

Tuz stresi altındaki mısır fidelerine aseton o-(4 klorofenilsülfonil) oksim ön uygulamasının biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin araştırılması

Investigation of the effects of acetone o-(4 chlorophenylsulfonyl) oxime pre-application on biochemical parameters of maize seedlings under salt stress

Fuat YETİŞSİN¹, Aylin KARAKAYA¹

¹Muş Alparslan Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Muş, Türkiye

Eser Bilgisi / Article Info

Araştırma makalesi / Research article

DOI: 10.17471/artvinofd.980327

Sorumlu yazar / Corresponding author

Fuat YETİŞSİN

e-mail:f.yetissin@alparslan.edu.tr

Geliş tarihi / Received

08.08.2021

Düzeltilme tarihi / Received in revised form

01.03.2022

Kabul Tarihi / Accepted

04.03.2022

Elektronik erişim / Online available

16.05.2022

Anahtar kelimeler:

Mısır

Tuz stresi

Aseton O - (4-klorofenilsülfonil) Oksim (AO)

Antioksidan sistem

Keywords:

Maize

Salt stress

Acetone O - (4-chlorophenylsulfonyl)

Oxime (AO)

Antioxidant system

Özet

Mevcut çalışmanın temel amacı, tuz stresi altındaki mısır fidelerine aseton O-(4 klorofenilsülfonil) oksim (AO) molekülünün ön muamelesinin stresin olumsuz etkilerini hafifletici etkilerinin olup olmadığının araştırılmasıdır. Bunun için; 18 saat distile su kontrol (K), 6 saat AO+12 saat distile su (AO), 6 saat distile su+12 saat 100 mM NaCl (TS) ve 6 saat AO+12 saat 100 mM NaCl (AO+TS) deney düzeneği kurulmuştur. Elde edilen bulgulara göre; kontrol uygulaması ile AO uygulaması arasında nispi su içeriği (NSİ) açısından bir fark saptanamazken, TS'de ciddi bir düşüş AO+TS'de ise kontrole göre önemli bir artış olduğu belirlendi. Klorofil içeriği TS uygulamasında AO ve kontrole göre azalırken, AO+TS uygulamasında içerik TS'ye göre önemli bir artış gösterdi. En yüksek karotenoid içeriği TS uygulamasında görülürken, en düşük içerik AO+TS'de belirlendi. MDA ve H₂O₂ içeriklerinde AO uygulamasında kontrole göre önemli bir azalış gözlenirken, TS'de kontrole göre ciddi bir artış AO+TS'de ise TS ile kıyaslandığında önemli bir azalış belirlendi. Guaiacol peroksidaz, katalaz, askorbat peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzimleri AO ön uygulaması ile aktivitelerini düzenleyerek MDA ve H₂O₂ içeriğini önemli ölçüde azalttığı belirlendi. AO uygulaması ile prolin içeriğinde kontrole göre önemli bir artış gözlenirken, AO+TS'nin TS uygulamasına göre içerikte önemli bir azalışa neden olduğu belirlendi. AO uygulamasının fenolik madde içeriği üzerinde önemli değişikliklere neden olduğu gözlemlendi. Elde edilen bulgular ışığında, tuz stresi altındaki mısır fidelerine AO ön uygulamasının metabolizmanın genel işleyişini engelleme potansiyeline sahip radikallerin oluşumunu engelleyebileceğini düşündürmektedir.

Abstract

The main purpose of the current study is to investigate if the pretreatment of acetone O-(4 chlorophenylsulfonyl) oxime (AO) molecule on maize seedlings under salt stress has mitigating effects on the adverse effects of stress or not. The following experimental setup was established: 18 hours distilled water control (K), 6 hours AO+12 hours distilled water (AO), 6 hours distilled water+then 12 hours 100 mM NaCl (TS) and 6 hours AO+then 12 hours 100 mM NaCl (AO+TS). According to the findings; While there was no difference between the control application and the AO application in terms of relative water content (RSI), it was determined that there was a significant decrease in TS and a significant increase in AO+TS compared to the control. While the chlorophyll content decreased in TS application compared to AO and control, the content increased significantly in AO+TS application compared to TS. While the highest carotenoid content was observed in the TS application, the lowest content was determined in AO+TS. While a significant decrease was observed in MDA and H₂O₂ contents in AO application compared to the control, a significant increase in TS compared to the control and a significant decrease in AO+TS compared to TS were determined. It was determined that guaiacol peroxidase, catalase, ascorbate peroxidase, and superoxide dismutase enzymes significantly reduced MDA and H₂O₂ content by regulating their activities with AO pre-application. While a significant increase was observed in proline content with AO application compared to control, it was determined that AO+TS caused a significant decrease in content compared to TS application. It was observed that AO application caused significant changes in the phenolic substance content. In the light of the findings, it is thought that it can be concluded that AO pre-application to maize seedlings under salt stress can prevent the formation of radicals that have the potential to inhibit the general functioning of metabolism.

GİRİŞ

Çevresel koşullar bitkilerin büyümesini, gelişmesini ve üretkenliğini etkiler. Tuzluluk, düşük sıcaklık ve kuraklık gibi abiyotik stresler, tarımsal sistemlerde hasat edilen

ürün miktarındaki azalmanın başlıca sorumlusudur (Boyer 1982). Tuzluluk, hem kayaçların aşınması, tuzlu sular, rüzgar, yağmurla taşınan okyanus tortuları ve iklimsel etmenler gibi doğal sebepler hem de tarımsal alanlarda yapılan yanlış sulamalar ile çeşitli tuzlar bakımından

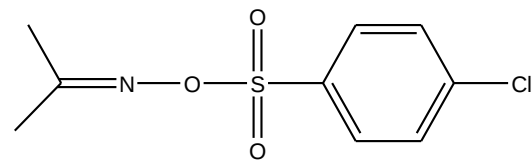
zengin yer altı sularının toprak yüzeyine yükselmesi, aşırı otlatma, bilinçsizce tarım arazilerinin açılması ve tuzluluğa neden olan kimyasalların kullanımı gibi yapay sebepler sonucu oluşan ve tarımsal üretimi önemli derecede kısıtlayan çevresel bir faktördür (Çulha ve Çakırlar 2012). Toprakta tuzluluk problemine neden olan bileşikler klorürler (NaCl , CaCl_2 , MgCl_2), sülfatlar (Na_2SO_4 , MgSO_4), nitratlar (NaNO_3 , KNO_3), karbonatlar ve bikarbonatlar (CaCO_3 , Na_2CO_3 , NaHCO_3) ve boratlar olarak ifade edilebilir. Ancak genelde toprak tuzluluğu ve tuz stresi denildiğinde NaCl 'nin varlığından söz edilmektedir (Eroğlu 2007). Toprak tuzluluğu bitki büyüme ve gelişimini iki şekilde olumsuz yönde etkilemektedir: birincisi kök dışındaki iyonlar, üşüme veya kuraklığın yarattığı strese benzer şekilde ozmotik bir stres oluşturarak bitkinin topraktan su almasını güçleştirmesi, ikincisi Na^+ ve Cl^- iyonlarının artışına bağlı olarak toksik etki oluşturmalarıdır (Ampudia-Galvan ve Testerink 2011, Munns 2005). NaCl fazlalığı su potansiyelini azaltmasının yanında, hücredeki iyon dengesini de bozarak bitki gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Yüksek tuz (NaCl) alınımı diğer besleyici iyonların geçişi ile rekabet eder. Buna bağlı olarak bitkilerde Na^+ ve Cl^- düzeyleri artarken; Ca^{+2} , K^+ ve Mg^{+2} düzeylerinde azalma meydana gelir (Parida ve Das 2005). Sodyum klorürün 100 mM'ın üzerindeki konsantrasyonları hücreler için sitotoksik olarak kabul edilmektedir. Çünkü bu durumda birçok temel enzim aktivitesinin azaldığı, hücre bölünmesi ve gelişmesinin inhibe edildiği rapor edilmiştir (Mahajan ve ark., 2008). Özellikle büyüme ve gelişme için gerekli temel etmenlerden biri olan Ca^{+2} iyon alınımı etkilendiğinde, Na^+ hücre zarındaki Ca^{+2} ile yer değiştirerek zarın apoplast kısmında $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ iyon oranının artmasına neden olur. Bu durumda, zarın fizyolojik ve fonksiyonel yapısında bozulmalar meydana gelir ve hücrenin Ca^{+2} dengesi olumsuz şekilde etkilenir (Çulha ve Çakırlar 2011). Türkiye'de toprakların 1,5 milyon hektara yakın kısmı tuzluluk sorunu ile karşı karşıyayken (Ekmekçi ve ark. 2005), Dünya genelinde toplam ekili tarım alanlarının %20'sinin, sulanan tarım alanlarının ise %33'ünün yüksek tuzluluktan etkilendiği tahmin edilmektedir. (Shrivastava ve Kumar 2015).

Dünya genelinde yetiştirilen önemli bir tahıl ürünü olan mısır (*Zea mays L.*), ABD'den sonra en çok Çin'de üretilmekte ve tüketilmektedir (Gale ve ark. 2014, Ashraf ve ark. 2016). Küresel gıda güvenliğinin önemli bir bileşeni olan mısır üretimi, çeşitli endüstrilerde artan talep nedeniyle artmaktadır (Rosegrant ve ark. 2012). Mısır su

eksikliğine karşı çok hassastır ve her iki yarım kürede de geniş alanlarda yetiştirilmektedir (Haarhoff ve Swanepoel 2018). Ayrıca mısır tanesinden elde edilen nişasta yağ ve glikoz da mısırı önemli bir sanayi bitkisi haline getirmektedir. 2050 yılı Dünya nüfus tahminleri göz önüne alındığında mısır üretiminin iki katına çıkarılması gerektiğini ortaya koymaktadır (Zu 2017).

Bitkilerde çeşitli abiyotik stres faktörlerine karşı salisilik Asit, GSH, H_2O_2 , askorbik asit, prolin, gallik asit ve nitrik oksit gibi çeşitli metabolitlerin ön muamelesinin mineral madde içeriği, genlerin regülasyonu, fotosentez hızı, kuru ağırlık ve antioksidan sistem gibi bazı parametreleri olumlu etkilediği ileri sürülmüştür (Cai ve ark. 2010, Zeng ve ark. 2012, Belkadi ve ark. 2012, Güzel ve Terzi 2013, Yetişsin 2015, Yetişsin ve Kurt 2020). Bitkilerin büyümesini teşvik eden kimyasalların uygulanması, stres toleransını arttırmanın etkili, kolay, düşük riskli ve düşük maliyetli bir yoldur (He ve ark. 2009, Hamdia ve Shaddad 2010).

Söz konusu maddelere benzer özellikte olabilecek yeni ve alternatif ürünlerin araştırılması da oldukça önemlidir. Benzer özelliklere sahip olma potansiyelini taşıyan AO molekülünde $\text{C}=\text{C}$ çift bağına radikallerin katılması, $\text{C}=\text{N}$ veya $\text{C}=\text{S}$ bağından daha kolaydır. Çünkü $\text{C}=\text{N}$ veya $\text{C}=\text{S}$ bağlarının $\text{C}-\text{N}$ veya $\text{C}-\text{S}$ 'ye dönüştürülmesi, $\text{C}=\text{C}$ 'nin $\text{C}-\text{C}$ 'ye dönüştürülmesinden daha fazla enerji gerektirir. AO yapısındaki $\text{C}=\text{N}$, $\text{S}=\text{O}$ ve $\text{C}=\text{C}$ yapıları sayesinde radikallerin süpürülmesine katkı sağlayabileceği söylenebilir. Ayrıca yapıdaki elektron çeken $-\text{Cl}$ grubu radikallerin kararlılığını artırma özelliğine sahiptir. Çünkü moleküler yapıdaki elektronegatif veya elektropozitif grupların radikallerin kararlılığını arttırdığı bilinmektedir. Bu durumda yapıdaki $-\text{Cl}$ grubunun, ortamdaki radikallerin süpürülmesine katkı sağlayacağı tahmin edilmektedir. Ayrıca yapıdaki konjugasyon, radikallerin stabilitesini artırabilir ve yapıya antioksidan özellikler katabilir. Böylece AO yapısının elektronik özellikleri ve deneyler sonucunda elde edilen veriler ışığında radikallere yapışarak antioksidan özelliğe sahip olduğu ifade edilebilir (Korkmaz ve Duran 2021, Korkmaz 2021, Korkmaz, yayınlanmamış makale).



Şekil 1. Aseton O-(4-klorofenilsülfonil) oksim'in yapısı

Savall ve ark. (2019)'da yaptıkları çalışmada *Artemia salina* ve *Rattus norvegicus*'un asetil kolin esterase enzimi üzerinde malathion zehirlenmesi ile yaptıkları çalışmada isatin ve oksim türevlerinin malathion inhibisyonuna karşı önemli bileşenlere sahip olduğunu, güvenli olduğunu ve kolin esterase enzimini yeniden aktive ettiğini belirtmişlerdir. Fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada, Dibenzofuranon-Oksim türevlerinin 10 mg/kg/7d konsantrasyonunda nöroprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Zhurenko ve ark. 2020). Başka bir çalışmada, test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ajanlar olarak en etkili oksimler olarak çeşitli oksim türevleri not edilmiştir. Bazı oksim türevlerinin konsantrasyonundaki artışın daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye neden olduğu belirlenmiştir (Lasri ve ark. 2020).

Yapılan literatür taramasında, tuz stresi koşullarında AO ön muamelesi sonucu bitkilerde oluşan hasarın boyutları ve bitkilerin verdiği yanıtlarla ilgili herhangi bir verinin olmadığı belirlenmiştir. Mevcut çalışma; tuz stresi koşullarındaki mısır fidelerine AO ön uygulamasının fidelerin fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkilerinin araştırılmasını amaçlamaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiş olan ADA 523 isimli mısır (*Zea mays L.*) çeşidine ait sertifikalı tohumlar, toprak içeren 10 saksıya ekildi. Her saksıya 6 adet tohum ekildi. Bitkiler dört hafta süreyle, % 55-60 nem, 400 µmol m⁻² s⁻¹ ışık şiddeti, 25 °C ± 2 sıcaklık ve 16 saat ışık/8 saat karanlık periyodunda bir bitki büyütme odasında yetiştirildi. Bitkiler iki günde bir 200 mL musluk suyuyla sulandı. Deney için olgunlaşan bitkiler topraktan 2 cm yükseklikte gövdelerinden kesilerek saf su içeren cam tüplere aktarıldı. Yaralanma stresinin olumsuz etkilerini yatıştırmak için bir saat saf su içerisinde bekletilen bitkiler aşağıdaki uygulama gruplarına ayrıldı.

Uygulama grupları:

1. Uygulama: Kontrol, 18 saat saf su,
2. Uygulama: AO, önce 6 saat Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)Oksim, sonra 12 saat saf su
3. Uygulama: TS, önce 6 saat saf su, sonra 12 saat Tuz (100 mM NaCl)

4. Uygulama: AO+TS, önce 6 saat Aseton O-(4-klorofenilsülfonil)Oksim, sonra 12 saat Tuz (100 mM NaCl),

Her uygulama grubu için 4 bitki kullanıldı. Bitkiler -20 °C'de saklandı. Elde edilen örneklerde aşağıdaki parametreler ölçüldü.

Yaprak Su İçeriği: Yaprakların su içeriğini belirlemek için nisbi su içeriği (RWC) ölçüldü (Barrs ve Weatherley 1962).

Yaprakta Nisbi Su İçeriği (RWC %): [(YA-KA)/(TA-KA)]x100

YA: Yaş Ağırlık KA: Kuru Ağırlık TA: Turgid Ağırlık

Fotosentetik Pigmentlerin Tayini: Fotosentetik pigmentlerin (karotenoid ve klorofil) tayini Arnon (1949)'a göre belirlendi. Pigment sentezinin bakır stresinden etkilendiği bilinmektedir. Bu analiz neticesinde bakır stresinden pigmentlerin ne oranda etkilendiği belirlendi. Ön muamelelerin pigmentler üzerine koruyucu etkileri saptandı. Bunun yanı sıra pigment değerlerinin bilinmesi lipid peroksidasyonu sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanıldı.

Prolin Tayini: Kurutulmuş numunelerden (0,2 g) alınarak 10 mL% 3'lük sülfosalisilik asit ile homojenizasyonun ardından filtre edildi. Süzüntü 22 °C'de 5,000 rpm'de 5 dk santrifüj edilecek. Süpernatant kısımlarından 1 mL alınarak üzerine 1 mL asetik asit ve 1 mL ninhidrin konulacak. Ninhidrin, asetik asit ve orto-fosforik asit kullanılarak hazırlandı. Daha sonra tüplere konulan örnekler 1 saat 100 °C'de su banyosunda tutulacak ve reaksiyon buzda sonlandırıldı. Soğuyan örneklerin üzerine 3 mL toluen eklenerek, vortekle karıştırıldı. Ağzı kapaklı tüplere alınan örnekler 4.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası pipetle üst faz sarsılmadan küvete alındı ve 520 nm'de spektrofotometrede okunacak (Bates ve ark. 1973). Sonuçlar gram taze ağırlık (TA) başına µg olarak ifade edildi.

Lipid Peroksidasyonu Tayini: Lipid peroksidasyon seviyesi, lipid peroksidasyonun bir ürünü olan malondialdehid içeriğine dayanarak Heath ve Packer (1968) metodunu takiben ölçüldü. Ekstraksiyon % 0.1 trikloro asetik asit (TCA) içerisinde yapıldı. Homojenat 15000 g de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatantın 1 mL'sine 4 mL, % 20 TCA içerisinde hazırlanmış % 0.5 tiobarbiturik asit (TBA) ilave edildikten sonra, süpernatantın absorbansı 532 nm de kaydedildi. 600 nm de spesifik olmayan absorpsiyon için okunan değer hesaptan çıkarıldı. Elde edilen sonuç, formülde (A = E.c.l) yerine

konularak malondialdehit (MDA) konsantrasyonu hesaplandı.

H₂O₂ İçeriğinin Belirlenmesi: H₂O₂ içeriği Velikova ve ark. (2000) metoduna göre belirlendi. Yaprak numunelerinden 0,25 g alınarak 0,1 g aktif kömür ile birlikte 5 mL % 0,1 TCA içerisinde homojenize edildi. Homojenat 15.000 g de + 4 °C'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatanttan 1000 µL alınarak üzerine 1000 µL 10 mM potasyum fosfat tamponu ve 1500 µL 1 M KI ilave edildikten sonra oluşan sarı renk 390 nm'de spektrofotometredeki kayıtlı standart grafikten okundu.

Guaiakol Peroksidaz (GPX) Aktivitesinin Tayini: Guaiakol peroksidaz (EC 1.11.1.7) aktivitesi, Urbanek ve ark., (1991)'in yöntemine göre belirlendi. Enzim aktivitesi, 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 0,1 mM EDTA, 5 mM guaiakol, 15 mM H₂O₂ ve 50 µL enzim ekstraktı içeren 2 mL'lik reaksiyon karışımının 470 nm'de 1 dakika süreyle ölçülmesiyle belirlendi. Guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesi $\epsilon=26,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ekstrikasyon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini: Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) aktivitesi, Aebi (1983)'nin yöntemine göre belirlendi. Enzim aktivitesi, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 30 mM H₂O₂ ve 20 µL enzim ekstraktı içeren 1 mL'lik reaksiyon karışımının 240 nm'de 5 dakika süreyle ölçülmesiyle belirlendi. Katalaz aktivitesi, H₂O₂ için $\epsilon=39,4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ekstrikasyon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini: Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971) metoduna göre belirlendi. 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,8), 0,1 mM EDTA, 13 mM metiyonin, 75 µM nitro blue tetrazolyum ve 50 µL ekstrakt ihtiva eden 1 mL reaksiyon ortamına 2 µM riboflavin ilave edilerek reaksiyon başlatıldı, bu karışım 10 dakika boyunca 375 µmol m⁻² s⁻¹ şiddetinde beyaz ışığa maruz bırakıldıktan sonra 560 nm'de absorbans değerleri belirlendi.

Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Tayini: Askorbat peroksidaz (APX, EC 1.11.1.11) aktivitesi, 290 nm'de absorbanstaki azalışa bağlı olarak belirlendi (Nakano ve

Asada 1981). Enzim aktivitesi, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 250 µM ASC, 5 mM H₂O₂ ve 20µl enzim ekstraktı içeren 1 mL'lik reaksiyon karışımının ölçülmesiyle belirlendi. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm'de ASC için $\epsilon=2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ekstrikasyon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

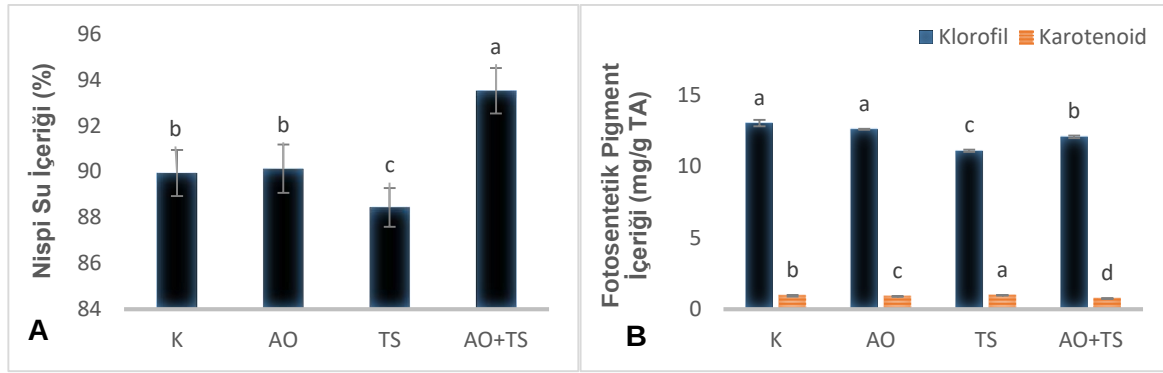
Fenolik Madde Tayini: HPLC ile fenolik madde miktarı tayini için 14 farklı standart (askorbik asit, gallik asit, mirisetin, absisik asit, quersetin, apigenin, kaempferol, curcumin, catechol, vanillin, kafeik asit, sinnamik asit, rosmarinik asit ve salisilik asit) son konsantrasyonları 10 mg/mL olacak şekilde tartılıp 50 mL'lik balon jojeler içine konuldu. Standartlar hazırlanan %1'lik asetik asit ile 1/9 oranında asetonitril ilave edilerek çözelti hazırlandı. Çözeltiye 1/1 oranında metanol ilave edilerek standartları çözmek için gerekli olan stok çözelti hazırlandı. Stok çözeltilerden 5 farklı oranda (100 mM, 75 mM, 50 mM, 25 mM ve 10 mM) olacak şekilde numuneler hazırlandı (Tapan 2016).

İstatistiksel Analizler: Deneyler, tesadüf parseller deneme desenine göre en az 3 tekrarlı olarak yapıldı. Elde edilen bulgular Statistic Package for Social Sciences (SPSS 17.0) paket programının Duncan Çoklu Karşılaştırma testi ile değerlendirildi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Uygulamaların Nispi Su İçeriği (NSİ) Üzerine Etkisi

Su stresi, NSİ içeriğinin azalmasına neden olur ve NSİ kuraklık stresinden etkilenen en önemli parametrelerden biridir (Hussain ve ark. 2019). Tuz stresinin farklı şiddetlerine maruz bırakılan *Oryza sativa*'nın farklı çeşitlerinde stresin şiddetine paralel olarak NSİ içeriğinin azaldığı ifade edilmiştir (Polash ve ark. 2018). Mevcut çalışmadan elde edilen bulgulara göre; AO uygulaması ile kontrol grubu arasında NSİ açısından önemli bir fark belirlenemezken, TS uygulamasının NSİ'sinde kontrole kıyasla önemli bir azalışın olduğu belirlendi. AO+TS uygulamasında ise tüm uygulamalara kıyasla en yüksek NSİ kaydedildi (Şekil 2A). Elde edilen bulgu AO'nun su durumu üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ve bunu osmoregülasyon ile başardığına işaret etmektedir.



Şekil 2. Tuz stresi koşullarında AO uygulamasının fotosentetik pigment ve nispi su içerikleri üzerine etkisi. Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

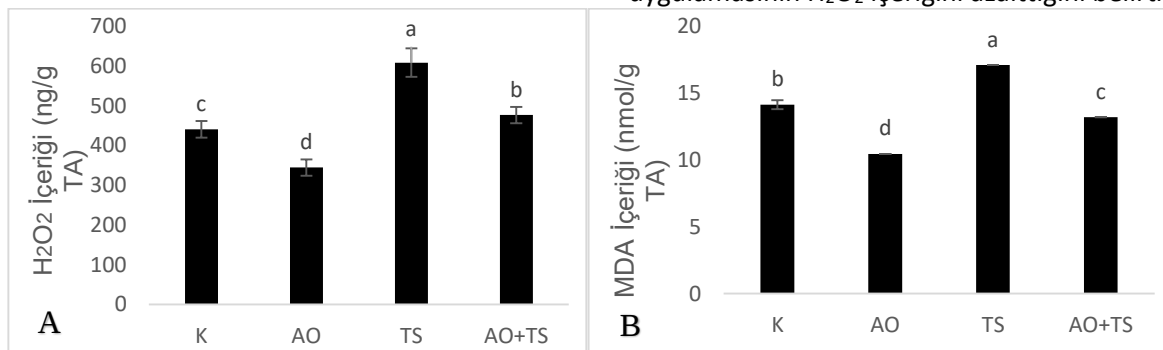
Uygulamaların Fotosentetik Pigment İçeriği Üzerine Etkisi

Su eksikliği ROS oluşumuna neden olur. ROS, hücrede membran lipitleri, nükleik asitler, proteinler, klorofiller ve makro moleküllere zarar vermektedir (Kaçar ve ark. 2006). Bu çalışmanın bulguları incelendiğinde, toplam klorofil içeriği açısından kontrol ile AO uygulamaları arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığı belirlendi. TS uygulaması yaprakların klorofil içeriğini kontrole göre azaltırken, AO+TS uygulamasında TS uygulamasına göre klorofil içeriğinde önemli bir artış kaydedildi. Karotenoid içeriği açısından AO uygulamasında kontrole kıyasla önemli bir azalışın olduğu fark edildi. TS uygulamasında yaprakların karotenoid içeriği tüm uygulamalara göre yüksekken, AO+TS uygulamasında karotenoid içeriğinin tüm uygulamalara göre en düşük olduğu belirlendi (Şekil 2B). Yarsi ve ark. (2017)'de kavun bitkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada tuz stresinin hem klorofil hem de karotenoid içeriklerinde azalışa neden olduğunu ifade etmişlerdir. Mevcut çalışma klorofil içeriği açısından bu çalışma ile uyumlu iken karotenoid içeriği açısından aksi bulgular kaydetmektedir. Oysa tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde ROS'ların süpürülmesinde önemli bir antioksidan olan karotenoid içeriğinin artışının gerçekleşmesi metabolizmanın

işleyişinin korunması açısından daha uygun görülmektedir.

Uygulamaların Hidrojen Peroksit (H_2O_2) İçeriği Üzerine Etkisi

Abiyotik stresler, redoks reaksiyonlarının bir sonucu olarak süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) ve H_2O_2 oluşumuna neden olur. Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinen H_2O_2 ve süperoksidin ($O_2^{\bullet-}$) reaksiyonu ile hidroksil radikalleri ($\bullet OH$) oluşur. Oluşan ROS'lar Fenton reaksiyonları ile oksidatif hasara neden olabilir (Smirnoff 1998). Oksitleyici özellikleri nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir (Mittler 2006). Bulgular ışığında AO uygulamasının kontrole kıyasla H_2O_2 içeriğinde önemli bir azalışa neden olduğu belirlendi. Tuz stresine maruz kalan fidelerde kontrole kıyasla H_2O_2 içeriğinde önemli bir artış gözlenirken, AO+TS uygulamasında TS uygulamasına göre önemli bir azalış belirlendi (Şekil 3A). Zhu ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada, 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan *Arabidopsis thaliana* bitkisinde H_2O_2 miktarının önemli ölçüde arttığını rapor etmişlerdir. Elkelish ve ark. (2019)'nın soya fasulyesi (*Glycine max L.*) üzerinde yaptıkları bir çalışmada, mevcut çalışmaya benzer şekilde 100 mM tuz stresi altındaki bitkilere 2 mM kalsiyum ön uygulamasının H_2O_2 içeriğini azalttığını belirtmişlerdir.



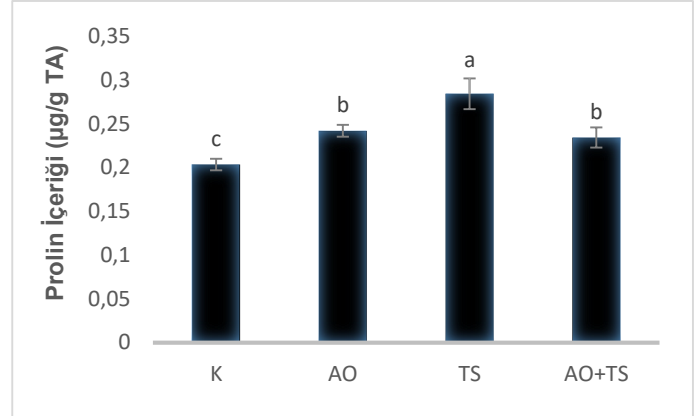
Şekil 3. Tuz stresi koşullarında AO uygulamasının MDA ve H_2O_2 içerikleri üzerine etkisi. Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

Uygulamaların MDA İçeriği Üzerine Etkisi

MDA içeriği, oksidatif stres koşulları tarafından oluşturulan önemli bir parametredir (Irigoyen ve ark. 1992). Lipid peroksidasyon oluşumu, stresörlere maruz kalmanın bir sonucu olarak serbest radikaller tarafından indüklenebilir (Thompson ve ark. 1987). AO uygulamasının kontrole kıyasla MDA içeriğinde önemli bir azalışa neden olduğu belirlendi. Tuz stresine maruz kalan fidelerde kontrole göre MDA içeriğinde önemli bir artış gözlenirken, AO+TS uygulamasının MDA içeriği TS uygulamasına kıyasla önemli bir azalış kaydedildi (Şekil 3B). Zhu ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada, 100 mM NaCl stresine maruz bırakılan Arabidopsis thaliana bitkisinde MDA içeriğinin önemli ölçüde arttığını rapor etmişlerdir. Elkelish ve ark. (2019)'nın soya fasulyesi (Glycine max L.) üzerinde yaptıkları bir çalışmada, mevcut çalışmaya benzer şekilde 100 mM tuz stresi altındaki bitkilere 2 mM kalsiyum ön uygulamasının MDA içeriğini önemli oranda azalttığını ifade etmişlerdir. Başka bir çalışmada da bütün bitkisine uygulanan tuz stresi MDA içeriğinde bir artışa neden olmuş, melatonin ön uygulaması ile tuz stresine kıyasla MDA içeriğinde önemli bir azalmanın olduğu görülmüştür (Armağan ve Memet 2018). Elde edilen bulguların ışığında tuz stresi altında H_2O_2 ve MDA içeriklerinin AO uygulaması ile önemli oranda azalmış olması AO ön uygulamasının antioksidan sistemin güçlü bir şekilde aktive olmasına sebep olduğunu düşündürmektedir.

Uygulamaların Prolin İçeriği Üzerine Etkisi

Bitkiler prolin artışı ile strese karşı adaptasyon mekanizması geliştirir (Saradhi 1991). Ahanger ve Agarwal (2017) tuz stresi altındaki buğday (Triticum aestivum L.) bitkisinde potasyum ön muamelesinin prolin seviyesini arttırdığını belirtmişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda, AO uygulamasının prolin içeriğini kontrole göre önemli oranda arttırdığı görüldü. TS'de kontrole göre prolin içeriğini önemli miktarda arttırırken, AO+TS uygulamasında TS'ye göre nispeten bir azalma belirlendi (Şekil 4). Mevcut çalışmadan elde edilen bulguların ışığında, AO ön uygulamasının tuz stresi altındaki mısır fidelerinde prolin birikimin uyararak tuz stresinin olumsuz etkilerine karşı ozmotik düzenlemeyle bitkiyi korumaya aldığı söylenebilir. AO+TS'de TS uygulamasına göre görülen nispi azalmanın AO'nun stresin olumsuz etkilerini bertaraf etmek için prolinin bir araç olarak tüketilmesini teşvik ettiği söylenebilir.



Şekil 4. Tuz stresi koşullarında AO uygulamasının Prolin içeriği üzerine etkisi. Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

Uygulamaların Antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi

Reaktif oksijen türlerini süpürülmesi için antioksidan enzimlerin uyumlu bir şekilde çalışmasına ihtiyaç vardır (Borna ve ark. 2021). Tuz stresi altında AO uygulamasının antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), guaikol peroksidaz (GPX), katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) enzimlerinin aktivitelerindeki değişim incelendi.

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkisi

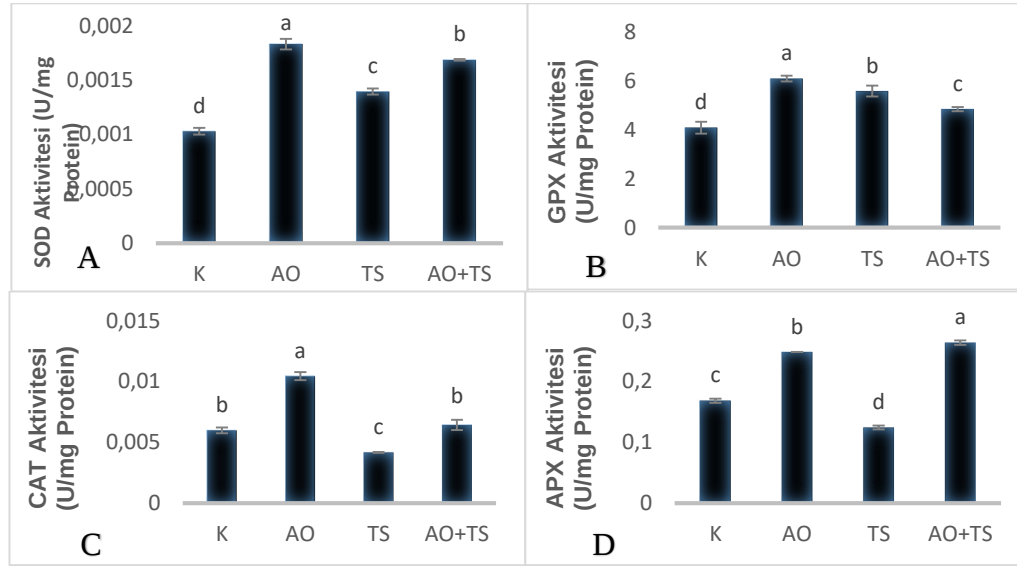
SOD enziminin katalitik etkisi ile süperoksit radikalının H_2O ile tepkimeye girmesi ile oluşan H_2O_2 APX, CAT ve GPX tarafından suya ve oksijene dönüştürülür (Asada 1999).

SOD enzim aktivitesi grafiği incelendiğinde; tek AO uygulaması SOD aktivitesinde istatistiksel olarak kontrole göre önemli bir artışa neden olduğu gözlemlendi. Tuz stresi altında SOD aktivitesinde önemli bir azalma oluşurken, AO+TS uygulamasında TS'ye göre istatistiki olarak önemli bir artış kaydedildi (Şekil 5A). Elkelish ve ark. (2019)'nın tuz stresi altındaki soya fasulyesine kalsiyum ön uygulaması yaptıkları çalışmada kontrol, kalsiyum ve TS uygulamaları ile mevcut çalışmadaki bulgular benzerken, Ca+TS uygulamasında bu çalışmanın aksine SOD aktivitesini arttırdığı kaydedildi. SOD enzimi bütün canlı organizmalarda süperoksiti temizleyerek hidroksil radikalının oluşum riskini azaltır ve oksidatif strese karşı merkezi bir rolü vardır (Mehlhorn ve ark. 1996). SOD enziminin farklı formlarının olması, hücrede farklı yerlerde bulunabilmesi ve SOD enzimini kodlayan genlerin strese duyarlı olması (Dixit ve ark. 2001) tuz stresi altındaki mısır fidelerine AO ön uygulaması ile SOD aktivitesinde önemli dalgalanmalara neden olabilir

Guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesine etkisi

GPX, stres sırasında oluşan H_2O_2 'nin temizlenmesini sağlayarak oksidatif strese karşı koruma görevi yapar. Stres altındaki bitkilerde GPX aktivitesinin arttığı bilinmektedir (Gaspar ve ark. 1991). Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre; tek AO uygulaması GPX aktivitesinde kontrole göre önemli bir artışa neden olurken, TS'de kontrole göre artış ama AO'ya göre ise

nispi bir aktivite azalışı kaydedildi. AO+TS uygulamasında kontrole göre önemli bir artış görülürken, TS'ye göre nispi bir azalış belirlendi (Şekil 5B). Tuz stresine maruz bırakılan *A. thaliana* bitkisinde GPX aktivitesinin arttığı ifade edilmiştir (Feng ve ark. 2019). Tuz stresi altında AO ön uygulamasının GPX aktivitesinde meydana getirdiği azalmanın bir sonucu olarak; AO'nun oksidatif strese karşı korumada, H_2O_2 ve MDA içeriklerini azaltılmasıyla kritik bir rol oynadığı söylenebilir.



Şekil 5. Tuz stresi koşullarında AO uygulamasının SOD, GPX, CAT ve APX enzimlerinin aktiviteleri üzerine etkisi. Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir ($P \leq 0,05$).

Katalaz (CAT) aktivitesine etkisi

Bitki hücrelerinde stresli şartlarda oluşan H_2O_2 'nin katalaz enzimi tarafından parçalanabileceği ifade edilmektedir (Feierabend ve ark. 1992). CAT enzimi aktivitesine ilişkin bulgular değerlendirildiğinde tek AO uygulaması tüm uygulamalara göre katalaz aktivitesinde en yüksek artışa neden olmuştur. Tuz stresi CAT aktivitesinde kontrole göre önemli bir azalışa neden olurken, AO+TS uygulamasında ise TS'ye göre CAT aktivitesinde önemli bir artış belirlendi (Şekil 5C). Doku kültüründe 21 gün 100 mM'lık tuz stresi altındaki domates bitkisi ile yapılan çalışmada CAT enzim aktivitesinde önemli bir azalma oluşurken, daha az tuz konsantrasyonlarında aktivitenin arttığı ifade edilmiştir (Sirinieng ve ark. 2015). Bu durum tuz stresinin CAT enziminin nispi inhibisyonuna neden olduğunu, H_2O_2 ve MDA içerikleri göz önünde bulundurulduğunda AO ön uygulamasının ise stresin olumsuz etkilerini hafifleterek enzim aktivitesinin artmasına neden olduğunu düşündürmektedir.

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesine etkisi

Askorbat peroksidaz, askorbik asiti kullanarak H_2O_2 ile enzimatik olarak tepkimeye girerek H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü katalize etmektedir. Kloroplast ve mitokondrilerde H_2O_2 'nin süpürülmesinde en önemli rolü askorbik asit oynamaktadır (Asada 1999). APX enzimi aktivitesi bulguları incelendiğinde AO uygulamasının kontrole göre APX aktivitesinde önemli bir artışa neden olduğu belirlenirken, en yüksek aktivite AO+TS'de kaydedildi. TS uygulamasında ise en düşük APX aktivitesi gözlemlendi (Şekil 5D). Tuz stresi altındaki buğdaya potasyum ön muamelesinin APX aktivitesini arttırdığı kaydedildi (Ahanger ve Agarwal 2017). AO+TS uygulamasındaki askorbik asit içeriğindeki artış ve H_2O_2 ile MDA içeriklerindeki azalış APX aktivitesindeki artış ve diğer antioksidan enzimlerin bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde AO'nun antioksidan sistemin enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu ifade edilebilir.

Fenolik bileşik içerikleri üzerine etkisi

Metabolizmanın genel işleyişi içerisinde antioksidan sistem ile fenolik bileşikler arasında bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Fenolik bileşikler serbest radikallere H⁺ vererek hücreleri ROS'ların zararlı etkilerini karşı korurlar. Stres koşulları altında bitkilerin fenolik maddelerin içeriklerinde dalgalanmalar belirlenmiştir. (Kaya ve Artuvan 2016). Mevcut çalışmada fenolik bileşiklerden olduğu değerlendirilen, absisik asit (ABA), askorbik asit (AsA), salisilik asit (SA), gallik asit, trans-p-kumarik asit, mirisetin, 4-hidroksibenzoik asit, 3,4-dihidroksibenzoik asit, apigenin, kaempferol, kurkumin, kateşol, vanilik asit, kafeik asit, sinnamik asit, rozmarinik asit ve kuarsetin içerikleri HPLC ile belirlendi.

AsA oksidatif strese tolerans sağlamada ve süperoksit ile hidroksil radikallerinin temizlenmesinde rol aldığından, stres koşullarında bitki hücrelerinde miktarı artmaktadır

(Avşar 2018). Bu çalışmada tek başına AO uygulaması AsA içeriğinde kontrole göre önemli bir artışa neden olurken, en yüksek AsA içeriği AO+TS uygulamasında belirlendi. AO+TS uygulamasında da TS'ye kıyasla belirgin bir artış kaydedildi. Tuz stresi altındaki mısır bitkisine askorbik asitin eksojen uygulanması sonucunda iyileştirici etkisinin belirlenmiş olması (Doğru ve Torlak 2020) mevcut çalışmayı destekler niteliktedir. AO ön uygulaması ile AsA içeriğinde meydana gelen artış, APX enzim aktivitesinin ve antioksidan sistemin sürdürülebilirliğine önemli bir katkı sunmaktadır. Sekonder metabolizmanın önemli bileşikleri olan 4-hidroksibenzoik asit, 3,4 dihidroksibenzoik asit, kateşol ve sinnamik asit içeriklerinde hem AO'nun tek başına hem de stresle birlikte ön uygulamasının önemli dalgalanmalara neden olduğu belirlenmiştir. Ancak ABA, SA, trans-p-kumaric asit, mirisetin, kuarsetin, kurkumin, vanilik asit, kafeik asit, apigenin, kaempferol, rozmarinik asit ve gallik asit içerikleri saptanamadı (Çizelge 1).

Çizelge 1. Tuz stresi koşullarında AO uygulamasının fenolik bileşik içerikleri üzerine etkisi (µg/g). Aynı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemsizdir (P ≤ 0.05).

Fenolik Maddeler	K	AO	TS	AO+TS
Absisik asit (ABA)	N/A	N/A	N/A	N/A
Askorbik asit (AsA)	2.96±0.56 ^d	3.48±0.08 ^c	4.43±0.10 ^b	6.49±0.32 ^a
Salisilik asit (SA)	N/A	N/A	N/A	N/A
Gallik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
trans-p-kumarik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
Mirisetin	N/A	N/A	N/A	N/A
4-Hidroksibenzoik asit	5.14±6.57 ^d	11.31±0.25 ^b	10.9±0.11 ^c	14.3±0.05 ^a
3,4-Dihidroksibenzoik asit	2.22±0.04 ^c	2.15±0.006 ^d	2.81±0.003 ^b	3.50±0.06 ^a
Apigenin	N/A	N/A	N/A	N/A
Kaempferol	N/A	N/A	N/A	N/A
Kurkumin	N/A	N/A	N/A	N/A
Kateşol	9.78±10.9 ^a	7.45±0.01 ^b	1.62±0.002 ^d	5.4±0.008 ^c
Vanillin	N/A	N/A	N/A	N/A
Kafeik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
Sinamik asit	8.19±0.04 ^c	7.84±0.004 ^d	10.9±0.001 ^a	9.62±0.08 ^b
Rozmarinik asit	N/A	N/A	N/A	N/A
Kuarsetin	N/A	N/A	N/A	N/A

SONUÇ

Mevcut araştırma, tuz stresi altındaki mısır fidelerine AO ön uygulamasının fidelerin strese karşı fizyolojik durumunu gösteren parametreler üzerinde olumlu etkilerinin olup olmadığını incelemiştir. Sonuç olarak, tek AO ön uygulamasının mısır fideleri üzerinde olumsuz etkisinin olmadığına ve fidelerin tuz stresinin olumsuz etkilerinin üstesinden gelmesinde önemli katkılar

sağladığı belirlenmiştir. Bu durum, AO'nun sahip olduğu antioksidan özelliklerden ve metabolik bir düzenleyici molekül olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Teşekkürler

Bu çalışma Muş Alparslan Üniversitesi BAP biriminin BAP-20-TBMY-4902-01 nolu projesi ile desteklenmiştir. Ayrıca, AO bileşiğini sentezleyen Adem KORKMAZ ve ADA-523

mısır tohumlarını sağlayan Türkiye Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsü'ne teşekkürler.

KAYNAKLAR

- Aebi HE (1983) Catalase. Methods of enzymatic analysis.
- Ahanger MA, Agarwal RM (2017) Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L.) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 449-460.
- Ampudia-Galvan CS, Testerink C (2011) Salt stress signals shape the plant root, *Current Opinion in Plant Biology*, 14, 296-302.
- Armağan K, Memet İ (2018) Kuraklık ve Tuz Streslerine Maruz Kalan Tütün (*Nicotiana tabacum* L.) Bitkisinde Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Melatoninin Etkileri, *Tarım ve Doga Dergisi*, 21 (4), 559.
- Arnon DI (1949) Plant physiology. *Plant Physiol* 24:1-15.
- Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annual review of plant biology*, 50 (1), 601-639.
- Ashraf U, Salim MN, Sher A, Sabir SR, Khan A, Pan S, Tang X (2016) Maize growth, yield formation and water/nitrogen usage in response to varied irrigation and nitrogen supply under semi-arid climate. *Turkish Journal of Field Crops*, 21(1), 87-95. doi:10.17557/tjfc.93898.
- Avşar M (2018) Kuraklık stresinde fenilalanin uygulamasının reyhan (*Ocimum basilicum* L.) bitkisinde fenolik bileşikler, antioksidan aktivite ve stres parametrelerine etkisi. *Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Osmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 5-70.
- Barrs H, Weatherley P (1962) A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Aust J Biol Sci* 15:413-428. doi: 10.1071/bi9620413.
- Bates L, Waldren R, Teare I (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:189-198. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- Beauchamp C, Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem* 44:276-287.
- Belkadi A, Hediji H, Abbes J, Djebali W, Chaibi W (2012) Influence of Salicylic Acid Pre-treatment of Cadmium Tolerance and Its Relationship with Non-Protein Thiol production in Flax Root, *African Journal of Biotechnology*, 11, 9788-9796.
- Borna F, Nazeri V, Ghaziani F, Shokrpour M (2021) Morphological and physiological response of some Iranian ecotypes of *Leonurus cardiaca* L. to drought stress, *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, 37-50.
- Boyer JS (1982) Plant productivity and environment. *Science*, 218: 443-8.
- Cai Y, Lin L, Cheng W, Zhang G, Wu F (2010) Genotypic Dependent Effect of Exogenous Glutathione on Cd-Induced Changes in Cadmium and Mineral Uptake and Accumulation in Rice Seedlings (*Oryza sativa*), *Plant Soil Environment*, 56, 516-525.
- Çulha Ş, Çakırlar H (2012) Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları, *Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, AKÜ FEBİD* 11 (2011) 021002 (11-34)
- Dixit V, Pandey V, Shyam R (2001) Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad), *Journal of Experimental Botany*, 52 (358), 1101-1109.
- Doğru A, Torlak E (2020) Tuz Stresi Altındaki Mısır Bitkilerinde Eksojen Askorbik Asit Uygulamasının Etkileri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30 (Ek sayı (Additional issue)), 919-927.
- Ekmekçi E, Apan M, Kara T (2005) Tuzluluğun bitki gelişimine etkisi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20, 3, 118-125.
- Elkelish AA, Alnusaire TS, Soliman MH, Gowayed S, Senousy HH, Fahad S (2019) Calcium availability regulates antioxidant system, physio-biochemical activities and alleviates salinity stress mediated oxidative damage in soybean seedlings. *J. Appl. Bot. Food Qual*, 92, 258-266.
- Eroğlu İ (2007) Tuz stresinin Bazı Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Kültür Çeşitlerinde Tohum Çimlenmesi ve Fide Gelişimi Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Feierabend J, Schaen C, Hertwig B (1992) Photoinactivation of catalase occurs under both high-and low-temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II, *Plant Physiology*, 100 (3), 1554-1561.
- Feng XH, Zhang HX, Ali M, Gai WX, Cheng GX, Yu QH, Yang SB, Li XX, Gong ZH (2019) A small heat shock protein CaHsp25. 9 positively regulates heat, salt, and drought stress tolerance in pepper (*Capsicum annuum* L.), *Plant Physiology and Biochemistry*, 142, 151-162.
- Gale F, Jewison M, Hansen J (2014) Prospects for China's corn yield growth and imports. Washington DC: United States Department of Agriculture Economic Research Service.
- Gaspar T, Penel C, Hagege D, Greppin H (1991) Peroxidase in plant growth, differentiation, and development processes. In: Lobarzewski J., Greppin H., Penel C. and Gaspar Th. (eds), *Biochemical, Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases*. Université de Geneve Press, Geneva, pp. 249-280.
- Guzel S, Terzi R (2013) Exogenous hydrogen peroxide increases dry matter production, mineral content and level of osmotic solutes in young maize leaves and alleviates deleterious effects of copper stress, *Botanical studies*, 54 (1), 26.
- Haarhoff, SJ, Swanepoel PA (2018) Plant population and maize grain yield: A global systematic review of rainfed trials. *Crop Science*, 58(5), 1819-1829.
- Hamdia MA, Shaddad MAK (2010) Salt tolerance of crop plants. *Journal of stress physiology & biochemistry*, 6(3), 64-90.
- He L, Gao Z, Li L (2009) Pretreatment of Seed with H₂O₂ Enhances Drought Tolerance of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings, *African Journal of Biotechnology*, 8, 6151-6157.
- Heath R, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 125: doi: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1).
- Hussain HA, Men S, Hussain S, Chen Y, Ali S, Zhang S, Zhang K, Li Y, Xu Q, Liao C, Wang L (2019) Interactive effects of drought and heat stresses on morphophysiological attributes, yield, nutrient uptake and oxidative status in maize hybrids. *Sci. Rep.* 9, 3890.
- Irigoyen J, Emerich D, Sánchez-Díaz M (1992) Alfalfa leaf senescence induced by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution, *Physiologia Plantarum*, 84 (1), 67-72.
- Kacar B, Katkat A, Öztürk Ş (2006) Bitki Fizyolojisi (2. Baskı), Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 563.
- Kaya B, Artuvan Y (2016) *Alchemilla cimilensis* in farklı polaritedeki ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi, *El-Cezeri Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3 (1), 27-54.
- Korkmaz A, Duran S (2021) High yielding electrophilic amination with lower order and higher order organocuprates: Application of acetone O-(4-Chlorophenylsulfonyl)oxime in the construction

- of the C–N bond at room temperature, *Synthetic Communications*, DOI: 10.1080/00397911.2021.1924787
- Korkmaz A (2021) Room-temperature copper-catalyzed electrophilic amination of arylcadmium iodides with ketoximes. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 1-7.
- Korkmaz A. (Yayınlanmamış Makale) Copper-Catalyzed Electrophilic Animation of Diarylcadmium Reagents Utilizing Acetone O-(4-chlorophenylsulphonyl)Oxime and Acetone O-(naphthylsulphonyl)oxime as Amination Agent. İğdir Univ. J. Inst. Sci. & Tech.
- Lasri J, Soliman SM, Elsilk SE, Haukka M, El-Faham A (2020) Synthesis, crystal structure, DFT and biological activity of E-pyrene-1-arbaldehyde oxime and E-2-naphthaldehyde oxime, *Journal of Molecular Structure*, 1207 (2020) 127848.
- Mahajan S, Pveey GK, Tuteja N (2008) Calcium- and salt-stress signaling in plants: shedding light on SOS pathway, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 471, 2, 146–158.
- Mehlhorn H, Lelandais M, Korth H, Foyer C (1996) Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases, *FEBS letters*, 378 (3), 203-206.
- Mittler R (2006) Abiotic stress, the field environment and stress combination, *Trends in plant science*, 11 (1), 15-19.
- Munns R (2005) Genes and salt tolerance: bringing them together, *New Phytologist*, 167, 645–663.
- Nakano Y, Asada K (1981) Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 22:867–880. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232.
- Parida AK, Das AB (2005) Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: a Review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
- Polash MAS, Sakil MA, Tahjib-Ul-Arif M, Hossain MA (2018) Effect of salinity on osmolytes and relative water content of selected rice genotypes. *Trop Plant Res*, 5(2), 227-232.
- Rosegrant MW, Tokgoz S, Bhandary P (2012) The new normal? A tighter global agricultural supply and demand relation and its implications for food security *Am. J. Agric. Econ.*, 95, pp. 303-309.
- Saradhi PP (1991) Proline accumulation under heavy metal stress, *Journal of Plant Physiology*, 138 (5), 554-558.
- Savall ASP, Fidélis EM, Gutierrez MEZ, Martins BB, Gervini VC, Puntel RL, Roos DH, Ávila DS, Pinton S (2019) Pre-clinical evidence of safety and protective effect of isatin and oxime derivatives against malathion-induced toxicity, *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 126:399–410.
- Shrivastava P, Kumar R (2015) Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2): 123-131.
- Smirnoff, N (1998) Plant resistance to environmental stress, *Current opinion in Biotechnology*, 9 (2), 214-219.
- Srinieng K, Saisavoey T, Karnchanatat A (2015) Effect of salinity stress on antioxidative enzyme activities in tomato cultured in vitro. *Pak. J. Bot*, 47(1), 1-10.
- Tapan S (2016) Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus Arvensis* and *Oenanthe Linearis* of north-eastern region in India. *J Appl Pharm Sci.*, 6: 157-166.
- Thompson JE, Legge RL, Barber R (1987) The role of free radicals in senescence and wounding, *New Phytologist*, 105 (3), 317-344.
- Urbanek H, Kuzniak-Gebarowska E, Herka K (1991) Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. *Acta Physiol Plant* 13:43–50.
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants, protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci* 151:59–66.
- Yarsi G, Sivaci A, Dasgan HY, Altuntas O, Binzet R, Akhoundnejad Y (2017) Effects of salinity stress on chlorophyll and carotenoid contents and stomata size of grafted and ungrafted galia C8 melon cultivar. *Pak. J. Bot*, 49(2), 421-426.
- Yetişsin F (2015) "Bakır stresine maruz bırakılan hassas ve dayanıklı mısır çeşitlerinde glutatyon, hidrojen peroksit ve salisilik asit uygulamalarının fotosentetik verim üzerine etkilerinin araştırılması ", Karadeniz teknik üniversitesi Fen bilimleri enstitüsü, Doktora tezi, Trabzon, 142 s.
- Yetişsin F, Kurt F (2020) Gallic acid (GA) alleviating copper (Cu) toxicity in maize (*Zea mays* L.) seedlings, *International Journal of Phytoremediation*, 22 (4), 420-426.
- Zeng F, Qiu B, Wu X, Niu S, Wu F, Zhang G (2012) Glutathione-Mediated Alleviation of Chromium Toxicity in Rice Plants, *Biol. Trace Elem. Res.*, 148, 255–263.
- Zhmurenko LA, Litvinova SA, Kutepova IS, Nerobkova LN, Mokrov GV, Rebeko AG, Voronina TA, Gudasheva TA (2020) Synthesis of Dibenzofuranone-Oxime Derivatives with Anticonvulsant, Antihypoxic, and Anti-Ischemic Activity, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 53:997-1004.
- Zhu Q, Zhang J, Gao X, Tong J, Xiao L, Li W, Zhang H (2010) The Arabidopsis AP2/ERF transcription factor RAP2.6 participates in ABA, salt ve osmotic stress responses, *Gene*, 457, 1–12.
- Zu C, Jliang C, Lu D (2017) Effect of exogenous selenium supply on photosynthesis, Na⁺ accumulation and antioxidative capacity of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress, *Scientific Reports* | 7:42039 | DOI: 10.1038/srep42039.