

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TARIMDA BİTKİ BESLEME AMAÇLI Cu VE Mn
İÇEREN ŞELAT BİLEŞİKLERİNİN HAZIRLANMASI
VE ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Talha AKKUŞ

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : ANORGANİK KİMYA
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Salih Zeki YILDIZ
Ortak Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ali DOĞRU

Mayıs 2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMDA BİTKİ BESLEME AMAÇLI Cu VE Mn
İÇEREN ŞELAT BİLEŞİKLERİNİN HAZIRLANMASI
VE ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI


YÜKSEK LİSANS TEZİ


Talha AKKUŞ

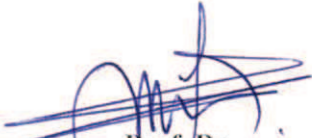
Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : ANORGANİK KİMYA

Bu tez 22/05/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr.
Erdoğan TARCAN

Jüri Başkanı

Prof. Dr.
Mustafa İMAMOĞLU
Üye


Prof. Dr.
Seda GÜNEŞDOĞDU
SAĞDINÇ
Üye


Prof. Dr.
Salih Zeki YILDIZ

Üye

Dr. Öğretim Üyesi
Ali DOĞRU
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar içinde elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallarının uygun olduğunu kullanılan yerlerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Talha AKKUŞ

10.05.2019



TEŞEKKÜR

Çalıőmamı yöneten, tezin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen tecrübelerinden ve bilgilerinden yararlandığım saygıdeğer danışman hocalarım Prof. Dr. Salih Zeki YILDIZ ve Dr. Öğr. Üyesi Ali DOĞRU' ya sonsuz teşekkür ederim.

Başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Abdil ÖZDEMİR olmak üzere ve çalışmalarım esnasında özellikle ICP-OES ölçümlerinde yardımlarını esirgemeyen Araő. Gör. Celal CANER ve tüm Kimya bölümü öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvardaki çalışmalarım esnasında kendi çalışmalarından fedakarlık ederek benden desteğini esirgemeyen doktora öğrencisi Ertuğ YILDIRIM, yüksek kimyager Özge ÖZTEN, yüksek kimyager Onur KABADAYI, yüksek kimyager Seçkin DERİN'e ayrı ayrı teşekkür ederim.

Ayrıca eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi yardımlarını bizden esirgemeyen sevgili aileme en içten şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma SAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2017-50-01-037).

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Şelat Bileşikleri	7
2.1.1. Şelat ajanlarının kullanım alanları	8
2.1.2. Tarımda kullanılan şelat oluşturuçu ajanlar.....	11
2.1.2.1. Dietilentiainin penta metilen asetik asit.....	13
2.1.2.2. Etilendiamin hidroksifenil asetik asit	15
2.1.2.3. Etilendiamin disüksinik asit.....	16
2.1.2.4. Etilendiamin tetra asetik asit.....	17
2.2. Bitki Besleme.....	19
2.2.1. Bitkilerde büyüme ve gelişme.....	20
2.2.2. Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen faktörler.....	21
2.2.2.1. Dış faktörler.....	21
2.2.2.1.1. Işık.....	21
2.2.2.1.2. Sıcaklık.....	22

2.2.2.1.3. Topraktaki su ve besin miktarı.....	22
2.2.2.1.4. Diğer faktörler.....	22
2.2.3. Bitkilerde stres kavramı.....	23
2.2.4. Bitkilerin stres faktörlerine verdikleri genel cevaplar.....	23
2.2.5. Stres faktörlerinin sınıflandırılması.....	25
2.2.6. Bitkilerde mineral besleme.....	27
2.2.6.1. Makroelementler.....	29
2.2.6.2. Mikroelementler.....	30
2.2.6.2.1. Mangan.....	30
2.2.6.2.1.1. Mangan alımını etkileyen faktörler.....	31
2.2.6.2.1.2. Manganın biyokimyasal fonksiyonları.....	32
2.2.6.2.1.3. Mangan noksanlığı.....	32
2.2.6.2.2. Bakır.....	33
2.2.6.2.2.1. Bakırın biyokimyasal fonksiyonları.....	33
2.2.6.2.2.2. Bakır noksanlığı.....	34
2.2.7. Bitkilerde aktif oksijen türlerinin (AOT) oluşumu.....	34
2.2.7.1. Kloroplastlar.....	35
2.2.7.2. Mitokondriler.....	36
2.2.8. Bitkilerde antioksidant sistem.....	36
2.2.9. Fotosentez olayı ve çeşitli stres faktörlerinin fotosentetik aktivitesi üzerinde etkileri.....	38
2.2.10. Klorofil floresansı tekniği.....	41
2.2.11. Mısır hakkında bilgi.....	44

BÖLÜM 3.

LİTERATÜR ÇALIŞMALARI.....	46
----------------------------	----

BÖLÜM 4.

MATERYAL VE METOD.....	48
------------------------	----

4.1. Materyal.....	48
4.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	48
4.1.2. Kullanılan cihazlar.....	48
4.2. Metod.....	49
4.2.1. Sentez çalışması	49
4.2.1.1. Etilendiamintetrapropanat sentezi.....	49
4.2.1.2. Etilendiamintetrapropanoik asit sentezi.....	49
4.2.1.3. $K_6[EDTPA]_2Mn$ kompleksi sentezi.....	50
4.2.1.4. $K_6[EDTPA]_2Cu$ kompleksi sentezi.....	51
4.2.1.5. Dietilentriaminpentapropanat sentezi.....	51
4.2.1.6. Dietilentriaminpentapropanoik asit sentezi.....	52
4.2.1.7. $K[DETAPPA]Mn$ kompleksi sentezi.....	53
4.2.1.8. $K[DETAPPA]Cu$ kompleksi sentezi	53
4.2.1.9. $NH_4[DETAPPA]Cu$ kompleksi sentezi.....	54
4.2.2. Kararlılık sabitlerinin hesaplanması.....	55
4.2.2.1. Kararlılık sabitlerinin spektrofotometrik yöntemle tayini.....	57
4.2.3. ICP-OES Analizleri	58
4.2.3.1. Hasat Edilen Bitkilerin ICP-OES Analizleri.....	58
4.2.4. Bitki besleme deneyleri.....	59
4.2.4.1. Bitki materyali.....	59
4.2.4.2. Ekim metodu ve yetiştirme.....	59
4.2.4.3. Klorofil a floresansı ölçümleri.....	61
4.2.4.4. Fotosentetik pigment miktarının belirlenmesi.....	62
4.2.4.5. Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi.....	62
4.2.4.6. Hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarının belirlenmesi....	62
4.2.5. Bazı antioksidant enzimlerin aktivitesinin belirlenmesi.....	63
4.2.5.1. Toplam süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi.....	63
4.2.5.2. Toplam askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesinin belirlenmesi.....	63

4.2.5.3. Toplam glutatyon redüktaz (GR) aktivitesinin belirlenmesi.....	64
4.2.5.4. Toplam guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitesinin belirlenmesi.....	64
4.2.6. İstatistiksel analizler.....	64

BÖLÜM 5.

ARAŞTIRMA BULGULARI	66
5.1. Ligandların Sentezi ve Karakterizasyonu.....	66
5.2. Komplekslerin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	69
5.3. ICP-OES Analiz Sonuçları.....	70
5.4. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Klorofil a Miktarı Üzerine Etkisi.....	71
5.5. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Klorofil b Miktarı Üzerine Etkisi.....	72
5.6. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Toplam Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi.....	73
5.7. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Toplam Karotenoid Miktarı Üzerine Etkisi.....	74
5.8. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı Üzerine Etkisi.....	75
5.9. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Malondialdehit (MDA) Miktarı Üzerine Etkisi.....	76
5.10. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesi Üzerine Etkisi.....	77
5.11. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Askorbat Peroksidaz (APOD) Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	78
5.12. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	79
5.13. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Guaiakol Peroksidaz (GPOD) Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	80

5.14. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Fotosentetik Aktivite Üzerine Etkisi.....	81
BÖLÜM 6.	
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	84
KAYNAKLAR.....	88
EKLER.....	105
ÖZGEÇMİŞ.....	121

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrat derece (Celsius)
µl	: Mikrolitre
ABA	: Absisik asit
AOT	: Aktif oksijen türleri
AÖF	: Anlamlı önemli fark
APOD	: Askorbat peroksidaz
CAT	: Katalaz
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
FS	: Fotosistem
FT-IR	: Furier infrared spektroskopisi
g	: Gram
GR	: Glutasyon redüktaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
L	: Ligant
M	: Merkez atom
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
MS	: Kütle spektroskopisi
NBT	: Nitroblue tetrazolyum
nm	: Nanometre
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
O ₂	: Moleküler oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OH ⁻	: Hidroksil radikali

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Dünyada kullanılan şelat ajanları.....	11
Şekil 2.2.	Bitki kökleri tarafından sentezlenen doğal şelatlama ajanları.....	12
Şekil 2.3.	(a)Dietilentriamin penta asetik asit (DTPA), (b) Nitrilotri asetik asit (NTA), (c) Dietilentriamin penta metilen fosfonik asit (DTPMA), (d) Hidroksi etilen difosforik asit (HEDP), (e) Nitrilotrimetilen fosforik asit NTMP, (f) Etilendiamin disüksinik asit (EDDS).....	13
Şekil 2.4.	Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin (DTPMP) molekül yapısı.....	14
Şekil 2.5.	Etilendiamin hidroksifenil asetik asitin (EDDHA) molekül yapısı.....	15
Şekil 2.6.	Etilendiamin disüksinik asitin (EDDS) moleküler yapısı.....	16
Şekil 2.7.	Etilendiamin tetra asetik asitin (EDTA) moleküler dizilişi.....	18
Şekil 2.8.	Dünyada kullanılan EDTA'nın sektörlere dağılımı.....	19
Şekil 2.9.	Çeşitli faktörlere bağlı olarak bitkilerin oluşturabileceği stres cevapları.....	25
Şekil 2.10.	Toprağın pH değerinin bitki besin elementlerinin üzerine etkisi...	29
Şekil 2.11.	Minimum yasası.....	30
Şekil 2.12.	Mangan elementinin topraktaki yükseltgenme ve indirgenme döngüsü.....	31
Şekil 2.13.	AOT'lerin oluşumu.....	35
Şekil 3.1.	Etilendiamin ve metilakrilat sonucu elde edilen Tetrametil 3',3', 3'',3'' (etan -1,2 diyilbis(azanitril) tetrapropan.....	46
Şekil 3.2.	N,N'- Ethylenebis- [2-(0-hydroxyphenyl)]-glycine (EDDHA)....	46
Şekil 3.3.	(a) Etilen diamin disüksinik asit (EDDS), (b) Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)	47

Şekil 3.4.	(a) N,N'-bis(2-hidroksi benzil)etilen diamin-N,N'-diasetik asit ve (b) N,N'-bis(2-hidroksi-5 metil benzil) etilen diamin-N,N'-diasetik asit ligandlarının açık moleküler yapısı.....	47
Şekil 4.1.	İklim odasında yetiştirilen mısır bitkileri	60
Şekil 5.1.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki klorofil a miktarı üzerine etkisi.....	71
Şekil 5.2.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki klorofil b miktarı üzerine etkisi.....	72
Şekil 5.3.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.....	73
Şekil 5.4.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi.....	74
Şekil 5.5.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarı üzerine etkisi...	75
Şekil 5.6.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki malondialdehit (MDA) miktarı üzerine etkisi.....	76
Şekil 5.7.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki süperoksit düsmutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkisi.....	77
Şekil 5.8.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesi üzerine etkisi.....	78
Şekil 5.9.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi üzerine etkisi.....	79
Şekil 5.10.	(A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarında ki guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitesi üzerine etkisi.....	80
Şekil 5.11.	Metal-Şelat bileşiklerini mısır yapraklarındaki fotosentetik aktivite üzerine etkisi.....	81

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Şelatlama ajanlarının kullanım alanları.....	9
Tablo 2.2.	Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin genel özellikleri...	14
Tablo 2.3.	Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin uygulama alanları.	15
Tablo 2.4.	Etilendiamin hidrosifenil asetik asitin genel özellikleri.....	16
Tablo 2.5.	Etilendiamin disüksinik asitin genel özellikleri.....	16
Tablo 2.6.	Etilendiamin disüksinik asitin uygulama alanları.....	17
Tablo 2.7.	Etilendiamin tetra asetik asitin genel özellikleri.....	18
Tablo 2.8.	Etilendiamin tetra asetik asitin uygulama alanları.....	19
Tablo 2.9.	Abiyotik ve biyotik stres faktörleri.....	26
Tablo 2.10.	Bitki besin maddelerinin sınıflandırılması.....	28
Tablo 2.11.	Enzimatik olan ve olmayan antioksidantların rol ve bulunduğu yerler.....	37
Tablo 2.12.	Klorofil floresansı ile ilgili bazı önemli parametreler.....	43
Tablo 2.13.	Türkiye’de yıllara göre mısır üretimi.....	45
Tablo 4.1.	Yapılan çalışmada kullanılan bakırlı ve manganlı şelat kompleksleri.....	60
Tablo 4.2.	Hoagland besin çözeltisi içeriği.....	61
Tablo 5.1.	Sentezlenen ligandların erime noktaları.....	68
Tablo 5.2.	Hesaplanan log β değerleri.....	68
Tablo 5.3.	Sentezlenen komplekslerin erime noktaları.....	69
Tablo 5.4.	Komplekslerin FTIR spektroskopisi verileri.....	69
Tablo 5.5.	ICP-OES Sonuçları.....	70

ÖZET

Anahtar kelimeler: Ligand, metal-şelat bileşiği, bitki besleme, mikro besi elementi, antioksidan sistem, mangan eksikliği, bakır eksikliği, klorofil floresansı.

Bu çalışmada etilendiamin tetrapropionik asid (EDTPA) ve dietilentriamin pentapropionik asid (DETAPPA) sırası ile etilendiamin ve dietilentriaminin metil akrilat ile reaksiyonundan iki farklı ligand olarak sentezlenmiş ve bu ligandlardan hareketle bakır ve mangan kompleksleri hazırlanmıştır. Kompleksler hazırlanırken $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ metal tuzları kullanılmıştır. Hazırlanan metal kompleksleri ve ligandların karakterizasyonları FT-IR, UV-Vis ve Kütle spektroskopisi metodu ile yapılmış ve kimyasal yapıları açıklanmıştır.

Bitki besleme denemelerinde ise Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen ADA-9510 isimli genotip kullanılmıştır. Hoagland çözeltilisindeki Mangan ve Bakır miktarlarına karşılık olarak sentezlenen kompleksler kullanılmıştır. Bununla birlikte bir grup bitki mangan ve bakır eksikliğine maruz bırakılmıştır. Hoagland çözeltilisi ile beslenen bitkiler kontrol olarak değerlendirilmiştir. Buna karşılık $\text{K}_6[\text{EDTPA}]_2\text{Mn}$ ve $\text{K}_6[\text{EDTPA}]_2\text{Cu}$ ile $\text{K}[\text{DETAPPA}]\text{Mn}$, $\text{K}[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$ ve $\text{NH}_4[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$ kompleksleri ile beslendi. Hoagland çözeltilisinde Cu ve Mn eksikliğine maruz bırakılmış stres grubunun bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri yardımıyla karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

PREPARATION AND EVALUATION OF CHELATE COMPOUNDS CONTAINING Cu AND Mn FOR PLANT NUTRITION IN AGRICULTURE

SUMMARY

Keywords: Ligand, metal chelate compound, plant nutrition, micronutrients element, antioxidant system, manganese deficiency, copper deficiency, chlorophyll fluorescence.

In this study, ethylenediamine tetrapropionic acid (EDTPA) and diethylenetriamine pentapropionic acid (DETAPPA) were synthesized as two different ligands from the reaction of ethylenediamine and diethylenetriamine with methyl acrylate, respectively, and copper and manganese complexes were prepared from these ligands. $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ metal salts were used in the preparation of complexes. The characterization of the prepared metal complexes and ligands were made by FT-IR, UV-Vis, and Mass Spectroscopy method and their chemical structures were explained.

In the plant feeding experiments, ADA-9510 genotype which was taken from Sakarya Corn Research Institute was used. Complexes synthesized were used in response to the amounts of Manganese and Copper in the Hoagland solution. However, a group of plants were exposed to manganese and copper deficiencies. Plants fed with Hoagland solution were evaluated as controls. In contrast, $\text{K}_6[\text{EDTPA}]_2\text{Mn}$ and $\text{K}_6[\text{EDTPA}]_2\text{Cu}$ were fed with $\text{K}[\text{DETAPPA}]\text{Mn}$, $\text{K}[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$ and $\text{NH}_4[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$ complexes. Cu and Mn deficiency in the Hoagland solution were examined comparatively with some physiological and biochemical parameters of the stress group.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Tarım, milyarlarca dolarlık bir endüstridir. Bitki gelişimini iyileştirmek için yüksek verimli topraklar gereklidir ve bunun yokluğunda, tarımsal bitkilerin büyümesini kolaylaştırmak için genellikle gübreler kullanılır. 20. yüzyıl boyunca, tüm dünyada tarımsal gelişmenin ana teması, giderek artan nüfusu beslemek amacıyla ürün üretimi için kullanılan birim alan başına artan üretkenlik olmuştur. Bu, su ve bitki kaynakları, gübre ve pestisitlerin aşırı kullanımı gibi doğal kaynakların aşırı kullanımıyla büyük ölçüde başarılmıştır [1]. Bu uygulama kısa vadede tarımsal verimde önemli bir artışa yol açmış olsa da, sürdürülebilirliği kısıtlıdır. Bu nedenle, bu yüzyılda tarımsal kalkınmanın amacı, tarımda toprak, su ve bitki kaynaklarının sürdürülebilir kullanımına kaymıştır. Günümüz tarımının başlıca amacı, çevreyi ve doğal kaynakları tehdit etmeden arazi ve su verimliliğini en üst düzeye çıkarmaktır. Öncelikli olarak, tarımın en önemli rolü gıda tedariki ve güvenliğinin sağlanmasıdır [2].

Yeni yaşam koşullarında dünya nüfusunun ve şehir yaşantısının artışıyla tarımsal alanların kısıtlanması tarımdaki verimlilik artışını sınırlamaktadır. Bu durumda iyi ve gelişmiş tarım uygulamaları daha da önem kazanmış durumdadır. Özellikle kısıtlı alanlarda yapılan seracılık tarımında bitki besleme ve parametreleri bilimsel olarak çalışılmakta, verimliliği artırıcı yeni gübreleme ve besi teknikleri oluşturulmaktadır. Bitki fizyolojisi açısından önem arz eden ve çeşitli metal tuzlarını içeren mikro besi elementleri olarak adlandırılan metal tuzlarının, topraktan alınma kolaylığı konusu bitki besleme açısından önemli bir parametre olarak ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda gelişmiş tarım uygulamalarında bitki besleme amaçlı kullanılan mikro besin elementleri aslında koordinasyon bileşikleridir. Bitkiler normal büyüme ve gelişmelerini sürdürebilmek için yaklaşık 17 tane mineral maddeye gereksinim duyar. Bunlardan azot (N), fosfor (P), potasyum (K), magnezyum (Mg), kalsiyum

(Ca) ve kükürt (S) gibi elementlere bitkiler nispeten daha fazla miktarda gereksinim duyduklarından makro besin elementi adı verilir. Demir (Fe), bor (B), mangan (Mn), çinko (Zn), molibden (Mo), bakır (Cu) ve nikel (Ni) gibi elementlere ise daha az miktarda gereksinim duyarlar ve bunlar da mikro besin elementi olarak adlandırılır [3]. Makro ve mikro besin elementleri bitkilerde yapısal fonksiyonlara sahip olmaları, ozmotik regülasyonda rol oynamaları, membran geçirgenliği üzerindeki ve katalitik etkileri nedeniyle oldukça önemlidir [4]. Bu elementlerden herhangi birinin toprakta yüksek konsantrasyonda bulunması kadar; kritik seviyenin altında bulunması da bitki büyümesi ve ürün miktarını önemli ölçüde azaltmaktadır [5]. Dünya üzerindeki tarımsal olarak kullanılabilir alanlar stres faktörlerinden etkilenme derecelerine göre sınıflandırıldığında, yaklaşık %20'lik bir oranla mineral madde stresi, kuraklıktan sonra ikinci sırada bulunmaktadır.

Bakır ve mangan eksikliği bitkilerde birçok fizyolojik ve biyokimyasal olayı olumsuz yönde etkilemektedir. Örneğin iki elementin eksikliğinde birçok bitki türünün yapraklarında klorofil sentezinin yavaşlaması nedeniyle klorosis olayı gözlenmiştir [6, 7, 8]. Mikro besin elementi eksikliğinin bitki dokularında aktif oksijen türlerinin (AOT) artışına yol açarak oksidatif strese neden olduğu da bilinmektedir. Oluşan AOT'ler hücre canlılığını etkileyen lipidler, proteinler, pigmentler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna, membran hasarına ve enzimlerin inaktivasyonuna neden olurlar [9]. Örneğin Tewari vd. (2005), demir eksikliğine maruz bıraktıkları *Morus alba*, *Zea mays* ve *Brassica oleraceae* yapraklarında süperoksid radikali (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) birikimi sonucu oksidatif hasarların oluştuğunu rapor etmişlerdir [10]. Benzer şekilde çinko eksikliği de bitkilerde AOT oluşumunu hızlandırarak oksidatif hasarlara neden olmaktadır. Sharma vd. (2004), çinko eksikliğine maruz kalan bitkilerde oksidatif stresin morfolojik belirtilere göre daha erken dönemde oluştuğunu bildirmişlerdir [11]. Yapılan araştırmalar çinko eksikliğinin membrana bağlı NADPH oksidaz enzimlerinin aktivitesini ve AOT üretimini artırdığını ve bitkileri ışığa daha hassas bir duruma getirdiğini göstermiştir [12, 13]. Tewari vd. (2013), mangan eksikliğine maruz bıraktıkları *Morus alba* yapraklarında H_2O_2 miktarı ve lipid peroksidasyonunun arttığını belirlemişlerdir [14].

Ancak bitkiler hücrelerini ve hücrenel bileşenlerini AOT'lerin neden olduğu oksidatif hasarlara karşı, antioksidant sistemlerinin enzimatik ve enzimatik olmayan elemanları ile korumaya çalışırlar [9]. Antioksidant sistemin enzimatik olmayan elemanları glutasyon, askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini) ve karotenoidlerden oluşur [15]. Süperoksit radikalinin hidrojen perokside dönüşümünü sağlayan süperoksit dismutaz (SOD), hidrojen peroksidin suya dönüşümünü sağlayan askorbat peroksidaz (APOD) ve katalaz (KAT) gibi enzimler ile askorbat-glutasyon döngüsünde yer alan monodehidro askorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutasyon redüktaz (GR) gibi enzimler antioksidant savunma sisteminin enzimatik bileşenleri arasındadır. Antioksidant enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler, farklı bitki türlerinin biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı duyarlılık ve dayanıklılık dereceleri konusunda fikir vermektedir [16]. Yapılan çeşitli çalışmalarda çeşitli stres faktörlerinin antioksidant enzimlerin aktivitelerinde değişikliklere yol açtığı belirlenmiştir [17-19]. Bu yüzden stres altındaki bitkilerde antioksidant sistemde meydana gelen değişimlerin incelenmesi önemlidir. Demir, çinko ve mangan eksikliğinde bitkilerdeki antioksidant savunma sisteminin enzimatik bileşenlerini olumsuz yönde etkilemektedir. Örneğin SOD enziminin bitkilerde bilinen 3 farklı izozimi vardır. Bu izozimlerden Cu/ZnSOD sitoplazma, kloroplast ve peroksizomlarda; MnSOD mitokondrilerde ve FeSOD ise kloroplastlarda lokalize olmuştur. Buradan da anlaşılacağı gibi demir, çinko ve mangan bu izozimlerin optimum aktivite gösterebilmeleri için vazgeçilmez birer bileşendir. Benzer şekilde demir elementi yine antioksidant savunma sisteminde yer alan KAT ve APOD gibi enzimlerin aktivasyonu için de önemlidir [20]. Yapılan bazı çalışmalarda demir eksikliği altındaki bitkilerde KAT ve APOD enzimlerinin aktivitelerinin azaldığı rapor edilmiştir [21-24]. Ancak Wang ve Jin (2005) Zn eksikliğinin mısır yapraklarındaki SOD aktivitesini azalttığını; Tewari vd. (2013) ise mangan eksikliğinin yabani dut yapraklarındaki SOD ve KAT aktivitesini artırırken, APOD aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir [7]. Bu veriler demir, çinko ve mangan eksikliğine karşı bitkilerin verdikleri antioksidant cevapların tür ve genotip seviyesinde farklılık gösterebileceğine işaret etmektedir.

Fotosentez olayı bitkisel verimlilikle ilgili olan ve her türlü stres faktöründen en fazla etkilenen fizyolojik olaylar arasındadır. Bu nedenle, stresle ilgili çalışmalarda en fazla incelenen fizyolojik olaydır. Günümüze kadar fotosentezin ölçümüne yönelik birçok metod geliştirilmiştir. Günümüzde fotosentezin ölçülmesinde kullanılan en modern ve hassas teknik klorofil floresansıdır [25]. Fotosentetik aktivite ölçümü açısından floresans terimi, bitkinin herhangi bir stres faktörü nedeniyle fotosentetik olaylarda kullanmadığı ışığın miktarını ifade etmektedir. Klorofil floresansı ölçümleri ile fotosistem II'nin durumu hakkında bilgi elde edilmektedir. Klorofil moleküllerinin absorbladığı ışık enerjisinin ne kadarının fotosistem II tarafından kullanıldığı ve fazla ışık enerjisi nedeniyle fotosistem II'de meydana gelen zararın boyutları gibi konularda fikir vermektedir. Fotosistem II'de meydana gelen elektron hareketleri, tüm fotosentez hızı hakkında belirleyici etkiye sahiptir. Fotosistem II aynı zamanda, ışık etkisiyle çeşitli zararların meydana geldiği fotosentetik aygıtın en duyarlı bölgesi olarak bilinmektedir. [25]. Klorofil floresansı ölçümleri ile bir bitkinin fotosentetik performansı hakkında değerli bilgiler elde edilmektedir. Ancak bu metodun asıl avantajlı olan yanı, diğer metodlarla elde edilemeyen bazı bilgiler sağlamasıdır. Floresans analizleri özellikle bitkilerin herhangi bir stres faktörünü tolere edebilme yeteneği ve bu stresin fotosentetik aygıt üzerinde neden olduğu zararın boyutları hakkında bilgi sağlamaktadır [26].

Klorofil floresansı tekniği ile mineral madde eksikliği, tuzluluk ve ağır metal stresi gibi olumsuz koşulların fotosentetik aktivite üzerindeki etkileri belirlenebilmektedir [27]. Demir eksikliğinin bitkilerde fotosentetik aygıtın yapı ve fonksiyonunda değişikliklere neden olarak fotosentetik verimi azalttığı bilinmektedir [28, 29]. Yapılan çalışmalar demir eksikliği altındaki bitkilerde klorotik yapraklardaki fotosistem II aktivitesinin ve elektron taşınım etkinliğinin azaldığını göstermiştir [6]. Eberhardt (2008), fotosentetik elektron taşınım sisteminin bileşenlerinin yapısında 22 tane Fe atomu bulunduğunu [30]; Hansch ve Mendel (2009) ise bitki hücrelerinde bulunan demirin yaklaşık %80'lik kısmının kloroplastlarda lokalize olduğunu rapor etmiştir [31]. Bu bilgiler demir elementinin fotosentez olayındaki önemini göstermektedir. Çinko eksikliğinin fotosentetik aktivite üzerindeki etkileri ile ilgili fazla çalışma yoktur. Ancak Wang ve Jin (2005) çinko eksikliğinin mısır

yapraklarındaki fotosistem II aktivitesinin önemli oranda azalttığını belirlemişlerdir [7]. Ancak yapılan diğer çalışmalarda çinko eksikliğinin fotosentetik etkinlik üzerindeki olumsuz etkisinin CO₂ fiksasyon reaksiyonlarının bozulmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Nitekim çinko eksikliğinin bitkilerde CO₂ alınımını, stoma iletkenliğini ve karbonik anhidraz enziminin aktivitesini azalttığı belirlenmiştir [32, 33]. Mangan elementinin yüksek bitkilerdeki fotosentez olayında oksijen evolyonu (fotoliz) için önemli olduğu belirlenmiştir. Fotoliz, elektron taşınım reaksiyonları için gerekli elektronları sağlamak amacıyla suyun parçalanmasını sağlayan özel bir reaksiyondur [34]. Kriedeman vd. (1995) ve Henriques (2003), mangan eksikliğine maruz bıraktıkları buğday ve *Carya illinoensis* yapraklarında fotoliz reaksiyonunun ve fotosentetik aktivitenin önemli derecede indirildiğini bulmuşlardır [35, 36]. Mangan bunun dışında glikoliz ve Krebs döngüsü gibi karbohidrat metabolizması ile ilgili olaylarda da rol oynamaktadır.

Bitki besleme uygulamalarında toprak yapısından kaynaklanan olumsuzluklar, genel olarak yüksek pH değerleri ve toprağın yapısında bulunan fosfat ve karbonat tuzları nedeniyle bitki besleme açısından önemli olan mikro besi elementlerinin tarım açısından elverişsiz ve çözünmeyen tuzlara dönüşmesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunu önleme adına tarım uygulamalarında ilgili mineral iyonlarını toprakta çözülmüş halde tutabilmek için suda çözünür şelat yapılı metal kompleksleri kullanılmaktadır.

Ticari olarak bilinen ve halen tarımda kullanılan metal-şelat bileşikleri; etilendiamin tetra asetik asit (EDTA), dietilen triamin penta asetik asit (DTPA), etilendiamin - N,N,-bis 2-hidroksifenil asetik asit (EDDHA) gibi ligandların metal tuzları ile yaptığı komplekslerdir.

Bu çalışmada model şelat yapıcı bileşikler olarak etilendiamintetrapropanoik asit (EDTPA) ve dietilentriaminpentapropanoik asit sentezlenmiş ve bunların Mn(II), Cu(II) kompleksleri hazırlanmıştır. Bu komplekslerde şelat oluşumunu tamamlayıcı olarak farklı karşıt iyonlar kullanılarak elde edilen bileşiklerin biyo yararlılıkları

literatürde var olan Hoagland çözeltisine ve TARVİT Tarım Kimya ve İleri Teknolojiler LTD. ŞTİ.'ne ait ticari ürünler olan Tarman ve Tarcupoxy ile bazı fizyolojik parametreler yardımıyla karşılaştırılmıştır.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1. Şelat Bileşikleri

Şelat, dilimize Yunancadan girmiş olup kelime anlamı “kenetlenme-bir araya getirme” demektir. Çok dişli ligandların merkezi atomu içeren halkalı yapılar oluşturmasıyla oluşan komplekslere şelat denir [37].

Merkez metal atomuna bir ya da birden fazla ligandın koordine-kovalent bağ ile bağlanmasıyla oluşan yapılara kompleks denir. Ligand burada merkez metal atomuna elektron verdiği için donör (elektron verici) olarak rol oynar. Elektron verici grup olan ligand, şelat ajanı diye adlandırılır.

Şelat bileşikleriyle ilgili çalışmalar 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren hızla artış göstermiştir. Gelişen teknoloji ile birlikte şelat bileşiklerinin; biyolojik sistemlerde, tarımda, ilaç sanayisinde, tıpta, boya sanayisinde, geçiş metalleri tarafından sağlanan katalitik reaksiyonlarda ve oksidasyon reaksiyonlarında kullanımının her geçen gün artış göstermesi kimya biliminde bu alana duyulan ilgiyi arttırmıştır. Şelat bileşikleri birçok özelliğe sahiptir. Her şelat bileşiği için spesifik karakterde olan bu özellikler; çözünürlük, kararlılık, elektrokimyasal ya da floresan özellikleri olarak sıralanabilir [38-46].

Stabil bir metal şelatı genellikle beş veya altı üyeli bir halka içerir. Elektron alıcı metal ve elektron veren ligand arasında oluşan elektron çifti bağları ilgili metallere ve donör atomlara bağlı olarak "esasen iyonik" veya "esasen kovalent" bağlanabilir. Hidrojen yerine metallerle birleşebilen çeşitli organik gruplar karboksil, sülfonik hidroksil, oksim, primer amino ve sekonder amino gruplarıdır. Koordinasyonla birleştirilen gruplar birincil amino, ikincil amino, üçüncül amino, siklik üçüncül

amino, oksim, alkolik hidroksil, karbonil ve tiyoeter gruplarıdır. Bilinen tüm şelat halkaları, fonksiyonel grupların kombinasyonlarını içerir. Yaygın olarak bilinen, şelatlama ajanının, bir azot atomu gibi bir veya daha fazla bazik donör atomun yanı sıra en az bir asidik donör grubuna sahip olmasıdır. Şelatlama sırasında, asidik grup bir proton kaybeder ve anyonik donör haline gelir. Bazik azot, bir çift elektronu metal iyonuna vermektedir [38].

2.1.1. Şelat ajanlarının kullanım alanları

En etkili ve en yaygın olarak kullanılan şelatlama ajanları aminopolikarboksilik asitler ve organofosfonatlardır. Özel bağlama kapasiteleri sayesinde yıllardır birçok endüstriyel, tarımsal ve tıbbi uygulamalarda yaygın olarak şelatlayıcı ajan olarak kullanılmaktadırlar. Bu aminopolikarboksilat ligandları, örneğin etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve dietilentriaminpentaasetik asit (DTPA), dünya genelinde çok fazla miktarlarda kullanılmaktadır. Bu şelat ajanlarının tüketimleri dünya çapında yılda 200.000 ton civarındadır ve gittikçe de artmaktadır.

Şelat ajanlarının son 30 yılda gelişen araştırmalar sonucu tekstil endüstrisi, temizlik ve deterjan endüstrisi, boya endüstrisi, su şartlandırma, gıda endüstrisi, ilaç endüstrisi gibi birçok önde gelen sektörde kullanımını artmıştır ve giderek artmaya devam etmektedir [47, 48]. İlk endüstriyel şelatma ajanı 1936 yılında Almanya'da üretilen nitrilotriasetik asit (NTA, Trilon® A)'dir [49]. Şelatlama ajanlarının kullanım alanları Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Şelatlama ajanlarının kullanım alanları

Alan	Bileşik	Kullanımı
Deterjanlar	Amino polikarboksiliyasitler	Ca, Mg ve ağır metallerin kompleksi
Fotoğraf Endüstrisi	Fosfonatlar EDTA, PDTA	Kireç oluşumunun inhibisyonu Oksitleyici ajan
Kâğıt hamuru ve kâğıt	Amino polikarboksiliyasitler Fosfonatlar	Ağır metallerin kompleksleştirilmesi Stabilizatör
Tekstil Endüstrisi	Amino polikarboksiliyasitler Fosfonatlar	Ağır metallerin kompleksleştirilmesi Stabilizatör
Metal kaplama	EDTA	Elektriksiz metal kaplama
Yiyecek	EDTA	Sabitleyici, antioksidant, Fe takviyesi
Kişisel bakım	EDTA, Fosfonatlar	Sabitleyici, antioksidant
Enerji santralleri	Fosfonatlar	Kireç oluşumunun inhibisyonu
Tarım	EDTA, EDDHA Glifosfat	Fe, Cu ve Zn gübreleri herbisitler
Petrol üretimi	EDTA, Fosfonatlar	Mineral çökeltmesinin önlenmesi
İçecek endüstrisi	Amino polikarboksiliyasitler	Şişe ve ekipman temizliği
Tıp	Fosfonatlar	Kemik hastalıkları kalsiyum tedavisi metabolizma hastalıkları
Toprak iyileştirme	Amino polikarboksiliyasitler	Metal zehirlenmesi tedavisi MR tedavisi
İnşaat	Fosfonatlar	Ağır metallerin arındırılması Çimento düzenleyici

Şelat ajanları; konserve yiyecekler, sağlık bakım preparatları (kremler, şampuanlar vb.) ve yapıştırıcılar gibi birçok alanda önemlidir. Şelatlama maddeleri, mevcut metal iyonlarını kompleksleştirerek ürünün bozulmasını önlemek ve stabilize etmek amacıyla kullanılır. Bu durumlarda, numunedeki şelat ajanının toplam miktarının değerlendirilmesi gerekir. Burada göz önünde bulundurulması gereken önemli faktör, tüm şelatlama ajanının, bir metal formda mevcut olmasıdır. Bu nedenle, engelleyici metal iyonları uzaklaştırılmalı ya da alternatif olarak analitik koşullar için kullanılan

metal şelatın en güçlü oluşum sabitine sahip olmasını sağlamalıdır. Dolayısıyla, örneğin demir ile kompleksleşme, belirli bir pH aralığında EDTA'nın belirlenmesi için tipik olarak kullanılır [38, 50].

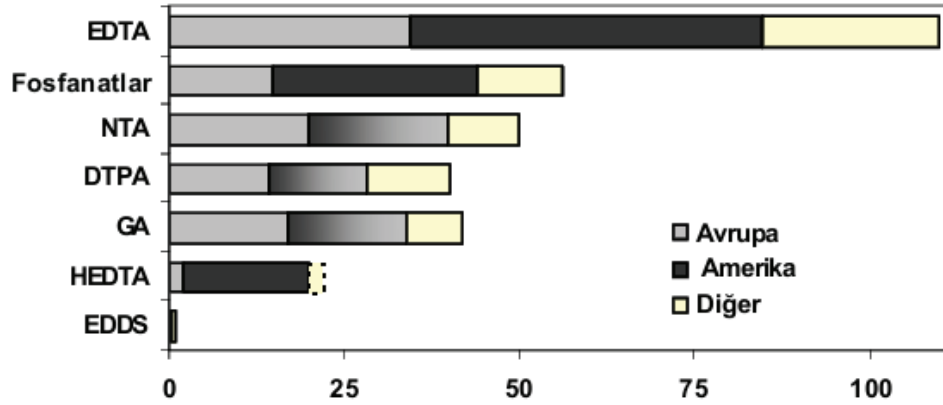
Kâğıt endüstrisinde, geçiş metallerinin katalitik aktivitesini önlemek için başta etilendiamintetra asetik asit (EDTA) ve dietilentriaminpentaasetik asit (DTPA) olmak üzere şelatlama ajanları kullanılmaktadır. Serbest haldeki metal iyonları, hidrojen peroksit ve ozonun parçalanmasını katalizler, bu da kâğıt hamuru mukavemetinin azalmasına ve bu şelat ajanlarının kullanımının artmasına neden olur.

Sularda bulunan kalsiyum, magnezyum, demir, bakır ve manganez su sertliğini artırır. Deterjanların yapısında bulunan bu tip serbest metal iyonlarının konsantrasyonlarını azaltmak ve dolayısıyla deterjanın etkinliğini arttırmak için şelatlama ajanları kullanılır.

Elektronik veya kimyasal yüzey temizleme işlemlerinde, şelat ajanları temel muamele işlemlerinde ve depolanma sırasında temizlik banyolarında metal tuzlarının çökmesini azaltmak için kullanılır. Şelat ajanları sayesinde işlem sırasında metal iyonları uzaklaştırılarak nihai ürünün kalitesi geliştirilmiş olur [51-53].

Dünya çapında en yaygın aminopolikarboksilik asit şelatlama ajanlarının toplam yıllık tüketimi 1996'da yaklaşık 170.000 ton iken 2000 yılında bu rakam 200.000 tona çıkmıştır [48, 54, 55, 56].

2002 yılında ise ABD, Batı Avrupa ve Japonya'da, toplam aminopolikarboksilat şelatlama ajanlarının kullanımının yaklaşık 150.000 ton olduğunu belirlenmiştir [53, 57]. Dünyada kullanılan şelat ajanları Şekil 2.1.'de verilmiştir.



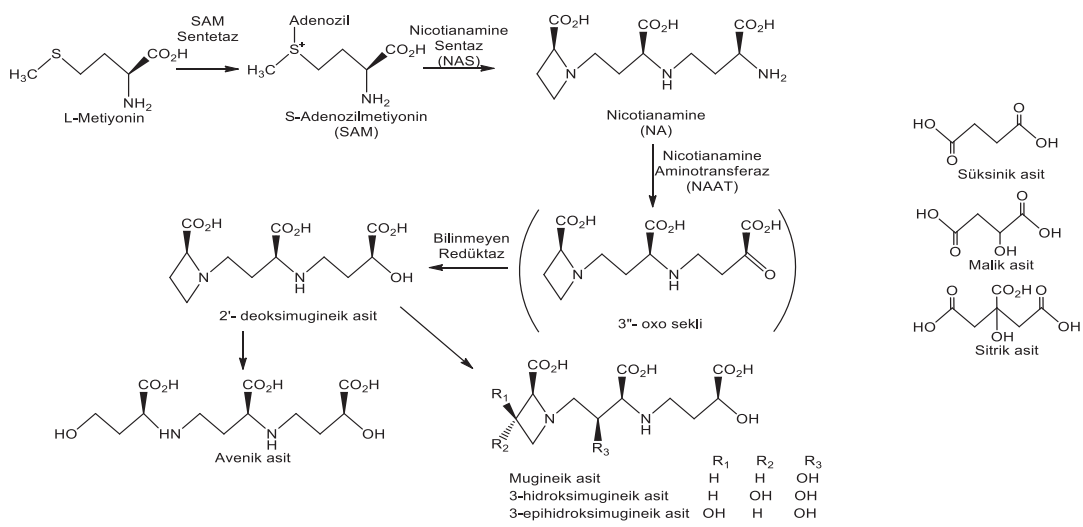
Şekil 2.1. Dünyada kullanılan şelat ajanları [55]

2.1.2. Tarımda kullanılan şelat oluşturucu ajanlar

Son 20- 25 yıl içerisinde, bitkilerin çoğu mikro besin gereksinimlerinin şelatlı metal içeren kompleksler tarafından karşılanabileceği kabul edilmiştir. Bu şelatlar mısır, salatalık, fasulye ve narenciye gibi çok çeşitli tarımsal ürünlerde kullanılmaktadır. Şelat uygulamaları katkı gübrelere ve tohum hazırlamadan, yapraklardan beslemeden hidrofonic tarıma kadar çeşitlilik göstermektedir. Şelatlama ajanları sadece kimyagerlerin hayal gücü ile sınırlı görülen kimyasal yapılara sahiptir. Şelatların herhangi birinin kullanımı için kritik faktörler kararlılık sabitleri ve üretim maliyetidir ve buna en yaygın örnek olarak demir ya da çinko gibi metal şelatları verilebilir [58].

Bitkiler bazı metabolik stratejiler geliştirerek toprakta bulunan mikro besin elementlerini almaya çalışır. Örneğin demir eksikliği durumunda Poaceae (buğdaygiller) familyası üyeleri haricindeki diğer tüm bitki türleri, kökleri ile toprağa etkili bir şekilde hidrojen iyonu (H^+) salgılayarak toprağın daha asidik olmasını sağlar. Bu şekilde toprakta bulunan Fe^{+3} çözünürleştirilir, Fe^{+2} 'ye indirgenir ve bitki kökleri tarafından alınır. Buna indirgeme stratejisi adı verilir. Poaceae familyası üyesi olan bu türler kökleri ile sentezledikleri fitosiderofor adı verilen bileşikler toprağa salgılar. Bu bileşikler Fe^{+3} iyonlarını oldukça etkili bir şekilde bağlar ve daha sonra kökler tarafından alınmasına yardımcı olur. İndirgeme stratejisinden çok daha etkili olan bu mekanizma şelatlama stratejisi olarak bilinir [59]. Demir eksikliği altındaki arpa köklerinde deoksimugineik asit, mugineik asit, epihidroksimugineik

asit, avenik asit, hidroksiavenik asit ve nikotianamin olmak üzere altı farklı fitosideroforun sentezlendiği gösterilmiştir [60, 61]. Bitkiler mangan ve çinko eksikliği durumunda da benzer davranışlar sergileyebilir. Örneğin mangan eksikliğine maruz bırakılan bitkilerin köklerinden başta süksinik asit ve sitrik asit olmak üzere karboksilat grubu içeren bazı bileşiklerin; çinko eksikliği altındaki bitkilerin köklerinden de malik asit ve mugineik asit ailesine üye olan fitosideroforların salgılandığı belirlenmiştir. Bunların kimyasal yapıları Şekil 2.2.'de verilmiştir [62,63].



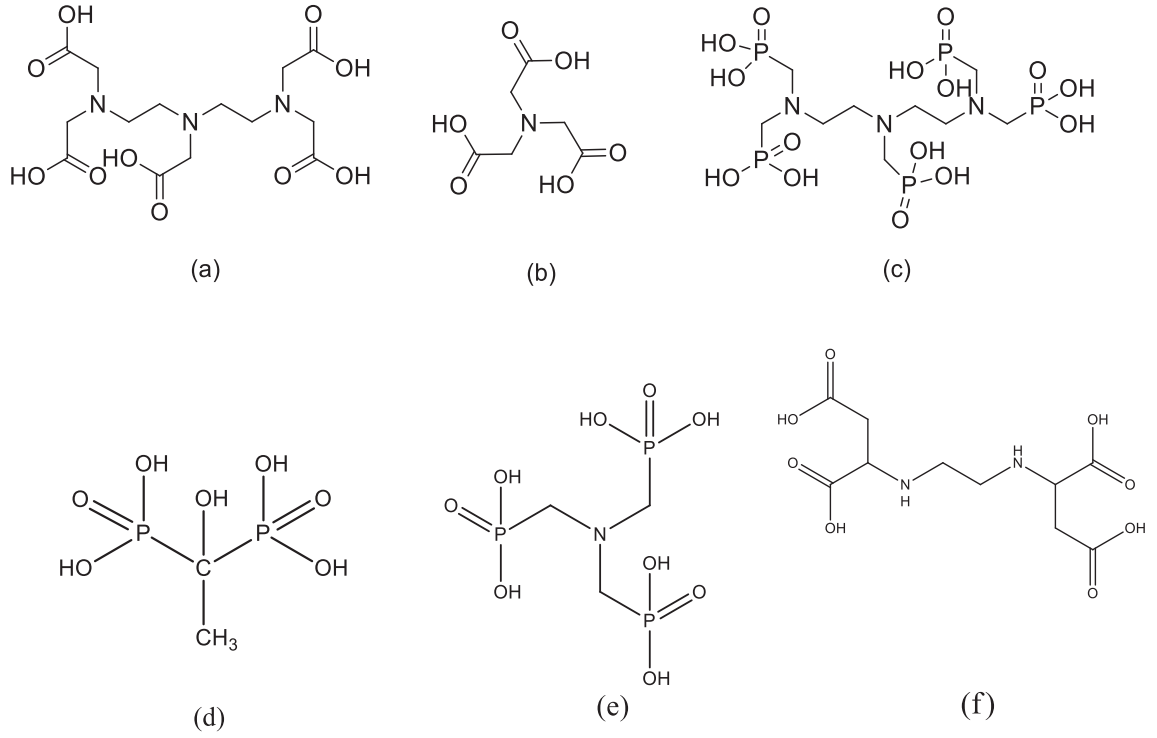
Şekil 2.2. Bitki kökleri tarafından sentezlenen doğal şelatlama ajanları

Metallerin tuz formları, toprağa verildiğinde çökelmeler meydana geldiğinden bitkiler için bazı durumlarda kullanılamaz veya az yararlı olur. Sentetik olarak elde edilen şelatlar mikro besin maddelerini toprak çözeltisinde tutmak için kullanılır ve böylece bitkiler için alımı daha kolaylaşacağından şelatlı kullanım daha uygun hale gelir [64, 65].

Örneğin, sentetik poliamino, polifenolik, polikarboksilik demir şelatlar, kireçli topraklarda yetişen bitkilerde demir klorozunu tedavi etmek için en verimli toprak gübreleridir [66, 67].

Dünyada en çok kullanılan şelatlama ajanları arasında etilendiamin tetra asetik asit (EDTA), dietilentriamin penta asetik asit (DTPA), nitrilo asetik asit (NTA),

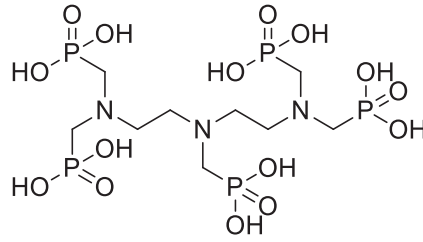
dietilentriaminpentametilen fosforik asit (DTPMP), etidronik asit (HEDP), nitrilotrimetilen fosforik asit (NTMP) gibi organofosfanatlar ve aminopolikarboksilatlar öne çıkmaktadır [47, 48]. Bu şelatlama ajanlarının bir kısmının yapısı Şekil 2.3.'de verilmiştir.



Şekil 2.3. (a)Dietilentriamin penta asetik asit (DTPA), (b) Nitrilotri asetik asit (NTA), (c) Dietilentriamin penta metilen fosfonik asit (DTPMA), (d) Hidroksi etilen difosforik asit (HEDP), (e) Nitrilotrimetilen fosforik asit NTMP, (f) Etilendiamin disüksinik asit (EDDS)

2.1.2.1. Dietilentriamin penta metilen fosfonik asit (DTPMP)

DTPMP veya dietilentriamin penta metilen fosfonik asit bir fosfonik asittir. Tarımda şelatmala ajanı olarak kullanılır. Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin (DTPMP) molekül yapısı Şekil 2.4.'de verilmiştir.



Şekil 2.4. Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin (DTPMP) molekül yapısı

Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin genel özellikleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin genel özellikleri

Molekül ismi	DTPMP
IUPAC ismi	[[[(Fosfono metil) imino]] bis [[2,1-etandiil nitrilo bis (metilen)]] tetra kis-fosfonik asit
Diğer isimleri	DTPMPA, Di etilen triamin penta (metilen-fosfonik asit)
Moleküler formülü	$C_9 H_{28} N_3 O_{15} P_5$
Molar kütle	573 gr/mol
Görünüm	Katı hal

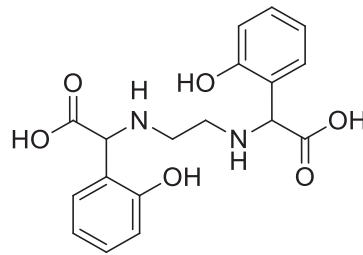
Dietilentriamin penta metilen asetik asit piyasada tuz olarak bulunur çünkü asit formu suda çok düşük çözünürlüğe sahiptir ve konsantre çözeltilerde kristalleşme eğilimi yüksektir. Azotlu organik bir polifosfonik asittir ve baryum sülfatın çökmesini çok iyi engeller. Diğer fosfonatlara göre yüksek alkali ortamlarda daha iyi korozyon engelleme özelliğine sahiptir. Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin uygulama alanları Tablo 2.3.'de verilmiştir.

Tablo 2.3. Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin uygulama alanları

Dietilentriamin penta metilen fosfonik asitin uygulama alanları
Deterjan ve temizlik maddeleri
Su arıtma
Ölçekleme inhibitörü
Şelatlama ajanı
Çöktürme geciktirici
Anti korozyon maddesi

2.1.2.2. Etilendiamin hidroksifenil asetik asit (EDDHA)

Etilendiamin-N, N' bis (2-hidroksi fenil asetik asit), bakteriyel çalışmalarda kullanılan bir şelat ajanıdır. Ticari EDDHA-Fe gübrelerinin endüstriyel sentezin bir sonucu olarak değişken miktarlarda o,p-EDDHA, p,p-EDDHA ve o,o-EDDHA çeşitleri vardır. o,p-EDDHA-Fe bitki beslenmesi için etkili bir demir kaynağı olarak kullanılsa da, o,o-EDDHA-Fe'den daha düşük stabiliteye sahiptir. Bu nedenle diğer metaller o,p-EDDHA ile bağlanmak için demir ile yarışır. Etilendiamin hidroksifenil asetik asit (EDDHA) molekül yapısı Şekil 2.5.'de verilmiştir.



Şekil 2.5. Etilendiamin hidroksifenil asetik asit (EDDHA) molekül yapısı

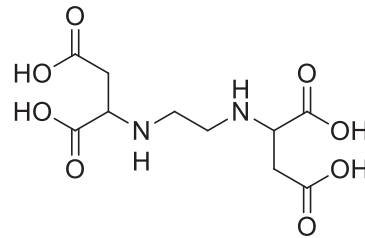
Etilendiamin hidroksifenil asetik asitin demir kompleksinin (Fe-EDDHA) ticari ve tarımsal kullanımı konusunda ilk girişimler Dr. Ramesh Patel tarafından Hindistan'da gerçekleştirilmiş ve bu girişim sayesinde Hindistan'da EDTA, EDDHA ve diğer şelatlı gübrelerin geliştirilmesi mümkün olmuştur. Etilendiamin hidroksifenil asetik asitin genel özellikleri Tablo 2.4.'de verilmiştir.

Tablo 2.4. Etilendiamin hidroksifenil asetik asitin genel özellikleri

Molekül ismi	EDDHA
IUPAC ismi	2-[2-[[2-Hidroksi-1-(2-hidroksi fenil)-2-okso etil] amino] etil amino]-2-(2-hidroksi fenil) asetik asit
Diğer isimleri	Etilen diamin-N,N' bis (2- hidroksi fenil asetik asit
Moleküler formülü	C ₁₈ H ₂₀ N ₂ O ₆
Molar kütle	360 gr/ mol

2.1.2.3. Etilendiamin disüksinik asit (EDDS)

Etilendiamin-N,N' -disüksinik asit (EDDS) bir aminopoli karboksilik asittir. Birçok uygulamada etilendiamin diasetik asite (EDTA) alternatif şelatlama ajanı olarak kullanılan beyaz bir katı maddedir. Etilendiamin disüksinik asitin moleküler yapısı Şekil 2.6.'da, genel özellikleri ise Tablo 2.5.'de verilmiştir.



Şekil 2.6. Etilendiamin disüksinik asitin (EDDS) moleküler yapısı

Tablo 2.5. Etilendiamin disüksinik asitin genel özellikleri

Molekül ismi	EDDS
IUPAC ismi	Etilen diamin -N,N'- di süksinik asit
Erime Noktası	220- 222 °C
Moleküler formülü	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈
Molar kütle	292 gr/ mol

Etilendiamin disüksinik asit iki kiral merkeze ve bunun gibi 3 stereo izomere sahiptir. Bunlar enantiyomerik (R, R) ve (S, S) izomerleri ve akiral mezo (R, S) izomeridir. (R, S) ve (R, R) stereoizomerleri (S, S) stereoizomerine göre daha az biyobozunabilir özelliğe sahiptir. Etilendiamin disüksinik asitin uygulama alanları Tablo 2.6.'da verilmiştir.

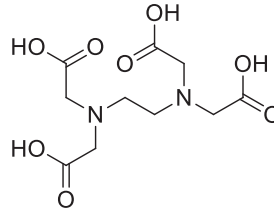
Tablo 2.6. Etilendiamin disüksinik asitin uygulama alanları

Etilendiamin disüksinik asitin uygulama alanları
Toprak iyileştirmesinde
Metal ekstraksiyonu alanında
Toprak yıkamada

2.1.2.4. Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)

Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), dünyada en yaygın kullanılan şelat ajanlarından birisidir. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA, Trilon® B), ilk olarak Almanya'da sentezlenmiştir ve patentlenmiştir [68]. I.G. Farbenindustrie, monokloroasetik asitle etilendiamin reaksiyonundan EDTA'yı sentezlemiştir. EDTA elde etmenin bir başka yolu, etilendiaminin, sodyum hidroksit varlığında sodyum siyanür ve formaldehit ile reaksiyonudur. Kullanılan amine bağlı olarak, bu yöntem kullanılarak başka amino karboksilik asitler de elde edilebilir [69]. Bugün dünya çapında pek çok üretici ve marka bulunmakta olup, EDTA ve türevi olan aminopolikarbonik asitlerin yaklaşık yüzde doksanının en önemli üreticileri BASF, Akzo Nobel, Dow ve Solutia'dır [47].

Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) bir amino polikarboksilik asittir. Beyaz renkli olup asidik hali suda çözünmez. Etilendiamin tetra asetik asitin molekül yapısı 2.7.'de ve genel özellikleri ise Tablo 2.7.'de verilmiştir.



Şekil 2.7. Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)'nın moleküler dizilişi

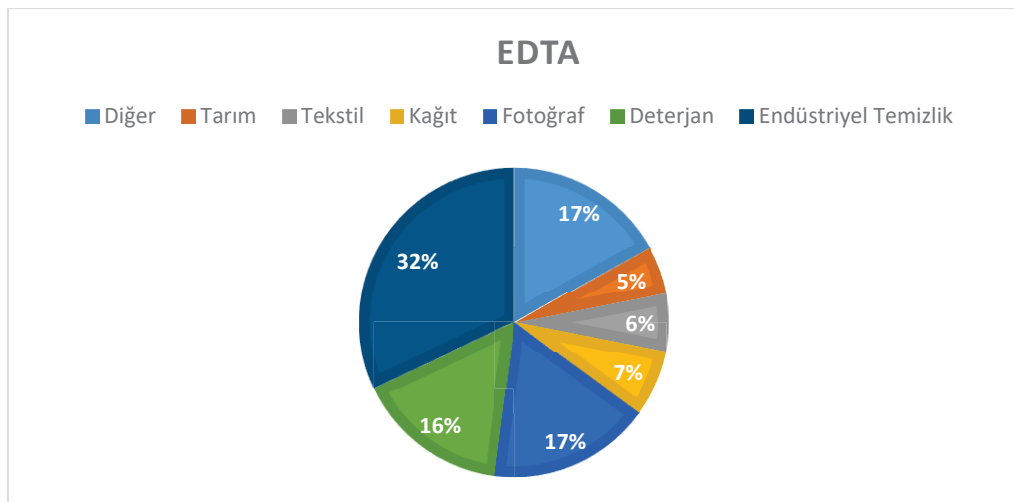
Tablo 2.7. Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)'nın genel özellikleri

Molekül ismi	EDTA
IUPAC ismi	2,2',2'',2'''-(Etan-1,2-diyldinitrilo)tetraasetik asit
Görünüm	Renksiz kristal
Moleküler formülü	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈
Molar kütle	292 gr/ mol

Avrupa Birliği (AB) risk değerlendirme raporuna göre EDTA'nın Batı Avrupa'daki yıllık tüketiminin 1987'de yaklaşık 30.000 ton olduğu belirtilmiştir. Ancak, 1998'de bu miktar ikiye katlanmış ve 64.000 tona ulaşmıştır. 1996 yılında Almanya'da tüketilen EDTA miktarı 3.686 tona ve 1999'da 3.894 tona ulaşmıştır. EDTA'nın büyük kısmı kâğıt hamuru ve kâğıt endüstrisi alanında kullanılmaktadır. Etilendiamin tetra asetik asitin uygulama alanları Tablo 2.8.'de ve dünyada kullanılan EDTA'nın sektörlere dağılımı Şekil 2.8.'de verilmiştir.

Tablo 2.8. Etilendiamin tetra asetik asitin uygulama alanları [70, 71]

Etilendiamin tetra asetik asitin uygulama alanları
Sekuesteran olarak
Tekstil endüstrisinde metal iyonlarının safsızlıklarını renk değişiminden önleme
Kâğıt endüstrisinde metal iyonlarını engelleme
Kalsiyum ve magnezyum gibi metal iyonları ile kompleks oluşturarak su sertliği azaltma
İyon değişimi kromatografisi ile lantanid metallerin ayrılmasını
Kozmetik ve temizlik ürünlerinde sekuesteran ajan olarak ürünlerin kararlılığını artırma
Civa ve kurşun zehirlenmeleri
Fotoğrafçılık sektörü
Gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatma
Tıbbi kullanımlarda; kalp hastalığı ve yüksek tansiyon tedavisi
Tarımda, mikroelementlerinin taşınımı



Şekil 2.8. Dünyada kullanılan EDTA'nın sektörlere dağılımı [70].

2.2. Bitki Besleme

Canlıların ihtiyaç duyduğu enerjiyi karşılayan ve hücre bileşenlerinin yapımı için gerekli olan maddelere “besin” denir. Canlıların büyümesi, gelişmesi ve metabolizmaları için gerek duyulan besinlerin sağlanmasına ise “beslenme” denir [72]. Bitki besleme ve gelişimine ait ilk fikir Aristoteles tarafından ortaya atılmıştır. Aristoteles'e göre bitkiler, topraktan ihtiyaç duydukları maddeleri kökleri yardımıyla kolayca almaktadır. 14. yy.'da A. Casalpina tarafından ortaya atılan fikirde ise

bitkilerin ihtiyaç duydukları maddeleri su ile aldıkları ileri sürülmüştür. Bu fikirlerden yola çıkarak 15.yy. başlarında ise Van Helmont tarafından ilk denemeler yapılmış, suyun temel besin maddesi olduğu sonucuna varılmıştır. Daha sonraları ise bitkilerin gerek duyduğu maddelerin sadece suyla sınırlı olmadığı, suyun yanında pek çok maddeye ihtiyaç duydukları fikri ortaya konulmuştur.

Bitki besleme alanında temel alınacak ilk çalışmalar ise 1804 yılında Justus von Liebig tarafından ortaya konulmuştur. Bu çalışmada Liebig; bitkilerin 10 adet besin elementine gereksinim duyduğunu; bunların C, O, H, N, S, K, P, Ca, Mg, ve Si olduğunu saptamıştır [73].

Bir bilim dalı olarak bitki besleme; bitki besin maddelerinin bitkilere sağlanması, bitki tarafından alınması, alınan bu besinlerin bitki doku ve organları arasındaki dağılımı ve çeşitli metabolik fonksiyonları üzerine odaklanmıştır. Bitki beslemedeki en önemli nokta ise dış ortamda bulunan besin maddelerinin bitki hücre ve dokularına geçişini sağlamaktır.

2.2.1. Bitkilerde büyüme ve gelişme

Bitkilerde büyüme; organların boyutlarında ve kuru madde miktarında geri dönüşümsüz olarak meydana gelen artış olarak ifade edilebilir. Büyümenin meydana gelebilmesi için hücre içi sentez hızının hücre içi parçalanma hızından büyük olması gerekmektedir. Gelişme kavramı ise bitkilerin farklı organlarda yaşam döngüleri boyunca meydana gelen yapısal değişiklikler olarak ifade edilir. Gelişme; organlardaki farklılaşmanın yanı sıra hücrelerdeki çoğalma ve hacimsel artış gibi olayları kapsar [74].

Büyüme olayı; gelişmiş bitkilerde, bitkilerin bazı bölgelerinde bulunan meristem hücreleri ile kısıtlıdır ve bu meristem hücreleri çok yıllık bitkilerde uzun yıllar boyunca aktivitesini korur. Yaprak ve çiçek meristemleri için bu süre daha kısadır [75].

2.2.2. Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen faktörler

Bitkilerde büyüme ve gelişme, genel olarak bitkinin bulunduğu ortamın çeşitli etkenlerine ve her bitkinin spesifik olan kendi özelliklerine bağlıdır. Ortama bağlı olan faktörlere dış faktörler, bitkinin kendine özel olan faktörlere de iç faktörler denir.

2.2.2.1. Dış faktörler

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen dış faktörler olarak ışık, sıcaklık, topraktaki besin ve su miktarı ile diğer faktörler sıralanabilir.

2.2.2.1.1. Işık

Işık, bitkiler için temel gereksinimlerden biri olup bitkileri doğrudan etkileyen bir faktördür. Işığın şiddeti, süresi ve dalga boyu gibi birçok özellik bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi doğrudan etkileyecek düzeydedir. Örnek olarak dalga boyu 400-700 nm arasında olan görünür ışık bitkilerde birçok metabolik olayı tetikler. Görünür bölgede bulunan mavi-kırmızı ve turuncu-kırmızı ışıklar direkt olarak fotosentezde elektron taşınımı sağladığı için bitkiler için büyük önem taşır [76]. Buna ek olarak mavi ışığın stoma hareketlerini etkilediği de gözlemlenmiştir.

Yüksek şiddetteki ışığın fotoinhibisyona sebep olduğu belirlenmiştir. Tek yönden verilen ışığın bitkilerde gövde ucunda büyüme hızı farklılığına yol açarak fototropizma kavramının ortaya çıkmasına neden olduğu bilinmektedir.

Işık alma zamanındaki (fotoperiyot) değişimler ise bitkilerde vejetatif evreden generatif evreye geçiş zamanını etkileyen önemli bir faktördür. Işık alma süresindeki değişimler aynı zamanda donmaya dayanıklı bitkilerde soğuk aklimasyonu gibi olayların meydana gelmesini sağlayan faktörler arasındadır [74].

2.2.2.1.2. Sıcaklık

Bitkilerin bulunduğu ortamın sıcaklığı büyüme ve gelişme için önemli bir dış faktördür. Büyüme hızının maksimum düzeyde olduğu sıcaklık bitkiler için optimum sıcaklık olarak adlandırılır. Ayrıca büyümeyi yavaşlatan düşük sıcaklık değeri minimum sıcaklık, yüksek sıcaklık değeri ise maksimum sıcaklık olarak adlandırılır. Bu sıcaklık değerleri de her bitki için tür ve genotipe bağlı olarak değişim gösterir. Sonbaharla birlikte düşen sıcaklık değerleri donmaya karşı dirençli olan bitkilerde soğuk aklimasyonu için uyarı oluştururken, ilkbaharla birlikte yükselen sıcaklık değerleri çiçeklenme için bir uyarıdır.

2.2.2.1.3. Topraktaki su ve besin miktarı

Toprakta bulunan su ve besin maddelerinin miktarı bitkilerin büyümesini ve gelişmesini etkileyen dış faktörlerden birisidir. Topraktaki su miktarı için optimum bir seviye vardır. Bu seviyenin altında kuraklık, üstünde ise sel stresi baş gösterir. Her iki olayda da büyümede gerileme görülür. Bitkiler su yardımıyla topraktan makro ve mikro elementleri de alır.

2.2.2.1.4. Diğer faktörler

Bunların dışında çeşitli faktörlerden kaynaklanan toprak tuzluluğunun artması da dışsal faktörler arasında sayılabilir. Topraktaki tuz miktarının artışı direkt olarak bitkilerin büyüme ve gelişmesinde belli oranda yavaşlamaya sebep olur. Ayrıca kirletici sayılabilecek sanayi atıkları, çevreye salınan zehirli gazlar, herbisitler ve pestisitler de büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyen faktörler arasındadır.

2.2.3. Bitkilerde stres kavramı

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen en önemli faktörlerden birisi de strestir [77]. Dünya üzerindeki hiçbir bitki aynı koşullar ve aynı çevre şartları altında bulunmaz. Yeryüzünde sıcak alanlar, kutup bölgeleri ve tuzlu topraklar gibi farklı koşullara sahip olan bölgeler vardır. Bu bölgelerdeki ekolojik koşullar bitkilerin büyümesini, gelişmesini ve yaşamlarını olumsuz etkiler [78]. Bu olumsuz çevre koşullarına bağlı olarak bitkiler strese girer. Bitkilerde; büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyen içsel ve dışsal tüm faktörler stres olarak tanımlanır [79]. Bir başka ifadeyle bitkilerde metabolizmayı etkileyen veya engelleyen, bitkinin büyümesine ve gelişmesi üzerinde olmayan durumlar ya da maddeler stres olarak kabul edilir [80]. Levitt (1980) ise stresi canlılar için uygun olmayan ekolojik şartlar olarak ifade etmiştir [81].

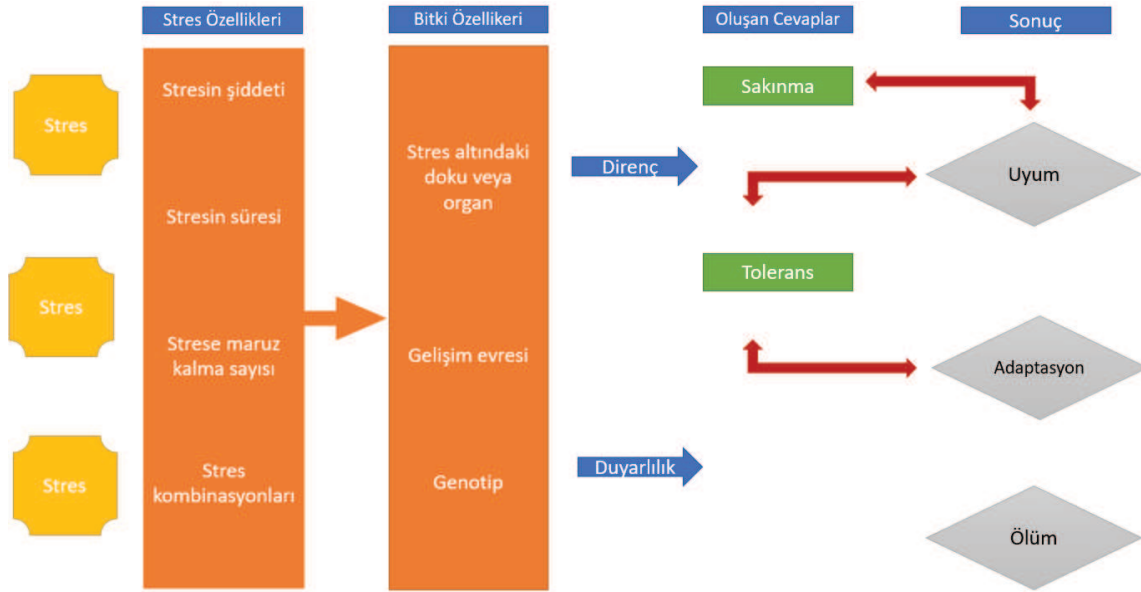
2.2.4. Bitkilerin stres faktörlerine verdikleri genel cevaplar

Stres direnci veya stres dayanıklılığı bitkinin olumsuz koşullara karşı hayati fonksiyonlarını sürdürme yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Bitkilerin strese karşı göstereceği direnç farklı faktörlere göre değişebilir. Bitkiler, zaman zaman bütün olarak strese dirençli olabilirken, zaman zaman ise sadece belirli organları direnç gösterebilmektedir. Örneğin kuru tohumlar ve dormant tomurcuklar strese fazlaca dirençlidir. Fakat meristemler ve sukulent organlar strese oldukça duyarlıdır. Bitkilerin strese maruz kaldığı anda içinde bulunduğu gelişme evresi de stres direncinin boyutunun belirlenmesinde önemlidir. Örneğin genç bitki organları, yaşlı bitki organlarına göre stres faktörlerine çok daha duyarlıdır [82]. Stresin süresi ve şiddeti de direnç mekanizmasını etkileyen faktörler arasında bulunmaktadır [83]. Ayrıca, bir türe ait farklı çeşit veya genotiplerin aynı strese verdikleri cevaplar da değişebilmektedir [84].

Levitt'e göre stres direnci sakınma ve tolerans olmak üzere iki başlık altında toplanmıştır. Bu ayırım bitki metabolizması ile stres faktörü arasındaki termodinamik etkileşimlerin varlığına ve yokluğuna göre yapılmıştır [85]. Sakınma

mekanizmasında, bitki karşılaştığı stres faktörünü fiziksel veya metabolik bir bariyerle dışarıda bırakmakta ve stres faktörü ile termodinamik bir etkileşime girmekten kendini korumaktadır. Örneğin çöl ortamında yaşayan bitkilerin sahip olduğu sukulent organlar, bu bitkilerin kuraklık stresinden sakınmasını sağlamaktadır. Tolerans mekanizmasında ise bitki metabolizması ve stres faktörü arasında termodinamik bir etkileşim söz konusudur. Fakat sonuç olarak bitki ya bu stres faktöründen zarar görmemekte veya oluşan zararlar onarılmaktadır. Evrimsel süreçte doğal seleksiyonun, stres direncinin sağlanmasında daha fazla etkili olan sakınma mekanizması yönünde meydana geldiği görülmüştür [82].

Stres fizyolojisinde önemli ve etkili olan iki kavram daha bulunmaktadır. Bunlardan biri olan “adaptasyon” bitkilerin uzun süreli çevresel faktörlere verdiği genotipik bir cevaptır. Buna göre adaptasyon sonucunda oluşan genetik değişiklikler stabildir ve popülasyonda birçok kuşak boyunca korunmaktadır. “Aklımasyon” veya “uyum” ise genetik yapıda herhangi bir değişim olmaksızın, değişen ortam koşullarına verilen fenotipik bir cevaptır [86]. Bu süreç sonucunda, bitkiler çevresel koşullar değiştikçe fizyolojik ve yapısal anlamda bazı değişimler gösterebilmektedir. Kısa zamanlı uyumda bitki metabolizması ve büyümesinde değişen çevresel koşullara göre yeni düzenlemeler gözlenir. Örneğin transkripsiyon, translasyon, protein sentez hızı ve hormonal dengede değişimler meydana gelir. Uzun süreli uyumda bitkiler çeşitli organlarını kaybedebilir. Fakat bu organların tekrar oluşup büyümesi sonucunda bitki yeni bir morfolojik ve anatomik yapı kazanır [81]. Çeşitli faktörlere bağlı olarak bitkilerin oluşturabileceği stres cevapları Şekil 2.9.’da gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Çeşitli faktörlere bağlı olarak bitkilerin oluşturabileceği stres cevapları [84].

2.2.5. Stres faktörlerinin sınıflandırılması

Bitkiler üzerinde aynı anda birden fazla stres faktörü bulunmaktadır. Bu stres faktörleri değişik şekillerde sınıflandırılmaktadır. Bahsi geçen stres faktörleri biyolojik ve fizikokimyasal faktörler olarak iki başlık altında toplanır. Bitkilerde çeşitli hastalıklara yol açan virüs, bakteri ve mantarlar; bitkilere fiziksel olarak zarar verebilen böcekler ve nematodlar biyolojik stres faktörlerini oluştururken, bitkinin bulunduğu ortamın sıcaklık değişimi, su miktarındaki ve ışık yoğunluğundaki değişimler fizikokimyasal stres faktörlerini oluşturur [85].

Stres faktörleri bazı araştırmacılara göre ise biyotik ve abiyotik olmak üzere iki ana başlık altında toplanmaktadır [87]. Kuraklık, tuzluluk, ağır metaller, yüksek sıcaklıklar gibi abiyotik stres faktörleri aynı anda etkili olabilmeleri sebebiyle verim kayıplarının başlıca nedenleri arasında yer alır [88]. Bu stres faktörleri hücrenin ozmotik basıncı, hücrelerin bölünmesi, membran bütünlüğü, hücre içi iyon dengesi gibi birçok olayı etkileyerek bitkide hasara yol açmaktadır [89]. Abiyotik ve biyotik stres faktörleri Tablo 2.9.'da gösterilmiştir.

Tablo 2.9. Abiyotik ve biyotik stres faktörleri [90].

Abiyotik stres faktörleri	Biyotik stres faktörleri
Yüksek sıcaklık	Patojenler
Düşük sıcaklık	Böcekler
Tuzluluk	Herbivorlar
Kuraklık	Kemiriciler
Su fazlalığı	
Radyasyon	
Kimyasallar ve kirleticiler	
Oksidatif stres	
Rüzgâr	
Topraktaki mineral eksikliği	

Bitkiler stres faktörlerine çeşitli biyolojik mekanizmalarla cevap verir. Bitkinin strese karşı göstereceği dayanıklılık veya direnci birçok faktör belirler [82]. Stresin şiddeti, süresi, strese maruz kalan organ veya organların tipi, bitkinin stres altında iken bulunduğu gelişme ve büyüme evresi ve bitki türü ve genotipi bu faktörler arasındadır [83].

Stres faktörlerinin, ekonomik değere sahip bitkiler üzerindeki etkileri konusunda araştırmalar yapılmasının iki önemli nedeni vardır:

- Bitkilerin stres türüne bağlı olarak verdiği tepkilerin mekanizmalarının öğrenilmesi.
- Duyarlı bitkilere dayanıklılık kazandırılıp ürün kalitesinin artırılması ve ürün kaybının önlenmesi.

Dünyadaki kara parçalarının %10'undan daha az bir bölümünün, tarımsal faaliyetler için elverişli olduğu belirtilmiştir [91]. Bu kadar az miktarda olan tarımsal alanlarda kuraklık başta olmak üzere, mineral madde, düşük sıcaklık ve don gibi stres faktörleri nedeniyle göz ardı edilmeyecek verim kayıpları yaşanır [92]. Bu sebeple farklı stres faktörlerine direnç gösteren bitki genotiplerinin araştırılmasına ve geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Abiyotik stres faktörleri arasında bulunan kuraklık stresi, küresel ısınmanın bir sonucu olarak ortaya çıkmakta ve yeryüzündeki tarımsal alanların verimliliğinin azalmasına sebep olmaktadır [93]. Dünyada tarım arazilerinin yarısına yakını kurak ve yarı kurak bölgelerde bulunduğu için az yağış alır. Böyle durumda suyu daha ekonomik kullanan ve yüksek verime sahip olan bitki türlerinin kullanılması tarım ekonomisi anlamında avantaj sağlar [94].

2.2.6. Bitkilerde mineral besleme

Bitkiler buldukları ortamdaki hem kökleri hem de toprak üstü organları ile çok sayıda bitki besin elementini alabilir. Bitki besin elementlerine ait yapılan ilk çalışmalarda bitkilerin toplam 74 adet element aldıkları saptanmıştır [95]. Fakat bu elementlerin bir kısmı bitkiler için büyük bir öneme sahiptir. Böyle elementlere mutlak gerekli besin elementleri denilmektedir. Mutlak gerekli besin elementi yerine mineral element terimi de kullanılır. Mutlak gerekli besin elementi sözcüğü ilk olarak Arnon ve Stout tarafından kullanılmıştır [96]. Genellikle bir elementin besin maddesi olabilmesi için şu özellikleri taşıması gerekir:

- a. Element noksanlığında bitkinin gelişmesini, gelişme süreci içerisinde tamamlanamaması gerekir.
- b. Element noksanlığında ortaya çıkan semptomlar yalnızca aynı element sağlandığı takdirde ortadan kalkmalıdır.
- c. Element tedarik edildiği zaman doğrudan spesifik etki yapmakla beraber; bu etki mikrobiyolojik, kimyasal ya da enzimatik sistemde görev almak şeklinde olmamalıdır [97].

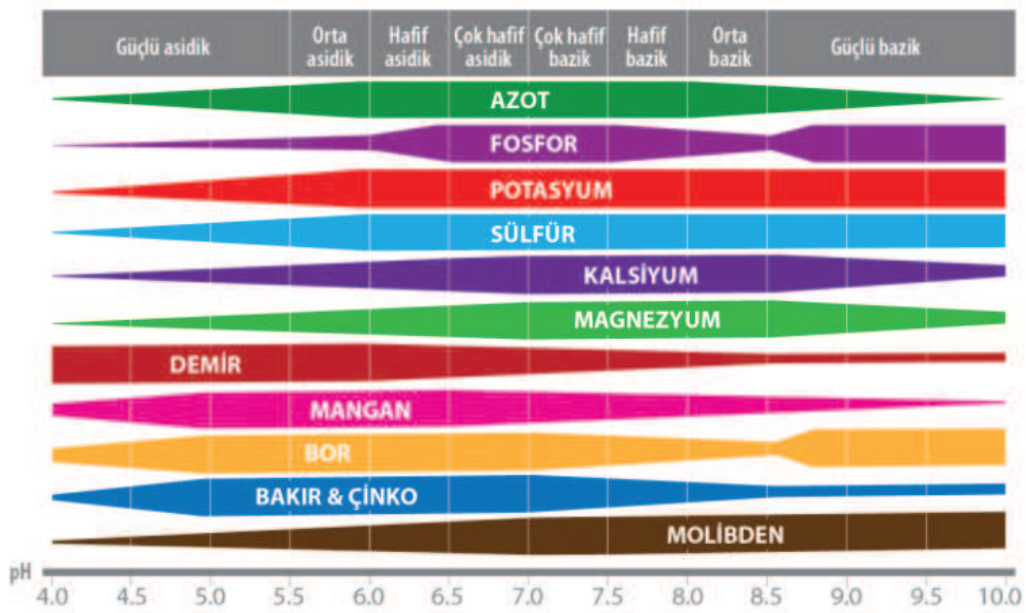
Bitki besin elementleri; ışık enerjisi ile gerçekleşen fotosentez sonucu ortaya çıkan, ışığın fiziksel enerjisinin kimyasal enerji şeklinde depolandığı organik madde yapımında kullanılan ve bitkiler tarafından az ya da çok absorbe edilen kimyasallar olarak tanımlanabilir.

Bitki gelişimi için mutlak gerekli olan elementlerin sayısında ve sınıflandırılmasında farklı kaynaklar arasında değişiklikler söz konusudur. Bu değişikliklerin başlıca nedeni bu elementlerin tüm bitkiler için mutlak gerekli olmaması ve gelişen teknoloji sonucu yeni elementlerin listeye dahil edilmesidir.

Tistalde'ye göre bitki gelişimi için 20 adet element gereklidir. Bu elementleri de karbon (C), hidrojen (H), oksijen (O), azot (N), fosfor (P), potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), kükürt (S) demir (Fe), mangan (Mn), molibden (Mo), bakır (Cu), bor (B), çinko (Zn), klor (Cl), sodyum (Na), kobalt (Co) ve vanadyum (V) olarak sıralamıştır [98]. Bitki besin maddelerinin sınıflandırılması Tablo 2.10.'da ve toprağın pH değerinin bitki besin elementlerinin üzerine etkisi Şekil 2.10.'da gösterilmiştir.

Tablo 2.10. Bitki besin maddelerinin sınıflandırılması [99].

Organik maddede bulunan temel elementler	Besin elementleri					
	Makro besin elementleri			Mikro besin elementleri		
C	N	S	B	Cu	Zn	
H	P	Ca	Cl	Fe		
O	K	Mg	Mo	Mn		



Şekil 2.10. Toprağın pH değerinin bitki besin elementlerinin üzerine etkisi [100].

2.2.6.1. Makroelementler

Bitkiler topraktan aldıkları 13 element içinde, özellikle 6 tanesini diğerlerine göre daha fazla kullanmaktadır. Bu 6 element; potasyum (K), kalsiyum (Ca), azot (N), fosfor (P), magnezyum (Mg) ve kükürttür (S). Bitkiler tarafından fazlaca kullanıldıklarından, bu elementler makroelementler olarak isimlendirilmiştir. Bu elementlerin toprakta bitkilerin gereksinim duyduğu düzeyde bulunmaması ya da diğer besin elementleri ile dengeli alınmaması gibi durumlarda bitkilerde büyüme yavaşlar. Bazı durumlarda, sayılan bu üç olumsuz koşul bitkiyi olumsuz yönde etkileyebilir. Bu olay, özellikle azot için söz konusudur. N, P ve K genellikle gübreler yoluyla sağlandığından, bu elementlere gübre elementleri de denir. Aynı şekilde Ca ve Mg kireç ile toprağa karıştırıldığından bu elementlere de kireç elementleri adı verilir. S toprağa çok değişik yollardan girebilir. Sulama suları bir miktar kükürt içerebilir. Ayrıca çiftlik gübresi, süperfosfat ve amonyumfosfat gibi gübreler önemli miktarda kükürt içerir. Genellikle bu gübreler ile toprağa giren kükürt yeterli olmakla beraber, bazı durumlarda toprağa kükürt ilavesi yapılır [101, 102].

2.2.6.2. Mikroelementler

Bitkiler için mikroelement ihtiyaçları az miktarlarda olmasına rağmen yüksek önem arz eder. Bu bağlamda mikroelementler ile ilgili ilk fikirleri ortaya atan ve mikroelementler ile ilk çalışmaları ortaya koyup tarım ve biyolojik kimya biliminde büyük katkı sağlayan Alman kimyacı Freiherr Justus von Liebig olmuştur. Liebig yaptığı çalışmalar sonucu geliştirdiği “Minimum Yasası” ilkesi ile toprakta diğerk tüm mikroelementler bulunsa bile bunlardan birinin azlığı durumunda bitki gelişmesi ve verimin olumsuz yönde etkileneceğini belirtmiştir [103]. Bir başka ifade ile bitki gelişimi ve maksimum ürün miktarı ortamda eksik olan mikro element tarafından sınırlandırılmaktadır [104]. Minimum yasası Şekil 2.11.’de gösterilmiştir.

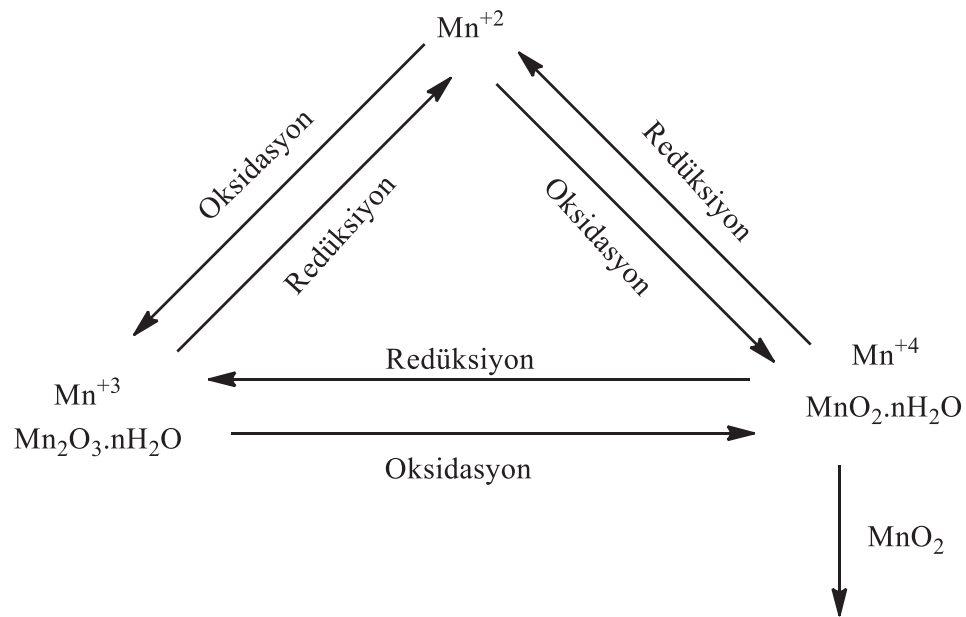


Şekil 2.11. Minimum yasası

2.2.6.2.1. Mangan

Mangan; yer kabuğunda yaygın olarak bulunan bir element olup konsantrasyonu 900 mg/kg’dır. Yeryüzünde mangan oksitler veya mangan sülfidler olarak bulunur [105]. Bitkiler buldukları ortamdan mangani kökleri yardımıyla Mn^{+2} iyonu şeklinde alır. Ayrıca doğal veya sentetik kompleksler oluşturucu bileşiklere moleküler düzeyde bağlanan mangan da bitkiler tarafından alınabilir [106]. Organik maddelerin

bileşiminde bulunan mangan da iki değerlikli olup ayrışan organik madde aracılığıyla toprak yapısına mangan geçişi sağlanır [107]. Toprakta mangan döngüsü denilen bir sistem vardır. Toprakta gerçekleşen oksidasyon-redüksiyon koşulları manganın hangi formunun alınacağını tayin eder. Genelde toprağın yapısında Mn^{+2} ve Mn^{+4} formu bulunur. İyi havalandırılan topraklarda Mn^{+2} , Mn^{+4} 'e göre daha fazla bulunur [108, 109]. Mangan elementinin topraktaki yükseltgenme ve indirgenme döngüsü Şekil 2.12.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.12. Mangan elementinin topraktaki yükseltgenme ve indirgenme döngüsü [105].

2.2.6.2.1.1. Mangan alımını etkileyen faktörler

Bitkilerde mangan alımı birçok etkene bağlıdır. Bu etkenlerin başında toprak tipi öne çıkar. Organik topraklarda, kireçli topraklarda ve kumlu topraklarda yetişen bitkilerde mangan eksikliği görülme olasılığı yüksektir [110, 111].

Mangan alımında bir diğer etken de ortam sıcaklığıdır. Sıcaklığa bağlı olarak mangan alımının azaldığı görülmüştür. Düşük sıcaklıkta topraktaki mangan çözünürlüğü az olacağı için mangan alımı yavaşlar, 10-25°C arasında ise mangan

alımı ortalama 3 kat artar [112]. Toprakta suyun fazla bulunmasının da mangan alımını azalttığı görülmüştür [113].

2.2.6.2.1.2. Manganın biyokimyasal fonksiyonları

Mangan bitkilerde birden fazla hayati önem taşıyan enzimin aktive edilmesinde görevlidir. Bunlardan en önemlisi mangan içeren süperoksit dismutaz (MnSOD) enzimidir. Oksijenin monovalent redüksiyonu sırasında süperoksit radikalinin oluşumu Şekil 2.13.'de gösterilmiştir.

2.2.6.2.1.3. Mangan noksanlığı

Mangan noksanlığı bitkide mangan miktarı 20 mg/kg'nin altına düştüğünde baş gösterir. Mangan noksanlığı genellikle fazla yıkanmış topraklarda, yüksek pH değerine sahip topraklarda ve yüksek pH değerine sahip olup yüksek oranda organik madde içeren topraklarda görülür. Mangan eksikliği topraktan veya yapraktan yapılan şelatlı mangan veya mangan tuzlarının uygulanması ile giderilebilir. Mangan çok aktif bir besin elementi olduğundan mangan noksanlığı ilk olarak yaşlı yapraklarda gözlenir [116].

Mangan noksanlığı bitkilerde büyüme gerilemesi, bodur büyüme veya yapraklarda sararma şeklinde belirtilere neden olur. Yaprak damarları arasında ortaya çıkan kloroz en önemli belirtisidir. Ayrıca yapraklarda beneklenme de gözlenebilir.

Mısır bitkisinde mangan eksikliği genellikle yapraklarda görülür. Yaprakların orta bölgelerinde sarı-yeşil çizgilerin oluşumuna neden olur. Şiddetli mangan eksikliklerinde sarı-yeşil çizgiler ölümlere yol açar. Genç yaprakların oluşumu sırasında mangan eksikliği beyaz ve solgun yeşil renkli çizgiler varlığında gözlenir [106].

2.2.6.2.2. Bakır

Dünya topraklarında ortalama bakır konsantrasyonu 70 mg/kg civarındadır. Yüksek oranda yıkanmış kumlu topraklar ve kireçli topraklarda bulunan bakır miktarı, diğer topraklara nazaran daha düşüktür [117]. Bakır, toprakta metalik halde, bazı minerallerin içinde, karbonat, hidroksil ve silikat halinde bulunur. Yükseltgenme şartlarına bağlı olarak mineral çözüldükçe bakır; Cu^{+2} halinde serbest hale geçer [118]. Bitkiler bakırı topraktan yapay veya doğal organik bileşikler halinde alır. Bakır tuzları ve bakırlı şelatlar ise yapraklar aracılığıyla alınabilir [98].

Bakır, bitkilerce diğer mikroelementlere göre çok daha az miktarda (1/10) alınır. Bitkilerin bakır içeriği 2-20 mg/ kg arasında değişir. Bitkilerde bakır alımı metabolik olarak kontrol altında tutulduğu için diğer mikroelementlerin alımı ile de bağlantılıdır. Örneğin bitkilerde bakır ve çinko alımı, birbirini etkilemektedir [119, 120].

Bakırın, bitkilerdeki mobilitesi düşük olduğundan bakır eksikliği genelde bitkinin alt kısımlarındaki yaşlı yapraklarda görülür. Bakır eksikliği bitki yapraklarında griye çalan yeşil ve daha sonra beyazlaşmaya kadar giden renk değişimlerine yol açar. Bakır eksikliği sonucunda bitkilerde büyüme ve gelişme hızı azalır, meyvelerde ve dalların uç kısımlarında kurumalar görülür [121, 122]. Mısır bitkisinde bakır noksanlığı yaprakların uç kısımlarında kıvrılma ve bükülme, dip kısımlarında ise sararma veya renk solmasına neden olur [73].

2.2.6.2.2.1. Bakırın biyokimyasal fonksiyonları

Bakırın, bitkilerdeki başlıca fonksiyonlarından birisi fotosentez üzerindeki etkisidir. Ayrıca bakır bitkideki çeşitli yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarında rol alır. Bitkilerde klorofil sentezi ile ilgili etkiye de sahiptir. Bakır dozlaması yapılan bitkilerin yapraklarındaki klorofil miktarında artışlar gözlenmiştir. Bunun yanı sıra bitkilerdeki A vitamini sentez hızı ile bakır miktarı arasında önemli bir korelasyon belirlenmiştir [105, 107, 123, 124, 125].

Süperoksit dismutazın (SOD) bir izoenzimi de bakır içerir. Manganda olduğu gibi bitkilerde oksijenin indirgenmesi sonucu ortaya çıkan O_2^- radikallerine karşı hücrenin korunmasını sağlar [114].

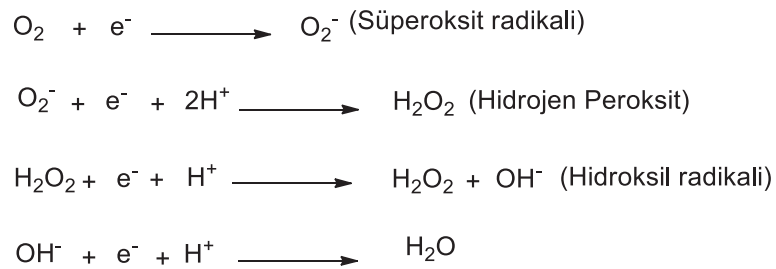
2.2.6.2.2.2. Bakır noksanlığı

Hafif topraklarda bakır içeriği 2 mg/kg civarındadır ve bu topraklarda yaşayan olduğu bitkilerde genellikle bakır noksanlığı görülür. Bitki genotipi, bitkinin büyüme-gelişme dönemi ve diğer mikroelementlerin alımına bağlı olarak yeşil bitkiler için kritik bakır düzeyi kuru maddede 1-5 mg/kg'dir [126, 127]. Bodur büyüme, yeni yapraklarda kıvrılma ve bükülme ve bu yapraklarda nekrozlar, genç yapraklarda solma bakır noksanlığının başlıca belirtileri arasında gelir [128].

2.2.7. Bitkilerde aktif oksijen türlerinin (AOT) oluşumu

Moleküler oksijen (O_2) ilk olarak yaklaşık 2,7 milyar yıl önce fotosentetik organizmalardaki oksijen evolüsyon reaksiyonu sonucu oluşmuştur ve aktif oksijen türleri (AOT) aerobik yaşamın bir parçası haline gelmiştir [129]. AOT'ler kloroplastlar ve mitokondriler gibi farklı hücresel organellerde meydana gelen metabolik reaksiyonlar sırasında ara ürün olarak da meydana gelebilir [130, 131]. Gelişmiş bitkilerde fotosentez olayı oldukça organize olan tilakoid membranlara sahip olan kloroplastlarda meydana gelir. Fotosentez boyunca kloroplastlarda oluşan oksijen, elektron taşıma reaksiyonlarından gelen elektronları alarak süperoksit radikalini (O_2^-) oluşturabilir [132]. Ancak UV radyasyonu, kuraklık, ağır metaller, yüksek ve düşük sıcaklıklar, besin eksikliği, hava kirliliği gibi biyotik ve abiyotik stres faktörleri, bitki dokularında AOT'lerin oluşumu ve bitkinin bunları detoksifiye etme hızı arasındaki dengeyi bozabilir. Bu da hücresel yapılarda hasarlara neden olan AOT'lerin hücre içindeki miktarının hızla artmasına yol açar [133]. O_2^- radikali de çeşitli reaksiyonlar sonucunda hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^-) ve diğer AOT'lerin oluşmasına yol açar. AOT'lerin oluşumu Şekil 2.13.'de gösterilmiştir [114,115].

O_2^- radikali, H_2O_2 ve OH^- radikali gibi AOT'ler oldukça reaktiftir ve toksik etkilere sahiptir. Bu AOT'ler, lipidler, karbohidratlar ve DNA'da hasarlara neden olarak hücre ölümlerine yol açmaktadır. Farklı çevresel stres faktörlerinin etkisiyle bitki dokularında meydana gelen AOT'ler ürün kayıplarının temel sebebidir [134-136]. AOT'ler nükleik asitlerde hasar oluşturarak, proteinleri okside ederek ve lipidlerin yükseltgenerek bozulmasına neden olarak birçok hücre fonksiyonunda bozulmalara sebep olmaktadır [132].



Şekil 2.13. AOT'lerin oluşumu [114,115].

2.2.7.1. Kloroplastlar

Gelişmiş bitkilerde fotosentez olayı tilakoid membran sistemine ve maksimum ışık absorpsiyonu için gerekli yapısal niteliklere sahip olan kloroplastlarda gerçekleşir [137]. O_2 fotosentetik elektron taşınım reaksiyonları boyunca suyun parçalanması neticesinde oluşturulur. O_2 'nin suya kadar indirgenmesi gelişmiş organizmalarda metabolik olaylar için gerekli enerjinin meydana gelmesini sağlar. Ancak bazı stres faktörleri nedeniyle bu indirgenme tam olarak gerçekleştirilemezse, üretim hızı artan ve dokularda birikim göstermeye başlayan AOT'ler birçok biyolojik molekülü okside edebilir.

Bitki dokularında oluşan ilk AOT olan O_2^- radikalinin yarı ömrü yaklaşık 2-4 μs 'dir. O_2^- radikali kloroplastların tilakoid membranlarına bağlı olan fotosistem I (FS I) tarafından oluşturulur. Ancak yapılan bazı araştırmalar bunun yanı sıra, fotosistem II' nin (FS II) yapısında bulunan kinon A (Q_A) ve kinon B (Q_B) adlı elektron taşıyıcı moleküllerin de benzer bir mekanizma ile O_2^- radikalini oluşturduğunu göstermiştir. [138].

OH⁻ radikali ise hücrelerdeki en reaktif olan AOT çeşididir. Bu AOT çeşidi, O₂⁻ radikali ve H₂O₂'den demir iyonlarının da varlığında Fenton reaksiyonu yardımıyla oluşturulur. OH⁻ radikalleri hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna, DNA, protein ve diğer hücresel yapılarda çeşitli hasarlara neden olur. Diğer AOT'ler arasında OH⁻ radikali hücre ölümleri konusunda en büyük paya sahiptir ve tuz stresi koşullarında bitki hücrelerinde birikim gösterir [139]. Hücrelerde OH⁻ radikalini detoksifiye edecek herhangi bir enzim bulunmadığından, bu radikalın aşırı birikimi hücre ölümlerine neden olmaktadır [140].

2.2.7.2. Mitokondriler

Normal koşullar altında mitokondrilerde belirli oranda AOT oluşumu meydana gelir. Ancak biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin etkisiyle AOT oluşumu hızlanır. Mitokondriyal elektron taşınım sistemindeki bileşenlerden olan kompleks I ve kompleks III O₂⁻ radikali oluşumunun gözlemlendiği kısımlardır [141,142,143]. Yapılan araştırmalar mitokondrilerdeki O₂⁻ radikalinin yaklaşık %5'lik kısmının H₂O₂ üretimi için kullanıldığını göstermiştir [142]. Oluşan H₂O₂ indirgenmiş demir veya bakır iyonları ile reaksiyona girerek çok daha toksik yapıda olan OH⁻ radikalini oluşturur. Daha sonrasında OH⁻ radikali mitokondriyal membranları kolayca geçerek daha büyük boyutta hücresel hasarlara neden olur [144]. OH⁻ radikali hücresel membranlarda yükseltgenerek bozulmalara yol açar.

2.2.8. Bitkilerde antioksidant sistem

Bitkiler, yaşamsal faaliyetlerini yerine getirmek için enerjiye, enerji üretebilmek için de oksijene ihtiyaç duymaktadır. Fakat oksijen, hücresel yapıların ve metabolik reaksiyonların oksidasyona uğramasına yol açmaktadır. Bitkiler, oksidasyon altında yaşamsal faaliyetlerini devam ettirmek ve stres ile mücadele etmek için çeşitli antioksidantlara sahiptir. Oksidasyona karşı mücadele eden maddelere antioksidant denir. Antioksidantlar enzimatik olan ve enzimatik olmayan olmak üzere iki kısımda toplanır [145-147]. Katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APOD), glutatyon redüktaz (GR), guaiakol peroksidaz (GPOD) ve glutatyon

redüktaz (GP) enzimatik antioksidantları; askorbik asit (AA), tokoferoller (vitamin E), karotenoidler, glutasyon ve fenolik bileşikler ise enzimatik olmayan antioksidantları oluşturur [148-151]. Enzimatik olan ve olmayan antioksidantların isimleri, buldukları yerler ve rolleri Tablo 2.11.'de gösterilmiştir [145-147].

Tablo 2.11. Enzimatik olan ve olmayan antioksidantların rol ve bulunduğu yerler

Enzimatik Olmayan Antioksidantlar	Rolü	Bulunduğu Yer
Askorbik Asit	Direk olarak O_2^- , OH^- ve H_2O_2 'yu temizler.	Kloroplast, apoplast, vakuol, sitozol
Tokoferoller	Lipit peroksidasyonunu engeller. Lipit peroksitlerini O_2^- ve OH^- 'i temizler.	Bitkilerin tüm kısımlarında bulunur. Kloroplast membranlarında tokoferol yoğun olarak bulunur.
Karotenoidler	Peroksi radikalleri ile O_2^- ve OH^- 'i temizler.	Sitozol, vakuol
Glutasyon	Redoks döngüsünün bir substratı olarak, OH^- ile O_2 'nin direk temizlenmesinde görevlidir.	Sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri
Fenolik bileşikler	Antioksidant özelliklerini iyi birer hidrojen veya elektron vericisi olmaları, zincir kırıcı özellikleri ve geçiş metalleri ile şelat oluşturmaları ile gösterir.	Sitozol, vakuol
Enzimatik olan Antioksidantlar	Rolü	Bulunduğu Yer
Süperoksit distumaz (SOD)	O_2^- 'i H_2O_2 'ye dönüştürür.	Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksizom
Askorbat peroksidaz (APOD)	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir.	Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksizom
Katalaz (KAT)	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir.	Peroksizom
Glutasyon redüktaz (GR)	H_2O_2 'yi ve lipit peroksitlerini etkisizleştirir.	Kloroplast, sitozol, mitokondri, endoplazmik retikulum

Antioksidant enzimler bitkilerin büyüme ve gelişme evrelerinde önemli rollere sahiptir. Tuz stresi, düşük ve yüksek sıcaklık stresi, UV ışık, kuraklık stresi, yüksek ışık yoğunluğu, ağır metal toksisitesi, herbisitler ve hava kirleticileri gibi stres koşulları altındaki bitkilerde antioksidant enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen değişimler, bitkilerin stres faktörlerine dayanıklılık ve duyarlılık dereceleri konusunda fikir vermektedir [152-161].

2.2.9. Fotosentez olayı ve çeşitli stres faktörlerinin fotosentetik aktivitesi üzerinde etkileri

Bitkilerde büyüme birçok fizyolojik olay sonucunda meydana gelir. Bu fizyolojik olaylar birçok çevresel faktörden etkilenir ve bitkilerin strese karşı verecekleri cevapları da belirler. Ancak bitki büyümesinin çevresel faktörler tarafından sınırlandırılması, sadece tek bir fizyolojik olaya bağlanamaz. Bu fizyolojik olaylardan en önemlisi fotosentezdir. Bitkilerde büyüme, net fotosentezin bir ölçüsüdür ve büyümeyi etkileyen çevresel stres faktörleri de fotosentezi etkiler. Bu nedenle stres altındaki bitkilerde fotosentez olayında meydana gelen değişimler, bitkilerin fizyolojik durumu hakkında bilgi verir. Fotosentez olayı bitkilerde, alglerde ve siyano bakterilerde bir stres reseptörü olarak kabul edilmektedir.

Fotosentez olayının ilk evresi, gelişmiş bitkilerde kloroplastların tilakoid membranlarında meydana gelen elektron taşınım reaksiyonlarıdır. Bu aşamada ışık enerjisi, tilakoid membranlar üzerinde bulunan pigment protein kompleksleri, FS II, sitokrom b6f kompleksi, FS I ve ATPaz kompleksi yardımıyla kimyasal enerjiye dönüştürülür. İkinci evre olan CO₂ fiksasyon reaksiyonları ise kloroplast stromasında meydana gelir ve heksoz şekerlerin sentezini sağlar.

Bitkilerde tüm stres faktörleri fotosentetik pigment miktarında, bu pigmentlerin ışık enerjisini absorblaması ile başlayan primer fotokimyasal olaylarda, tilakoid membranların ve üzerindeki birimlerin yapısal organizasyonunda, elektron taşınım ve CO₂ fiksasyon reaksiyonlarının hızlarında değişimlere yol açar [162, 163].

Yapılan çalışmalarda, tuz stresinin kloroplast yapısında bazı değişimlere neden olarak fotosentetik aktiviteyi azalttığı belirlenmiştir [164]. Bruns ve Hecht-Buchholz (1990), tuz stresi altındaki patates bitkilerinde grana sayısının azaldığını, tilakoidlerin şiştiğini ve stromada daha büyük nişasta tanelerinin birikim gösterdiğini belirlemişlerdir. Tuz stresi domates bitkisinde kloroplastların agregasyona uğramasına, hücrel membranların yapısal olarak bozulmasına, grana ve tilakoidlerin yok olmasına neden olmuştur [165].

Tuz stresi altındaki bitkilerde fotosentetik pigment miktarı genellikle azalmaktadır. Agastian ve arkadaşları, [166] tuz uygulamalarının bitkilerde yaşlı yapraklarda daha erken dönemde renk değişimlerine neden olduğunu ve stres süresinin uzaması durumunda bu yaprakların döküldüğünü rapor etmiştir. Ancak Wang ve Nil, [167] tuz stresi uygulanan *Amaranthus* bitkilerinin yapraklarında klorofil miktarının arttığını bildirmiştir. Chutipaijit ve arkadaşları, [168] tuz stresi altındaki bitkilerde klorofil miktarında meydana gelen değişimlerin, hücrel metabolizma olayları için duyarlı bir indikatör olarak kullanılabileceğini ileri sürmüştür. Maxwell ve Johnson [169] ise, tuz stresinin bitkiler üzerindeki en çok gözlenen etkilerinden birisinin fotosentetik pigment miktarındaki değişimler olduğunu bildirmiştir.

Bitkiler, kuraklık stresinden etkilenmeleri bakımından türe bağlı olarak değişiklik gösterir [170]. Genotiplere bağlı olarak farklı düzeydeki kuraklık şiddetlerinde etkilenme derecesi de o genotipin stres altındayken geliştirdiği tepkilerle ilişkilidir [171]. Bitkiler ihtiyaç duyduğu miktardaki suyu kökleri ile alamadığı ve bunun sonucunda strese girmeye başladığında, su kayıplarını azaltarak veya su alımını yükselterek kuraklık stresinden çıkmaya çalışır [172]. Yaprakları aracılığıyla terleme yoluyla kaybedilen suyun kökler tarafından karşılanamaması durumunda turgor azalarak yaprak hücreleri plazmolize uğramaktadır [173]. Kuraklığın erken belirtilerinden birisi de fotosentez hızındaki azalma nedeniyle vejetatif büyümenin yavaşlamasıdır. Gövde büyümesi, yaprak ve kök büyümesine nazaran kuraklık stresine daha hassastır [174]. Bitkide baş gösteren kuraklık stresi ile turgor potansiyeli, fotosentez, stomaların açılıp kapanması ve yaprak genişlemesi gibi

hayati önem arz eden fizyolojik ve morfolojik olayların ilişkili olduğu belirlenmiştir [175].

Kuraklıkta olduğu gibi suyun fazla olduğu durumlarda da bitki strese girer. Dere, çay ve nehirlerin taşması ya da aşırı yağışlar sonucu suyun yer kabuğunun alt katmanlarına geçemeyerek topraklarda geçici olarak tutulur. Bu durumda köklerde ve diğer organlarda büyüme olumsuz etkilenir. Genel olarak ise fotosentez hızı azalır [176]. Bitkilerde meydana gelen soğuk stresi zararları belirtileri bitkinin genotipine, soğuğa maruz kalma süresine, soğukla temas eden organlara ve bitkinin gelişim evresi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterir [177]. Bu belirtiler büyüme hızının yavaşlaması, yaprak genişliğinin azalması, klorofil kaybı nedeniyle klorozis oluşumu ve hücre zar yapısının bozulması olarak özetlenebilir [177]. Fotosentezde birincil reaksiyonlar sıcaklığa bağlı değildir. Buna karşılık sıcaklığa bağlı reaksiyonlar bu redoks potansiyel enerjisini NADPH formuna dönüştürür. Sıcaklığa bağımlı bu reaksiyonlar soğuk stresi koşullarında inhibe olur [178-180].

Fotosentezde en çok etkili olan stres faktörlerinden biri de ışık stresidir. Işık stresi güneş ışığının bitkilerde oluşturduğu strestir. Işık şiddetindeki artış veya azalma bitkide metabolik işlevler üzerinde önemli bir etki yapar. Fotosentezin yapıldığı yaprakların üst üste gelerek birbirlerini kapatmaları bile fotosentezi etkiler. Bitkinin gölgeye ve güneşe maruz kalan yapraklarında bulunan kloroplastları bile yapısal olarak birbirinden fark gösterir. Bu durum ise klorofil a ve klorofil b miktarını etkiler.

Mangan, bitkilerde birçok biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonlarda önemli rol oynayan bir mikroelementtir. Mangan eksikliği fotosentez için gerekli elektronları sağlayan FSII'de önemli bir etki yaratır. FSII'de hidrojen ve elektron üretmek için suyun parçalanmasını sağlayan fotoliz veya diğer adıyla Hill reaksiyonu mangan elementinin varlığına bağlıdır. Bu nedenle fotosentezi önemli derecede etkileyen faktörlerin arasında mangan eksikliği de sayılabilir. Fotokimyasal olaylardan başlayarak bitki büyümesindeki semptomlara kadar birçok durumu etkiler. Klorofil a floresansı tekniği hızlı cevap vermesinden dolayı mangan eksikliği altındaki

bitkilerde fotosentetik aktivitede meydana gelen değişimlerin belirlenmesini sağlar [181-183].

Bakır elementi bitkiler için büyük önem taşıyan klorofil üretimi, protein sentezi ve solunum için gerek duyulan bir mikroelementtir. Oksidaz enzimlerinde aktivasyon ve çok sayıdaki elektron taşınımı bakır elementi tarafından gerçekleştirilir. Bakır eksikliği FSII'yi FSI'e göre daha fazla etkiler. Bakır eksikliği görülen bitkide FSII aktivitesinin az olması bakırın diğer fonksiyonları ile ilgilidir. Bakır farklı kloroplast enzimlerinin bileşiminde yer alır ve kinon sentezi için gereklidir. Kloroplasttaki plastokinonun azalması durumunda FSII aktivitesi ve elektron taşınım hızı azalır [105].

2.2.10. Klorofil floresansı tekniği

Bitkilerin verimliliğini etkileyen her türlü çevresel stres faktörü fotosentez olayını da etkilemektedir. Bu nedenle stres fiziyojisiyle ilgili çalışmalarda en fazla incelenen olaylardan biri de fotosentezdir. Günümüze kadar fotosentez hızının ölçülmesine yönelik birçok metod geliştirilmiştir. Bu yöntemler genellikle gaz alışverişinin, atmosferden alınan CO₂ miktarının, atmosfere verilen O₂ miktarının ya da fotosentez sonunda oluşturulan karbohidratlardan ileri gelen ağırlık artışının ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır [106].

Günümüzde fotosentezin ölçülmesinde kullanılan en uygun teknik klorofil a floresansıdır [169, 184, 185]. Klorofil a floresansı veriminde bazı değişimlerin meydana geldiği ilk olarak Kautsky ve arkadaşları tarafından gözlenmiştir. Bu araştırmacılar, kullandıkları bitkilerde karanlık ortamdan aydınlığa çıkarılması durumunda klorofil a floresansı veriminde çok kısa bir süre için artma olduğunu gözlemişlerdir.

Bitkilerde klorofil molekülleri tarafından absorblanan ışık enerjisinin izleyebileceği üç yol vardır. Buna göre absorblanan ışık enerjisi ya elektron taşınım reaksiyonlarının gerçekleşmesi için kullanılır ya da ortama ısı veya ışık olarak geri

verilir. Absorblanan ışığın ortama daha uzun dalga boylu ışık olarak geri verilmesi olayına “floresan” adı verilir. Bu olay kloroplastlardaki klorofil a molekülleri tarafından gerçekleştirildiği için genel olarak “klorofil a floresansı” olarak bilinmektedir. Bu üç olay birbiriyle sürekli rekabet halindedir ve herhangi birinin etkinliğindeki artış, diğer ikisinin etkinliklerinin azalmasına yol açar. Klorofil floresans veriminin ölçülmesiyle fotokimyasal olayların etkinliği ve ısı olarak ortama geri verilen enerji miktarı tespit edilmektedir.

Klorofil floresansı analizlerinde dikkat edilmesi gereken önemli konulardan biri de, uygulanan stres faktörünün fotosentetik etkinlik üzerindeki etkileri zamana bağlı olarak araştırılacaksa, floresans ölçümlerinin her seferinde aynı yaprakta yapılması gerektiğidir. Çünkü ancak bu şekilde elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilebilir [169]. Klorofil floresansı ile ilgili bazı önemli parametreler Tablo 2.12.’de verilmiştir.

Tablo 2.12. Klorofil floresansı ile ilgili bazı önemli parametreler

Floresans parametresi	Tanımı
F_o	Karanlık adaptasyonu sağlanmış örnekte tüm FS II reaksiyon merkezlerinin açık olduğu andaki minimum floresans ($t=0$ noktasında)
F_m	Karanlık adaptasyonu sağlanmış örnekte tüm FS II reaksiyon merkezlerinin kapalı olduğu andaki maksimum floresans
F_v	Fotokimyasal olmayan tüm prosesler minimum seviyede iken maksimum değişken floresans
F_v/F_m	FS II' nin ışık toplayıcı anten molekülleri tarafından kimyasal enerjiye dönüştürülmek üzere absorblanan ışığın maksimum verimi yani FS II' nin maksimum kuantum etkinliği
F_v/F_o	FS II' nin donör bölgesinde fonksiyonel olan fotoliz olayının etkinliği
ABS/RC	Reaksiyon merkezi başına FS II' nin ortalama anten boyutu
ET_o/RC	FS II' de reaksiyon merkezi başına Q_A' dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı ($t=0$ noktasında)
TR_o/RC	FS II' de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve Q_A' nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji ($t=0$ noktasında)
DI_o/RC	FS II' de reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olaylar dışında kaybedilen dissipasyon enerjisi ($t=0$ noktasında)
RC/ABS	FS II' deki anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi miktarı
Alan	OJIP eğrisinin üzerinde kalan, F_o ile F_m arasında bulunan ve indirgenmiş plastokinon (PQ) havuzunun boyutunu ifade eden bölge (şekil 2.7' deki mavi taralı alan)
t_{F_m}	F_m ' ye ulaşılması için gereken zaman
$\Delta V/\Delta t_o$	Kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı
Ψ_o	Yakalanan bir eksitonun bir elektronu Q_A' dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği
ϕ_{D_o}	Termal dissipasyonun kuantum verimi
ϕ_{E_o}	Q_A' dan PQ' ya elektron taşınımının kuantum verimi
$\phi/(1-\phi)$	Fotokimyasal (aydınlık) reaksiyonların performans göstergesi
$\Psi_o/(1-\Psi_o)$	Işığa bağımlı olmayan (karanlık) reaksiyonların performans göstergesi

2.2.11. Mısır hakkında bilgi

Mısır (*Zea mays* L.) bitkiler aleminin *Spermatophyta* bölümünün, *Angiospermeae* alt bölümünün, *Monocotyledonae* sınıfında yer alan *Poaceae* (buğdaygiller) familyasına ait $2n=20$ kromozoma sahip tek yıllık otsu bir bitkidir.

Tarımda yüzyıllardır kullanılan birkaç nadir bitki arasında yer alan mısırın ana vatanı Amerika kıtası olup buradan tüm dünyaya yayıldığı varsayılmaktadır. ABD’de yapılan arkeolojik kazılar sonucunda mısır taneleri ve mısır koçanları bulunmuş ve bunların yaklaşık olarak 5000 yıllık olduğu saptanmıştır. Mısır ülkemize Kuzey Afrika’dan gelmiştir.

Dünyada buğday ve pirinçten sonra en çok üretim alanına sahip olan mısır, ülkemiz tarım sektörü içinde önemli bir yer tutmaktadır. Gerek hayvan gerekse insan beslenmesindeki yeri ve önemine paralel olarak ticari anlamda değerli bir endüstri ürünüdür. Aynı zamanda besin elementlerinin alınabilirliği, toprak verimliliği ve kimyasal gübrelerin etkinliğinin yanı sıra besin elementleri arasındaki ilişkilere yönelik bilimsel ve akademik çalışmalarda mısır en çok tercih edilen bitkiler arasındadır [96].

Mısırın büyümesi için ideal sıcaklık $24-32^{\circ}\text{C}$ olup tohumları $10-11^{\circ}\text{C}$ ’de çimlenmeye başlamaktadır. Sıcak iklim bitkisi olup aşırı sığağa gereksinim duymaz. Mısırın toprak seçiciliğinin fazla olmaması ideal koşullarda farklı toprak tiplerinde yetiştirme ve üretme imkânı sunar. Hafif asidik topraklar mısır için en uygun topraklar olup en yüksek verimi havalandırması ve drenajı iyi olan ve organik madde ve besin maddelerince zengin topraklarda gösterir.

Mısır; nem isteyen bir bitkidir. Diğer tahıl ürünlerine kıyasla daha az su isteyen bir bitkidir. Bunun sebebi ise sentezlediği birim miktardaki kuru madde için harcadığı suyun az olmasıdır. Bundan dolayı mısır suyu gerektiğinde oldukça ekonomik kullanılabilir. Ancak yaprak yüzey alanı, fotosentez hızı ve transpirasyon alanı gibi etkenler fazla olduğundan toplam olarak su tüketimi fazladır.

Mısırın yüksek verim sağlaması için yaz aylarında yağış miktarının 200 mm'nin üstünde olması gerekir. Ayrıca yağış miktarı, süresi ve etkinliği de önem arz eder. Gelişme sürecinin ilk zamanlarında su isteği minimum düzeyde iken geliştikçe yaprak yüzeylerinin artmasından ötürü su ihtiyacı da artar. Yaprak yüzeyinin maksimum seviyeye ulaşmasından sonraki 4-5 haftalık süreçte tüm yaşamı süresince harcadığı su miktarının yaklaşık yarısını harcar [186].

Mısır, diğer bitkilere nazaran yetiştirme şartları bakımından daha az seçici olduğu için, dünya üzerinde geniş bir yayılım alanına sahiptir. Dünyanın hemen hemen her ikliminde ve coğrafi koşullarda yetişmektedir [187]. Türkiye'de yıllara göre mısır üretimi Tablo 2.13.'de verilmiştir.

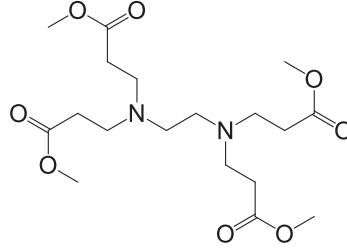
Tablo 2.13. Türkiye'de yıllara göre mısır üretimi [189]

Yıllar	Mısır Üretimi (Ton)	Yıllar	Mısır Üretimi (Ton)
2014	5 500 000	2006	3 811 000
2013	5 900 000	2005	4 200 000
2012	4 600 000	2004	3 000 000
2011	4 200 000	2003	2 800 000
2010	4 310 000	2002	2 100 000
2009	4 250 000	2001	2 200 000
2008	4 274 000	2000	2 300 000
2007	3 535 000	-	-

Mısırın dünyadaki ortalama verimi ise 4,7 ton/ha civarında olup bu rakam ülkelere göre farklılıklar gösterebilmektedir [190, 191].

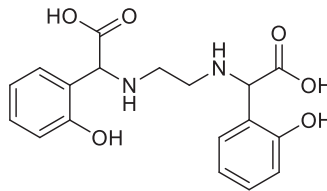
BÖLÜM 3. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI

Castro ve arkadaşları 2012 yılında yaptıkları çalışmada etilendiamin ve metil akrilat ile tetrametil 3',3', 3'',3'' (etan -1,2 diyilbis(azanitril) tetrapropan sentezini gerçekleştirmişler ve bu ligandlarla hazırlanan dimerik yapıların kanser tedavisinde kullanılabilirliği araştırmışlardır [192].



Şekil 3.1. Etilendiamin ve metilakrilat sonucu elde edilen Tetrametil 3',3', 3'',3'' (etan -1,2) diyilbis (azanitril) tetrapropan

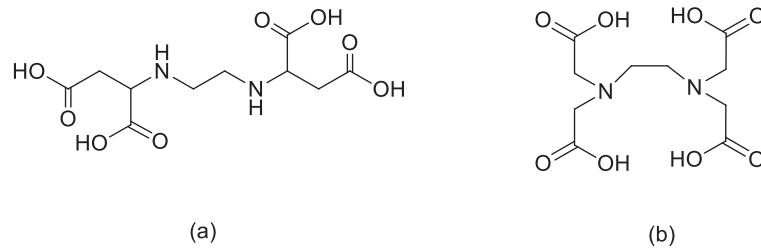
Sentetik olarak hazırlanan şelat oluşturucular, amino asid yapılarına benzer olup, bitki köklerinin rizosfer tabakasında keşfedilen ve bitkiler tarafından sentezlenen doğal şelat oluşturuculara benzetilerek hazırlanmıştır. Bunlardan N,N'-Ethylenebis-[2-(0-hydroxyphenyl)]-glycine (EDDHA) ilk deklare edilen kuvvetli Fe(III) şelatlama ligandlarından biri olup bitki beslemesinde kullanılabileceği ve elverişli bir biyolojik kompleks yapıcı olduğu belirtilmiştir [192, 193].



Şekil 3.2. N,N'-Ethylenebis- [2-(0-hydroxyphenyl)]-glycine (EDDHA)

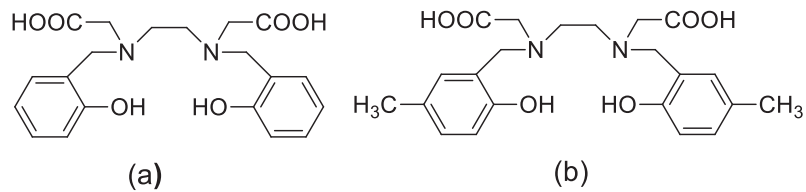
Fernandez ve arkadaşları 2005 yılında yayınladıkları bir çalışmada çözünürlüğü artırmak için metil ve sülfonik asit gruplarını sübstituent olarak bağlayarak farklı EDDHA türevlerini hazırlanmış ve Fe (III) komplekslerinin ayçiçeği, şeftali ve armut yapraklarında ki klorosis etkisini araştırmışlardır [193].

Bu bileşiklerden özellikle fenolik olmayan etilen diamin di-süksinik asit (EDDS) ve etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) gibi türlerin yapraktan uygulamalarda demir eksikliğinin giderilmesinde etkili oldukları bildirilmiştir [194-195].



Şekil 3.3. (a) Etilen diamin disüksinik asit (EDDS), (b) etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)

N,N'-bis (2-hidroksi benzil) etilen diamine-N,N'-diasetik asit (HBED) ve N,N'-bis (2-hidroksi-5 metil benzil) etilen diamine-N,N'-diasetik asit (HJB) ligandlarının özellikle Fe(III) komplekslerini dikotil bitkilerinde demir eksikliğine bağlı klorosis oluşumunun giderilmesi denemelerinde kullanılmıştır [196, 197].



Şekil 3.4. N,N'-bis (2-hidroksi benzil)etilen diamin-N,N'-diasetik asit (a) ve N,N'-bis (2- hidroksi-5 metil benzil) etilen diamin-N,N'-diasetik asit (b) ligandlarının açık moleküler yapısı.

BÖLÜM 4. MATERYAL VE METOT

4.1. Materyal

4.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler; metil akrilat, etilendiamin, metanol (meOH), etanol (etOH), hidroklorik asit (HCl), aseton, sodyum hidroksit (NaOH), bakır (II) klorür (CuCl₂), mangan klorür tetrahidrat (MnCl₂·4H₂O) analitik saflıkta olup Sigma ve Aldrich'den satın alınmıştır

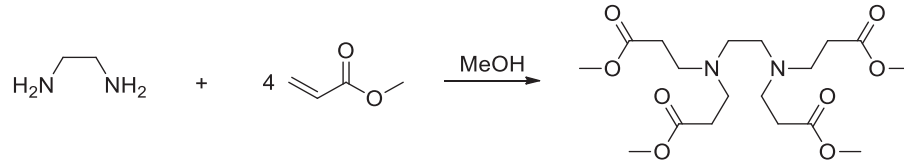
4.1.2. Kullanılan cihazlar

Yapılan çalışmalarda; İKA C-Mag HS-7 ve DragonLab MS-H-Pro manyetik karıştırıcıları, Shimadzu UV-2600 ve Shimadzu UV-2401 spektrofotometresi, Perkin-Elmer Spektrum-Two infrared spektrofotometresi, Handy PEA, Hansatech Ins. klorofil floresans cihazı, Radwag AS220/C/12 ve Shimadzu ATX224 hassas terazileri, Centurion Scientific K3 Series soğutuculu santrifüj, Hanna HI2211 pH metresi, Elektromag M4020P etüv, Varian Mercury Plus 300 MHz ¹H NMR ve ¹³C spektrometresi, Bruker microtof MALDI-TOF spektrometresi kullanılmıştır.

4.2. Metod

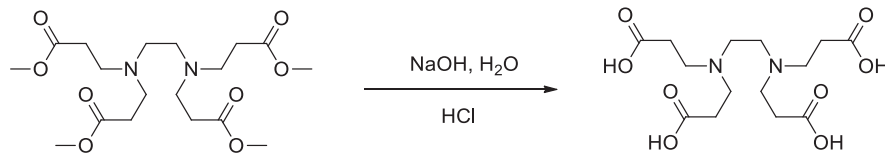
4.2.1. Sentez çalışmaları

4.2.1.1. Etilendiamintetrapropanat sentezi



Etilendiamintetrapropanat literatürde verildiği gibi sentezlenmiş olup yapısal olarak aydınlatılması karşılaştırıldığında FTIR ve NMR pikleri birebir örtüşmektedir [192]. 50 mL'lik reaksiyon balonunun içinde metil akrilat (11.35 g, 0.138 mol) ve 5 ml etanol ile seyreltildi. Buz banyosunda 15 dakika karıştırıldı. Üzerine buz banyosunda 5 dakika soğutulmuş etilendiamin (1.98 g, 0.033 mol) 5 ml etanol çözeltisi damla damla ilave edildi oda sıcaklığında 12 saat karıştırılmaya bırakıldı. Reaksiyon sonunda etanol 75 °C destile edildi yoğun yağimsı turuncu renkli sıvı elde edildi. Reaksiyon verimi 11.86 g %89'dır. Kapalı formülü: C₁₈H₃₂N₂O₈. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 2959-2828 (-C-H), 1732 (C=O), 1433 (C-C), 1197-1168 (C-O), 1250 (C-N), 1035 (O-C). ¹H NMR (DMSO d₆): δ (ppm): 3.57 (s, 12H; O-CH₃), 2.66 (t, 8H; CH₂-N), 2.39 (s, 4H; N-CH₂), 2.34 (t, 8H; C-CH₂). ¹³C-NMR (DMSO d₆): δ (ppm): 172.00, 52.34, 51.66, 49.87, 32.72.

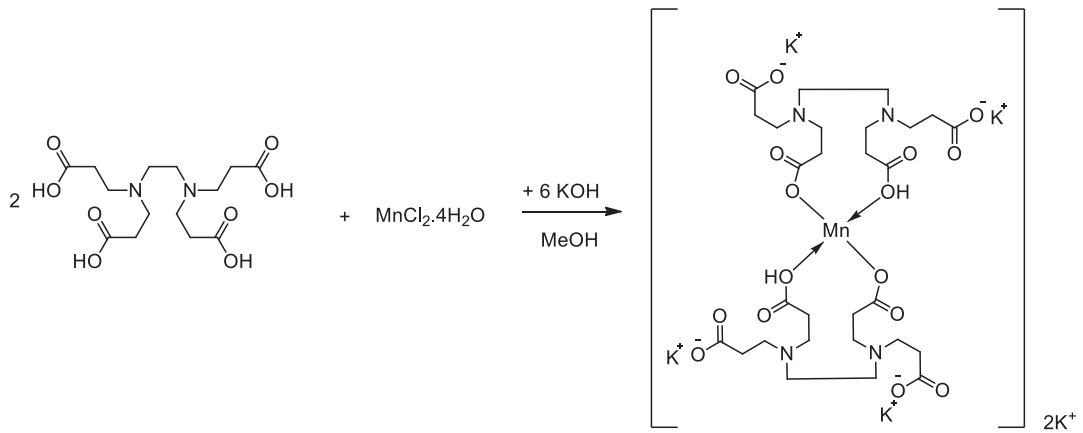
4.2.1.2. Etilendiamintetrapropanoik asit sentezi



50 mL'lik reaksiyon balonuna elde edilen etilendiamintetrapropanat (10 g, 0.024 mol) alındı üzerine sodyum hidroksit (6.72 g 0.168 mol) ve 5 ml su ilave edildi. 20 saat 80 °C'de hidroliz edildi. Hidroliz sonrasında pH:3'e kadar %37'lik hidroklorik

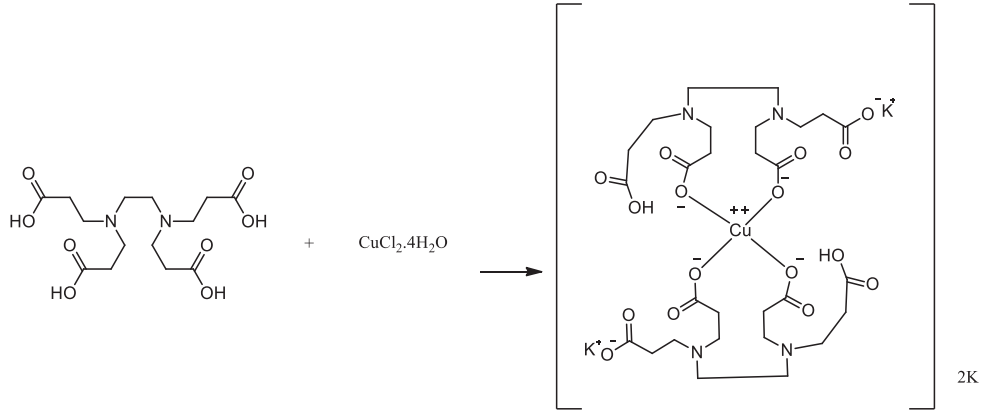
asit (11 g) ile asitlendirildi ve çökme meydana geldi ve süzüldü. Çökelek metanol-su (1-1) karışımı ile yıkandı kurutuldu. Reaksiyon verimi 6.90 g %79'dur. Erime noktası: 192°C'dir. Kapalı formül: $C_{14}H_{24}N_2O_8$. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}(cm^{-1})$: 3015,5-2982,7 (-C-H), 1709,4 (C=O), 1578,1 (C-N), 1407,5 (C-C), 1197,4 (C-O). 1H NMR ($CDCl_3$): δ (ppm): 3.74 (t, 8H; CH_2-N), 3.50(s, 4H; N- CH_2), 1.27 (t, 8H; C- CH_2). ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm): 172.20, 49.30, 47.07, 28.97.

4.2.1.3. $K_6[EDTPA]_2Mn$ kompleksi sentezi



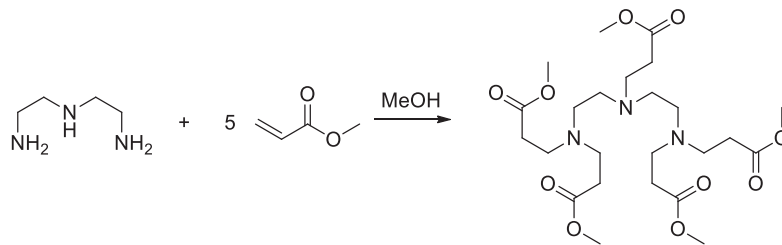
50 mL'lik reaksiyon balonuna etilendiamintetrapanoik asit (0.5 g, 0.001436 mol) ve 10 mL metanol karıştırıldı. Üzerine potasyum hidroksit (0.24 g, 0.004308 mol) eklendi tam çözünme olana kadar karıştırıldı. Mangan (II) klorür tetra hidrat ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) (0.14 g, 0.000718 mol) 5 ml metanol ile karıştırıldı damla damla ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. 3 saat 80°C'de reflux edildi. Çökme meydana geldi. Çöken kısım ve süzüntü kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Reaksiyon verimi: 0.539 g, %77'dir. Erime noktası: 133°C'dir. Kapalı formül: $C_{14}H_{20}MnN_2O_8$. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}(cm^{-1})$: 3374 (-OH), 1557 (C=O), 1390 (C-C), 1190 (C-N), 1035 (C-O).

4.2.1.4. $K_6[EDTPA]_2Cu$ kompleksi sentezi



50 mL'lik reaksiyon balonuna etilendiamintetrapropanoik asit (0.5 g, 0.001436 mol) ve 10 mL metanol karıştırıldı. Üzerine potasyum hidroksit (0.24 g, 0.004308 mol) eklendi, tam çözünme olana kadar karıştırıldı. Bakır (II) klorür tetra hidrat ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) (0.12 g, 0.000718 mol) 5 ml metanol üzerine damla damla ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. 3 saat $80^\circ C$ 'de reflux edildi. Çökme meydana geldi. Çöken kısım ve süzüntü kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Reaksiyon verimi 0.49 gr %75'tir. Erime noktası: $191^\circ C$ 'dir. Kapalı formül: $C_{28}H_{51}CuK_4N_4O_{10}^{-2}$. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}(cm^{-1})$: 3384 (-OH), 2935 (-C-H), 1571 (C=O), 1390-1327, (C-C), 1280, (C-N), 1079-1019 (C-O). MALDI-TOF: (m/z): $[M^+]$ 415,3 $[M^+ + Na]$ 438,3 $[M^+ + 3H_2O]$ 469,3.

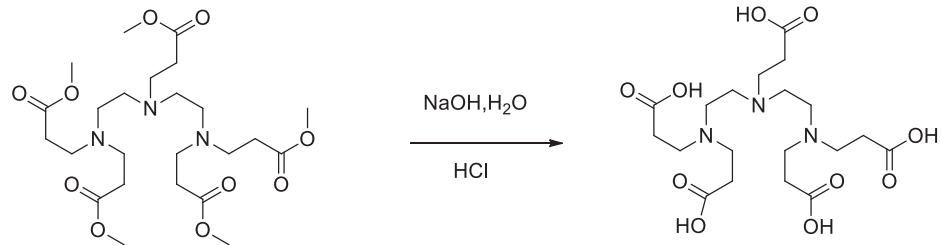
4.2.1.5. Dietilentriaminpentapropanat sentezi



50 mL'lik reaksiyon balonunun içinde metil akrilat (15.13 g, 0.176 mol) 5 mL etanol ile seyreltildi. Buz banyosunda 15 dakika karıştırıldı. Üzerine buz banyosunda 5 dakika soğutulmuş dietilentriamin (3.45 g, 0.032 mol) 5 ml etanol çözeltisi damla

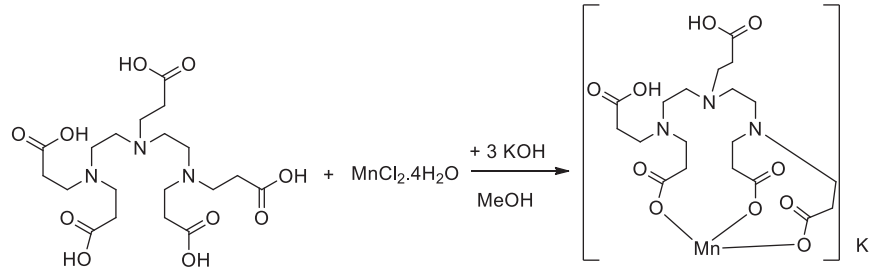
damla ilave edildi oda sıcaklığında 12 saat karıştırılmaya bırakıldı. Reaksiyon sonunda etanol 75 °C’de destile edildi yoğun yağimsı turuncu renkli sıvı elde edildi. Bu aşamada reaksiyon verimi 80.76 g %86’dır. Kapalı formül: C₂₄H₄₃N₃O₁₀. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 2956-2831 (-C-H), 1732 (C=O), 1440 (C-C), 1194-1168 (C-O), 1250 (C-N), 1043,3 (O-C). ¹H NMR (DMSO d₆): δ (ppm): 3.55 (s, 15H; O-CH₃), 2.68-2.63 (t, 10H; CH₂-N), 2.38(s, 8H; N-CH₂), 2.30 (t, 10H; C-CH₂). ¹³C-NMR (DMSO d₆): δ (ppm): 173.05, 52.85, 50.45, 49.84, 32.67.

4.2.1.6. Dietilentriaminpentapropanoik asit sentezi



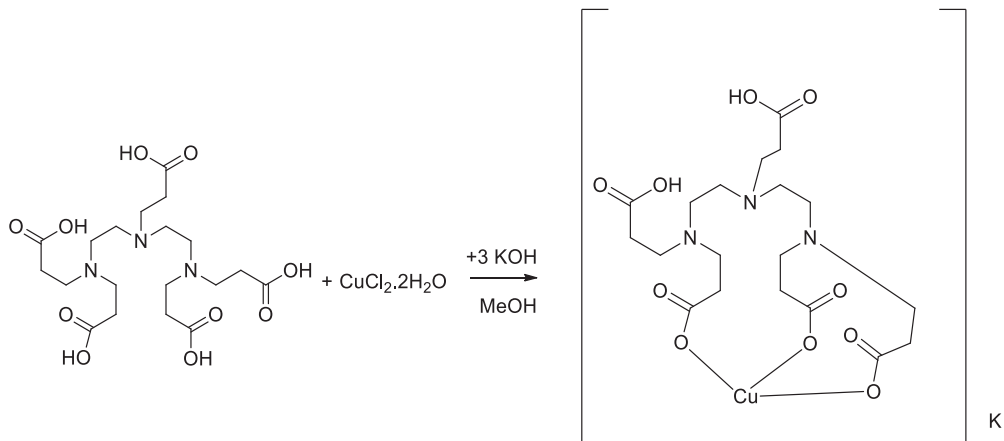
50 mL’lik reaksiyon balonuna elde edilen dietilentriaminpentapropanat (15 g, 0.028 mol) alındı üzerine sodyum hidroksit (9 g 0.225 mol) ve 5 ml su ilave edildi. 20 saat 80 ° C ‘de hidroliz edildi. Hidroliz sonrasında pH:3’e kadar %37 lik hidroklorik asit (15.3 g) ile asitlendirildi, çökme meydana geldi ve süzüldü. Çökelek metanol-su (1-1) karışımı ile yıkandı kurutuldu. Reaksiyon verimi 10.89 g %84’tür. Erime noktası: 198°C’dir. Kapalı formül: C₁₉H₃₃N₃O₁₀. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3596-3475 (-OH) 2956 (-C-H), 1725-1630 (C=O), 1410 (C-C), 1466-1410 (C-C), 1213-1184 (C-O). ¹H NMR (DMSO d₆): δ (ppm): 3.77 (t, 10H; CH₂-N), 3.47 (s, 8H; N-CH₂), 1.27 (t, 10H; C-CH₂). ¹³C-NMR (DMSO d₆): δ (ppm): 171.90, 49.17, 46.71, 28.87.

4.2.1.7. K[DETAPPA]Mn kompleksi sentezi



50 mL'lik reaksiyon balonunda dietilentriaminpentapropanoik asit (0.5 g, 0.00107 mol) ve 10 mL metanol karıştırıldı. Üzerine potasyum hidroksit (0.18 g, 0.00321 mol) eklendi tam çözünme olana kadar karıştırıldı. Mangan (II) klorür tetra hidrat ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (0.21 g, 0.00107 mol) üzerine 5 mL metanol damla damla ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. 3 saat 80°C 'de reflux edildi. Çökme meydana geldi. Çöken kısım ve süzüntü kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Reaksiyon verimi 0.49 g %79'dur. Erime noktası: 142°C 'dir. Kapalı formül: $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{KMnN}_3\text{O}_{10}$. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}(\text{cm}^{-1})$: 3399-3138 (-OH), 2958 (-C-H) 1719-1559 (C=O), 1337-1317 (C-C), 1200 (C-N), 1029 (C-O).

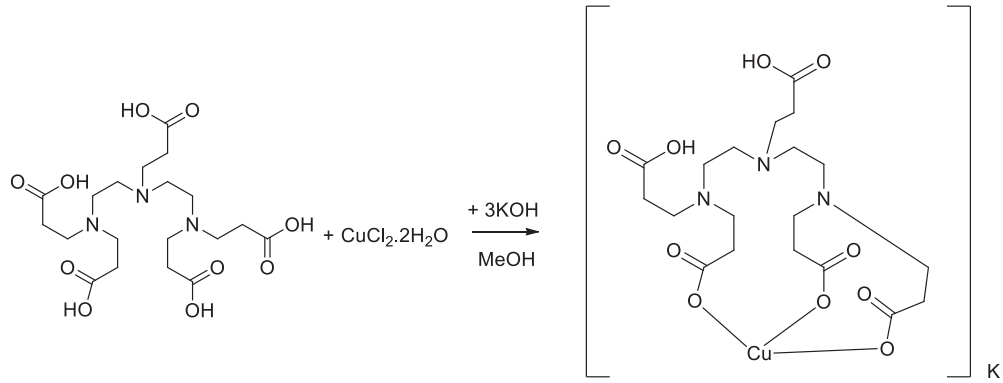
4.2.1.8. K[DETAPPA]Cu kompleksi sentezi



50 mL'lik reaksiyon balonunda dietilentriaminpentapropanoik asit (0.5 g, 0.00107 mol) ve 10 mL metanol karıştırıldı. Üzerine potasyum hidroksit (0.18 g, 0.00321 mol) eklendi tam çözünme olana kadar karıştırıldı. Bakır (II) klorür tetra hidrat

(CuCl₂·2H₂O) (0.18 g, 0.00107 mol) 5 mL metanol damla damla ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. 3 saat 80°C’de reflux edildi. Çökme meydana geldi. Çöken kısım ve süzüntü kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Reaksiyon verimi 1.12 g %83’tür. Erime noktası: 163°C’dir. Kapalı formül: C₁₉H₃₀CuN₃O₁₀. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}$ (, (cm⁻¹): 3380 (-OH), 2958 (-C-H) 1725-1569 (C=O), 1390 (C-C), 1282 (C-N),1025 (C-O). MALDI-TOF: (m/z): [M⁺] 524,13 [M⁺+H₂O] 542,13 [M⁺+H₂O+Na] 565,13

4.2.1.9. NH₄[DETAPPA]Cu kompleksi sentezi



50 mL’lik reaksiyon balonunda dietilentriaminpentapropanoik asit (0.5 g, 0.00107 mol) ve 10 mL metanol karıştırıldı. Üzerine amonyak (0.21 g, 0.00321 mol) eklendi tam çözünme olana kadar karıştırıldı. Bakır (II) klorür tetra hidrat (CuCl₂·2H₂O) (0.18 g, 0.00107 mol) 5 mL metanol damla damla ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. 3 saat 80°C’de reflux edildi. Çökme meydana geldi. Çöken kısım ve süzüntü kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Reaksiyon verimi 0.50 g %83’tür. Erime noktası: 202°C’dir. Kapalı formül: C₁₉H₃₀CuN₃O₁₀. FT-IR (PIKE MIRacle™ ATR) $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3399-3138 (O-H), 2958 (-C-H) 1719-1559 (C=O), 1397-1317 (C-C), 1200 (C-N),1029 (C-O). MALDI-TOF: (m/z): [M⁺] 524,13 [M⁺+H₂O+Na] 565,13.

4.2.2. Kararlılık sabitlerinin hesaplanması

Kararlılık sabitlerinin değerlendirilmesi ve hesaplanması için farklı metotlar incelenmeden önce, kompleks oluşum fonksiyonu ve bazı ilişkili genel problemler göz önüne alınmalıdır. Mono nükleer binary komplekslerin basamak oluşumları, denge sabitlerinin bir seti ile tanımlanabilir.

$$K_1 = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

$$K_2 = \frac{[ML_2]}{[ML][L]}$$

$$\dots$$

$$K_n = \frac{[ML_n]}{[ML_{n-1}][L]}$$



$$\beta_n = \frac{[ML_n]}{[M][L]^n} = K_1 \times K_2 \times \dots \times K_n = \prod K_n$$

Tek basamaklı dengeler için kararlılık sabitleri direkt ölçümlerle hesaplanamaz. Bu sabitlerin tanımlanabilmesi ve deneysel verilerle hesaplanabilmesi için kütle denkliklerinden faydalanılır [198].

Merkez metal iyonun M_t toplam konsantrasyonu farklı türlerin konsantrasyonlarının toplamıdır ve aşağıdaki şekilde gösterilir.

$$M_t = [M] + [ML] + [ML_2] + \dots + [ML_N] = \sum_{i=0}^N i[ML_i]$$

Burada L ligandı ifade eder. Benzer şekilde, ligandın toplam konsantrasyonu aşağıdaki şekilde gösterilir.

$$L_t = [L] + [ML] + 2[ML_2] + \dots + N[ML_N] = [L] + \sum_{i=0}^N i[ML_i]$$

Kütle denkliklerine dayanarak toplam konsantrasyonlar aşağıdaki şekilde gösterilir:

$$M_t = [M] \sum_{i=0}^N \beta_i [L]^i$$

$$L_t = [L] + [M] \sum_{i=1}^N i \beta_i [L]^i$$

Kompleks oluşumunun büyüklüğü Niels Bjerrum tarafından ifade edilen ortalama koordinasyon sayısı veya kompleks fonksiyonu tarafından karakterize edilebilir [199].

$$\bar{n} = \frac{[ML] + 2[ML_2] + \dots + N[ML_N]}{[M] + [ML] + [ML_2] + \dots + [ML_N]} = \frac{L_t - [L]}{M_t}$$

$$\bar{n} = \frac{\sum_{i=1}^N i \beta_i [L]^i}{\sum_{i=0}^N \beta_i [L]^i} = \frac{\sum_{i=1}^N i \beta_i [L]^i}{1 + \sum_{i=1}^N \beta_i [L]^i}$$

En az N tane farklı toplam ligand konsantrasyonu için serbest ligand konsantrasyonunun ölçülmesi kararlılık sabitlerinin hesaplanmasına olanak tanır. İkincisi ise, metal ve ligandın her ikisinin toplam konsantrasyonları ortalama koordinasyonundan bağımsızdır. Toplam konsantrasyonları M_t ve L_t olan çözeltiler birbirinden farklıdır fakat serbest ligand konsantrasyon ($[L]$) değerleri aynıdır.

Sistemin oluşum derecesi α ile tanımlanır ve aşağıdaki eşitlik ile gösterilir.

$$\alpha = \frac{\bar{n}}{N}$$

n . kompleksin oluşum derecesi ise aşağıdaki eşitlik ile verilebilir.

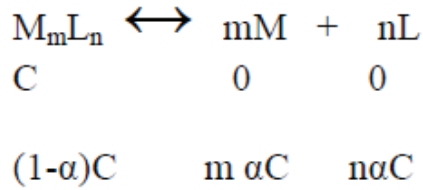
$$\alpha_n = \frac{[ML_n]}{M_t} = \frac{\beta_n [L]^n}{\sum_{i=0}^N \beta_i [L]^i}$$

Ya da kararlılık sabitini tahmin etmek için, aşağıdaki denklem ile elde edilen kompleksin (α) ayrışma derecesini bilmek gerekir;

$$A_{\alpha} = \epsilon \cdot b \cdot (\alpha C)$$

$$\alpha = A_{\alpha} / \epsilon \cdot b \cdot C$$

Burada, ϵ bilinen molar emilim olup, b bir hücre kalınlığıdır, C bilinen bir stokiyometri noktasında bir kompleks konsantrasyonudur. (α)'nın değerini aşağıdaki denklemde değiştirerek; bir kararlılık sabiti (K_{st}) elde etmek mümkündür.



$$K_{st} = (1-\alpha)C / (m\alpha C)^m \cdot (n\alpha C)^n = (1-\alpha)C / m^m \cdot n^n \cdot (\alpha C)^{m+n}$$

$$K_{st} = (1-\alpha) / m^m \cdot n^n \cdot (\alpha)^{m+n} (C)^{m+n-1}$$

4.2.2.1. Kararlılık sabitlerinin spektrofotometrik yöntemle tayini

Etilendiamintetrapropanoik asit ligandından 0,435 g alındı ve hazırlanan 0,2 M disodyum sitrat-0,1 M sodyum hidroksit (pH=5,6) tamponuyla 5.0×10^{-3} M son hacim 250 ml olacak şekilde seyreltildi.

Dietilentriaminpentapropanoik asit ligandından 0,5787 g alındı ve hazırlanan 0,2 M disodyum sitrat-0,1 M sodyum hidroksit (pH=5,6) tamponuyla 5.0×10^{-3} M son hacim 250 ml olacak şekilde seyreltildi.

Stok Cu (II) çözeltisi: Standart Cu (II) (1.0×10^{-3} M) çözeltisi $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,0170 g) alındı ve hazırlanan 0,2 M disodyum sitrat-0,1 M sodyum hidroksit (pH=5,6) tamponuyla 5.0×10^{-3} M son hacim 250 ml olacak şekilde seyreltildi.

Stok Mn(II) çözeltisi: Standart Mn(II) (1.0×10^{-3} M) $MnCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,0197 g) alındı ve hazırlanan pH:5.6 (0.2 M disodyum sitrat-0.1 M sodyum hidroksit) tamponuyla 250 ml'ye seyreltildi.

Absorbans ölçümleri Shimadzu UV 2600 spektrofotometresinde gerçekleştirildi. Sıcaklık 25°C'de sabit tutuldu. Hazırlanan ligant çözeltisinden 1 ml alınıp stok metal çözeltisinden (0.05, 0.1, 0.15, , 1.5) ml alınarak 5 ml'ye tampon çözeltisi ile seyreltildi. UV grafikleri oluşturuldu. Oluşan kompleksin maksimum absorpsiyonu ile hesaplamalar yapıldı. Yapılan çalışmalarda sentezlenen ligantların Mn ve Cu komplekslerinin kararlılık sabitleri EDTA-Mn ve EDTA-Cu komplekslerinin kararlılık sabitleriyle karşılaştırmaları yapılmıştır [200].

4.2.3. ICP-OES Analizleri

Bu amaç için yapılan çalışmalarda hazırlanan komplekslerin <15 ppm olacak şekilde v/v 1:1 (Saf su / %55 Nitrik asit) çözeltisi içerisinde çözülüp, çözünmeyen kısım süzildikten sonra cihazda okutma işlemi yapılmıştır.

4.2.3.1. Hasat Edilen Bitkilerin ICP-OES Analizleri

Bu amaç için yapılan çalışmalarda Kontrol ve uygulama gruplarındaki bitkilerin hasat edildikten sonra tartılan bitki gövdeleri 80°C'ye ayarlanmış etüvde 48 saat bekletilmiş ve tekrar tartılarak kuru ağırlıkları (g/bitki) kaydedilmiştir. Kuru ağırlıkları bilinen bitkilerden 0.1 gr alınıp 100 mL'ye 1:1 (Saf su / %55 Nitrik asit) çözeltisi içerisinde 1 gün bekletilip süzüldü. Süzüntüler ICP-OES ile ölçümleri yapıldı.

4.2.4. Bitki besleme deneyleri

4.2.4.1. Bitki materyali

Çalışmada kullanılan mısır (*Zea mays* L. Cv. ADA-9510) genotipine ait tohumlar Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir. Eşit büyüklükte ve sağlam mısır tohumları seçilerek testadaki fungusitin uzaklaştırılması için üç kez distile su ile yıkanmış ve daha sonra imbibisyon işlemi için 12 saat oda sıcaklığında distile suda bekletilmişlerdir.

4.2.4.2. Ekim metodu ve yetiştirme

İmbibisyon işlemi sonrası tohumlar, cam petri kaplarında ıslak filtre kağıtları arasına yerleştirilmiş, 25 °C ve %40 oransal neme sahip karanlık iklim odasında 4 gün boyunca çimlenmeye bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda uniform fideler 250 mL Hoagland besin çözeltisi içeren kaplara alınmıştır. Bitkiler 14 günlük oluncaya kadar 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyot, 25/20 C° gündüz-gece sıcaklığı ve %40 oransal neme sahip olan Tarvit Tarım Kimya ve İleri Teknolojiler San. ve Tic. Ltd. Şti.'de bulunan iklim odasında yetiştirilmiştir.

14 günlük bitkiler 10 farklı gruba ayrılmıştır. Birinci grupta bulunan kontrol bitkilerine sadece Hoagland çözeltisi, ikinci gruptaki bitkilere mangan içermeyen, üçüncü gruptaki bitkilere bakır içermeyen Hoagland çözeltisi verilmiştir. Dördüncü ve beşinci gruptaki bitkilere Tarvit Tarım Kimya ve İleri Teknolojiler Ltd. Şti'nin tescilli ve ticari ürünleri olan şelatlı bakır içeren Tarcupoxy ve şelatlı mangan içeren Tarman adlı ürünleri uygulanmıştır. Diğer gruptaki bitkilere ise sentezlenen $K_6[EDTPA]_2Mn$, $K_6[EDTPA]_2Cu$, $K[DETAPPA]Mn$, $K[DETAPPA]Cu$ ve $NH_4[DETAPPA]Cu$ kodlu kompleksleri içeren Hoagland çözeltisi verilmiştir. Çalışmada hazırlanan besin çözeltileri Hoagland besin çözeltisi baz alınarak aynı miktarda metal içerecek şekilde hesaplanıp uygun dozlama yapılmıştır. Çalışmada kullanılan bakırlı ve manganlı şelat kompleksleri Tablo 4.1.'de gösterilmiştir. Kullanılan Hoagland besin çözeltisi içeriği Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Uygulamalardan 14 gün sonra yapraklarda klorofil floresansı ölçümleri yapılmıştır ve daha sonra hasat edilmiştir. Biyokimyasal analizlerde kullanılacak yaprak örnekleri hasat edilerek -20°C 'de muhafaza edilmiştir. İklim odasında yetiştirilen mısırlar Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Yapılan çalışmada kullanılan bakırlı ve manganlı şelat kompleksleri

Bakır şelat kompleksleri	Mangan şelat kompleksleri
Tarcupoxy	Tarman
$\text{K}_6[\text{EDTPA}]_2\text{Cu}$	$\text{K}_6[\text{EDTPA}]_2\text{Mn}$
$\text{K}[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$	$\text{K}[\text{DETAPPA}]\text{Mn}$
$\text{NH}_4[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$	



Şekil 4.1. İklim odasında yetiştirilen mısır bitkileri

Tablo 4.2. Hoagland besin çözeltisi içeriği [201].

	Stok Çözeltiler	Hoagland Besin Çözeltisi
Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	118.1 g/1000 mL	
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	26.6 g/1000 mL	50 mL/20 L
K ₂ HPO ₄ . 3 H ₂ O	16.4 g/1000 mL	
KNO ₃	50.4 g/1000 mL	
Al ₂ (SO ₄) ₃ .18H ₂ O	0.105 g/25 mL	
KI	0.0139 g/25 mL	
KBr	0.0139 g/25 mL	
SnCl ₂ .2H ₂ O	0.0139 g/25 mL	
LiCl	0.0139 g/25 mL	
MnCl ₂ .2H ₂ O	0.1944 g/25 mL	37,5 µL/20 L
H ₃ BO ₃	0.3055 g/25 mL	
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0.0494 g/ 25 mL	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.0277 g/ 25 mL	
NiSO ₄ .7H ₂ O	0.0297 g/ 25 mL	
Co(NO ₃).H ₂ O	0,0277g/ 25 mL	
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.0834 g/100 mL	10 ml/20 L
C ₄ H ₆ O ₆	0.0450 g/100 mL	

4.2.4.3 Klorofil a floresansı ölçümleri

Klorofil a floresans parametreleri bitkilerin yapraklarında “bitki verimlilik analizatörü” (HandyPEA florometresi, Hansatech Instruments Ltd., Pentney, King’s Lynn, Norfolk, England) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ölçüm için kullanılacak yapraklar, yaprak klipsleri yardımıyla 45-60 dakika karanlık adaptasyonuna maruz bırakılmıştır. Daha sonra yaprak yüzeylerine 3,500 µmol m⁻² s⁻¹ şiddetinde ışık uygulanmış ve elde edilen parametrelerin değerlendirilmesi PeaPlus adlı programla uygulanan JIP testi ile yapılmıştır [202].

4.2.4.4. Fotosentetik pigment miktarının belirlenmesi

Yapraklardan çıkarılan 0,5 cm çapındaki 3 adet disk tartıldıktan sonra, cam deney tüplerine alınarak üzerine 2 mL saf aseton ilave edilmiş ve bir hafta buzdolabında (4 °C) bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda elde edilen özüt 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantların absorbans değerleri 661,1, 644,8 ve 470 nm'de spektrofotometrik (SHIMADZU, UV mini 1240 UV-VIS Spectrophotometer) olarak belirlenmiştir. Yapraklardaki klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı Lichtenthaler (1987)'ye göre hesaplanmıştır [203].

4.2.4.5. Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi

Bitki yapraklarından alınan yaklaşık 0,3 g örnek 6 mL % 5'lik trikloroasetik asit (TCA) ile havanda dövülerek homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sırasında ve sonrasında numunelerin soğuk tutulmasına dikkat edilmiştir. Bu karışım 4 °C'de 4.100 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatanttan 0,5 mL alınarak yeni tüplere, içinde % 0,5 tiobarbütrik asit (TBA) bulunan % 20'lik TCA çözeltisinden 1 mL ve 0,1 M 0,5 mL Tris tamponu (pH 7,6) eklenmiş, daha sonra 95 °C'de 60 dakika su banyosunda bekletilmiştir. Su banyosundan çıkarılan tüplerdeki reaksiyonları durdurmak için tüpler buz banyosuna konulmuştur. Spektrofotometrede 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Yaprak dokularındaki MDA miktarı nmol g taze ağırlık-1 olarak hesaplanmıştır [204].

4.2.4.6. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Bitki yapraklarından alınan yaklaşık 0,3 g örnek 6 mL % 5 trikloroasetik asit (TCA) ile havanda dövülerek homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sırasında ve sonrasında numunelerin soğuk tutulmasına dikkat edilmiştir. Bu karışım 4 °C'de 4.100 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatanttan 0,5 ml alınarak, içinde 0,1 M 0,5 ml Tris tamponu (pH 7,6) ve 1 M 1 ml potasyum iyodür (KI) bulunan yeni tüplere eklenmiştir. Spektrofotometrede 390 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Kör olarak % 0,1'lik TCA çözeltisi kullanılmıştır. Yaprak

dokularındaki hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarı standart grafik yardımıyla nmol g taze ağırlık⁻¹ olarak hesaplanmıştır [205].

4.2.5. Bazı antioksidant enzimlerin aktivitesinin belirlenmesi

4.2.5.1. Toplam süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi

Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 mL, 100 mM K-PO₄ (pH 7,0) tamponu, %2'lik PVP (polivinilpirolidon) ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve 4 °C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1.030 µL olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,8), $9,9 \times 10^{-3}$ M metionin, $5,7 \times 10^{-5}$ M NBT (nitroblue tetrazolyum), %1'lik triton X-100 ve enzim karışımından oluşan bir reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon 0,9 µM riboflavin ilavesi ile başlatılmış, bu karışım 15 dakika boyunca $375 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ şiddetinde ışığa maruz bırakıldıktan sonra 560 nm' de absorbans değerleri belirlenmiştir. Toplam SOD aktivitesi daha önce hazırlanmış olan standart grafikten faydalanarak hesaplanmıştır (U mg protein⁻¹) [206].

4.2.5.2. Toplam askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesinin belirlenmesi

Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 ml, 50 mM Tris-HCl (pH 7,2) tamponu, %2'lik PVP, 1 mM Na₂EDTA ve 2 mM askorbat içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve 4 °C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1.000 µL olacak şekilde 50 mM K-PO₄ tamponu (pH 6,6), 2,5 mM askorbat, 10 mM H₂O₂ ve 100 µg protein içeren enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, H₂O₂'nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Askorbat konsantrasyonundaki azalma, spektrofotometrede 290 nm'de yapılan ölçümlerle enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmiştir. Enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı ($2,8 \text{ mM cm. } 290 \text{ nm}^{-1}$) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol askorbat dakika⁻¹ mg protein⁻¹) [207].

4.2.5.3. Toplam glutatyon redüktaz (GR) aktivitesinin beirlenmesi

Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 ml, 100 mM K-PO₄ (pH 7,0) tamponu, %2'lik PVP ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve 4 °C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1.000 µL olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,8), 2 mM Na₂EDTA, 0,5 mM okside glutatyon (GSSG), 0,2 mM NADPH ve 100 µg protein içeren enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, NADPH'nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 320 nm'de ölçülmüştür. Düzeltme, NADPH yokluğunda GSSG oksidasyonu ile yapılmıştır. Enzim aktivitesi, NADPH'nin ekstinksiyon katsayısı (6,2 mM cm. 340 nm⁻¹) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol NADPH dakika⁻¹ mg protein⁻¹) [207].

4.2.5.4. Toplam guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitesinin belirlenmesi

Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 ml, 100 mM K-PO₄ (pH 7,0), tamponu %2'lik PVP ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve 4 °C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 3.180 µL olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,0), 0,316 mM guaiakol, 0,116 mM H₂O₂ ve 100 µL enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, H₂O₂'nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 470 nm'de ölçülmüş ve guaiakolün ekstinksiyon katsayısı (26,6 mM cm. 470 nm⁻¹) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol H₂O₂ dakika⁻¹ mg protein⁻¹) [208].

4.2.6. İstatistiksel analizler

Elde edilen verilerin aritmetik ortalama ve standart hataları hesaplanmış, daha sonra verilere SPSS 20.0 paket programı kullanılarak, istatistiksel varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulamaların kontrole

göre neden olduğu farkın önem kontrolü (LSD, least significant difference; AÖF, anlamlı önemli fark) %5 düzeyinde hesaplanmıştır.

BÖLÜM 5. ARAŞTIRMA BULGULARI

5.1. Ligandların Sentezi ve Karakterizasyonu

EDTPA ligandının hazırlanmasında ilk aşama olarak etilendiamin tetrapropanat sentezlenmiştir. Senteze metil akrilattan ve etilendiaminden başlanarak literatürde verildiği gibi hazırlanmıştır. Hazırlanan ligandın ester halinin spektroskopik verileri literatürle uyum içerisinde ve bu hali ile yine literatürde verildiği şekli ile etilendiamintetrapropanoik asit sentezinde kullanılmıştır. Metil akrilat ve etilendiamin metanol ortamında reaksiyona sokularak etilendiamin tetrapropanat elde edilmiştir. Daha sonra ise bazik ortamda hidroliz edilip asit ile çöktürülerek etilendiamin tetrapropanoik asit elde edilmiştir. Ligand, reaksiyon ortamından yüksek verimle yeteri saflıkta elde edilmiş ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Etilendiamin tetrapropanatın FTIR spektrumunda karbonil grubuna ait karakteristik C=O gerilme pikleri 1732 cm^{-1} de, -C-H gerilme pikleri $2959\text{-}2928\text{ cm}^{-1}$ de, C-C gerilme pikleri 1433 cm^{-1} de, C-O gerilme pikleri $1197\text{-}1168\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlemlenmiştir. (Ek A.1.). Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spekturumu DMSO- d_6 içerisinde alınmış ve ester grubuna ait O-CH₃ protonu 3.57 ppm'de 12H değerinde singlet olarak tespit edilmiştir. 2.66 ppm'de çıkan pik 8H değerinde olup azot grubuna bağlı -CH₂ protonuna ait kimyasal kayma değeri olarak tespit edilmiştir. Etilendiamin grubuna ait -CH₂ protonu ise yine beklenildiği gibi, 2.39 ppm de 4H integral değerinde ve singlet olarak tespit edilmiştir. (Ek A.2.). Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ da beklenen 5 adet tekli karbon pikleri kimyasal çevreleri aynı karbon atomlarına ait olup önerilen yapıyı desteklemektedir (Ek A.3.). Bileşiğin FTIR ve NMR spektrumları literatür verileriyle uyum içerisinde.

EDTPA ligandının FTIR spektrumunda; -C-H gerilmeleri $3015\text{-}2982\text{ cm}^{-1}$ de, C=O gerilmeleri $1709,4\text{ cm}^{-1}$ de, C-N gerilme pikleri $1578,1\text{ cm}^{-1}$ de, C-C gerilme pikleri

1407,5 cm^{-1} 'de, C-O gerilmeleri ise 1197,4 cm^{-1} de gözlemlenmiştir. (Ek A.4.). Moleküle ait gerilme pikleri ve diğer titreşimler ise beklenildiği gibi tespit edilmiş ve önerilen yapıyı destekler niteliktedir. Hidroliz edilmiş bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spekturumu CDCl_3 içerisinde alınmış ve 3.74 ppm'de çıkan pik 8H değerinde olup azot grubuna bağlı $-\text{CH}_2$ protonuna ait kimyasal kayma değeri olarak tespit edilmiştir. Etilendiamin grubuna ait $-\text{CH}_2$ protonu ise yine beklenildiği gibi, 3.50 ppm de 4H integral değerinde ve singlet olarak tespit edilmiştir. 1.27 ppm'de ise triplet olarak gözlenen pik karbon atomuna bağlı $-\text{CH}_2$ protonları olarak gözlemlenmiştir (Ek A.5.). Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ da beklenen 4 adet tekli karbon pikleri kimyasal çevreleri aynı karbon atomlarına ait olup önerilen yapıyı desteklemektedir (Ek A.6.).

DETAPPA ligandının hazırlanmasında ilk aşama olarak dietilentriaminpentapropanat sentezlenmiştir. Senteze metil akrilattan ve dietilentriaminden başlanmıştır. Metil akrilat ve dietilentriamin metanol ortamında reaksiyona sokularak dietilentriaminpentapropanat elde edilmiştir. Daha sonra ise bazik ortamda hidroliz edilip asit ile çöktürülerek dietilentriaminpentaproponoik asit elde edilmiştir. Ligand, reaksiyon ortamından yüksek verimle yeteri saflıkta elde edilmiş ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Dietilentriaminpenta propanatın FTIR spektrumunda karbonil grubuna ait karakteristik C=O gerilme pikleri 1732 cm^{-1} de, -C-H gerilme pikleri 2956-2931 cm^{-1} de, C-C gerilme pikleri 1440 cm^{-1} de, C-O gerilme pikleri 1194-1168 cm^{-1} de, C-N gerilme pikleri 1250 cm^{-1} de, O-C gerilme pikleri 1043 cm^{-1} aralığında gözlemlenmiştir. (Ek A.7.). Bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spekturumu DMSO-d_6 içerisinde alınmış ve ester grubuna ait O- CH_3 protonu 3.55 ppm'de 15H değerinde singlet olarak tespit edilmiştir. 2.68-2.63 ppm'de çıkan triplet pikler 10H değerinde olup azot grubuna bağlı $-\text{CH}_2$ protonuna ait kimyasal kayma değeri olarak tespit edilmiştir. Dietilentriamin grubuna bağlı $-\text{CH}_2$ protonu ise yine beklenildiği gibi, 2.38 ppm de 8H integral değerinde ve singlet olarak tespit edilmiştir. 2.30 ppm'de ise karbon atomuna bağlı $-\text{CH}_2$ protonu triplet olarak tespit edilmiştir. (Ek A.8.). Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ da beklenen 5 adet tekli karbon pikleri kimyasal çevreleri aynı karbon atomlarına ait olup önerilen yapıyı desteklemektedir (Ek A.9.).

DETAPPA FTIR spektrumunda; -OH gerilme pikleri 3596-3475 cm^{-1} de, -C-H gerilmeleri 2956 cm^{-1} de, C=O gerilmeleri 1630 cm^{-1} de, C-C gerilme pikleri 1410 cm^{-1} de, C-O gerilmeleri ise 1213-1184 cm^{-1} aralığında gözlemlenmiştir (Ek A.10.). Hidroliz edilmiş bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spekturumu DMSO d_6 içerisinde alınmış ve 3.77 ppm'de çıkan pik 10H değerinde olup azot grubuna bağlı -CH₂ protonuna ait kimyasal kayma değeri olarak tespit edilmiştir. Dietilentriamin grubuna ait -CH₂ protonu ise yine beklenildiği gibi, 3.47 ppm de 8H integral değerinde ve singlet olarak tespit edilmiştir. 1.27 ppm'de ise triplet olarak gözlenen 10H değerinde pik karbon atomuna bağlı -CH₂ protonları olarak gözlemlenmiştir (Ek A.11.). Bileşiğin $^{13}\text{C-NMR}$ da beklenen 4 adet tekli karbon pikleri kimyasal çevreleri aynı karbon atomlarına ait olup önerilen yapıyı desteklemektedir (Ek A.12.).

Sentezlenen ligandların erime noktaları Tablo 5.1.'de verilmiştir. EDTPA ligandının erime noktası 192 °C bulunmuştur ve literatür bilgisiyle örtüşmektedir. DETAPPA ligandının ise erime noktası 198 °C bulunmuştur.

Tablo 5.1. Sentezlenen ligandların erime noktaları

Ligandlar	Erime Noktası (°C)	Renklilik, Fiziksel Hal
EDTPA	192	Beyaz, Katı
DETAPPA	198	Beyaz, Katı

Sentezlenen ligandların kompleks kararlılık sabitleri mangan ve bakır kompleksleri için UV-Vis yöntemle tespit edilmiş ve hesaplanmıştır. Hesaplanan log β değerleri literatürde EDTA ligandı için verilen değerlerle karşılaştırılmıştır. Hesaplanan değerler Tablo 5.2.'de verilmiştir.

Tablo 5.2. Hesaplanan log β değerleri

	Hesaplanan Değer (log β)	Referans (log β)
EDTA-Mn	14,44	14,04
EDTA-Cu	18,41	18,80
K ₆ [EDTPA] ₂ Mn	13,92	
K ₆ [EDTPA] ₂ Cu	19,39	
K[DETAPPA]Mn	12,85	
K[DETAPPA]Cu	17,71	

5.2. Komplekslerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Elde edilen komplekslerin sabit erime noktaları sahip olmaları saflıklarının bir göstergesi olduğu Tablo 5.3.'de verilmiş olup karakterizasyonlarında FTIR spektroskopisinden yararlanılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 5.4.'de verilmiştir.

Tablo 5.3. Sentezlenen komplekslerin erime noktaları

Ligandlar	Erime Noktası (°C)	Renklilik, Fiziksel Hal
K ₆ [EDTPA] ₂ Mn	133	Beyaz, Katı
K ₆ [EDTPA] ₂ Cu	191	Mavi, Katı
K[DETAPPA]Mn	142	Beyaz, Katı
K[DETAPPA]Cu	163	Yeşil, Katı
NH ₄ [DETAPPA]Cu	202	Yeşil, Katı

Tablo 5.4. Komplekslerin FTIR spektroskopisi verileri

Kompleksler	$\bar{\nu}(\text{O-H}) \text{ cm}^{-1}$	$\bar{\nu}(\text{alif.C-H}) \text{ cm}^{-1}$	$\bar{\nu}(\text{C=O}) \text{ cm}^{-1}$	$\bar{\nu}(\text{C-C}) \text{ cm}^{-1}$	$\bar{\nu}(\text{C-N}) \text{ cm}^{-1}$	$\bar{\nu}(\text{C-O}) \text{ cm}^{-1}$
K ₆ [EDTPA] ₂ Mn	3361,7	2968	1563,3	1377-1313	1191	1048
K ₆ [EDTPA] ₂ Cu	3355	2966	1570	1374-1319	1198	1048
K[DETAPPA]Mn	3399	2955-2871	1719-1565	1390-1317	1251	1097-1025
K[DETAPPA]Cu	3380	2956	1725-1569	1390	1282	1025
NH ₄ [DETAPPA]Cu	3399	2958	1719-1559	1397	1200	1029,7

Tablo 5.4.'e göre elde edilen tüm komplekslerde –OH gerilim pikleri 3399-3355 cm⁻¹ aralığında değişen adsorbans değerleri ile gözlenmiştir. Alifatik C-H gerilimlerine ait olan pikler 2968-2955 cm⁻¹'de görülmektedir. 1559-1725 cm⁻¹'de arasında görülen keskin pikler ise moleküllerde bulunan C=O gruplarına ait gerilme piklerinin varlığını gösterdiği düşünülmüştür. C-N gerilimlerine ait pikler ise tüm komplekslerde 1191-1282 cm⁻¹ aralığında görülmektedir. C-O gerilim pikleri ise 1097-1025 cm⁻¹'de görülmektedir. Moleküle ait aromatik gerilme pikleri ve diğer titreşimler ise beklenildiği gibi tespit edilmiş ve önerilen yapıyı destekler niteliktedir (Ek A.13-17).

Komplekslerin moleküler yapısında belirleyici olarak MALDI-TOF kütle spektrumundan yararlanıldı. K₆[EDTPA]₂Cu kütlelerinin moleküler yapısında m/z;

415,3 de ortaya çıkan temel pik $[M^+]$ olarak hesaplandı. $K_6[EDTPA]_2Cu$ kütlelerinin moleküler yapısında m/z; 439,3' de çıkan pik $[M^++Na]$ olarak hesaplandı ve $K_6[EDTPA]_2Cu$ kütlelerinin moleküler yapısında m/z; 471,3' de çıkan pik $[M^++3H_2O]$ olarak hesaplandı. $K[DETAPPA]Cu$ kütlelerinin moleküler yapısında m/z; 524,1' de ortaya çıkan temel pik $[M^+]$ olarak hesaplandı. $K[DETAPPA]Cu$ kütlelerinin moleküler yapısında m/z; 542,13' de çıkan pik $[M^++H_2O]$ olarak hesaplandı ve $K[DETAPPA]Cu$ kütlelerinin moleküler yapısında m/z;563,1 de çıkan pik $[M^++H_2O+Na]$ olarak hesaplandı. $NH_4[DETAPPA]Cu$ kütlelerinin moleküler yapısında m/z; 524,2' de ortaya çıkan temel pik $[M^+]$ olarak hesaplandı. $NH_4[DETAPPA]Cu$ kütlelerinin moleküler yapısında m/z; 564' de çıkan pik $[M^++H_2O+Na]$ olarak hesaplandı. (Ek B.1-2).

5.3. ICP-OES Analiz Sonuçları

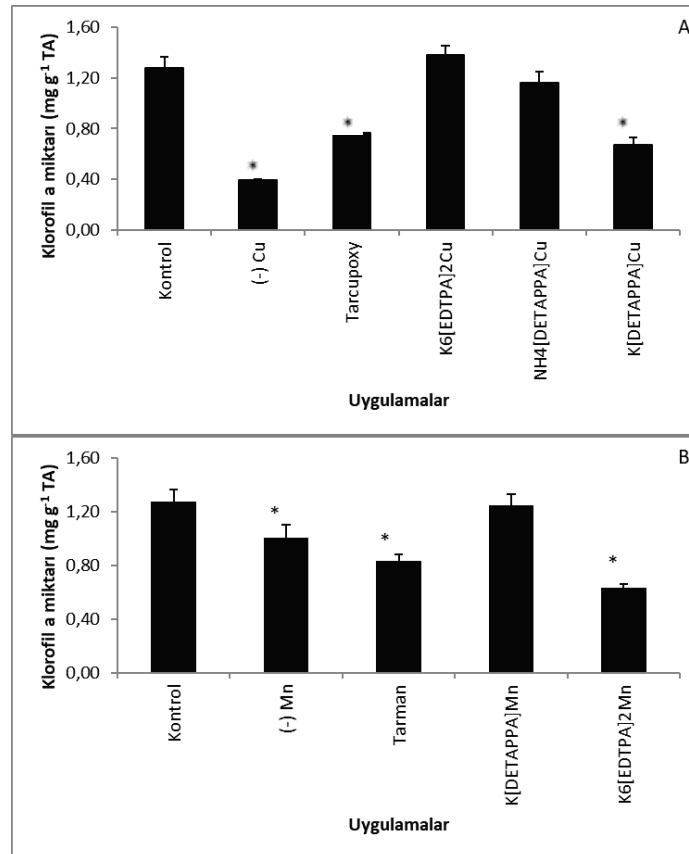
Hasat edilen bitkilerin ICP-OES analiz sonuçları yapılan çalışmalarda mısır bitkisinin 48 saat $80^\circ C$ ' de bekletilmiş kuru yapraklarda ki metal miktarları ppm cinsinden Tablo 5.5.'de verilmiştir.

Tablo 5.5. ICP-OES Sonuçları

	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	Al (ppm)
Hoagland	61,8	302,6	78	258,2	1012,4
(-)Cu	2,8	424,8	15,5	168,6	653,2
Cupoxy	40,3	572,9	13,7	163,1	1335,4
$K_6[EDTPA]_2Cu$	70,2	404,5	16,7	1280,4	576,5
$NH_4[DETAPPA]Cu$	55,7	1078,8	17,2	251,9	501,7
$K[DETAPPA]Cu$	38,9	338,2	17,8	185,6	350,2
(-)Mn	0	282,9	13,7	159,3	269,4
Tarman	31,8	2114,4	58,8	233,1	4532,3
$K[DETAPPA]Mn$	0,4	372,5	20,6	177,8	456,7
$K_6[EDTPA]_2Mn$	0	387	34,6	198,7	456,7

5.4. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Klorofil a Miktarı Üzerine Etkisi

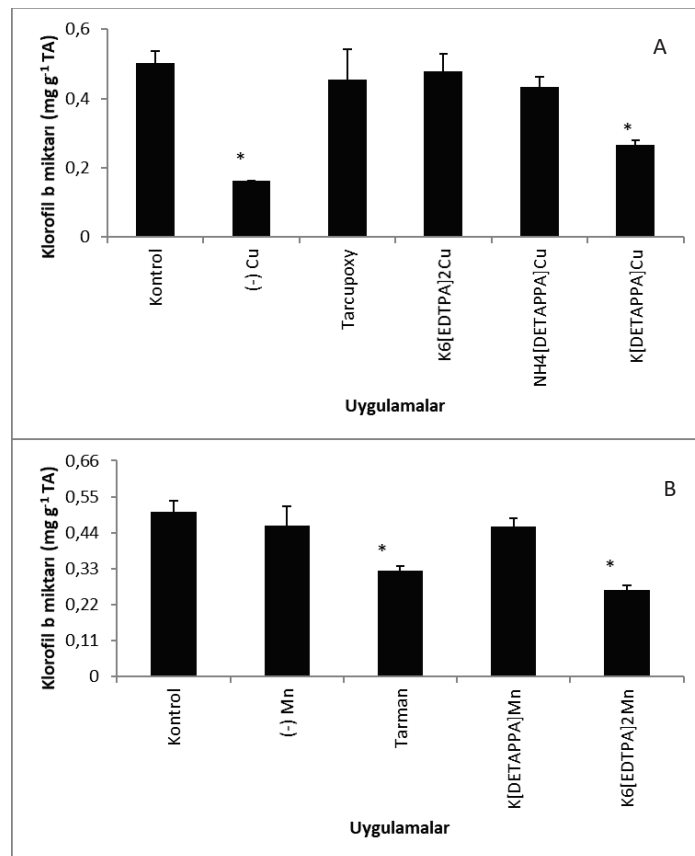
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki klorofil a miktarı üzerine etkisi Şekil 5.1.'de verilmiştir. Buna göre bakır eksikliği, Tarcupoxy ve K[DETAPPA]Cu uygulamaları mısır yapraklarındaki klorofil a miktarının kontrole göre anlamlı derecede azalmasına yol açmıştır ($P < 0,05$) (Şekil 5.1A). $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $NH_4[DETAPPA]Cu$ ise klorofil a miktarını etkilememiştir ($P > 0,05$). Mangan eksikliği, Tarman ve $K_6[EDTPA]_2Mn$ uygulamaları mısır yapraklarındaki klorofil a miktarını kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltırken ($P < 0,05$) (Şekil 5.1B); K[DETAPPA]Mn uygulaması etkilememiştir ($P > 0,05$).



Şekil 5.1. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki klorofil a miktarı üzerine etkisi. (değerler 5 tekrarın ortalaması olup, barlar \pm standart hata değerlerini göstermektedir. * işareti anlamlı önemli farkı belli etmektedir. Bu bilgiler bundan sonraki şekiller ve tablolar için de geçerlidir).

5.5. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Klorofil b Miktarı Üzerine Etkisi

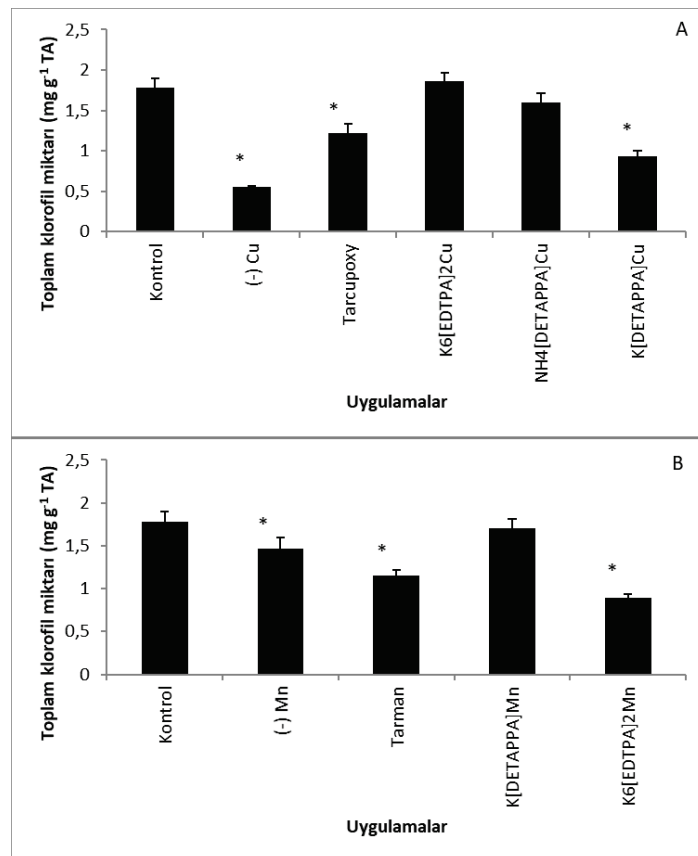
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki klorofil b miktarı üzerine etkisi Şekil 5.2.'de verilmiştir. Buna göre bakır eksikliği ve K[DETAPPA]Cu uygulamasında mısır yapraklarındaki klorofil b miktarının kontrole göre anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir ($P < 0,05$) (Şekil 5.2A). Tarcupoxy, $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $NH_4[DETAPPA]Cu$ uygulamaları ise mısır yapraklarındaki klorofil b miktarını, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, etkilememiştir ($P > 0,05$). Mangan eksikliği Tarman ve $K_6[EDTPA]_2Mn$ uygulamaları mısır yapraklarındaki klorofil b miktarı kontrol uygulamasına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır ($P < 0,05$) (Şekil 5.2B). K[DETAPPA]Mn uygulamasında ise anlamlı derecede bir fark görülmemiştir ($P > 0,05$)



Şekil 5.2. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki klorofil b miktarı üzerine etkisi.

5.6. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Toplam Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi

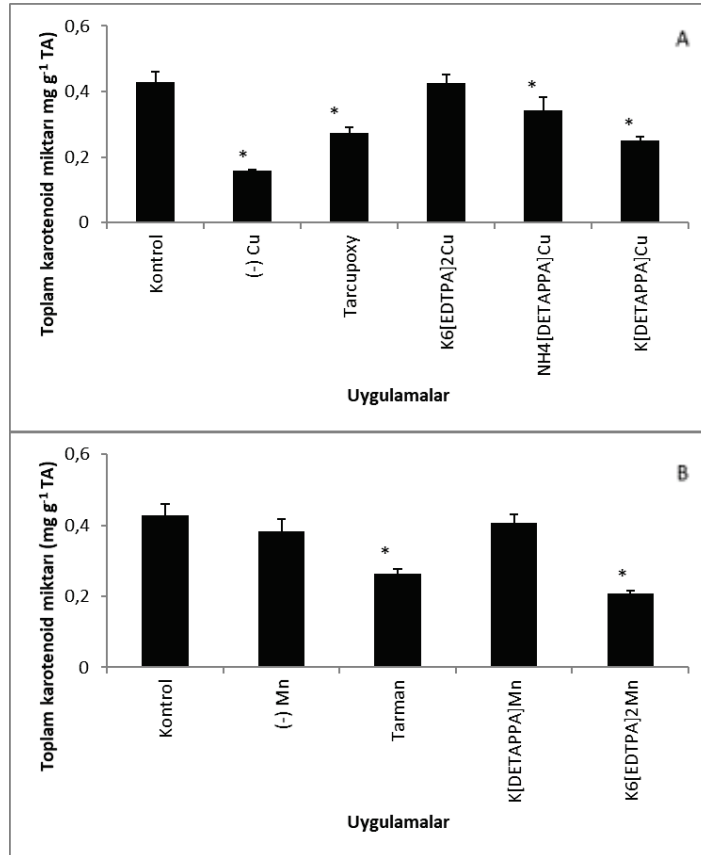
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki toplam klorofil miktarı üzerine etkisi Şekil 5.3.'de gösterilmiştir. Bakır eksikliği, Tarcupoxy ve K[DETAPPA]Cu uygulamaları mısır yapraklarındaki toplam klorofil miktarının kontrole göre anlamlı derecede azalmasına yol açmıştır ($P < 0,05$) (Şekil 5.3A). $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $NH_4[DETAPPA]Cu$ uygulamalarında ise toplam klorofil miktarlarında kontrole göre anlamlı derecede bir etki görülmemiştir ($P > 0,05$). Mangan eksikliği, Tarman ve $K_6[EDTPA]_2Mn$ uygulamaları mısır yapraklarındaki toplam klorofil miktarı kontrol uygulamasına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır ($P < 0,05$) (Şekil 5.3B). K[DETAPPA]Mn uygulamasında ise kontrol uygulamasına göre anlamlı derecede bir fark görülmemiştir ($P > 0,05$)



Şekil 5.3. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.

5.7. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Toplam Karotenoid Miktarı Üzerine Etkisi

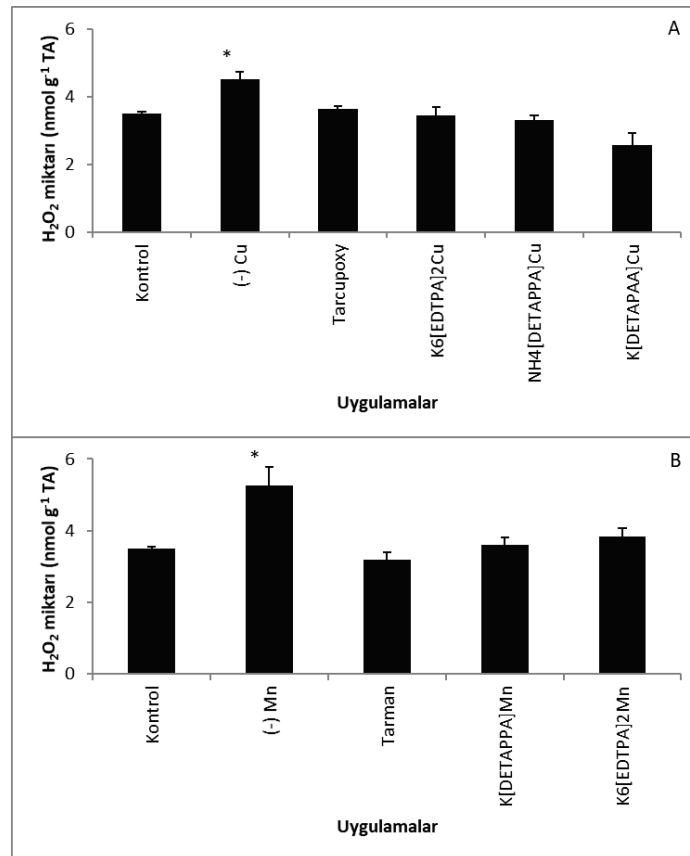
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki karotenoid miktarı üzerine etkisi Şekil 5.4.'de verilmiştir. Buna göre bakır eksikliği, Tarcupoxy, $\text{NH}_4[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$ ve $\text{K}[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$ uygulamaları mısır yapraklarındaki toplam karotenoid miktarının kontrole göre anlamlı derecede azalmasına yol açmıştır ($P < 0,05$) (Şekil 5.4A). $\text{K}_6[\text{EDTPA}]\text{Cu}$ ise toplam karotenoid miktarını etkilememiştir ($P > 0,05$). Mangan eksikliği, Tarman ve $\text{K}_6[\text{EDTPA}]\text{Mn}$ uygulamaları mısır yapraklarındaki karotenoid miktarını kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltırken ($P < 0,05$) (Şekil 5.4B); $\text{NH}_4[\text{DETAPPA}]\text{Mn}$ uygulaması etkilememiştir ($P > 0,05$).



Şekil 5.4. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki karotenoid miktarı üzerine etkisi.

5.8. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı Üzerine Etkisi

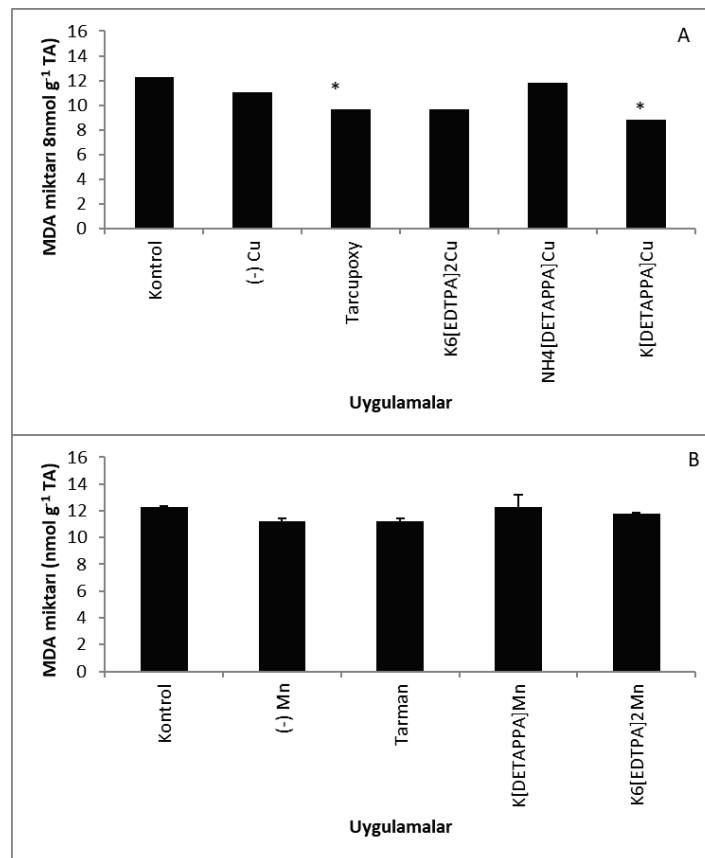
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarı üzerine etkisi Şekil 5.5.'de verilmiştir. Buna göre bakır eksikliği mısır yapraklarındaki hidrojen peroksit miktarının kontrole göre anlamlı derecede artmasına yol açarken (P<0,05) (Şekil 5.5A), K[DETAPPA]Cu uygulaması azaltmıştır (P<0,05). K₆[EDTPA]₂Cu, NH₄[DETAPPA]Cu ve Tarcupoxy uygulamaları ise hidrojen peroksit miktarını kontrole göre istatistiksel olarak etkilememiştir (P>0,05). Mangan eksikliği yapraklardaki hidrojen peroksit miktarını kontrole göre anlamlı derecede artırmış (P<0,05); Tarman, K₆[EDTPA]₂Cu ve K[DETAPPA]Mn ise etkilememiştir (P>0,05) (Şekil 5.5B).



Şekil 5.5. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarı üzerine etkisi.

5.9. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Malondialdehit (MDA) Miktarı Üzerine Etkisi

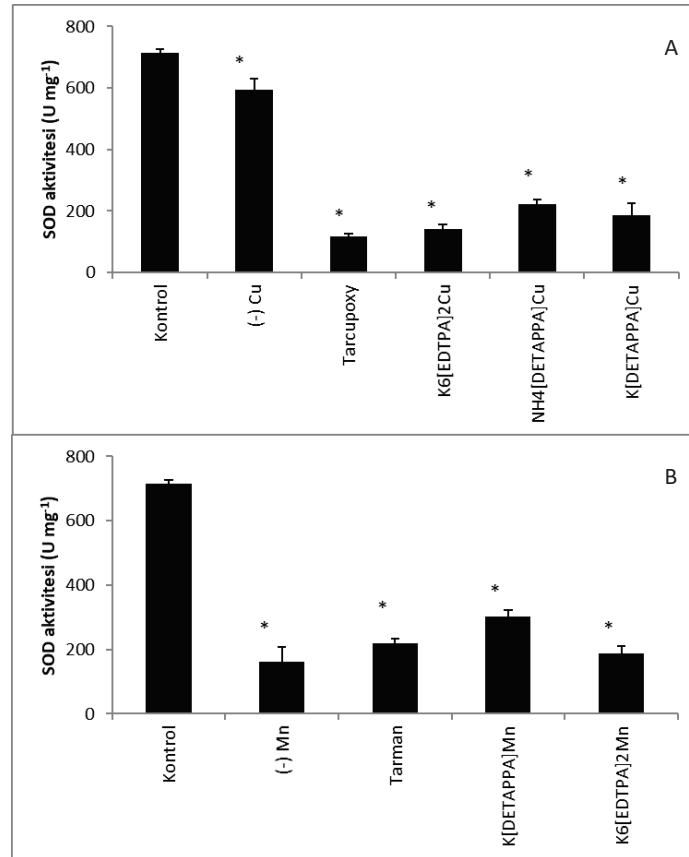
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki malondialdehit (MDA) miktarı üzerine etkisi Şekil 5.6.'de verilmiştir. Buna göre bakır eksikliği, Tarcupoxy, K[DETAPPA]Cu ve K₆[EDTPA]₂Cu uygulamalarında mısır yapraklarındaki malondialdehit miktarının kontrole göre anlamlı derecede azaldığı gözlenirken; (P<0,05) (Şekil 5.6A) NH₄[DETAPPA]Cu uygulaması malondialdehit miktarını kontrole göre istatistiksel olarak etkilememiştir (P>0,05). Mangan eksikliği, Tarman ve K₆[EDTPA]₂Mn, K[DETAPPA]Mn uygulamaları mısır yapraklarındaki malondialdehit miktarını kontrole göre istatistiksel olarak etkilenmemiştir (P>0,05) (Şekil 5.6B).



Şekil 5.6. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki malondialdehit (MDA) miktarı üzerine etkisi.

5.10. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Üzerine Etkisi

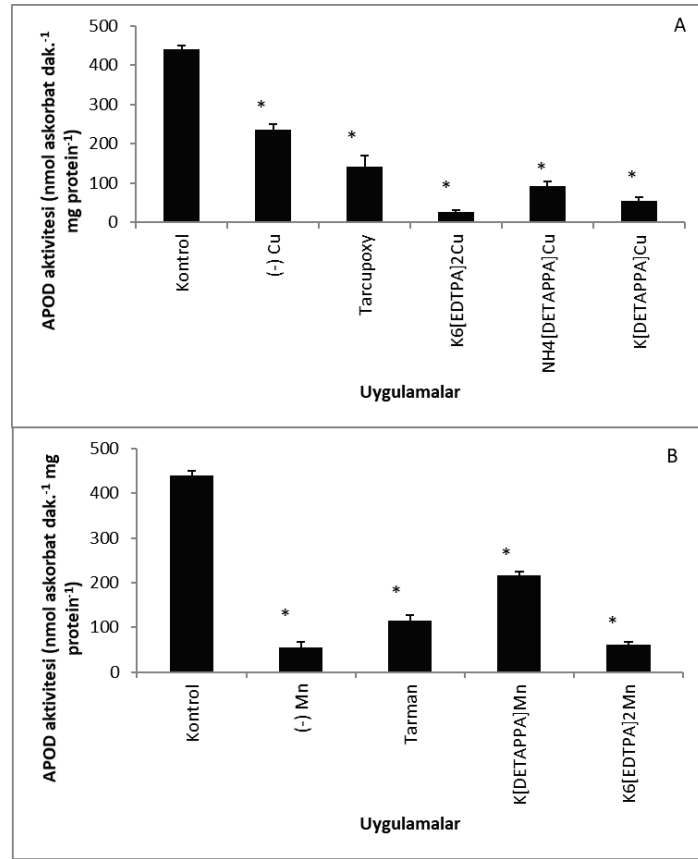
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkisi Şekil 5.7.'de verilmiştir. Buna göre bakır ve mangan içeren tüm şelatlı bileşiklerin mısır yapraklarındaki SOD aktivitesini kontrollere göre anlamlı derecede azalttığı belirlenmiştir ($P < 0,05$) (Şekil 5.7A ve B).



Şekil 5.7. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki süperoksit düsmutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkisi.

5.11. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Askorbat Peroksidaz (APOD) Aktivitesi Üzerine Etkisi

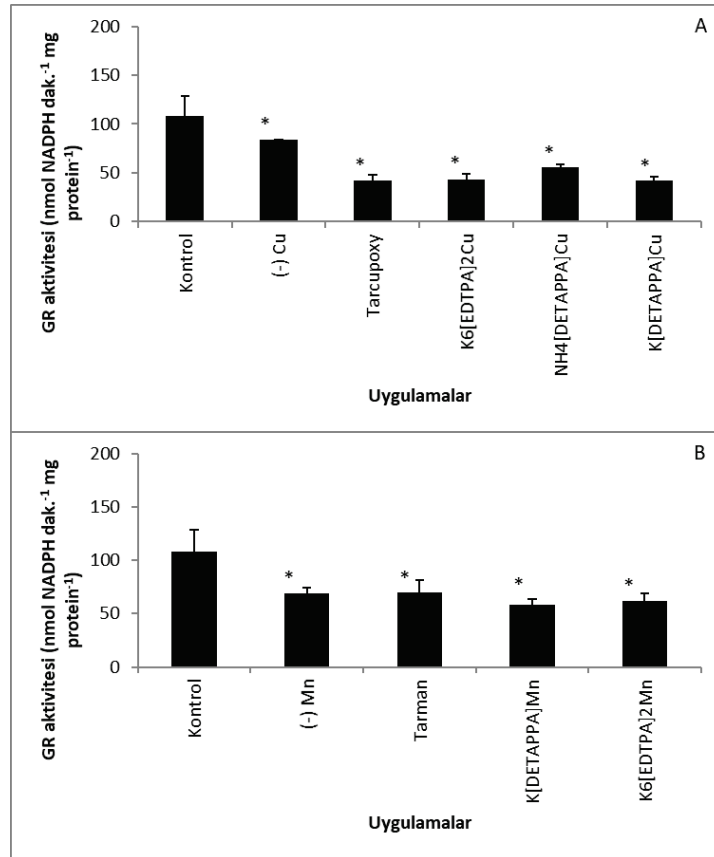
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesi üzerine etkisi Şekil 5.8.'de verilmiştir. Buna göre bakır ve mangan içeren tüm şelatlı bileşiklerin mısır yapraklarındaki APOD aktivitesini kontrollere göre anlamlı derecede azalttığı belirlenmiştir ($P<0,05$) (Şekil 5.8A ve Şekil 5.8B).



Şekil 5.8. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesi üzerine etkisi.

5.12. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesi Üzerine Etkisi

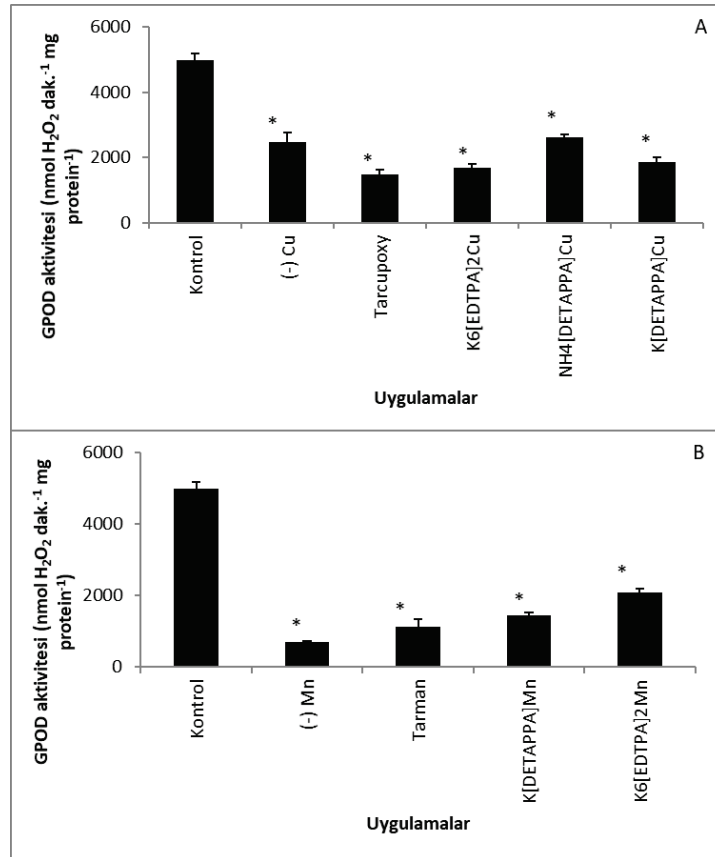
Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi üzerine etkisi Şekil 5.9.'de verilmiştir. Buna göre bakır ve mangan içeren tüm şelatlı bileşiklerin mısır yapraklarındaki GR aktivitesini kontrollere göre anlamlı derecede azalttığı belirlenmiştir ($P < 0,05$) (Şekil 5.9A ve Şekil 5.9B).



Şekil 5.9. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi üzerine etkisi.

5.13. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Guaiakol Peroksidaz (GPOD) Aktivitesi Üzerine Etkisi

Metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitesi üzerine etkisi Şekil 5.10.'da verilmiştir. Buna göre bakır ve mangan içeren tüm şelatlı bileşikler mısır yapraklarındaki GPOD aktivitesini kontrollere göre anlamlı derecede azaltmıştır ($P < 0,05$) (Şekil 5.10A ve Şekil 5.10B).



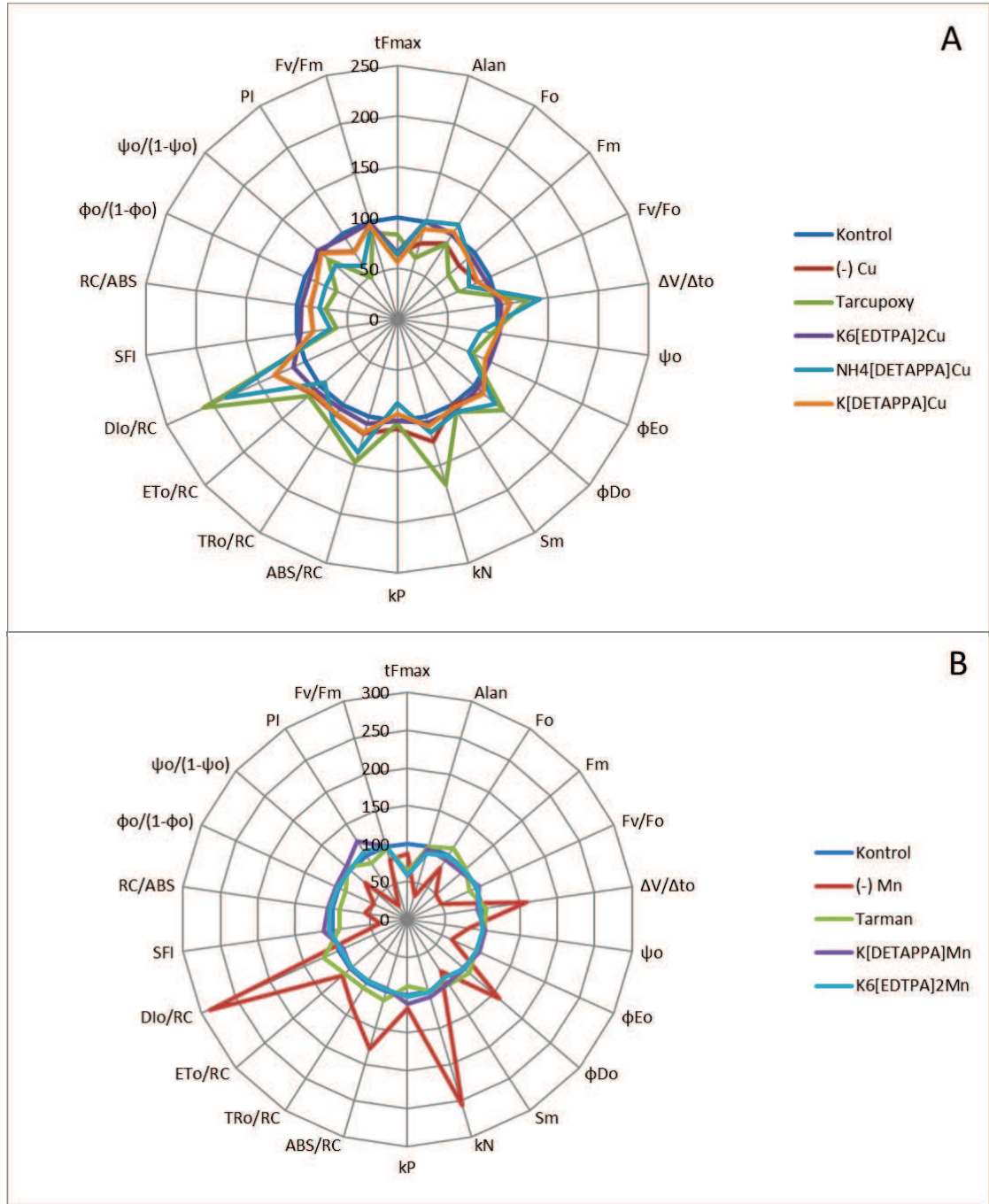
Şekil 5.10. (A) Bakır ve (B) mangan içeren metal-şelat bileşiklerinin mısır yapraklarındaki guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitesi üzerine etkisi.

5.14. Metal-Şelat Bileşiklerinin Mısır Yapraklarındaki Fotosentetik Aktivite Üzerine Etkisi

Çalışmamızdaki uygulamalar F_0 (minimum floresans), Ψ_0 (yakalanan bir eksitonun bir elektronu kinon A' dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği), Φ_{E_0} (kinon A' dan plastokinona elektron taşınımının kuantum verimi), E_{T_0}/RC (fotosistem II' de reaksiyon merkezi başına kinon A' dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı), $\Psi_0/(1-\Psi_0)$ (ışığa bağımlı olmayan reaksiyonların performans göstergesi) ve alan parametrelerini istatistiksel olarak etkilememiştir. Tarcupoxy ve $NH_4[DETAPPA]Cu$ uygulamaları TR_0/RC (FS II' de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve Q_A ' nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji) ve DI_0/RC ' yi (FS II' de reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olaylar dışında kaybedilen dissipasyon enerjisi) kontrole göre önemli oranda artırırken, RC/ABS ' yi (FS II' deki anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi miktarı) azaltmıştır. Bakır eksikliği, $K_6[EDTPA]_2Cu$, $NH_4[DETAPPA]Cu$ ve $K[DETAPPA]Cu$ ise tF_m ' yi (F_m ' ye ulaşılması için gereken zaman) kontrole göre istatistiksel olarak azaltmıştır. Tarcupoxy uygulaması sonucunda F_m (maksimum floresans), F_v/F_0 (FS II' nin donör bölgesinde fonksiyonel olan fotoliz olayının etkinliği), SFI (fotosistem II' nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü), $\phi_0/(1-\phi)$ (fotokimyasal (aydınlık) reaksiyonların performans göstergesi), PI (performans indeksi) ve F_v/F_m ' yi (fotosistem II' nin maksimum kuantum etkinliği) kontrole göre anlamlı derecede azaltırken; ϕ_{D_0} (termal dissipasyonun kuantum verimi) ve ABS/RC ' yi (reaksiyon merkezi başına FS II' nin ortalama anten boyutu) artırmıştır. $NH_4[DETAPPA]Cu$ ise $\Delta V/\Delta t_0$ ' ı (kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı) kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır.

Mangan eksikliği mısır bitkisinin yapraklarındaki F_m (maksimum floresans), F_v/F_0 (FS II' nin donör bölgesinde fonksiyonel olan fotoliz olayının etkinliği), Ψ_0 (yakalanan bir eksitonun bir elektronu kinon A' dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği), Φ_{E_0} (kinon A' dan plastokinona elektron taşınımının kuantum verimi), SFI (fotosistem II' nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü), RC/ABS (FS II' deki anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi

miktarı), $\phi_0/(1-\phi)$ (fotokimyasal (aydınlık) reaksiyonların performans göstergesi), $\Psi_0/(1-\Psi_0)$ (ışığa bağımlı olmayan reaksiyonların performans göstergesi), PI (performans indeksi), F_v/F_m' yi (fotosistem II' nin maksimum kuantum etkinliği) kontrole göre anlamlı oranda azaltmış; $\Delta V/\Delta t_0$ (kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı), ϕ_{Do} (termal dissipasyonun kuantum verimi), ABS/RC (reaksiyon merkezi başına FS II' nin ortalama anten boyutu), TR_0/RC (FS II' de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve Q_A' nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji) ve D_{Io}/RC' yi (FS II' de reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olaylar dışında kaybedilen dissipasyon enerjisi) artırmıştır. Uygulamalar F_0 (minimum floresans) değerini etkilemezken; Tarman, K[DETAPPA]Mn ve K₆[EDTPA]₂Mn tF_m' yi (F_m' ye ulaşılması için gereken zaman) kontrole göre önemli derecede azaltmıştır.



BÖLÜM 6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Etilendiamin tetrapropanoik asit (EDTPA) ve dietilentriamin pentapropanoik asit (DETAPPA) ligandları şelat yapıcı moleküller olarak hazırlanmıştır. Bu ligandlardan EDTPA literatür yöntemlerine göre hazırlanırken, DETAPPA ise yeni yöntem kullanılarak özgün olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan ligandlar karakterize edilmiş ve bitki beslemede mikro element şelatlayıcı ajan olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla bir seri kompleksleştirme çalışmaları yapılmıştır. Bunlardan yeterli derecede kararlılığa sahip $K_6[EDTPA]_2Cu$, $K[DETAPPA]Cu$, $NH_4[DETAPPA]Cu$, $K_6[EDTPA]_2Mn$, $K[DETAPPA]Mn$ izole edilerek karakterize edilmiştir. Bu komplekslere ait kararlılık sabitleri metal değişim yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Hazırlanan bileşiklerin biyo yararlılıklarının ve bitki besleme etkinliklerinin belirlenmesi için bu bileşikleri Hoagland çözeltilisindeki $CuSO_4$ ve $MnCl_2$ ile değiştirilmiş ve su kültüründe yetiştirilen mısır bitkilerine uygulanmıştır. Mısır bitkilerinde Cu ve Mn beslenmesi konusundaki etkinlikleri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca benzer şelat yapısına sahip bazı ticari ürünler ile karşılaştırmalı olarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Bakır eksikliğine maruz bırakılmış bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda $K_6[EDTPA]_2Cu$ bileşiğinin su kültüründe klorofil a'nın kontrole göre en iyi bakır eksikliğini giderici etki yaptığı saptanmıştır.

Çalışmamızda mısır bitkilerine uygulanan bakır eksikliği yapraklardaki klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarını; mangan eksikliği ise klorofil a ve toplam klorofil miktarını kontrollere göre önemli derecede azaltmıştır. Bitkilerdeki fotosentetik pigment miktarı, bu moleküllerin yapraklardaki sentez ve parçalanma hızları arasındaki dengeye bağlıdır. Buna göre, bakır ve mangan eksikliğinin mısır yapraklarındaki fotosentetik pigment miktarını, pigmentlerin sentez hızını azaltarak

ve/veya parçalanma hızını artırarak azalttığı söylenebilir. Benzer şekilde K[DETAPPA]Cu, Tarman ve K₆[EDTPA]₂Mn uygulamaları da yapraklardaki klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarını kontrole göre azaltmıştır. Tarcupoxy ise klorofil a ve toplam klorofil miktarını kontrole göre azaltmıştır. Bu sonuçlar Tarcupoxy uygulamasının mısır yapraklarındaki klorofil a miktarı üzerinde seçici bir olumsuz etkiye neden olduğunu göstermektedir. K₆[EDTPA]₂Cu, K[DETAPPA]Mn ve NH₄[DETAPPA]Cu uygulamaları ile kontrol bitkileri arasında yapraklardaki klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarı bakımından istatistiksel olarak bir farkın bulunmaması, bu bileşiklerin mısır bitkilerinde bakır ve mangan beslenmesi konusunda uygun birer bileşik olduğunu ve pigment metabolizmasını olumlu yönde etkilediğini göstermektedir.

Karotenoid grubu pigmentler bitkilerde bir yandan ışık absorpsiyonu yaparak fotosentetik aktivitenin artmasını sağlarken, diğer yandan ¹O₂ moleküllerinin oluşumunu yavaşlatmak ve üçlü uyarılmış klorofil moleküllerinin detoksifikasyonu sağlamak gibi fonksiyonları bakımından antioksidant sistemin enzimatik olmayan bileşenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda sadece K₆[EDTPA]₂Cu ve K[DETAPPA]Mn uygulanan mısır yapraklarındaki karotenoid miktarı ile kontrol bitkilerinin yaprakları arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. Bu sonuç K₆[EDTPA]₂Cu ve K[DETAPPA]Mn uygulamalarının mısır yapraklarındaki antioksidant etkinliği desteklediğini göstermektedir. Ancak diğer uygulamaların (bakır eksikliği, Tarcupoxy, NH₄[DETAPPA]Cu ve K[DETAPPA]Cu), yapraklardaki düşük karotenoid miktarına yol açması nedeniyle, antioksidant aktivitenin azalmasına neden olduğu söylenebilir.

SOD enzimi hücrelerde süperoksit radikalinin H₂O₂' ye, APOD ise H₂O₂' nin su ve oksijene parçalanmasını sağlayan reaksiyonu katalizleyen enzimlerdir. Çalışmamızda mısır bitkilerine yapılan tüm Cu ve Mn içeren bileşik uygulamalarının yapraklardaki SOD ve APOD aktivitesini kontrole göre azalttığı belirlenmiştir. Benzer şekilde hücrelerdeki indirgenmiş glutatyon miktarının korunmasından sorumlu olan ve APOD ile birlikte askorbat-glutatyon döngüsünde rol oynayan GR enziminin aktivitesi de Cu ve Mn içeren bileşiklerin uygulandığı mısır yapraklarında azalmıştır.

Bu sonuçlar ilk olarak yapılan uygulamaların mısır yapraklarındaki askorbat-glutasyon döngüsünün etkinliğini ve dolayısıyla antioksidant savunma sistemini zayıflattığı düşüncesini akla getirmektedir. Ancak Cu ve Mn içeren bileşiklerin uygulandığı mısır yapraklarında membran hasarının boyutunu gösteren MDA birikiminin azaldığı gözlenmiştir. Buna göre ilgili bileşiklerin mısır yapraklarında antioksidant etkinliğe sahip olduklarından, bitki büyümesini fizyolojik olarak olumlu etkilediği söylenebilir. Yapraklardaki fotosentetik pigment miktarlarında ve fotosentetik aktivitede meydana gelen değişimler de bu fikri destekler niteliktedir. Kalaji ve arkadaşları (2011) klorofil a floresansı tekniğinin farklı çevresel stres faktörlerinin fotosentetik aktivite üzerindeki etkilerinin araştırılmasında çok uygun bir yöntem olduğunu bildirmiştir. Bu teknikle özellikle FSII' nin yapısında meydana gelen elektron taşınım olayları hakkında bilgiler elde edilmektedir. Klorofil a floresansı tekniğinin en avantajlı yönü ise, uygulanan stresin bitkilerde neden olduğu morfolojik değişimlerin ortaya çıkmasından çok daha erken bir dönemde stres etkilerinin anlaşılmasını sağlamasıdır.

Çalışmamızda $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $K[DETAPPA]Mn$ uygulamalarının mısır yapraklarındaki fotosentetik aktiviteyi, uygulanan diğer bileşiklerle karşılaştırıldığında, daha olumlu etkilediği belirlenmiştir. Örneğin $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $K[DETAPPA]Mn$ uygulanan mısır yapraklarında F_0 (minimum floresans) ve F_m (maksimum floresans) değerleri kontrol değerlerine göre istatistiksel olarak değişim göstermemiştir. Bu sonuçlar $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $K[DETAPPA]Mn$ uygulanan mısır yapraklarında FSII birimlerinin akseptör bölgelerinin kararlılığını ve indirgenebilme yeteneklerini artırdığını göstermektedir. F_v/F_m oranı ise bitkilerde stres indikatörü olarak kullanılan bir parametredir. Bu oran çevresel koşulların normal olduğu durumlarda 0,83 civarındadır ve F_v/F_m ' nin azalması azalması bir fotoinhibisyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızda $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $K[DETAPPA]Mn$ uygulanan mısır yapraklarındaki F_v/F_m oranının kontrol bitkilerine çok yakın değerlere sahip olduğu gözlenmiştir.

Fv/Fo oranı ise FSII' nin donör bölgesinde bulunan ve suyu parçalayarak sistemde taşınacak elektronların oluşumunu sağlayan yapının etkinliğini göstermektedir. Çalışmamızda $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $K[DETAPPA]Mn$ uygulanan mısır yapraklarındaki Fv/Fo değerinin yine kontrol bitkilerine çok yakın olduğu ve sistemin elektron bakımından yeterli derecede beslenmesini sağladığı görülmüştür. Benzer şekilde $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $K[DETAPPA]Mn$ uygulanan mısır yapraklarında; $\Delta V/\Delta t_0$, Ψ_0 , ΦE_0 , $E T_0/RC$, $\Psi_0/(1-\Psi_0)$, $T R_0/RC$, $D I_0/RC$, $R C/ABS$, $S F I$, $\phi_0/(1-\phi)$, $P I$ ve ϕD_0 parametrelerinde meydana gelen değişimler, uygulanan bu iki bileşiğin fotosentetik electron taşınım reaksiyonlarını olumlu yönde etkilediğini göstermektedir.

Buna göre $K_6[EDTPA]_2Cu$ ve $K[DETAPPA]Mn$ adlı bileşiklerin mısır yapraklarında fotosentetik pigment metabolizmasını olumlu etkilediği, muhtemelen sahip oldukları antioksidant etkiden dolayı yapraklardaki H_2O_2 ve MDA birikimini azalttığı ve böylece fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarını desteklediği söylenebilir. Bu nedenlerden dolayı ilgili iki bileşiğin laboratuvar çalışmalarında kontrollü koşullarda bitki yetiştirmek amacıyla kullanılan besin çözeltilerinde Cu ve Mn kaynağı olarak kullanılabilceği de ileri sürülebilir.

Sentezlenen bileşiklerin bitki beslemede şelatlı mikro besi gübreleri için ligand olarak kullanılabilmesi açısından, Hoagland çözeltisindeki diğer metallerle etkileşimlerinin ve kompleksleşme sabitlerinin ortaya konulması ve pH'a bağlı olarak bu kompleksleşme değerlerinin ve bitki besleme açısından etkilerinin avantaj ve dezavantaj oluşturacak şekilde ortaya konulması daha ileri çalışmalar olarak önerilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] Bhat N.R., Suleiman M.K., Abdal M. 2009. Selection of crops for sustainable utilization of Land and Water resources in Kuwait, *World J. of Agric, Sci.*, 5(2): 201-206.
- [2] Okorie F.C. 2003. Studies on Drought in the Sub-Saharan Region of Nigeria using Satellite Remote Sensing and Precipitation Data; Department of Geography, of Lagos, Nigeria.
- [3] Mengel, K. Kirkby, E. V. Kosegarten, H., Appel, I. 2001. Principles of Plant Nutrition. Dordrecht: Kluwer Academic.
- [4] Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants (2. Basım). London: Academic Press.
- [5] White, P. J., Brown, P. H. 2010. Plant nutrition for sustainable development and global health, *Annals of Botany*, 105, 1073 -1080.
- [6] Gherardi, M. J., Rengel Z. 2004. The effect of manganese supply on exudation of carboxylates by roots of lucerne (*Medicago sativa*), *Plant Soil*, 260, 271-282.
- [7] Wang, H., Jin, J. Y. 2005. Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency, *Photosynthetica*, 43(4), 591-596.
- [8] Lidon, F. C., Barreiro, M., Ramalho, J. 2004. Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning, *Journal of Plant Physiology*, 161, 1235-1244.
- [9] Halliwell, B. 1987. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts, *Chemistry and Physics of Lipids*, 44, 327-340.
- [10] Tewari, R. K., Kumar, P., Sharma, N. P. N. 2005. Signs of oxidative stress in the chlorotic leaves of iron starved plants, *Plant Science*, 169, 1037-1045.
- [11] Sharma, P. N., Kumar, P., Tewari, R. K. 2004. Early signs of oxidative stress in wheat plants subjected to zinc deficiency, *Journal of Plant Nutrition*, 27, 451-463.

- [12] Çakmak, İ., Marschner, H. 1988. Zinc-dependent changes in ESR signals, NADPH oxidase and plasma membrane permeability in cotton roots, *Physiologiae Plantarum*, 73, 182-186.
- [13] Marschner, H., Çakmak, İ. 1989. High light intensity enhances chlorosis and necrosis in leaves of zinc, potassium, and magnesium deficient bean (*Phaseolus vulgaris*) plants, *Journal of Plant Physiology*, 134, 308-315.
- [14] Tewari, R. K., Kumar, P., Sharma, P. N. 2013. Oxidative stress and antioxidant responses of mulberry (*Morus alba*) plants subjected to deficiency and excess of manganese, *Acta Physiologia Plantarum*, 35, 3345-3356.
- [15] Kaçar, B., Katkat, A. V., Öztürk, Ş. 2006. *Bitki Fizyolojisi*, Ankara : Nobel Yayınları.
- [16] Foyer, C. H., Descourvieres, P., Kunert, K. J. 1994. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants, *Plant, Cell and Environment*, 17, 507-523.
- [17] Kingston-Smith, A. H., Harbinson, J., Foyer, C. H. 1999. Acclimation of photosynthesis, H₂O₂ content and antioxidants in maize (*Zea mays*) grown at sub-optimal temperatures, *Plant, Cell and Environment*, 22, 1071-1083.
- [18] Keleş, Y., Öncel, I. 2002. Response of antioxidative defence system to temperature and water stress combination in wheat seedlings, *Plant Science*, 163, 783-790.
- [19] Ekmekçi, Y., Terzioğlu, S. 2005. Effects of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 83, 69-81.
- [20] Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants* (2. Basım). London: Academic Press.
- [21] Iturbe-Ormaetxe, J. F., Moran, C., Arrese-Igor, Y., Gogorcena, R. V., Klucas, M. B. 1995. Activated oxygen and antioxidant defences in iron-deficient pea plants, *Plant, Cell and Environment*, 18, 421– 429.
- [22] Ishikawa, T., Madhusudhan, R., Shigeoka, S. 2003. Effect of iron on the expression of ascorbate peroxidase in *Euglena gracilis*, *Plant Science*, 165, 1363–1367.
- [23] Zaharieva, T. B., Gogorcena, Y., Abadia, J. 2004. Dynamics of metabolic responses to iron deficiency in sugar beet roots, *Plant Science*, 166, 1045–1050.

- [24] Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B., Soldatini, G. F. 2001. Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower, *Journal of Experimental Botany*, 52, 25–35.
- [25] Maxwell, K., Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide, *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-668.
- [26] Epron, D., Dreyer, E., Breda, N. 1992. Photosynthesis of oak trees (*Quercus petraea* (Matt) Liebl.) during drought stress under field conditions: diurnal course of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II, *Plant Cell and Environment*, 15, 809-820.
- [27] Fracheboud, Y., Leipner, J. 2003. The application of chlorophyll fluorescence to study light, temperature, and drought stress. *Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology*, Springer, pp. 125-150.
- [28] Hamerlynck, E. P., Huxman, T. E. 2009. Ecophysiology of two Sonoran Desert evergreen shrubs during extreme drought, *Journal of Arid Environment*, 73(45), 582-585.
- [29] Dobra, J., Motyka, V., Dobrev, P., Malbeck, J., Prasil, I. T., Haisel, D. 2010. Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content, *Journal of Plant Physiology*, 167(16), 1360-1370.
- [30] Eberhard, S. 2008. The dynamics of photosynthesis, *Annual Review of Genetic*, 42, 463–515.
- [31] Hansch, R., Mendel, R. R. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl), *Current Opinion in Plant Biology*, 12, 259-266.
- [32] Sharma, P. N., Kumar, N., Bisht, S. S. 1994. Effect of zinc deficiency on chlorophyll content, photosynthesis and water relations of cauliflower plants, *Photosynthetica*, 30, 353-359.
- [33] Hacısalihoğlu, G., Hart, J. J., Wang, Y., Çakmak, İ., Kochian, L. V. 2003. Zinc efficiency is correlated with enhanced expression and activity of Cu/Zn superoxide dismutase and carbonic anhydrase in wheat, *Plant Physiology*, 131, 595-602.
- [34] Kabata, A., Pendias, H. 2001. Trace elements in soils and plants (Üçüncü basım). USA: CRC Press.

- [35] Kriedemann, P. E., Graham, R. D., Wiskich, J. T. 1995. Photosynthetic dysfunction and in vivo changes in chlorophyll a fluorescence from manganese-deficient wheat leaves, *Australian Journal of Agricultural Research*, 36(2), 157-169.
- [36] Henriques, F. S. 2003. Gas exchange, chlorophyll a fluorescence kinetics and lipid peroxidation of pecan leaves with varying manganese concentrations, 165(1), 239-244.
- [37] Morgan H. D. K., Gilbert T. 1920. Researches on residual affinity and coordination. Part II. Acetylacetones of selenium and tellurium, *J. Chem. Soc., Trans.*, vol. 117, 1456.
- [38] Deacon M., Smyth M.R., Tuinstra L.G.M.T., 1994. *J. Chromatogr.*, 659, 349.
- [39] Metzler, D. E., 1952. Some Transamination Reactions Involving Vitamin B6, *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 979-983.
- [40] Bekaroğlu Ö.,1972- Koordinasyon Kimyası- İstanbul Üni. Yayınları-1972-İstanbul -Sayfa 2-11.
- [41] Black, D. S. C., 1973. Ligand Design and Synthesis, *Coord. Chem. Rev.*, 9 (3), 219-274.
- [42] Pesavento, M. ve Soldi, T., 1983. Spectrophotometric Study and Analytical Applications of the Complexes of Copper(II) and Zinc(II) with Some Sulfonated Azo Dyes, *Analyst*, 108 (1290), 1128-1134.
- [43] Serindağ, O., 2009, *Metaller ve Tıbbi Anorganik Kimya. II. Ulusal Anorganik Kimya Kongresi. Elazığ, Fırat Üniversitesi.*
- [44] Luzzio, F. A., Guziec, F. S. Jr., 1988. Recent applications of oxochromiumamine complexes as oxidants in organic synthesis, *Organic Preparations and Procedures International*, 6, 84-533.
- [45] Wiberg, K. B. 1965. Oxidation by chromic acid and chromyl compounds, *Oxidation Organic Chemistry*, 69-184.
- [46] Marko, I. E., Giles, P. R., Tsukazaki, M., Gautier, A., Dumeunier, R., Dodo, K., Philippart, F., Chelle-Regnault, I., Mutonkole, J.-L., Brown, S. M., Urch, C. J., 2004. Aerobic metal-catalyzed oxidation of alcohols, *Transition metal Organic Synthesis* , 2, 437-478.
- [47] Knepper T.P., 2003. Synthetic chelating agents and compounds exhibiting complexing properties in the aquatic environment. *Trends Analyt Chem* 22:708–724.

- [48] Nowack, B., VanBriesen, J.M., 2005. Chelating agents in the environment. In: Nowack, B., VanBriesen, J.M. (ed.) Biogeochemistry of chelating agents. ACS Symposium Series, Washington DC, pp 1-18.
- [49] Potos, C., 1965. Effects of EDTA on wastewater treatment. *J Water Pollut Control. Fed* 37, 1247-1255.
- [50] Vanezky D.L., Rudzinski W.E., 1984. *Anal. Chem.*, 56, 315.
- [51] EC, European Commission, 2005. Integrated pollution prevention and control. Reference document on best available techniques for the surface treatment of metals and plastics, 546.
- [52] Quitmeyer, J.A., 2006. Surfactants in aqueous cleaners – compounds aid in the wetting and sheeting properties of a liquid and enhance rinsing characteristics of a fluid, *Metal Finishing* 104:27-30.
- [53] Dow, the Dow Chemical Company, 2006. Product safety assessment: salts of EDTA, the Dow Chemical Company, MI, USA, 5.
- [54] Virtapohja, J., 1998. Fate of chelating agents used in the pulp and paper industries. Doctoral dissertation, University of Jyväskylä, Jyväskylä, Finland, 58.
- [55] Jäger, H.U., Schul, W. 2001. Alternativen zu EDTA. *Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fisch- und Flußbiologie* 54:207-226.
- [56] Schmidt, C.K., Fleig, M., Sacher, F., Brauch, H.J., 2004. Occurrence of aminopolycarboxylates in the aquatic environment of Germany. *Environ Pollut* 131:107-124.
- [57] Davenport, B., Kishi, A., Schlag, S., 2006. CEH report: chelating agents. SRI Consulting, Menlo Park, CA, USA.
- [58] Clemens, D. F., Whitehurst, G. M., Whitehurst, B., 1990. Chelates in agriculture, *Fertilizer Research* Volume 25, Issue 2, pp 127–131.
- [59] Gherardi, M. J., Rengel Z. 2004. The effect of manganese supply on exudation of carboxylates by roots of lucerne (*Medicago sativa*), *Plant Soil*, 260, 271-282.
- [60] Molassiotis, A., Tanou, G., Diamantidis, G., Patakas, A., Therios, I. 2006. Effects of 4-month Fe deficiency exposure on Fe reduction, mechanism, photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant defence in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance, *Journal of Plant Physiology*, 163, 176-185.

- [61] Satoshi, M., Kyoko, H., Kazuya, S., Naoko, N., Hiromi, N. 2008. Nicotianamine synthase and gene encoding the same, 2008-09-25, US2008233627 (A1) patent application.
- [62] Tsednee, M., Mak, Y. W., Chen, Y. R., Yeh, K. C. 2012. A sensitive LC-ESI-Q-TOF-MS method reveals novel phytosiderophores and phytosiderophore-iron complexes in barley, *New Phytologists*, 195, 951-961.
- [63] Peng, G. X., Fusuo, Z., Hoffland, E. 2009. Malate exudation by six aerobic rice genotypes varying in zinc uptake efficiency, *Journal of Environmental Quality*, 38, 2315-2321.
- [64] Kozik, A., Matvienko, M., Kozik, I., van Leeuwen, H., Van Deynze, A., Michelmore, R.M. 2008. Eukaryotic ultra conserved orthologs and estimation of gene capture in EST libraries *Plant and Animal Genomes Conference 16*: P6.
- [65] Lindsay, W. L., Norvell, W. A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper, *Soil Science Society of America Journal*, 42, 6421-6428.
- [66] Chen, Y., Barak, P., 1982. Iron nutrition of plants in calcareous soils iron deficiency, soil amendments. *Adv Agron* 35:217-240.
- [67] Mengel, K., Kirkby, E., 2001. *Principles of Plant Nutrition*, fifth ed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 585-597.
- [68] Heintz, W. 1862. *Über dem amoniaktypus angehorige suren*. *Analytical Chemistry and Pharmacy*, Vol. 122, pp. 257-294.
- [69] Zhao, F.J., Mcgrath, S. P., Blake-Cliff, M.M.A., Link, A., Tucker, M., 2002. Crop responses to sulphur fertilisation in Europe, *Proceedings No 504*. International Fertiliser Society, New York, UK, p.27.
- [70] ECB, European Chemical Bureau 2004. *European Union Risk Assessment Report 51*, Tetrasodium Ethylenediaminetetraacetate, 160.
- [71] Witschel, M.; Egli, T.; Zehnder, A.J.B.; Wehrli, E. & Spyeher, M., 1999. Transport of EDTA into cells of the EDTA degrading strain DSM 9103, *Microbiology*, Vol. 154, pp. 973-983.
- [72] Özdemir, S., Kahraman, A., 2015. *Toprak bilgisi ve bitki besleme*, 709-734.
- [73] Karaman, M. R., 2012. *Bitki Besleme*, Nisan. Gübretaş rehber kitaplar dizisi:2, 1. baskı Sayfalar 3-5, 282-297.

- [74] Larcher, W., 1995. Plants Under Stress, in Physiology, Larcher, W. (eds), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 321-448.
- [75] Sebanek, J. 1992. Plant Physiol., Elsevier Sci. Publishers, State Agr. Publishing House Prague., 215-269.
- [76] Kadioğlu, A., 2011. Bitki Fizyolojisi, Efsen Ofset Matbaacılık, 5. Baskı, 1-416.
- [77] Capell, T., Bassie, L., Christou, P., 2004. Modulation of the polyamine biosynthetic pathwa intragenic rice confers tolerance to drought stress, PNAS , 101 (26), 9909-9914.
- [78] M., Kutbay, G., 2004. Bitki Ekolojisi, Palme, Ankara, 333 – 348.
- [79] Madlung, A., Comaı, L., 2004. The Effect of Stress on Genom Regulation , Structure, Annals of Botany, 94, 481 – 495.
- [80] Lichtenhaler, 1998. The stress concept in plants: an introduction. Ann N Y Acad Sci. Jun 30;851:187-98.
- [81] Gaspar, T., Franck, T., Bisbis, B., Kevers, C., Jouve, L., Hausman, J.F., Dommès, J., 2002. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures Plant Growth Regulation, Volume 37, Issue 3, pp 263–285.
- [82] Hale, M. G., Orcutt, D. M., 1987. The Physiology of Plants under Stress, John Wiley & Sons Inc., New York, 1-4, 206.
- [83] Bray, E.A., Bailey- Serres, J., Weretilnyk, E., 2000. Responses to abiotic stresses, in Biochemistry and Moleculer Biology of Plants, Rockwille, Maryland, 1158-1202.
- [84] Doğru, A. 2006. Kolza (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*)’nın bazı kışlık çeşitlerinde düşük sıcaklık toleransı ile ilgili fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırılması. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü Doktora Tezi.
- [85] Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses, Water, Radiation, Salt and Other Stresses, second ed., vol. II, Academic Press, New York.
- [86] Huner, N.P.A. Öqüist, G., Sarhan, F. 1998. Energy balance and acclimation to light and cold. Trends in Plant Sci., 3(6), 224-230.
- [87] Alexieva, V., Ivanov,S., Sergiev, I., Karanov, E., 2003. Interaction Between Stresses, Bulg. J., Plant Physiol., Special Issue, 1-17.

- [88] Vinocur, B., Altman, A., 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 16(2), 123-132.
- [89] Kant, P., Gordon, M., Kant, S., Zolla, G., Davydov, O., Heimer, Y.M., Chalifa-Caspi, V., Shaked, R., And Barak, S., 2008. Functional-genomicsbased identification of genes that regulate Arabidopsis responses to multiple abiotic stresses, *Plant Cell Environ.*, 31, 697–714.
- [90] Mahajan, S., Tuteja, N., 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview, *Arch. Biochem. Biophys.*, 444, 139-158.
- [91] Kadioğlu, A., 2007. *Bitki Fizyolojisi*, Efsen Ofset Matbaacılık, Trabzon, 406.
- [92] Blum, A., 1986. Breeding crop varieties for stress environments, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 2, 199-23.
- [93] Chopra, R.K., Devershğ, S.S., 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than- susceptible wheat cultivar under field conditions, *Enviromental and Experimental Botany*, 60, 276-283.
- [94] Hirt, H., Shinozaki, K., 2006. *Plant Responses to Abiotic Stress*, Germany, 300.
- [95] Halilova, H., 1996. Mikroelementlerin biyojeokimyası ve çevredeki yeri, *Tarım ve Köy Dergisi III*, Ankara, 52-53.
- [96] Arnon, I., 1975. *Mineral Nutrition of Maize*. IPI Bern-Switzerland, 452.
- [97] Barker, A.V., Pilbeam, D.J., 2006. *Handbook of Plant Nutrition*. CRC Press, Taylor and Francis Group.
- [98] Tisdale, S.,L., Nelson, W.,L., Beaton, J.,O., 1985. *Soil Fertility and Fertilizers*. Macmillan Publishing Company, New York. 4th Ed. P. 1-754.
- [99] Bergmann, W. 1992. *Nutritional disorders of plants. Development, Visual and Analytical Diagnosis*. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, New York.
- [100] FAO, 1984. *Fertilizer And Plant Nutrition Guide*, Fao Fertilizer And Plant Nutrition Bulletin 9. Rome, İtaly.
- [101] Sağlam, T., Bahtiyar, M., Cangir C., Tok, H. A., 1993. *Toprak Bilimi*, Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi, 1, 2-3,17-23.

- [102] Bakırcıoğlu, D., 2009. Toprakta Makro Ve Mikro Element Tayini, Trakya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Doktora Tezi 42-43.
- [103] Eyal R., 2007. Practical Hydroponics & Greenhouses, Micro elements in agriculture, 39, 41-48.
- [104] Brandy, N.,C., Weil, R., R., 2008. The Nature and Properties of Soils 14th ed., Upper Saddle River NJ, 9990.
- [105] Güneş A., Alpaslan, M., İnal A., 2000. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, toprak bölümü, 425- 428.
- [106] Kaçar, B., Katkat, A. V., 1998. Bitki besleme. Uludağ üni güçlendirme vakfi yayın no : 127 vıpaş yayınları: 3, 395-404.
- [107] Sezen, Y., 2005. Toprak verimliliği. Atatürk üniversitesi ziraat fak. Ders notları.
- [108] Dion, H.G., Mann P.J.G., 1946. Trivalent manganese in soils j. Agric. Sci. 36: 239-245.
- [109] Barber, S.A., 1995. Soil Nutrient Bioavailability: A Mechanistic Models. 2nd Ed. John Wiley and Sons Inc. New York.
- [110] Reuter, D.J., Heard, T.G., Alston, A.M., 1973. Correction of manganese deficiency in barley crops on calcareous soils. 2. Comparison of mixed and compound fertilizers. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb. 13: 440- 445.
- [111] Mortvedt, J.J., 1982. Calcium, magnesium, sülfür, and micronutrients. P. 91-110. In: The Fertilizer Handbook. (W.C., White, and D.N. Collins, eds.). The Fertilizer Institute, Washington, D.C.
- [112] Reid, J.M., Racz, G.J., 1985. Effects of soil temperature on manganese availability to plants grown on an organic soil. Can. J. Soil Sci. 65: 769-775.
- [113] Stahlberg, S., Sombatpanit, S., 1974. Manganese relationships of soil and plant. I. Investigation and classification of Swedish manganese-deficient soils. Acta. Agric. Scand. 24: 179-194.
- [114] Elstner, E.F., 1982. Oxygen activation and oxygen toxicity. Annu. Rev. Plant Physiol. 33: 73-96.
- [115] Fridovich, I., 1983. Superoxide radical: an endogenous toxicant. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 23: 239- 257.

- [116] Farley, R.F., Draycott, A.P., 1973. Manganese deficiency of sugar beet in organic soil. *Plant Soil* 38: 235- 244.
- [117] Güneş A., Alpaslan, M., İnal A., 2000. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, toprak bölümü, 425- 428.
- [118] McLaren, R.G., Crawford, D.V., 1973. Studies on soil copper I. The fractionation of Cu in soils. *J. Soil Sci.* 24: 172-181.
- [119] Schmid, W.E., Haag, H.P., Epstein, E., 1965. Adsorption of zinc by excised barley roots. *Physiol. Plant* 18: 860-869.
- [120] Bowen, J.E., 1969. Adsorption of copper, zinc and manganese by sugar cane tissues. *Plant Physiol.* 44:255-261.
- [121] Bergmann, W., 1988. Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen. Entstehung, visuelle und analytische Diagnose. Fischer Verlag, Jena.
- [122] Aktaş, M., 1998, Bitkilerde Beslenme Bozuklukları. Engin Yayınevi, Nürol Matbaacılık A.Ş. Ankara.
- [123] Mengel, K., Kirkby, E.A. 2001. Principles of Plant Nutrition. 5 th Edition. Kluwer Academic Publishers. ISBN: 1-4020-0008-1, Dordrecht, The Netherlands.
- [124] Güzel, N., Gülüt, K.Y., Büyük, G., 2002. Toprak verimliliği ve gübreler. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No: 246.
- [125] Marschner, H. 2008. Mineral Nutrition of Higher Plants. Digital Print. Academic Press., 889.
- [126] Thiel, H., Finck, A., 1973. Ermittlung von Grenzwerten optimaler Kupfer- Versorgung für Hafer und Sommergerste. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 134: 107- 125.
- [127] Robson, A.D., Reuter, D.J., 1981. Diagnosis of copper deficiency and toxicity. In *Copper in Soils and Plants.* (J.F. Loneragan, ed.) Academic Press, Sydney, Australia. 313-350.
- [128] Graham, R.D., 1976. Anomalous water relations in copper-deficient wheat plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 3: 229-236.
- [129] Halliwell, B. 2006. Reactive species and antioxidants. redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.*, 141, 312-322

- [130] Del Rio, L.A. Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Palma, J.M., Barroso, J.B., 2006. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiol.*, 141, 330-335.
- [131] Navrot, N. Rouhier, N., Gelhaye, E., Jaquot, J.P., 2007. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Plant Physiol.*, 129, 185-195.
- [132] Foyer, C.H. Noctor, G. 2005. Redox homeostis and antioxidant signaling: ametabolic Interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell.*, 17, 1866-1875.
- [133] Bhattachrjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plant. *Curr. Sci.*, 89, 1113-1121.
- [134] Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.*, 7, 405-410.
- [135] Apel, K. Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stres, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55: 373-399.
- [136] Khan, N.A., Singh S., 2008. *Abiotic Stress and Plant Responses*, IK International, New Delhi.
- [137] Pfannschmidt, T., 2003. Chloroplast redox signals: how photosynthesis controls its own genes. *Trends Plant Sci.*, 8, 33-41.
- [138] Takahashi, M., Shiraishi, T., Asada, K., 1988. Superoxide production in aprotic interior of chloroplast thylakoids. *Arch. Biochem. Biophys.*, 267 14-722.
- [139] Vranova, E., Atichartpongkul, S., Villarroel, R., Montagu, M.V., Inze, D., Camp, W.V., 2002. Comprehensive analysis of gene expression in *Nicotiana tabacum*. leaves acclimated to oxidative stress. *Proc. Natl. Acad Sci. U.S.A.* 99, 870-875.
- [140] Vranova, E. Inze, D., Van Brensegem, F., 2002. Signal transduction during oxidative stress. *J. Exp. Bot.*, 53, 1227–1236.
- [141] Quan, L.J., Zhang, H.Y., Shi, B., Li, W.W., 2008. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. *J. Integrat. Plant Biol.*, 50, 2-18.
- [142] Moller, I.M., 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 52, 561-591.

- [143] Raha, S., Robinson, B.H., 2000. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Bio. Sci.*, 25, 502-508.
- [144] Sweetlove, L.J., Foyer, C.H., 2004. Roles for reactive oxygen species and antioxidants in plant mitochondria. in: D.A. Day, A.H. Millar, J. Whelan (Eds.), *Plant Mitochondria: From Genome to Function, Advances in Photosynthesis and Respiration*, vol. 1. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands, 307-320.
- [145] Alscher, R. G., Donahue, J. L. and Cramer, C. L., 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells, *Physiologia Plantarum*, 100, 224-233.
- [146] Büyük İ., Soydam-Aydın, S., Aras, S., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 69(2): 97-110.
- [147] Smirnoff N., 2005. Ascorbate, Tocopherol and Carotenoids: Metabolism, Pathway Engineering and Functions. In: Smirnoff N, ed. *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 53-86.
- [148] Yarıktaş, M., Döner, F., Doğru, H., Aynalı, G., Yönden, Z., Delibaş, N., 2003. BaşBoyun Malign Tümörlerinde Malondialdehit Düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri, *S.D.Ü Tıp Fakültesi Dergisi*, 10-(4), 65-67.
- [149] Tosun, D., Karadeniz, B., 2005. Çay ve Çay Fenoliklerinin Antioksidan Aktivitesi”, *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 20(1):78-83.
- [150] Kızıl, Ö., Gül, Y., 2004. Şap aşısı uygulanan besi sığırlarında antioksidan vitaminlerin klinik ve bazı hematolojik parametreler ile antioksidan enzim ve lipit peroksidasyon düzeylerine etkileri. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 18(2), 97- 106.
- [151] Yüce, A., Aksakal, M., 2007. Ratsların Karaciğer ve Testis Dokusundaki Antioksidan Aktivite Üzerine Nar Suyunun Etkisi, *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 21 (6): 253 – 256.
- [152] Savoure, A., Thorin, D., Davey, M., Hua, X. J., Mauro, S., Van Montagu, M., 1999. NaCl and CuSO₄ treatments trigger distinct oxidative defence mechanisms in *Nicotiana plumbaginifolia* L., *Plant Cell and Environment*, 22, 387-396.
- [153] Çakmak, I., Horst, W. J., 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*), *Physiologia Plantarum*, 83, 463-468.

- [154] Dat, J. F., Lopez-Dalgado, H., Foyer, C. H. and Scott, I. M., 1998. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings, *Plant Physiology*, 116, 1351-1357.
- [155] Ekmekçi, Y., Terzioğlu, S., 2005. Effects of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 83, 69-81.
- [156] Keleş, Y., Öncel, I., 2002. Response of antioxidative defence system to temperature and water stress combination in wheat seedlings, *Plant Science*, 163, 783-790.
- [157] Kingston-Smith, A. H., Harbinson, J., Foyer, C. H., 1999. Acclimation of photosynthesis, H₂O₂ content and antioxidants in maize (*Zea mays*) grown at sub-optimal temperatures, *Plant, Cell and Environment*, 22, 1071-1083.
- [158] Giardi, M. T., Masojidek, J., Godde, D., 1997. Effect of abiotic stresses on the turnover of the D1 reaction centre II protein, *Physiologia Plantarum*, 101, 635-642.
- [159] Runeckles, V. C., Vaartnou, M., 1997. EPR evidence for superoxide anion formation in leaves during exposure to low levels of ozone, *Plant Cell and Environment*, 20, 306-314.
- [160] Smirnoff, N., 1998. Plant resistance to environmental stress, *Current Opinion in Biotechnology*, 9, 214-219.
- [161] Surplus, S. L., Jordan, B. R., Murphy, A. M., Carr, J. P., Thomas, B., Meckerness, S. A. H., 1998. Ultraviolet-B-induced responses in *Arabidopsis thaliana*: role of salicylic acid and reactive oxygen species in the regulation of transcripts encoding photosynthetic and acidic pathogenesis-related proteins, *Plant Cell and Environment*, 21, 685-694.
- [162] Biswal, B. Joshi, P.N., Raval, M.K., Biswal, U.C. 2011. Photosynthesis, a global sensor of environmental stress in green plants: stress signalling and adaptation. *Curr. Sci.*, 101, 47-56.
- [163] Mittal, S., Kumari, N., Sharma, V., 2012. Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. *Plant Physiol. Bio.*, 54, 17-26.
- [164] Mitsuya, S., Takeoka, Y., Miyake, H. 2000. Effects of sodium chloride on foliar ultrastructure of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) plantlets grown under light and dark conditions in vitro. *J. Plant Physiol.*, 157, 661-667.

- [165] Khavarinejad, R.A., Mostofi, Y., 1998. Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. *Photosynthetica.*, 35, 151–154.
- [166] Agastian, P., Kingsley, S.J., Vivekanandan, M., 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica.*, 38, 287–290.
- [167] Wang, Y., Nil, N., 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphatecarboxylase– oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *J. Hortic. Sci. Bio.*, 75, 623–627.
- [168] Chutipaijit, S., Cha-um, S., Sompornpailin, K., 2011. High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. indica. *Aust. J. Crop Sci.*, 5, 1191–1198.
- [169] Maxwell, K. Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence – A practical guide. *J. Exp. Bot.*, 51, 659–668.
- [170] Belkhodja, R., Morales, F., Abadia, A., Gomez-Aparisi, J. 1994. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiology*, 104: 667-673.
- [171] Kayabaşı, S., 2011. Kuraklık stresinde yetiştirilen soyada (*Glycine max* L.) bazı fizyolojik parametreler ile prolin birikiminin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.
- [172] Bray, E., 1997. Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science*, 2: 48-54.
- [173] Günay, A., 2005. Sebze Yetiştiriciliği. Cilt I, ISBN 975-00725-0-2, İzmir.
- [174] Sağlam, A., 2004. Ağır kuraklık stresi geçirmiş *Ctenanthe setosa* bitkisinin yeni kuraklık koşullarına adaptasyon yeteneğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- [175] Jones, M.M., Turner, N.C. 1978. Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits. *Plant Physiology*, 61: 122-126.
- [176] Kratsch, H.A., Wise, R.R., 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant Cell Environ.* 23, 337-350.
- [177] Saltveit, M.E., Morris, L.L., 1990. Overview of chilling injury in horticultural crops. *Chilling Injury of Horticultural Crops*, Eds: C.Y. Wang, ss. 3-15, CRC Press, Boca Raton, FL.

- [178] Paul, M.J., Foyer C.H., 2001. Sink regulation of photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 52, 1383-1400.
- [179] Ensminger, I., Busch, F., Huner, N.P.A., 2006. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis. *Physiol. Plantarum* 126, 28-44.
- [180] Allen, D.J., Ort, D.R., 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm climate plants. *Trends Plant Sci.* 6, 36-42.
- [181] Sidsel B. S., Poul E. J., Søren H., 2016. *Trends in Plant Science*, Vol. 21, No. 7.
- [182] Santos E.F., 2017. *Plant Physiology and Biochemistry* 113, 6-19.
- [183] Burnell, J.M., 1988. The biochemistry of manganese in plants. In: Graham, R.D., Hannam, R.J., Uren, N.C.(Eds.), *Manganese in Soils and Plants. Proceedings of the International symposium on "Manganese in soils and plants"*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 125-137.
- [184] Hunt, S., 2003. Measurement of photosynthesis and respiration in plants. *Plant Physiol.*, 117, 314-325.
- [185] Baker, N. R., Rosenqvist, E., 2004. Application of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.*, 55(403), 1607-1621.
- [186] Kün, E., 1997. *Tahıllar II (Sıcak iklim tahılları)*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 1452, Ders Kitabı No: 432, Ankara.
- [187] Tümertekin, E., Özgüç, N., 1997. *Ekonomik Coğrafya*, Çantay Kitabevi, İstanbul, 155-156.
- [188] Tüik, 2014. www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002., Erişim Tarihi: 12.06.2018.
- [189] FAO, International Commodity Prices, <http://www.fao.org/es/esc/prices/PricesServlet.jsp?lang=en>., Erişim Tarihi: 12.06.2018.
- [190] www.tmo.gov.tr., Erişim Tarihi: 12.06.2018.
- [191] Castro, D. S., Morales, J. C., 2012. Solubilization and anticancer-activity enhancement of Methotrexate by novel dendrimeric nanodevices synthesized in one-step reaction” , *Bioorganic Chemistry* 41-42 13–21.

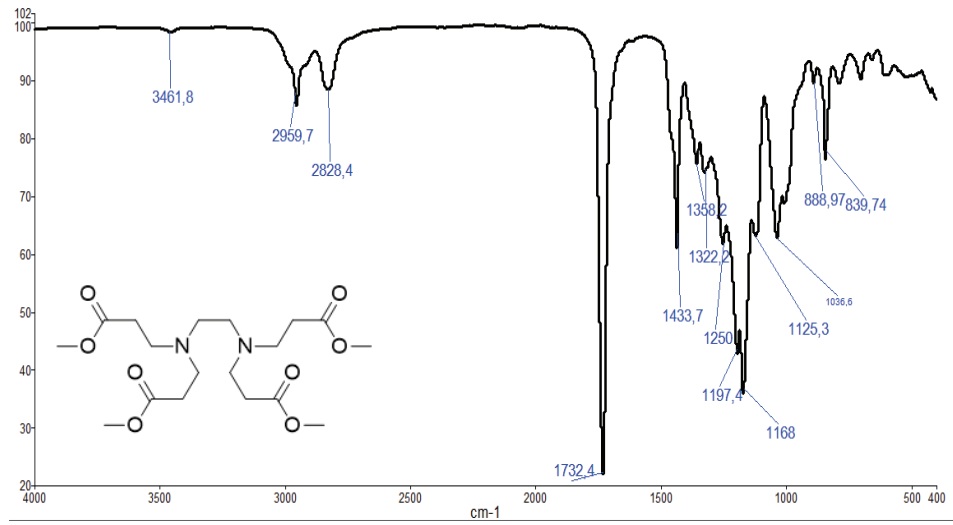
- [192] Frost, H. A. E., Freedmans, H., Westerbacakn, J., Martel, D. A. E., 1957. Chelating Tendencies of N,N'-Ethylenebis- [Z-(0-hydroxyphenyl)]-glycine. *J. Am. Chem. Soc.*, 530-536.
- [193] Fernández, A. A., Garcia-Marco, S., 2005. Evaluation of synthetic iron(III)-chelates (EDDHA/Fe³⁺, EDDHMA/Fe³⁺ and the novel EDDHSA/Fe³⁺) to correct iron chlorosis, *J.Europ. J. Agronomy*, 22, 119–130.
- [194] Yunta, F., Martín, I., Lucena, J.J., Gárate, A., 2013. Iron Chelates Supplied Foliarly Improve the Iron Translocation Rate in Tempranillo Grapevine, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44, 794–804.
- [195] Mitschker, A., Moritz, R. J., Nawrocki, A., 2004. Chelated plant micronutrients. Eur. Patent EP 1411037A1, 20040421 application.
- [196] Nadal, P., Hernández-Apaolaza, L., Lucena, J. J., 2009. Effectiveness of N,N'-Bis(2 hydroxy-5- methylbenzyl) ethylenediamine-N,N'-diacetic acid (HJB) to supply iron to dicot plants, *Plant Soil*, 325:65–77.
- [197] Hyvönen, H., M. Orama, H. Saarinen, and R. Aksela 2003. Studies on biodegradable chelating agents: Complexation of iminodisuccinic acid (ISA) with Cu(II), Zn(II), Mn(II), and Fe(III) ions in aqueous solution. *Green Chemistry* 5:410–414.
- [198] Chalmers, R. A., *Chemistry of Complex Equilibria*, London, 1970, 32 V. N. R. Company.
- [199] Bjerrum, N., *Z. Anorg. Chem.*, 1921, 118, 131.
- [200] Ahmad S., Rao, G.S., 1997. EDTA: An Alternative Spectrophotometric Reagent for Iron Estimation *Journal of Analytical Toxicology*, Vol. 21.
- [201] Hoagland, D.R. 1920. Optimum nutrient solutions for plants, *Sci.* 52(1354),562-564.
- [202] Strasser R.J. Srivastava A., Tsimilli-Michael, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M., Pathre U., Mohanty P. (eds.): *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*. Taylor and Francis, London, 445–483.
- [203] Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods in Enzy.*, 148, 350-382.
- [204] Ohkawa, H. Ohishi, N., Yagi, Y. 1979. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Bio.*, 95, 351-358.

- [205] Beyer, W. F., Fridovich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.*, 161, 559- 566.
- [206] Wang, S.Y., Jiao, H., Faust, M., 1991. Changes in ascorbate, glutathione and related enzyme activity during thidiazuron-induced bud break of apple, *Plant Physiol.*, 82, 231-236.
- [207] Sgherri, C.L.M., Loggini, B., Puliga, S., Navari-izzo, F., 1994. Antioxidant system in *Sporobolus stapfianus*. changes in response to desiccation and rehydration. *Phytoche*, 35(3), 561-565.
- [208] Sanchez-Romero, C. Garcia-Gomes, M. L., Pliego-Alfaro, F., Heredis, A., 1993. Peroxidase activities and isoenzyme profiles associated with development of avocado (*Persea americana* M.) leaves at different ontogenetic stages. *Journal of Plant Growth Regu.*, 12, 95-100.

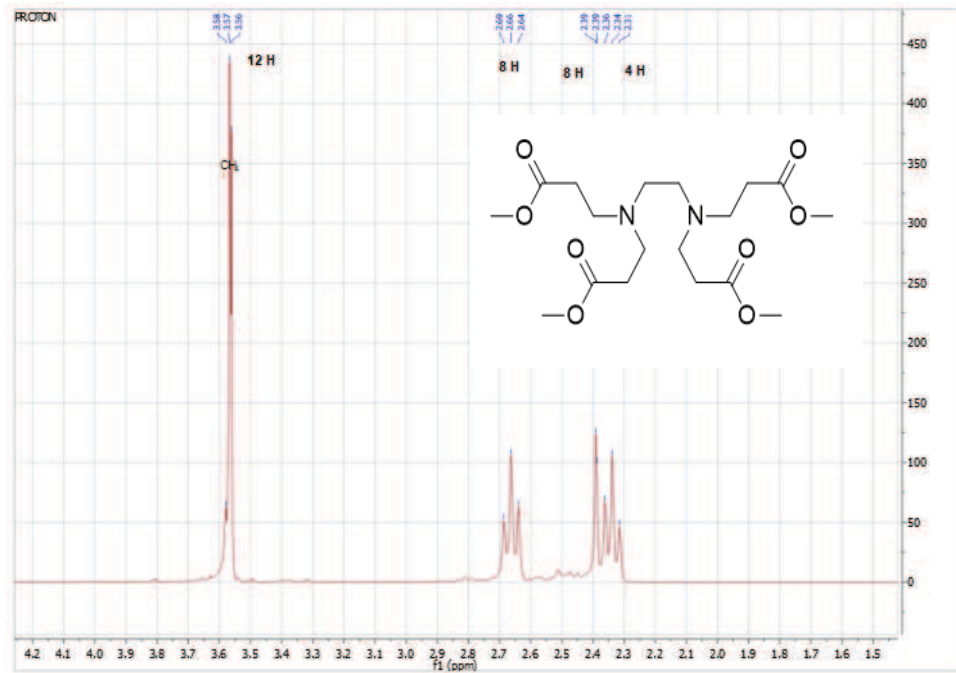
EKLER

EK A: Sentezlenen ligandların FT-IR ve NMR spektrumları ile komplekslerin FT-

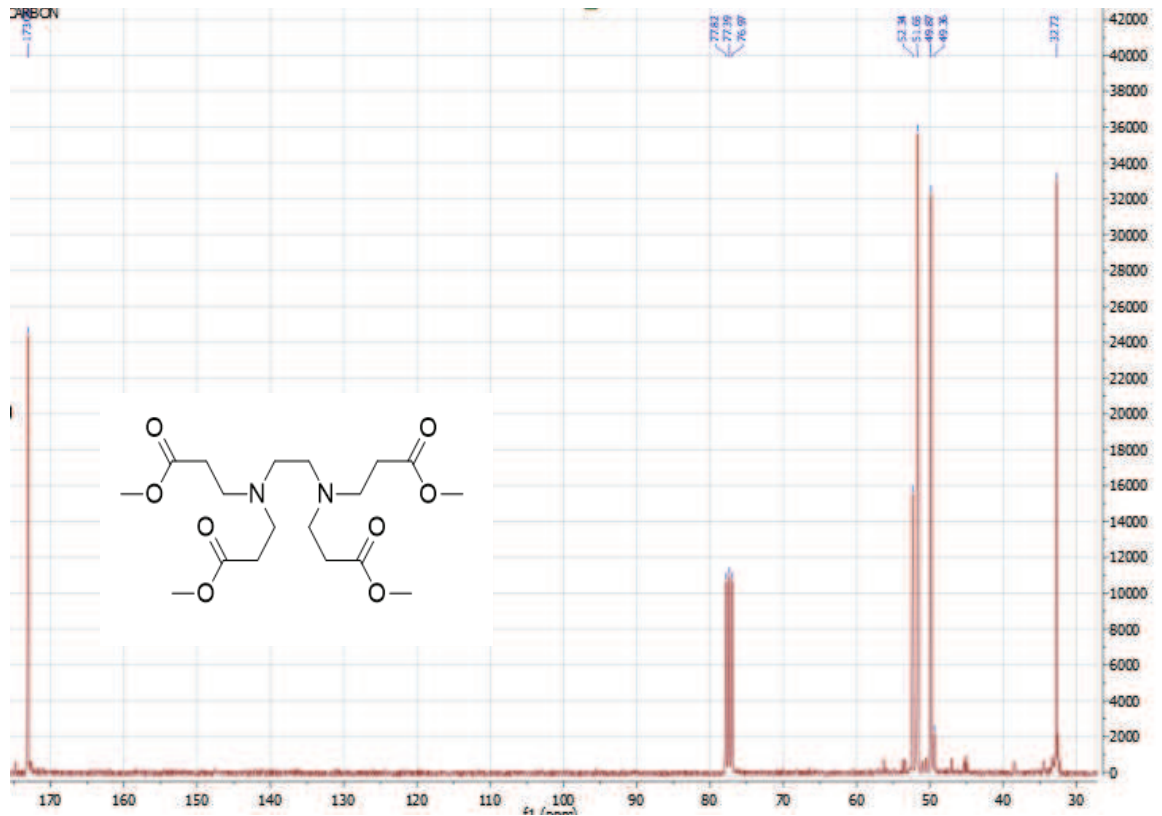
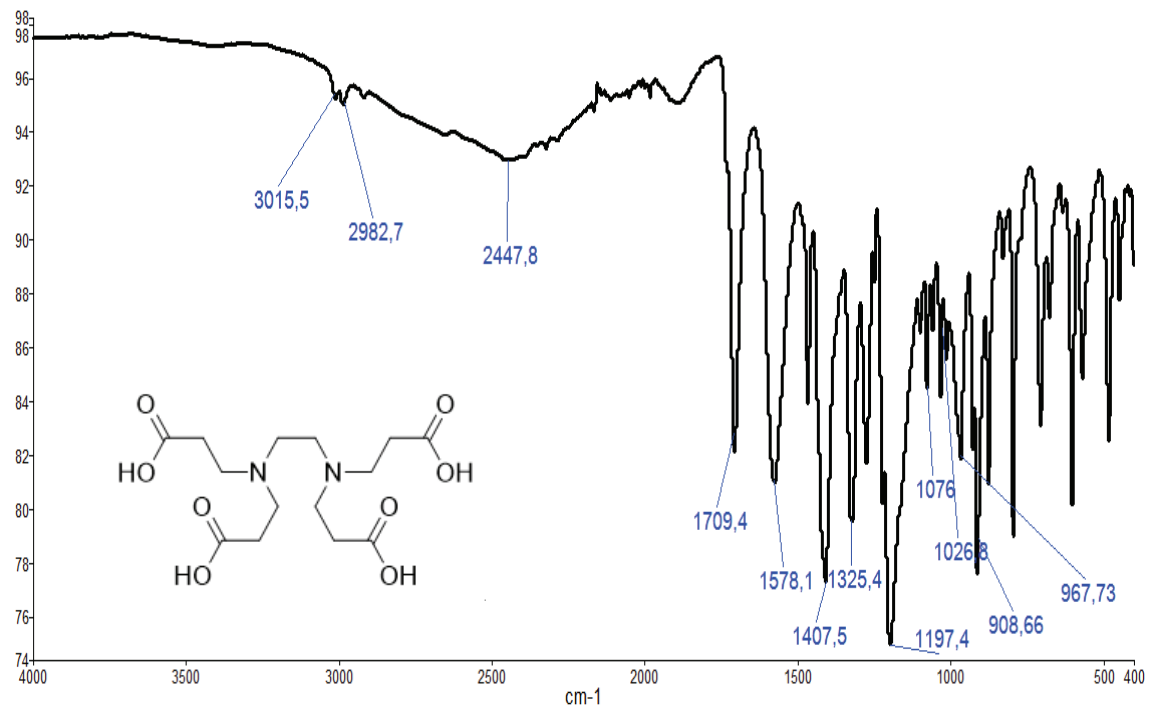
IR spektrumları



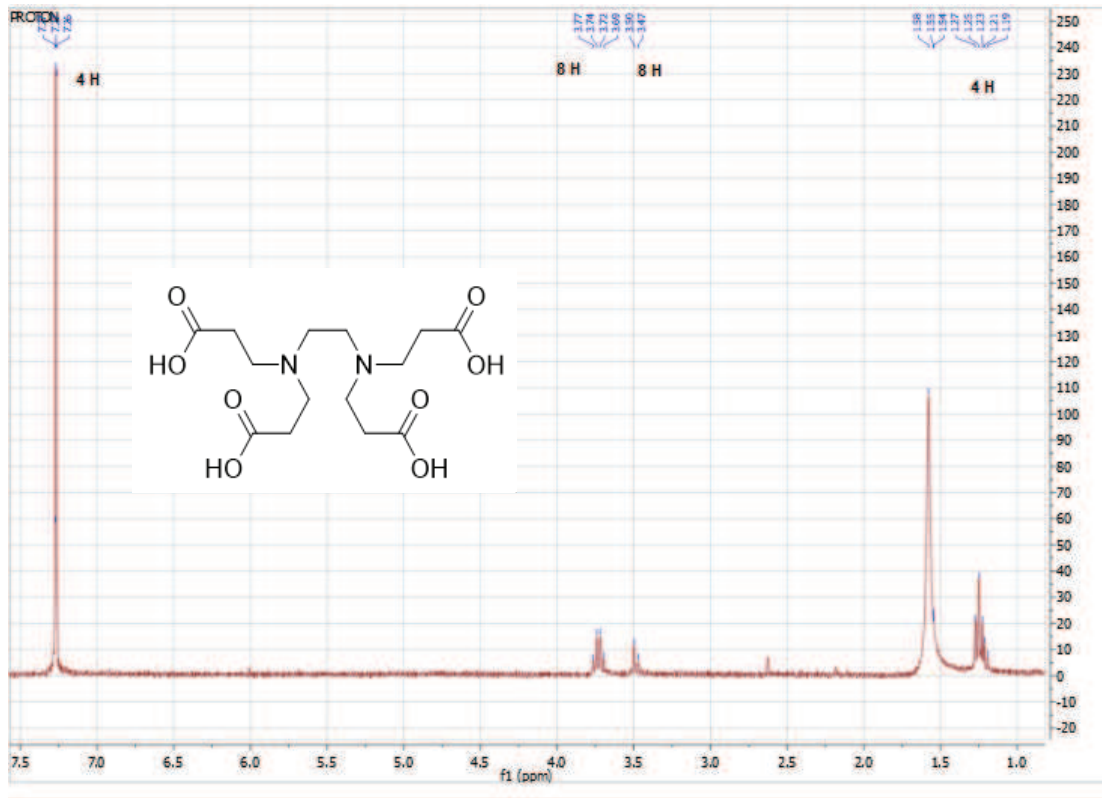
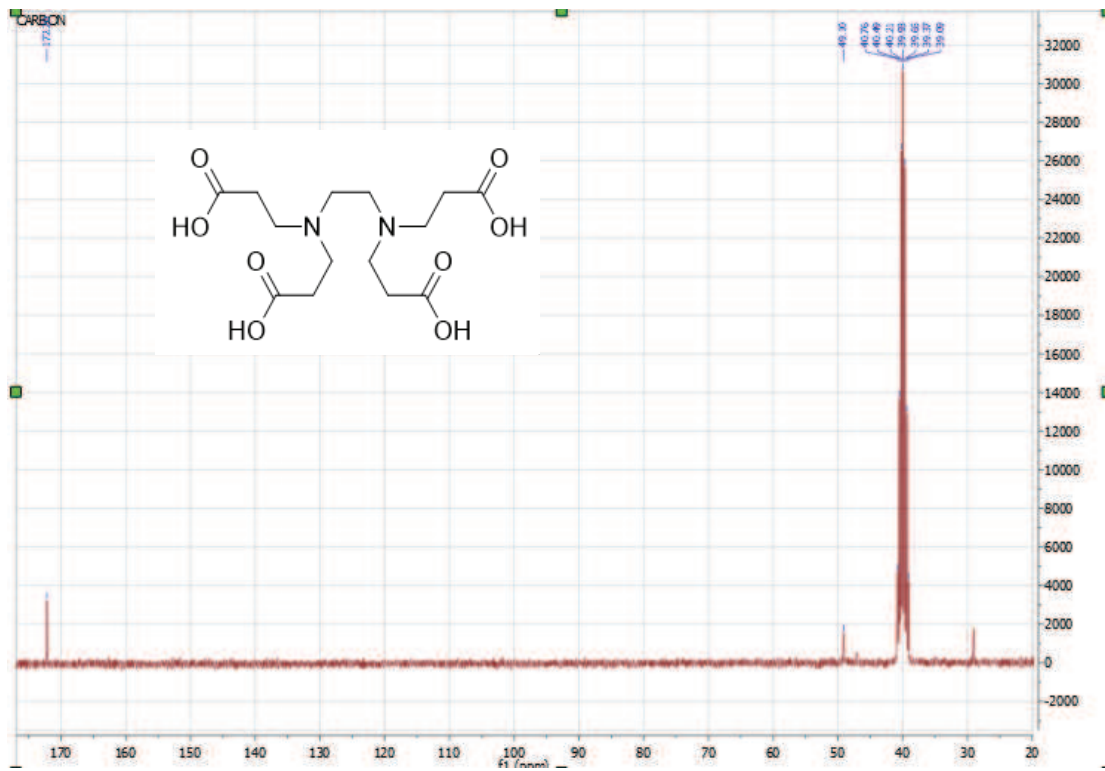
EK A.1. Etilediamintetrapropanat FT-IR spektrumu

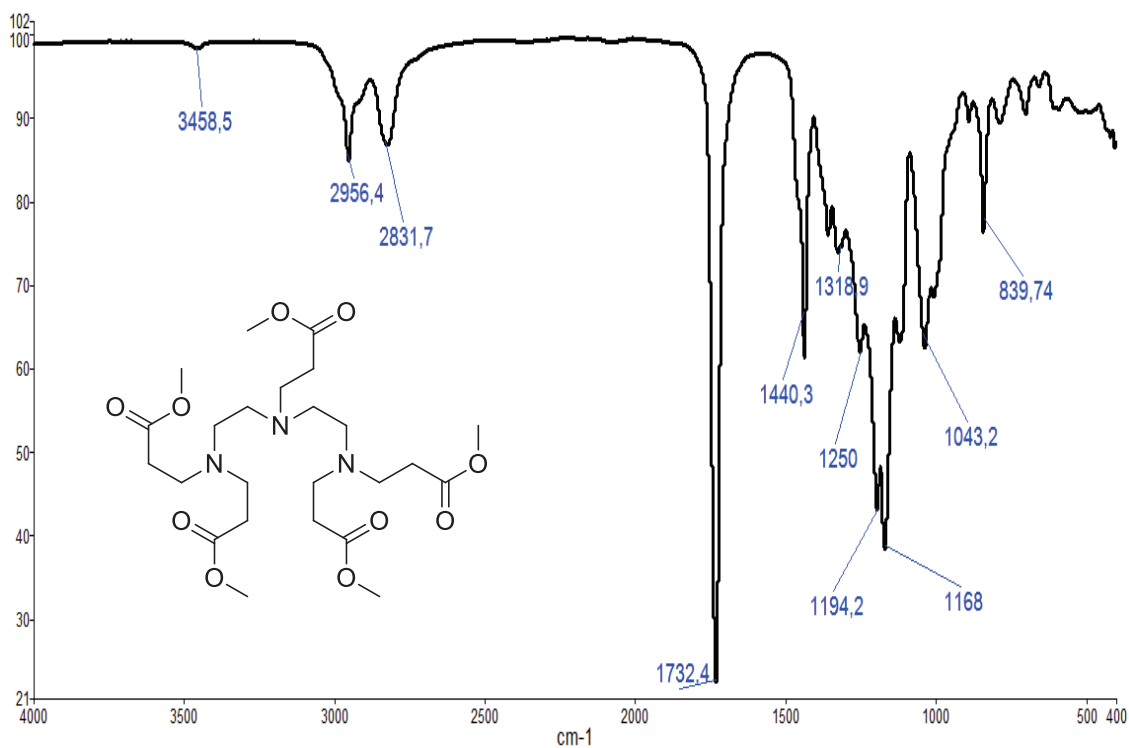


EK A.2. Etilediamintetrapropanat'ın ¹H-NMR spektrumu

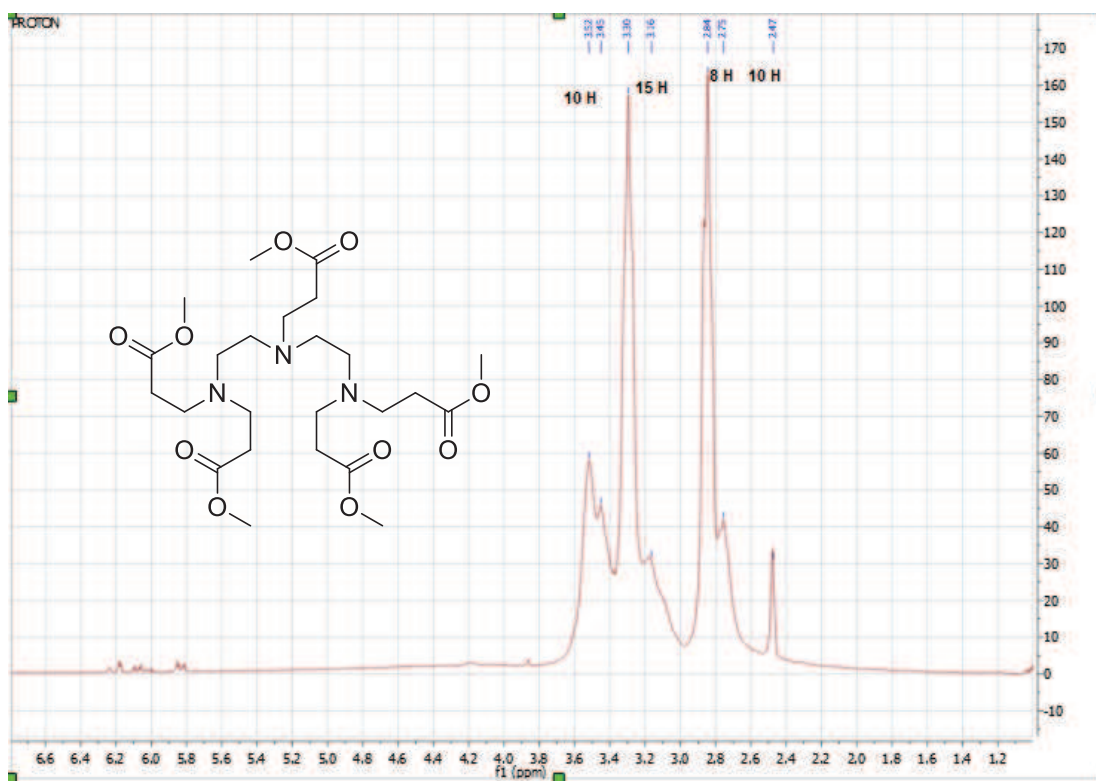
EK A.3. Etilendiamintetrapropanat'ın ^{13}C -NMR spektrumu

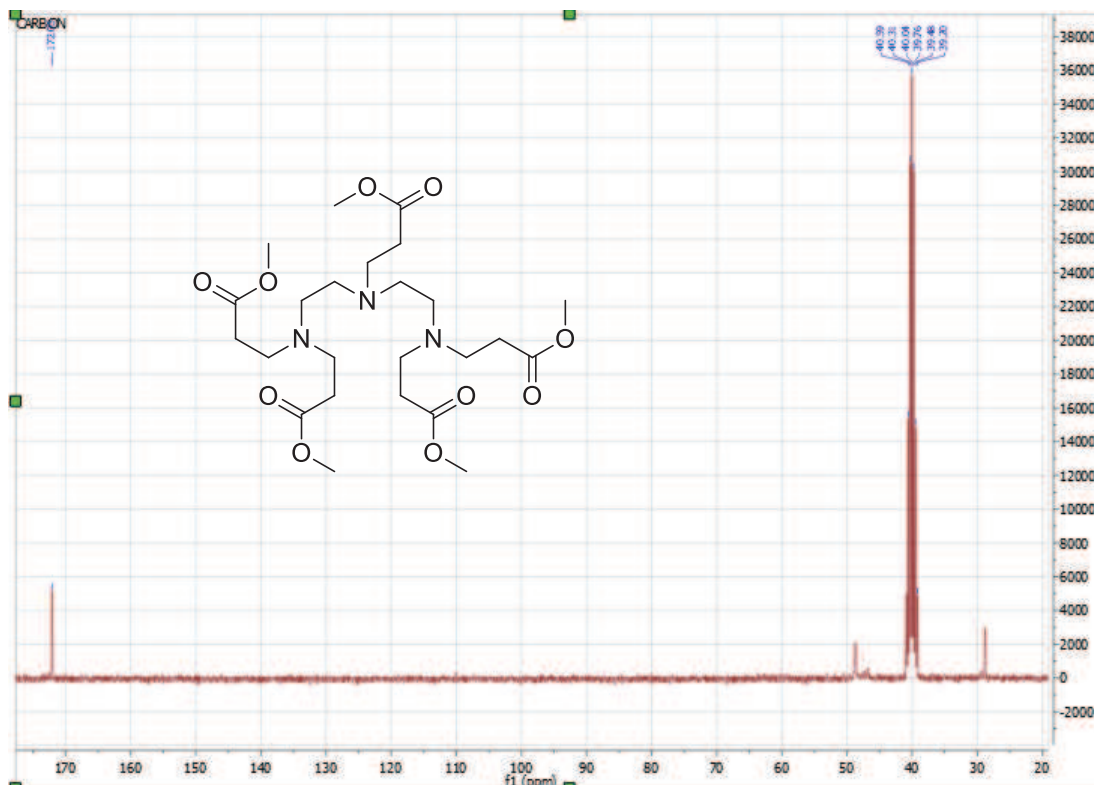
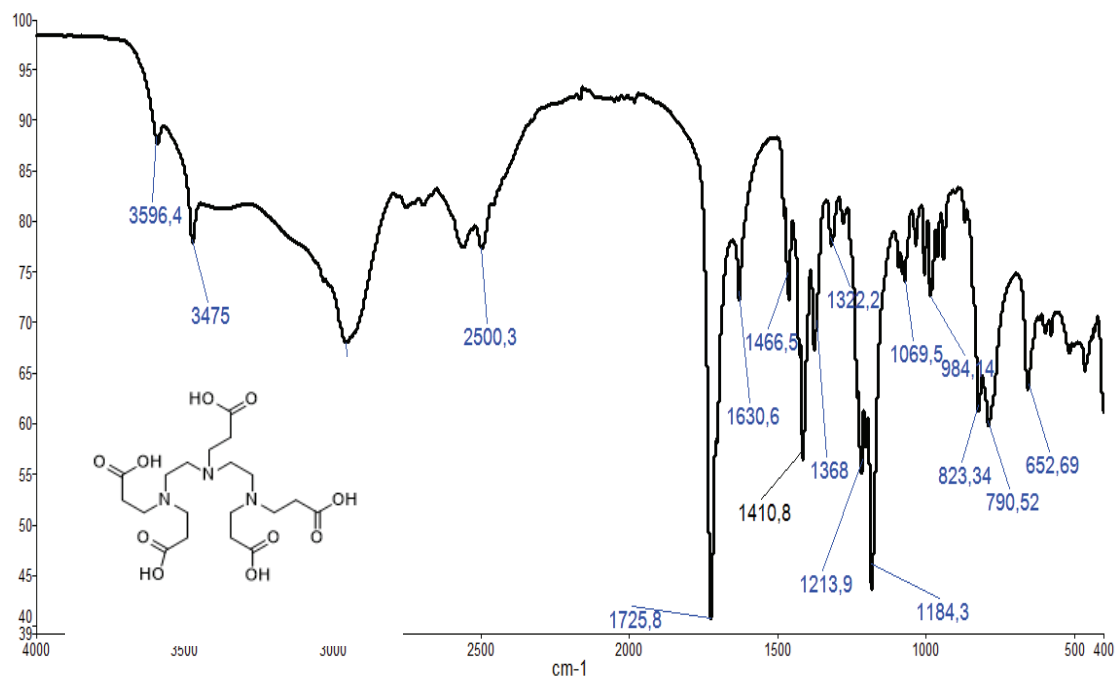
EK A.4. EDTPA Ligandının FT-IR spektrumu

EK A.5. EDTPA Ligandının $^1\text{H-NMR}$ spektrumuEK A.6. EDTPA Ligandının $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu

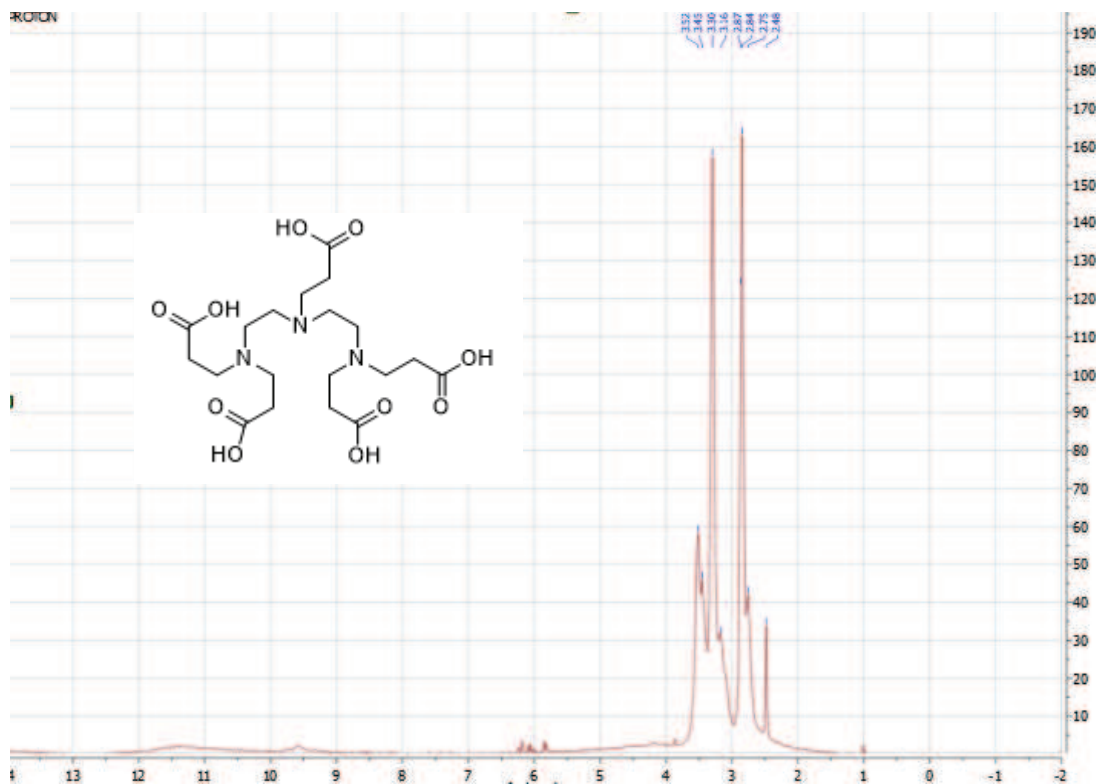
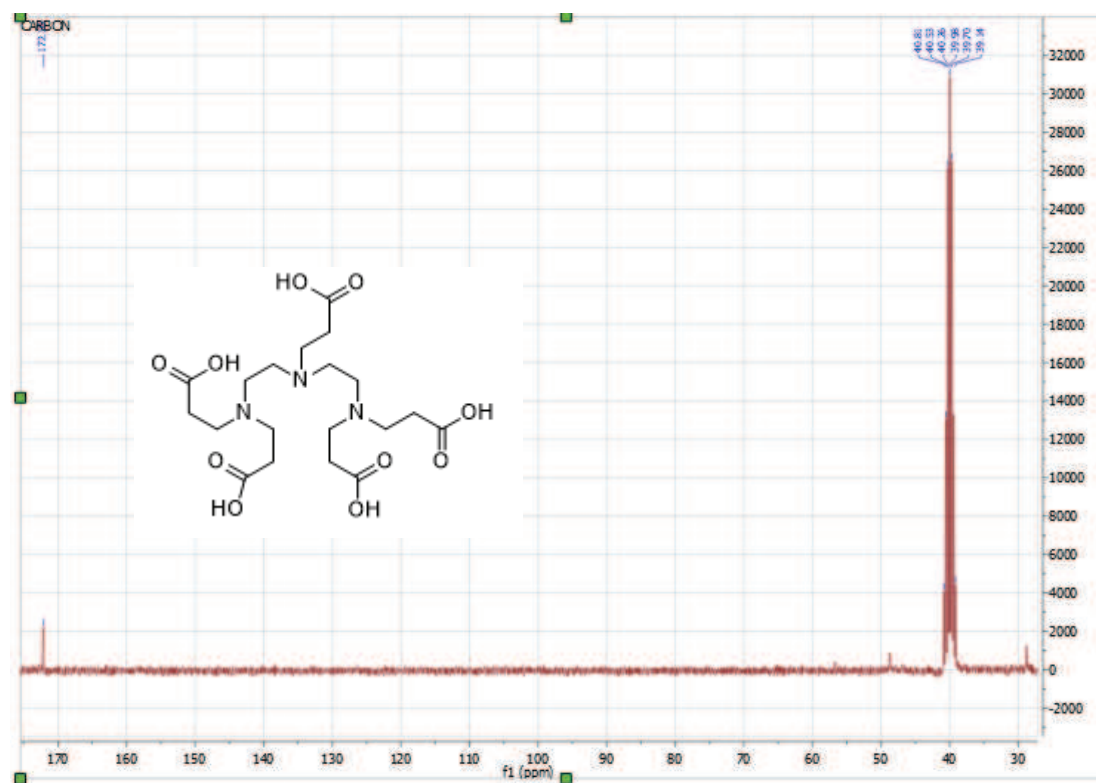


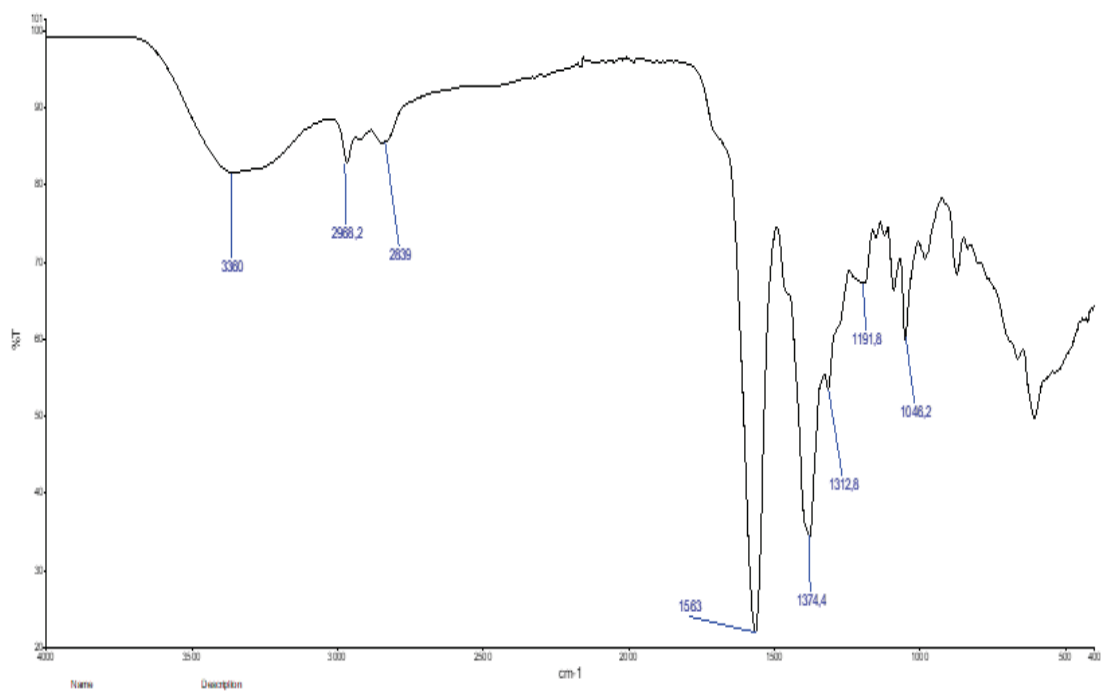
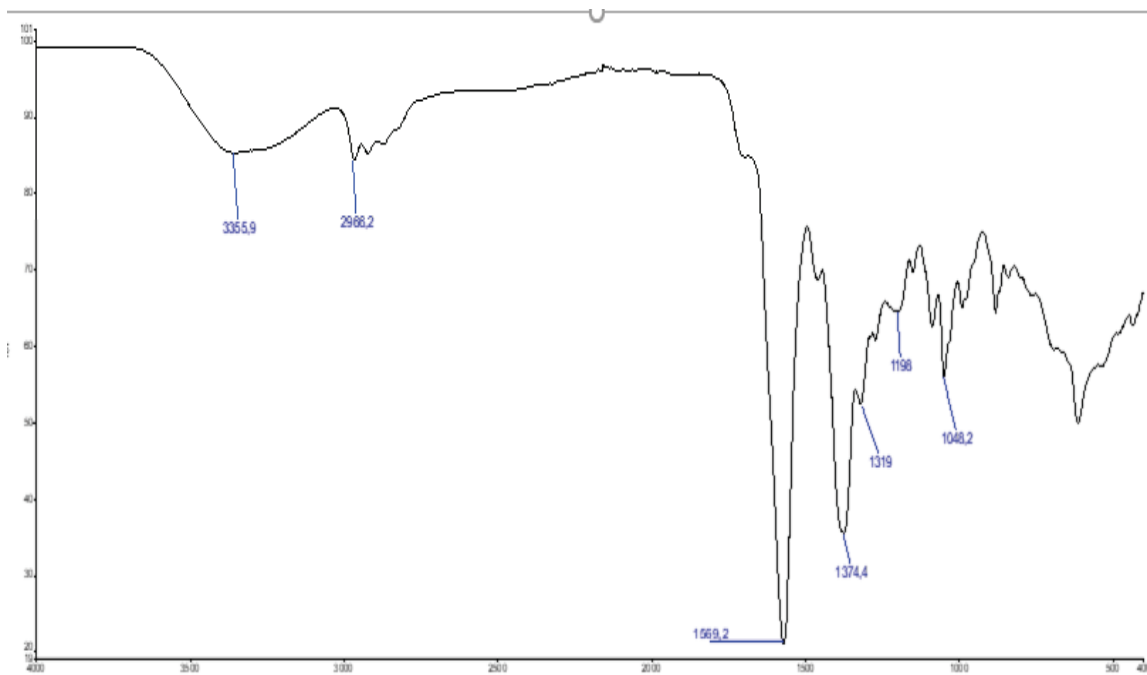
EK A.7. Dietiltriaininpentapropanat FT-IR spektrumu

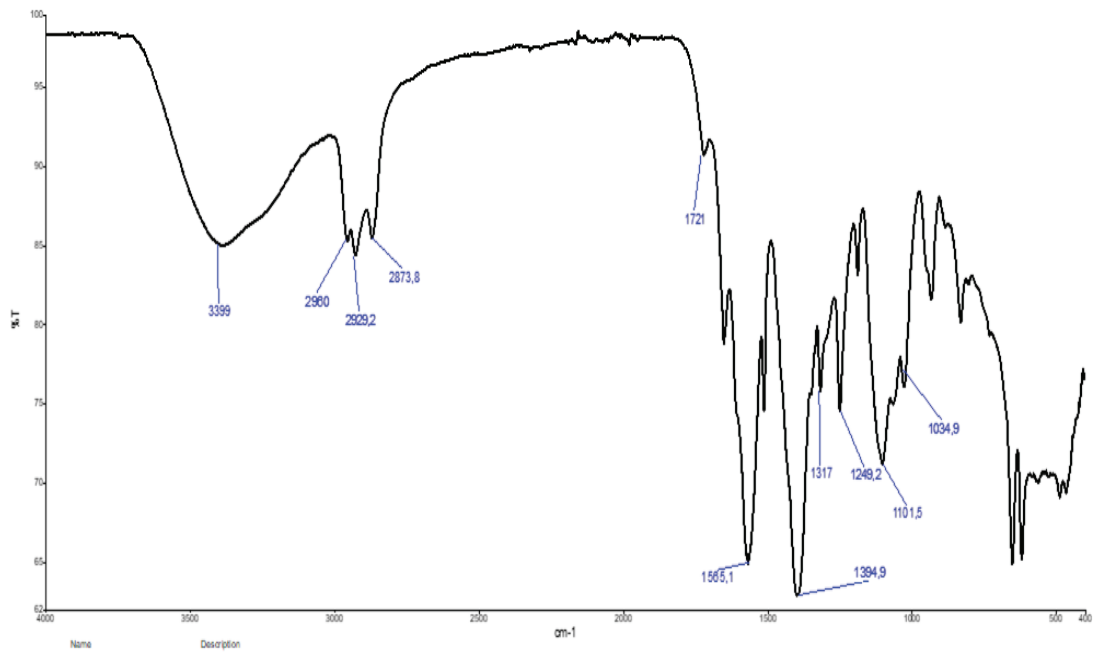
EK A.8. Dietiltriaininpentapropanat ¹H-NMR spektrumu

EK A.9. Dietiltriampinpentapropat ^{13}C -NMR spektrumu

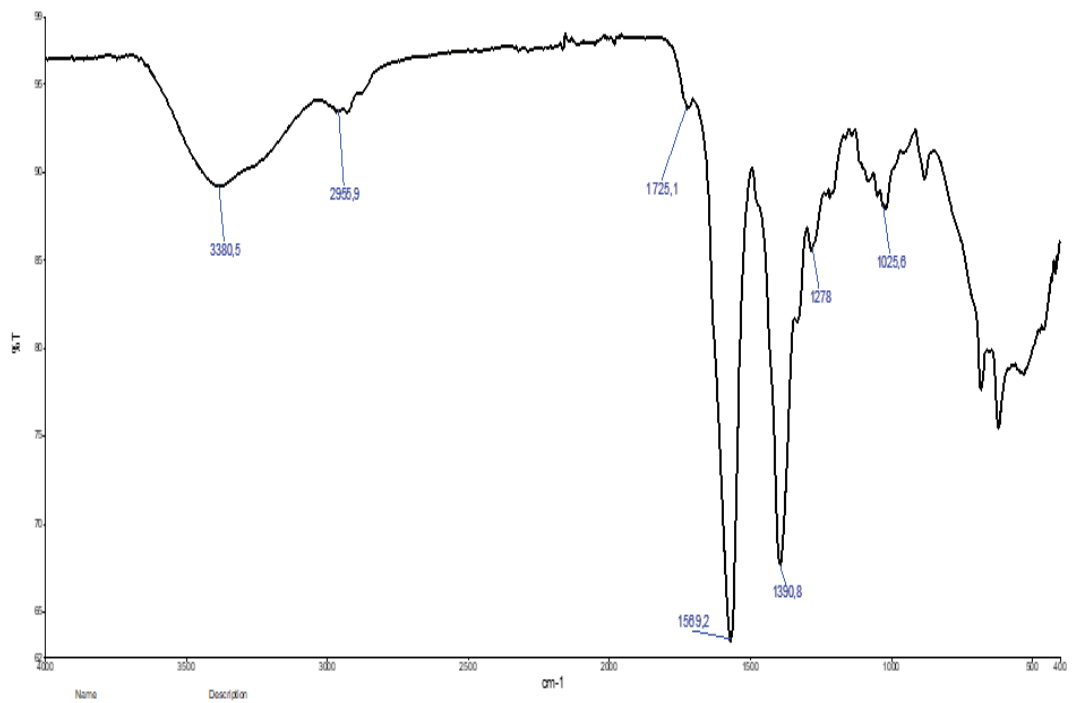
EK A.10. DETAPPA Ligandının FT-IR spektrumu

EK A.11. DETAPPA Ligandının ^1H -NMR spektrumuEK A.12. DETAPPA Ligandının ^{13}C -NMR spektrumu

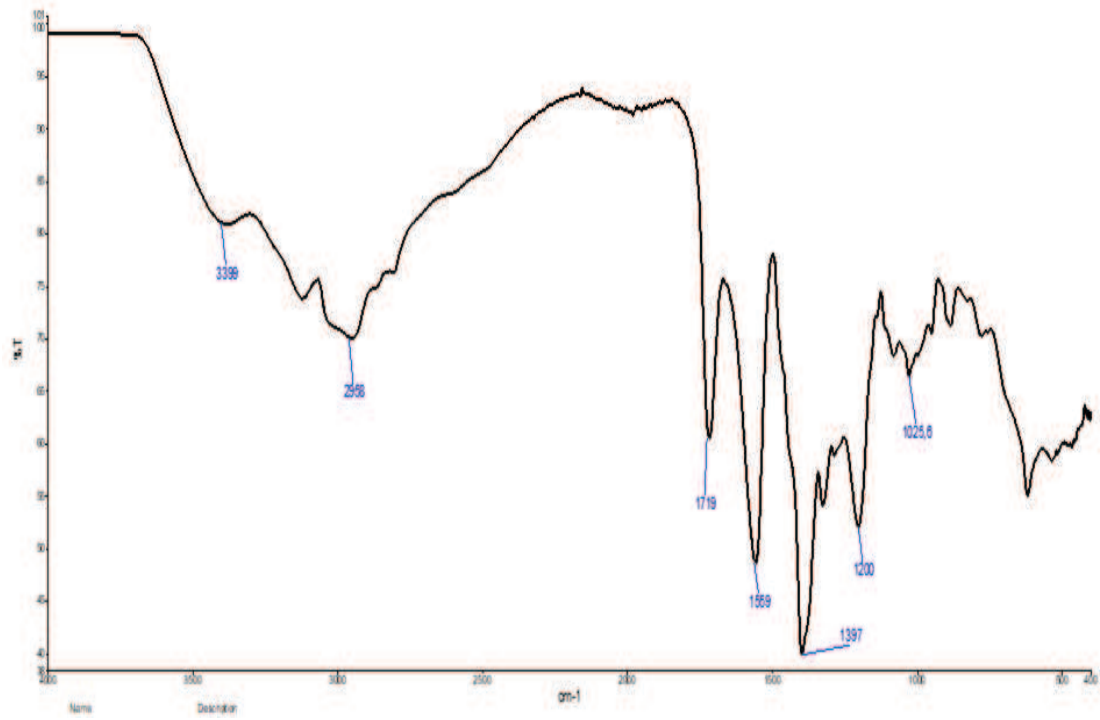
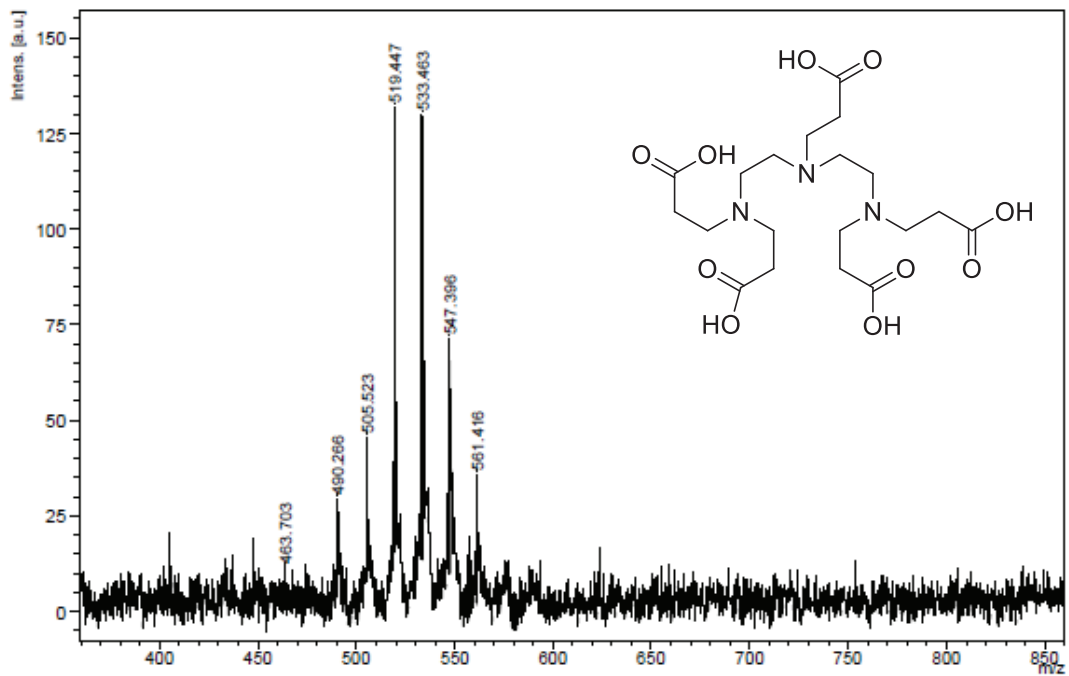
EK A.13. $K_6[EDTPA]_2Mn$ Kompleksinin FT-IR spektrumuEK A.14. $K_6[EDTPA]_2Cu$ Kompleksinin FT-IR spektrumu

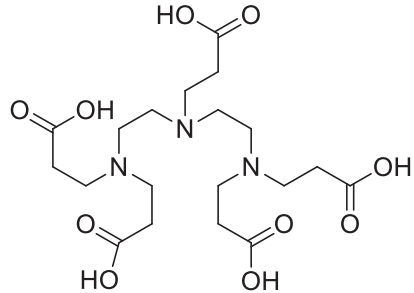
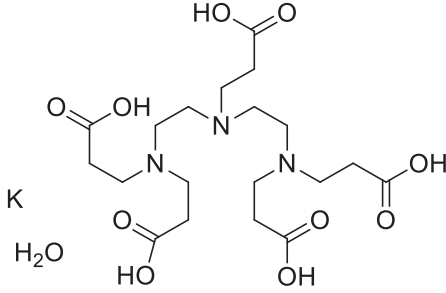


EK A.15. K[DETAPPA]Mn Kompleksinin FT-IR spektrumu

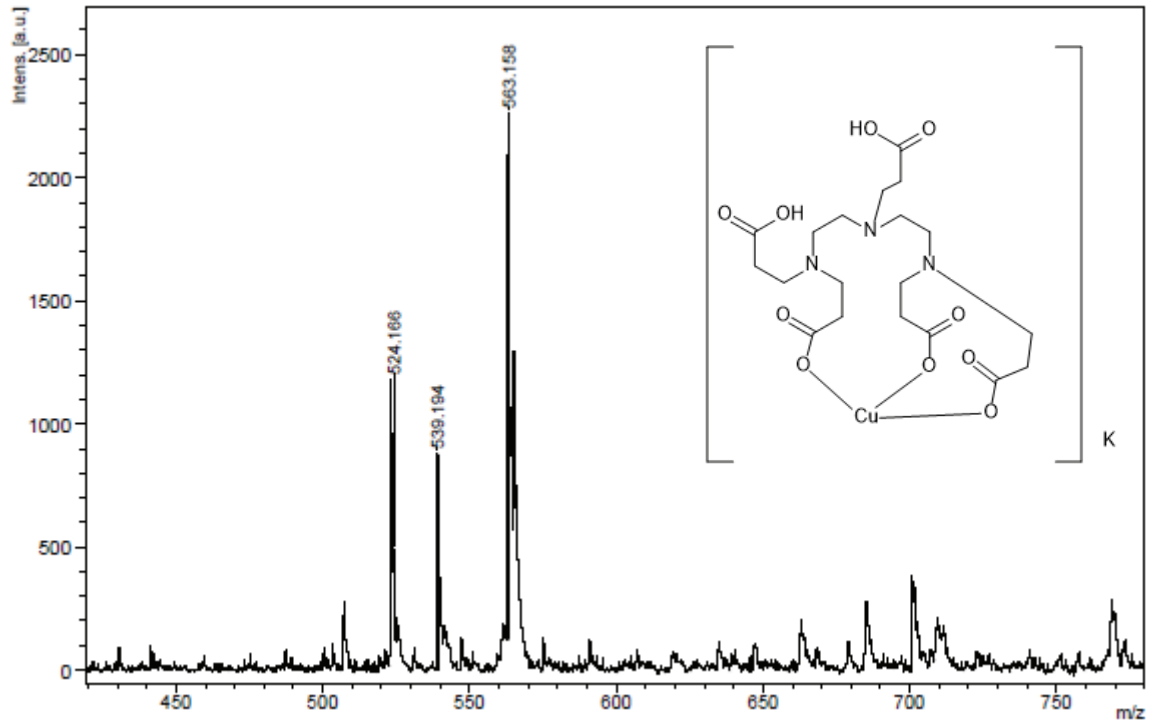


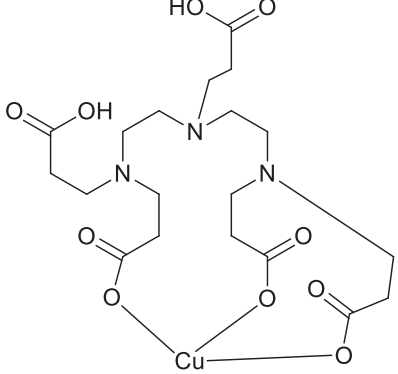
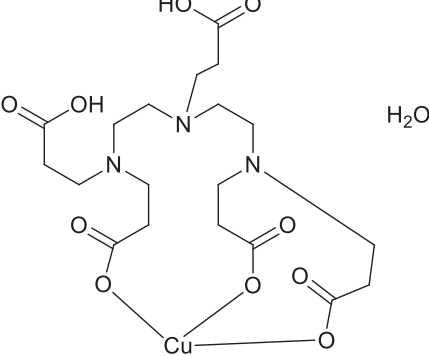
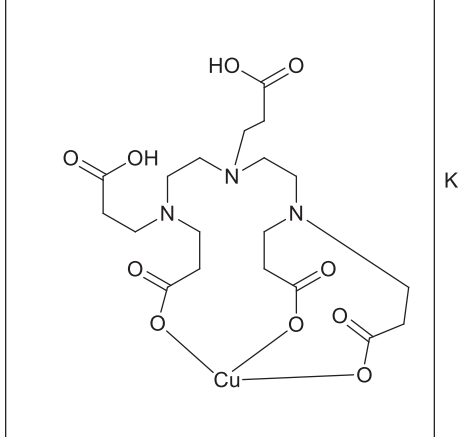
EK A.16. K[DETAPPA]Cu Kompleksinin FT-IR spektrumu

EK A.17. $\text{NH}_4[\text{DETAPPA}]\text{Cu}$ Kompleksinin FT-IR spektrumu**EK B:** Sentezlenen komplekslerin kütle spekturumları

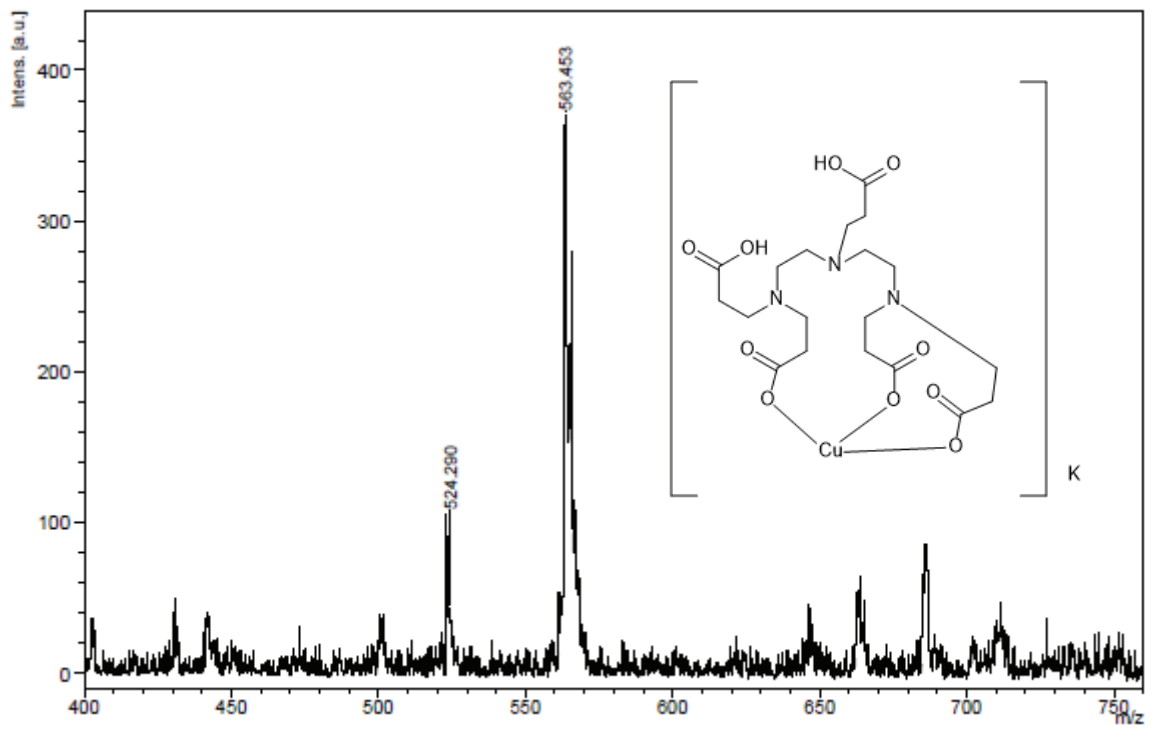
Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
 <p>The structure shows the DETAPPA ligand, which consists of two piperazine rings connected by a central nitrogen atom. Each piperazine ring has two carboxylic acid groups attached to its nitrogen atoms.</p>	m/z : 463.22 (100.0%), 464.22 (21.3%),	m/z : 563,70
 <p>The structure shows the potassium salt of the DETAPPA ligand, with a potassium ion (K) and a water molecule (H₂O) associated with the complex.</p>	m/z : 520.19 (100.0%), 521.19 (21.7%)	m/z : 519,44

EK B.1. DETAPPA Ligandının kütle spektrumu

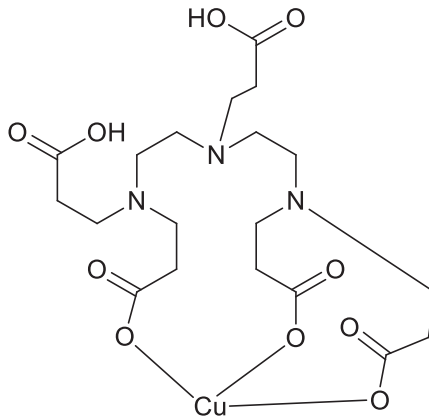


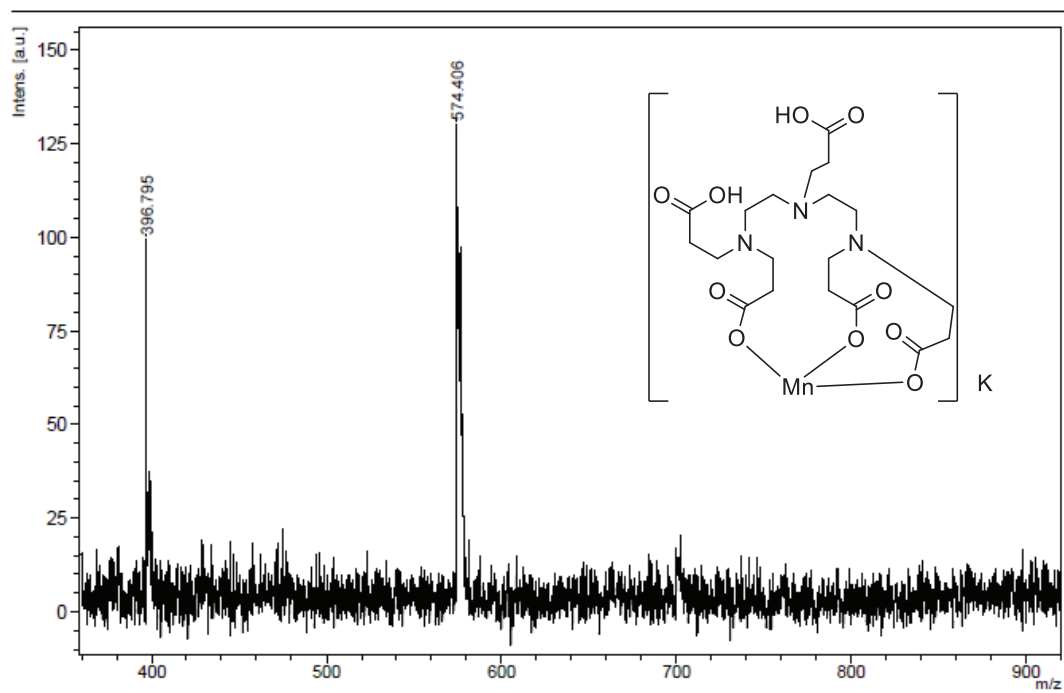
Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	m/z: 523.12 (100.0%), 525.12 (44.8%), 524.13 (21.3%)	m/z:524,1
	m/z: 541.13 (100.0%), 543.13 (44.8%),	m/z:539,14
	m/z: 562.09 (100.0%), 564.08 (51.8%), 563.09 (21.3%),	m/z:563,1

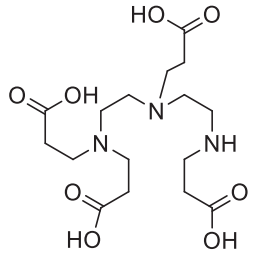
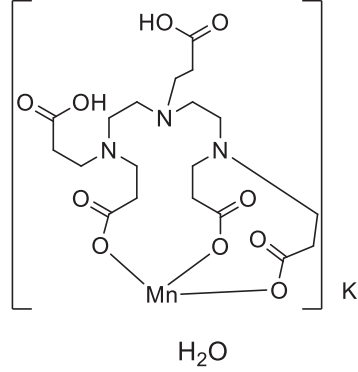
EK B.2. K[DETAPPA]Cu Kompleksinin kütle spektrumu



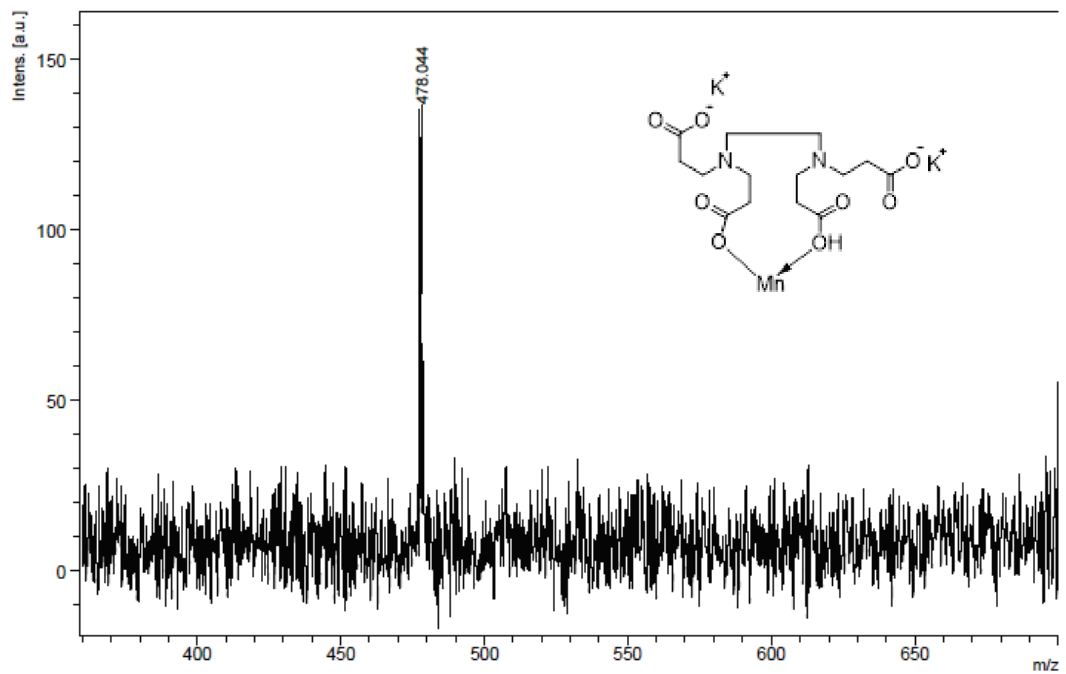
Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	m/z: 523.12 (100.0%), 525.12 (44.8%), 524.13 (21.3%)	m/z: 524,3

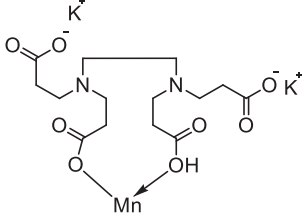
	<p>m/z: 562.09 (100.0%), 564.08 (51.8%), 563.09 (21.3%),</p>	<p>m/z:563,4</p>
K	K	

EK B.3. NH₄[DETAPPA]Cu Kompleksinin kütle spektrumu

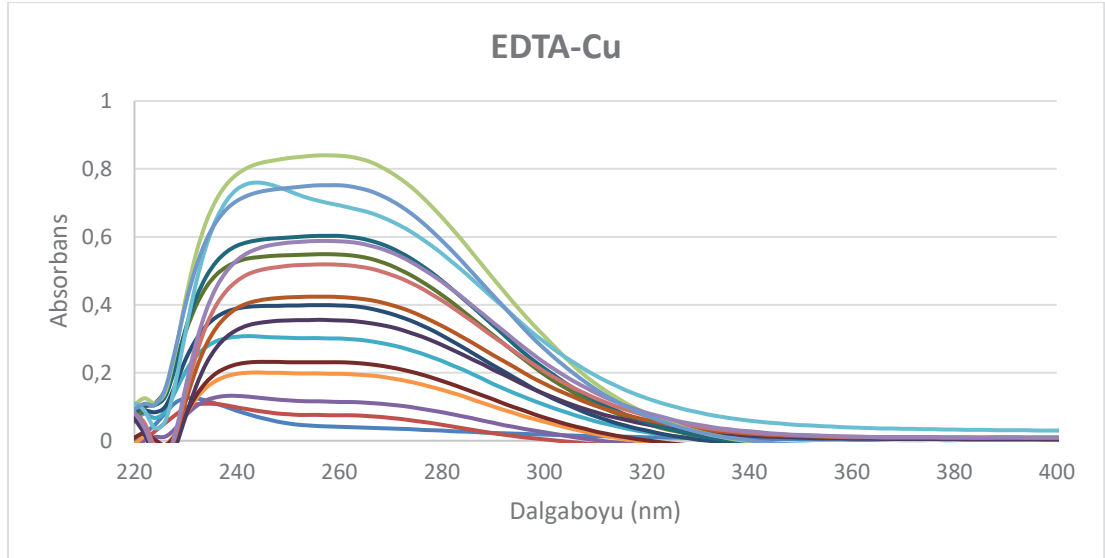
Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	m/z: 391.20 (100.0%), 392.20 (17.9%), 393.20 (3.3%),	m/z:396,79
	m/z: 572.11 (100.0%), 573.11 (21.3%), 574.10 (7.2%)	m/z:574,40

EK B.4. K[DETAPPA]Mn Kompleksinin kütle spektrumu

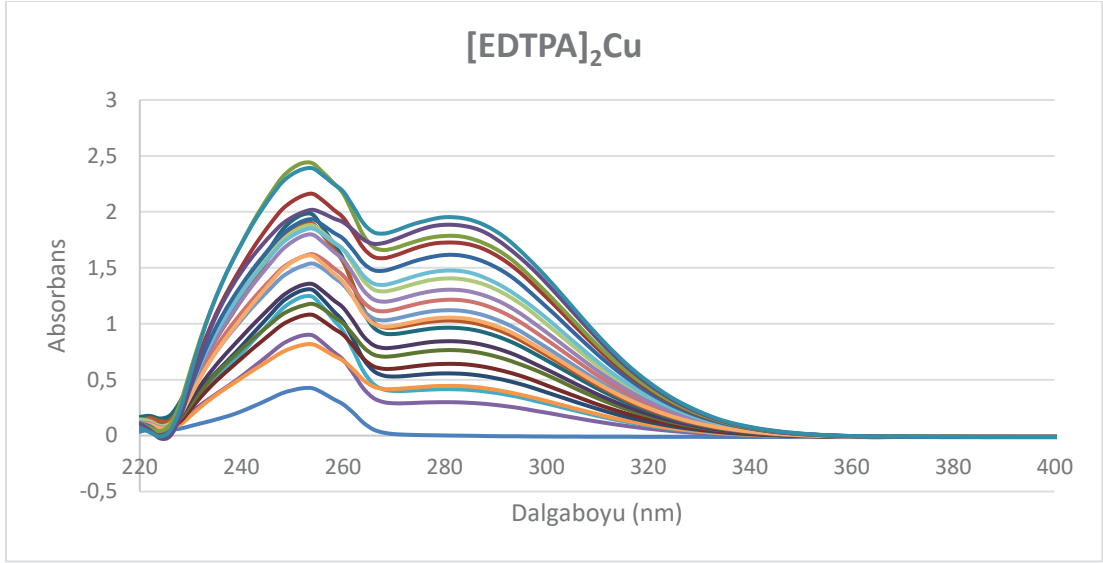
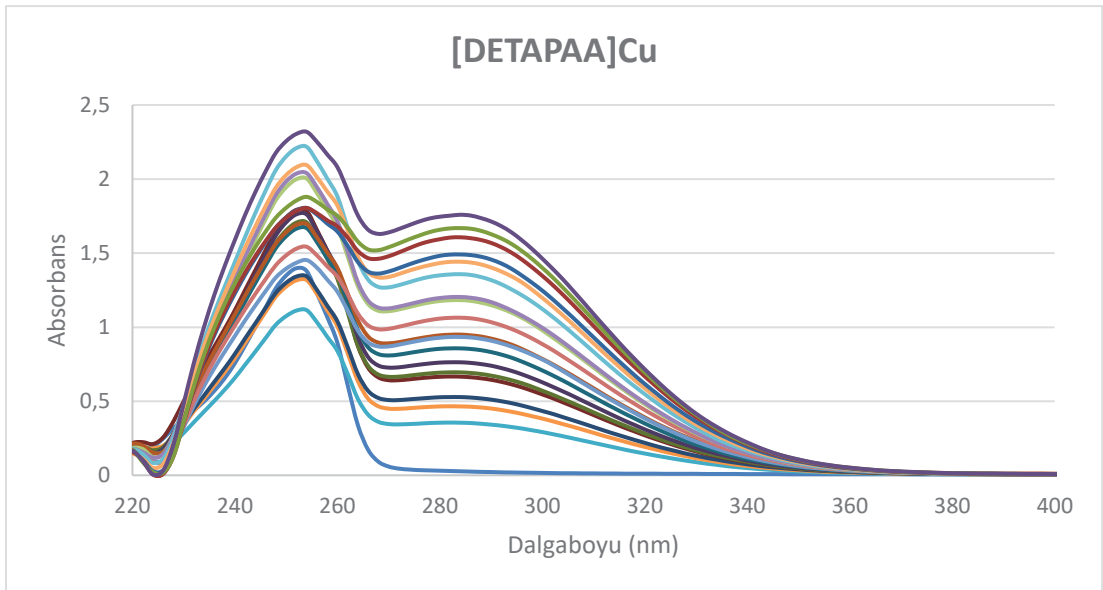


Molekül Şekli	Hesaplanan	Gözlenen
	m/z: 478.00 (100.0%), 479.00 (15.7%), 479.99 (14.4%)	m/z:478.04

EK B.5. [EDTPA]Mn Kompleksinin kütle spektrumu

EK C: Sentezlenen komplekslerin kompleks kararlılık sabitleri

Ek C.1. EDTA-Cu Komplekslerinin Kompleks Kararlılık

Ek C.2. [EDTPA]₂Cu Komplekslerinin kütle spektrumu

Ek C.3. [DETAPAA]Cu Komplekslerinin kütle spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Talha AKKUŞ, 19.06.1991'de Üsküdar' da doğdu. İlköğretimini Üsküdar'da Yılmaz Soyak İlköğretim okulunda ve lise eğitimini Kadıköy Kazım İşmen Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2010 yılında; Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2014 yılında lisans eğitimini tamamladı. Şu anda Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya anabilim dalında yüksek lisans yapmaktadır.