

Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.)'nin mikro-morfolojik yapılarına ve sekonder metabolit içeriğine kuraklığın etkisi

Semra Kılıç^{a,*}, Havva Kaya^b

Özet: Kuraklık stresinin fesleğenin (*Ocimum basilicum* L.) mikro-morfolojik ve fizyolojik parametrelerine etkisini değerlendirmek amacıyla bitkiler kontrollü ortam koşullarında 3 ay boyunca yetiştirilmiştir. Kuraklık uygulamaları 5 günde bir sulama (kontrol grubu), 10 günde bir sulama (1. grup: düşük derecede stres), 15 günde bir sulama (2. grup: orta derecede stres) ve 20 günde bir 100 ml sulama (3. grup: şiddetli stres) yapılmıştır. Stresin en belirgin etkisi olarak orta seviyedeki kuraklık uygulamasında stoma sayısının arttığı ve stomaların küçüldüğü belirlendi. Stresin şiddeti arttıkça bu parametrelerde herhangi bir değişim olmadı. Benzer etki yaprağın her iki yüzeyinde bulunan capitat ve peltat glandular tüylerde de tespit edildi. Kuraklık stresi fitokimyasal içeriğini de etkiledi. Kuraklık stresi uygulamaları arasında önemli farklılıklar gözlenmemesine rağmen, kuraklık uygulamaları ile kontrol grubu arasındaki farklılık önemlidir. Sonuç olarak, uygulamalar arasındaki farklılıklar ile oluşan mikro-morfolojik ve fizyolojik değişimler fesleğen bitkisinin sekonder metabolit üretimini maksimum tutacak sulama düzeyi olarak belirlenmesini sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Fitokimyasal, Glandular tüy, Kuraklık stresi, *Ocimum basilicum*, Sekonder metabolit, Stoma

The effect of drought on micro-morphological structures and secondary metabolite content of basil (*Ocimum basilicum* L.)

Abstract: To evaluate the effect of drought stress on the micro-morphological and physiological parameters of basil (*Ocimum basilicum* L.), they were grown under controlled conditions for 3 months. Drought treatments were made which irrigation every five days (control group), ten days (group 1: normal stress), fifteen days (group 2: mild stress), and twenty days (group 3: under extreme stress) with 100 ml water. The most noticeable result of stress was found to be an increase in the number of stomata and a lowers in the size of the stomata in mild drought treatments. There was no differences in these parameters as the severity of stress increased. A similar effect appeared in the capitata and peltate glandular trichomes on both surfaces of the leaf. Drought stress also affected phytochemical content. While no significant differences which were observed between drought stress treatments, the difference between drought treatments and the control group was significant. As a result, the micro-morphological and physiological differences brought on by the variations in the applications allowed for the identification of the irrigation application that will maintain the secondary metabolite production of the basil plant at the maximum level.

Keywords: Phytochemical, Glandular trichome, Drought stress, *Ocimum basilicum*, Secondary metabolite, Stomata

1. Giriş

Su, bitki metabolizması ve fizyolojisinin temel bileşenidir. Bitkinin farklı kısımlarında metabolitlerin ve besinlerin taşınması için gerekli olan su, yetersizliği durumunda (kuraklık) bitkilerin yaşamsal faaliyetlerini önemli oranda sınırlandıran hatta engelleyen bir abiyotik stres faktörüdür. Toprakta yeterli nemin bulunmadığı durumlarda bitki su ve besin temininde azalmaya ve aşırı terlemeden dolayı kuraklık stresine girer. Bu durum su potansiyelinin ve turgor basıncının düşmesine neden olur. Bu faktör bitkilerde şiddeti ve miktarı ile doğru orantılı olarak değişen morfolojik, anatomik ve fizyolojik süreçleri etkileyerek bitkinin büyümesini ve üretkenliğini olumsuz yönde etkiler (Gholamhoseini vd., 2013). Aynı zamanda, kuraklık stresine maruz kalan bitkiler morfolojik, anatomik ve fizyolojik modifikasyonlar geliştirerek ortama

adaptasyon sağlayabilir, özellikle stomatal değişimler (Pirasteh-Anosheh vd., 2016) ve sekonder metabolit üretimindeki artış ile sürdürülebilirlikleri mümkündür (Yadav vd., 2021). Stoma kuraklık stresinde porlarını kapatarak veya sayılarını azaltarak terleme ile su kaybını minimuma indirir. Kalınlaşmış kutikula ve mum katmanı, çukurda yerleşen stoma ve yoğun tüyler sayesinde terleme daha da azaltılır (Arve vd., 2011). Biyotik ve abiyotik strese maruz kalan bitkilerde genellikle sekonder metabolitler olmak üzere çeşitli fitokimyasalların sentezi teşvik edilir bu sayede bitkiler olumsuz ortam koşullarına adapte olarak stres toleransı geliştirebilirler (Jamwal vd., 2018). Diğer taraftan stres koşullarında üretimi artan sekonder metabolitler olağanüstü biyolojik aktiviteye sahip olduklarından yüzyıllardır endüstrinin birçok alanında geniş kullanım sahasına sahiptir.

✉ ^a Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta, Türkiye

^b Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Bölümü, Isparta, Türkiye

@ * **Corresponding author** (İletişim yazarı): semrakilic@sdu.edu.tr

✓ **Received** (Geliş tarihi): 28.12.2022, **Accepted** (Kabul tarihi): 01.02.2023



Citation (Atıf): Kılıç, S., Kaya, H., 2023. Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.)'nin mikro-morfolojik yapılarına ve sekonder metabolit içeriğine kuraklığın etkisi. Turkish Journal of Forestry, 24(1): 18-24.
DOI: [10.18182/tjf.1225579](https://doi.org/10.18182/tjf.1225579)

Tropik ve subtropik iklim bitkisi olan fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) *Lamiaceae* familyasına ait uçucu yağ içeren önemli bir tıbbi ve aromatik bitkidir (Saha vd., 2016). Fesleğen içerdiği terpenler, fenilproponoidler, alkoller ve aldehitleri gibi fitokimyasallar sayesinde gıda endüstrisinde tatlandırıcı ve koku verici olarak kullanılmakla birlikte geleneksel tıpta aromaterapi, gaz söktürücü, idrar yolları antiseptiği, ağrı dindirici, balgam söktürücü, öksürük kesici, ağız ve diş kokularını giderici, ishal ve kronik dizanteride, kardiyovasküler hastalıklar, alzheimer ve çeşitli kanser tedavisinde de etkilidir (Baytop, 1999; Purushothaman vd., 2018; Widjaja ve Savira, 2019).

İlaç ve gıda endüstrisinin önemli hammadde kaynağı olan fesleğen, ihlamur, adaçayı, papatya, kekik gibi tıbbi ve aromatik bitkiler tüketicilerin ihtiyaçlarını karşılamak için doğadan yasal olmayan yollarla bilinçsizce temin edilmektedir (Korkmaz ve Fakir, 2019). Bu nedenle hem artan talebi karşılamak hem de günümüz koşullarında karşı karşıya kaldığımız kuraklığın fesleğenin gelişimine ve sekonder metabolit içeriğine etkisini belirlemeyi amaçladık. Başta ilaç sanayi olmak üzere tıp, gıda ve kozmetik gibi endüstrilerde geniş kullanım alanına sahip fesleğenin içerdiği fitokimyasalların kalite ve miktarının artırılması endüstrinin farklı dallarında hammadde temini için önemlidir. Stres koşullarında miktarı ve içeriği değişen sekonder metabolitlerin kontrollü stres ortam koşullarında üretimlerinin artırılması ve bu esnada bitkide meydana gelen morfolojik ve fizyolojik değişimlerin tanımlanması ile mümkündür. Bu nedenle bu bitkinin kurak ortam koşullarında morfolojik, anatomik ve fizyolojik parametrelerinin aydınlatılıp, ülkemiz topraklarında yetiştirilebilirliğinin ve sürdürülebilir bir tarım ürününe dönüştürülebilmesi için önemli bir bilgi kaynağı oluşturulabilmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve yöntem

2.1. Materyal

Bu çalışmada fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Sweet çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır. Tohumlar kumlu-killi toprak ile organik maddece zengin çiçek toprağı eşit (1-1) oranda karıştırılarak hazırlanan saksılara (150 x 120 mm) 20'şer adet ekildi. Çimlenme sürecinde bitki büyüme odasına yerleştirilen saksılar düzenli aralıklarla sulandı. Yaklaşık 20 gün sonra fide çıkışı ile birlikte düzensiz büyüme gösteren fideler ayıklanarak çalışma her saksıda 10 adet fide olacak şekilde başlatıldı. Kuraklık uygulamaları kontrol grubu dahil olmak üzere 4 farklı sulama periyodu ile gerçekleştirildi. Buna göre 5 günde bir (kontrol), 1. uygulama 10 günde bir (1. grup: düşük derecede stres), 2. uygulama 15 günde bir (2. grup: orta derecede stres), 3. uygulama 20 günde bir (3. grup: şiddetli stres) 100 ml su uygulanarak gerçekleştirildi. Kontrol uygulamasının 5 günlük periyot olarak uygulanması toprak yüzeyinin nemliliğine göre belirlenmiştir. Her bir uygulama 3 tekrarlı yapıldı. Uygulama fide büyümesi için hazırlanan standart ortam koşullarında (sıcaklık: 20 ±2; nispi nem 60±% 5, ışık periyodu 12-saat, ışık şiddeti 160 µmol m⁻² s⁻¹ PAR) 3 ay boyunca sürdürüldü. Kuraklığın fesleğen fidelerinin bazı morfo-anatomik ve fizyolojik parametrelerine etkisini belirlemek için uygulama sonunda amaca uygun toplanan

örnekler inceleme başlangıcına kadar uygun ortam koşullarında muhafaza edildi.

2.2. Yöntem

Fesleğen bitkisinin her bir uygulamaya ait yapraklarının alt ve üst yüzeylerinden alınan yüzeyel kesitler ile stoma indeksi (Denklem 1) (Rengifo vd., 2002) ve stomatal alan (Denklem 2) (SA, µm²) (Orcen vd., 2013) aşağıdaki formüller kullanılarak belirlenmiştir. Her bir uygulama için ortalama 50 alan tarandı. Stoma boyutları (boy ve genişlik), yaprakların her iki yüzeyleri için ışık mikroskobu altında x40 büyütmede oküler mikrometre kullanılarak ölçüldü, kalibre edildi ve µ olarak belirlendi.

$$SI = \left[\frac{s}{e + s} \right] \times 100 \quad (1)$$

s= stoma sayısı

e= epidermal hücre sayısı

$$SA = \left[\pi \times \frac{Wg \times Lg}{4} \right] \quad (2)$$

Wg; stoma genişliği (µm), Lg; stoma boyu (µm)

Her uygulamaya ait yaprakların her iki yüzeyinde bulunan glandular tüylerin (peltat ve kapitat) morfolojisi ve dağılımı Turner vd. (2000) tarafından tanımlandığı şekilde sınıflandırıldı. Tüylerin yoğunluğu belirlemek için her iki yüzeyde 50 mikroskobik alanda (0.04 mm²) sayım yapıldı.

Tüylerin ve stomaların submikroskopik yapılarını incelemek için SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) görüntü analizi kullanıldı. Taze yaprak örnekleri çift taraflı yapışkan bant ve ince bir karbon filmi ile püskürterek kaplanmış alüminyum çubuklar üzerine monte edildi. Yaprakların her iki yüzeyine ait tüy ve stoma LEO Stereoscan 360 SEM kullanılarak farklı büyütmelelerde görüntülendi.

Kurak uygulamalarının fesleğen bitkisinin içerdiği fitokimyasal bileşimine ve oranlarına etkisi GC/MS (uçucu yağlar) ve HPLC (fenolik) ile belirlendi.

2.2.1. Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)

Numunelerin SPME yöntemiyle ekstraksiyonu yapılarak hazırlanmış ve GC-MS analizi ile uçucu yağ analizi yapılmıştır. Analizler Süleyman Demirel Üniversitesi YETEM-Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

2.2.2. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

1 g numune tartılarak 10 ml metanol ile homojenize edildi ve 4000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Süpernatant, 40 °C'de bir vakumlu döner buharlaştırıcıda kurutuldu. Kuru tortular, 500 µl metanol içerisinde çözündürüldü ve 0.02 µm Millipore filtreden süzüldü. Bu şekilde numuneler analiz için hazırlandıktan sonra fenolik madde tayini HPLC yöntemiyle yapılmıştır. Analizler Süleyman Demirel Üniversitesi YETEM-Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

2.2.3. İstatistiksel analiz:

Tüm istatistiksel analizler, "IBM SPSS Statistics 20" kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık, iki yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak test edildi. Ortalamalar, tek yönlü ve çok değişkenli varyans analizi ve ardından Duncan'ın çoklu aralık testleri kullanılarak karşılaştırıldı. Bireysel ortalamalar arasındaki farklar $P \leq 0.05$ 'te önemli kabul edildi, Windows 10 için Excel yazılımında grafikler çizildi. Morfolojik ve fizyolojik parametrelerin analizi üç tekrarla yapıldı ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SD) olarak sunuldu.

3. Bulgular ve tartışma

Bitkilerin kuraklık stresine ilk tepkisi stomalarını kapatmasıdır. Bu sayede terleme azalır ve CO₂ girişinin minimuma düşer. Bunun sonucunda bitkide yükseltilmiş NADPH+H molekülü aşırı birikir. Bitkiler bu durumu geri çevirmek için sekonder metabolit mekanizması dahil tüm reaksiyonları teşvik ederler (Kleinwächter ve Selmar, 2014). Bu nedenle kuraklık uygulamaları belirli dereceye kadar sekonder metabolit üretimini olumlu etkiler. Fesleğin fidelerine uygulanan kuraklık denemelerinin ilk etkisi stomalar gözlemlenerek incelenmiştir. Ardından bitkilerin sekonder metabolit içeriğindeki değişimlere bakarak kuraklığın etkisi değerlendirilmiştir.

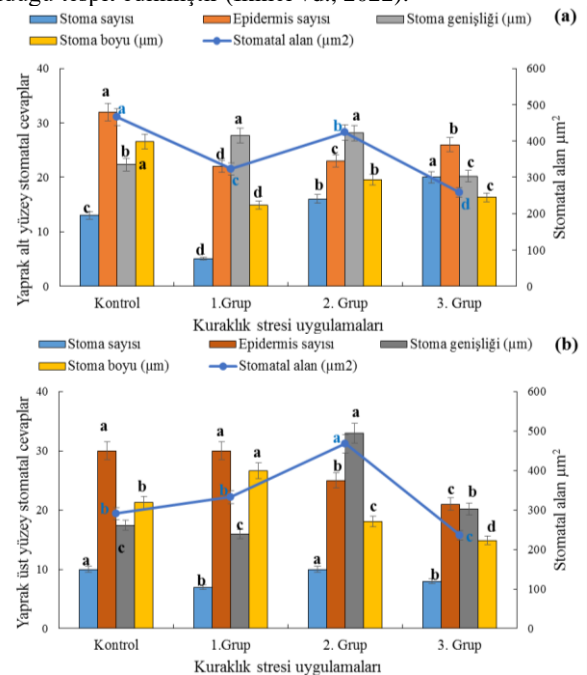
Kuraklık bitkilerin dışı açılan tek kapıları olan ve fotosentetik mekanizmanın kilit unsuru niteliğindeki stomaların sayısında ve büyüklüğünde önemli oranda değişimlere neden olduğundan bitki büyüme ve gelişimini olumsuz etkiler (Casson ve Gray, 2008).

Fesleğin fidelerine 3 farklı sulama rejimi ile uygulanan kuraklık stresinin yapraklardaki stoma ve epidermis sayılarına etkisi değişiklik gösterdi ($P \leq 0.05$). Bu etki aynı bitkiye ait yaprağın alt (Şekil 1a) ve üst yüzeylerinde de (Şekil 1b) farklıydı. Yaprığın alt yüzeylerinde kuraklık ile birlikte stoma ve epidermis sayıları, kontrol uygulaması ile karşılaştırıldığında kademeli olarak değişti. Buna göre stoma sayısı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1. grupta %62 azalırken, 2. ve 3. grupta %19 ve %35 artış gösterdi. Buna karşın stomaların genel olarak küçüldüğü belirlendi. Buna rağmen kuraklık uygulamalarında kontrol grubuna göre 1. grupta %19, 2. grupta %22 artarken, 3. grupta ise yine kontrol grubuna göre %10 azaldı. Benzer şekilde stomanın uzunluğu kontrolle karşılaştırıldığında 1. grupta %45, 2. grupta %27 ve 3. grupta %39 azaldığı tespit edildi. Kuraklığın stomatal parametrelere etkisinin toplam sonucunun değerlendirileceği stomatal alan verileri ise kuraklığın etkisinin kademeli değişimini açıkladı. Buna göre stomatal alan kontrol uygulaması ile karşılaştırıldığında 1. grupta %31, 2. grupta %10 ve 3. grupta %45 azalma gözlemlendi. Kuraklığın fesleğenin alt yüzey yapraklarındaki stomalara etkisi en fazla 20 günlük sulamanın yapıldığı 3. grup uygulamasında tespit edildi (Şekil 3).

Yaprığın üst yüzeyinde stoma parametrelerine kuraklığın etkisi incelendiğinde yaprak alt yüzeyinde tespit edilenlerle benzer sonuçlar elde edildi. Buna göre fesleğin fidelerinin yaprak üst yüzeylerindeki stoma sayısı kontrolle karşılaştırıldığında 1. grupta %30, 2. grupta %10 ve 3. grupta %20 azaldı. Benzer azalış stomanın uzunluğunda belirlenmesine rağmen aynı etki stomanın genişliğinde tespit edilemedi. Buna göre stoma genişliği kontrolle karşılaştırıldığında 1. grupta %12 azalırken, 2. grupta %47

ve 3. grupta %15 artış göstermesi oldukça ilginçti. Bu durum stomanın genişlemesini sağlayan turgor basıncı artışının kuraklık seviyesine göre belirlenmesi ile ilgili olabilir. Stomaların uzunluğu ise kontrolle karşılaştırıldığında sadece 1. grupta %20 artış olduğu, 2. ve 3. grupta %15 ve %34 oranında azaldığı belirlendi. Kuraklığın stoma parametrelerine etkisinin genel değerlendirilmesi olarak tanımlanan stomatal alan ise kontrol ile karşılaştırıldığında 1. grupta %13 ve 2. grupta %38 artış gösterdiği, 3. grupta ise %19 azaldığı tespit edildi (Şekil 3).

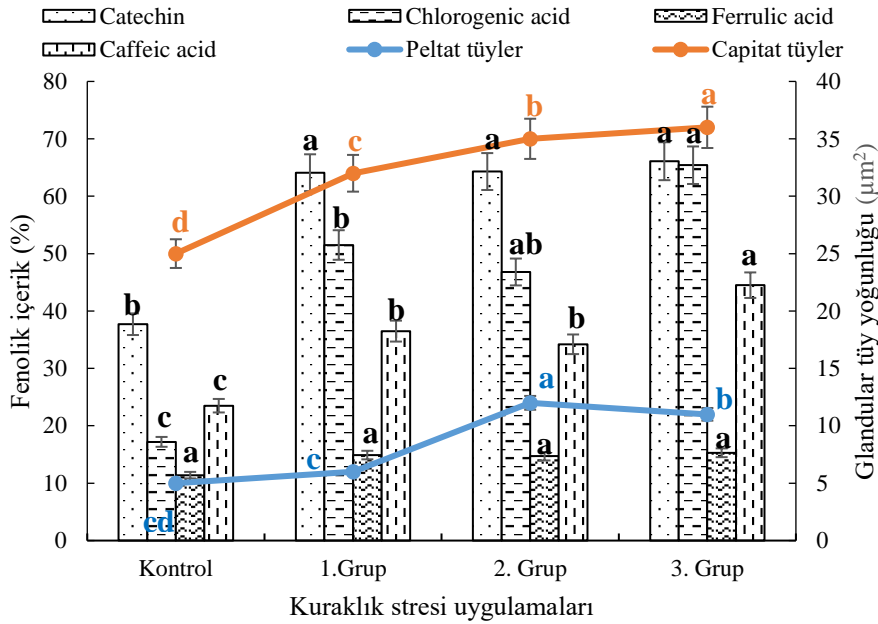
Kuraklık stresinde stomatal cevaplar genellikle sayı ve büyüklüklerini değiştirerek transpirasyon ile kaybedilen suyu minimuma düşürmek şeklinde olur. CO₂ alınımından ödün vererek gerçekleştirilen bu değişim yaprakların daha az soğumasına, besinlerin daha az alınımına ve taşınmasına neden olur (Farooq vd., 2009). Stres koşullarında meydana gelen stomatal cevaplar sayesinde bitkiler olumsuz çevre şartlarına adaptasyonda başarılı olur. Kuraklık stresinde meydana gelen stomatal cevaplar kuraklığa maruz kalan bitkinin su ihtiyacına göre farklılık gösterir. Örneğin kabak bitkisine uygulanan kuraklıkta stoma sayıları azalırken, çimenlerde stoma yoğunluğundaki artışı belirlendi (Bertolino vd., 2019). 5 hafta kuraklık uygulanan mısır bitkilerinde stomaların yoğunluğunda görülen önemli azalmanın mısır bitkilerinin olumsuz çevre şartlarına adaptasyonuna katkı sağlamak olduğu sonucuna varılmıştır (Zhao vd., 2015). Yerfıstığı bitkilerine %25, %50, %75 ve %100 buharlaşma oranları dikkate alınarak uygulanan kuraklık stresinde stoma yoğunluğu, epidermal hücre sayısı ve stoma indeksinin arttığı, stoma boyu ve eni ise önemli oranda azaldığı belirlenmiş (Çınar vd., 2016). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin kurak ve yarı kurak iklimlerinde yayılış gösteren alıç bitkisinin stoma karakterleri incelendiğinde birim alana düşen stoma sayısının fazla, stoma büyüklüklerinin ise oldukça küçük olmasının nedeni bu bitkilerin kurak ortama adaptasyonlarını sağlamak olduğu tespit edilmiştir (İkinci vd., 2022).



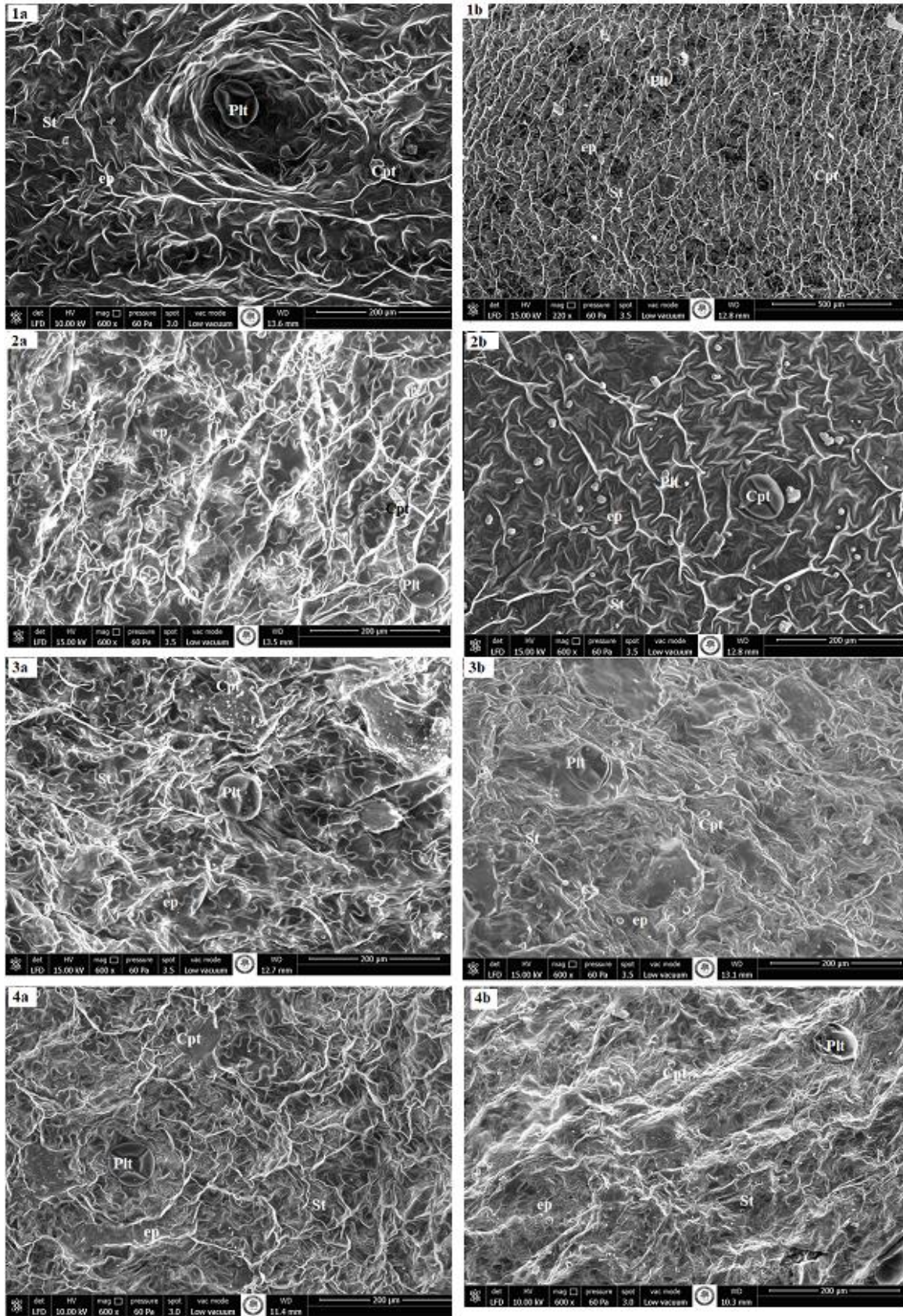
Şekil 1. Fesleğen bitkisinde kuraklık uygulamalarının stomatal parametrelere etkisi. a: yaprak alt yüzey, b: yaprak üst yüzey μm^2 (Farklı harfler ortalamalar arasında farklılıkları ifade eder; $P \leq 0.05$)

Kuraklık stresi bitkilerin fizyolojik mekanizmasını etkileyerek sekonder metabolit üretim süreçlerinde önemli değişikliklere neden olan sınırlayıcı bir faktördür. Fesleğin (*Ocimum basilicum* L.) zengin ve aromatik uçucu yağ bileşenleri ile bilinen önemli bir tıbbi bitkidir (Karaca vd., 2017). Fesleğin yapraklarından elde edilen en önemli fitokimyasallar linalool, ocimene, geraneol, eugenol, α -Pinene, β -Pinene, estragole, methyl cinnamate, 1,8-cineole, cinnamate'dir. Önemli antioksidan bileşikler ise caffeic acid, quercetin, catechin, ferrulic acid ve chlorogenic acid'dir (Nacar ve Tansi, 2000). Bu bileşikler fesleğin yapraklarının her iki yüzeyinde yer alan glandular tüylerde depolanır (Fahn, 1979; Turner vd., 2000). Farklı kuraklık uygulamaları glandular (capitat ve peltat) tüylerin yoğunluğunu değiştirdi ($P \leq 0.05$). Bu değişim fitokimyasal içeriğine de yansıdı (Şekil 2). Kuraklık, ışık, sıcaklık gibi çeşitli abiyotik strese maruz kalan bitkilerde glandular tüylerin sayı ve yapısında değişiklikler meydana gelebilir (Karabourniotis vd., 2020). Peltat tüyler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1. grup uygulamada %17, 2. grup uygulamada %59 ve 3. grup uygulamada %55 artış gösterdi. Capitat tüyler ise kontrolle karşılaştırıldığında 1. grupta %22, 2. grupta %29 ve 3. grupta %31 artış gösterdi. Peltat tüylerdeki artış oranı capitat tüylere oranla oldukça yüksekti. Bu oran peltat tüylerin 2. grup uygulamasında %59 artış oranı ile en yüksek tespit edildi (Şekil 3). Ancak bu artış oranının 3. grup uygulamasında azalma eğilimi

göstermesi kuraklık uygulamalarının belirli seviyeye kadar sekonder metabolit üretimini teşvik etmesi ile eşleştirilebilir. Fesleğin bitkisinde tespit edilen catechin, chlorogenic acid, caffeic acid ve ferrulic acid gibi fenolik bileşiklerin oranı kuraklık uygulamaları arasında çok farklı olmamasına rağmen ($P \geq 0.05$), kontrol grubu ile bu bileşiklerin oranları oldukça farklıydı ($P \leq 0.05$). Örneğin catechin kontrol uygulamasında %37.7 iken 1. grup uygulamasında %64.1, 2. grup uygulamasında %64,3, 3. grup uygulamasında ise %66.1 oranı tespit edildi. Belirlenen diğer bileşikler de benzer oranlarda değişiklik gösterdi. Bitkilerin kurak ortam koşullarında ikincil metabolit sentezini arttırdıklarının belirlendiği bir çalışmada kimyon (*Cuminum cyminum* L.)'un kuraklık stresinde toprak üstü kısımlarında uçucu yağ ve fenolik içeriğinin arttığı belirlenmiştir (Bettaieb vd., 2011). Bitkiler çeşitli stres faktörlerine maruz kaldıklarında yaşamsal faaliyetlerini sürdürmek için reaktif oksijen türleri (ROS) üretirek oluşan oksidatif stres ile birlikte üretimi artıran fitokimyasallar ROS'u temizleyen en uyumlu doğal bileşiklerdir. Bu sayede bitki strese maruz kaldığında içsel bazı mekanizmaları harekete geçirerek stres ortamına adaptasyon sağlayabilir (Sharma vd., 2012). Ancak stresin devamlılığı artan ROS'un yıkıcı etkisinin üstesinden gelemeyeceğinden bitki bu durumdan olumsuz etkilenir (Yang vd., 2009). Kısacası stres belirli bir sürede ve şiddette bitkinin sekonder metabolit üretimini teşvik edebilir (Takshak ve Agrawal, 2019).



Şekil 2. Fesleğin bitkisinin glandular tüyler ile fenolik içeriklerine kuraklık uygulamalarının etkisi (Farklı harfler ortalamalar arasında farklılıkları ifade eder; $P \leq 0.05$)



Şekil 3. Fesleğen'in mikro-morfolojik yapılarına kuraklığın etkisi. 1: Kontrol grubu; 2: düşük derecede kuraklık stresi; 3: Orta derecede kuraklık stresi; 4: Şiddetli kuraklık stresi; a: yaprak alt yüzey, b: yaprak üst yüzey. (Plt: peltat tüy, Cpt: capitat tüy, St: Stoma, ep: Epidermis)

Fesleğen bitkilerine kuraklığın etkisi uçucu yağ oranları ve içeriklerinde de belirli oranlarda değişime neden oldu (Çizelge 1). Bu etki en fazla kontrol grubu ile kuraklık uygulamaları arasında en yüksek oranda belirlendi ($P \leq 0.05$). Yaklaşık 44 farklı kimyasalın belirlendiği uygulamalarda oranlar birbirinden farklıydı. Hatta kontrol grubunda belirlenemeyen, ancak uygulamalarda tespit edilen bazı bileşiklerin varlığı da oldukça ilginçti. Bunun nedeni, bazı fitokimyasalların sadece stres koşullarında ortaya çıkan tepki mekanizmasının bir ürünü olarak sentezlenmesi olabilir. Örneğin, α -Pinene, Sabinene, Limonene kontrol grubunda tespit edilmemesine rağmen kuraklık uygulamalarında farklı oranlarda tespit edildi. Örneğin α -Pinene kontrol grubunda tespit edilmemesine rağmen 1. grup uygulamada 0.14, 2. grup uygulamada 0.28, 3. grup uygulamada ise 0.19 oranında tespit edildi. Benzer şekilde Sabinene 1. grup uygulamasında 0.11, 2. grup uygulamasında 0.35, 3. grup uygulamasında 0.29 oranında tespit edildi. Fesleğen fidelerine uygulanan kuraklık uçucu yağ içeriğinde ve miktarında değişimlere neden olarak, içerdiği fitokimyasalın kalitesini artırıcı etki gösterdiği (Sarah vd., 2011) sonucuna varılabilir. Çevresel adaptasyon ile ilişkili biyolojik faktörler olarak görev yapan uçucu yağların içeriği ve miktarı çeşitli abiyotik stres faktörlerinden etkilenir (Jiao vd., 2021). 3 farklı kuraklık uygulamasına maruz bırakılan *Dracocephalum moldavica* L. bitkilerinde orta düzeyde kuraklık uygulamasında en yüksek uçucu yağ oranı (%0.58) tespit edilmiştir (Khaleghnezhad vd., 2021). Benzer şekilde iki farklı *Salvia* türüne 3 farklı sulama rejimi uyguladığında en yüksek uçucu yağ oranının (%2.20) orta dereceli kuraklık uygulamasında olduğu tespit edilmiştir (Khodadadi vd., 2022). Baudoin vd. (2022), yaptıkları çalışmada Oregano (kekik) ve Rosemary (biberiye) bitkilerine 5 aşamada sulama rejimi içeren kuraklık ve aşırı sulama stresi uygulamıştır (şiddetli aşırı sulama, orta düzeyde aşırı sulama, standart sulama, orta düzeyde yetersiz sulama ve şiddetli yetersiz sulama). Bu streslerin uçucu yağ içeriğine ve bileşimine etkisi incelendiğinde kekik fitokimyasal oranları orta düzeyde yetersiz sulamada önemli artış gösterirken, biberiye fitokimyasal oranlarında herhangi bir değişiklik olmamıştır.

Kuraklık stresindeki biberiyenin fitokimyasal oranlarının değişmemesi, biberiyenin bazı morfolojik özelliklerinden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Baudoin vd., 2022). Ayrıca durumun bitkinin gün boyunca stoma açıklığını sıkı bir şekilde kontrol altında tutması ve yapraklarında işlev gören foto-koruma ve antioksidan-koruma gibi bazı mekanizmalarını aktive ederek strese karşı tolerans geliştirmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Baudoin vd., 2022).

Çizelge 1. Kuraklık uygulamalarının fesleğen bitkisinin fitokimyasal bileşimine etkisi

Phytochemicals	Control (ppm)	1.Grup (ppm)	2.Grup (ppm)	3. Grup (ppm)
β -Pinene	0.14	-	-	0.32
α -Pinene	-	0.14	0.28	0.19
Sabinene	-	0.11	0.35	0.29
β -Myrcene	0.63	0.54	0.55	0.47
Limonene	-	0.17	0.34	0.23
1,8-Cineole	1.88	3.02	5.06	3.66
β -Ocimene	2.04	1.81	1.82	1.45
Linalool	19.17	20.09	13.45	14.34
δ -3-Carene	0.16	0.18	0.18	0.16
Eugenol	0.16	0.48	0.83	0.68
Methyleugenol	1.77	4.21	6.35	5.58
Caryophyllene	0.14	0.23	0.34	0.24
Cinnamic acid	57.90	54.38	55.8	55.50
α -Bergamotene	0.72	1.53	2.69	2.7
α -Humulene	0.99	1.27	1.42	1.49
Germacrene	3.48	2.48	2.45	2.85
γ -Cadinene	2.59	1.74	1.60	1.90
α -Muurotol	2.06	0.96	-	1.16

4. Sonuç ve öneriler

Kuraklık bitki büyüme ve gelişimini etkileyen en önemli abiyotik streslerden biridir. Bitkiler strese maruz kaldıklarında morfolojik, anatomik ve fizyolojik değişimler göstererek stres koşullarından en az zarar görecektir şekilde kendilerini düzenlerler. Fesleğen bitkisine 3 ay boyunca düzenli olarak 3 farklı sulama periyodu uygulandı ve kuraklığın fesleğen bitkisinde meydana getirdiği morfo-anatomik ve fizyolojik değişimler kontrol grubu ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Fesleğen bitkilerine uygulanan kuraklığın şiddetine bağlı olarak stoma sayısı ve büyüklüklerinin değiştiği buna bağlı olarak fitokimyasal içeriklerinde de kısmi değişikliklerin olduğu belirlendi. Uygulamalar arasındaki farklılıklar ile oluşan mikro-morfolojik ve fizyolojik değişimler fesleğen bitkisinin sekonder metabolit üretimini maksimum düzeyde tutacak sulama uygulamasının (şiddetli kuraklık) belirlenmesini sağladı.

Açıklama

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi SDU BAP 8289 nolu Proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Arve, L.E., Torre, S., Olsen, J.E., Tanino, K.K., 2011. Stomatal responses to drought stress and air humidity. In: Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations (Ed: Shanker, A., Venkateswarlu, B.), London, IntechOpen, pp. 268-280.
- Baudoin, D.C., Bush, E., Gauthier, T., Hernandez, A.B., Kirk-Ballard, H., 2022. Effects of irrigation and drought on growth and essential oil production in *O. vulgare* and *R. officinalis*. American Journal of Plant Sciences, 13(5): 659-667.
- Baytop, T. 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Bertolino, L.T., Caine, R.S., Gray, J.E., 2019. Impact of stomatal density and morphology on water-use efficiency in a changing world. Frontiers in Plant Science, 10: 225.

- Bettaieb, I., Bourgou, S., Sriti, J., Msaada, K., Limam, F., Marzouk, B., 2011. Essential oils and fatty acids composition of Tunisian and Indian cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds: A comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(11): 2100-2107.
- Casson, S., Gray, J.E., 2008. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist*, 178(1): 9-23.
- Çınar, N., Aydınsakir, K., Dinç, N., Büyüktaş, D., Işık, M., 2016. Yerfıstığında (*Arachis hypogaea* L.) su stresinin stoma özellikleri üzerine etkisi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 29(2): 79-84.
- Fahn, A., 1979. *Secretory Tissues in Plants*. Academic Press, London.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. In: *Sustainable Agriculture* (Ed: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola, C.), Springer, Dordrecht, pp. 153-188.
- Gholamhoseini, M., Ghalavand, A., Dolatabadian, A., Jamshidi, E., Khodaei-Joghan, A., 2013. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. *Agricultural Water Management*, 117: 106-114.
- İkinci, A., Ak, B.E., Dikmetaş, B., Hatipoglu, I.H., 2022. Şanlıurfa ve Diyarbakır illerinde yetişen alıç (*Crataegus* spp.) genotiplerinin bazı meyve, yaprak ve stoma özelliklerinin belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 9(4): 850-859.
- Jamwal, K., Bhattacharya, S., Puri, S., 2018. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 9: 26-38.
- Jiao, P., Wu, Z., Wang, X., Jiang, Z., Wang, Y., Liu, H., Qin, R., Li, Z., 2021. Short-term transcriptomic responses of *Populus euphratica* roots and leaves to drought stress. *Journal of Forestry Research*, 32(2): 841-853.
- Karabourniotis, G., Liakopoulos, G., Nikolopoulos, D., Bresta, P., 2020. Protective and defensive roles of non-glandular trichomes against multiple stresses: Structure–function coordination. *Journal of Forestry Research*, 31(1): 1-12.
- Karaca, M., Kara, Ş.M., Özcan, M.M., 2017. Bazı fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) popülasyonlarının herba verimi ve uçucu yağ oranının belirlenmesi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(2): 160-169.
- Khaleghnezhad, V., Yousefi, A.R., Tavakoli, A., Farajmand, B., Mastinu, A., 2021. Concentrations-dependent effect of exogenous abscisic acid on photosynthesis, growth and phenolic content of *Dracocephalum moldavica* L. under drought stress. *Planta*, 253(6): 1-18.
- Khodadadi, F., Ahmadi, F.S., Talebi, M., Moshtaghi, N., Matkowski, A., Szumny, A., Rahimmalek, M., 2022. Essential oil composition, physiological and morphological variation in *Salvia abrotanoides* and *S. yangii* under drought stress and chitosan treatments. *Industrial Crops and Products*, 187: 115429.
- Kleinwächter, M., Selmar, D., 2014. Influencing the product quality by applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. In: *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment* (Ed: Ahmad, P., Wani, M.), Springer, New York, pp. 57-73.
- Korkmaz, M., Fakir, H., 2019. Determination of final consumer characteristics of non-wood forest products. *Turkish Journal of Forestry*, 10(2): 10-20.
- Nacar, S., Tansi, S., 2000. Chemical components of different basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown in Mediterranean regions in Turkey. *Israel Journal of Plant Sciences*, 48(2): 109-112.
- Orcen, N., Nazarian, G., Gharibkhani, M., 2013. The responses of stomatal parameters and SPAD value in asian tobacco exposed to chromium. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(5): 1441-1447.
- 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.
- Purushothaman, B., Prasanna Srinivasan, R., Suganthi, P., Ranganathan, B., Gimbun, J., Shanmugam, K., 2018. A comprehensive review on *Ocimum basilicum*. *Journal of Natural Remedies*, 18(3): 71-85.
- Rengifo, E., Urich, R., Herrera, A., 2002. Water relations and leaf anatomy of the tropical species, *Jatropha gossypifolia* and *Alternanthera crucis*, grown under elevated CO₂ concentration. *Photosynthetica*, 40: 397-403.
- Saha, S., Monroe, A. Day, M.R., 2016. Growth, yield, plant quality and nutrition of basil (*Ocimum basilicum* L.) under soilless agricultural systems. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2):181-186.
- Sarah, K., Amir, M., Hassan, S., Khodayar, H., Ahmad, K., 2011. The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(22): 5360-5365.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012: 217037.
- Takshak, S., Agrawal, S.B., 2019. Defense potential of secondary metabolites in medicinal plants under UV-B stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 193: 51-88.
- Turner, G.W., Gershenzon, J., Croteau, R.B., 2000. Development of peltate glandular trichomes of peppermint. *Plant Physiology*, 124: 665-680.
- Widjaja, S.S., Savira, M., 2019. Glucose lowering effect of basil leaves in diabetic rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(9): 1415.
- Yadav, B., Jogawat, A., Rahman, M.S., Narayan, O.P., 2021. Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review. *Gene Reports*, 23: 101040.
- Yang, F., Hu, J., Li, J., Wu, X., Qian, Y., 2009. Chitosan enhances leaf membrane stability and antioxidant enzyme activities in apple seedlings under drought stress. *Plant Growth Regulation*, 58(2): 131-136.
- Zhao, W., Sun, Y., Kjelgren, R., Liu, X., 2015. Response of stomatal density and bound gas exchange in leaves of maize to soil water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(1): 1-9.