Artvin Çoruh Üniversitesi
Orman Fakültesi Dergisi
ISSN:2146-1880, e-ISSN: 2146-698X
Yıl: 2023, Cilt: 24, Sayı:2, Sayfa: 98-107

ofd.artvin.edu.tr

Artvin Coruh University
Journal of Forestry Faculty
ISSN:2146-1880, e-ISSN: 2146-698X
Year: 2023, Vol: 24, Issue:2, Pages: 98-107

Bodur Mürver (Sambucus ebulus L.*) meyve ekstraktının mısır fidelerindeki kuraklık toleransına etkisi*

Effect of Dwarf Elderberry (Sambucus ebulus L.*) fruit extract on drought tolerance in maize seedlings*

Cansu ALTUNTAŞ[1]

[1]Artvin Çoruh Üniversitesi, Tıbbi-Aromatik Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Artvin

Eser Bilgisi / *Article Info*
Araştırma makalesi / *Research article*
DOI: 10.17474/artvinofd.1291560

Sorumlu yazar / *Corresponding author*
Cansu ALTUNTAŞ
e-mail:
cansuhacisalihoglu@outlook.com

Geliş tarihi / *Received*
03.05.2023
Düzeltme tarihi / *Received in revised form*
18.08.2023
Kabul Tarihi / Accepted
20.08.2023
Elektronik erişim / *Online available*
15.10.2023

Anahtar kelimeler:
Sambucus ebulus
Fotosentez
Kuraklık stresi
Mısır

Keywords:
Sambucus ebulus
Photosynthesis
Drought stress
Maize

Özet

Geleneksel tıpta insan sağlığı açısından tedavi amaçlı yaygın olarak kullanılan *Sambucus ebulus* L. (SE) meyve ekstraktı önemli bir antioksidan değere sahiptir. SE meyve sulu ekstraktının (MSE) insan sağlığı üzerindeki rolünü ortaya koymada deney hayvanlarıyla ilgili yapılan son çalışmalar, insanlarda meydana gelen çeşitli streslere karşı SE MSE'nin nasıl bir rol oynadığını göstermektedir. Bununla birlikte, bitkilerdeki abiyotik stres cevabı üzerine SE MSE'nin nasıl bir rol oynadığıyla ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, kuraklık stresi altında SE MSE'nin stres hasarını hafifletmede etkili bir rolünün olup olmadığı değerlendirilmiştir. İlk olarak mısır fideleri 24 saat boyunca üç farklı SE MSE (1, 2 ve 4 mg/mL) konsantrasyonuna ve daha sonra kuraklık için %10'luk polietilen glikol 6000 (PEG 6000)'e maruz bırakıldı. Kuraklık koşullarında, mısır fidelerinde nispi su içeriği (NSİ), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve pigment içeriği ile gaz değişim parametrelerinde (net fotosentez hızı (P_N), terleme (E) ve stoma iletkenliği (g_s)) önemli ölçüde azalırken, lipid peroksidasyonu (TBARS) ve prolin (Pro) seviyeleri önemli ölçüde artmıştır. Bununla birlikte, kuraklık koşullarında tüm SE MSE uygulamalarının, NSİ, Pro, pigment içerikleri ile P_N, E ve g_s'yi önemli ölçüde arttırdığı, TBARS ve H_2O_2 seviyelerini ise belirgin şekilde azalttığı görüldü. Diğer önemli bir sonuç, SE MSE uygulama konsantrasyonlarından 2 mg/mL'nin NSİ, Pro, pigment ve gaz değişim seviyelerini arttırmada, TBARS ve H_2O_2 seviyelerini ise azaltmada en etkili konsantrasyon olduğu belirlendi. Elde edilen bulgulara göre, mısır fidelerine dıştan uygulanan tüm SE MSE konsantrasyonları farklı düzeylerde oksidatif hasarı (TBARS ve H_2O_2) azaltabilir, su durumunu koruyabilir, gaz değişimini ve klorofil sentezini iyileştirebilir. Sonuç olarak, bitkilerde SE MSE uygulamalarının kuraklık toleransı üzerinde olumlu bir etkisi olduğu belirlendi.

Abstract

Sambucus ebulus L. (SE) fruit extract, which is widely used for therapeutic purposes in traditional medicine for human health, has an important antioxidant value. Recent studies on experimental animals to reveal the role of the aqueous extract of SE fruit (FAE) on human health, it is shown how SE FAE plays a role in response to various stresses occurring in humans. However, no studies have been found in the literature on the role of SE FAE on the abiotic stress response in plants. In this study, it was evaluated whether SE FAE has an effective role in alleviating stress damage under drought stress. Firstly, maize seedlings were exposed to three different concentrations of SE FAE (1, 2 and 4 mg/mL) for 24 h and then 10% polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) for drought. Under drought conditions, relative water content (RWC), hydrogen peroxide (H_2O_2), pigment content and gas exchange parameters (net photosynthesis rate (P_N), transpiration (E) and stomatal conductivity (g_s)) significantly decreased while lipid peroxidation (TBARS) and proline (Pro) levels significantly increased in maize seedlings. However, it was observed that all SE FAE applications significantly increased RWC, Pro, pigment contents and P_N, E and g_s, significantly declined the TBARS and H_2O_2 levels under drought conditions. Another important result, 2 mg/mL of SE FAE application concentrations was determined to be the most effective concentration in increasing RWC, Pro, pigment and gas exchange levels, and reducing TBARS and H_2O_2 levels. According to findings, exogenous application of all SE FAE can alleviate oxidative damage (TBARS, H_2O_2), maintain water status, improve gas exchange, and chlorophyll synthesis in maize seedlings at different levels. As a result, it was determined that SE MSE applications had a positive effect on drought tolerance in plants.

GİRİŞ

Su, özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde bitki büyümesi ve gelişmesi için önemli bir sınırlayıcı faktör olduğundan (Riccardi ve ark. 2004), kuraklık mahsul bitkilerinde verim azalmasının ana nedenidir. Dünya çapındaki en önemli çevresel streslerden biri olan kuraklık, ürün başarısını ve ürün verimini %50'den fazla düşürmekte (Bray ve ark. 2000) ve tarım sektörünün sürdürülebilirliği üzerinde baskı oluşturmaktadır. Kuraklık stresinin bitkilerde büyüme (Ashraf ve Iram 2005, Benjamin ve Nielsen 2006,

Kashiwagi ve ark. 2006), su durumu (Khanna-Chopra ve Selote 2007, Martínez ve ark. 2007), membran stabilitesi (Tan ve ark. 2006), pigment içeriği ve fotosentetik aktivite gibi çok sayıda metabolik, biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklere neden olduğu iyi bilinmektedir (Oguz ve ark. 2022).

Bütün bitkilerin kuraklığa ilk tepkisi, terlemeyle su kaybını önlemek için stomalarını kapatmaktır. Bu, hem fotosentetik hızın hem de içsel CO2 konsantrasyonunun azalmasına bağlanmıştır (Reddy ve ark. 2004). Kloroplastlarda CO2 mevcudiyeti azaldıkça, kuraklık altında fotosentez ve fotosentetik kapasite giderek azalır (Lawlor 1995). Klorofil tarafından toplanan ışık enerjisi, kuraklık koşulları altında fotosentez yoluyla dağıtılamaz ve fotosentetik elektron zincirinin aşırı indirgenmesine yol açabilir ve sonunda "reaktif oksijen türleri (ROT)" olarak bilinen oksijen içermeyen radikallerin oluşumuyla sonuçlanabilir (Asada 1999). Kuraklığa bağlı olarak bitki büyümesindeki azalmanın temel belirleyicileri arasında, hücresel organellerin ve tüm bitkinin yapısal ve işlevsel bütünlüğüne önemli ölçüde zarar veren reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı birikimi kabul edilir (Ahmad ve ark. 2010). Kuraklık da dahil olmak üzere farklı stres koşullarına maruz kalan bitkilerde singlet oksijen (1O2), hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonu (O2.−) ve hidroksil radikali (HO·) gibi ROT'ların aşırı üretimi proteinler, DNA ve lipidler için potansiyel olarak zararlıdır (Apel ve Hirt 2004) ve bu durum membran bütünlüğünün bozulmasına, enzim inhibisyonuna ve klorofil bozulmasına yol açar (Scandalios 2005, Miller ve ark. 2010).

Bitkiler, abiyotik stresin olumsuz etkilerinden korunmak ve stres toleransını artırmak için çeşitli stratejiler geliştirmişlerdir. Bunlardan biri, kuraklık stresi altında dehidrasyon ve oksidatif hasarı engellemek için hücrelerinde düşük moleküler ağırlıklı prolin (Pro) gibi ozmolitleri (Ahanger ve Agarwal 2017) ve karotenoid gibi sekonder metabolitleri biriktirerek antioksidan savunma mekanizması geliştirmeleridir (Posmyk ve ark. 2009). Çalışmalarda yaygın olarak kullanılan diğer bir strateji de, dıştan sentetik maddelerin uygulanmasıyla kuraklığın neden olduğu oksidatif stres etkilerinden ve fotosentetik hasardan bitkiyi korumadır (Damghan 2009, Kadioglu ve ark. 2011, Li ve ark. 2018, Bijanzadeh ve ark. 2019, Sohag ve ark. 2020, Yetişsin ve Karakaya 2022, Yetişsin ve Ahneak 2023). Kuraklık stresinin bitkide meydana getirmiş olduğu hasarların hafifletilmesinde antioksidan özelliğe sahip dıştan farklı sentetik kimyasal uygulamaların strese yanıtı geniş çapta araştırılmış ve iyi çalışılmış olsa da tıbbi bitkiler söz konusu olduğunda literatürde bilgi eksikliği vardır. Ticari açıdan önemli olan doğal bitki ekstraktlarının kuraklık stresine cevabı diğer sentetik uygulamalar gibi araştırılmamıştır. Bu nedenle, tıbbi bitki ekstraktlarının kuraklık stresine verdiği tepkileri araştırmak büyük bir değere sahiptir.

Önemli bir tıbbi bitki olan bodur mürver olarak bilinen *Sambucus ebulus* L. (SE), Bulgaristan, Türkiye, İran, Romanya, Bosna-Hersek, Lübnan'da yara iyileştirici, anti-nosiseptif, anti-romatoid, anti grip, antibakteriyel ve idrar söktürücü olarak yaygın kullanılmaktadır (Kültür 2007, Ebrahimzadeh ve ark. 2008, Šarić-Kundalić ve ark. 2010, Chirigiu ve ark. 2011, Tasinov ve ark. 2013). SE'nin taze meyveleri, reçel ve çay; meyvelerin kaynatılmasıyla oluşan özüt ise, immün sistemi uyarıcı ve hematopoetik bitkisel preparatlar olarak kullanılmasının yanı sıra, romatoid artrit ve gastrointestinal bozuklukların tedavisinde de kullanılmaktadır (Kültür 2007, Marc ve ark. 2008, Tasinov ve ark. 2013). Fitokimyasal analizlerden elde edilen veriler neticesinde SE meyvelerinin, organik asitler, tanenler, pektinler, reçineler, C vitamini, uçucu maddeler (öjenol, valerik asit, sitronelal vb.), amino asitler (bazı temel olanlar dahil) ve bitki sterollerinin yanı sıra, özellikle antosiyaninler ile proantosiyanidinleri içeren polifenolikler, fenolik asitler, hidroksisinnamik asitler ve flavonol glikozitler açısından yüksek olduğu belirlenmiştir (Pribela ve ark. 1992, Ebrahimzadeh ve ark. 2008, Ebrahimzadeh ve ark. 2010, Tasinov ve ark. 2012, Bubulica ve ark. 2012, Mikulic-Petkovsek ve ark. 2014, Zahmanov ve ark. 2015, Mikulic-Petkovsek ve ark. 2015, Vankova ve ark. 2019, Tasinov ve ark. 2020). Çok sayıda çalışmada, SE meyve ekstraktlarının güçlü bir in vitro antioksidan aktiviteye sahip olduğu, çeşitli analizlerle ortaya koyulmuştur (Ebrahimzadeh ve ark. 2008,

Ebrahimzadeh ve ark. 2010, Tasinov ve ark. 2012). Bununla birlikte, SE meyve ekstraktlarının antioksidan rolü sayesinde memeli hücrelerinde stres kaynaklı hasarları engellediği ve strese karşı pozitif rol üstlendiği de yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir (Fathi ve ark. 2015, Tasinov ve ark. 2021).

Günümüzde SE meyve sulu ekstraktı (MSE) ile ilgili antioksidan aktivite ve stres cevabına odaklanan modern tıp çalışmaları sayısı giderek artmasına rağmen, abiyotik stres koşullarında bitkiye uygulanan taze veya kuru SE MSE'nin bitkide oluşturduğu stres yanıtıyla ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle mevcut çalışmada, kuraklık stresi koşullarında mısır fidelerine farklı konsantrasyonlarda uygulanan SE MSE'nin bazı fizyolojik ve fotosentetik parametreler üzerindeki rolünü araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali ve Yetiştirilme Koşulları

Mevcut çalışmada, Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen ADA-523 mısır çeşidi tohumları 5:1:1:1 (5 kürek orman toprağı: 1 kürek torf: 1 kürek perlit: 1 kürek yanmış koyun gübresi) oranında karışık toprak içeren saksılarda, 22 °C gündüz/18 °C gece sıcaklığı, 65 °C±%5 bağıl nem ve 400 µmol $m^{-2}s^{-2}$ ışık yoğunluğu koşullarını içeren bitki büyütme kabininde yetiştirilmiştir.

S. *ebulus* Meyvelerinin Toplanması

S. ebulus (SE)'un olgun meyveleri Artvin, Genya bölgesinde orman açıklığı, çayırlık alandan (41°8'13''K, 41°48'55''D; 1780 m) 04.08.2022 tarihinde toplanmıştır. Teşhisler, herbaryum materyalleri (Aksu 418) üzerinden gerçekleştirilmiştir. Bu meyveler, Artvin Çoruh Üniversitesi, Tıbbi Bitkiler Uygulama ve Araştırma Merkezinde kişisel koleksiyonda depo edilmiştir.

S. *ebulus* Meyve Ekstraksiyon Hazırlığı

Taze meyveler musluk suyu ile iyice yıkanıp gece boyunca süzülmeye bırakılmıştır. Yerel halk tarafından kullanılan yöntemler taklit edilerek ham ekstrakt hazırlanmıştır. *S. ebulus* meyve ekstraktı, usulüne uygun bir şekilde el öğütücüsü yardımıyla 2000 mL musluk suyu ile 40 g taze meyve örneği kullanılarak pellet oluşana kadar öğütme işlemi gerçekleştirilmiştir (Alabi ve ark. 2022). Karışım 0.22 µm filtre kâğıdı ile süzülerek berrak bir ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt mısır fidelerine ön uygulama için +4 °C'de karanlıkta saklanmıştır.

Mısır Fidelerine *S. ebulus* Meyve Ekstraktı ve Kuraklık Stresi Uygulamaları

Üç yapraklı aşamayı tamamlayan mısır fideleri (25±3 günlük) toprak üstü kısımdan 1 cm yukarıdan kesilip fidelerde yaralanma hasarının önlenmesi adına örnekler 1 saat boyunca saf su içeren tüplerde bekletilmiştir. Üç farklı konsantrasyonda SE MSE (1, 2 ve 4 mg/mL) hazırlanarak, fideler 24 saat boyunca bu konsantrasyonlarda bekletilmiştir. Ön uygulamadan sonra, kuraklık stresi için fideler 24 saat boyunca %10'luk polietilen glikol (PEG6000) uygulamasına maruz bırakılmıştır. Deney grupları aşağıdaki gibi tasarlanmıştır;

(i) Kontrol (48 saat saf su)
(ii) SE MSE (24 saat 1 mg/mL SE MSE ön uygulaması ve ardından 24 saat saf su),
(iii) SE MSE (24 saat 2 mg/mL SE MSE ön uygulaması ve ardından 24 saat saf su),
(iv) SE MSE (24 saat 4 mg/mL SE MSE ön uygulaması ve ardından 24 saat saf su),
(v) PEG (24 saat saf su ve ardından 24 saat %10 PEG),
(vi) SE MSE+PEG (24 saat 1 mg/mL SE MSE ön uygulaması ve ardından 24 saat %10 PEG),
(vii) SE MSE+PEG (24 saat 2 mg/mL SE MSE ön uygulaması ve ardından 24 saat %10 PEG),
(viii) SE MSE+PEG (24 saat 4 mg/mL SE MSE ön uygulaması ve ardından 24 saat %10 PEG)

Deney uygulamaları ile elde edilen örnekler, analizler gerçekleşene kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Nispi Su İçeriğinin (NSİ) Belirlenmesi

Deney gruplarına ait örneklerden 3 tekerrürlü olacak şekilde 0.1 g taze numuneler tartılarak taze ağırlık verileri kaydedilmiştir. Turgit ağırlık ölçümü için, taze ağırlıkları kaydedilen örnekler saf su içeren ependorflara aktarılarak 16 saat boyunca +4 °C'de bekletilmiş ve 16. saatin sonunda turgit ağırlık verileri kaydedilmiştir. Turgit ağırlığı kaydedilen örnekler, kuru ağırlık ölçümü için 70 °C'de 48 saat boyunca kurutulup 48. saatin sonunda kuru ağırlık verileri kaydedilmiştir. NSİ değerleri kaydedilen verilerin ortalaması alınarak aşağıdaki formüle göre NSİ hesaplanmıştır (Barrs ve Weatherley 1962).

Nispi Su İçeriği (%)=(Taze ağırlık-Kuru ağırlık / Turgid ağırlık-Kuru ağırlık)x100

Tiobarbitürik Asit Reaktif Maddeler (TBARS) İçeriğinin Belirlenmesi

Lipid peroksidasyon miktarı, tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) içerikleri cinsinden ölçülmüştür (Heath ve Packer 1968). Örnekler (0.1 g taze) sıvı azottan geçirilerek %0.1 (w/v) trikloro asetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. Ardından, +4 °C'de 15000 g'de 10 dk ile santrifüj edilen örneklerin süpernatant kısmından 1mL alınarak üzerine %20 TCA içinde %5 tiobarbitürik asit (TBA) içeren çözeltiden 4 mL eklendi. Elde edilen karışım 95 °C de 30 dakika boyunca etüvde inkübe edilmiştir. Soğutulması için buz banyosunda 10 dk bekletilen numunelerin ölçümleri 532 nm (spesifik) ve 600 nm (spesifik olmayan) olacak şekilde iki dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Delta absorbans (spesifik-spesifik olmayan ölçümler) değerleri; Δ=Ɛ.c.l formülünde kullanılarak TBARS yani MDA değerleri hesaplanmıştır (Δ=A532–A600, Ɛ: Absorbsiyon katsayısı=155 mmol-1 cm-1, c: konsantrasyon).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2) İçeriğinin Belirlenmesi

Hidrojen peroksit (H_2O_2) tayini, modifiye edilerek Velikova ve ark. (2000)'e göre yapılmıştır. Örnekler (0.1 g taze) sıvı azottan geçirilerek %0.1 (w/v) TCA ile homojenize edildi. 15000 g'de +4 °C'de 10 dk boyunca santrifüj edilen örneklerden 1 mL süpernatant alınarak üzerine 1 mL 10 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0) ve 1.5 mL 1 M potasyum iyodür eklendi. Elde edilen karışım daha önce hazırlanan 0-100 µmol H_2O_2 aralığındaki standartlara karşılık 390 nm'de ölçülmüştür.

Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

%40'lık etanolde homojenize edilen örnekler (0.1 g taze) +4 °C'de 1 gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün 15000 g'de 15 dk süre ile santrifüj edilen örneklerden 1 ml süpernatant alındı ve üzerine 2 mL asit ninhidrin çözeltisinden eklendi. Elde edilen karışım 95 °C'de 20 dk inkübe edildi. Oda sıcaklığında soğutulmaya bırakılan örnekler spektrofotometrede belirlenen standart prolin aralığına karşılık 520 nm dalga boyunda okutuldu (Carillo ve ark. 2008).

Pigment İçeriğinin Belirlenmesi

Pigment analizi için 0.1 g taze örnekler %80'lik aseton ile homojenize edildi. 10000 g'de 15 dk santrifüj edilen örneklerden 500 µL süpernatant alınarak üzerine 1:10 oranında %80'lik aseton eklendi. Hazırlanan karışım spektrofotometreyle 450, 645 ve 663 nm dalga boylarında ölçüldü. Klorofil a, klorofil b ve toplam karotenoidlerin miktarı mg/g cinsinden Lichtenthaler ve Wellburn (1983) denklemlerine göre hesaplandı.

Klorofil a=12.7x A663–2.69xA645

Klorofil b=22.9xA645–4.68xA663

Toplam Karotenoid=4.07xA450–(0.0435xKla+0.3367xKlb)

Gaz Değişim Parametrelerinin Belirlenmesi

Yaprak alanı başına; net fotosentez hızı (P_N), terleme hızı (E) ve stoma iletkenliği (g_s), LI-6800 Taşınabilir Fotosentez Sistemi (LI-COR Biosciences, Inc., Lincoln, NE, ABD) ile her gruptan tam gelişmiş en üst üçüncü yaprak kullanarak kuraklık uygulamalarının hemen ardından ölçülmüştür. Ölçüm koşulları; ışık yoğunluğu 250 µmol $m^{-2}s^{-1}$ (PAR), yaprak sıcaklığı 25 °C ve bağıl nem %60 olacak şeklindedir.

İstatistiksel Analizler

Her bir deneme en az 3 tekrarlı olacak şekilde uygulamalara bağlı olarak yapılan örneklemeler ve ekstraksiyonlar sonucu elde edilen veriler, Windows tabanlı, lisanslı bir paket program olan Statistic Package for Social Sciences (SPSS) ile bilgisayar ortamında One-way ANOVA varyans analiz testleri (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi) ile değerlendirilmiştir. $p \leq 0.05$ olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir. Bütün şekillerdeki hata çubukları ortalama ± standart sapma (S.S.)'yı göstermektedir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

SE MSE Uygulamalarının Nispi Su İçeriği (NSİ) Üzerine Etkisi

Nispi su içeriği, kuraklığa toleransta bitkilerin hayatta kalma kabiliyetini ve yaprak su durumunu gösteren temel göstergedir. Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, kuraklık koşullarında NSİ içeriğinin belirgin bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Hem stresli hem de stressiz koşullarda, SE MSE uygulamalarının (1, 2 ve 4 mg/mL) NSİ'yi önemli derecede arttırdığı tespit edilmiştir (Çizelge 1). Bulgulara benzer şekilde, *Phaselous vulgaris* L. bitkisinde yapılan bir çalışmada, farklı abiyotik stres koşulları altında bitkide NSİ içeriğinin azaldığı, aynı stres koşullarında bitkiye dıştan *Moringa oleifera* Lam. ekstraktı uygulamasıyla NSİ içeriğinin arttığı ortaya koyulmuştur (Howladar 2014). Bu bulgular, kuraklık koşullarında SE MSE uygulamalarının bitki su durumunu koruyabileceğini düşündürtmektedir.

SE MSE Uygulamalarının TBARS Ve H_2O_2 İçeriği Üzerine Etkisi

Lipid peroksidasyon ürünü olan tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) oksidatif stres tarafından tetiklenmektedir ve bitkilerde kuraklık stresinde TBARS içeriği daha fazla birikim göstermektedir (Sairam ve ark. 2005).

Yapılan birçok çalışmada, kuraklık stresi koşullarında TBARS içeriğinin önemli derecede arttığı (Anjum ve ark. 2011a, Zhang ve ark. 2011, Zhang ve ark. 2014), dıştan antioksidan özelliğe sahip uygulamalar ile TBARS seviyesinin belirgin şekilde azaldığı rapor edilmiştir (Yetişsin ve Karakaya 2022, Yetişsin ve Ahneak 2023).

Mevcut çalışmada, SE MSE uygulamalarının (1 ve 2 mg/mL) TBARS içeriğinde kontrole göre istatistiki olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlendi. Kuraklık koşullarında ise TBARS içeriğinin kontrole göre önemli derecede arttığı, artan TBARS'ın aynı koşullarda SE MSE uygulamalarıyla birlikte belirgin bir şekilde azaldığı görüldü. En düşük TBARS içeriğinin 2 mg/mL SE MSE uygulamasında olduğu tespit edildi (Çizelge 1).

Oksidatif stres, hücrede üretilen yüksek konsantrasyonda oksi-radikallerin varlığını ifade eder. Abiyotik stres koşullarında oksidatif strese bağlı olarak bitkilerde hücre, doku ve organ düzeyinde hasar meydana gelmektedir. Hidrojen peroksit, süperoksit radikalinin detoksifikasyonu sırasında üretilir (Baltacıer ve ark. 2023) ve oksitleyici özelliği olması nedeniyle biyolojik sistemlerde oluştuğunda ortamdan temizlenmesi önemlidir (Mittler 2006). Abiyotik stres koşullarında *Eruca sativa* bitkisinde H_2O_2 içeriğinin önemli derecede arttığı, bununla birlikte sodyum nitroprussid uygulamasıyla artan H_2O_2 içeriğinin önemli derecede azaldığı belirlenmiştir (Cüce ve Sezgin Muslu 2022). Çalışmanın bulgularına göre, kuraklık koşullarında H_2O_2 içeriğinin kontrole kıyasla önemli derecede arttığı belirlendi. Kuraklık koşullarında, SE MSE uygulamalarıyla (1, 2 ve 4 mg/mL) H_2O_2 içeriğinde ise ciddi bir azalma meydana geldiği görüldü. En düşük H_2O_2 içeriğinin 2 mg/mL SE MSE uygulamasında olduğu tespit edildi (Çizelge 1). Bulgular, TBARS ve H_2O_2 içeriklerinin azaltılmasında SE MSE uygulamalarının önemli bir rol üstlendiğini göstermekle beraber elde edilen bu veriler kuraklık stresi sonucu bitkide meydana gelen oksidatif stres hasarının SE MSE uygulamalarıyla hafifletilebileceğinin güçlü kanıtıdır.

SE MSE Uygulamalarının Prolin İçeriği Üzerine Etkisi

Kuraklık stresini hafifletmek için bitkiler tarafından gösterilen yaygın tepkilerden biri, osmoprotektanlar olarak bilinen prolin (Pro), glisin betain, kolin, O-sülfat,

şekerler ve polioller gibi organik çözünenlerin sentezi ve birikmesidir. Başlıca uyumlu çözünenler arasında, Pro düşük moleküler ağırlıklı bir siklik imino asittir ve bitkilerde stresli ortamlarda ozmotik ayarlamalar sağladığı bilinmektedir (Szabados ve Savouré 2010, Kaur ve Asthir 2015). Kuraklık stresi altında prolin birikiminin arttığı yapılan pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Altuntaş ve ark 2019, Saruhan-Güler ve ark. 2021, Demiralay 2021). Bununla birlikte, kuraklık koşullarında dıştan antioksidan özelliğe sahip uygulamaların prolin içeriğini belirgin şekilde arttırdığı da bilinmektedir (Altuntaş ve ark. 2019). Çalışmada, kuraklık koşullarında prolin içeriğinin kontrole kıyasla önemli derecede arttığı belirlenmiştir. Kuraklık koşullarında, SE MSE uygulamalarıyla (1, 2 ve 4 mg/mL) prolin içeriğinin daha da fazla arttırdığı tespit edilmiştir. En yüksek prolin içeriğinin ise 2 mg/mL SE MSE uygulanmış fidelerde olduğu görüldü (Çizelge 1). Bulgulara göre, kuraklık stresi altında SE MSE uygulamalarının prolin içeriğini önemli derecede arttırdığı, bu durumunda kuraklık koşullarında hücre su içeriğinin korunmasına yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 1. Kuraklık stresi koşullarında farklı konsantrasyonda SE MSE uygulamalarının NSİ, TBARS, H_2O_2 ve Pro üzerine etkisi

Uygulamalar	NSİ (%)	TBARS (nmol g^{-1} TA)	H_2O_2 (µmol g^{-1} TA)	Pro (mg g^{-1} TA)
Kontrol	0.72 ± 0.001^{d}	1.04 ± 0.28^{f}	0.03 ± 0.0012^{f}	1.35 ± 0.12^{e}
PEG	0.43 ± 0.002^{h}	7.27 ± 0.09^{a}	0.16 ± 0.0025^{a}	1.64 ±0.12^{d}
1 mg/mL SE MSE	1.47 ± 0.001^{a}	1.23 ± 0.2^{f}	0.13 ± 0.0022^{b}	1.12 ± 0.31^{e}
2 mg/mL SE MSE	0.87 ± 0.001^{b}	1.19 ± 0.15^{f}	0.08 ± 0.0011^{d}	1.17 ± 0.23^{e}
4 mg/mL SE MSE	0.82 ± 0.001^{c}	2.47 ± 0.12^{c}	0.13 ± 0.0023^{b}	1.26 ± 0.12^{e}
1 mg/mL SE MSE+PEG	0.70 ± 0.003^{f}	2.07 ± 0.05^{d}	0.11 ±0.0012^{c}	3.65 ± 0.12^{b}
2 mg/mL SE MSE+PEG	0.71 ± 0.006^{e}	1.82 ± 0.04^{e}	0.07 ± 0.0067^{e}	3.83 ± 0.03^{a}
4 mg/mL SE MSE+PEG	0.57 ± 0.003^{g}	7.02 ± 0.03^{b}	0.1 ± 0.0054^{c}	2.65 ± 0.43^{c}

Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p≤0.05), SE MSE: *Sambucus ebulus* L. meyve sulu ekstraktı, PEG: Polietilen glikol, NSİ: Nispi su içeriği, TBARS: Tiobarbitürik asit reaktif maddeler, H_2O_2: Hidrojen peroksit, Pro: Prolin

SE MSE Uygulamalarının Pigment İçeriği Üzerine Etkisi

Fotosentezi yürütmek için yakalanan ışığın etkinliği, yapraktaki klorofil konsantrasyonuyla güçlü bir şekilde ilişkilidir. Bitki büyüme ve verimde klorofil içeriğindeki değişim, çevresel stresin etkisiyle değerlendirilir (Anjum ve ark. 2011b). Mevcut çalışmada, SE MSE uygulamalarıyla (1, 2 ve 4 mg/ml) kla içeriğinin kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı, klb içeriğinin ise aynı koşullarda önemli derecede arttığı görüldü. Kuraklık koşullarında fotosentetik pigment içeriklerinin (kla ve klb) belirgin şekilde azaldığı, aynı koşullarda SE MSE uygulamalarıyla kla ve klb içeriğinin önemli derecede arttığı belirlendi. En yüksek kla ve klb içeriğinin 2 mg/mL SE MSE uygulamasında olduğu görülmüştür (Çizelge 2).

Karotenoidler, fotosentez ve foto korumada temel işlevlere sahiptir (Xiao ve ark. 2008). Yapısal rollerinin yanı sıra, 3Chl ve 1O2'yi söndürmesi, lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ve membranları stabilize etmesi yönüyle antioksidan rolleri ile iyi bilinirler (Demmig-Adams ve Adams 1992). Bu çalışmada kuraklık koşullarında karotenoid içeriği önemli derecede azaldığı belirlenmiştir. Azalan karotenoid içeriği, kuraklık koşulları altında SE MSE uygulamalarıyla önemli derecede arttığı görülmüştür. En yüksek karotenoid içeriğinin 2 mg/ml SE MSE uygulanmış grupta olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Kuraklık stresi altında antioksidan role sahip bileşiklerin dıştan uygulamaları klorofil ve karotenoid içeriğini belirgin şekilde artırdığı yapılan çalışmalar ile rapor edilmiştir (Anjum ve ark. 2011b, Anjum ve ark. 2011c). Kuraklık stresi altında karotenoid içeriğindeki önemli azalma bitkilerde ROT birikimi ile oksidatif strese yol açar. Nitekim kuraklık stresi sırasında artan H_2O_2 içeriği, bu çalışmanın sonuçlarını destekler niteliktedir. Bulgular ışığında, SE MSE uygulamalarıyla klorofil ve karotenoid

içeriğindeki artış, kuraklık stresine karşı bitkiye daha güçlü foto koruyucu sistem sağladığını göstermektedir.

Çizelge 2. Kuraklık stresi koşullarında farklı konsantrasyonda SE MSE uygulamalarının fotosentetik pigment üzerine etkisi

Uygulamalar	Kla (mg 100 g^{-1} TA)	Klb (mg 100 g^{-1} TA)	Toplam Karotenoid (mg 100 g^{-1} TA)
Kontrol	1.93 ± 0.07^{a}	2.96 ± 0.09^{d}	1.3 ± 0.012^{a}
PEG	0.7 ± 0.07^{e}	1.05 ± 0.15^{h}	0.24 ± 0.012^{d}
1 mg/mL SE MSE	1.9 ± 0.01^{a}	3.1 ± 0.04^{c}	1.07 ± 0.03^{b}
2 mg/mL SE MSE	1.8 + 0.03^{a}	3.4 ± 0. 13^{b}	0.61 ± 0.02^{e}
4 mg/mL SE MSE	2.1 ± 0.04^{a}	3.5 ± 0.2^{a}	1.07 ± 0.1^{b}
1 mg/mL SE MSE+PEG	8 ± 0.08^{d}	1.4 ± 0.12^{g}	0.89 ± 0. 08^{c}
2 mg/mL SE MSE+PEG	1.7 ± 0.08 ^{b}	2.8 ± 0.12^{e}	0.95 ± 0. 17^{c}
4 mg/mL SE MSE+PEG	1.1 ± 0.05^{c}	2.5 ± 0.11^{f}	0.79 ± 0. 13^{d}

Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p ≤0.05), SE MSE: *Sambucus ebulus* L. meyve sulu ekstraktı, PEG:Polietilen glikol, Kla:Klorofil a, Klb:Klorofil b

SE MSE Uygulamalarının Gaz Değişim Parametreleri Üzerine Etkisi

Fotosentez, mahsul bitkilerinin büyümesinde ve veriminde önemli bir rol oynar. Bitkilerin kuraklık stresine maruz kalması, tahıllar da dâhil olmak üzere fotosentetik mahsul oranını azalttığı iyi bilinmektedir (Dawood ve ark. 2019). Fotosentetik pigmentlerdeki varyasyon, su eksikliği altında yetişen bitkilerde fotosentez hızının temel göstergesidir (Sallam ve ark. 2019). Bununla birlikte stomalar su kaybının ve CO2 emiliminin giriş kapısıdır. Kuraklığa maruz kalan bitkilerde stomaların kapanması fotosentez hızını azaltan ilk tepkilerden biridir (Mahajan ve Tuteja 2005, Farooq ve ark. 2009). Mevcut çalışmada, kuraklık koşullarında net fotosentez hızının (P_N), terleme hızının (E) ve stoma iletkenliğinin (g_s) kontrole göre belirgin şekilde azaldığı görüldü. Klorofil, fotosentez hızına katkıda bulunan ana faktördür; bu nedenle net fotosentezdeki düşüşler, şiddetli kuraklık koşullarında azalan klorofil içeriklerinden kaynaklanıyor olabilir (Çizelge 2, Çizelge 3). Klorofile ek olarak, P_N'nin azalmasına neden olan diğer bir faktör, kuraklık stresi altında erken stoma kapanması nedeniyle sınırlı CO2 difüzyonudur (Pandey ve Shukla 2015). Stoma kapanması, terleme yoluyla su kaybını sınırlar ve bitkilerin su stresi sırasında suyu muhafaza etmesine yardımcı olur (Pirasteh-Anosheh ve ark. 2016). Bununla birlikte, kuraklık koşullarında SE MSE uygulamalarıyla (1, 2 ve 4 mg/mL) P_N, E ve gs içeriklerinin önemli derecede arttığı belirlenmiştir (Çizelge 3). Bulgular ışığında kuraklık koşullarında, SE MSE uygulamasının gaz değişim oranlarını daha yüksek şekilde koruduğu görülmüştür. Fotosentezde SE MSE kaynaklı korunma, SE MSE ile muamele edilmiş bitkilerde kuraklık stresi altında artan su durumu ve iyileştirilmiş klorofil ile karotenoid miktarını gösterdiği gibi, yaprak su dengesindeki gelişmelerden kaynaklanıyor olabileceğini de göstermektedir.

Çizelge 3. Kuraklık stresi koşullarında farklı konsantrasyonda SE MSE uygulamalarının P_N, E ve stoma iletkenliği g_s üzerine etkisi

Uygulamalar	P_N (µmol m^{-2} s^{-1})	E (mmol m^{-2} s^{-1})	g_s (mmol m^{-2} s^{-1})
Kontrol	0.16 ± 0.0027^{b}	0.016 ± 0.0007^{b}	0.77 ± 0.0001b
PEG	0.03 ± 0.012^{e}	0.005 ± 0.0004^{f}	0.15 ± 0.0003^{g}
1 mg/mL SE MSE	0.16 ± 0.003^{b}	0.017 ± 0.0002^{b}	0.67 ± 0.0005^{d}
2 mg/mL SE MSE	0.15 ± 0.007^{b}	0.016 ± 0.0005^{b}	0.7 ± 0.0002^{c}
4 mg/mL SE MSE	0.17 ± 0.004^{a}	0.024 ± 0.0017^{a}	1.77 ± 0.0009^{a}
1 mg/mL SE MSE+PEG	0.07 ± 0.015^{d}	0.011 ± 0.007^{d}	0.4 ± 0.0002^{f}
2 mg/mL SE MSE+PEG	0.11 ± 0.008^{c}	0.014 ± 0.014^{c}	0.7 ± 0.0006^{c}
4 mg/mL SE MSE+PEG	0.11 ± 0.0017^{c}	0.010 ± 0.0004^{e}	0.5 ± 0.0009^{e}

Aynı harflerle gösterilen barlar arasındaki fark önemsizdir (p≤ 0.05), SE MSE: *Sambucus ebulus* L. meyve sulu ekstraktı, PEG:Polietilen glikol, P_N:Net fotosentez hızı, E: Terleme, g_s:Stoma iletkenliği

SONUÇ

Mevcut araştırma, kuraklık stresi altındaki mısır fidelerine SE MSE ön uygulamasının stres cevabında olumlu etkisinin olup olmadığını incelemiştir. Sonuç olarak, SE MSE ön uygulamasının mısır fidelerinde bazı temel stres parametrelerini ve fotosentetik mekanizmayı düzenleyerek kuraklık stresinin olumsuz etkilerini hafifletmede önemli katkılar sağladığı belirlenmiştir. Bu durum, SE MSE'nin sahip olduğu güçlü antioksidan özelliğinden kaynaklandığının güçlü bir kanıtıdır.

KAYNAKLAR

Ahanger MA, Agarwal RM (2017) Potassium improves antioxidant metabolism and alleviates growth inhibition under water and osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L). Protoplasma, 254: 1471-1486.

Ahmad P, Jaleel CA, Salem MA, Nabi G, Sharma S (2010) Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. Critical Reviews in Biotechnology, 30:161-175.

Alabi OA, Atanda HC, Olumurewa JA (2022) Cytogenotoxicity of the aqueous extract of *Parquetina nigrescens* leaf using *Allium cepa* assay. Protoplasma, 259:1417-1425.

Altuntaş C, Sezgin A, Demiralay M, Terzi R, Sağlam A, Kadıoğlu A (2019) Application of sucrose modulates the expressions of genes involved in proline and polyamine metabolism in maize seedlings exposed to drought. Biologia Plantarum, 63:247-252.

Anjum SA, Wang L, Farooq M, Xue L, Ali S (2011a) Fulvic acid application improves the maize performance under well-watered and drought conditions. Journal of Agronomy and Crop Science, 197: 409-417.

Anjum SA, Farooq M, Wang LC, Xue LL, Wang SG, Wang L, Zhang S, Chen M (2011b) Gas exchange and chlorophyll synthesis of maize cultivars are enhanced by exogenously-applied glycin betaine under drought conditions. Plant, Soil and Environment, 57:326-331.

Anjum SA, Wang LC, Farooq M, Hussain M, Xue LL, Zou CM (2011c) Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. Journal of Agronomy and Crop Science, 197:177-185.

Apel K, Hirt H (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology, 55:373-399.

Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Biology, 50:601-639.

Ashraf M, Iram A (2005) Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes diffeing in salt tolerance. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 200: 535-546.

Baltacıer G, Donat S. Okan A (2023) The effects of exogenous salicylic acid and strigolactone applications on seedling growth and antioxidant activity in tomato seedlings under short-term drought stress. Journal of the Institute of Science and Technology, 13: 89-101.

Barrs HD, Weatherley PE (1962) A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. Australian Journal of Biological Sciences, 15:413-428.

Benjamin JG, Nielsen DC (2006) Water deficit effects on root distribution of soybean, field pea and chickpea. Field Crops Research, 97: 248-253.

Bijanzadeh E, Naderi R, Egan TP (2019) Exogenous application of humic acid and salicylic acid to alleviate seedling drought stress in two corn (*Zea mays* L.) hybrids. Journal of Plant Nutrition, 42:1483-1495.

Bray EA, Bailey-Serres J, Weretilnyk E (2000) Responses to abiotic stresses. In: Gruissem W, Buchannan B, Jones R (eds) Biochemistry and molecular biology of plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, pp 1158-1249.

Bubulica MV, Chirigiu L, Popescu M, Simionescu A, Anoaica G (2012) Popescu, A. analysis of sterol compounds from *Sambucus ebulus*. Chemistry of Natural Compounds, 48: 520-521.

Carillo P, Mastrolonardo G, Nacca F, Parisi D, Verlotta A, Fuggi A (2008) Nitrogen metabolism in durum wheat under salinity: accumulation of proline and glycine betaine. Functional Plant Biology, 35: 412-426.

Chirigiu L, Chirigiu RG, Tircomnicu V, Bubulica MV (2011) GC-MS analysis of chemical composition of *Sambucus ebulus* leaves. Chemistry of Natural Compounds, 47:126-127.

Cüce M, Sezgin MA (2022) Sodium nitroprusside mediates attenuation of paraquat-mediated oxidative stress in Eruca sativa in vitro. Physiology and Molecular Biology of Plants, 28:289-299.

Damghan IR (2009) Exogenous application of brassinosteroid alleviates drought-induced oxidative stress in *Lycopersicon esculentum* L. General and Applied Plant Physiology, 35:22-34.

Dawood MFA, Abeed AHA, Aldaby EES (2019) Titanium dioxide nanoparticles model growth kinetic traits of some wheat cultivars under different water regimes. Indian Journal of Plant Physiology, 24:129-140.

Demiralay M (2021) Yerel (Artvin-Şavşat) ve tescilli domates çeşitlerinde kuraklık stresine karşı tolerans seviyelerinin araştırılması. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 10:1474-1485.

Demmig-Adams B, Adams WW (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43: 599-626.

Ebrahimzadeh MA, Pourmorad F, Bekhradnia AR (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. African Journal of Biotechnology, 7:3188-3192.

Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Pourmorad F (2010) Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 9: 5212-5217.

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development, 29:185-212.

Fathi H, Ebrahimzadeh MA, Ziar A, Mohammadi H (2015) Oxidative damage induced by retching; antiemetic and neuroprotective role of *Sambucus ebulus* L. Cell Biology and Toxicology, 31: 231-239.

Heath R, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125.

Howladar Saad M (2014) A novel *Moringa oleifera* leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. Ecotoxicology and Environmental Safety, 100: 69-75.

Kadioglu A, Saruhan N, Sağlam A, Terzi R, Acet T (2011) Exogenous salicylic acid alleviates effects of long term drought stress and delays leaf rolling by inducing antioxidant system. Plant Growth Regulation, 64:27-37.

Kashiwagi J, Krishnamurthy L, Crouch JH, Serraj R (2006) Variability of root length density and its contributions to seed yield in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under terminal drought stress. Field Crops Research, 95:171-181.

Kaur G, Asthir B (2015) Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. Biologia plantarum, 59: 609-619.

Khanna-Chopra R, Selote DS (2007) Acclimaton to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than-susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany, 60: 276-283.

Kültür Ş (2007) Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey). Journal of Ethnopharmacology, 111:341-364.

Lawlor DW (1995) The effects of water deficit on photosynthesis in environment and plant metabolism. In: Smirnoff, N., Ed., Bioss Scientific Publishers, Oxford, 129-160.

Li J, Zeng L, Cheng Y, Lu G, Fu G, Ma H, Liu Q, Zhang X, Zou X, Li C (2018) Exogenous melatonin alleviates damage from drought stress in *Brassica napus* L. (rapeseed) seedlings. Acta Physiologiae Plantarum, 40:1-11.

Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11:591-592.

Mahajan S, Tuteja N (2005) Cold, salinity and drought stress: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, 444: 139-158.

Marc EB, Nelly A, Annick DD, Frederic D (2008) Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. Journal of Ethnopharmacology, 120: 315-334.

Martínez JP, Silva HFLJ, Ledent JF, Pinto M (2007) Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). European Journal of Agronomy, 26: 30-38.

Mikulic-Petkovsek M, Schmitzer V, Slatnar A, Todorovic B, Veberic R, Stampar F, Ivancic A (2014) Investigation of anthocyanin profile of four elderberry species and interspecific hybrids. Journal of Agricultural and Food Chemistry,62: 5573-5580.

Mikulic-Petkovsek M, Ivancic A, Todorovic B, Veberic R, Stampar F (2015) Fruit phenolic composition of different elderberry species and hybrids. Journal of Food Science, 80:C2180-C2190.

Miller GAD, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, Mittler RON (2010) Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. Plant, Cell & Environment, 33: 453-467.

Mittler R (2006) Abiotic stress, the field environment and stress combination, Trends in Lant Science, 11: 15-19.

Oguz MC, Aycan M, Oguz E, Poyraz I, Yildiz M (2022) Drought stress tolerance in plants: Interplay of molecular, biochemical and physiological responses in important development stages. Physiologia, 2: 180-197.

Pandey V, Shukla A (2015) Acclimation and tolerance strategies of rice under drought stress. Rice Science, 22: 147-161.

Pirasteh-Anosheh H, Saed-Moucheshi A, Pakniyat H, Pessarakli M (2016) Stomatal responses to drought stress. Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach, 1: 24-40.

Posmyk MM, Kontek R, Janas KM (2009) Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72: 596-602.

Pribela A, Durcanska J, Piry J, Karovicova J (1992) Volatile substances of dwarf elder (*Sambucus ebulus*) fruits. Biologia, 47:225-230.

Reddy A, Chaitanya KV, Vivekanandan M (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plant. Journal of Plant Physiology, 161:1189-1202.

Riccardi F, Gazeau P, Jacquemot MP, Vincent D, Zivy M (2004) Deciphering genetic variations of proteome responses to water deficit in maize leaves. Plant Physiology and Biochemistry, 42:1003-1011.

Scandalios JG (2005) Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 38: 995-1014.

Sairam RK, Srivastava GC, Agarwal S, Meena RC (2005) Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biologia Plantarum, 49: 85-91.

Sallam A, Alqudah AM, Dawood MF, Baenziger PS, Börner A (2019) Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research. International Journal of Molecular Science, 20: 3137.

Šarić-Kundalić B, Dobeš C, Klatte-Asselmeyer V, Saukel J (2010) Ethnobotanical study on medicinal use of wild and cultivated plants in middle, south and west Bosnia and Herzegovina. Journal of Ethnopharmacology, 131.

Saruhan Guler N, Ozturk K, Sezgin A, Altuntas C, Kadioglu A, Terzi R (2021) Alpha lipoic acid application promotes water-deficit tolerance by modulating osmoprotectant metabolism-related genes in maize. Russian Journal of Plant Physiology, 68: 1152-1160.

Sohag AAM, Tahjib-Ul-Arif M, Brestic M, Afrin S, Sakil MA, Hossain MT, Hossain MA (2020). Exogenous salicylic acid and hydrogen peroxide attenuate drought stress in rice. Plant, Soil and Environment, 66: 7-13.

Szabados L, Savouré A (2010) Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science, 15: 89-97.

Tan Y, Liang Z, Shao H, Du F (2006) Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of Radix Astragali at seeding stage. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 49:60-65.

Tasinov O, Kiselova-Kaneva Y, Ivanova D (2012) Antioxidant activity, total polyphenol contentand anthocyanins content of *Sambucus ebulus* L. aqueous and aqueous–ethanolic extracts depend on the type and concentration of extragent. Science and Technology, 2: 37-41.

Tasinov O, Kiselova-Kaneva Y, Ivanova D (2013) *Sambucus ebulus* from traditional medicine to recent studies. Scripta Scientifica Medica, 45: 36-43.

Tasinov OB, Kiselova-Kaneva YD, Nazifova-Tasinova NF, Todorova MN, Trendafilova AB, Ivanova DG (2020) Chemical composition and cytoprotective and anti-inflammatory potential of *Sambucus ebulus* fruit ethyl acetate fraction. Bulgarian Chemical Communication, 52: 100-106.

Tasinov O, Dincheva I, Badjakov I, Kiselova-Kaneva Y, Galunska B, Nogueiras R, Ivanova D (2021) Phytochemical composition, anti-inflammatory and ER stress-reducing potential of *Sambucus ebulus* L. fruit extract. Plants, 10 (11):2446.

Vankova DV, Todorova MN, Kisselova - Kaneva YD, Galunska BT (2019) Development of new and robust LC-MS method for simultaneous quantification of polyphenols from *Sambucus ebulus* fruits. Journal of Liquid Chromatography&Related Technology, 42:408-416.

Velikova V, Yordanov I, Edreva A (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants, protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151:59-66.

Xiao X, Xu X, Yang F (2008) Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cathayana* populations. Silva Fennica, 42:705719.

Yetişsin F, Karakaya A (2022) Tuz stresi altındaki mısır fidelerine aseton o-(4 klorofenilsülfonil) oksim ön uygulamasının biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin araştırılması. Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 23:74-83.

Yetişsin F, Ahneak E (2023) Acetone O-(2-naphthylsulfonyl) oxime alleviates the toxic effects of cadmium stress in maize seedlings by ıncreasing the phenolic substance content and antioxidant system activity.

Zahmanov G, Alipieva K, Denev P, Todorov D, Hinkov A, Shishkov S, Simova S, Georgiev MI (2015) Flavonoid glycosides profiling in dwarf elder fruits (*Sambucus ebulus* L.) and evaluation of their antioxidant and anti-herpes simplex activities. Industrial Crops and Products, 63: 58-64.

Zhang LX, Gao M, Li SQ, Li SX, Liang ZS (2011) Modulation of plant growth, water status and antioxidative system oftwo maize cultivars (*Zea mays* L.) induced by exogenous glycine betaine under long term mind drought. Pakistan Journal of Botany, 43:1587-1594.

Zhang LX, Lai JH, Liang ZS, Ashraf M (2014) Interactive effects of sudden and gradual drought stress and foliar-applied glycine betaine on growth, water relations, osmolyte accumulation and antioxidant defence system in two maize cultivars differing in drought tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science, 200:425-433.