaması ile azalan KAT aktivitesi birlikte uygulandığında artışın gözlenmesi; uygulanan bakırın KAT enzim aktivitesini uyarıcı etki yaptığı şeklinde yorumlanabilir.

5.8.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim Aktivitesi

APX (EC.1.11.1.11) hidrojen peroksidin suya dönüşümünü; indirgenmiş askorbat yardımı ile zararlı etkisinin ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar (Noctor ve Foyer, 1998). PEG uygulaması kontrole göre APX enzim aktivitesini; toleranslı mısır kültüründe değiştirmezken; duyarlı mısır kültüründe azaltmıştır (Şekil 4.11). Çalışmamıza paralel olarak; kuraklık stresi altında sert çimen (*Agrostis canina* L.)'de APX enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (DaCosta ve Huang, 2007). Diğer bir çalışmada ise kuraklık stresine bağlı olarak; APX aktivitesinin toleranslı mısır kültüründe artarken; duyarlı mısır kültüründe ise azaldığı bildirilmiştir (Chugh ve ark., 2011). Çalışmamızda her iki mısır kültüründe hidrojen peroksid miktarının daha

fazla artışının nedeni olarak; APX enzim aktivitesindeki azalma ile ilişkili olduğu düşüncesindeyiz.

Bakır uygulaması, kontrole göre APX enzim aktivitesini her iki mısır kültüründe arttırmış, fakat uygulanan bakır konsantrasyonları arasında aktivite farklılığı gözlenmemiştir. Benzer şekilde, Tewari ve ark. (2006)'da, Andrade ve ark. (2010)'da bakır uygulaması ile jack fasülye (*Canavalia ensiformis*) ve karadut (*Morus alba* L.) bitkilerinde yaptıkları çalışmada APX enzim aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir. Tanyolaç ve ark. (2007)'da mısır (*Zea mays* L.)'da bakır uygulaması ile APX enzim aktivitesinin artmış olması çalışmamıza paralellik göstermektedir. Bu sonuçlara bağlı olarak çalışmamızda uygulamış olduğumuz bakırın her iki mısır kültüründe APX enzim aktivitesini arttırmış olması; MDA ve H₂O₂ miktarını değiştirmemiş olması ile açıklanabilir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulamasının, her iki kültürde APX enzim aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. APX enzim aktivitesindeki artışın en fazla duyarlı mısır kültüründe (1.9 kat) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11). Bu sonuçlara bağlı olarak PEG uygulaması altında uygulanan bakırın; APX enzim aktivitesinin artışında daha etkin olduğu söylenebilir. KAT ve SOD enzim aktivitesinde olduğu gibi, APX enzim aktivitesindeki artış hidrojen peroksit miktarının azaltılmasında oldukça etkili olmuştur.

5.8.4. Glutasyon Reduktaz (GR) Enzim Aktivitesi

Glutasyon RedüktazR, oksidatif strese yanıt olarak AOT' ların ortadan kaldırılmasında oldukça etkin olan antioksidan enzimlerden biri olduğu bildirilmiştir (Yousuf ve ark., 2012). PEG uygulaması kontrole göre GR enzim aktivitesini; toleranslı mısır kültüründe arttırmış, duyarlı mısır kültüründe ise değiştirmemiştir. Sekiz farklı genotipteki bamyaya (*Hibiscus esculentus* L.) bitkilerinde kuraklık stresi uygulaması altında yapılan çalışmada GR ve APX aktivitesindeki artış; toleranslı genotiplerde duyarlı genotiplere oranla daha fazla olmuş olması, sonuçlarımıza benzerlik göstermiştir (Kusvuran, 2012).

Bakır uygulaması, kontrole göre her iki kültürde GR aktivitesini en fazla bakır (1.5 mM) uygulaması ile arttırmıştır. Çalışmamıza paralel olarak Tanyolaç ve ark.

(2007) iki farklı mısır kültivarında dışardan bakır uygulayarak yaptıkları çalışmada; GR enzim aktivitesi, toleranslı mısır kültivarında en fazla bakır (1.5 mM) uygulaması ile artmış, duyarlı mısır kltivarda ise en fazla bakır (1mM) uygulaması ile artmış olduğunu rapor etmişlerdir.

PEG+bakır (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM) uygulaması, PEG uygulamasına göre her iki kltivarda GR enzim aktivitesini arttırmıştır. Bu artış yalnızca PEG+bakır (1.5 mM) uygulaması ile olmuştur (şekil 4.12). Bu sonuçlara bağlı olarak; her iki mısır kültivarında kuraklık stresi altında yalnızca bakır (1.5 mM) uygulamasının GR enzim aktivitesinin artışını tetiklediği düşüncesindeyiz. Bu artışın stresten koruma amaçlı değil, stresin varlığını belirtme amaçlı olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

5.8.5. Glutasyon S-Transferaz (GST) Enzim Aktivitesi

Glutasyon S-transferaz (GST, EC 2.5.1.18) dimerik yapıda ve çok fonksiyonlu bir enzimler grubudur. Glutasyon (GSH) detoksifikasyonu için ksenobiyotik bileşikler ile konjugasyona girerek katalize eder (Tausz ve ark., 2004).

Çalışmamızda PEG uygulaması, kontrole göre GST enzim aktivitesini toleranslı mısır kültivarında azaltırken, duyarlı mısır kültivarında arttırmıştır (şekil 4.13). Csizsár ve ark. (2005)' da yaptıkları çalışmada; soğan (*Allium sp.*)'da topraktaki su miktarının azalmasına bağlı olarak GST enzim aktivitesini arttırdığı rapor edilmiştir.

Bakır uygulaması, kontrole göre GST aktivitesini toleranslı mısır kültivarında azaltırken; duyarlı mısır kültivarında en fazla artış bakır (1.5 mM) uygulamasında gözlenmiştir (şekil 4.13). Bizim sonuçlarımıza paralel olarak; Gajewska ve Skłodowska, (2005)' te buğday (*Triticum sp.*) fidelerinde yaptıkları çalışmada bakır uygulamasının GST enzim aktivitesini değiştirmediğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara bağlı olarak; mısır yapraklarında, yalnızca en yüksek bakır (1.5 mM)'da GST enzim aktivitesinin uyarıldığı tespit edilmiştir.

PEG+bakır uygulaması, PEG uygulamasına göre GST enzim aktivitesini toleranslı mısır kltivarını değiştirmezken, duyarlı mısır kültivarında PEG+bakır (1.5 mM) uygulaması ile 2.4 kat arttırdığı gözlenmiştir (şekil 4.13). Bu sonuçlara bağlı olarak

toleranslı mısır kùltivarında kuraklık stresine toleransın sağlanmasında GST enzim aktivitesinin etkinliğine gerek duymadığı sùylenabilir.

5.8.6. Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesi

Kuraklık stresine bağlı olarak meydana gelen AOT' ların temizlenmesinde etkili olan enzimler arasında POX enzim aktivitesi oldukça etkindir (Srivalli ve ark., 2003). Kuraklık stresi uygulaması kontrole gùre her iki kùltivarda POX aktivitesini arttırmıştır. Chugh ve ark., (2013)'de yaptıkları çalışmada iki farklı mısır kùltivarında kuraklık stresine bağlı olarak toleranslı olan kùltivarda; POX enzim aktivitesini daha fazla arttırmıştır. Çalışmamızda kuraklık stresine bağlı olarak meydana gelen H₂O₂ ve MDA miktarındaki artış ile stresin algılanıp hùcre zarında kararlılığın sağlanmasında POX enziminin oldukça etkin olduğu dùřünùlebilir.

Bakır uygulaması, kontrole gùre POX enzim aktivitesini her iki kùltivarda arttırmıştır. Tanyolaç ve ark. (2007)'de mısır bitkisine dışarıdan bakır uygulaması ile yaptıkları çalışmada; POX enzim aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir.

PEG+bakır uygulaması, PEG uygulamasına gùre POX enzim aktivitesinin toleranslı mısır kùltivarında azalma en fazla PEG+bakır (1.5 mM) uygulamasında gùzlenirken; duyarlı kùltivarda ise değişime neden olmamıştır (şekil 4.14). Bu sonuçlara bağlı olarak her iki mısır kùltivarında GR, APX ve KAT enzimlerinin stresin uzaklaştırılmasında POX enziminden daha önce etkinlik sağlayıp, POX enziminin aktivitesini arttırmaya gerek duymadığı şeklinde yorumlanabilir. Bu durumu H₂O₂ ve MDA miktarındaki azalış desteklemektedir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışma sonuçlarına bağlı olarak, farklı konsantrasyonlarda dışarıdan uygulanan bakır metali; mısır bitkisinde herhangi bir hasara neden olmamıştır. Bunun yanında özellikle duyarlı mısır kültüründe; kuraklık stresinin oluşturduğu oksidatif hasarı iyileştirmiştir. Öte yandan, SOD, APX, KAT, POX, GR ve GST enzim aktiviteleri bakır uygulaması ile artarken, kuraklık uygulamasında ise yalnız SOD, APX ve KAT enzim aktivitelerini azaltmıştır. Bununla beraber, duyarlı olan kültürde GST ve GR enzim aktivitesinin bakır (1.5 mM) ve PEG uygulaması altında artışının en fazla olduğu gözlenmiştir. Bu artış, içsel ABA düzeylerinin artışı ile ilişkilendirilse bile, sadece bakır uygulaması altında ABA, hidrojen peroksit, prolin ve MDA miktarlarının değişmediği gözlenmiştir. Çalışmamızda mısır bitkisinde bakır toleransının kuraklık toleransından bağımsız olup ortak bir cevap içermediği tespit edilmiştir. Bu nedenle ortaya konulan verilerin literatürdeki eksikliği gidererek bakırın kuraklık toleransı üzerine etkisinin araştırılacağı çalışmalara yol göstereceği kanısındayız.

7. KAYNAKLAR

- Abdalla, M.M., El-Khoshiban, N.H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *J. Applied Sci. Res.*, 3: 2062-2074.
- Alaoui-Sosse, B., Genet, P., Florence, V.D., Taussaint, M.L., Epran, D., Badot, P.M. 2004. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Sci.*, 166: 1213-1218.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapellis, S., Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ.*, 24: 1337–1344.
- Anderson, M.D., Prasad, T.K., Stewart, C.R. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol.*, 109: 1247-1257.
- Andrade, S.A.L., Gratão, P.L., Azevedo, R.A., Silveira, A.P.D., Schiavinato, M.A., Mazzafera, P. 2010. Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. *Environ. Exp. Bot.*, 68:198–207.
- Anjum, S.A., Wang, L., Farooq, M., Xue, L., Ali, S. 2011. Fulvic acid application improves the maize performance under well-watered and osmotic conditions. *J. Agron. Crop. Sci.*, 197:409–417.
- Anonymous. 2009. Recommended Lists 2009/10 for cereals and oilseeds. HGCA: London.

- Apse, M.P., Blumwald, E. 2002. Engineering salt tolerance in plants. *Curr. Opin. Biotechnol.*,13: 146–150.
- Aslam, M., Zamir, M.S. I., Afzal I., Yaseen, M. 2013. Morphological and physiological response of maize hybrids to potassium application under drought stress. *J. Agric. Res.*, 51(4): 443-454.
- Aust, S.D., Marehouse, L. A., Thomas, C. E. 1985. Role of metals in oxygen radical reactions. *Free Radical Biol. Med.*, 1: 3-25.
- Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., Medeiros, J.V.R., Gomes-Filho, E. 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces stress acclimation in maize plants. *J. Plant Physiol.*, 162: 1114-22.
- Baker, D.E., Senef, J.P. 1995. Copper. In: Alloway BJ (ed), *Heavy metals in soils*, pp. 179-205.
- Barón, M., López-Gorgé, J., Lachica, M., Sadmann, G. 1992. Changes in carotenoids and fatty acids in photosystem II of Cu-deficient pea plants. *Physiol. Plant.*, 84: 1-5.
- Baszynski, T., Ruskowska, M., Król, M., Tukendorf, A., Wolinska, D. 1978. The effect of copper deficiency on the photosynthetic apparatus of higher plants. *Z. Pflanzenphysiol.*, 89: 207-216.
- Bates, L., Waldren, R.P., Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
- Beauchamp, C.O., Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 44: 276-287.
- Bergmeyer, N. 1970. *Methoden der enzymatischen Analyse*, Akademie Verlag, Berlin.
- Berry, J., Björkman, O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol Plant. Mol. Biol.*, 31: 491–543.

- Bhargava, S., Paranjpe, S. 2004. Genotyping variation in the photosynthetic competence of *Sorghum bicolor* seedlings subjected to polyethylene glycol-mediated drought stress. *J. Plant Physiol.*, 161: 125–129.
- Bhatt, R.M., Srinivasa-Rao, N.K. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian J. Plant Physiol.*, 10: 54-59.
- Blum, A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *J. Plant Growth Regul.*, 20: 135–148.
- Bota, J., Medrano, H., Flexas, J. 2004. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytol.*, 162: 671–681.
- Bowler, C., Van Montagu, M., Inze, D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43: 83-116.
- Brahim, L., Mohamed, M. 2011. Effects of copper stress on antioxidative enzymes, chlorophyll and protein content in *Atriplex halimus*. *African J. Biotech.*, 10(50): 10143-10148.
- Cárcamo, V., Bustamante, E., Trangolao, E., de la Fuente, L.M., Mench, M., Neaman, A., Ginocchio, R. 2012. Simultaneous immobilization of metals and arsenic in acidic polluted soils near a copper smelter in central Chile. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 19: 1131-1143.
- Chaitanya, K.V., Jutur, P.P., Sundar, D., Reddy, A.R. 2003. Water stress effects on photosynthesis in different mulberry cultivars. *Plant Grow. Regul.*, 40: 75-80.
- Chen, C.T., Chen, L.M., Lin, C.C., Kao, C.H. 2001. Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Sci.*, 160: 283-290.

- Chollet, R., Vidal, J., O'Leary, M. 1996. Phosphoenolpyruvate carboxylase: a ubiquitous, highly regulated enzyme in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.*, 47: 273–298.
- Chugh, V., Kaur, N., Grewal, M. S., Gupta, A. K. 2013. Differential antioxidative response of tolerant and sensitive maize (*Zea mays* L.) genotypes to drought stress at reproductive stage. *Indian J. Biochem. Bio.*, 50: 150–158.
- Chugh, V., Kaur, N., Gupta, A.K. 2011. Evaluation of oxidative stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to drought. *Indian J. Biochem. Bio.*, 48: 47-53.
- Chun-hua Z., Ying G.E. 2008. Response of glutathione and glutathione S-transferase in rice seedlings exposed to cadmium stress. *Rice Sci.*, 15(1): 73–76.
- Costa Franca, M.G., Pham Thi, A.T., Pimentel, C., Pereyra Rossiello, R.O., Zuily-Fodil, Y., Laffray, D. 2000. Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. *Environ. Exp.Bot.*, 43: 227-237.
- Csiszàr, J., Feher-Juhasz, E., Kotai, E., Ivankovits- Kiss, O., Horvath, G.V., Mai, A., Galle, A., Tari, I., Pauk, J., Dudits, D., Erdei, L. 2005. Effect of osmotic stress on antioxidant enzyme activities in transgenic wheat calli bearing MsALR gene. *Acta Biologica Szegediensis*, 49: 49–50.
- DaCosta, M., Huang, B. 2007. Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for bentgrass species in response to drought. *J. American Soci. Horticult. Sci.*, 132: 319–326.
- Desikan, R., Hancock, J.T., Bright, J., Harrison, J., Weir, I., Hooley, R., Neill, S.J. 2005. A role for ETR1 in hydrogen peroxide signaling in stomatal guard cells. *Plant Physio.*, 137: 831–834.

- Droppa, M., Masojidek, J., Rózsa, Z., Wolak, A., Horváth, L.I., Farkas, T., Horváth, G. 1987. Characteristics of Cu deficiency-induced inhibition of photosynthetic electron transport in spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, 891: 75-84.
- Edwards, G.E., Walker, D.A. 1983. C3, C4: Mechanisms, and Cellular and Environmental Regulation of Photosynthesis. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, UK.
- Efeoğlu, B., Ekmekçi, Y., Çiçek, N. 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *S. Afr. J. Bot.*, 75: 34–42.
- El Houssine, T., Abdelmajid, B., Khadija, S., 1997. Effect d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutaminesynthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*). *Bull. Inst. Sci.*, 21: 81–87.
- Elisa, B., Marsano, F., Cavaletto, M., Berta, G. 2007. Copper stress in *Cannabis sativa* roots: morphological and proteomic analysis. *Caryologia*, 60:96–101.
- El-Tayeb, M. A., Hassanein, A. M. 2000. Germination, seedling growth, some organic solutes and peroxidase expression of different *Vicia faba* lines as influenced by water stress. *Acta Agron. Hung.*, 48: 11–20.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.*, 29: 185–212.
- Farrant, J.M. 2000. Comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plants. *Plant Ecol.*, 151: 29–39.
- Fernandes, J.C., Henriques, F.S. 1991. Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants. *The Botanical Reviews*, 57: 246–73.

- Fidalgo, F., Azenha, M., F- Silva, A., de Sousa, A., Santiago, A., Ferraz, P., Teixeira, J. 2013. Copper-induced stress in *Solanum nigrum* L. and antioxidant defense system responses. *Food Eng. Security*, 2: 70–80.
- Flores, M.I.A., Romero-Gonzalez, R., Garrido-Frenich, A., Vidal, J.L.M. 2011. QuEChERS-based extraction procedure for multifamily analysis of phytohormones in vegetables by UHPLC-MS/MS. *J. Sep. Sci.*, 34: 1517–1524.
- Foyer, C.H., Halliwell, B. 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbate metabolism. *Planta*, 133: 21–25.
- Fridovich, L. 1975. Superoxide dismutase. *A. Rev. Biochem.*, 44: 147-1.
- Gaetke, L.M., Chow, C.K., 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189: 147–163.
- Gajewska, E., Skłodowska, M. 2005. Antioxidative responses and proline level in leaves and roots of pea plants subjected to nickel stress. *Acta Physiol. Plant.*, 27: 329-340.
- Garcia-Mata, C., Lamattina, L. 2001. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. *Plant Physiol.*, 126: 1196–1204.
- Güneş, A., Pilbeam, D., inal, A., Çoban, S. 2008. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms and lipid peroxidation. *Commun. Soil Sci. Plant. Nut.*, 39: 1885–1903.
- Guo, P., Baum, M., Grando, S., Ceccarelli, S. 2009. Differentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage. *J. Experimen. Bot.*, 12: 3531-3544.
- Gür, N., Topdemir, A., Munzuroğlu, Ö., Çobanoğlu, D. 2004. Ağır metal iyonlarının (Cu²⁺, Pb²⁺, Hg²⁺, Cd²⁺) *Clivia* sp. bitkisi polenlerinin çimlenmesi ve tüp büyümesi üzerine Etkileri. *F.Ü. Fen ve Matematik Bilimleri Dergisi*, 16(2): 177-182.

- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. 1974. Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249: 7130–7139.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.*, 219: 1-14.
- Haluskova, L., Valentovicova, K., Hultova, J., Mistrik, I., Tamas, L. 2009. Effect of abiotic stress on glutathione peroxidase and glutathione s-transferase activity in barley root tips. *Plant Physiol. Biochem.*, 47: 1069–1074.
- Hamayun, M., Sohn, E.Y., Khan, S.A., Shinwari, Z.K., Khan, A.L., Lee, I.J. 2010. Silicon alleviates the adverse effects of salinity and drought stress on growth and endogenous plant growth hormones of soybean (*Glycine max* L.). *Pak J. Bot.*, 42: 1713–1722.
- Hanlon, E. 1998. Elemental Determination By AAS. *Handbook Of Reference Methods For Plant Analysis*, Yash P. Kaira, CRS Press, USA, pp. 157-165.
- Hejazi-Mehrizi, M., Shariatmadari, H., Khoshgoftarmanesh, A.H., Dehghani, F. 2012. Copper effects on growth, lipid peroxidation, and total phenolic content of rosemary leaves under salinity stress. *J. Agr. Sci. Tech.*, 14: 205-212.
- Henriques, F.S. 1989. Effects of copper deficiency on the photosynthetic apparatus of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *J. Plant Physiol.*, 135: 453-458.
- Herzog, V., Fahimi, H.D. 1973. A new sensitive colorimetric assay for peroxidase, using 3,3-Diaminobenzidine as hydrogen donor. *Anal. Biochem.*, 55: 554–562.
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A., Buitink, J. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.*, 6: 431–43.
- Hossain, M. A. 2013. Heat-shock positively modulates oxidative protection of salt and drought-stressed mustard (*Brassica campestris* L.) seedlings. *J. Plant Sci. Molecul. Breed.*, 4(7): 50-70.

- Hothem, S.D., Marley, K.A., Larson R.A. 2003. Photochemistry in Hoagland's nutrient solution. *J. Plant Nutr.*, 26: 845–854.
- Huber, S.C., Huber, J.L., McMichael, R.W.J. 1994. Control of plant enzyme activity by reversible protein phosphorylation. *Int. Rev. Cytol.*, 149: 47-98.
- Isaac, R.A., Johnson, W.C. 1998. Elemental determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. p.165-170. In: Y.P. Kalra (eds), *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Izzo, R., Navari-Izoo, F., Quartacci, M.F. 1991. Growth and mineral absorption in maize seedlings as affected by increasing NaCl concentrations. *J. Plant Nutr.*, 14: 687-699.
- Jbir, N., Chaibi, W., Ammar, S., Jemmali, A., Ayadi, A. 2001. Root growth and lignification of two wheat species differing in their sensitivity to NaCl, in response to salt stress. *Compt. Rendus Acad. Sci. III Sci. Vie.*, 324: 863–868.
- Johnson, C.M., Ulrich, A., 1959. II. Analytical methods for use in plant analysis. *Calif. AES. Bull.*, 766: 30-33.
- Jouili, H., Ferjani, E.E. 2003. Changes in antioxidant and lignifying enzyme activities in sunflower roots (*Helianthus annuus* L.) stressed with copper excess. *Comptes Rendus Biologies*, 326: 639–644.
- Kadioğlu, A. 2007. *Bitki Fizyolojisi*. Karadeniz Teknik Üni., Fen-Edebiyat Fak., ISBN:978-975-019880-0-7, Ders Kitabı, Trabzon, 171 s.
- Kacar, B., Katkat, V., Öztürk, Ş. 2006. *Bitki Fizyolojisi*. Nobel Kitabevi yayınları No:849.
- Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y. 2005. The effects of drought on plants and tolerance mechanisms (review). *G.U. J. Sci.* 18(4): 723-740.
- Kalefetoğlu Nacar T., Ekmekçi, Y. 2009. Alterations in photochemical and physiological activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress. *J. Agron. Crop Sci.*, 195(5): 335–346.

- Karıpçın, M.Z. 2009. Yerli ve Yabancı Karpuz Genotiplerinde Kuraklığa Toleransın Belirlenmesi, Doktora Tezi Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana, 259 s.
- Kastori, R., Maksimović, I., Kraljević-Balalić, M., Kobiljski, B. 2008. Physiological and genetic basis of plant tolerance of excess boron. *Matica Srpska Proceedings for Natural Sci.*, 114: 41-51.
- Koç, E., İşlek, C. Üstün, A.S. 2009. Biber (*Capsicum annuum* L. cv. Kahramanmaraş-Acı) Fidelerinde Bakır Sülfatın (CuSO_4) Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Aktivitesi, Fenolik Maddeler ve Toplam Klorofil Üzerine Etkisi Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 13(2): 128-131.
- Kramer, P.J., Boyer, J.S. 1995. Water relations of plants and soils. San Diego, Academic Press, 495 s.
- Kunert, K.J., Foyer, C.H. 1993. Thiol/disulphide exchange in plants. (In LJ De Kok, I Stulen, H Rennenberg, C Brunhold, W Rausen, eds). Sulfur Nutrition and Assimilation in Higher Plants. Regulatory, Agricultural and Environmental Aspects. SPB Academic, The Hague, 139-151 s.
- Kusvuran, S. 2012. Influence of drought stress on growth, ion accumulation and antioxidative enzymes in Okra Genotypes. *Int. J. Agric. Biol.*, 14(3): 401-406.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature* , 227: 680–85.
- Le Thiec, A., Manninen, S. 2003. Ozone and water deficit reduced growth of Aleppo pine seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 4: 55–63.
- Leegood, R.C., Osmond, C.B. 1990. The flux of metabolites in C4 and CAM plants. In *Plant Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology* (Dennis, D.T. and Turpin, D.H., eds). London:Longman, 274-298 s.

- Li, Y., Song, Y.P., Shi, G.J., Wang, J.J., Hou, X.L. 2009. Response of antioxidant activity to excess copper in two cultivars of *Brassica campestris* sp. *chinensis* Makino. *Acta Physiol. Plant.*, 31(1): 5-162.
- Li, Y., Wang, G.X., Xin, M. 2004. The parameters of guard cell calcium oscillation encodes stomatal oscillation and closure in *Vicia faba*. *Plant Sci.*, 166: 415–421.
- Lichtenthaler, H., Wellburn, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents, *Biochem. Soc. T.*, 11: 591–592.
- Lombardini, L., Sebastiani, L. 2005. Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Plant Sci.*, 168: 797-802.
- Luna, C.M., González, C.A., Trippi, V.S. 1994. Oxidative damage caused by excess of copper in oat leaves. *Plant Cell Physiol.*, 35: 11-15.
- Madhava, R.K.V., Sresty, T.V.S. 2000. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci.*, 157: 113-12.
- Mahajan, S., Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Arch. Biochem. Biophys.*, 444: 139-158.
- Malakouti, M.J., Tehrani, M.M. 2005. Effects of Micronutrient on The Yield and Quality of Agricultural Products: Micronutrient with Macro-Effects. Tarbiat Modares University Press. Tehran, Iran. p. 445.
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Kishorekumar, A., Sankar, B., Somasundaram, R., Sridharan, R., Panneerselvam, R. 2007. Propiconazole induced changes in antioxidant metabolism and drought stress amelioration in *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57: 69–74.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. San Diego: Academic Press, 889 s.

- Matamoros, M.A., Dalton, Ramos, D.A., J.2003. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis. *Plant Physiol.*, 133(2): 499-509.
- Meharg, A.A. 1994. Integrated tolerance mechanisms-constitutive and adaptive plant-responses to elevated metal concentrations in the environment. *Plant Cell Environ.*, 17: 989-993.
- Merrill, R.K., Eckard, A.N. 1971. Evaluation of water stress control with polyethylene glycols by analysis of guttation. *Plant Physiol.*, 47: 453–456.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.*, 9: 490–498.
- Monni, S., Salemaa, M., Millar, N. 2000. The tolerance of *Empetrum nigrum* to copper and nickel. *Environ Pollut*, 109(2): 221–229.
- Moran, J.F., James, E.K., Rubio, M.C., Sarath, G., Klucas, R.V., Becana, M. 2003. Functional characterization and expression of a cytosolic iron-superoxide dismutase from cowpea root nodules. *Plant Physiol.*, 133: 773–782
- Moussa, H.R., Abdel-Aziz, S.M. 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Aust. J. Crop Sci.*, 1: 31-36.
- Muslu, A., Ergün, N. 2012. Buğday (*Triticum Aestivum* L.) fidelerinde sıcaklık ağır metal etkileşimlerinin çözünür proteinler üzerine etkisi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* ,5(2): 91-93.
- Nakano, Y., Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 22: 867-880.
- Nepomuceno, A.L, Oosterhuis, D.M., Stewart, J.M. 1998. Physiological responses of cotton leaves and roots to water deficit induced by polyethylene glycol. *Environ. Exp. Bot.* 40: 29-41.
- Noctor, G., Foyer, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, 49: 249–279

- Olszewska, M., Grzegorzczak, S., Olszewski, J. 2008. Effect of phosphorus deficiency on gas exchange parameters, leaf greenness (SPAD) and yield of Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and Orchard grass (*Dactylis glomerata* L.). *J. Elem.*, 13(1): 91-99.
- Ouzounidou, G. 1994. Copper-induced changes on growth, metal content and photosynthetic function of *Alyssum montanum* L. plants (Citations: 36). *J. Environ. Exp. Bot.*, 34(2): 165-172.
- Ouzounidou, G., Moustakas, M., Strasser, R.J. 1997. Sites of action of copper in the photosynthetic apparatus of maize leaves: kinetic analysis of chlorophyll fluorescence, oxygen evolution, absorption changes and thermal dissipation as monitored by photoacoustic signals. *Aust. J. Plant Physiol.*, 24:8 1-90.
- Palta, J.P. 2000. Supplemental Calcium Application influences Potato Tuber number and size. Department of Horticulture, 1575 Linden drive, University of Wisconsin Madison.
- Posmyk, M.M., Kontek, R., Janas, K.M. 2009. Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. *Ecotox. Environ. Safe.*, 72: 596-602.
- Prasad, M.N.V., Strzalka, K. 1999. Impact of Heavy Metals on Photosynthesis. In: *Heavy Metal Stress in Plants* (Prasad M. N. V. and Hagemeyer J., eds.). Springer Publ., Berlin, 117-138 s.
- Rama, D.S., Prasad, M.N.V. 1998. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: Response of antioxidant enzymes and antioxidants. *Plant Sci.*, 138: 157–165.
- Ramanjulu, S., Bartels, D. 2002. Drought- and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant Cell Environ.*, 25: 141–151.

- Raven, J.A., Evans, M.C.W., Korb, R.E. 1999. The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. *Photosynth. Res.*, 60: 111-149.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.*, 161: 1189–1202.
- Rich, P.R., Bonner, W.D. 1978. The sites of superoxide anion generation in higher plant mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.*, 188: 206–213.
- Romanello, G.A., Chuchra-Zbytniuk, K.L., Vandermerb, J.L., Touchette, B.W. 2008. Morphological adjustments promote drought avoidance in the wetland plant *Acorus americanus*. *Aquatic Botan.*, 89(4): 390–396.
- Sanchez-Rodriguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L., Ruiz, J.M. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Sci.*, 178: 30-40.
- Sankar, B., Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram R., Panneerselvan, R. 2008. Relative efficacy of water use in five varieties of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. under water limited conditions. *Biointerfaces*, 62: 125–129.
- Scebba, F., Sebastiani, L., Vitagliano, C. 1999. Protective enzymes against activated oxygen species in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings: Responses to cold acclimation. *J. Plant Physiol.*, 155: 762-768.
- Schmidhalter, U., Oertli, J. J. 1991. Germination and seedling growth of carrots under salinity and moisture stress. *Plant Soil*, 132: 243–251.
- Sgherri, C.L.M., Milone, A.M.T., Clijsters, H., Navari-Izzo, F. 2001. Antioxidative enzymes in two wheat cultivars, differently sensitive to drought and subjected to subsymptomatic copper doses. *J. Plant Physiol.*, 158 : 1439–1447.

- Shikanai, T., Müller-Moulé, P., Munekage, Y., Niyogi, K.K., Pilon, M. 2003. PPA1, a P-type ATPase of Arabidopsis, functions in copper transport in chloroplasts. *Plant Cell*, 15: 1333-1346.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2000. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 3: 217-223.
- Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savouré, A., Abdelly, C. 2007. Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. *Env. Exp. Bot.*, 61: 10-17.
- Smart, R.E., Bingham, G.E. 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiol.*, 53: 258-260.
- Socias, X., Correia, M.J., Chaves, M.M., Medrano, H. 1997. The role of abscisic acid and water relations in drought responses of subterranean clover. *J. Exp. Bot.* 48: 1281-1288.
- Sönmez, S., Kaplan, M., Sonmez, N. K., Kaya, H., Uz, I. 2006. High level of copper application to soil and leaves reduce the growth and yield of tomato plants. *Sci. Agric.*, 63: 213-218.
- Sossé, B.A., Genet, P., Dunand-Vinit, F., Toussaint, L.M., Epron, D., Badot, P.M. 2004. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Sci.*, 166: 1213-1218.
- Srivalli, B., Chinnusamy, V., Chopra, R.K. 2003. Antioxidant defense in response to abiotic stresses in plants. *J. Plant Biol.*, 30: 121-139.
- Stuhlfauth, S., Scheuennann, R., Fock, H.P. 1990. Light energy dissipation under water stress conditions. Contribution of re-assimilation and evidence for additional processes. *Plant Physiol.*, 92: 1053-61.

- Taiz, L, Zeiger, E. 1998. Plant Physiology. Sunderland, MA: Sinauer Associates Publishers.
- Tanyolaç, D., Ekmekci, Y., Unalan, S. 2007. Changes in photochemical and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) leaves exposed to excess copper. *Chemosphere*, 67: 89–98.
- Taşdan, K. 2013. Mısır Durum ve Tahmin: 2013/2014. TEPGE, Ankara, 222.
- Taşdan K., Çetin F., Gürer B. 2011. Mısır Durum ve Tahmin: 2011/2012. TEPGE, Ankara, 193.
- Tausz, M., Sircesj, H., Grill, D. 2004. The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid. *J. Exp. Bot.*, 55: 1955–1962.
- Tewari, R.K., Kumar, P., Sharma, P.N. 2006. Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants. *Planta*, 223: 1145–1153.
- Thounaojam, T.C., Panda, P., Mazumdar, P., Kumar, D., Sharma, G.D., Saho, L., Panda, S.K. 2012. Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. *Plant Physiol. Bioch.*, 53:3-9.
- Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F., Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought tolerant *Phaseolus acutifolius* Gray and drought sensitive *P. vulgaris* L. subjected to Polyethylene Glycol Mediated Water Stress, *Plant Sci.*, 168(1): 223-231.
- Van Assche, F., Clijsters, H. 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell and Environment.*, 13: 195–206.
- Vangronsveld, J. Weckx, J., Kubacka-Zebalska, M., Clijsters, H. 1993. Heavy Metal Induction of Ethylene Production and Stress Enzymes: II. Is Ethylene Involved in

- the Signal Transduction from Stress Perception to Stress Responses? *Curr. Plant Sci. Biot.*, 16: 240-246.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective roles of exogenous polyamines. *Plant Sci.*, 151: 59-66.
- Venus, J.C., Causton, D.R. 1979. Plant growth analyses: a re-examination of the methods of calculation of relative growth rate and net assimilation rates without using fitted functions. *Ann. Bot.*, 43: 633-638.
- Vij S., Tyagi, A. K. 2007. Emerging trends in the functional genomics of the abiotic stress response in crop plants. *Plant Biotechnol. J.* 5(3): 361–380.
- Villora, G., Moreno, D. A., Pulgar, G. And Romero, L. 2000. Yield improvement in zucchini under salt stress: Determining Micronutrient Balance. *Sci. Hortic.*, 86: 175-183.
- Vinit-Dunand, F., Epron, D., Alaoui-Sossé, B., M. Badot, P. 2002. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Sci.*, 163: 53–58.
- Wang, S.H., Yang, Z.M., Yang, H., Lu, B.L.I., S.Q., Lu, Y.P. 2004. Copper-induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea* L. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 45: 203-212.
- Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P., Kwak , S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiol. Biochem.*, 4: 570-577.
- Wang, X., Wei, Z., Liu, D., Zhao, G. 2011. Effects of NaCl and silicon on activities of antioxidative enzymes in roots, shoots and leaves of alfalfa. *Afr. J. Biotechnol.*, 10: 545–549.
- Waraich, E.A., Ahmad, R., Ashraf, M.Y. 2011. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. *Aust. J. Crop Sci.*, 5(6): 764–777.

- Weckx, J.E.J., Clijsters, H.M.M. 1996. Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiol. Plant.*, 96: 506–512.
- Xiang, Y., Huang, Y., Xiong, L. 2007. Characterization of stressresponsive CIPK genes in rice for stress tolerance improvement. *Plant Physiol.*, 144: 1416-1428..
- Xu, Z. Z., Zhou, G. S. 2006. Combined effects of water stress and high temperature on photosynthesis, nitrogen metabolism and lipid peroxidation of a perennial grass *Leymus chinensis*. *Planta*, 224(5): 1080-1090.
- Yousuf, P.Y., Hakeem, K.U.R., Chandna, R., Ahmad, P. 2012. Role of glutathione reductase in plant abiotic stress. In: Ahmad, P., Prasad (eds.), M.N.V. *Towards the: Abiotic Stress Responses in Plants*. Springer New York Dordrecht Heidelberg, London, 149–158 s.
- Yruela, I. 2005. Copper in Plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1):1 45-156.
- Zabalza,, A., van Dongen, J.T., Froehlich, A. 2008. Regulation of respiration and fermentation to control the plant internal oxygen concentration. *Plant Physiol.*, 149: 1087–1098.
- Zengin, F.K., Kirbag, S. 2007. Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings. *J. Environ. Biol.*, 28: 561-566.
- Zhu, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 53: 247-273.

8. ÖZGEÇMİŞ

Hatice ÇETİNKAYA, 1981 yılında Sinop'un Ayancık İlçesinde doğdu. İlk, orta öğrenimini Sinop'unTürkeli ilçesinde tamamladı. 1998 yılında Sinop-Ayancık Sağlık Meslek Lisesi Hemşirelik Bölümünden mezun oldu. 2001 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesinde Hemşire olarak göreve başladı. 2006 yılında Trakya Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Bölümü'nden mezun oldu. 2007 yılında Laborant ünvanını alarak; İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesinde Mikrobiyoloji Labratuvarında çalışmaya başladı. 2011 Yılında DGS ile Sinop Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinden mezun oldu yılında mezun oldu. 2012 yılında Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2008 Yılından bu yana Sinop Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanlığında Hemşire olarak çalışmaya devam etmektedir.