



**BİLECİK ŞEYH EDEBALI  
ÜNİVERSİTESİ**

**Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**BORİK ASİT UYGULANAN BAZI ASPİR (*Carthamus  
tinctorius* L.) ÇEŞİTLERİNİN ANTİOKSİDAN ENZİM  
AKTİVİTELERİNDE MEYDANA GELEN  
DEĞİŞİKLİKLERİN EKOFİZYOLOJİK  
PARAMETRELER, FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

**Şifanur SÜLÜŞ  
Yüksek Lisans**

**Tez Danışmanı  
Dr. Öğr. Üyesi Sema LEBLEBİCİ**

**BİLECİK, 2019  
Ref.No: 10222966**



**BİLECİK ŞEYH EDEBALI  
ÜNİVERSİTESİ**

**Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**BORİK ASİT UYGULANAN BAZI ASPİR (*Carthamus  
tinctorius* L.) ÇEŞİTLERİNİN ANTIOKSİDAN ENZİM  
AKTİVİTELERİNDE MEYDANA GELEN  
DEĞİŞİKLİKLERİN EKOFİZYOLOJİK  
PARAMETRELER, FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER  
YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

**Şifanur SÜLÜŞ  
Yüksek Lisans**

**Tez Danışmanı  
Dr. Öğr. Üyesi Sema LEBLEBİCİ**

**BİLECİK, 2019  
Ref.No: 10222966**



**BİLECİK SEYH EDEBALI  
UNIVERSITY**

**Graduate School of Sciences  
Department of Biotechnology**

**DETERMINATION OF CHANGES IN ANTIOXIDANT  
ENZYME ACTIVITIES OF SOME SAFFLOWER  
(*Carthamus tinctorius* L.) VARIETIES APPLIED BORIC  
ACID BY ECOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS,  
PHYSIOLOGICAL AND MOLECULAR METHODS**

**Şifanur SULUS  
Master's**

**Thesis Advisor  
Assist. Prof. Dr. Sema LEBLEBICI**

**BİLECİK, 2019  
Ref.No: 10222966**



## BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ

### FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

#### YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 05/12/2018 tarih ve 71 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 24/12/2018 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Şifanur SÜLÜŞ'ün "Borik Asit Uygulanan Bazı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinin Antioksidan Enzim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişikliklerin Ekofizyolojik Parametreler, Fizyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi" başlıklı tez çalışması Biyoteknoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak oy birliği/ oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

#### JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Dr. Öğr. Üyesi Sema LEBLEBİCİ

ÜYE

: Doç. Dr. Emel SÖZEN

ÜYE

: Doç. Dr. Özer YILMAZ

#### ONAY

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun .... / .... / ..... tarih ve ..... / ..... sayılı kararı.

İMZA/ MÜHÜR

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım süresince her türlü bilgi ve yardımlarından faydalandığım, hiçbir zaman ilgi ve desteğini esirgemeyen Sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Sema LEBLEBİCİ'ye bana kattığı tüm bilgi, tecrübe ve değerler için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gerek laboratuvar çalışmalarımda gerek diğer zamanlarda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, her zaman sabır ve hoşgörü ile yardımına yetişen Öğr. Gör. Gülçin ÇETİN ve Öğr. Gör. Özge KAYGUSUZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her anında yanımda olan, bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi hiçbir desteği benden esirgemeyen, sevgi, hoşgörü, sabır ve anlayışla yaşamıma anlam katan, çok değerli aileme; her zaman yanımda olan ve maddi manevi desteğini benden esirgemeyen hayat arkadaşım Semih SÜLÜŞ'e teşekkürlerimi sunarım.

Şifanur SÜLÜŞ

## ÖZET

Aspir bitkisi (*Carthamus tinctorius* L.) Compositae familyasına ait önemli bir endüstri bitkisidir. *Carthamus* cinsinin dünya üzerinde 25 yabancı türü yetişmektedir ve bu cins ülkemizde 8 tür ile temsil edilmektedir. Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan ve birçok kullanım alanına sahip olan aspir, kuraklık ve tuzluluk gibi bazı abiyotik stres faktörlerine karşı toleransı yüksek olması sebebiyle marjinal alanların değerlendirilmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. Ekolojik koşulların değişmesiyle bitkilerde ekolojik, fizyolojik, moleküler değişiklikler meydana gelmekte ve bitkiler stres faktörlerine karşı çeşitli korunma mekanizmaları geliştirmektedir. Bu durum bitkilerin ürün kalitesini ve miktarını sınırlandırmaktadır.

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (0, 5, 10, 15 mM) borik asit uygulanan üç farklı aspir çeşidine ait APX, CAT, GR ve SOD enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve bu enzimlerin ekspresyon seviyelerinde meydana gelen değişiklikler kantitatif gerçek zamanlı PZR kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca aspir çeşitlerinin değişen konsantrasyonlara bağlı olarak % çimlenme miktarları, kök-gövde uzunluğu, kök-gövde yaş-kuru ağırlığı, biyokütle ve tohum canlılık indeksleri tespit edilmiştir.

Ekofizyolojik parametrelerden elde edilen sonuçlara göre yüksek borik asit konsantrasyonunun aspir çeşitlerinde erken büyüme evresini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Spektrofotometrik ölçümlerde artan konsantrasyonlara bağlı olarak SOD ve APX enzim aktivitesinin arttığı; CAT ve GR enzim aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Antioksidan enzimlerin kantitatif gerçek zamanlı PZR sonuçları değerlendirildiğinde; Dinçer çeşidinde APX ve SOD, Balcı çeşidinde APX, Remzibey çeşidinde ise çalışılan tüm antioksidan enzimlerin gen ekspresyon seviyelerinde artış olduğu belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda borik asit uygulamasının neden olduğu oksidatif stresle baş edebilmek için en yüksek antioksidan kapasiteye sahip çeşidin Remzibey, en düşük kapasiteye sahip çeşidin ise Balcı olduğu; Dinçer çeşidinin ise bora karşı toleransta Balcı çeşidine daha yakın olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Borik asit; *Carthamus tinctorius* L.; Ekofizyoloji; Antioksidan enzim; Kantitatif gerçek zamanlı PZR

## ABSTRACT

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is an essential industrial plant which belongs to the family Compositae. Twenty-five different wild type of *Carthamus* grows around the World and 8 of them are present in Turkey. Safflower, which is cultivated and has many area of use in Turkey has an important potential in the evaluation of marginal areas as it has high tolerance against some abiotic stress factors like drought and salinity. Ecological, physiological, molecular changes occur in plants with the change of ecological circumstances, and thus plants develop various defence mechanisms against the stress factors. This limits the product quality and quantity.

In this study APX, CAT, GR and SOD enzyme activities belonging to the three different safflower types which were applied boric acid in different concentrations (0, 5, 10, 15 mM) measured spectrophotometrically and the changes occurred in the expression levels of these enzymes were obtained by quantitative real-time PCR. Besides, % germination amounts, root/shoot length, root/shoot fresh-dry weight, biomass and seed vitality index based on changing concentrations.

According to the results obtained from the ecophysiological parameters, it is found out that high boric concentration affected the early seedling stage in safflower varieties adversely. It was observed that SOD and APX enzyme activity is increased and CAT and GR enzyme activity is decreased based on the increasing concentrations in spectrophotometric measurements. When quantitative real-time PCR results of the antioxidant enzymes reviewed, increase is observed in the gene expression level of APX and SOD in Dinçer variety, APX in Balcı variety and in all of the antioxidant enzymes studied in Remzibey variety. Remzibey variety is found out to have the highest antioxidant capacity to cope with oxidative stress caused by boric acid application at high concentrations, Balcı variety is found out to have the lowest antioxidant capacity to cope with oxidative stress caused by boric acid application at high concentrations. Dinçer variety is found out to be closer to Balcı in tolerance against boron.

**Key Words:** Boric acid; *Carthamus tinctorius* L.; Ecophysiology; Antioxidant enzyme; Quantitative real-time PCR

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	
<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİ</b> .....	<b>3</b>
2.1. Aspirin Bitkisinin Özellikleri .....	3
2.1.1. Aspirin kullanım alanları .....	6
2.2. Abiyotik Stres ve Bitkilere Etkisi .....	7
2.2.1. Bor stresi ve bitkilere etkisi .....	9
2.3. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS) .....	13
2.4. Antioksidanlar .....	15
2.5. Antioksidatif Savunma Sisteminin Nonenzimatik Bileşenleri .....	17
2.5.1. Askorbat .....	17
2.5.2. Glutasyon.....	17
2.5.3. Tokoferoller .....	18
2.5.4. Karotenoidler .....	18
2.5.5. Fenolik bileşikler .....	18
2.6. Antioksidatif Savunma Sisteminin Enzimatik Bileşenleri .....	19
2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) .....	19
2.6.2. Askorbat peroksidaz (APX).....	19
2.6.3. Katalaz (CAT) .....	20
2.6.4. Glutasyon redüktaz (GR).....	21
2.6.5. Guaiakol peroksidaz (GPOX/GPX) .....	22
2.6.6. Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR).....	22
2.6.7. Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR).....	23

2.7. Literatür Özeti .....	23
<b>3. MATERYAL METOD .....</b>	<b>28</b>
3.1. Çimlenme Deneyleeri ve Borik Asit Uygulaması .....	28
3.2. Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi .....	29
3.3. Antioksidan Enzim Aktivitelerine Ait Fizyolojik Deneyleer .....	30
3.3.1. Yaprak örneklerinin ekstraksiyonu .....	30
3.3.2. Protein içeriğinin belirlenmesi.....	31
3.3.3. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	31
3.3.4. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	32
3.3.5. Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	33
3.3.6. Glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	34
3.4. Antioksidan Enzimlere Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi .....	35
3.4.1. Total RNA izolasyonu.....	35
3.4.2. Total RNA miktarının belirlenmesi.....	35
3.4.3. cDNA sentezi.....	35
3.4.4. Kantitatif gerçek zamanlı PZR için primer dizaynı.....	36
3.4.5. Kantitatif gerçek zamanlı PZR .....	36
3.5. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi.....	37
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>38</b>
4.1. Petri Deneyleerine Ait Bulgular .....	38
4.2. Viyol Deneyleerine Ait Bulgular .....	45
4.2.1. Klorofil <i>a</i> , <i>b</i> ve toplam klorofil ( <i>a+b</i> ) sonuçları.....	45
4.2.2. Protein miktarı .....	48
4.2.3. Antioksidan enzim aktivitelerine ait sonuçlar .....	49
4.2.3.1. Örneklerin yaprak dokusuna ait toplam SOD aktiviteleri .....	49
4.2.3.2. Örneklerin yaprak dokusuna ait toplam CAT aktiviteleri .....	50
4.2.3.3. Örneklerin yaprak dokusuna ait toplam APX aktiviteleri .....	51
4.2.3.4. Örneklerin yaprak dokusuna ait toplam GR aktiviteleri.....	52
4.3. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Antioksidan Enzimlerin Gen İfadeleri Üzerine Etkisi .....	53
4.3.1. Aspir çeşitlerine ait yaprak örneklerinde SOD mRNA seviyesindeki değişim .....	53

4.3.2. Aspir çeşitlerine ait yaprak örneklerinde CAT mRNA seviyesindeki değişim .....	55
4.3.3. Aspir çeşitlerine ait yaprak örneklerinde APX mRNA seviyesindeki değişim .....	57
4.3.4. Aspir çeşitlerine ait yaprak örneklerinde GR mRNA seviyesindeki değişim .....	59
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>62</b>
5.1. Aspir Çeşitlerinde Borik Asit Uygulamasının Çimlenme Miktarı Üzerine Etkisi .....	62
5.2. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Kök ve Gövde Uzunluğu Üzerine Etkisi .....	64
5.3. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Yaş ve Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi .....	65
5.4. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Biyokütle Üzerine Etkisi .....	66
5.5. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Canlılık İndeksi Üzerine Etkisi.....	68
5.6. Aspir Çeşitlerinde Borik Asit Tolerans İndeksinin Belirlenmesi .....	68
5.7. Aspir Çeşitlerinin Klorofil Miktarları .....	69
5.8. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinin Protein İçeriği .....	70
5.9. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Toplam SOD Aktivitesi .....	71
5.10. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Toplam CAT Aktivitesi .....	72
5.11. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Toplam APX Aktivitesi .....	73
5.12. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Toplam GR Aktivitesi .....	74
5.13. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerine Ait Yaprak Dokularındaki SOD mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi .....	76
5.14. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerine Ait Yaprak Dokularındaki CAT mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi .....	77
5.15. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerine Ait Yaprak Dokularındaki APX mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi .....	78
5.16. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerine Ait Yaprak Dokularındaki GR mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi .....	80
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>81</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>83</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>108</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikro molar
µmol	: Mikromol
B(OH) <sub>3</sub>	: Borik asit
B(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup>	: Tetrahidroksiborat
Ca <sub>2</sub> <sup>+</sup>	: Kalsiyum iyonu
CaCl <sub>2</sub>	: Kalsiyum klorür
Cd	: Kadmiyum
Cu	: Bakır
Fe	: Demir
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: Dipotasyum hidrojen fosfat
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Potasyum dihidrojen fosfat
LOO <sup>·</sup>	: Lipid peroksil radikali
Mn	: Manganez
NaCl	: Sodyum klorür
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
O <sub>2</sub>	: Moleküler oksijen
O <sub>2</sub> <sup>-·</sup>	: Süperoksit radikali
OH <sup>-</sup>	: Hidroksil radikali
RO <sup>·</sup>	: Alkoksil radikali
ROO <sup>·</sup>	: Peroksil radikali
Zn	: Çinko
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma

$\delta$	: Delta
$\epsilon$	: Ekstriksiyon katsayısı
$\sigma$	: Sigma

### **Kısaltmalar**

AOS	: Alternatif oksidazlar
APX	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbat
ATP	: Adenozin trifosfat
B	: Bor
BSA	: Sığır serum albümin
CAT	: Katalaz
cm	: Santimetre
DHAR	: Dehidroaskorbat redüktaz
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleotit trifosfat
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
EtBr	: Etidyum bromür
GPX/GPOX	: Guaikol peroksidaz
gr	: Gram
GR	: Glutasyon redüktaz
GS	: Glutasyon sentetaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GSSG	: Yükseltgenmiş glutasyon
ha	: Hektar alan
İAA	: İndol asetik asit
kg	: Kilogram
L	: Litre
M	: Molar
m	: Metre
MDA	: Malondialdehit

MDHAR	: Monodehidroaskorbat redüktaz
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NBT	: Nitrobluetetrozolyum
nm	: Nanometre
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
POD	: Peroksidaz
RNA	: Ribonükleik asit
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBE	: Tris- Borat- EDTA
TE	: Tris EDTA

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Çizelge 2.1.</b> Biyotik ve abiyotik stres faktörleri.....	8
<b>Çizelge 2.2.</b> Dünya toplam bor rezervleri.....	10
<b>Çizelge 2.3.</b> Bazı serbest radikal kaynakları .....	13
<b>Çizelge 2.4.</b> Önemli ROS temizleyici antioksidan enzimler .....	16
<b>Çizelge 3.1.</b> Ekstraksiyon tamponu içeriği (pH:7.0).....	30
<b>Çizelge 3.2.</b> SOD reaksiyon tamponu içeriği (pH:7.8).....	32
<b>Çizelge 3.3.</b> CAT reaksiyon tamponu içeriği (pH:7.0).....	33
<b>Çizelge 3.4.</b> APX reaksiyon tamponu içeriği (pH:7.0).....	34
<b>Çizelge 3.5.</b> GR reaksiyon tamponu içeriği (pH:7.6) .....	34
<b>Çizelge 3.6.</b> Kantitatif gerçek zamanlı PZR için kullanılan primerler ve dizileri.....	36
<b>Çizelge 3.7.</b> Kantitatif gerçek zamanlı PZR’da kullanılan komponentler .....	37
<b>Çizelge 3.8.</b> Kantitatif gerçek zamanlı PZR protokolü.....	37
<b>Çizelge 4.1.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait tohum çimlenme yüzdeleri .....	38

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

<b>Şekil 2.1.</b> Aspir yaprağı ve çiçeği .....	4
<b>Şekil 2.2.</b> Abiyotik strese karşı bitki yanıtlarının basitleştirilmiş çalışma modeli .....	9
<b>Şekil 2.3.</b> ROS ve antioksidan savunma mekanizmaları .....	16
<b>Şekil 2.4.</b> Glutatyon redüktaz ve hücrel redoks .....	22
<b>Şekil 3.1.</b> Petrilerde çimlendirilen tohumların genel görünümü. ....	29
<b>Şekil 3.2.</b> Viyelerde yetiştirilen aspir fidelerinin genel görünümü. ....	29
<b>Şekil 4.1.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait kök ve gövde uzunlukları (* p<0,05; Ek-1) .....	39
<b>Şekil 4.2.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait kök yaş ve kuru ağırlıkları (YA: Yaş Ağırlık, KA: Kuru Ağırlık) (* p<0,05; Ek-1).....	40
<b>Şekil 4.3.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait gövde yaş ve kuru ağırlıkları (YA: Yaş Ağırlık, KA: Kuru Ağırlık) (* p<0,05; Ek-1) .....	41
<b>Şekil 4.4.</b> Borik asit uygulamasının aspir çeşitlerine ait kök biyokütlesi üzerine etkisi (* p<0,05; Ek-1) .....	42
<b>Şekil 4.5.</b> Borik asit uygulamasının aspir çeşitlerine ait gövde biyokütlesi üzerine etkisi (* p<0,05; Ek-1) .....	43
<b>Şekil 4.6.</b> Borik asit uygulamasının aspir çeşitlerine ait tohum canlılık indeksi üzerine etkisi .....	44
<b>Şekil 4.7.</b> Aspir çeşitlerinde konsantrasyonlara bağlı borik asit tolerans indeksleri.....	44
<b>Şekil 4.8.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerinde klorofil <i>a</i> miktarları (* p<0,05; Ek-1) .....	45
<b>Şekil 4.9.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerinde klorofil <i>b</i> miktarları (* p<0,05; Ek-1) .....	46
<b>Şekil 4.10.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerinde toplam klorofil ( <i>a+b</i> ) miktarı (* p<0,05; Ek-1) .....	47
<b>Şekil 4.11.</b> Aspir çeşitlerinin borik asit konsantrasyonlarına bağlı olarak değişen protein miktarları (* p<0,05; Ek-1).....	48
<b>Şekil 4.12.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait yaprak dokusundaki toplam SOD aktivitesi (* p<0,05; Ek-1).....	49
<b>Şekil 4.13.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait yaprak dokusundaki toplam CAT aktivitesi (* p<0,05; Ek-1).....	50

<b>Şekil 4.14.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait yaprak dokusundaki toplam APX aktivitesi (* p<0,05; Ek-1).....	51
<b>Şekil 4.15.</b> Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait yaprak dokusundaki toplam GR aktivitesi (* p<0,05; Ek-1).....	52
<b>Şekil 4.16.</b> Aspir çeşitlerinin yaprak dokularından izole edilen total RNA'nın agaroz jel elektroforezi görüntüsü (M: 0.1-10.0 kb DNA Ladder, BA: Borik asit) .....	53
<b>Şekil 4.17.</b> Balcı çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam SOD mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	54
<b>Şekil 4.18.</b> Dinçer çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam SOD mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	54
<b>Şekil 4.19.</b> Remzibey çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam SOD mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	55
<b>Şekil 4.20.</b> Balcı çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam CAT mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	56
<b>Şekil 4.21.</b> Dinçer çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam CAT mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	56
<b>Şekil 4.22.</b> Remzibey çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam CAT mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	57
<b>Şekil 4.23.</b> Balcı çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam APX mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	58
<b>Şekil 4.24.</b> Dinçer çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam APX mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	58
<b>Şekil 4.25.</b> Remzibey çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam APX mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	59
<b>Şekil 4.26.</b> Balcı çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam GR mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	60
<b>Şekil 4.27.</b> Dinçer çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam GR mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	60
<b>Şekil 4.28.</b> Remzibey çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam GR mRNA seviyeleri (* p<0,05; Ek-1).....	61

## 1. GİRİŞ

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Compositae familyasına ait önemli bir endüstri bitkisidir. *Carthamus* cinsinin dünya üzerinde 25 yabancı türü yetişmektedir ve ülkemizde 8 tür ile temsil edilmektedir (Akman, vd., 2007; Babaoğlu, 2006). Aspir ortalama olarak 130-150 gün arasında yetişebilen, yaygın olarak dallanma gösteren, tek yıllık dikotil bir uzun gün bitkisidir (Babaoğlu, 2005). Dikenli ve dikensiz çeşitlere sahip olan aspir bitkisi küçük ayçiçeğine benzer tohumlara sahiptir (Babaoğlu, 2005; Cöşge, vd., 2007; Sarsu, 2014).

Aspir tohumlarında çeşitlere bağlı olarak yağ oranı %30-45, kabuk oranı %35-40, protein oranı da %15-20 arasında değişmektedir (Smith ve Jimmerson, 2005; Şakir ve Başalma, 2005; Çamaş, vd., 2007). Aspir yağının doymamış yağ asitleri oranı ve E vitamini yüksek, doymuş yağ asitleri oranı düşük olduğundan yemeklik yağ kalitesi yüksektir (Arslan, vd., 2003; Corleto, vd., 1997). Bitkinin yağı çıkarıldıktan sonra arta kalan kısmı %22-24 ham protein içerir ve değerli bir hayvan yemidir (Weiss, 2000; Babaoğlu, 2007). Aspir yetiştiriciliğinin asıl amacı tohumlarının içerdiği yağ olmakla beraber tıpta, kozmetikte, sanayide ve süs bitkisi gibi birçok farklı alanlarda kullanılabilir (Park, vd., 2005). Aspir bitkisinin tohumlarından elde edilen yağ Hindistan, Meksika, Kazakistan ve ABD gibi ülkelerde insanların beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Aspir bitkisi A, C, E vitaminleri ile  $\beta$ -karoten açısından da zengin olduğundan güçlü antioksidan kapasitesine sahiptir (Özdemir, vd., 2011; Yu, vd., 2013). Lignin ve flavonoidler gibi çeşitli fenolik bileşikler bakımından zengin olan aspir anti-aterojenik, antioksidan ve antimelanojenik etkiler göstermektedir (Roh, vd., 2004). Çiçekleri aminoasit ve vitamin-mineraller bakımından zengindir ve çay olarak tüketilmektedir (Özdemir, vd., 2011). Aspir yağı, sabun, boya, vernik ve cila üretiminde de kullanılmaktadır (Karaaslan ve Hakan, 2007). Ayrıca yenilenebilir enerjinin giderek önem kazandığı günümüzde aspir tohumlarından elde edilen yağ, biyoyakıt kapsamında olan biyodizel hammaddesi olarak değerlendirilmektedir (Öğüt ve Oğuz, 2006; Bergman ve Charles, 2008; Uher, 2008). Aspir, kurak alanlarda yetişme kabiliyetinin yüksek olması ve düşük üretim maliyeti nedeniyle kurak bölgelerde yetiştirmeye elverişli bir bitkidir (Weiss, 2000). Günümüzde küresel ısınma ile birlikte topraktaki tuzluluğun artması strese dayanımı yüksek bitkilerin tarımını ön plana çıkarmaktadır.

Bu nedenle marjinal toprakların değerlendirilmesinde aspir yetiştiriciliği önemli hale gelmektedir.

Stres, bitkilerin düzenli işleyen fizyolojik ve biyolojik sistemlerini ve normal fonksiyonlarını kısıtlayan veya engelleyen koşullardır (Mahajan ve Tuteja, 2005). Bitkiler yaşamları süresince doğal olarak yetiştikleri alanlarda büyüme, gelişme ve çoğalmalarını engelleyen pek çok stres faktörünün etkisi altında kalmaktadırlar (Reddy, vd., 2004). Stres faktörüne maruz kalan bitkilerde, ekolojik, morfolojik, anatomik değişikliklerin yanı sıra antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı ve fizyolojik değişimlerin meydana geldiği bilinmektedir. Adaptasyon yeteneği düşük olan bitkiler stres faktörleri nedeni ile değişen ekolojik koşullarda yeterli miktarda ya da olması gereken kalitede yetişemezler. Bitkiler abiyotik ve biyotik ekolojik faktörlerde meydana gelen değişimlerden çoğu kez olumsuz şekilde etkilenirler. Bu değişimlere sebep olan abiyotik faktörlerden biri de bitki besin elementlerinin toprakta olması gereken optimum miktarlarından farklı seviyelerde bulunmasıdır. Bitkiler geliştikleri ortamdan çözünebilir durumda olan çok sayıda elementi ihtiyaçları kadar alırlar. Bu besin elementlerinin bitkiye alınan miktarları bitkinin türü, yaşı, kök büyümesi, topraktaki elementlerin cins ve miktarları gibi birçok etmene bağlıdır. Besin elementlerinin miktarı bitki organlarına bağlı olarak da değişiklik göstermektedir (Kaçar, vd., 2010). En önemli mikro besin elementlerinden biri olan bor, bitkilerin en fazla tepki gösterdiği mikro besin elementidir (Özbek, 1973). Bitkiler bor elementini topraktan yaklaşık 2  $\mu\text{mol gr}^{-1}$  kadar borik asit  $[\text{B}(\text{OH})_3]$  ve borat iyonları  $[\text{B}(\text{OH})_4^-]$  formunda alırlar. Bor bitkide şekerlerin taşınması, biyomembranların yapısal ve fonksiyonel özellik kazanması, ligninleşme, solunum, fenol metabolizması, RNA (ribonükleik asit) ve İAA (indol asetik asit) metabolizması gibi pek çok önemli metabolik reaksiyonda rol oynar (Kaçar, vd., 2010). Bor eksikliğinde büyümenin yavaşlaması hatta durması, bitki boyunun kısılması, meyve oluşumunun azalması ya da tamamen durması gibi birçok olumsuz etkiler görülür (Altun, 2005). Bu rollerinin bilinmesine rağmen bor elementinin bitki büyüme ve gelişimindeki rolü halen tam olarak aydınlatılamamıştır.

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (0, 5, 10, 15 mM) borik asit uygulanan üç aspir çeşidinin ekofizyolojik özellikleri, antioksidan enzim aktiviteleri (APX, CAT, GR ve SOD) ve bu enzimlerin gen ekspresyon seviyelerinde meydana gelen değişimler araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİ

### 2.1. Aspir Bitkisinin Özellikleri

Aspir, Magnoliopsida (iki çenekliler) sınıfı, Asterales takımı, Asteraceae (papatyagiller) familyası, Carduoideae alt familyasının *Carthamus* cinsine ait bir bitki türüdür (Pahlavani, vd., 2004). Bu bitkinin de üyesi olduğu Asteraceae, çiçekli bitkilerin en büyük familyasıdır ve çiçek durumundan dolayı “Compositae familyası” olarak da isimlendirilmektedir (Çulha, 2011). Aspir Compositae familyasının önemli bir üyesidir. Ülkemizde yetişen aspir türleri *C. tinctorius* L., *C. lanatus* L., *C. dentatus* Vahl., *C. glaucus* Bieb., *C. tenius* Bornm. *tenius*, *C. tenius* Bornm. supsp. *gracillimus*, *C. caeruleus* ve *C. persicus* Willd.’dir (Babaoğlu, 2006; Akman, vd., 2007). Günümüzde yetiştirilen aspir bitkisi (*Carthamus tinctorious* L.) ise *Carthamus lanatus* (Sarıdiken) ve *Carthamus oxyacantha* Bieb (Yabani aspir)’den köken almaktadır (Ahlawat, 2008).

Aspir, insanoğlunun kültüre aldığı en eski yağlı tohumlu bitkilerden biridir (Dajue, 1993; Rao ve Ming-De, 1993). Güney Asya’dan köken aldığı düşünülen aspir, Çin’de yaklaşık 2200 yıl önce kullanılmış olup, üretimi Çin’in dışında Hindistan, yakın doğu ve kuzey Afrika’da da uzun bir tarihi sürece sahiptir (Knights, 2007; Babaoğlu, 2006; Smith ve Jimmerson, 2005). Aspir tarımının Avrupa kıtasında orta çağ döneminde, Amerika kıtasında ise Amerika’nın keşfinden sonra başladığı bilinmektedir (Babaoğlu, 2006). Anadolu, ilk olarak Orta Asya’dan göç eden Türkler sayesinde aspir ile tanışmıştır (Babaoğlu, 2006). Ülkemizde ilk olarak Bulgaristan’dan gelen göçmenler tarafından Balıkesir ve çevresinde, daha sonra Eskişehir, Konya, Afyon, Bursa gibi illerde yetiştirilmiştir (Nas, vd., 2001). Türkiye’de aspir ile ilgili çalışmalara 1930’lu yıllarda Eskişehir Zirai Araştırma Enstitüsü’nde başlanmıştır ve 1931 yılında ilk tescil edilen çeşit Yenice olmuştur (Demirci, vd., 2003).

Aspir, ortalama olarak 130- 150 gün arasında yetişebilen tek yıllık, dikotil bir uzun gün bitkisidir. Aspir, derin kazık kök sistemine sahiptir (Smith ve Jimmerson, 2005). Kazık kök etrafında çok sayıda ince ikincil kökler oluşmaktadır (Sarsu, 2014). Bu kök sistemi toprağın 2-3 metre derinliğine kadar ulaşabilmektedir ve bu sayede toprağın derinlerinde yer alan nemi ve besin elementlerini kolaylıkla kullanabilmektedir (Mündel, vd., 2004; Dajue ve Mündel, 1996). Köklerinin bu özelliği sayesinde aspir,

yüzey nemi düşük alanlarda bile hayat döngüsünü devam ettirebilmektedir (Dajue ve Mündel, 1996).

Embriyoda plumulanın gelişimi ile oluşan, olgunluk evresinde genellikle 80-100 cm'e kadar uzayabilen ve fazla dallanan bir gövdeye sahiptir (Babaoğlu, 2005). Bitki boyu iklim ve kültürel uygulamalardan etkilenmektedir (Sarsu, 2014). Gövde sapı kuvvetli, silindirik yapıda ve dip kısmı oldukça kalın olmasına rağmen, dallanmanın arttığı bölgeler daha ince bir yapıya sahip olup düz, tüysüz, açık gri veya yeşilimsi beyaz renktedir (Sarsu, 2014). Aspir gövde sapında 15-20 santimetre uzunluğunda yan dallar oluşturabilmektedir (Sarsu, 2014).

Yaprak genişliği 2,5 ile 5 cm, uzunluğu ise 10 ile 15 cm arasında değişim göstermektedir (Dajue ve Mündel, 1996). Yapraklar gövdenin alt kısmında genelde derin dişli ve büyük bir yapıdadır (Sarsu, 2014). Çiçekleri saran brakteler ise yumurta şeklinde ve sert yapıdadır (Sarsu, 2014). Aspir dikenli ve dikensiz çeşitlere sahiptir ve dikenler genellikle ilk yapraklarda bulunmaz, daha üst kısımlarda tomurcuk oluşumu evresinde gövde dikenleri gelişir ve bu dikenler çiçeklenme evresinde oldukça güçlü ve sert hale gelirler (Cöşge, vd., 2007; Babaoğlu, 2005; Dajue ve Mündel, 1996).

Aspirin çiçek yapısı ayçiçeğine benzer şekildedir ve çiçek sayısı çevre koşullarından etkilenirken çeşitlere göre değişiklik gösterir (Sarsu, 2014). Aspirde birincil dallar ikincil dallardan daha önce çiçek açmaktadır ve toplam çiçek açma periyodu 10-40 gün arasında değişmektedir. Çiçek tabla çapı 1,25-4 cm arasında değişiklik gösterir (Sarsu, 2014). Çiçeklenme genel olarak tablanın kenarından merkeze doğrudur (Sarsu, 2014). Çiçeklenme sırasında çok fazla polen oluşturması nedeniyle özellikle arılar için oldukça cazip bir bitki haline gelmektedir (Sarsu, 2014).



**Şekil 2.1.** Aspir yaprağı ve çiçeği (MEB, 2016)

Otsu yapıda ve deve dikenine benzeyen aspir küçük ayçiçeğine benzer tohumlara sahiptir (Sarsu, 2014). Aspir tohumlarında çeşitlere bağlı olarak yağ oranı %30-45, kabuk oranı %35-40, protein oranı da %15-20 arasında değişmektedir (Smith ve Jimmerson, 2005; Şakir ve Başalma 2005; Çamaş, vd., 2007). Aspir tohumlarının yağ içeriği standart olarak; %6-8 palmitik asit, %2-3 stearik asit, %16-20 oleik asit (Omega-9) ve %71-75 de linoleik asit (Omega-6) içermektedir ve içerdiği bu oleik asit (omega-9) ve linoleik asit (omega-6) miktarı ile mısır, fındık, zeytin gibi diğer yağ bitkilerine oranla daha yüksek zenginlikte yağ içeriğine sahiptir (Cöşge, vd., 2007; Oelke, vd., 2000). İnsan beslenmesinde önemli olan toplam doymamış yağ asitlerini de %90-93 oranında içermektedir ve ayçiçeğinde bu oran %86 civarındadır (İşler, 2014). Ülkemizde üretilen bitkisel yağların %40'ı ayçiçeğinden, %25'i pamuk çekirdeğinden, %20'si zeytinden ve geri kalan %15'i soya, mısır, fındık, kanola, susam ve yerfıstığı gibi diğer yağ bitkilerinden elde edilmektedir (İşler, 2014). Türkiye'nin bitkisel yağ üretiminde sahip olduğu potansiyel kaynaklardan birisi olan aspir, dünyada 2009 yılı verilerine göre yaklaşık 732 bin hektar alanda (ha) yetiştirilmiş ve 653.791 ton tohum elde edilmiştir (İşler, 2014). Ülkemizdeki aspir ekim alanları son yıllarda sürekli bir artış eğilimi gösteriyor olsa da, tarımı yapılan aspir çeşitlerinin (Dinçer 5-118, Remzibey-05 ve Yenice 5-38) tohum verimi ve yağ oranı düşüktür (Baydar, 2000).

Quilantan, vd., (1977) yapmış oldukları çalışmada, aspirin, normalde 1000 m'nin altındaki yüksekliklerde yetişmekte olduğunu, yükseklik arttıkça tohum verimi ve yağ oranının azaldığını belirtmişlerdir. Genel olarak ılıman iklim bölgelerinin bitkisidir ancak ıslah çalışmaları ile adaptasyon sınırları genişletilmiş olduğundan kurak arazilerde de yetiştirilebilmektedir (Angın ve Şensöz, 2006). Sıcaklığın az, kuru rüzgarların olduğu bölgeler ile 300 milimetre yağış alan bölgelerde aspir bitkisinden iyi verim elde edilmektedir (Mündel, vd., 2004).

Aspir çiçeklenme ve tohum doldurma devresi süresince güneşli, kurak ve orta derecedeki sıcaklıklarda daha iyi sonuçlar verir ancak ekiminden çiçeklenmesine kadar olan zamanda toprak nemine ihtiyaç duyar (Duke, 1983). Yüksek su tutma kapasitesine sahip, drenajlı iyi olan tınlı ve killi topraklar aspir tarımı için ideal görülmektedir (Dajue ve Mündel, 1996; Babaoğlu, 2005). Aspir özellikle yüksek ve düşük sıcaklığa ve tuzluluğa karşı toleranslı olması, yabancı otlara karşı yüksek rekabet göstermesinden dolayı, kuru ve sulu tarım alanlarında değerlendirilecek alternatif ürünlerden biridir

(Yazdi-Samadi ve Zali, 1979). Ayrıca yazlık ve kışlık olarak yetiştirilebilmesi aspir tarımının avantajlarından biridir (Babaoğlu, 2007). Aspir tarımındaki en önemli avantajlardan bir diğeri ise buğday-arpa tarımında kullanılan bütün alet ve ekipmanların aspir tarımında da kullanılabilmesidir (Kıllı, 2007). Dünyada en fazla aspir ekim alanına sahip ülke Hindistan'dır, ardından Kazakistan, Arjantin, ABD, Türkiye, Kırgızistan ve Çin gelmektedir (Süer, 2011).

### **2.1.1. Aspirin kullanım alanları**

Aspir yağının yemeklik yağ kalitesi yüksektir (Corleto, vd., 1997; Arslan, vd., 2003). Bu özelliğinden dolayı Hindistan, Meksika, Kazakistan ve ABD gibi ülkelerde insanların beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır (Arslan, vd., 2003). Bitkinin yağı çıkarıldıktan sonra arta kalan kısmı %22-24 ham protein içerir hayvan yemi olarak kullanılır (Weiss, 2000; Babaoğlu, 2007). Antioksidan etkisi sayesinde aspir yağı, kalp ve damar hastalarının uyguladıkları diyetlerde de bulunur (Uysal, vd., 2006). Aspir yağı aynı zamanda tıp, kozmetik ve sanayide kullanılmaktadır (Park, vd., 2005). Yağının bileşimindeki E vitaminine benzer özellik gösteren tokoferol maddesinden dolayı organik gıda ve ekolojik-tekstil ürünleri için önemli bir potansiyele sahiptir (Yılmazlar ve Bayraktar, 2009).

Aspir bitkisinin çiçekleri de yağı kadar değerlidir ve pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. İçerdiği B1, B2, B12, C vitaminleri ve mineraller nedeniyle özellikle Orta Asya'da bitkisel çay olarak kullanılmaktadır (Özdemir, vd., 2011; Wang, vd., 1999; Rahamatalla, vd., 1998). Yalancı safran olarak bilinen sarı, turuncu ve kırmızı renkteki taç yaprakları gıda ve kumaş boyası olarak sanayide; yemeklere renk ve çeşni katmak amacıyla da gıda alanında kullanılmaktadır (Mündel, vd., 1992; Özel, vd., 2004). Aspir çiçekleri suda eriyen carthamin ve suda erimeyen carthamidin maddeleri içermektedir (Aydın ve Akınerdem, 2012). Bitkinin taç yapraklarından elde edilen carthamin sarı, kırmızı, turuncu, beyaz ve krem renkte olup hem boyar madde olarak, hem de kalp damar hastalıkları, hipertansiyon, kolestrol gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Dajue ve Mündel, 1996; Kırıcı ve İnan, 2001). Ayrıca carthamin boyası kan dolaşım sistemleri ile ilgili hastalıklarda infüzyon yöntemi ile uygulanabildiğinden medikal alanda büyük öneme sahiptir (Kızıl vd., 2008).

Ortadoğu ülkelerinde aspir bitkisi; akut istemik inme tedavisinde, kadınların regl dönemlerinde ağrı kesici olarak, travma sonucu oluşan şişliklerin ve ağrıların

tedavisinde, ateş düşürmede ve kabızlığa karşı tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır (Lin, vd., 2014; İşler, 2014). Ayrıca aspir tohumlarının osteoporoz, romatoid artrit ve aterosjenik riski üzerine olumlu etkileri olduğu saptanmıştır (Yu, vd., 2013). İşler ve arkadaşları (2014) yaptıkları çalışmalarda, aspir tohumlarının genetiğini değiştirerek, tohumlardan insülin üretimini gerçekleştirmişlerdir.

Ayrıca aspir, sahip olduğu derin kök sistemi ile toprağın alt kısmındaki sıkı tabakada yer alan suyu absorblayarak kendisinden sonra ekilecek bitkinin kök gelişiminin daha iyi olmasına olanak sağlar (Knights, 2007). Yer altı sularına sızan nitrat miktarının azalmasına yardımcı olur (Bassil, vd., 2002). Yaprak ve gövdedeki dikenleri sayesinde de tarla kenarlarında çit bitkisi olarak kullanılabilir (Sarsu, 2014).

Türkiye'nin bitkisel yağ ve karma yem sektörleri için potansiyel hammadde kaynağı olması, alternatif alanlarda yetiştirilebilmesi, nadas alanlarını değerlendirmesi gibi özelliklerinin yanı sıra tahıl alanlarını daraltma ve gıda güvencesini tehdit etme konularında önemli bir risk oluşturmayacağı için aspir bitkisinin üzerinde önemle durulması gerekmektedir (İlkdoğan, 2012).

## **2.2. Abiyotik Stres ve Bitkilere Etkisi**

Bitkiler yaşamları süresince doğal olarak yetiştikleri alanlarda farklı stres faktörlerinin etkisi altında kalmaktadır (Reddy, vd., 2004). Stres, bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, bitkinin veya organlarının ölümüne yol açmaktadır (Türkan, 1997). Stres faktörlerinin bitkide oluşturduğu zarar bitkinin genetik adaptasyon yeteneğine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Dubey, 1994; Kaçar, vd., 2010).

Stres faktörleri biyotik ve abiyotik olarak iki grup altında incelenmektedir. Biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin etkisi altında bitkilerde morfolojik, fizyolojik ve moleküler değişimler meydana gelmektedir (Kaçar, vd., 2010). Levitt (1980)'e göre bitkilerin maruz kaldıkları stres faktörleri, bitkinin kalitesi ve verimliliği üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bitkilerde strese sebep olan biyotik ve abiyotik faktörler Çizelge 2.1' de gösterilmiştir.

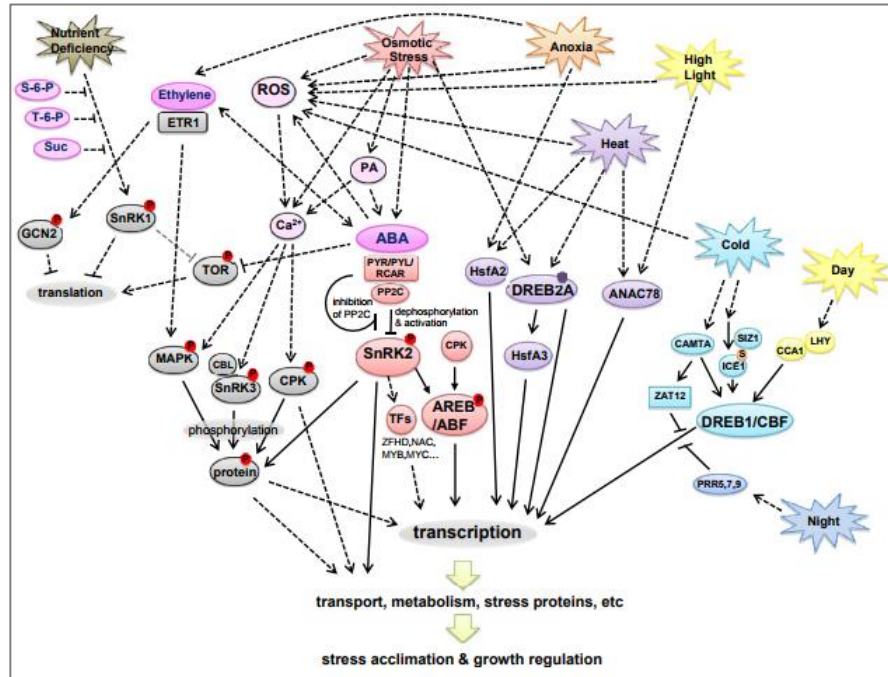
**Çizelge 2.1.** Biyotik ve abiyotik stres faktörleri (Kaçar, vd., 2010).

Biyotik stres faktörleri	Abiyotik stres faktörleri	
	Fiziksel faktörler	Kimyasal faktörler
Yabani bitkiler	Kuraklık	Hava kirliliği
Böcekler	Sıcaklık	Bitki besin elementleri
Mikroorganizmalar	Radyasyon	Pestisitler
Hayvanlar	Su baskını	Toksinler
Hastalıklar	Mekanik etkiler	Tuzlar
		Toprak pH'ı

Abiyotik stres, büyümeyi ve optimum seviyelerin altındaki verimi azaltan çevresel koşullar olarak tanımlanırken, abiyotik streslere bitki yanıtları dinamik ve karmaşıktır (Skirycz ve Inze, 2010; Cramer, 2010). Kuraklık, tuzluluk, yetersiz beslenme, besin maddesi fazlalığı, düşük ve yüksek sıcaklık, radyasyon, toprak ve atmosfer kirliliği gibi faktörler bitkisel üretimde verimi sınırlandıran temel abiyotik streslerdendir (Lawlor ve Cornic, 2002). Özellikle tuzluluk ve bor toksisitesi bitkilerde strese sebep olan abiyotik faktörlerin başında gelmektedir (Lawlor ve Cornic, 2002).

Bitkiler ya geliştirdikleri önleyici mekanizmalarla stres faktörlerinin etkinliğini önlemek ya da tolerans mekanizmalarıyla karşı koymak ve yaşamlarını sürdürmek şeklinde strese dayanıklılık mekanizmaları geliştirmektedirler (Sivritepe, 1995; Söylemezoğlu, vd., 2010). Ayrıca stresi algılamak ve stresle başa çıkabilmek için fizyolojilerini düzenlemeye yardımcı mekanizmalar geliştirmişlerdir (Zhang, vd., 2006). Abiyotik streslere karşı bitki moleküler yanıtları da, birçok moleküler yolla etkileşim ve çapraz-dolaşım içerir (Takahashi, vd., 2004). Abiyotik stresler ve büyümenin inhibisyonuna karşı en erken yanıtlardan biri protein sentezinin inhibisyonu ile protein katlama ve işlemindeki artıştır (Good ve Zaplachinski, 1994; Dhindra ve Cleland, 1975; Liu ve Howell, 2010). Stres daha ağır hale geldiğinde enerji metabolizması (örn. şekerler, lipidler ve fotosentez) etkilenir (Pinheiro ve Chaves, 2011; Cramer, vd., 2007; Kilian, vd., 2007). Böylece, strese tepki olarak metabolizmada kademeli ve karmaşık değişiklikler oluşur (Cramer, vd., 2011). Abiyotik strese yanıt olarak tutarlı bir eğilim, enerji metabolizmasının ve protein sentezinin erken düzenlenmesidir. Bu, bitki tarafından enerjinin korunması anlamına gelir. Abiyotik strese bitki yanıtlarının kapsamlı bir şekilde anlaşılabilmesi için, bu yanıtların organ, doku ve hücre seviyesinde daha kapsamlı haritalandırılması gerekmektedir (Cramer, vd., 2011). Günümüzde

değişen biyotik ve abiyotik stres yolları arasındaki karşılıklı etkileşim; bitkilerin bir stres faktörüne ya da çoklu strese nasıl tepki vereceğini ortaya koymasında büyük önem kazanmıştır (Forcat, vd., 2008).



**Şekil 2.2.** Abiyotik strese karşı bitki yanıtlarının basitleştirilmiş çalışma modeli (Cramer, vd., 2011).

Bitkilerde strese sebep olan en önemli abiyotik etmenlerden biri toprakta bulunan besin elementleridir. Bitki besin elementleri içerisinde bor elementi bitkilerin en fazla tepki gösterdiği mikro besin elementidir (Özbek, 1973).

### 2.2.1. Bor stresi ve bitkilere etkisi

Bitki mikro besleyicilerin içinde metal olmayan tek element olan bor, oksijene eğilimi fazla olduğundan yapısına sodyum ve kalsiyumu da alarak, doğada boratlar halinde bulunur (Altun, 2005). Bunlardan en bol bulunanı  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  formülüne sahip olan boraktır (Adriano, 1986). Doğada yaklaşık 230 çeşit bor minerali olduğu bilinmektedir. Bunlar kristal ya da amorf yapıda, yer kabuğunda ortalama olarak 10 ppm, denizlerde ise 4,6 ppm civarındadır (Altun, 2005).

Ekonomik öneme sahip olan bor yatakları, başta Türkiye (özellikle Batı Anadolu) olmak üzere Kaliforniya (ABD), Kazakistan, Rusya, Kanada, Çin gibi ülkelerde bulunmaktadır (Çamaş, 2006). Türkiye, toprak yüzeyinde bulundurduğu bor

seviyesi ile dünyadaki en yüksek bor seviyesine sahip otuz ülke arasında yer almaktadır (Altun, 2005). Ülkemiz dünyanın toplam bor rezervinin %70'ine sahiptir (Türkan, 2006). Bu rezervler özellikle Eskişehir-Kırka, Afyon, Aksaray, Balıkesir, Bigadiç, Burdur, Kemalpaşa, Gemencik-Ömerli, Karasaz, Kayseri, Kütahya-Emet, Manyas, Salihli ve Yüksekova yörelerinde bulunmaktadır (Türkan, 2006).

**Çizelge 2.2.** Dünya toplam bor rezervleri (Altun, 2005).

Ülke	Toplam Rezerv (Bin ton B <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	Toplam Rezerv (% B <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )
Türkiye	563.000	64
ABD	80.000	9
Rusya	100.000	11
Çin	36.000	4
Şili	41.000	4
Bolivya	15.000	2
Peru	22.000	3
Arjantin	9.000	1
Kazakistan	15.000	2
<b>TOPLAM</b>	<b>885.000</b>	<b>100</b>

Borun bitki büyüme ve gelişmesindeki gerekliliği ilk olarak Warington (1923) tarafından ortaya konmuş, borun yüksek bitkiler için mutlak gerekli bitki besin elementi olduğu yaklaşık 70 yıl önce belirlenmiştir. Toprakta çözünebilen, bağımsız, iyonize olmamış “H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>”, “B(OH)<sub>3</sub>” veya iyon halindeki “B(OH)<sub>4</sub><sup>-</sup>” borun bitkilerce kullanılabilen formlarıdır (Hu ve Brown, 1997). Bor, toprağın organik maddesinin mineralizasyonu yoluyla veya toprak minerallerinin aşınması yoluyla yenilenebilir (Peryea, vd., 1985). Toprak pH'ı, organik madde ve kil mineralleri içeriği, toprak nemi ve sıcaklığı uygun olduğu koşullarda bor topraktan köklerle pasif absorpsiyonla alınır (Goldberg, 1997). Toprak pH'sı 6.3-6.5 olduğunda, bitkiler tarafından en yüksek düzeyde B alımı gerçekleştiği, daha yüksek pH'larda ise alımın ani bir şekilde düşüş gösterdiği bildirilmiştir (Nable, vd., 1997). Bitkiler arasında borun alınımı ve taşınmasında önemli farklılıklar bulunmaktadır (Kacar ve Katkat, 1999). Borun bitkiler tarafından alımın mekanizması hem aktif hem de pasif taşınmayı destekler niteliktedir (Dordas, vd., 2000). Çoğunlukla kabul gören mekanizma, B'un bitki kökleri tarafından iyonlaşmamış borik asit [B(OH)<sub>3</sub>] ve az da olsa B(OH)<sub>4</sub><sup>-</sup> iyonları olarak pasif absorpsiyon yoluyla alındığı ve sitoplazmada borat anyonu [B(OH)<sub>4</sub><sup>-</sup>] olarak

biriktirildiği şeklindedir (Hu ve Brown, 1997a; Roessner, vd., 2006). Borun alınımı ve taşınımı bitkinin su alımı ile yakından ilgilidir (Boyacı ve Çağlar, 2009).

Bor bitkide oksin ve fenol metabolizmasında, zar geçirgenliğinde, karbonhidrat ve protein metabolizmasında, polen çimlenmesinde ve polen tüpü büyümesinde, meyve olgunlaşmasında, kök büyümesinde, nükleik asit, pektin ve ATP sentezlerinde, iletken dokuların korunmasında, tohum uyku halinin ve bitki-su ilişkilerinin düzenlenmesinde önemli roller üstlenmektedir (Marschner, 1995; Blevins ve Lucaszewski, 1998; Dannel, vd., 2002, Brown, vd., 2002).

Meyve ağaçları uygun miktarda bor ile beslendiğinde; çiçek açma ve meyve sayısında artış, yaralanma ve çürümelerde azalma, besin elementlerinin yaprak ve meyveye iletiminde hızlanma, daldan düşen meyve sayısında azalma gibi etkiler görülmektedir (Altun, 2005). Bor emilimi açısından en fazla bora ihtiyaç duyan ve tüketen bitki alfa (*Medicago sativa*) diğer adı ile kaba yonca bitkisidir (Altun, 2005). Borun önemli etkilerinin olduğu diğer bitki olan pamuk (*Gossypium hirsutum*) uygun miktarda bor ile beslendiğinde; pamuk veriminin artması, yapraktan meyveye besin maddelerinin hızlı taşınımı, gelişmenin hızlanması ve güçlü iplik üretimi gibi etkiler gözlenmektedir (Altun, 2005). Direk toprağa veya spreyleme yöntemi ile yapraklara bor uygulandığında; ayçiçeği, kahve, zeytin, pirinç, elma, yer fıstığı, okaliptüs, armut, şeker pancarı gibi çoğu bitkinin meyve verimi ve gelişiminin olumlu yönde etkilendiği görülmüştür (Altun, 2005). Bor katkılı topraklarda yetişen çam ağaçlarının kuraklığa karşı dayanıklılık gösterdiği belirtilmiştir (Altun, 2005).

Düşük yağış koşullarında, bor toprakta yeterince süzülmez ve bu nedenle bitki gelişiminde toksik olan seviyelere kadar birikebilir (Reid, vd., 2004). Kurak ve yarı-kurak bölgelerde yer altı suyunun buharlaşması nedeniyle üst topraktaki borun birikimi ürün verimini azaltan toksik seviyelere ulaşır (Tanaka ve Fujiwara, 2007). Toprak veya suda bulunan fazla bor, tarımsal üretimi yapılan bitkilere toksik etkisi olduğundan büyük bir sorun haline gelmiştir (Harite, 2008). Bor toksisitesi, dünyanın çeşitli bölgelerinde bitki verimliliğini sınırlayan önemli bir tarım problemidir. Bu problem bor bakımından zengin topraklarda ve bor bakımından zengin sulama sularına, gübrelere, kanalizasyon çamuruna veya uçucu küle maruz kalan topraklarda oluşabilir (Luis, vd, 2012). Sulama suyu, yüksek seviyedeki toprak boruna sebep olan en önemli etkendir (Chauhan ve Power, 1978). Sulama sularında bor miktarının 4 ppm'in üzerine çıkması,

bitkilerde zararlı etkiler oluşturmaktadır (Altun, 2005). Sulama suyundaki bor mevcudiyetinin potansiyel toksisitesini değerlendirirken toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri de dikkate alınmalıdır (Rauf, vd., 2007).

Bor bitkiler için mutlak gerekli mikro besin olmasına rağmen bitkilerdeki tolerans sınırları tam olarak belirlenememiş olup çok az miktardaki fazlalığı bile bitkilerde ağır hasarlara sebep olabilmektedir (Taban ve Erdal, 2000). Genelde monokotil bitkilerin bor ihtiyacı dikotillerden daha azdır (Rerkasem, vd., 1991). Topraklarda sıcak su ile ekstrakte edilebilir B düzeyinin 0,8 mg/kg'ı aşması halinde fitotoksosite görülmektedir (Sillanpaa, 1990). Bor fazlalığına maruz kalan bitkilerde, canlılık, gelişim gecikmesi, yaprak yanması (eski yapraklarda klorotik ve nekrotik yamalar), yapraklarda kenardan ortaya doğru kıvrılma, meyvelerin sayısı, boyut ve ağırlığının azalması, transpirasyonda düzensizleşme, tomurcuk oluşumunda azalma, yaprak ayasında şekil bozukluğu görülmektedir (Kacar ve Katkat, 2006; Nable, vd., 1997). Bor toksisitesi, büyüme, gelişme ve membranların geçirgenliği üzerindeki zararlarının dışında oksidatif zarara da yol açmaktadır (Karabal, vd., 2003). Ayrıca ortama fazla miktarda bor verilmesi durumunda bitkilerin genç yapraklarında çözünebilir kalsiyum miktarının azaldığı, yaşlı yapraklarda ise arttığı gözlenmiştir (Kaçar ve Katkat, 2006). Bor duyarlılığı yüksek olan çeşitler hassas çeşitlere göre bünyelerinde daha az miktarlarda B biriktirerek yüksek B konsantrasyonlarına adapte olabilmektedir (Nable, 1988; Paull, vd., 1992). Turp, lahana, havuç, soğan ve marul gibi bitkiler 2-4 ppm bor miktarından zarar görmezken; patates, bezelye, domates, arpa, mısır ve yulaf gibi bitkiler 1-2 ppm'den yüksek bor değerlerinden zarar görmektedir (Altun, 2005).

Bor eksikliği genellikle pH'ı yüksek, kireçli topraklarda görülmektedir. Özellikle yağışı bol olan bölgelerde (>635 mm) ve fazla sulama yapılan alanlarda bor eksikliğine sık rastlanmaktadır (Altun, 2005). Bor eksikliğinin bitkiler üzerindeki diğer önemli bir etkisi de, bitkinin fide döneminde kök gelişiminin durması veya azalmasından kaynaklı, bitkinin kuraklığa dayanımını ve su alımını kısıtlamasıdır (Gezgin, 2008). Bor eksikliğinde bitkilerin yapraklarında şeker ve nişasta konsantrasyonunun arttığı fakat şekerin bitkide büyüme uçlarına taşınmadığı ve önemli zararlar ortaya çıktığı saptanmıştır. Bor noksanlığı öncelikle büyüme noktalarına zarar verdiği için bitkilerde büyüme yavaşlar, genç yapraklar büzülüp kıvrılır ve kalınlaşır.

Bitki bodurlaşır ve bunun sonucunda çalımsı bir görünüm kazanır. Yapraklar ve dallar gevrek, kolay kırılabilen bir hale dönüşür. Eksiklik arttıkça büyüme noktaları ölür, tomurcuk, çiçek ve meyve oluşumu ya azalır ya da tamamen durur. Yaşlı yapraklarda damarlar arası kloroz oluşur ve yaprak ayasında şekil bozukluğu, yaprak sapları ve gövdede kalınlaşmalar görülür. Borun bitkiler üzerindeki etkilerinin bir kısmı bilinmesine rağmen büyüme ve gelişmedeki rolü halen tam olarak aydınlatılamamıştır (Kaçar, vd., 2010).

### 2.3. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Serbest radikaller dış orbitalinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili atom veya moleküllerdir (Bast, vd., 1991; Halliwell ve Gutteridge, 1985). Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilmektedir (Nawar, 1996). Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS), nitrojen kaynaklı olanlar ise reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak adlandırılır (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Valko, vd., 2007). Bazı serbest radikal kaynakları Çizelge 2.3'te verilmiştir.

**Çizelge 2.3.** Bazı serbest radikal kaynakları (Atukeren ve Gümüştas, 2008).

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Mitokondriyal Elektron Aktarım Zinciri	Diyet Faktörleri
Endoplazmik Retikulum	UV Işınları
Redoks Döngüsü	Sigara
Otooksidasyon Reaksiyonları	Çevresel Faktörler
NADPH Oksidaz vb. Enzimler	Zararlı Işınlr
Fagositik Hücreler ve Endotelial	İlaçlar
Araşidonik Asit Metabolizması	

3Moleküler oksijen ( $O_2$ ) canlılar için hayati değer taşıyan önemli bir molekül olmasına rağmen konsantrasyonu normalden fazla olduğunda hücrelerde ölüme sebep olabilecek hasarlar meydana getirebilmektedir. Çünkü moleküler oksijen indirgenerek reaktif oksijen türlerinin oluşumuna sebep olmaktadır. Reaktif oksijen türleri (ROS) kısmen indirgenmiş moleküler oksijen formlarıdır ve süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ), peroksil ( $ROO^{\cdot}$ ), lipid peroksil ( $LOO^{\cdot}$ ) ve alkoksil ( $RO^{\cdot}$ ) radikallerini içerir (Mittler, 2002). Kloroplast, mitokondri ve peroksizomlar gibi farklı hücrel kompartmanlarda

lokalize olan çeşitli metabolik yolların yan ürünleri olarak sürekli üretilmektedirler (Del Rio, vd., 2006; Navrot, vd., 2007). Bitkiler tarafından tüketilen O<sub>2</sub>'nin yaklaşık %1'inin hücrelerde ROS üretmek üzere yönlendirildiği tahmin edilmektedir (Asada ve Takahashi, 1987). Kararlı hal koşulları altında, ROS molekülleri çeşitli antioksidatif savunma mekanizmaları tarafından temizlenir (Foyer ve Noctor, 2005). ROS'un üretimi ve atılması arasındaki denge tuzluluk, UV radyasyonu, kuraklık, ağır metaller, aşırı sıcaklıklar, besin eksikliği, hava kirliliği, herbisitler ve patojen saldırıları gibi çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarafından bozulabilir ve dengedeki bu bozukluklar, hücre yapılarında önemli hasarlara neden olabilecek ROS hücre içi seviyelerinde ani bir artışa neden olur (Bhattachrjee, 2005).

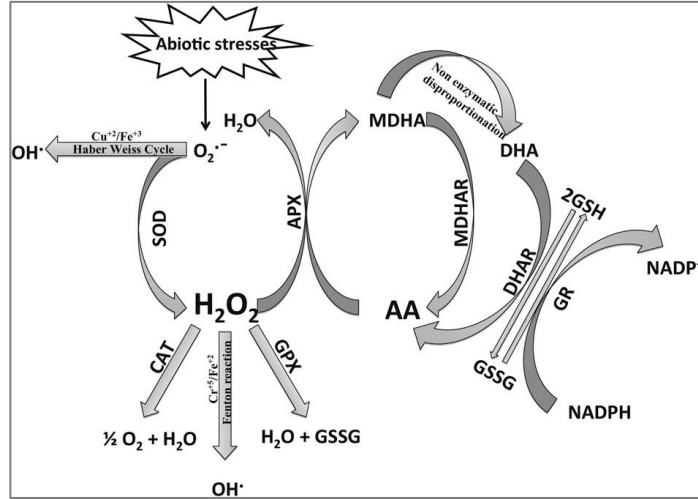
ROS, bitkilerde konsantrasyonlarına bağlı olarak hem zararlı hem de yararlı etkiler gösterebilmektedir. Yüksek konsantrasyonda ROS, biyomoleküllerde hasara neden olurken; düşük/orta konsantrasyonda, hücre içindeki sinyal yanıtlarında, bitki hücrelerinde çeşitli cevaplara aracılık eden ikinci haberci olarak görev almaktadır (Sharma, vd., 2012). ROS'un, bir dizi genin ve sinyal transdüksiyon yollarının ekspresyonunu etkilediği de gösterilmiştir ki bu, hücrelerin ROS'u biyolojik uyarılar olarak kullanmak için stratejiler geliştirdiğini ve çeşitli genetik stres yanıt programlarını aktive eden ve kontrol eden sinyallere dönüştürdüğünü göstermektedir (Dalton, vd., 1999). Son zamanlarda, bitkilerin aktif olarak, patojen savunma ve sistemik sinyal verme gibi birçok farklı fizyolojik süreci kontrol edebilen ROS ürettikleri ortaya çıkmıştır (Gratao, vd., 2005; Mittler, vd., 2004). Düşük/orta konsantrasyonda ROS, stoma kapanması, programlanmış hücre ölümü, gravitropizm ve hem biyotik hem de abiyotik streslere tolerans edinimi dahil olmak üzere hücrelerde birçok bitki cevabına aracılık eder (Neill, vd., 2002). Bitkiler, bazı redoks duyarlı proteinler, kalsiyum mobilizasyonu, protein fosforilasyonu ve gen ifadesi yardımıyla ROS sinyalini uygun hücre tepkilere dönüştürebilir (Yan, vd., 2007). ROS, doğrudan korunmuş sistein kalıntılarının oksidasyonu yoluyla bir tirozin fosfataz gibi anahtar sinyal proteinleri tarafından da algılanabilir (Kwak, vd., 2003).

Hücrelerde ROS seviyesinin yüksek olması reaktif ve toksik olduğundan yaşamsal moleküllere zarar vermektedir (Mittler, 2002). Stres koşulları altında artan ROS'lar; zardaki lipidlerin peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, enzimlerin inhibisyonuna, klorofil parçalanmasına, DNA ile RNA'da hasarlara sebep olarak hücre

ölümlerine yol açar (Mittler, 2002; Ekmekçi ve Terzioğlu, 2005). Çeşitli çevresel streslerin bir sonucu olarak bitkilerde ROS birikmesi, dünya çapında ürün verimliliği kaybının başlıca nedenidir (Gill, vd., 2009). ROS seviyesinin savunma mekanizmalarını aşması durumunda, bir hücre oksidatif strese girer (Sharma, vd., 2012). Oksidatif stresi önlemek için ROS'un üretimi ve uzaklaştırılması kesinlikle kontrol edilmelidir. Bitkilerin oksidatif strese karşı dayanıklılığı arttırmak için oksidatif hasarları azaltması gerekmektedir (Hussein, vd., 2008). Bu yüzden bitkiler, ROS'ların aşırı sentezini engellemek için anatomik adaptasyonlar, fizyolojik adaptasyonlar, moleküler mekanizmalar, alternatif oksidazların (AOS) sentezi gibi çeşitli korunma mekanizmaları geliştirmiştir (Mittler, 2002). Hücrelerde stres kaynaklı ROS birikimi genellikle antioksidan sistemler ile önlenir (Gill, vd., 2009).

#### **2.4. Antioksidanlar**

Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlarına karşı organizmayı koruyan ve oksidatif zarara uğrayan biyolojik sistemlerin kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir (Aruoma, 1998). Bitki hücreleri kendilerini ROS'lara karşı korumak için kloroplast, mitokondri ve peroksizomlarda bulunan antioksidan savunma sistemlerini kullanır (Tuteja ve Hirt, 2010). Antioksidan savunma sisteminin bileşenlerini enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar oluşturmaktadır (Khan ve Singh, 2008; Gill, vd., 2009). Askorbat, glutatyon (GSH),  $\alpha$ -tokoferoller, karotenoidler ve fenolik gibi bileşikler enzimatik olmayan antioksidan sistemlerini oluştururken, enzimatik savunma sistemlerini ise süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve peroksidaz (POD) enzimleri ile diğer askorbat-glutatyon döngüsü enzimleri olan monodehidroksiaskorbat redüktaz (MDAR) ve dehidroksiaskorbat redüktaz (DHAR) oluşturmaktadır (Lin ve Kao, 2000; Sairam ve Tyagi, 2004; Mittler, vd., 2004; Hussein, vd., 2008; Jamei, vd., 2009).



Şekil 2.3. ROS ve antioksidan savunma mekanizmaları (Gill ve Tuteja, 2010).

Antioksidan savunma sisteminin nonenzimatik bileşenleri çok sayıda hücrel bileşenle etkileşime girerler. Ayrıca antioksidanlar, mitoz ve hücre uzamasından, yaşlanmaya ve hücre ölümüne kadar olan süreçleri düzenleyerek bitki büyümesini ve gelişimini etkilerler (De Pinto ve De Gara, 2004). Azalmış nonenzimatik antioksidan içerikli mutantların strese karşı aşırı duyarlı olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Gao ve Zhang, 2008; Semchuk, vd., 2009). Antioksidan savunma sisteminin enzimatik bileşenleri ise farklı hücre içi bölmelerde çalışır ve hücreler oksidatif strese maruz kaldığında strese tepki verirler (Sharma, vd., 2012). Çizelge 2.4'te bitkilerde üretilen strese bağlı ROS'u yok etmede önemli rol oynayan çeşitli antioksidan enzimler ve metabolik süreçte girdikleri reaksiyonlar gösterilmektedir.

Çizelge 2.4. Önemli ROS temizleyici antioksidan enzimler (Gill ve Tuteja, 2010).

Enzimatik antioksidanlar	Enzim kodu	Kataliz reaksiyonları
Süperoksit Dismutaz (SOD)	EC 1.15.1.1	$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$
Katalaz (CAT)	EC 1.11.1.6	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2$
Askorbat Peroksidaz (APX)	EC 1.11.1.11	$H_2O_2 + AA \rightarrow 2H_2O + DHA$
Guaikol Peroksidaz (GPX)	EC 1.11.1.7	$H_2O_2 + GSH \rightarrow H_2O + GSSG$
Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR)	EC 1.6.5.4	$MDHA + NAD(P)H \rightarrow AA + NAD(P)^+$
Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR)	EC 1.8.5.1	$DHA + 2GSH \rightarrow AA + GSSG$
Glutasyon Redüktaz (GR)	EC 1.6.4.2	$GSSG + NAD(P)H \rightarrow 2GSH + NAD(P)^+$

## 2.5. Antioksidatif Savunma Sisteminin Nonenzimatik Bileşenleri

### 2.5.1. Askorbat

Askorbat (AsA), oksidatif strese karşı savunmada kilit rol oynayan, hücrede en bol bulunan, düşük molekül ağırlıklı antioksidandır (Sharma, vd., 2012). AsA'nın, bitkilerde büyüme, farklılaşma ve metabolizma dahil çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Sharma, vd., 2012). Bitki hücre türlerinin çoğunda, organeller ve apoplastlarda saptanır ve özellikle fotosentetik dokularda bol miktarda bulunur (Shao, vd., 2008; Smirnoff, vd., 2004). AsA'nın çoğu (%90'dan fazlası) sitoplazmada lokalize olmakla birlikte, diğer çözünebilir antioksidanların aksine, milimolar konsantrasyonda bulunduğu apoplasta önemli bir kısmı dışarı atılabilmektedir. Apoplastik AsA'nın, potansiyel olarak zarar verici dış oksidanlara karşı ilk savunma hattını temsil ettiği düşünülmektedir (Barnes, vd., 2002). AsA kritik makromolekülleri oksidatif hasara karşı korumaktadır (Sharma, vd., 2012).  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  ve tokoferoksil radikalinden rejenere olan a-tokoferol ile direk olarak reaksiyona girerek membran korumasını sağlar ve prostetik geçiş metali iyonları içeren enzimlerin aktivitelerini korur (Noctor ve Foyer, 1998). AsA, AsA-GSH döngüsü yoluyla  $H_2O_2$ 'nin giderilmesinde anahtar role sahiptir (Pinto, vd., 2003).

### 2.5.2. Glutatyon

Tripeptid glutatyon ( $\gamma$ -glutamilsisteinil glisin, GSH) ROS kaynaklı oksidatif hasara karşı hücre içi savunmada önemli bir rol oynayan, düşük moleküler ağırlıklı nonprotein tiyollerden biridir (Sharma, vd., 2012). Sitosol, kloroplast, endoplazmik retikulum, vakuoller ve mitokondri gibi neredeyse tüm hücre bölümlerinde varlığı tespit edilmiştir (Foyer ve Noctor, 2003).

İndirgeyici gücü nedeniyle, GSH hücre çoğalması / bölünmesi, sülfat taşınımının düzenlenmesi, sinyal iletimi, metabolitlerin konjugasyonu, enzimatik regülasyon, proteinlerin sentezi ve nükleik asitlerin sentezi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve stres yanıtı genlerin ekspresyonu gibi çeşitli biyolojik süreçlerde önemli bir rol oynar (Foyer, vd., 1997). GSH, birçok yönden bir antioksidan olarak işlev görür (Sharma, vd., 2012). Kimyasal olarak  $O_2^-$ ,  $^{\bullet}OH$ ,  $H_2O_2$  ile reaksiyona girebilir ve bu nedenle doğrudan serbest radikal toplayıcı olarak işlev görebilir (Sharma, vd., 2012). GSH, ROS veya

serbest radikallerin varlığında proton verici olarak hareket ederek hücre içi GSSG dengesini koruyabilir (Asada, 1994).

### 2.5.3. Tokoferoller

Tokoferoller ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$ ), oksijensiz radikallerin, lipit peroksi radikallerinin ve  $^1O_2$ 'nin temizlenmesinde rol oynayan bir grup lipofilik antioksidanı temsil eder (Diplock, 1989).  $\alpha$ -tokoferol, üç metil grubu içermesinden dolayı tokoferollerin en yüksek antioksidan aktivitesine sahiptir (Kamal-Eldin ve Appelqvist, 1996). Tokoferoller sadece fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenir ve bitkilerin yalnızca yeşil kısımlarında bulunurlar. Tokoferollerin PSII'nin yapısını ve işlevini koruduğu bilinmektedir (Ivanov ve Khorobrykh, 2003). Tamamen değiştirilmiş benzokuinon halkası ve tamamen indirgenmiş toktroliferol zinciri,  $^1O_2$  ile redoks etkileşimlerinde antioksidanlar olarak etki eder (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Fryer, 1992). Okside tokoferolün indirgenmiş formuna geri dönüşümü AsA, GSH veya koenzim Q ile sağlanabilir (Fryer, 1992; Kagan, vd., 2000).

### 2.5.4. Karotenoidler

Karotenoidler, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunur. Bitkilerde, karotenoidler görünür spektrumun 400 ile 550 nanometre arasındaki bölgede ışığı absorbe eder ve yakalanan enerjiyi klorofile aktarır (Sieferman-Harms, 1987). Karotenoidler, çok sayıda konjuge çift bağ taşıyan bir izopren kalıntısı içerir, bu da uyarılmış moleküllerden kolay enerji alımını ve aşırı enerjinin ısı olarak yayılmasını sağlar (Mittler, 2002). Aynı zamanda lipofilik antioksidanlar grubuna aittir ve çeşitli ROS formlarını detoksifiye edebilmektedir (Young, 1991). Bir antioksidan olarak, fotosentetik aparatı korumak için  $^1O_2$  oluşumunu önler veya  $^1O_2$ 'yi yakalayarak hücreden temizlerler (Sharma, vd., 2012). Karotenoidler ayrıca bitki gelişimini ve biyotik/abiyotik stres tepkilerini etkileyen molekülleri uyarmanın öncüleri olarak da hizmet ederler (Vallabhaneni, vd., 2008).

### 2.5.5. Fenolik bileşikler

Fenolikler, antioksidan özelliklere sahip ikincil metabolitlerdir ve bitki dokularında bol miktarda bulunurlar (Grace ve Logan, 2000). *In vitro* antioksidan analizlerde, elektronları veya hidrojen atomlarını vermedeki güçlü kapasiteleri nedeniyle, AsA ve tokoferollerden daha iyi performans gösterdikleri gösterilmiştir

(Sharma, vd., 2012). Fenolik bileşikler, geçiş metali iyonlarını şelatlayabilir, aktif oksijen moleküllerini doğrudan temizleyebilir ve lipid alkoksil radikalini yakalayarak lipit peroksidasyonunu engelleyebilir. Ayrıca lipit salgı düzenini değiştirir ve membranların akışkanlığını azaltırlar (Arora, vd., 2000).

## **2.6. Antioksidatif Savunma Sisteminin Enzimatik Bileşenleri**

### **2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD)**

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1), tüm aerobik organizmalarda oksidatif strese karşı savunmada merkezi rol oynamaktadır (Scandalios, 1993). SOD enzimi metaloenzimler grubuna aittir ve  $O_2^{\cdot-}$ 'den  $O_2$  ve  $H_2O_2$ 'nin oluşumunu (Çizelge 2.4) katalize eder (Fridovich, 1989). Aktif oksijen üreten alt hücre bölümlerinin çoğunda bulunur. Bitkilerde, bakır/çinko SOD (Cu/Zn-SOD), manganez SOD (Mn-SOD) ve demir SOD (Fe-SOD) olmak üzere üç izozimi bulunmaktadır (Racchi, vd., 2001). SOD'un tüm formları nükleer olarak kodlanır ve bir amino terminal hedef sekansı ile kendi alt hücresel bölümlerine iletilir (Bowler, vd., 1992). Mn-SOD mitokondride lokalize olurken, Fe-SOD kloroplastlarda lokalize olur (Jackson vd., 1978). Cu/Zn-SOD sitosol, kloroplast, peroksisom ve mitokondrilerde bulunur (Bowler, vd., 1992; Kanematsu ve Asada, 1989). Ökaryotik Cu/Zn-SOD siyanüre duyarlıdır ve dimer halinde bulunurken, diğer ikisi (Mn-SOD ve Fe-SOD) siyanüre duyarsızdır ve dimer veya tetramer şeklinde olabilirler (Scandalios, 1993).

Kuraklık ve metal toksisitesi dahil olmak üzere çeşitli çevresel streslere maruz kalan bitkilerde SOD aktivitesinin arttığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Sharma ve Dubey, 2005; Mishra, vd., 2011). SOD'un artan aktivitesi çoğu zaman bitkinin çevresel streslere karşı artan toleransı ile ilişkilidir. SOD'un aşırı üretimini, bitkilerde oksidatif stres toleransı ile sonuçlandığı da daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Gupta, vd., 1993).

### **2.6.2. Askorbat peroksidaz (APX)**

Askorbat peroksidaz (APX, EC 1.1.11.1) AsA-GSH döngüsünün merkezi bir bileşenidir ve hücre içi ROS seviyelerinin kontrolünde, bitkilerin, alglerin, öglenaların ve diğer organizmaların oksidatif stresten korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Sharma, vd., 2012; Gill ve Tuteja, 2010). APX,  $H_2O_2$ 'nin su-su ve ASH-GSH döngülerinde temizlenmesine katılır ve MDHA ile birlikte elektron donörü olarak

ASH'ı kullanır (Gill ve Tuteja, 2010). APX ailesi, tilakoid (tAPX) ve gliozizom membran formları (gmAPX), kloroplast stromal çözünebilir form (sAPX), sitosolik form (cAPX) ve mitokondriyal form gibi en az beş farklı izoformdan oluşmaktadır (Noctor ve Foyer, 1998; Madhusudhan, 2003). Organellerde üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi organellerde bulunan APX yok ederken, sitosolde ve apoplastta üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi veya organellerden difüze olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi ise sitosolik APX yok eder (Mittler ve Zilinskas, 1992).

APX, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için CAT ve POD'dan daha yüksek afiniteye sahiptir ve stres sırasında ROS'un yönetiminde diğerlerinden daha önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir (Gill ve Tuteja, 2010). APX, bitki hücrelerinde en yaygın bulunan antioksidan enzimlerden biri olarak kabul edilir (Wang, vd., 1999). Birçok araştırmacı, kuraklık, tuzluluk, üreme, metal toksisitesi ve UV gibi birçok abiyotik strese yanıt olarak APX'in etkin şekilde rol aldığını bildirmişlerdir (Boo ve Jung, 1999). Transgenik domates bitkilerinde (*Lycopersicon esculentum* L.) bezelye (*Pisum sativum* L.)'den transfer edilen bir sitosolik APX-geninin, soğuk ve tuz stresinin neden olduğu oksidatif hasarda yüksek oranda eksprese olarak oksidatif hasarı iyileştirdiği bildirilmiştir (Wang, vd., 2005). Benzer şekilde, tApx geninin tütün veya Arabidopsis'te aşırı ekspresyonu, bu bitkilerin oksidatif strese toleransını arttırdığı da başka bir çalışmada bildirilmiştir (Yabuta, vd., 2002).

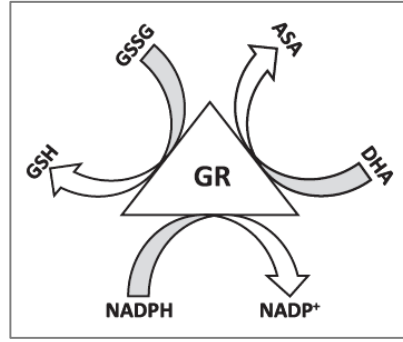
### 2.6.3. Katalaz (CAT)

Antioksidan enzimlerden katalaz (CAT 1.11.1.6), keşfedilip karakterize edilen ilk enzimdir ve iki molekül H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin su ve oksijene dönüşmesini katalize eden, her yerde birden bulunabilen ve tetramerik hem içeren bir enzimdir (Sharma, vd, 2012). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için yüksek özgülüğe sahiptir, ancak organik peroksitler karşısında aktivitesi zayıftır (Sharma, vd., 2012). Bitkiler birkaç tip H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indirgeyici enzim içerir, ancak CAT'lar, hücrel indirgeme eşdeğeri gerektirmediğinden diğerlerinden farklıdır (Sharma, vd., 2012). CAT'lar çok hızlı yenilenme yeteneğine sahiptir ancak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için APX'ten çok daha düşük bir afinitesi vardır (Sharma, vd., 2012). Çevresel stresler, stresin yoğunluğuna, süresine ve tipine bağlı olarak CAT aktivitesinin artmasına veya azalmasına neden olmaktadır (Moussa ve Abdel-Aziz, 2008). Genel olarak, proteinlerin yenilenme hızını azaltan stresler CAT aktivitesini azaltır (Sharma, vd., 2012).

Peroksizomlar,  $H_2O_2$  üretiminin başlıca bölgeridir. CAT, foto-reseptör oksidasyonu, yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu ve SOD ile birleşmiş XOD gibi diğer enzim sistemleri sırasında oluşan  $H_2O_2$ 'yi hızlıca yok eder (Scandalios, vd., 1997; Corpas, vd., 2008). Bugüne kadar, incelenen tüm angiosperm türleri, üç CAT geni içermektedir (Mhamdi, vd., 2010). Willekens, vd., (1995) tütün genlerinin ekspresyon profiline dayanan çalışmalarında bir CAT sınıflandırması önermişlerdir: Sınıf I CAT'lar, fotosentetik dokularda eksprese edilir ve ışıkla düzenlenir. Sınıf II CAT'lar vasküler dokularda yüksek seviyelerde eksprese edilirken, Sınıf III CAT'lar tohumlarda ve genç fidelerde oldukça fazla eksprese edilmektedir. Yapılan bir çalışmada *Brassica juncea*'dan alınıp tütün içine sokulan bir CAT geninin, Cd kaynaklı oksidatif strese karşı aşırı eksprese olarak, tütün bitkisinin Cd stresine toleransını arttırdığı gösterilmiştir (Guan, vd., 2009).

#### **2.6.4. Glutasyon redüktaz (GR)**

GR, prokaryotlarda ve ökaryotlarda bulunan bir flavo-protein oksidoredüktazdır (Radwan, vd., 2010). ASH-GSH döngüsünün potansiyel bir enzimidir ve GSH'ın azalan durumunu sürdürerek ROS'a karşı savunma sisteminde önemli bir rol oynamaktadır. GR, oksidatif strese karşı savunmada yer alırken, GSH'ın indirgenmesini de katalize eder (Racchi, vd., 2001; Bowler, vd., 1992). GR ve GSH, çeşitli stresler altındaki bitkinin toleransının belirlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Bowler, vd., 1992). Ağırlıklı olarak kloroplastlarda lokalizedir ancak bu enzimin küçük bir miktarı mitokondri ve sitoplazmada da bulunmuştur (Scandalios, 1993). Fotosentetik dokulardaki GR aktivitesinin yaklaşık %80'i kloroplastik izoformlar tarafından sağlanmaktadır (Edwards, vd., 1990). Kloroplastta GSH ve GR, Mehler reaksiyonu tarafından üretilen  $H_2O_2$ 'nin detoksifikasyonunda yer almaktadır (Sharma, vd., 2012). Bazı araştırmacılar çevresel stres altında GR aktivitesinin artmış olduğunu bildirmişlerdir (Hernández, vd., 2001; Yoshida, vd., 2006; Sharma ve Dubey, 2005, 2007; Maheshwari ve Dubey, 2009).



Şekil 2.4. Glutatyon redüktaz ve hücrel redoks (Gill ve Tuteja, 2010).

### 2.6.5. Guaiakol peroksidaz (GPOX/GPX)

Hem içeren bir protein olan guaiakol peroksidaz (GPX, EC 1.11.1.7),  $H_2O_2$  gideriminde guaiakol ve pirogalol gibi aromatik elektron donörlerini oksitlemektedir. Hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunmaktadır (Sharma, vd., 2012). Bu enzimler dört korunmuş disülfid köprüsüne sahiptir ve iki yapısal  $Ca^{2+}$  iyonu içerir (Schuller, vd., 1996). GPX'in birçok izoenzimi, vakuoller, hücre duvarı ve sitoplazmada lokalize olmuş bitki dokularında bulunur (Asada, 1992). GPX, hücre duvarının ligninleşmesi, IAA'nın bozulması, etilenin biyosentezi, yara iyileşmesi ve abiyotik ve biyotik streslere karşı savunma gibi birçok önemli biyosentetik süreçle ilişkilidir (Kobayashi, vd., 1996). GPX'ler stres enzimi olarak kabul edilir (Sharma, vd., 2012). GPX, stresli koşullar altında  $O_2$  ve peroksi radikallerinin reaktif ara formlarının etkili bir süpürücüsü işlevi görmektedir (Vangronsveld ve Clijsters, 1994).

Radoti'c ve çalışma arkadaşları (2000), metal toksisitesi koşulları altında GPX'in oksidatif reaksiyonlara karşı aktivitesinin arttığını ve bitkilerde subletal metal toksisitesi için biyomarker olabilecek potansiyele sahip olduğunu öne sürmüşlerdir. Yakın zamanda, Tayefi-Nasrabadi ve arkadaşları (2011), tuza toleranslı aspir bitkilerinin tuzdan kaynaklanan oksidatif hasara karşı daha fazla korunmasının, en azından kısmen GPX aktivitesinin artması, katalitik verim ve tuza duyarlı çeşitlerde spesifik izoenzimlerin indüklenmesi ile olduğu sonucuna varmışlardır.

### 2.6.6. Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR)

MDHAR bir flavin adenin dinükleotid (FAD) enzimidir. MDHAR, elektron alıcısı olarak NADPH'den ziyade, NADH'ı tercih eden, monodehidroaskorbat (MDHA) için yüksek spesifite sergilemektedir (Gill ve Tuteja, 2010). MDHAR aktivitesi

bitkilerde yaygındır. MDHAR'ın izoenzimlerinin, kloroplastlar, sitozol, mitokondri ve peroksizomlar gibi çeşitli hücrel kompartmanlarda mevcut olduğu bilinmektedir (Hossain, vd., 1984b; Dalton, vd., 1993). Kloroplastlarda, MDHAR iki fizyolojik fonksiyona sahip olabilmektedir: MDA'dan AsA'nın rejenerasyonu ve MDHA substratı bulunmadığında dioksijenin  $O_2^{\cdot-}$ 'ye fotoredüksiyonuna aracılık edilmesi (Miyake, vd., 1998). Tütün içindeki Arabidopsis MDHAR geninin aşırı ekspresyonu, tuz ve polietilen glikol streslerine karşı tütün bitkisinin toleransını artırdığı bir çalışmada bildirilmiştir (Eltayeb, vd., 2007).

### 2.6.7. Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR)

Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR, EC 1.8.5.1) indirgeyici substrat olarak GSH kullanarak DHA'nın AsA'ya indirgenmesini katalize etmekte ve bu nedenle AsA'nın indirgenmiş formunda tutulmasında önemli bir rol oynamaktadır (Ushimaru, vd., 1997). Çok kısa ömürlü bir kimyasal olan DHA, geri dönüşümsüz olarak 2,3-diketogulonik aside hidrolize edilebilir veya DHAR tarafından AsA'ya geri dönüştürülebilir (Sharma, vd., 2012). DHAR, kuru tohumlarda, köklerde, solmuş ve yeşil sürgünlerde bol bulunan monomerik bir tiyol enzimidir. DHAR, ıspanak yaprakları ve patates yumrusu gibi çeşitli bitki türlerinde kloroplastın yanı sıra nonkloroplast kaynaklardan da saflaştırılmıştır (Hossain ve Asada, 1984a; Dipierro ve Borraccino, 1991). Tütün yapraklarında, mısırdaki ve patatesteki DHAR'ın aşırı ekspresyonu AsA içeriğinin artmasına neden olmuştur (Chen, vd., 2003). Böylece DHAR'ın AsA'nın havuz büyüklüğünü belirlemede önemli roller oynadığını belirlenmiştir (Qin, vd., 2011). Yapılan bir çalışmada Arabidopsis sitosolik *AtDHAR1* genini aşırı eksprese eden transgenik patates, herbisite, kuraklığa ve tuz stresine daha yüksek tolerans göstermiştir (Eltayeb, vd., 2011).

## 2.7. Literatür Özeti

Yaman ve arkadaşları (2012), beş farklı aspir çeşidi ile yaptıkları çalışmada farklı bor seviyelerinin çeşitlerin çimlenmesi üzerine önemli bir etki göstermediğini, bor toksisitesine karşı çeşitlerin farklı tepkiler gösterdiğini belirtmişlerdir. Çeşitlerin kök uzunluğunun ve bitki boyunun ise belli bir bor seviyesine kadar arttığını, yüksek bor seviyelerinde kök uzunluğunun azalmaya başladığını bildirmişlerdir. Çeşitler arasında

bor toksisitesine toleransı en yüksek olanların TAEK-USLU hattı ve Shifa çeşidi olduklarını tespit etmişlerdir.

Ashagre ve arkadaşları (2014b), aspir ile yaptıkları çalışmada çimlenme oranı, kök ve gövde uzunlukları, kök ve gövde yaş ve kuru ağırlığı ve canlılık indeksinin, artan bor seviyeleri ile azaldığını, fitotoksitenin ise bor seviyesinin artması ile önemli ölçüde arttığını ortaya koymuşlardır.

Işık ve Leblebici, (2016) iki farklı aspir çeşidi (Dinçer ve Remzibey) ile yaptıkları çalışmada farklı borik asit konsantrasyonlarının (10, 30, 50, 100, 200, 300, 500 ppm) çimlenme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak Dinçer çeşidinde çimlenme yüzdesinde önemli bir değişim olmadığını, Remzibey çeşidinde ise bor konsantrasyonu arttıkça çimlenme yüzdesinin azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca Dinçer çeşidinin bor elementine karşı Remzibey'den daha toleranslı olduğunu belirtmişlerdir.

Day ve arkadaşları (2017), Balcı, Yenice ve Remzibey çeşitleri ile yaptıkları çalışmada, tüm çeşitlerde bitki boyu, taze ve kuru ağırlıklarının  $4 \text{ mg kg}^{-1}$  bor seviyesinde belirgin şekilde arttığını, diğer bor seviyelerinde ise önemli şekilde azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca tüm aspir çeşitlerinin klorofil içeriğinin aşırı bor seviyeleri ile azaldığını da belirtmişlerdir. Balcı çeşidinin bora karşı toleransının diğer çeşitlerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Aftab ve arkadaşları (2010), *Artemisia annua* L. bitkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada, artan bor (0, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 mM) konsantrasyonlarının bitkinin kök uzunluğunu, yaş ve kuru ağırlığını, klorofil içeriğini azalttığını, ancak antioksidan enzimlerin (CAT, POX ve SOD) aktivitelerinde artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Wang ve arkadaşları (2011), yapmış oldukları çalışmada armut bitkisi yapraklarına farklı bor dozları uygulamış ve artan bor miktarına bağlı olarak yapraklardaki MDA ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonlarında artış gözlemişlerdir. Buna ek olarak SOD, APX, CAT ve GR enzim aktiviteleri ile askorbik asit ve GSH (glutatyon) kapsamları incelenmiş, artan bor dozuna paralel olarak ilk önce artış gözlerken sonrasında azalış olduğunu çalışmalarında belirtmişlerdir.

Tepe ve Aydemir (2011), arpa ve mercimek ile yaptıkları çalışmada farklı bor konsantrasyonlarında antioksidan enzimlerin aktivitelerini incelemişlerdir. Bor toksisitesinin SOD, GPX ve LOX aktivitelerine etkisinin iki türde de benzer olduğunu

fakat CAT ve APX aktivitelerinin her iki türde de 5 ve 10 mM bor konsantrasyonu altında farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. SOD, GPX ve LOX aktivitelerinin artan bor konsantrasyonu ile kontrole kıyasla azalma gösterdiğini; CAT ve APX enzim aktivitelerinin ise bor toksisitesi ile mercimekte azalırken, arpa da arttığını gözlemlemişlerdir.

Esim ve arkadaşları (2012), 11-15 günlük mısır fidelerine 2 ve/veya 6 gün 2 ve 4 mM  $H_3BO_3$  uygulayarak, kök uzunluğu, MDA,  $H_2O_2$ , SOD, CAT ve POX parametrelerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda kök uzunluğunun artan bor dozlarıyla azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca MDA,  $H_2O_2$ , SOD, CAT içeriğinin bor dozlarıyla orantılı olarak artarken, POX aktivitesinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Oluk ve arkadaşları (2012), yaptıkları çalışmada 2 domates çeşidinde (SC2121, Safari F1) 3 mM bor konsantrasyonu uygulayarak, gövde ve kök dokularının malondialdehid (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX), katalaz (CAT) askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon reduktaz (GR) içeriklerini incelemişlerdir. Sonuçta uygulanan bor konsantrasyonunun, oksidatif zararı arttırdığını ve APX dışında antioksidan enzim aktivitesini azalttığını belirtmişlerdir. Ayrıca köklerde sadece CAT aktivitesini, gövdede ise CAT, GR, SOD, POX ve APX aktivitelerini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Safari F1 çeşidinin oksidatif zarara uğramadığını, diğer çeşide göre köklerinin daha iyi korunduğunu, gövde dokularında ve diğer çeşitlerde böyle bir korumanın bulunmadığını bildirmişlerdir.

Hossain ve arkadaşları (2015), *Brassica napus* L. ile yaptıkları bir çalışmada 0, 4.5, 9, 13.5 ve 18 kg ha<sup>-1</sup> bor uyguladıkları bitkinin SOD ve POD enzim aktivitelerini incelemişler, sonuç olarak uygulanan bor konsantrasyonlarının bitkide oksidatif strese neden olduğunu, SOD ve POD enzim aktivitelerinin konsantrasyonlara bağlı olarak önce artıp sonra azaldığını tespit etmişlerdir. En yüksek SOD ve POD aktivitesinin 9 kg ha<sup>-1</sup> bor konsantrasyonunda, en düşük 18 kg ha<sup>-1</sup> konsantrasyonunda olduğunu bildirmişlerdir.

Kaya ve Ashraf (2015), domates bitkisine uyguladıkları bor konsantrasyonlarının (0.5, 3.5, 6.5 mg/L) bitkiye etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda domates bitkisinde bor toksisitesinin kontrole kıyasla kuru madde miktarını ve meyve verimini azalttığını ancak yaprak dokularındaki prolin, MDA, SOD, POD, CAT içeriği ve toplam antioksidan aktivitesini (TAA) artırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca

yüksek bor konsantrasyonlarının yapraklardaki  $Ca^{+2}$ , N ve K seviyelerini de azalttığını belirtmişlerdir.

Shah ve arkadaşları (2017), farklı bor konsantrasyonlarının (0, 10, 20, 40 ve 100 mg/ml) portakal bitkisi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada yüksek bor seviyelerinin bitki büyümesini engellediğini ve yaşlı yaprakların kenarlarında yanmalar meydana getirdiğini görmüşlerdir. Fotosentez, terleme hızı, stoma iletkenliği ve MDA miktarının 20 mg/ml ve daha az bor konsantrasyonlarında arttığını, diğer konsantrasyonlarda ise azaldığını tespit etmişlerdir. Antioksidan enzimlerden SOD, POD, CAT ve APX aktivitelerinin yine 20 mg/ml bor seviyesinde en yüksek düzeyde olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 20 mg/ml'den düşük konsantrasyonlarda enzim aktivitelerinin azaldığını, daha yüksek konsantrasyonlarda da bir miktar düşüş olduğunu bildirmişlerdir.

Küçükakyüz ve arkadaşları (2018), domates ile yaptıkları çalışmada 2, 5 ve 10 ppm bor konsantrasyonlarının SOD, APX, POD ve CAT enzim aktiviteleri üzerine etkisini incelemişler; çalışmanın sonucunda tüm enzim aktivitelerinin uygulanan bor konsantrasyonları ile kontrole kıyasla artış gösterdiğini fakat konsantrasyonlar arasında farklılık olduğunu belirtmişlerdir. En yüksek SOD aktivitesinin 10 ppm, APX aktivitesinin 2 ppm, POD ve CAT aktivitelerinin 5 ppm borik asit uygulamalarında olduğunu tespit etmişlerdir.

Rezaee ve arkadaşları (2013), bor ve alimünyum stresi altında *Eustoma grandiflorum* L. bitkisinde, bazı antioksidan enzim aktiviteleri ile katalaz geninin antioksidan aktivitesi ve ekspresyonunu araştırdıkları bir çalışmada; 0,1 mM bor uyguladıkları örneklerde SOD ve GPX aktivitesi ile lipid peroksidasyonunun kontrol grubuna göre azaldığını, APX ve CAT aktivitesinin ise arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca CAT enzim aktivitesindeki artışın enzimler arasındaki en belirgin artış olduğunu ve *CAT* gen ekspresyonunun da enzim aktivitesine paralel olarak belirgin bir şekilde arttığını bildirmişlerdir.

Surgun-Acar ve arkadaşları (2018), *Arabidopsis thaliana* L. Heynh ile yaptıkları bir çalışmada bor stresi altında bitkinin *SOD* genlerinin ekspresyon profillerini araştırmışlardır. Çalışmada 3000  $\mu$ M bor uyguladıkları bitki örneklerinin yaprak dokularında 7 farklı SOD izoformlarının (Cu/ZnSOD-CSD1, CDS2, CSD3; FeSOD-FSD1, FSD2, FSD3; MnSOD-MSD1) gen ekspresyonlarının bor uygulaması ile kontrol

grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak bor stresinin farklı hücresel kompartmanlarda antioksidatif savunmayı tetiklediğini bildirmişlerdir.

Aspir ve bor ilişkisi ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda genellikle çimlenme ve erken büyüme evreleri incelenmiştir. Bor elementine karşı antioksidan enzimlerin verdiği yanıtlara dair yapılan çalışmalar birçok farklı bitki türünde incelenmiş olmasına rağmen, özellikle aspir bitkisinde bu alanda literatürde önemli bir boşluk bulunmaktadır. Ayrıca literatürde çok az çalışmada antioksidan enzimleri kodlayan genlerin bor stresi altında mRNA seviyelerindeki değişim tespit edilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda, farklı konsantrasyonlarda (0, 5, 10, 15 mM) borik asit uygulanan üç aspir çeşidinin (Balcı, Dinçer, Remzibey) antioksidan enzim aktiviteleri fizyolojik yöntemlerle belirlenmiş ve bu enzimlerin ekspresyon seviyelerinde meydana gelen değişimler kantitatif gerçek zamanlı PZR ile araştırılmıştır.

### 3. MATERYAL METOD

Çalışmada Balcı, Dinçer ve Remzibey olmak üzere üç farklı aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşidi deney materyali olarak kullanılmıştır. Tohumlar Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü (ETAE)'den temin edilmiştir.

#### 3.1. Çimlenme Deneyleri ve Borik Asit Uygulaması

Çimlendirilecek olan tohumlar ekimden önce sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Rastgele seçilmiş olan tohumlar %10'luk NaOCl (Merck) içinde 10 dakika bekletilip ardından 3 kez distile su ile yıkanmıştır (Jabeen ve Ahmad, 2012). Ekolojik ölçümler için petri kaplarına, fizyolojik ve moleküler değişimlerin tespiti için ise viyollere ekim yapılmıştır. Her iki deney grubu için kontrol (saf su), 5, 10, 15 mM'lık borik asit (Merck) çözeltileri hazırlanmıştır. Bitkiler doğal ortamda bor elementini topraktan borik asit şeklinde aldıkları için bu çalışmada bor kaynağı olarak borik asit kullanılmıştır (Hu vd., 1997b). Tohumların ekim işlemleri kontaminasyon riskini en aza indirmek için steril kabinde ve tamamı steril malzemelerle gerçekleştirilmiştir. Çimlenme deneyleri için 12 cm çapındaki petri kapları kullanılmış, petri kabının içi iki kat kurutma kağıdı ile kaplanmıştır. Her bir petri kabı 6 mililitre çözelti ile sulanmış ve her tekrarda 100 adet tohum kullanılmıştır. Deneyler 16 saat gündüz 8 saat gece fotoperiyotta 3'er tekrarlı olarak, 21 gün süre ile iklim odasında  $25\pm 1$  °C'de gerçekleştirilmiştir (Digitech 120). 21 günün sonunda çimlenen tohumların % çimlenme, kök ve gövde uzunluğu, kök ve gövde yaş-kuru ağırlığı ölçülmüş; kök ve gövde biyokütle hesaplamaları yapılmıştır.

Viyollere ekim yapılmadan önce steril tohumlar borik asit (Merck) çözeltilerinde (0, 5, 10, 15 mM) 3 saat süre ile imbibisyona tabi tutulmuştur (Çulha, 2011). Viyoller belli bir seviyeye kadar torf toprağı ile doldurulmuş ve her viyole 5'er adet tohum yerleştirilmiştir. Daha sonra tohumların üzeri ince bir torf toprağı tabakası ile kapatılmış ve her bir viyol 20 ml çözelti ile sulanmıştır. Ekim işlemi tamamlandıktan sonra viyoller, koşulları çimlenme deneyleri ile aynı olan iklim odasına (Digitech 120) bırakılmıştır. Viyoller gün aşırı sulamaya tabi tutulmuş ve 6 hafta sonunda fideler toplanmıştır. Toplanan bitki örneklerinin kök, gövde ve yaprakları jilet yardımıyla birbirinden ayrılmış bitki kısımları kullanılana kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de (Thermo) saklanmıştır.



Şekil 3.1. Petrilere çimlendirilen tohumların genel görünümü.



Şekil 3.2. Viyolde yetiştirilen aspidistra fidelerinin genel görünümü.

### 3.2. Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi

Bitki örneklerinin klorofil içeriğinin belirlenmesinde her konsantrasyona ait taze yaprak örneği 0,05 gram tartılarak %80'lik 15 ml aseton ile homojenize edilmiş, filtre kâğıdından süzölmüş ve son hacim %80'lik aseton (Merck) ile 15 ml'ye tamamlanmıştır. Homojenatın absorbans değeri spektrofotometrede (AgileSpec) 645 nm ve 663 nm dalga boylarında 3 tekrarlı olacak şekilde ölçölmüştür. Klorofil ekstraktının iki farklı dalga boyunda yapılan ölçömlerinden elde edilen değeri aşağıda verilen eşitlik 3.1, eşitlik 3.2 ve eşitlik 3.3'te yerine konularak bitki örneklerine ait

yaprak dokusunun 0,05 gr'ında bulunan klorofil *a*, *b* ve total klorofil içeriği mg/ml olarak belirlenmiştir (Arnon, 1949).

$$\text{Klorofil } a: [12.7 (D_{663}) - 2.69 (D_{645})] (V/1000W) \quad (3.1)$$

$$\text{Klorofil } b: [22.9 (D_{645}) - 4.68 (D_{663})] (V/1000W) \quad (3.2)$$

$$\text{Total Klorofil: } [20.2 (D_{645}) + 8.02 (D_{663})] (V/1000W) \quad (3.3)$$

D: Klorofil ekstratının belirtilen dalga boyundaki absorbands değeri

V: % 80'lik aseton hacmi

W: Ekstre edilen dokunun gr olarak yaş ağırlığı

### 3.3. Antioksidan Enzim Aktivitelerine Ait Fizyolojik Deneyler

Viyollerde yetiştirilen bitkilere ait yaprak örnekleri antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

#### 3.3.1. Yaprak örneklerinin ekstraksiyonu

Ekstraksiyon işlemi için yaprak örneklerinden 0,5 gr tartılarak sıvı azot ile toz haline getirilmiş ve 5 ml ekstraksiyon tamponu ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat 20000 g'de 20 dk +4°C'de santrifüj edilmiş (Termal) ve süpernatant enzim aktivitesi tayini için -80°C'ye (Thermo) kaldırılmıştır.

APX aktivitesini ölçmek için diğer enzimlerden farklı olarak ekstraksiyon tamponuna ayrıca 5 mM askorbik asit (Carlo Erba) eklenmiştir (Jebara, vd., 2005; Sairam ve Saxena, 2000).

**Çizelge 3.1.** Ekstraksiyon tamponu içeriği (pH:7.0).

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	50 mM	Carlo Erba
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	50 mM	Carlo Erba
PVP	% 1	Biomatik
EDTA	1 mM	VWR
Askorbik asit*	5 mM	Carlo Erba

\*Yalnızca APX aktivite tayinleri için

### 3.3.2. Protein içeriğinin belirlenmesi

Çalışmada enzim aktiviteleri protein miktarlarına bağlı olarak hesaplanmıştır. Bu nedenle ilk olarak tüm enzim özütlerinin protein içerikleri belirlenmiştir. Kontrol grubu ve 3 farklı konsantrasyonda borik asit (Merck) uygulanan Balcı, Dinçer ve Remzibey çeşitlerine ait yaprak örneklerinin protein miktarları, sığır serum albumin (BSA) (Sigma) standardı kullanılarak belirlenmiştir (Bradford, 1976).

Bradford çözeltisini hazırlamak için; 500 mg Coomassie Blue G (Serva), 50-70 ml suda çözülerek bu çözelti içine sırasıyla 250 ml %95'lik etanol (Tekkim) ve 500 ml %85'lik fosforik asit (Tekkim) eklenip karıştırılmıştır. Daha sonra bu çözelti 1 L'ye tamamlanarak +4°C'de karanlık ortamda tutulmuştur. Hazırlanan bu çözelti 5X yoğunluğunda olduğundan kullanılmadan önce 5 kez seyreltilerek 1X yoğunluğuna düşürülmüştür. Enzim özütlerinin protein miktarları belirlenirken 20 µl enzim özütü ile 480 µl distile su karıştırıldıktan sonra, son hacim 5 ml olacak şekilde Bradford çözeltisi (1X) eklenmiştir. Bu karışım 10 sn vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Elde edilen karışımın absorbans değerleri spektrofotometrede (AgileSpec) 595 nm dalga boyunda 3 tekrarlı olarak okunmuştur. Deneyde standart olarak sığır serum albümin (BSA) (Sigma) kullanılmıştır. 1 mg/ml BSA (Sigma) stoğundan 0, 5, 10, 15, 20, 30 ve 40 µl alınarak protein içeriği ölçülmüştür. Standartlara ait absorbans değerleri kullanılarak bir grafik elde edilmiştir. Grafikten elde edilen eşitlik ( $y = 0,2308x - 0,2183$ ,  $R^2 = 0,9922$ ) yardımı ile protein konsantrasyonu bilinmeyen örneklerin konsantrasyonları formülden tespit edilmiştir.

### 3.3.3. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi, Nitrobluetetrazolyum'un (NBT) fotoredüksiyonunu esas alan yönteme göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Beyer ve Fridovich, 1987; Burke ve Oliver, 1992). Cam tüplere 1 ml SOD reaksiyon tamponu (Çizelge 3.2) üzerine 20 µl enzim özütü eklenerek karıştırılmıştır. Daha sonra tüpler 10 dk  $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  ışık yoğunluğunda beyaz floresan ışığına maruz bırakılarak absorbans değerleri saf sudan ibaret olan köre karşı spektrofotometrede (AgileSpec) 560 nm dalga boyunda okunmuştur. Toplam SOD aktivitesi ünite/mg protein olarak hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesinin aktivitesi, NBT redüksiyonunda %50'lik bir inhibisyon yaratmak için gereken SOD miktarı olarak tanımlanmıştır. Elde edilen veriler eşitlik 3.4'e göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ inhibisyon} = (\text{Kontrolün Abs.} - \text{Örneğin Abs.}) \times 100 / \text{Kontrolün Abs.} \quad (3.4)$$

Kontrol : Enzim özütü içermeyen SOD reaksiyon tamponu

Örnek : Enzim özütü içeren SOD reaksiyon tampon

**Çizelge 3.2.** SOD reaksiyon tamponu içeriği (pH:7.8).

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	50 mM	Carlo Erba
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	50 mM	Carlo Erba
Metiyonin	13 mM	AMRESCO
NBT	75 µM	TCI
EDTA	100 µM	VWR
Riboflavin	2 µM	Alfa Aesar

SOD konsantrasyonlarının belirlenmesi için SOD standartları kullanılmıştır. Standartlar SOD kiti (SOD S7446, Sigma-Aldrich, USA) kullanılarak hazırlanmıştır. 0,01 mg/ml SOD stoğundan 1, 2, 4, 6, 8, 10 ve 20 µL alınarak bir standart grafiği oluşturulmuştur. Grafikten elde edilen formül ( $y = 0.1962 + 9.1306x$ ,  $R^2 = 0.9746$ ) kullanılarak SOD konsantrasyonları bilinmeyen uygulamaların konsantrasyonları belirlenmiştir. Formülde y değeri % inhibisyonu, x ise SOD konsantrasyonunu ng/ml cinsinden belirtmektedir. Bir SOD ünitesi ise %50 inhibisyon sağlayan enzim miktarı olarak tanımlandığı için konsantrasyon değerleri üniteye çevrilmiştir. Elde edilen ünite değerleri, total protein içeriğine oranlanmış ve enzim aktivitesi U/µg protein olarak belirlenmiştir.

### 3.3.4. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan yöntem hidrojen peroksitin katalaz enziminin etkisi ile su ve oksijene parçalanması sonucu 240 nm dalga boyunda meydana gelen absorbans düşüşünün spektrofotometrede izlenmesi esasına dayanmaktadır. 1 ml CAT reaksiyon tamponu (Çizelge 3.3) üzerine 20 µl enzim özütü eklenerek vorteks (Wisemix) ile karıştırılmıştır. Bu karışımın spektrofotometrede (AgileSpec) 240 nm dalga boyunda köre karşı 3 dk boyunca 15 sn aralıklarla kinetik ölçümü alınmış ve absorbanstaki azalma değerleri kaydedilmiştir. Enzim özütü içermeyen CAT reaksiyon tamponu kör olarak kullanılmıştır. Toplam katalaz aktivitesi, eşitlik 3.5'e göre U/µg protein olarak hesaplanmıştır (Ekstriksiyon katsayısı,  $\epsilon = 40$  mmol/L.cm) (Çakmak ve Horst, 1991).

$$\text{CAT Aktivitesi: } [(\Delta\text{Abs} \times V_{\text{toplaml}}) / \epsilon \times t \times V_{\text{enzim}} \times l] / \text{TP} \quad (3.5)$$

$\epsilon$  : 40 mmol/L.cm

$V_{\text{toplaml}}$ : Toplam hacim

$V_{\text{enzim}}$ : Reaksiyona konulan enzim hacmi

t: Reaksiyonun gerçekleştiği süre

l: Küvete ait ışık yolu (1 cm)

TP: Total protein miktarı (mg protein)

**Çizelge 3.3.** CAT reaksiyon tamponu içeriği (pH:7.0).

$\text{K}_2\text{HPO}_4$	50 mM	Carlo Erba
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	50 mM	Carlo Erba
$\text{H}_2\text{O}^2$	30 mM	Carlo Erba

### 3.3.5. Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Askorbat peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde 1 ml APX reaksiyon tamponu (Çizelge 3.4) üzerine 20  $\mu\text{l}$  enzim özütü eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Bu karışımın spektrofotometrede (AgileSpec) 290 nm dalga boyunda köre karşı 3 dk boyunca 15 sn aralıklarla kinetik ölçümü alınmış ve absorbanstaki azalma değerleri kaydedilmiştir. Enzim özütü içermeyen APX reaksiyon tamponu kör olarak kullanılmıştır. Toplam APX aktivitesi, eşitlik 3.6'ya göre U/ $\mu\text{g}$  protein olarak hesaplanmıştır (Ekstriksiyon katsayısı,  $\epsilon=2,8$  mmol/L.cm) (Lester, vd., 2004).

$$\text{APX Aktivitesi: } [(\Delta\text{Abs} \times V_{\text{toplaml}}) / \epsilon \times t \times V_{\text{enzim}} \times l] / \text{TP} \quad (3.6)$$

$\epsilon$  : 2,8 mmol/L.cm

$V_{\text{toplaml}}$ : Toplam hacim

$V_{\text{enzim}}$ : Reaksiyona konulan enzim hacmi

t: Reaksiyonun gerçekleştiği süre

l: Küvete ait ışık yolu (1 cm)

TP: Total protein miktarı (mg protein)

**Çizelge 3.4.** APX reaksiyon tamponu içeriği (pH:7.0).

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	50 mM	Carlo Erba
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	50 mM	Carlo Erba
Askorbik asit	250 µM	Carlo Erba
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5 mM	Carlo Erba

**3.3.6. Glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitesinin belirlenmesi**

Glutatyon redüktaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde 1 ml GR reaksiyon tamponu (Çizelge 3.5) üzerine 20 µl enzim özütü eklenerek vorteks (Wisemix) ile karıştırılmıştır. Bu karışımın spektrofotometrede (AgileSpec) 340 nm dalga boyunda köre karşı 3 dk boyunca 15 sn aralıklarla kinetik ölçümü alınmış ve absorbanstaki azalma değerleri kaydedilmiştir. Enzim özütü içermeyen GR reaksiyon tamponu kör olarak kullanılmıştır. Toplam GR aktivitesi, aşağıdaki eşitlik 3.7'ye göre U/µg protein olarak hesaplanmıştır (Ekstriksiyon katsayısı,  $\epsilon=6,22$  mmol/L.cm) (Rao, vd., 1996).

$$\text{GR Aktivitesi: } [(\Delta\text{Abs} \times V_{\text{toplam}}) / \epsilon \times t \times V_{\text{enzim}} \times l] / \text{TP} \quad (3.7)$$

$\epsilon$  : 6,22 mmol/L.cm

$V_{\text{toplam}}$ : Toplam hacim

$V_{\text{enzim}}$ : Reaksiyona konulan enzim hacmi

t: Reaksiyonun gerçekleştiği süre

l: Küvete ait ışık yolu (1 cm)

TP: Total protein miktarı (mg protein)

**Çizelge 3.5.** GR reaksiyon tamponu içeriği (pH:7.6).

Tris-HCl	50 mM	Sigma
GSSG	1 mM	PubChem
NADPH	250 µM	Sigma
EDTA	500 µM	VWR

### 3.4. Antioksidan Enzimlere Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi

#### 3.4.1. Total RNA izolasyonu

Farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanan bitki örneklerinin taze yapraklarından total RNA izolasyonu yapılmıştır. 100 mg taze yaprak örneği sıvı azot ile steril havanda parçalanarak toz haline getirilmiş ve steril ependorfa alınmıştır. Üzerine 1 ml Trizol (Thermo) eklenerek homojenize edilmiştir ve 5 dk oda ısısında bekletilmiştir. 1 ml Trizol (Thermo) için 200 µl kloroform (Merck) eklenerek 15 sn vorteks (Wisemix) yapılmıştır. Vorteks işleminden sonra 3 dk oda sıcaklığında bekletilen örnekler 20 dk 4 °C'de 15000 rpm'de santrifüj (Termal) edilmiştir. Santrifüj sonunda üst faz başka bir steril ependorfa alınmıştır. RNA'nın çökmesi için 500 µl izopropanol (Sigma) eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir ve sonrasında 5 dk 4 °C'de 15000 rpm'de santrifüj (Termal) edilmiştir. Santrifüj sonunda dipte kalan RNA pelletinin olası artıklardan temizlenmesi için 1 ml %70'lik etanol (Tekkim) eklenerek 2 dk 4 °C'de 15000 rpm'de santrifüj (Termal) edilmiştir. Santrifüj sonunda etanolün uzaklaştırılması için pelletler 5-10 dk kurumaya bırakılmıştır. Kuruma sonunda pelletler 30-50 µl distile suda çözülerek cDNA sentezinde kullanılmaya hazır hale getirilmiştir.

#### 3.4.2. Total RNA miktarının belirlenmesi

Taze yapraklardan izole edilen RNA örneklerinden 5 µl alınarak %0,8'lik 100 ml agaroz jelde 60 V'ta 65 dk yürütülmüş ve RNA'ların kalitesinin prosedüre devam etmeye uygun olup olmadığı kontrol edilmiştir. RNA'lar jelde çift ve parlak bir bant olarak gözlemlendiğinde bu örneklerin Nanodrop Spektrofotometre (AgileSpec) ile 260 ve 280 nm dalga boyunda saflık ve miktar tayinleri yapılmıştır. Agaroz jelde çok silik veya ışıklı yol şeklinde gözüken örnekler için RNA izolasyonu tekrarlanmıştır. Yeterli kalitede elde edilen ve miktarı belirlenen RNA örnekleri cDNA'ya çevrilmiştir.

#### 3.4.3. cDNA sentezi

İzole edilen RNA örnekleri First Strand cDNA sentez kiti (BioLabs, Katalog No: E6300S) kullanılarak cDNA'ya dönüştürülmüştür. Her bir reaksiyon için 5 µl RNA, 2 µl d(T)<sub>23</sub> VN primeri ve 1 µl nükleaz içermeyen su PZR tüplerine eklenerek hacim 8 µl'ye tamamlanmış ve RNA'nın denatürasyonu için 70 °C'de 5 dk bekletilmiştir. Daha sonra tüplere 10 µl M-MuLV Reaksiyon mix ve 2 µl MuLV Enzim mix eklenerek 42 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda enzimin inaktive olması için 80

°C’de 5 dk daha inkübe edilmiştir. İşlem sonunda tüplere 30 µl distile su eklenerek örnekler 50 µl’ye dilüe edilmiş ve kantitatif gerçek zamanlı PZR’da kullanılmak üzere -20 °C’ye kaldırılmıştır.

#### 3.4.4. Kantitatif gerçek zamanlı PZR için primer dizaynı

Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) deneylerinde kullanılacak olan genlere özel primerler (Çizelge 3.6) Primer3 programı (Rozen ve Skaletsky, 2000) ile dizayn edilmiştir. Firmadan alımı yapılan liyofilize haldeki primerler laboratuvara geldikten sonra 15 sn 12000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Primerlere nükleazlardan arındırılmış sudan 1 ml eklenerek 2 dk alt üst edildikten sonra 15 sn vorteks (Wisemix) yapılmıştır. Kullanıma hazır hale getirmek için primerlerin son konsantrasyonu 10 µM olarak ayarlanmıştır.

**Çizelge 3.6.** Kantitatif gerçek zamanlı PZR için kullanılan primerler ve dizileri.

PRİMERLER	NÜKLEOTİT DİZİLERİ	TM
GAPDH RTF PRIMER	ATGACTGCCACCCAAAAGAC	60.1
GAPDH RTR PRIMER	TTCCGGTCAATTCCCATA	59.9
SOD RTF PRIMER	GGCAGTACCATCTTCGCCTA	60.2
SOD RTR PRIMER	TTGTGGCCTTAAACCTGGAC	59.9
CAT RTF PRIMER	ATCGGAGGAACGAATCACAG	60.0
CAT RTR PRIMER	GGGCTGCAAAGGTATGATGT	59.9
APX RTF PRIMER	GATGATGCTGGAACATACG	54.1
APX RTR PRIMER	AAAGTCAACAGTAGGCCAC	55.0
GR RTF PRIMER	GATGGGTTCCACTGTGAATC	53.3
GR RTR PRIMER	GGTTCGAGAATACTCGTCAAC	55.2

#### 3.4.5. Kantitatif gerçek zamanlı PZR

Ters transkripsiyon PZR ile elde edilen cDNA örnekleri kantitatif gerçek zamanlı PZR için kalıp olarak kullanılmıştır. Kantitatif gerçek zamanlı PZR, Promega (Madison, USA) firmasına ait The GoTaq 1-Step qRT-PCR System (Katalog No: A6020) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kantitatif gerçek zamanlı PZR için gerekli malzemeler

kitin kullanım kılavuzunda belirtildiği şekilde ilave edilerek PZR cihazı (Agilent) ile gerçekleştirilmiştir. Kantitatif gerçek zamanlı PZR reaksiyonları, her bir cDNA örneği için, hem aspir SOD, CAT, APX, GR enzim genine hem de normalizör gen olan GAPDH genine ait özgül primerler kullanılarak 3'er tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Kantitatif gerçek zamanlı PZR'da kullanılan komponentler.

<b>Bileşenler</b>	<b>Miktar</b>
cDNA kalıp	1 µl
Primer F	1 µl
Primer R	1 µl
DEPC'li su	4,5 µl
GreenStar qPCR PreMix	7,5 µl
<b>Total Hacim</b>	<b>15 µl</b>

**Çizelge 3.8.** Kantitatif gerçek zamanlı PZR protokolü.

95 °C	2 dk	
95 °C	15 sn	40 döngü
50-60 °C	1 dk	
95 °C	30 sn	
65 °C	30 sn	
95 °C	30 sn	

### 3.5. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Kontrol grupları ve farklı konsantrasyonlarda borik asite maruz bırakılan aspir çeşitleri ile yapılan tüm deneylerin sonuçları tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) analizi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (SPSS 21.0). Sonuçlar 3 bağımsız tekrarın ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Standart sapmaları çizelgelerde “±” işareti ile, önemli değerler ise grafiklerde “\*” işareti ile gösterilmiştir.

## 4. BULGULAR

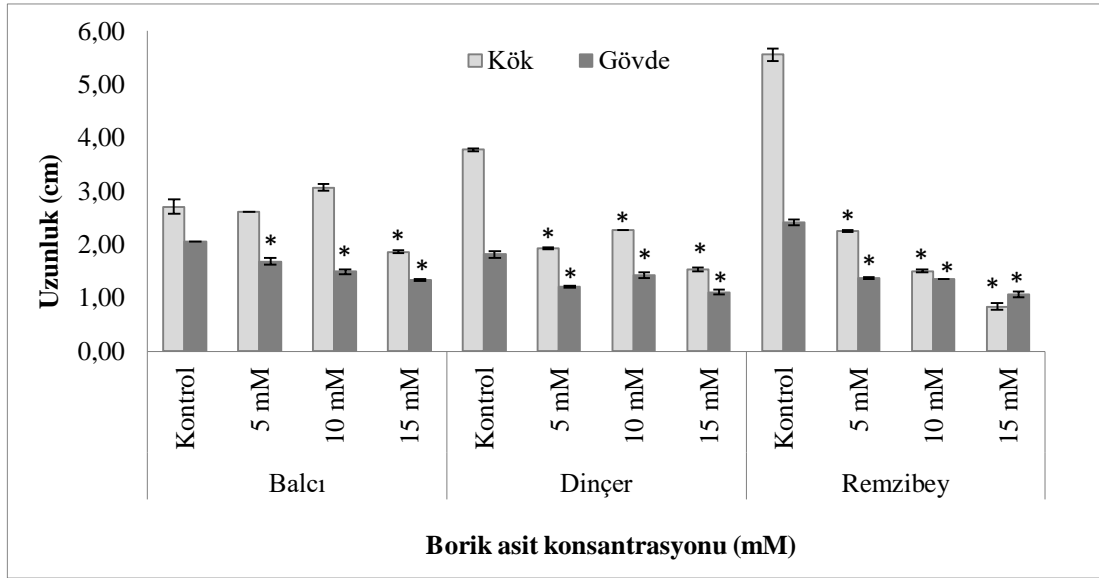
### 4.1. Petri Deneylerine Ait Bulgular

Farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanan tohumların % çimlenme miktarları karşılaştırıldığında tüm çeşitlerde konsantrasyon artışına bağlı olarak çimlenen tohum sayısında azalma olduğu tespit edilmiştir. Balcı çeşidinde en yüksek çimlenme kontrol grubunda (%88) görülürken en düşük çimlenme 15 mM'da gözlenmiştir (%78). Dinçer çeşidinde kontrol grubu, 5 ve 10 mM'da %98 olan çimlenme oranı 15 mM'da azalmıştır (%87). Remzibey çeşidinde ise borik asit konsantrasyonu arttıkça çimlenme yüzdesinde kontrol grubuna göre azalma görülürken, en düşük % çimlenme %75 ile 10 mM ve 15 mM konsantrasyonlarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait tohum çimlenme yüzdeleri.

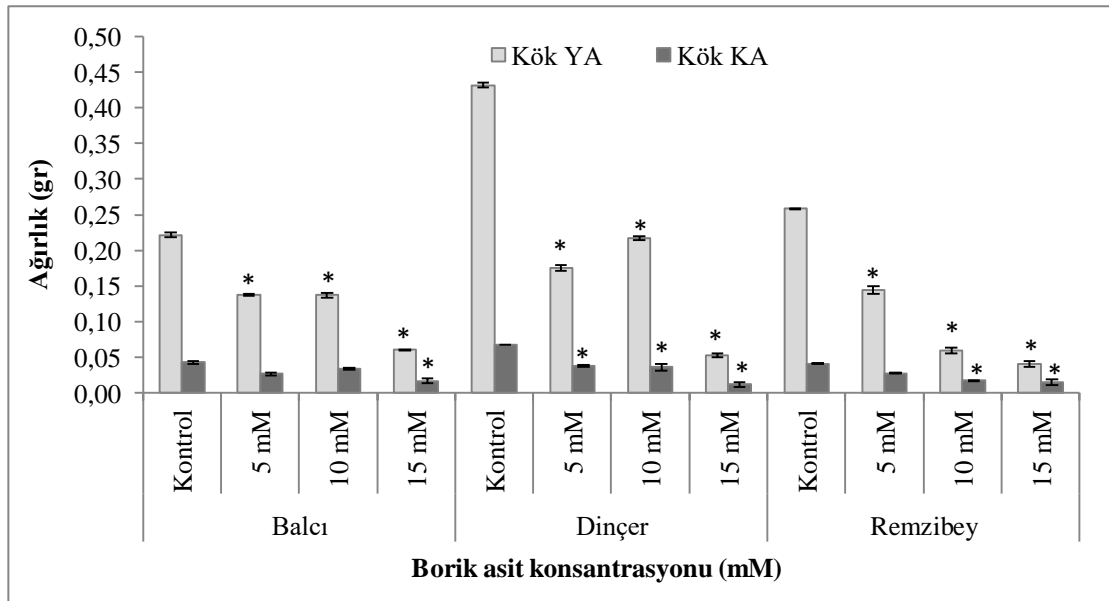
Uygulama	Çimlenme (%)		
	Balcı	Dinçer	Remzibey
Kontrol	88 ±2,9	98 ±2,9	92 ±2,9
5 mM	87 ±2,9	98 ±2,9	87 ±2,9
10 mM	85 ±5,0	98 ±2,9	75 ±5,0
15 mM	78 ±2,9	87 ±2,9	75 ±5,0

Çeşitler ve konsantrasyonlar dikkate alınarak kök uzunlukları karşılaştırıldığında en yüksek (5,56 cm) ve en düşük (0,84 cm) kök uzunluğunun Remzibey çeşidine ait olduğu görülmüştür. Konsantrasyonlar karşılaştırıldığında en yüksek kök uzunluğunun (3,07 cm) 10 mM'lık borik asitte Balcı çeşidinde olduğu tespit edilmiştir. Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde ise kök uzunluğu tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Balcı ve Remzibey çeşidinde gövde uzunluğu borik asit konsantrasyonu arttıkça kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Dinçer çeşidinde ise tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre azalma gözlenirken, 10 mM borik asit konsantrasyonunda 5 ve 15 mM' a göre artış gözlenmiştir (Şekil 4.1).



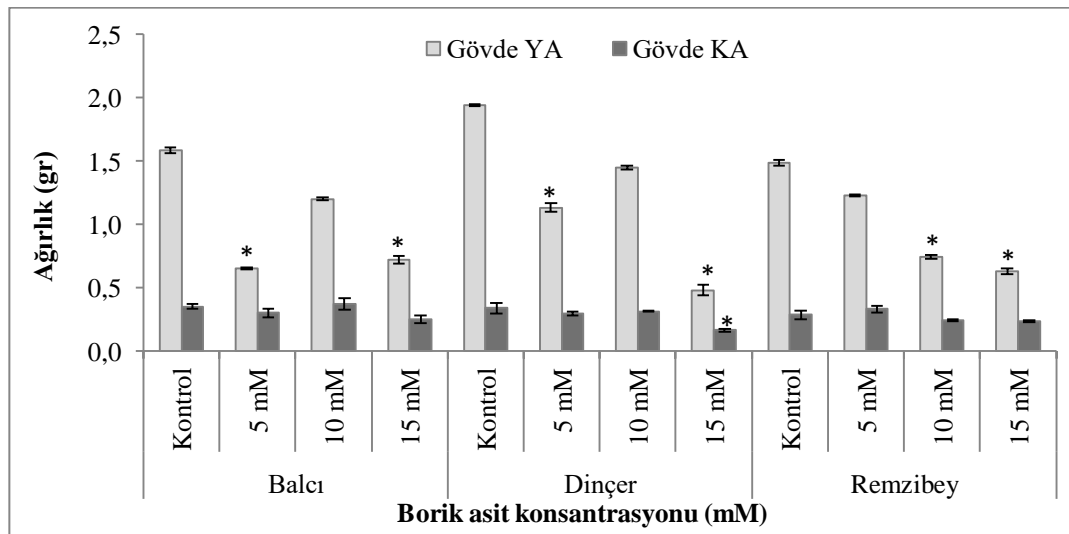
**Şekil 4.1.** Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait kök ve gövde uzunlukları (\* p<0,05; Ek-1).

Aspir çeşitlerinde kök/gövde yaş ve kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında konsantrasyon artışına bağlı olarak değişiklikler meydana geldiği tespit edilmiştir. En yüksek kök yaş ve kuru ağırlıklar Dinçer çeşidi kontrol grubunda (0,43 gr; 0,07 gr), en düşük kök yaş ve kuru ağırlıklar ise Remzibey çeşidi 15 mM'da (0,04 gr; 0,01 gr) belirlenmiştir. Balcı ve Remzibey çeşitlerinin kök yaş ağırlığında, borik asit konsantrasyonu arttıkça kontrol grubuna göre azalma tespit edilmiştir. Dinçer çeşidinde kontrol grubuna göre tüm konsantrasyonlarda azalma gözlenirken, 10 mM borik asit uygulamasında 5 ve 15 mM' a göre artış belirlenmiştir. Balcı çeşidinin kök kuru ağırlığı, borik asit konsantrasyonu arttıkça kontrol grubuna göre azalma gösterirken, 10 mM borik asit uygulamasında 5 ve 15 mM' a göre artış göstermiştir. Dinçer ve Remzibey çeşidinde ise borik asit konsantrasyonu arttıkça kök kuru ağırlıklarında kontrol grubuna göre azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



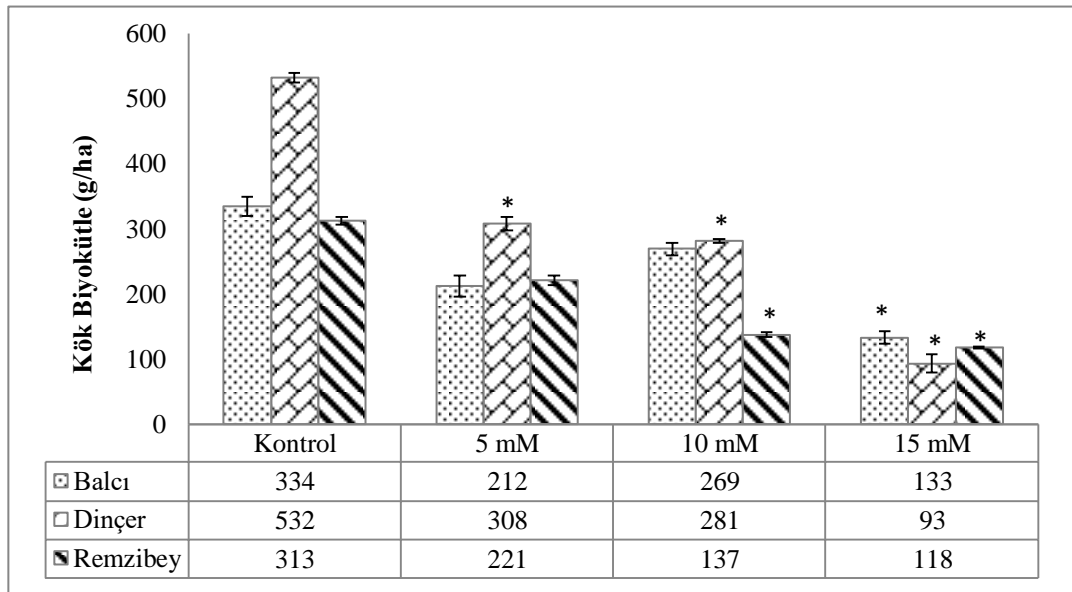
**Şekil 4.2.** Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait kök yaş ve kuru ağırlıkları (YA: Yaş Ağırlık, KA: Kuru Ağırlık) (\* p<0,05; Ek-1).

Borik asit uygulamasında gövde yaş ağırlıkları tüm aspir çeşitlerinde konsantrasyon arttıkça azalma göstermiştir. Fakat Balcı ve Dinçer çeşitlerinde 10 mM borik asit uygulamasında 5 ve 15 mM'a göre artış görülmüştür. Gövde kuru ağırlığı Balcı çeşidinde 5 ve 15 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre azalırken, 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Dinçer çeşidinde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre azalma görülürken, 10 mM borik asit uygulamasında 5 ve 15 mM' a göre artış olduğu tespit edilmiştir. Remzibey çeşidinde 5 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre gövde kuru ağırlığının arttığı, 10 ve 15 mM borik asit uygulamasında ise kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir. En yüksek gövde yaş ağırlığı Dinçer çeşidinin kontrol grubunda (1,94 gr), en düşük gövde yaş ağırlığı Dinçer çeşidinin 15 mM'lık borik asit konsantrasyonunda (0,48 gr) tespit edilmiştir. En yüksek gövde kuru ağırlığı Balcı çeşidinin 10 mM konsantrasyonunda (0,38 gr), en düşük gövde kuru ağırlığı ise Dinçer çeşidinin 15 mM borik asit konsantrasyonunda (0,16 gr) görülmüştür (Şekil 4.3).



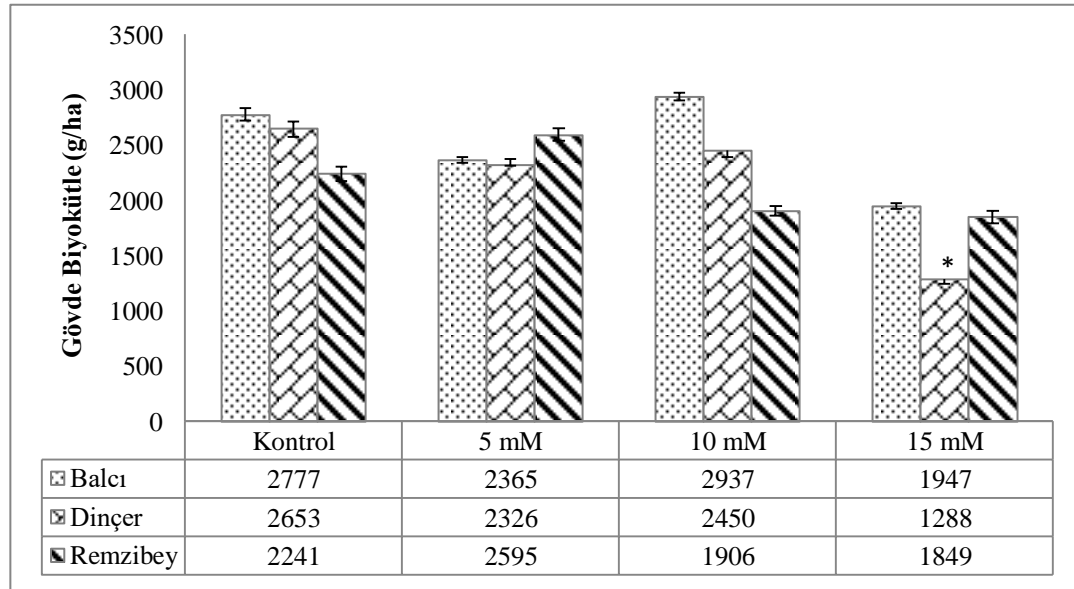
**Şekil 4.3.** Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait gövde yaş ve kuru ağırlıkları (YA: Yaş Ağırlık, KA: Kuru Ağırlık) (\* p<0,05; Ek-1).

Borik asit uygulanan bitkilerin biyokütleleri hesaplandığında en yüksek kök biyokütlesinin Diñer çeşidi kontrol grubunda (532 g/ha) olduğu, en düşük kök biyokütlesinin Diñer çeşidi 15 mM borik asit konsantrasyonunda (93 g/ha) olduğu belirlenmiştir. Balcı çeşidinde konsantrasyon artışına bağlı olarak kontrol grubuna göre kök biyokütlesinde azalma olduğu, 10 mM borik asit uygulamasında ise 5 ve 15 mM'lık uygulamaya göre artış olduğu tespit edilmiştir. Diñer ve Remzibey çeşidinde ise tüm konsantrasyonlarda kök biyokütlesinde kontrol grubuna göre azalma olduğu hesaplamalar sonucu belirlenmiştir (Şekil 4.4).



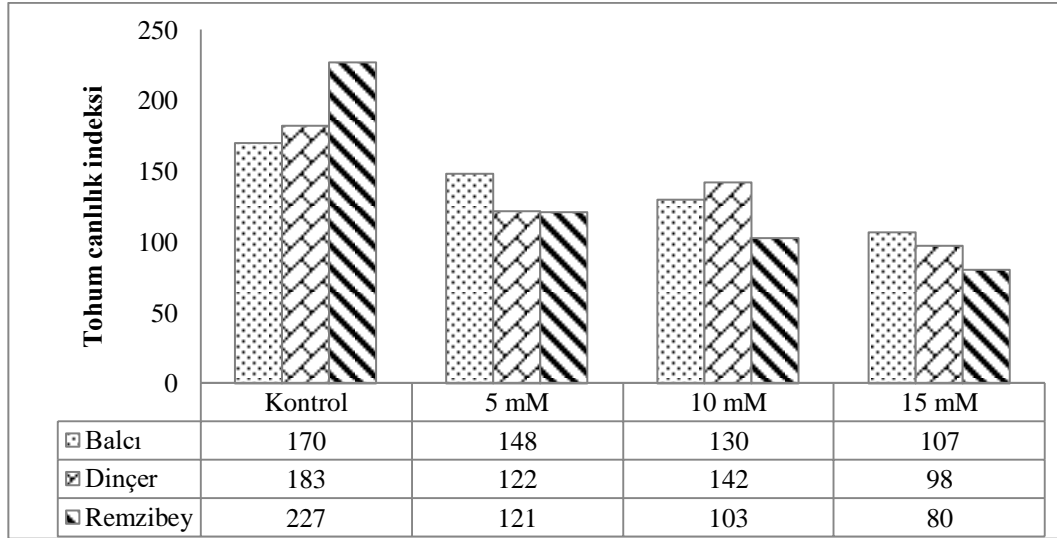
**Şekil 4.4.** Borik asit uygulamasının aspen çeşitlerine ait kök biyokütlesi üzerine etkisi (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).

Balcı çeşidinin gövde biyokütlesi 5 mM ve 15 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre azalırken, 10 mM borik asit uygulamasının kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Dinçer çeşidinde tüm borik asit konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre azalma olduğu, 10 mM borik asit uygulamasında gövde biyokütlesinin 5 ve 15 mM'a göre arttığı tespit edilmiştir. Remzibey çeşidinde ise 5 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış tespit edilirken, 10 ve 15 mM' da azalma olduğu belirlenmiştir. En yüksek gövde biyokütlesinin Balcı çeşidi 10 mM borik asit konsantrasyonunda (2937 g/ha) olduğu, en düşük gövde biyokütlesinin Dinçer çeşidi 15 mM borik asit konsantrasyonunda (1288 g/ha) olduğu görülmüştür (Şekil 4.5).



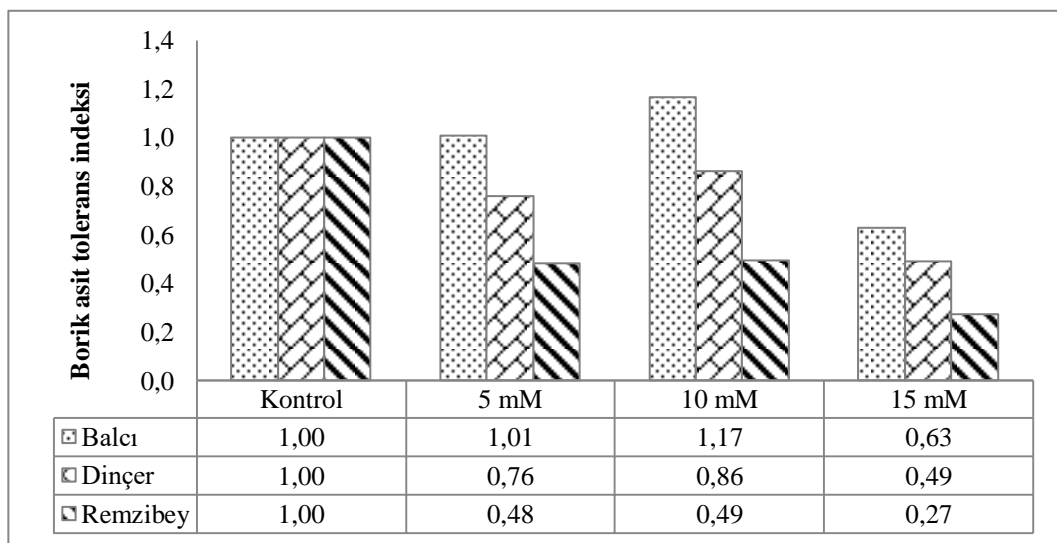
**Şekil 4.5.** Borik asit uygulamasının aspen çeşitlerine ait gövde biyokütlesi üzerine etkisi (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).

Tohum canlılık indeksi Balcı, Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde, borik asit konsantrasyonu arttıkça kontrol grubuna göre azalma göstermektedir. Fakat Dinçer çeşidinde 10 mM borik asit uygulamasında 5 ve 15 mM' a göre artış tespit edilmiştir. En yüksek ve en düşük tohum canlılık indeksinin Remzibey çeşidinde sırasıyla kontrol grubu ve 15 mM borik asitte (227; 80) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6.** Borik asit uygulamasının aspir çeşitlerine ait tohum canlılık indeksi üzerine etkisi.

Aspir çeşitlerinin borik asit tolerans indeksleri hesaplandığında en yüksek borik asit tolerans kabiliyeti (1,17) Balcı çeşidi 10 mM borik asit uygulamasında, en düşük borik asit toleransı (0,27) ise Remzibey çeşidi 15 mM borik asit uygulamasında belirlenmiştir. Balcı çeşidinin 10 mM'lık borik asit konsantrasyonunda belirlenen tolerans indeksinin (1,17) kontrol grubuna göre (1) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Konsantrasyonlar karşılaştırıldığında tüm çeşitlerin 10 mM borik asit uygulamasında tolerans indeksinin en yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7).

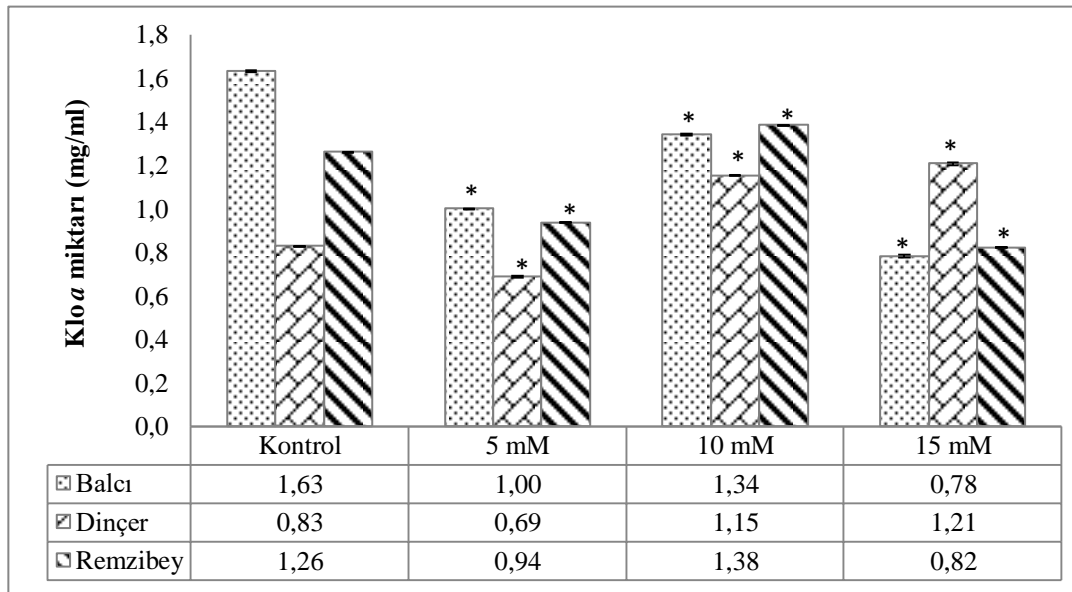


**Şekil 4.7.** Aspir çeşitlerinde konsantrasyonlara bağlı borik asit tolerans indeksleri.

## 4.2. Viyol Deneylelerine Ait Bulgular

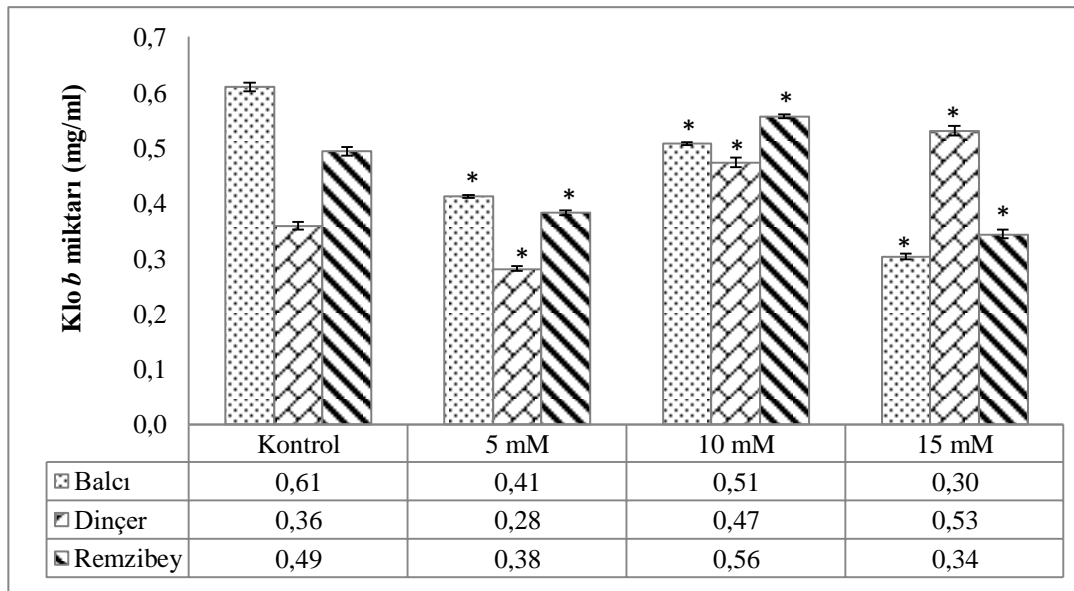
### 4.2.1. Klorofil *a*, *b* ve toplam klorofil (*a+b*) sonuçları

Farklı konsantrasyonlardaki borik asit uygulanan üç aspir çeşidinde tespit edilen klorofil *a* miktarları şekil 4.8’ de gösterilmiştir. En yüksek klorofil *a* miktarının Balcı çeşidi kontrol grubunda (1,63 mg/ml), en düşük klorofil *a* miktarının ise Dinçer çeşidi 5 mM borik asitte (0,69 mg/ml) olduğu görülmüştür. Balcı çeşidinde konsantrasyonlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında konsantrasyon arttıkça klorofil *a* miktarında azalma tespit edilmiştir. 10 mM’da, 5 ve 15 mM’a göre klorofil *a* miktarı artmıştır. Dinçer çeşidinde 5 mM borik asit uygulamasında kontrole göre klorofil *a* miktarı azalırken, 10 mM ve 15 mM’ da kontrole göre artış olduğu belirlenmiştir. Remzibey çeşidinde ise 5 ve 15 mM borik asit konsantrasyonunda klorofil *a* miktarında kontrol grubuna göre azalma tespit edilirken, 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8).



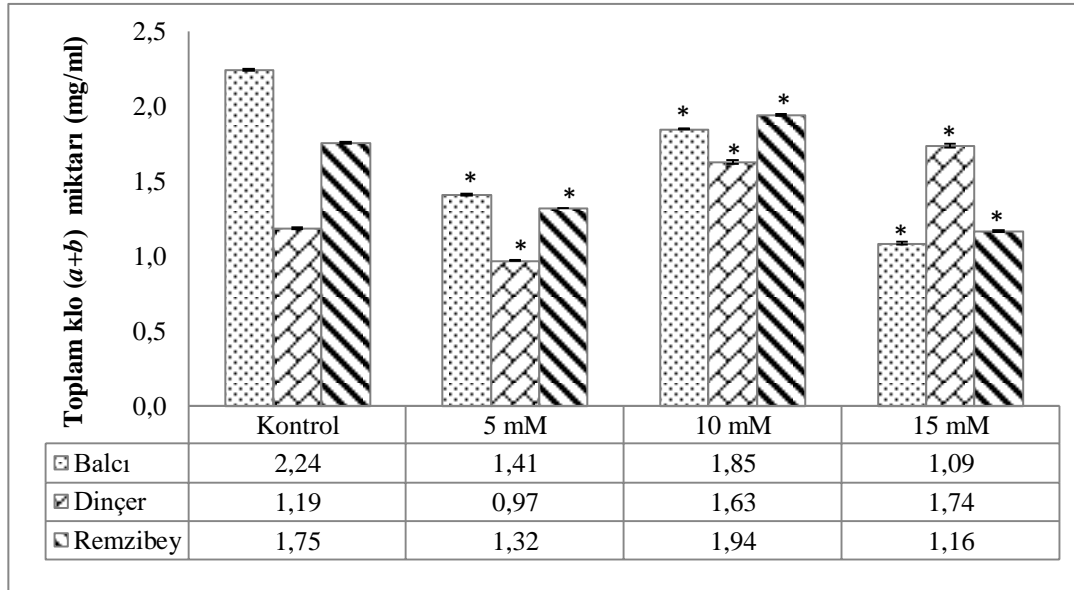
Şekil 4.8. Borik asit uygulanan aspir çeşitlerinde klorofil *a* miktarları (\* p<0,05; Ek-1).

Artan borik asit konsantrasyonlarına bağılı olarak çeşitlerin klorofil *b* miktarı incelendiğinde klorofil *a*'ya benzer sonuçlar elde edilmiştir. En yüksek klorofil *b* miktarının Balcı çeşidi kontrol grubunda (0,61 mg/ml), en düşük klorofil *b* miktarının ise Dinçer çeşidi 5 mM borik asitte (0,28 mg/ml) olduğu görülmüştür. Balcı çeşidinde konsantrasyonlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, konsantrasyon arttıkça klorofil *b* miktarında azalma tespit edilmiştir. 10 mM'da, 5 ve 15 mM a göre klorofil *b* miktarı artmıştır. Dinçer çeşidinde 5 mM borik asit uygulamasında kontrole göre klorofil *b* miktarı azalırken, 10 mM ve 15 mM' da kontrole göre artış olduğu belirlenmiştir. Remzibey çeşidinde ise 5 ve 15 mM borik asit konsantrasyonunda klorofil *b* miktarında kontrol grubuna göre azalma tespit edilirken, 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış belirlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Borik asit uygulanan aspir çeşitlerinde klorofil *b* miktarları (\* p<0,05; Ek-1).

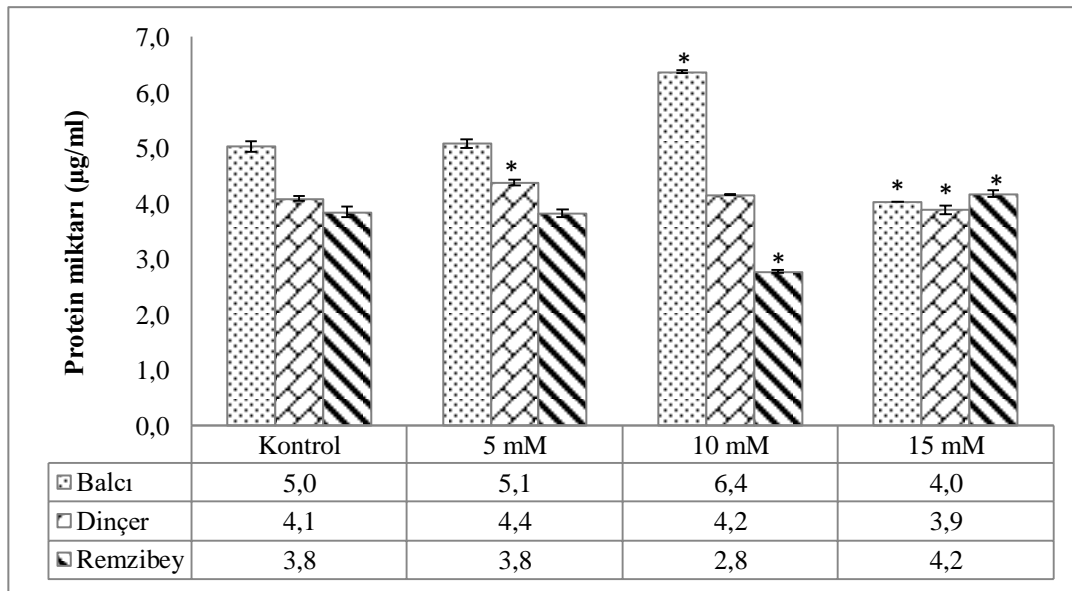
Borik asit uygulanan üç aspir çeşidine ait toplam klorofil ( $a+b$ ) miktarı şekil 4.10'da gösterilmiştir. Elde edilen sonuçların klorofil  $a$  ve klorofil  $b$  ile benzer olduğu belirlenmiştir. Yine en yüksek toplam klorofil ( $a+b$ ) miktarının Balcı çeşidi kontrol grubunda (2,24 mg/ml), en düşük toplam klorofil ( $a+b$ ) miktarının ise Dinçer çeşidi 5 mM borik asitte (0,97 mg/ml) olduğu görülmüştür.



**Şekil 4.10.** Borik asit uygulanan aspir çeşitlerinde toplam klorofil ( $a+b$ ) miktarı (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).

#### 4.2.2. Protein miktarı

Farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanan aspir çeşitlerinin protein miktarları belirlenmiş, çeşitler ve konsantrasyonlar kendi aralarında karşılaştırıldığında protein miktarlarında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Balcı ve Dinçer çeşidinde kontrol grubuna göre 5 ve 10 mM borik asit uygulamasında protein miktarı artarken, 15 mM' da kontrol grubuna göre azalma olduğu belirlenmiştir. Remzibey çeşidinde ise 5 ve 10 mM borik asit uygulamasında protein miktarı kontrol grubuna göre azalma göstermiş, 15 mM borik asit uygulamasında protein miktarı kontrol grubuna göre artmıştır. En yüksek protein miktarının, Balcı 10 mM borik asit konsantrasyonunda (6,4  $\mu\text{g/ml}$ ), en düşük protein miktarının ise Remzibey 10 mM borik asit konsantrasyonunda (2,8  $\mu\text{g/ml}$ ) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11).

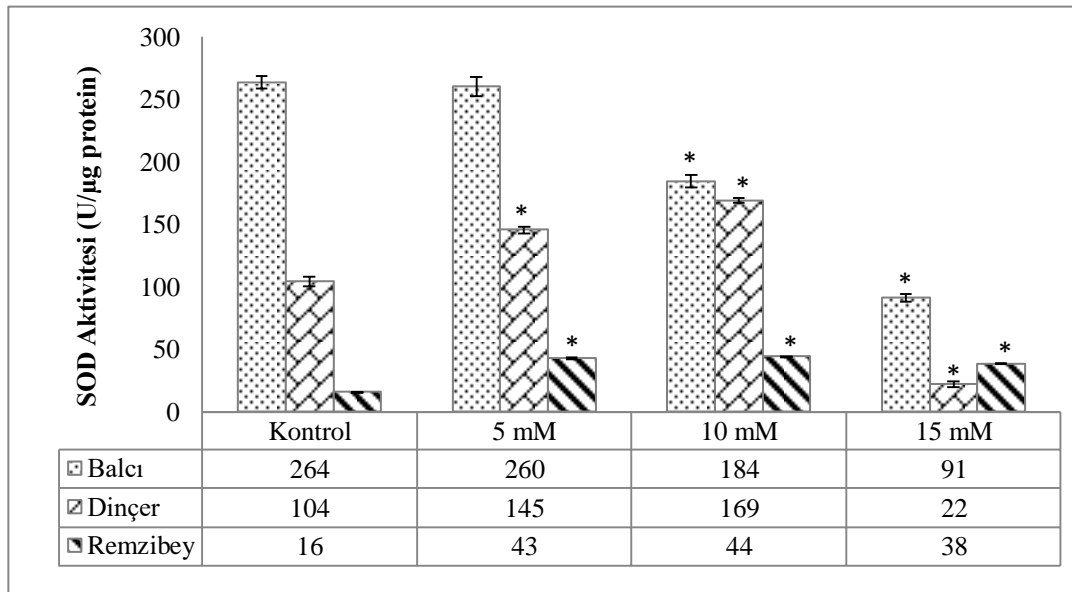


**Şekil 4.11.** Aspir çeşitlerinin borik asit konsantrasyonlarına bağlı olarak değişen protein miktarları (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).

### 4.2.3. Antioksidan enzim aktivitelere ait sonuçlar

#### 4.2.3.1. Örneklerin yaprak dokusuna ait toplam SOD aktiviteleri

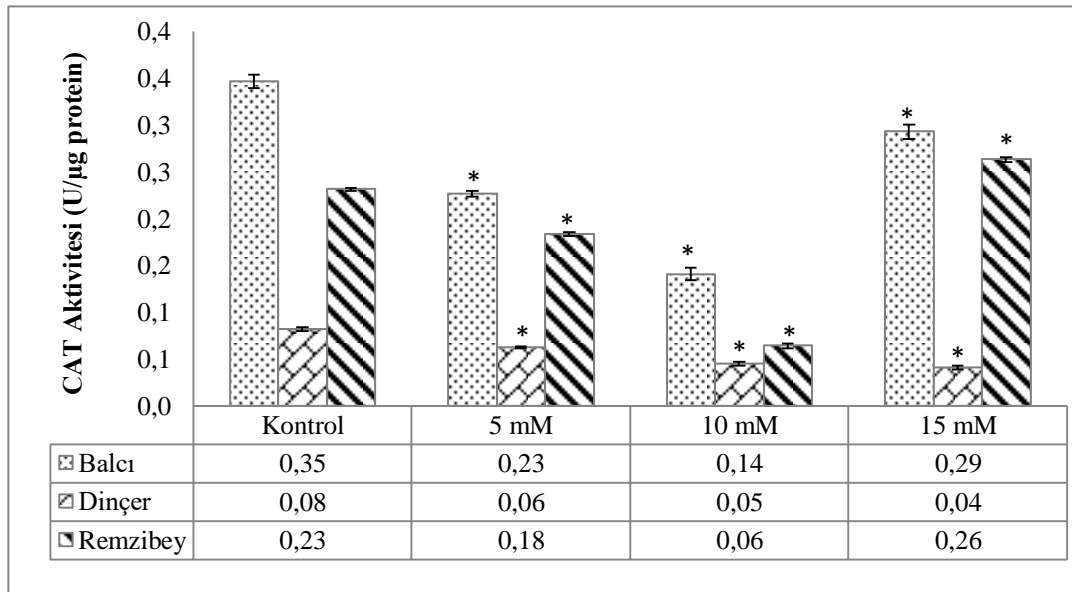
Çeşitlerin SOD aktiviteleri karşılaştırıldığında Balcı çeşidinde artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesi azalırken, Dinçer ve Remzibey çeşidinde ise borik asit konsantrasyonu ile SOD aktivitesinin de arttığı belirlenmiştir. Ayrıca Dinçer çeşidinde 15 mM borik asit konsantrasyonundaki SOD aktivitesi kontrol grubuna göre azalmıştır. Balcı çeşidinde en yüksek SOD enzim aktivitesi kontrol grubunda (264 U/μg protein) görülürken, Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde en yüksek SOD aktivitesi 10 mM borik asit uygulamasında (169 U/μg protein; 44 U/μg protein) gözlenmiştir. Çeşitler ve konsantrasyonlar karşılaştırıldığında en yüksek SOD aktivitesinin Balcı çeşidi kontrol grubunda (264 U/μg protein), en düşük SOD aktivitesinin ise Remzibey çeşidi kontrol grubunda (16 U/μg protein) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12).



**Şekil 4.12.** Borik asit uygulanan asfir çeşitlerine ait yaprak dokusundaki toplam SOD aktivitesi (\* p<0,05; Ek-1).

#### 4.2.3.2. Örneklerin yaprak dokusuna ait toplam CAT aktiviteleri

Borik asit konsantrasyonları karşılaştırıldığında Dinçer çeşidinde CAT aktivitesinin konsantrasyon artışına bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Balcı ve Remzibey çeşitlerinde kontrol grubu ile diğer konsantrasyonlar karşılaştırıldığında bütün konsantrasyonlardaki CAT aktivitesinin kontrole göre düşük olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çeşitlerde kontrol grubu dışındaki konsantrasyonlar karşılaştırıldığında 5 ve 10 mM’da CAT aktivitesinin azaldığı, 15 mM’da ise arttığı belirlenmiştir. En yüksek CAT aktivitesinin Balcı çeşidi kontrol grubunda (0,35 U/μg protein), en düşük CAT aktivitesinin Dinçer çeşidi 15 mM borik asit konsantrasyonunda (0,04 U/μg protein) olduğu tespit edilmiştir. Çeşitler arasında borik asit uygulamasından CAT aktivitesi bakımından en az etkilenen Dinçer çeşidi, en fazla etkilenen ise Balcı çeşididir (Şekil 4.13).

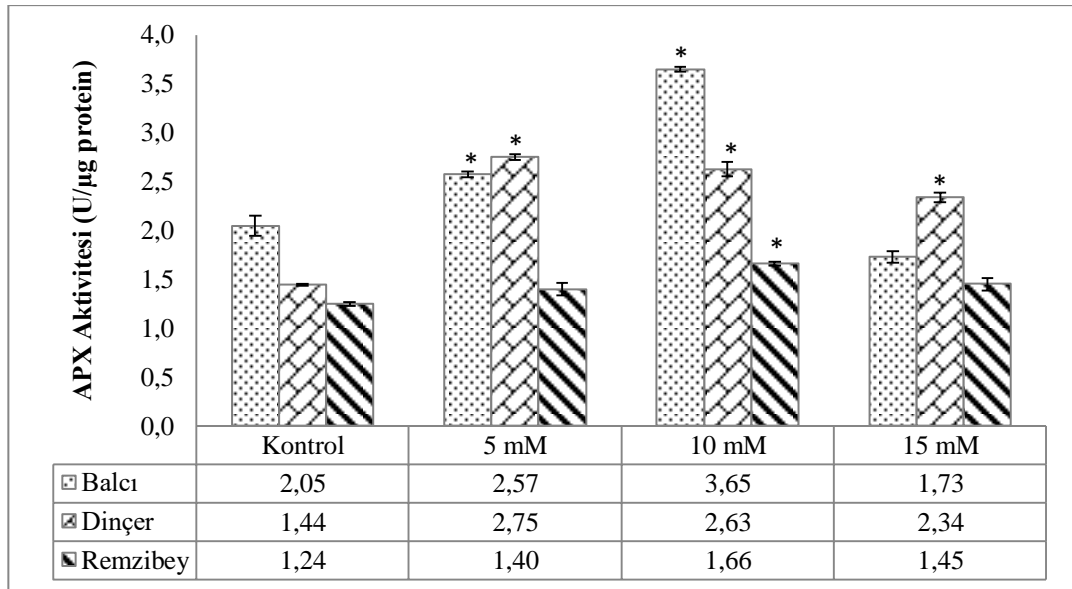


**Şekil 4.13.** Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait yaprak dokusundaki toplam CAT aktivitesi (\* p<0,05; Ek-1).

#### 4.2.3.3. Örneklerin yaprak dokusuna ait toplam APX aktiviteleri

Borik asit konsantrasyonları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde 5, 10 ve 15 mM borik asit uygulamasında; Balcı çeşidinde 5 ve 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Balcı çeşidinde 15 mM'da kontrol grubuna göre APX aktivitesinde bir azalma mevcuttur. En yüksek APX aktivitesinin Balcı çeşidi 10 mM borik asit konsantrasyonunda (3,65 U/ $\mu$ g protein), en düşük APX aktivitesinin ise Remzibey kontrol grubunda (1,24 U/ $\mu$ g protein) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14).

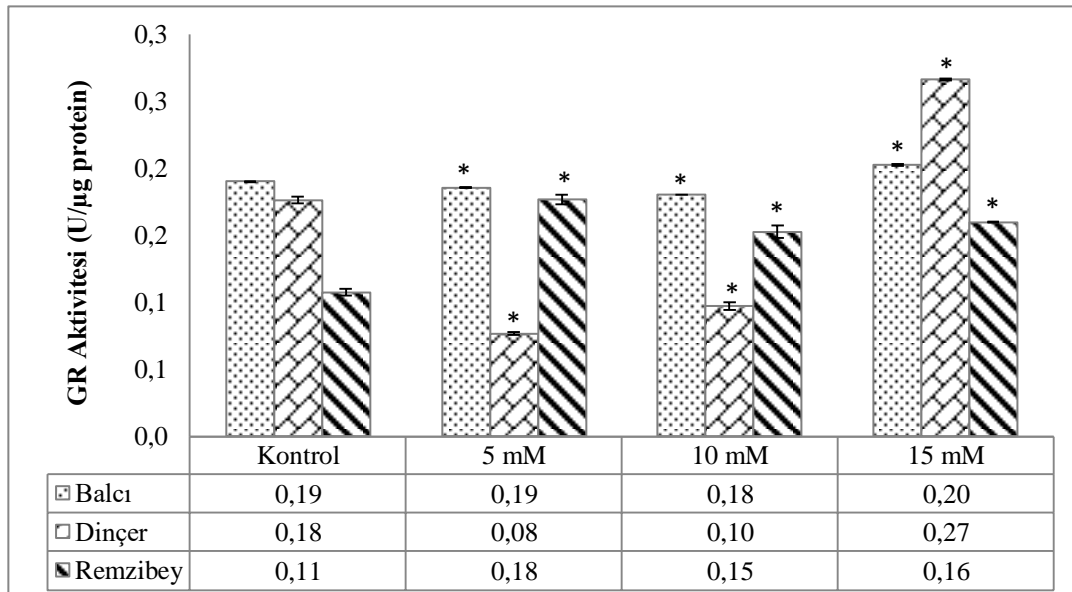
Çeşitler arasında borik asit konsantrasyonu arttıkça APX aktivitesinde artış en fazla Balcı'da tespit edilmiştir. Borik asit uygulamasından APX aktivitesi bakımından en az etkilenen çeşit ise Remzibey'dir. Ayrıca Balcı ve Remzibey çeşitlerinde kontrole göre APX enzim aktivitesinde en fazla artış 10 mM borik asit uygulamasında; Dinçer çeşidinde 5 mM'da meydana gelmiştir (Şekil 4.14).



**Şekil 4.14.** Borik asit uygulanan aspir çeşitlerine ait yaprak dokusundaki toplam APX aktivitesi (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).

#### 4.2.3.4.Örneklerin yaprak dokusuna ait toplam GR aktiviteleri

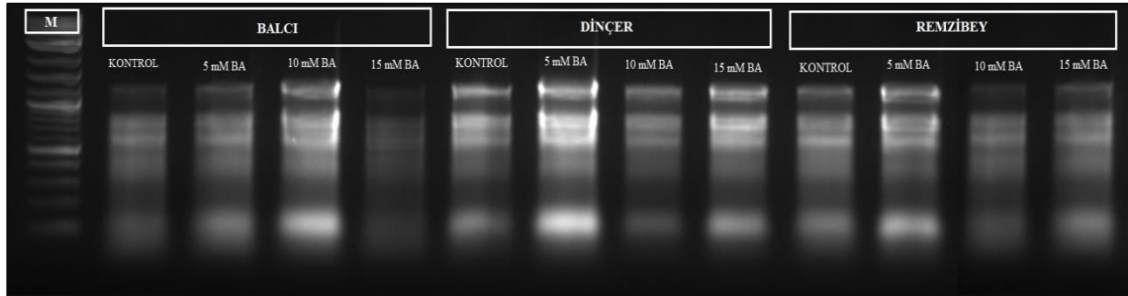
Borik asit konsantrasyonları karşılaştırıldığında Balcı çeşidinin GR aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmadığı ve konsantrasyon artışından etkilenmediği tespit edilmiştir. Dinçer çeşidinde artan borik asit konsantrasyonları karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre 5 ve 10 mM'da GR aktivitesinde azalma, 15 mM'da ise artış olduğu tespit edilmiştir. Remzibey çeşidinde ise tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre GR aktivitesinde artış belirlenmiştir. Çeşitler arasında en fazla GR enzim aktivitesi artışı Balcı ve Dinçer çeşidinde 15 mM borik asit konsantrasyonunda, Remzibey çeşidinde ise 5 mM borik asit konsantrasyonunda olmuştur. GR aktivitesinin en yüksek Dinçer çeşidi 15 mM borik asit konsantrasyonunda (0,27 U/μg protein), en düşük yine Dinçer çeşidi 5 mM borik asit konsantrasyonunda (0,08 U/μg protein) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Borik asit uygulanan aspen çeşitlerine ait yaprak dokusundaki toplam GR aktivitesi (\* p<0,05; Ek-1).

### 4.3. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Antioksidan Enzimlerin Gen İfadeleri Üzerine Etkisi

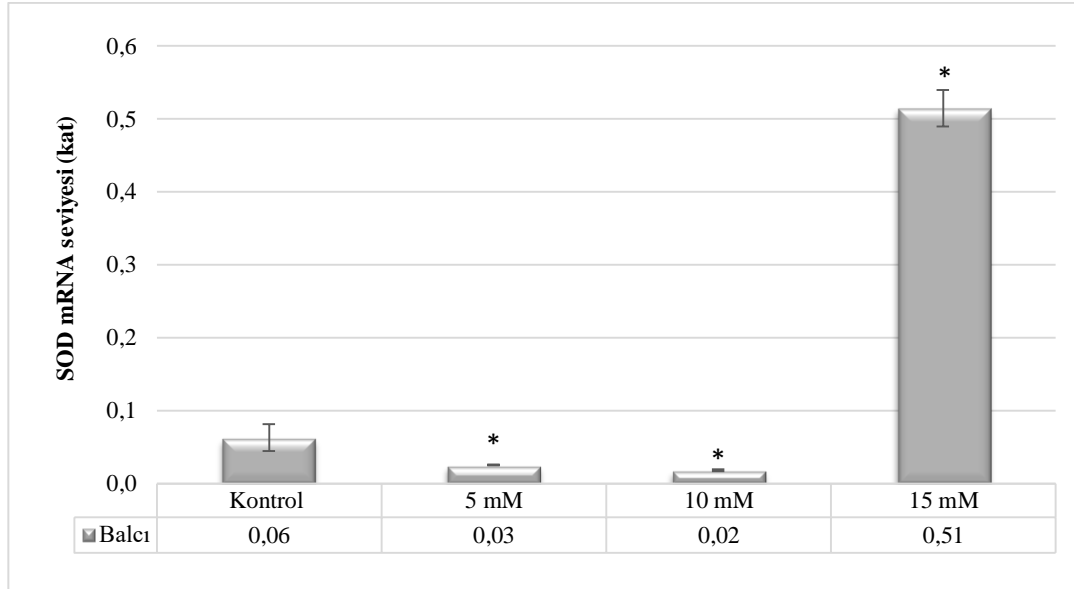
Antioksidan enzimlerin gen ifadelerindeki değişimler gene özel primerler kullanılarak kantitatif gerçek zamanlı PZR ile araştırılmıştır.



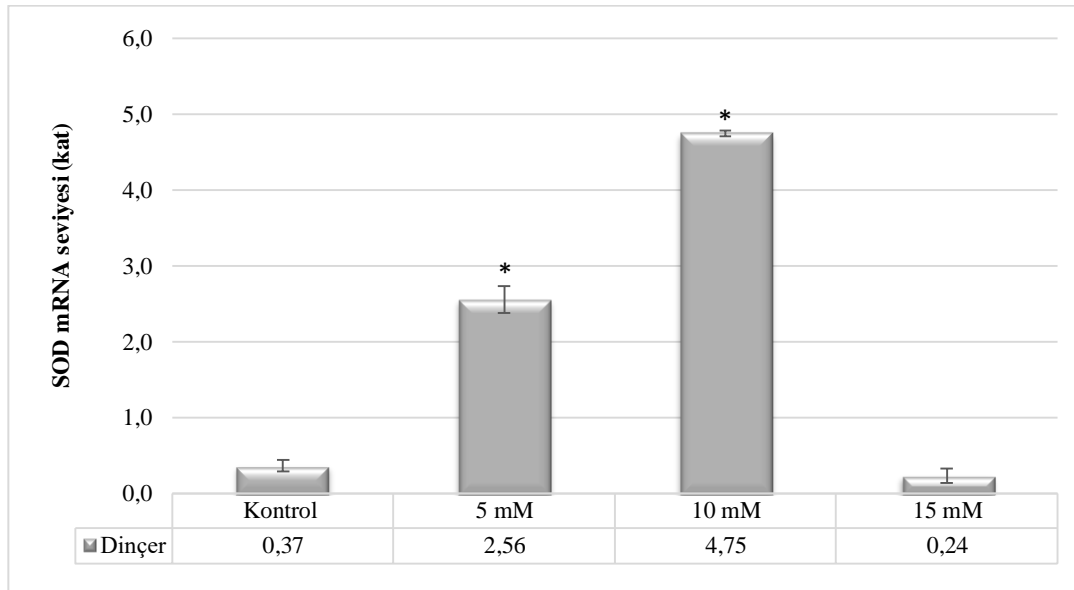
**Şekil 4.16.** Aspir çeşitlerinin yaprak dokularından izole edilen total RNA'nın agaroz jel elektroforezi görüntüsü (M: 0.1-10.0 kb DNA Ladder, BA: Borik asit).

#### 4.3.1. Aspir çeşitlerine ait yaprak örneklerinde SOD mRNA seviyesindeki değişim

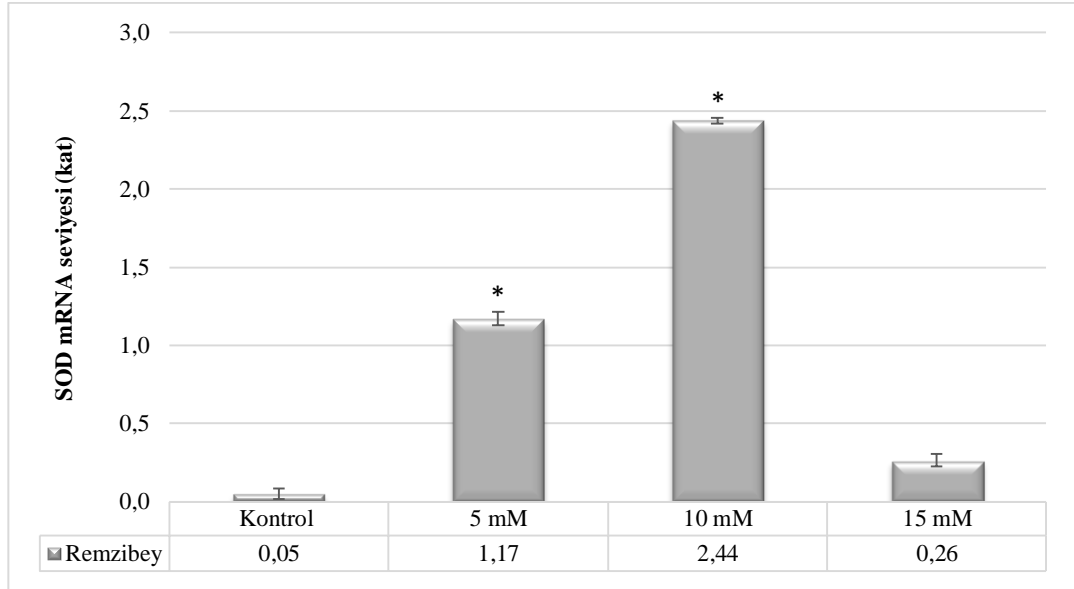
Borik asit uygulamasının aspir çeşitlerine ait SOD mRNA seviyeleri çeşitler arasında farklılık göstermektedir. En yüksek SOD mRNA seviyesi Dinçer 10 mM borik asit konsantrasyonunda (4,75 kat), en düşük SOD mRNA seviyesi ise Balçı 10 mM borik asit konsantrasyonunda (0,02 kat) belirlenmiştir. Balçı çeşidinde SOD mRNA seviyesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5 mM ve 10 mM borik asit uygulamasında SOD mRNA seviyesi azalırken, 15 mM'da ise artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.17). Dinçer çeşidinde 5 mM ve 10 mM borik asit uygulamasında SOD mRNA seviyesi kontrol grubuna göre artarken, 15 mM borik asit uygulamasında azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18). Remzibey çeşidinde ise SOD mRNA seviyesi tüm borik asit uygulamalarında kontrol grubuna göre artış gösterirken, 15 mM borik asit uygulamasında 5 ve 10 mM'a göre azalma göstermiştir (Şekil 4. 19).



**Şekil 4.17.** Balcı çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam SOD mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).



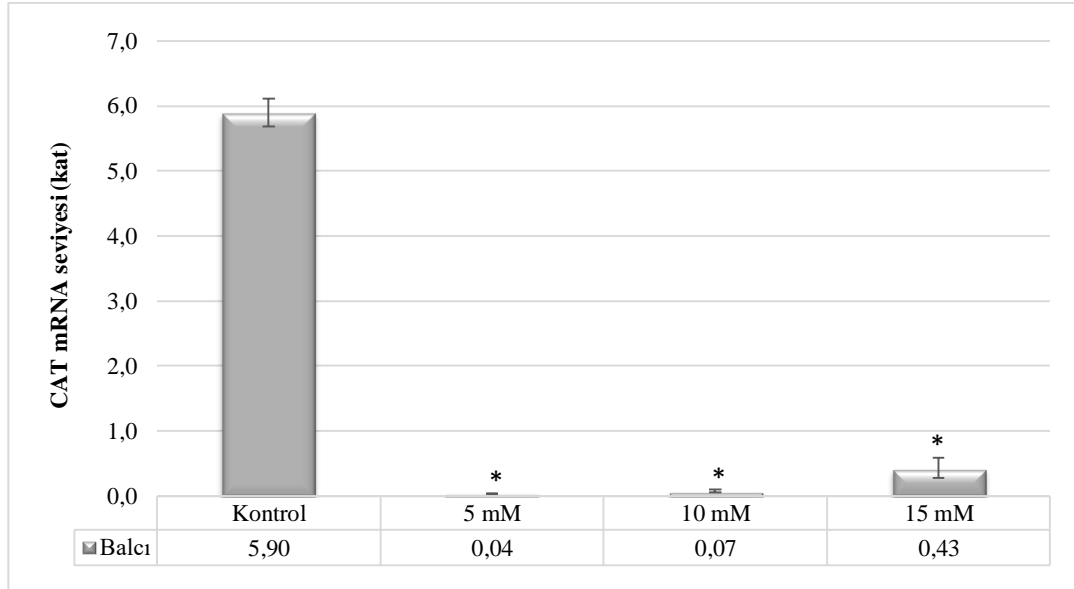
**Şekil 4.18.** Dinçer çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam SOD mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).



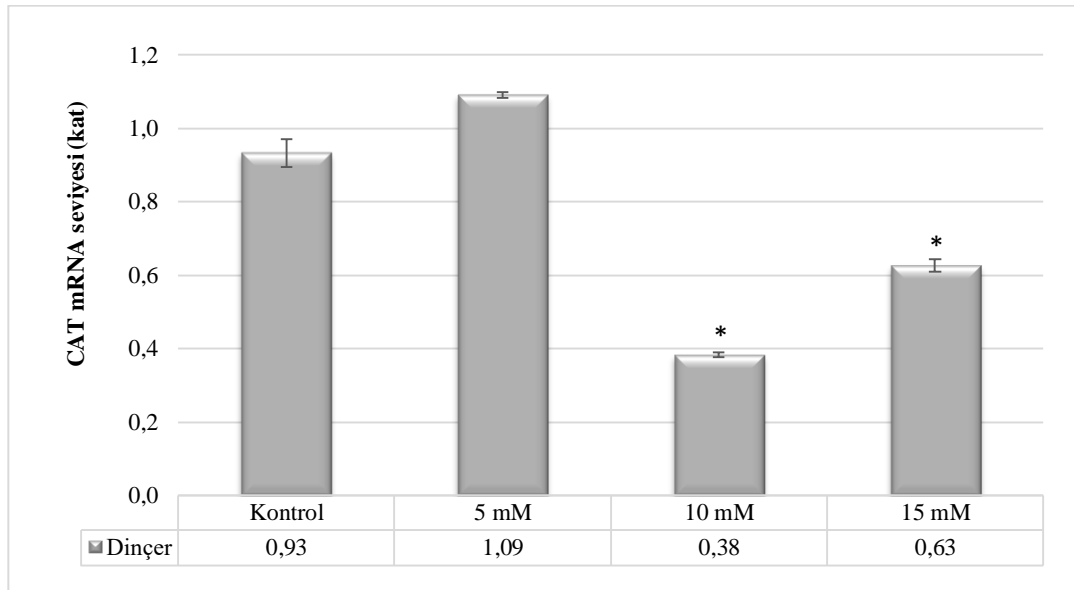
**Şekil 4.19.** Remzibey çeşidinin borik asit uygulanan yaprak örneklerine ait toplam SOD mRNA seviyeleri (\* p<0,05; Ek-1).

#### 4.3.2. Aspir çeşitlerine ait yaprak örneklerinde CAT mRNA seviyesindeki değişim

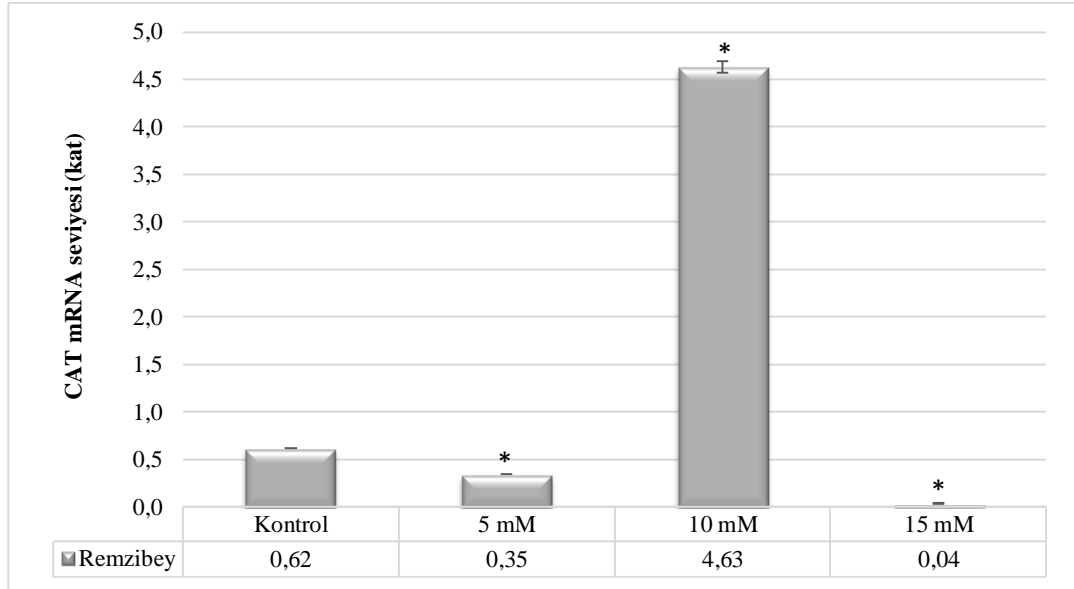
Tüm aspir çeşitlerinde CAT mRNA seviyesi bakımından en yüksek sonuç Balcı çeşidi kontrol grubunda (5,90 kat), en düşük sonuç ise Remzibey çeşidi 15 mM borik asit konsantrasyonunda (0,04 kat) elde edilmiştir. Balcı çeşidinde 5, 10 ve 15 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre CAT mRNA seviyesinde azalma olduğu; 15 mM borik asit uygulamasında 5 mM ve 10 mM' a göre CAT mRNA seviyesinin arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.20). Dinçer çeşidinde en yüksek CAT mRNA seviyesi 5 mM borik asit uygulamasında, en düşük CAT mRNA seviyesi ise 10 mM borik asit uygulamasında tespit edilmiştir (Şekil 4.21). Remzibey çeşidinde ise CAT mRNA seviyesi artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak 5 mM ve 15 mM borik asit uygulamasında azalma; 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış göstermiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.20. Balcı çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam CAT mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).



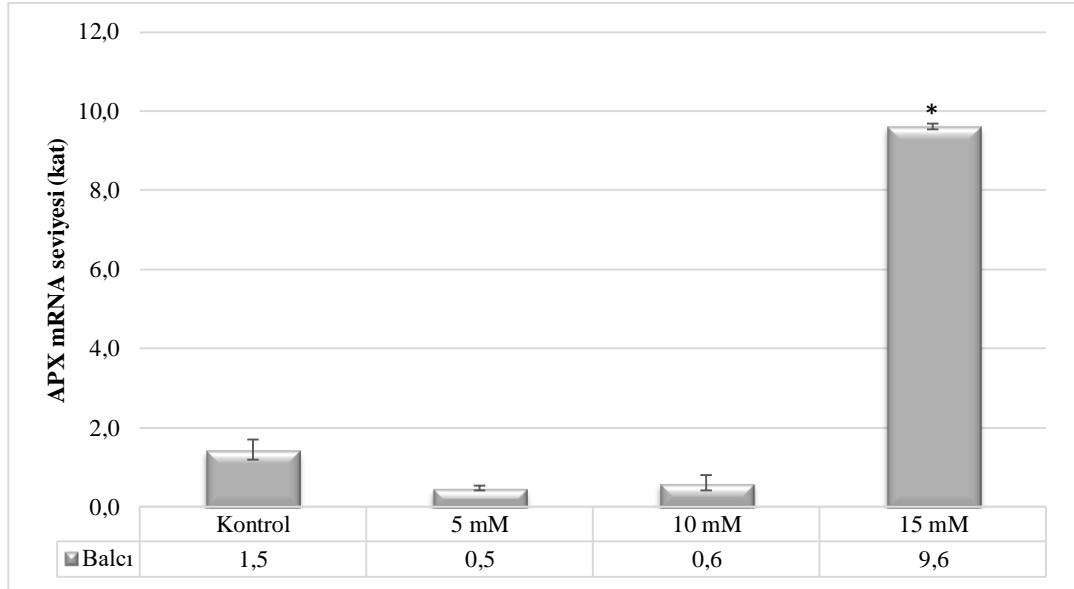
Şekil 4.21. Dinçer çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam CAT mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).



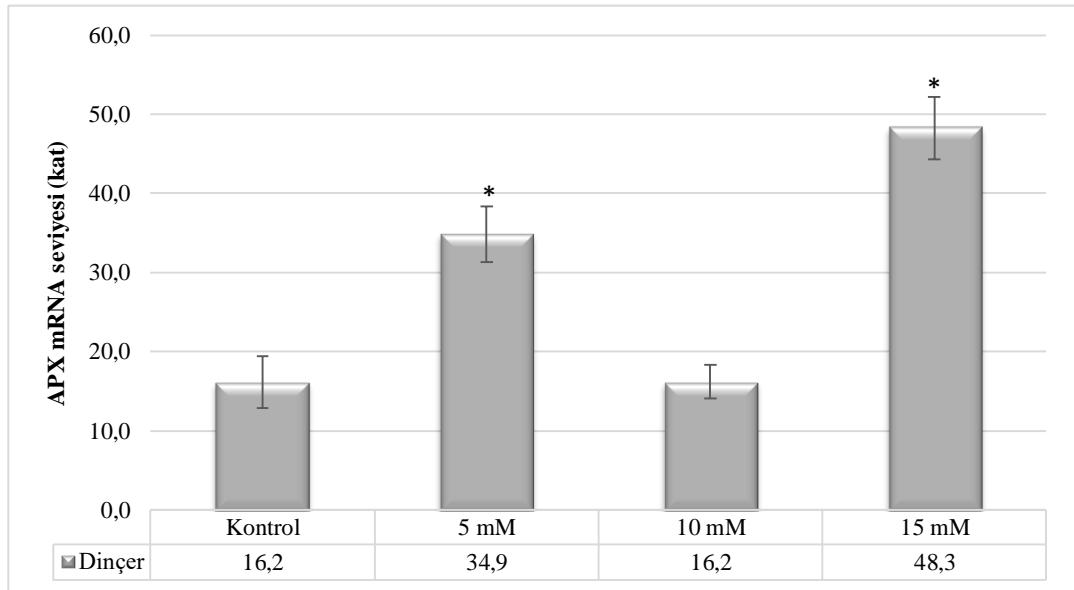
**Şekil 4.22.** Remzibey çeşidinin borik asit uygulanan yaprak örneklerine ait toplam CAT mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).

#### 4.3.3. Aspir çeşitlerine ait yaprak örneklerinde APX mRNA seviyesindeki değişim

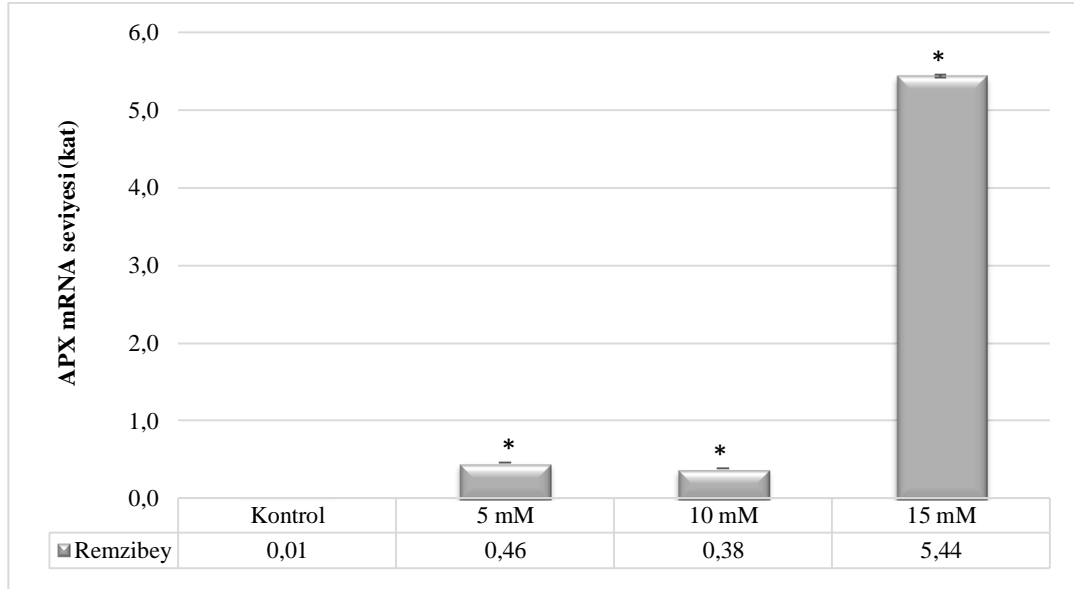
Farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanan üç aspir çeşidinde konsantrasyona bağlı olarak APX mRNA seviyelerinde değişimler meydana geldiği belirlenmiştir. Balcı çeşidinde konsantrasyonlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5 mM ve 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre APX mRNA seviyesinin azaldığı, 15 mM’da ise artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.23). Dinçer çeşidinde APX mRNA seviyesi kontrol grubuna göre 5 ve 15 mM borik asit uygulamasında artarken, 10 mM borik asit uygulamasında azalmıştır (Şekil 4.24). Remzibey çeşidinde ise tüm borik asit konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre artış olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.25). Çeşitler ve konsantrasyonlar karşılaştırıldığında; en yüksek APX mRNA seviyesinin Dinçer çeşidi 15 mM borik asit konsantrasyonunda (48,3 kat), en düşük APX mRNA seviyesinin Remzibey kontrol grubunda (0,01 kat) olduğu görülmüştür.



**Şekil 4.23.** Balcı çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam APX mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).



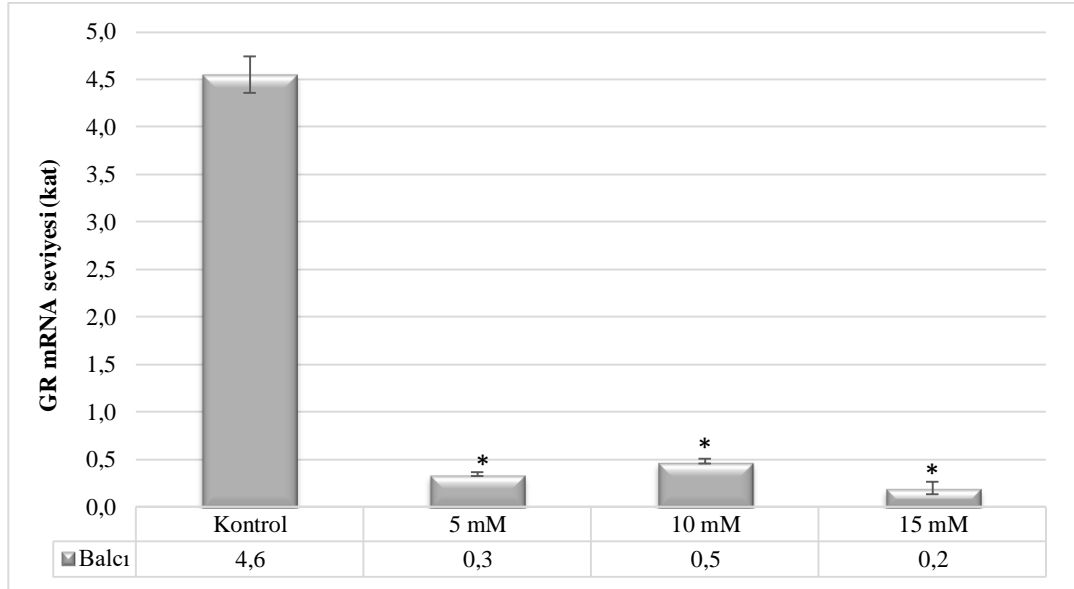
**Şekil 4.24.** Dinçer çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam APX mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).



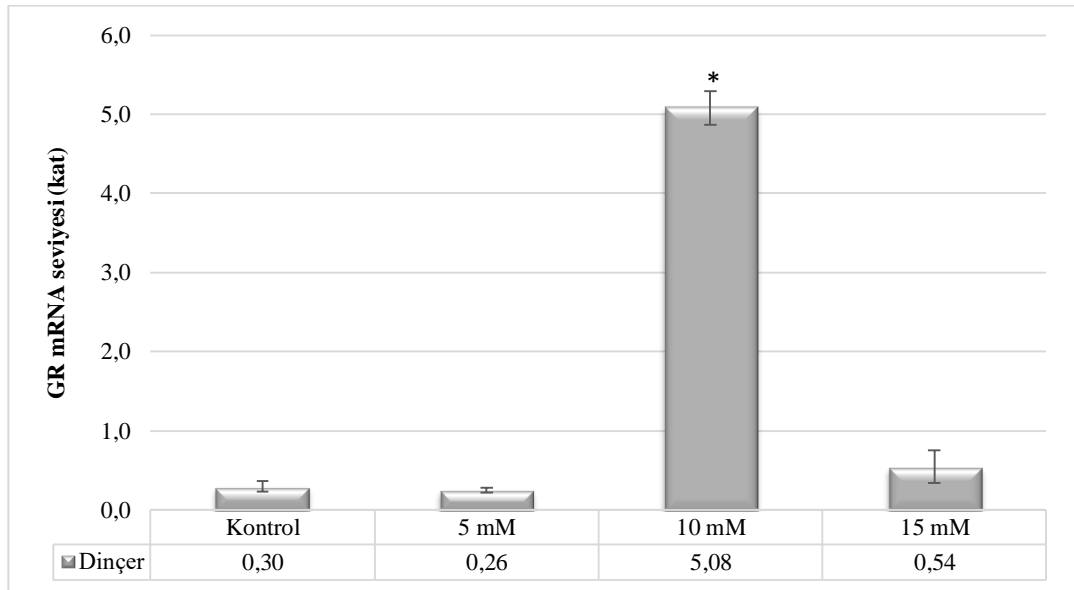
**Şekil 4.25.** Remzibey çeşidinin borik asit uygulanan yaprak örneklerine ait toplam APX mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).

#### 4.3.4. Aspir çeşitlerine ait yaprak örneklerinde GR mRNA seviyesindeki değişim

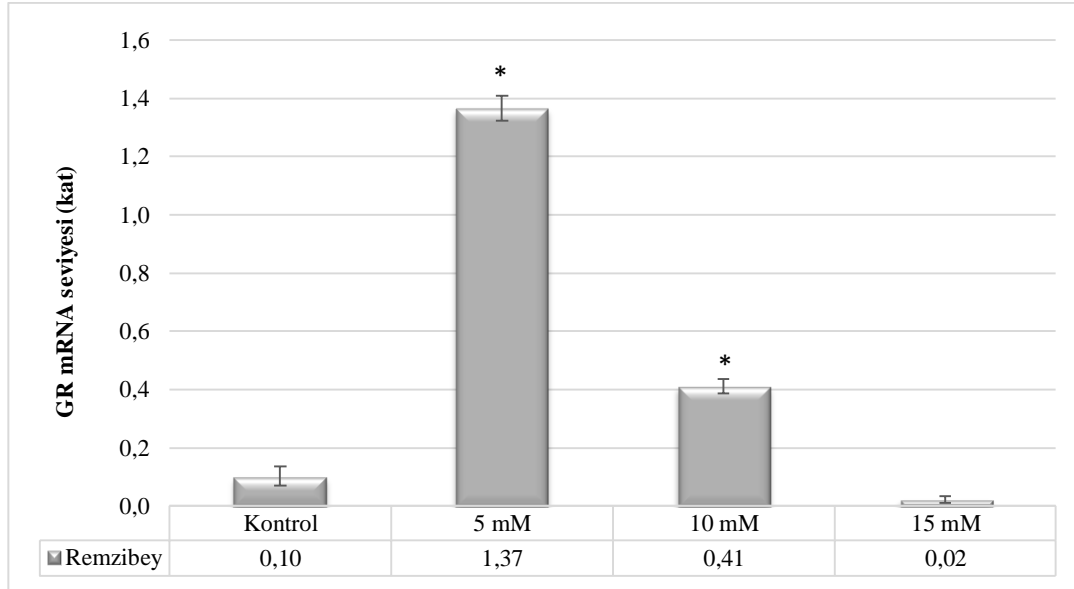
GR mRNA seviyesindeki değişim karşılaştırıldığında; Balcı çeşidinde tüm borik asit uygulamalarında kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.26). Dinçer çeşidinde 10 mM borik asit uygulamasında GR mRNA seviyesi kontrol grubuna göre artarken, 5 ve 15 mM' da değişim olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.27). Remzibey çeşidinde en yüksek GR mRNA seviyesi 5 mM borik asitte, en düşük GR mRNA seviyesi 15 mM borik asit uygulamasında görülmüştür (Şekil 4.28). Çeşitler ve konsantrasyonlar karşılaştırıldığında; en yüksek GR mRNA seviyesinin Dinçer çeşidi 10 mM borik asit konsantrasyonunda (5,08 kat), en düşük GR mRNA seviyesinin Remzibey 15 mM borik asit uygulamasında (0,02 kat) olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.26. Balcı çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam GR mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).



Şekil 4.27. Dinçer çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam GR mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).



**Şekil 4.28.** Remzibey çeşidinin borik ait uygulanan yaprak örneklerine ait toplam GR mRNA seviyeleri (\*  $p < 0,05$ ; Ek-1).

## 5. TARTIŞMA

Bitkiler hayatları boyunca doğal yaşam alanlarında büyüme, gelişme ve çoğalmalarını engelleyen pek çok stres faktörünün etkisi altında kalmaktadırlar (Reddy, vd., 2004). Bu stres faktörleri bitkilerde morfolojik, anatomik, fizyolojik ve moleküler düzeyde değişiklikler meydana getirmektedir. Birçok stres faktörünün bitkilerde, antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırdığı ve fizyolojik değişimler meydana getirdiği daha önce yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. Bitkilerde strese sebep olan faktörler arasında bitki besin elementleri yer almaktadır. Mikro besin elementlerinden biri olan bor bitkilerin en fazla tepki gösterdiği elementtir (Özbek 1973). Bor bitkiler için mutlak gerekli olan, bunun yanı sıra eksikliği ile toksisite değerleri birbirine oldukça yakın bir mikro besin elementidir (Brown vd., 2002).

Aspir bitkisi hem gıda, yem ve boya sanayii gibi alanda kullanılabilmesi hem de stres koşullarına çoğu bitkiden daha fazla direnç göstermesi nedeniyle birçok çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Stres koşullarına karşı adaptasyon kabiliyeti yüksek olan aspir bitkisi ile ilgili yapılan çalışmalarda genellikle çimlenme fizyolojisi ile erken büyüme evreleri incelenmiş ve biyokütle artışı hesaplanmıştır (Francois ve Bernstein, 1964; Ghorashy, 1972; Kaya, vd., 2003; Siddiqi, vd., 2007). Ancak borik asit etkisi altında aspir bitkisinde meydana gelen ekolojik ve fizyolojik değişimlere, antioksidan enzim aktivitelerinin fizyolojik ve moleküler değişimlerine ait çok fazla çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu sebeple aspir bitkisinin bor elementine karşı vereceği tepkilerin ekolojik, fizyolojik ve moleküler çalışmalarla ele alınması literatüre sağlayacağı katkıdan dolayı önem arz etmektedir.

### 5.1. Aspir Çeşitlerinde Borik Asit Uygulamasının Çimlenme Miktarı Üzerine Etkisi

Bitki yaşam döngüsünde en kritik olaylardan biri olan tohum çimlenmesi stres faktörlerine karşı oldukça duyarlıdır (Chang, vd., 2010). Aspir bitkisinin çimlenme evresinde bor stresinin etkisi çeşitler arasında farklılık göstermektedir. Balcı ve Remzibey çeşidinde bor konsantrasyonu arttıkça kontrol grubuna göre çimlenme yüzdesi azalma gösterirken, Dinçer çeşidinde bu azalma yalnızca en yüksek bor konsantrasyonunda (15 mM) görülmektedir (Çizelge 4.1). Tohum çimlenmesi borik asitten en çok etkilenen çeşit Balcı ve Remzibey iken en az etkilenen çeşit Dinçer olarak

belirlenmiştir. Bu durum bitkilerin bor stresine karşı gösterdikleri direncin bitki türüne ve çeşitlerine göre değişiklik göstermesi ile açıklanabilir (Bergmann, 1992). Farr (2010) yapmış olduğu çalışmada, düşük konsantrasyonlardaki borik asitin tohum çimlenmesini uyarırken, yüksek konsantrasyonlarda çimlenmeyi önleyici bir etkisi olduğunu bildirmiştir. Ayrıca bor, bitkilerde zar geçirgenliği, tohum uyku halinin düzenlenmesi ve bitki su ilişkilerinin düzenlenmesinde rol oynar (Blevins ve Lucaszewski, 1998; Dannel, vd., 2002; Brown, vd., 2002). Çalışmamızda Balcı ve Remzibey çeşitlerinde tohumlardaki düşük çimlenme yüzdesini borun tohum su alımını etkilemesi, tohum uyku halinin kalkması için gerekli olan metabolizma üzerinde olumsuz etki oluşturması ile açıklamak mümkündür.

Işık ve Leblebici (2016) aspir ile yaptıkları çalışmada bor konsantrasyonu arttıkça Dinçer çeşidinde çimlenme yüzdesinde önemli bir değişiklik olmadığını, Remzibey çeşidinde ise bor konsantrasyonu arttıkça çimlenme oranının azaldığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak Dinçer çeşidinin borik asit uygulamalarına karşı daha dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Bor uygulamasının çimlenme yüzdesine etkileri yapılan başka çalışmalarla da desteklenmektedir. Ashagre, vd., (2014b) aspir ile yaptıkları bir çalışmada 2 mg/L konsantrasyonuna kadar olan bor miktarının çimlenme yüzdesini etkilemediğini ancak 2 mg/L' den yüksek bor konsantrasyonlarında, konsantrasyon arttıkça çimlenme yüzdesinin azaldığını belirtmişlerdir. Yaman ve arkadaşlarının (2012) aspir bitkisi ile yaptığı diğer bir çalışmada ise düşük konsantrasyonlarda (0-90 ppm) uyguladıkları farklı bor dozlarının çimlenme üzerine istatistikî anlamda önemli bir etki göstermediğini fakat bor toksisitesine karşı aspir çeşitlerinin farklı tepki gösterdiğini belirtmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada da Balcı ve Remzibey çeşitlerinde borik asit konsantrasyonu arttıkça yüzde çimlenme oranında azalma tespit edilmiştir. Yorgancılar ve Babaoğlu (2005), buğday çeşitlerinde yaptıkları çalışmada bor uygulamalarının çimlenmeyi etkilemediğini belirtmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada da Dinçer çeşidinin çimlenme yüzdesinin borik asit uygulamasında etkilenmediği sadece 15 mM borik asit konsantrasyonunda yüzde çimlenme miktarında azalma olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Diğer bir çalışmada ise farklı bor dozlarının buğday çeşitlerinde çimlenme yüzdesini etkilediği ve çeşitler arasında bu etkinin farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Atalay, 2003).

## 5.2. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Kök ve Gövde Uzunluğu Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanan aspir çeşitlerinin kök uzunlukları karşılaştırıldığında çeşitler arasında farklılıklar olduğu görülmüştür. Çalışmamızda Dinçer ve Remzibey çeşidinde tüm borik asit konsantrasyonlarında, Balcı çeşidinde ise 5 ve 15 mM borik asit uygulamasında kök uzunluğunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1,  $p<0,05$ ). Kök uzunluklarının azalmasının nedeni, bitkinin ihtiyacından fazla miktarda borun köklerde toksik etki yaratması olabilir (Paul, vd., 1992; Harite, 2008). Bu durumda kök gelişimi sınırlanmaktadır. Çünkü bor toksisitesi sonucu kök ucu meristem hücrelerinin mitotik aktivitesinde bir azalma olduğu ve bu azalmanın hücre bölünmesini de etkileyerek kök uzama oranını azalttığı bilinmektedir (Liu, vd., 2000b). Choi ve arkadaşları (2007), bor toksisitesinde kök ucunda şeker alımının azaldığını ve bunun sonucunda ozmotik basıncın değişerek hücre büyümesinin dolayısıyla kök uzamasının engellendiğini belirtmişlerdir.

Kök uzamasının azalmasına bağlı olarak az gelişmiş köklerin gövde gelişimini de olumsuz yönde etkileyerek daha kısa boylu gövdeye sahip bitkilerin oluşmasına neden olduğu tahmin edilmektedir (Harite, 2008; Yaman, vd., 2012). Çalışmamızda aspir çeşitlerinin gövde uzunluğu karşılaştırıldığında tüm çeşitlerde borik asit konsantrasyonu arttıkça kontrol grubuna göre gövde uzunluğunda istatistiksel olarak önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1,  $p<0,05$ ).

Yaman ve arkadaşları (2012), aspir ile yaptıkları çalışmada bor konsantrasyonu arttıkça bitki kök ve gövde uzunluklarının önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. On farklı bor dozu (0, 7.5, 15, 22.5, 30, 37.5, 45, 60, 75 ve 90 ppm) ile yapılan çalışmada artan bor dozlarının aspir çeşitlerinde belli bir düzeye kadar bitkilerin kök ve gövde uzunluğunun arttığını ancak belli bir dozdan sonra kök ve gövde uzunluğunun azaldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada kök ve gövde uzunluğu bakımından çeşitler arasında farklılık olduğu bildirilmiştir. Campbell ve arkadaşları (1988), yaptıkları çalışmada artan düzeyde bor uygulamasının kök ve gövde gelişimini azalttığını belirtmişlerdir. Yüksek miktarda borun varlığı bitkilerde fizyolojik etki oluşturmakta, bor bazı besin elementlerinin alımını engelleyerek kök ve gövde büyümesini azaltmaktadır (Lovatt ve Bates, 1984).

Yapmış olduğumuz çalışmada çeşitler arasında gövde uzunluğu bakımından borik asit uygulamasından en az etkilenen çeşit Balcı iken, en çok etkilenen çeşit ise Remzibey olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızın bulguları ile paralellik gösteren araştırmalar birlikte değerlendirildiğinde, çeşitler arasında kök ve gövde uzunluklarında tespit edilen farklılıkların görülmesinin nedeninin, farklı aspir çeşitlerinin hücre ve dokularında farklı miktarlarda bor biriktirilmesi olabileceği düşünülmektedir (Taban ve Erdal, 2000).

### **5.3. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Yaş ve Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi**

Çalışmamızda tüm aspir çeşitlerinde kök- gövde yaş ve kuru ağırlıkları borik asit uygulamasından olumsuz yönde etkilenmiştir. Borik asit konsantrasyonu arttıkça kök yaş ve kuru ağırlığı tüm çeşitlerde kontrol grubuna göre azalma göstermektedir. Kök yaş ağırlığında, kontrol grubuna göre konsantrasyonlarda meydana gelen azalmaların tamamı istatistiksel anlamda önemlidir ( $p < 0,05$ ). Borik asit uygulamasından en çok etkilenen çeşit Dinçer iken, en az etkilenen çeşit Balcı olarak tespit edilmiştir. Kök kuru ağırlığına ait sonuçlara göre, en yüksek borik asit konsantrasyonunda (15 mM) kontrol grubuna göre sırasıyla Dinçer, Remzibey ve Balcı çeşidinde azalma olduğu belirlenmiştir. Kök kuru ağırlığı bakımından en hassas çeşit Dinçer iken, en dirençli çeşit Balcı olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Kök kuru ağırlığında, Balcı çeşidinde 15 mM, Dinçer çeşidinde tüm konsantrasyonlar ve Remzibey çeşidinde 10 ve 15 mM'daki azalmalar istatistiksel anlamda  $p < 0,05$  seviyesinde önemlidir.

Buğday ile yapılan çalışmada bor konsantrasyonu 0,5 mg/L'nin üzerine çıktığında kök yaş ve kuru ağırlığının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Ashagre, vd., 2014a). Kök taze ve kuru ağırlıklarının 0,25 mg/L üzerindeki bor uygulamalarında bor konsantrasyonu arttıkça önemli düzeyde azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca Turan ve arkadaşları (2009), buğday üzerine yaptıkları bir çalışmada bor konsantrasyonu arttıkça kök yaş ve kuru ağırlıklarının azaldığını bildirmişlerdir.

Aspir çeşitlerinde artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kök-gövde yaş ve kuru ağırlığının azalmasının nedeninin, bitki kök gelişiminin yukarıda da belirtildiği gibi bor düzeyi arttıkça olumsuz yönde etkilenerek azalmasından kaynaklanması olarak düşünülebilir (Yaman, vd., 2012).

Borik asit uygulanan aspir çeşitlerinin gövde yaş ve kuru ağırlıkları çeşitler arasında farklılık göstermiştir. Balcı ve Dinçer çeşitlerinde gövde yaş ve kuru ağırlığı kontrole göre borik asit konsantrasyonu arttıkça azalmasına rağmen, konsantrasyonlar kendi aralarında karşılaştırıldığında 10 mM borik asitte 5 ve 15 mM'a göre arttığı görülmüştür. Remzibey çeşidinde ise konsantrasyon artışına bağlı olarak gövde yaş ve kuru ağırlığında azalma olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3). İstatistiksel anlamda bakıldığında, gövde yaş ağırlığında; Balcı ve Dinçer çeşitlerinde 5 ve 15 mM, Remzibey çeşidinde 10 ve 15 mM'daki azalmalar  $p < 0,05$  seviyesinde önemli bulunmuştur. Gövde kuru ağırlığında ise yalnızca Dinçer çeşidinde 15 mM'daki azalma önemlidir ( $p < 0,05$ ). Artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kök-gövde yaş ve kuru ağırlığında meydana gelen azalma, fazla miktardaki borik asidin önce kök gelişimini sınırlandırması sebebi ile gerekli besin elementlerinin alımının azalması ve buna bağlı olarak gelişimin yavaşlaması ile açıklanabilir (Yaman, vd., 2012).

Yaman ve arkadaşları (2012), aspir ile yaptıkları bir çalışmada bor konsantrasyonu arttıkça gövde yaş ve kuru ağırlığının önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Molinero-Ruiz ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları çalışmada ise artan bor konsantrasyonun ayçiçeğinde gövde yaş ve kuru ağırlıklarına olumsuz etki gösterdiği ve konsantrasyon arttıkça azaldığı belirtilmiştir. Buğday üzerine yapılan birçok çalışmada bor konsantrasyonu arttıkça gövde kuru ağırlığının azaldığı bildirilmiştir (Alpaslan, vd., 1996; Taban, vd., 1999; Paull, vd., 1988; Yorgancılar ve Babaoğlu, 2005).

Her bitkinin bor ihtiyacı farklıdır ve bor elementinin tolerans sınırları oldukça değişkendir. Çalışmamızda kullanılan aspir çeşitlerinin kök-gövde yaş ve kuru ağırlıklarının çeşitler arasındaki farklılık bu değişkenliğe bağlıdır. Bor elementi bitkide hücre uzaması ve meristematik büyümeyle ilişkili olduğundan, yüksek konsantrasyonlardaki borun hücrelerde olumsuz etki meydana getirerek hücre çoğalmasını ve büyümesini durdurduğu düşünülebilir (Khan, vd., 2007). Bu durumda bitkide kök ve sürgün gelişemez ve buna bağlı olarak bor konsantrasyonu arttıkça kök-gövde yaş ve kuru ağırlığı azalır.

#### **5.4. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Biyokütle Üzerine Etkisi**

Yeşil bitkilerin fotosentez ile güneş enerjisini kimyasal enerjiye dönüştürüp depolaması ile oluşan biyolojik madde kütlesine biyokütle denir (Tziourtzioumis, vd.,

2009). Çalışmamızda borik asidin biyokütle üzerine etkisi araştırılmış; kök ve gövdeye ait farklı biyokütle sonuçları elde edilmiştir. Dinçer ve Remzibey çeşidinin kök biyokütlesinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. Tüm aspir çeşitlerinde artan borik asit konsantrasyonu ile kök biyokütlesi azalmıştır. Balcı çeşidinde ise kök biyokütlesinde diğer iki çeşitten farklı olarak 10 mM borik asit konsantrasyonunda diğer konsantrasyonlara göre artış olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4).

Kök ve gövde biyokütle sonuçları karşılaştırıldığında her üç çeşitte de kök biyokütlesi ile gövde biyokütlesi bulgularının farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Balcı çeşidinde 5 mM ve 15 mM borik asit uygulamasında gövde biyokütlesi kontrol grubuna göre azalma gösterirken, 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış göstermektedir. Dinçer çeşidinde borik asit konsantrasyonu arttıkça kontrol grubuna göre gövde biyokütlesi azalma gösterirken, 10 mM borik asit uygulamasında 5 ve 15 mM'a göre artış görülmektedir. Remzibey çeşidinde ise 5 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre bir artış varken, 10 mM ve 15 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre azalma devam etmektedir. Gövde biyokütlesi, en yüksek borik asit konsantrasyonunda (15 mM) kontrol grubuna göre Balcı çeşidinde %29,8, Dinçer çeşidinde %51,4, Remzibey çeşidinde %17,4 oranında azalma göstermektedir (Şekil 4.5). Bu sonuçlara göre gövde biyokütlesi bakımından bor stresine en dayanıklı çeşit Remzibey iken, en hassas çeşit Dinçer olarak tespit edilmiştir.

Gövde biyokütlesindeki azalmalar bor stresinden dolayı gövdede fotosentezin engellenmesi nedeniyle gövde kuru ağırlığının azalmasından kaynaklanıyor olabilir. Gövde kuru ağırlığında olduğu gibi, Balcı çeşidinde gövde biyokütlesinin kontrol grubuna göre 10 mM borik asit uygulamasındaki artışının sebebi veya Remzibey çeşidinin 5 mM borik asit uygulamasındaki artışı, bu bor düzeyinin Balcı çeşidi için besleyici özellik göstermesi olabilir. Veya Balcı çeşidi bu konsantrasyonlardaki borik asite direnç göstermiş olabilir. Bor uygulaması bitkilerde kök hücre bölünmelerini ve hücre uzamalarını engelleyerek kökün gelişimini durdurmaktadır (Reid, vd., 2004). Aspir bitkisinin kök gelişimi de bordan olumsuz etkilenerek gövdeye yeterli besin maddeleri ve su taşınmasını engelliyor olabilir. Bu durumda gövdede fotosentez de yavaşlayacağı için yeterli besin depo edilememekte ve gövde yaş ve kuru ağırlıkları azalmaktadır (Donghua vd., 2000). Gövde biyokütlesi, kuru ağırlıkla doğrudan ilişki olduğu için de bor stresinden etkilenerek konsantrasyon arttıkça azalma göstermiş

olabilir. Kökün gelişimindeki bu gerileme doğrudan kök biyokütlesini de etkilediği için kök biyokütlesi de azalma göstermiş olabilir.

### **5.5. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerinde Canlılık İndeksi Üzerine Etkisi**

Tohum canlılık indeksi çimlenme ve bitkinin kök-gövde uzunluğu ile ilişkili olduğundan bu iki özellikteki azalma tohum canlılık indeksini de olumsuz yönde etkilemektedir. Aynı zamanda bor; bitkilerde hücre uzaması, hücre bölünmesi ve meristematik büyüme üzerine etki etmektedir (Mouhtaridou, vd., 2004; Khan, vd., 2008). Yaman ve arkadaşları (2012), aspir ile yaptıkları bir çalışmada belli bir bor düzeyinden sonra tohum canlılık indeksinin tüm çeşitlerde azalma gösterdiğini, ayrıca çeşitler arasında da farklılıkların olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Mirshekari (2012), buğday üzerinde yaptığı çalışmada da bor konsantrasyonu arttıkça tohum canlılık indeksinin azaldığını belirtmiştir.

Tohum canlılık indeksi bitkinin erken gelişimi ve hızlı direnç oluşumu için önemli bir faktördür (Memon, vd., 2013). Çalışmamızda tohum canlılık indeksinin artan borik asit konsantrasyonlarına bağlı olarak tüm çeşitlerde kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.6). Çeşitler arasında bor stresinden en çok etkilenen çeşit Remzibey iken en az etkilenen çeşit Balcı olarak tespit edilmiştir.

### **5.6. Aspir Çeşitlerinde Borik Asit Tolerans İndeksinin Belirlenmesi**

Borik asit tolerans indeksi, bitkinin borik asite göstermiş olduğu dayanma sınırını gösteren bir parametredir. Bitkilerin herhangi bir ekolojik faktöre karşı göstermiş olduğu tolerans türden türe hatta aynı türün çeşitlerinde farklılık göstermektedir. Ashagre ve arkadaşları (2014a) da yaptıkları çalışmada buğday tolerans indeksinin, düşük bor seviyelerinde arttığını fakat bor konsantrasyonu yükseldikçe tolerans indeksinin azaldığını bildirmişlerdir. Çeşitler arasında tolerans indeksinin değişkenlik gösterdiğini de bildirmişlerdir. Aynı şekilde Shaikh ve arkadaşları (2013), buğday üzerine yaptıkları çalışmalarında da bor konsantrasyonu arttıkça tolerans indeksinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda aspir çeşitlerinin borik asit tolerans indeksleri benzerlik göstermektedir. Tüm çeşitlerde borik aside gösterilen toleransın en fazla 10 mM'da olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7). Borik asit tolerans indeksi diğer ekolojik sonuçlarla

uyum göstermektedir. Borik asiti tolere edebilen çeşit Balcı iken toleransı en düşük çeşidin Remzibey olduğu tespit edilmiştir.

### 5.7. Aspir Çeşitlerinin Klorofil Miktarları

Klorofil pigmenti bitkiler için önemli bir fizyolojik olay olan fotosentezde kullanılan ve güneş ışınlarının toplanmasını sağlayan bir moleküldür. Borun bitkilerde klorofil ile ilgili metabolik olaylar üzerinde etkili olduğu; bor stresine maruz kalan yapraklarda klorofil içeriğinde ve fotosentezde değişiklikler meydana geldiği bilinmektedir (Lovatt ve Bates, 1984).

Bu çalışmada artan bor konsantrasyonlarında klorofil *a* ve *b* miktarlarında kontrol grubuna göre tüm aspir çeşitlerinde benzer değişimler meydana geldiğinden klorofil ile ilgili sonuçlar toplam klorofil (*a+b*) miktarı üzerinden değerlendirilmiştir. Buna göre Balcı çeşidinde tüm borik asit konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam klorofil miktarının azaldığı, konsantrasyonlar kendi arasında karşılaştırıldığında en yüksek toplam klorofil miktarının 10 mM borik asit uygulamasında olduğu tespit edilmiştir. Dinçer ve Remzibey çeşidinde kontrol grubu ve konsantrasyonlar karşılaştırıldığında en yüksek toplam klorofil miktarının 10 mM borik asite uygulamasında olduğu; 5 mM borik asit uygulaması dışında, 10 mM ve 15 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

Bir bitki için gerekli olan bor miktarı, diğer bitkiler için toksik veya yetersiz olabilmektedir (Hu, vd., 1997b). Bor elementine karşı bazı bitkiler hem tür hem de çeşit bakımından hala nedeni tam olarak belli olmayan tolerans mekanizması geliştirmişlerdir. Bu çalışmada Remzibey çeşidinde 10 mM borik asit uygulamasında klorofil içeriğinin artması bitkinin kontrol grubuna göre artan bor miktarını tolere etmesi ve klorofil üretimini artırmış olabileceğini düşündürmektedir. Oluk ve arkadaşlarının (2006), yaptığı çalışmada bu sonuçları destekler niteliktedir. Ayçiçeği üzerine yaptıkları çalışmada bor eksikliğinde bitkinin klorofil pigment miktarının azaldığını ancak bor fazlalığının bitkinin klorofil pigmenti miktarını arttırdığını bildirmişlerdir.

Bor stresi altında kloroplastların membran yapısında bozulmalar ve klorofil sentezinden sorumlu proteinlerin ve enzimlerin inhibisyonunun gerçekleştiği bilinmektedir. Bu durumun PS II kompleks proteininde dengesizliğe yol açtığı ve bunun

sonucu olarak fotosentetik yapılarda hem klorofil *a* ve *b*'yi hem de toplam klorofil sentezini azalttığı literatürde bildirilmiştir (Aftab, vd., 2012). Başka bir çalışmada bor stresi altında klorofil miktarının azalmasının diğer nedeninin klorofili parçalayan klorofilaz enziminin stres koşullarında aktivitesinin artmasına bağlı olduğu ile açıklanmaktadır (Rao ve Rao, 1981). Literatürde yer alan birçok çalışma bu sonuçları desteklemektedir (Nable, vd., 1997; Vermaas, vd., 1995; Wang, vd., 2011; Sotiropoulos, vd., 2006; Yıldıztekin ve Tuna, 2015; Reid, 2007). Bu çalışmada da Balcı çeşidinde artan borik konsantrasyonlarında klorofil miktarının azalması bu şekilde açıklanabilir. Ayrıca borik asidin çeşitler üzerinde farklı düzeylerdeki etkisi çeşitlerin anatomik yapılarındaki farklılıklar, salgı hücrelerinin farklılığı, çeşitlerin borik aside olan toleranslarının farklı olması ve genomlarının farklılığı ile de açıklanabilir (Stavrianakou, vd., 2004).

Aspir çeşitlerinin toplam klorofil miktarları istatistiksel (ANOVA) olarak değerlendirildiğinde tüm çeşitlerde borik asit uygulamasının  $p < 0,05$  seviyesinde önemli olduğu belirlenmiştir.

### **5.8. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinin Protein İçeriği**

Olumsuz stres koşullarında bitki gelişimini engelleyecek düzeyde protein metabolizmasında aksamalar meydana geldiği bilinmektedir (Köşkeroğlu, 2005). Bu çalışmada Balcı çeşidinde 10 mM borik asit uygulamasında protein miktarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış gösterirken, 15 mM borik asit uygulamasında istatistiksel anlamda önemli bir azalma göstermiştir ( $p < 0,05$ ). Dinçer çeşidinde ise 5 mM borik asit uygulamasında protein içeriği kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli seviyede artmış, 15 mM borik asit uygulamasında ise istatistiksel olarak önemli seviyede azalmıştır (Şekil 4.11,  $p < 0,05$ ). Reid ve arkadaşları (2004) bizim çalışmamıza benzer şekilde düşük bor uygulamalarının protein içeriğini artırdığını, yüksek bor uygulamasının ise buğday çeşitlerinde hücrelerin aktivitelerini ve protein sentezini yavaşlattığını bunun sonucunda protein içeriklerinin azaldığını belirtmişlerdir.

Bor elementinin bitkilerde nükleik asit, karbonhidrat ve protein metabolizmalarında rol oynadığı daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir (Shelp, vd., 1993; Mahboobi, vd., 2000). Protein miktarlarındaki artışın uygulanan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak protein metabolizmasını indükleyerek protein sentezinin artmasını sağladığı; yüksek konsantrasyonların olumsuz etki göstererek proteinlerin

parçaladığı ve protein miktarının azalmasına neden olduğu bilinmektedir (Pinheiro, vd., 2001). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde borik asitin protein miktarlarına olumlu ve olumsuz olmak üzere her iki yönde de etki ettiği anlaşılmaktadır. Yapılan bir araştırma da bora toleranslı ve bora hassas arpa çeşitlerine borik asit uygulamaları sonucu protein içeriklerine bakıldığında, farklı konsantrasyonlarda bor uygulanan toleranslı arpa çeşitlerinde protein içeriği artarken, hassas çeşitlerde protein içeriğinin azaldığı rapor edilmiştir (Mahboobi, vd., 2000). Karabal ve arkadaşları (2003) arpa üzerine bor toksisitesini inceledikleri çalışmada, 5 gün süreyle uyguladıkları 5 mM ve 10 mM borik asit konsantrasyonlarının protein miktarlarında bir değişim meydana getirmediğini bildirmişlerdir.

Remzibey çeşidinin protein içeriğine bakıldığında, Balcı ve Dinçer çeşitlerinden farklı bir sonuç elde edilmiştir. Remzibey çeşidinde 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre protein içeriği istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalırken, 15 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11,  $p < 0,05$ ). Baykal ve Öncel (2006) buğday üzerine yaptıkları bir çalışmada bor toksisitesinin protein metabolizması üzerine tepkilerini incelemiş ve sonuçta genotipler arasında bor stresine toleransta farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Erturk ve arkadaşları (2013) mısır üzerine yaptıkları çalışmada, bizim sonucumuza benzer bir sonuç elde ederek, en yüksek protein miktarının 40 mM borik asit konsantrasyonunda olduğunu belirtmişlerdir.

### **5.9. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Toplam SOD Aktivitesi**

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, bitkilerde aktif oksijen türevlerinin detoksifikasyonunda birincil yakalayıcıdır ve oksidatif stres karşısında bitkinin savunma mekanizmasının ilk basamağını oluşturur (Melchiorre, vd., 2009). Oksidatif stres sırasında bitkide oluşan hasara bağlı olarak SOD enzim aktivitesinin arttığı veya azaldığı bilinmektedir. Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanan aspir çeşitleri arasında SOD enzim aktivitesi bakımından farklılıklar tespit edilmiştir. Balcı çeşidinde borik asit konsantrasyonu arttıkça, SOD enzim aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Balcı çeşidinde 10 mM ve 15 mM borik asit konsantrasyonunda meydana gelen azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Dinçer çeşidinde kontrol grubuna göre 5 mM ve 10 mM borik asit

konsantrasyonunda meydana gelen artış ve 15 mM borik asit konsantrasyonunda meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.12;  $p < 0,05$ ).

SOD aktivitelerinde meydana gelen artış veya azalışlar aspir çeşitlerinin  $O_2^{\cdot-}$ 'yi bertaraf etme yeteneklerini göstermektedir. Bu durumda Balcı çeşidinde borik asit konsantrasyonu arttıkça SOD enzim aktivitesinin düşmesi, Balcı çeşidinin süperoksit radikalini bertaraf etmekte yetersiz kaldığını göstermektedir. Bu sonuç, kullanılan borik asit konsantrasyonlarının Balcı çeşidi için olumsuz etki oluşturarak bitkiyi oksidatif strese sürüklediğini ve artan süperoksit radikalini gidermekte çeşidin SOD antioksidan enziminin yetersiz kaldığını düşündürmektedir. Balcı çeşidinin aksine Dinçer ve Remzibey çeşitlerinin artan SOD aktivitesi borik asit uygulamasının sonucu olarak artan  $O_2^{\cdot-}$ 'yi gidermekte daha etkin çeşitler olduklarını göstermektedir. Borik asit uygulaması sonucunda oluşan oksidatif strese yanıtta SOD enzim aktivitesi en yüksek etkinliğini Remzibey çeşidinde göstermiştir. Bu durumda SOD enzimi bakımından en duyarlı çeşidin Balcı, en dirençli çeşidin ise Remzibey olduğu sonucuna varılmaktadır.

Kaya ve arkadaşları (2009), 2 ve 4 mg/L bor uyguladıkları domates bitkisinde SOD enzim aktivitesinin önemli derecede artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Cervilla ve arkadaşları (2007)'nin yine hassas ve dayanıklı domates çeşitleri ile yaptıkları çalışmada, düşük düzeyde bor uygulaması sonucu her iki çeşitte de SOD aktivitesinin arttığını, yüksek düzeyde bor uygulandığında ise dayanıklı çeşitte aktivite artarken hassas çeşitte azaldığını bildirmişlerdir. Karabal ve arkadaşları (2003) bora karşı hassas ve dayanıklı arpa çeşitleri ile yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bora dayanıklı arpa çeşidinde bor uygulaması ile SOD aktivitesinde değişim görmezken, hassas arpa çeşidinde SOD aktivitesinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer taraftan bor uygulanan elma, greyfurt ve mısır bitkilerinde de SOD aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (Molassiotis, vd., 2006; Sotiropoulos, vd., 2006; Han, vd., 2009; Esim, vd., 2012).

#### **5.10. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Toplam CAT Aktivitesi**

CAT enziminin bitki dokularında  $H_2O_2$ 'nin uzaklaştırılmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Patykowski ve Urbanek, 2003). Bu çalışmada CAT enzim aktivitesi bakımından farklı konsantrasyonlardaki borik asit uygulamasında Balcı ve Remzibey çeşidi benzer sonuçlar gösterirken, Dinçer çeşidine ait sonuçların bunlardan farklı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Remzibey çeşidinde diğer iki çeşitten farklı olarak

15 mM borik asitte kontrol grubuna göre CAT aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Genel olarak her üç çeşitte de kontrol grubuna göre tüm borik asit uygulamalarında azalma tespit edilmiştir. Her üç çeşide ait tüm borik asit konsantrasyonlarında elde edilen sonuçların istatistiksel olarak  $p < 0,05$  seviyesinde önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.13). CAT aktivitesinin borik asit uygulanan örneklerde azalmasının nedeni oksidatif stresin yüksek borik asit konsantrasyonlarında  $H_2O_2$  üretimine neden olması ve bu durumda  $H_2O_2$ 'nin CAT enzimini inhibe etmiş olduğu düşünülmektedir (Feierabend, vd., 1992; Streb, vd., 1993; Foyer, vd., 1994). Literatürde yer alan çalışmalar bu çalışmada CAT aktivitesinde elde edilen sonuçlarını destekler niteliktedir. Çevresel streslerin, stresin yoğunluğu, süresi ve tipine bağlı olarak CAT aktivitesinin artmasına veya azalmasına neden olduğu bilinmektedir (Moussa ve Abdel-Aziz, 2008). Oluk ve arkadaşları (2012) iki domates çeşidi ile yaptıkları çalışmada da bor toksisitesinin kontrol grubuna göre oksidatif hasarı artırdığını bildirmişlerdir.

#### **5.11. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Toplam APX Aktivitesi**

APX enzimi, antioksidan savunma mekanizmasının önemli enzimlerinden biridir ve kloroplast, sitoplazma, mitokondri ve peroksizomlarda rol oynamaktadır (Shigeoka, vd., 2002; Del Rio, vd., 2002). Bu çalışmada borik asitin tüm aspir çeşitlerinin APX aktivitesi üzerinde indükleyici bir etki gösterdiği ve enzim aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir. Balcı çeşidinde 5 mM ve 10 mM borik asit uygulamasında APX aktivitesi artarken 15 mM borik asit uygulamasında azalmaktadır. Balcı çeşidinde 5 mM ve 10 mM borik asit uygulamasındaki artış ile Dinçer çeşidinin tüm borik asit konsantrasyonlarındaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Remzibey çeşidinde ise tüm borik asit konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre artış olduğu tespit edilmiştir. Çeşitler karşılaştırıldığında ise APX enzim aktivitesinin en yüksek 10 mM'da Dinçer ve Remzibey çeşidinde; en düşük enzim aktivitesinin ise 5 mM'da Remzibey çeşidinde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14).

Bor toksisitesi ve antioksidanlar arasındaki ilişkinin açıklandığı bir çalışmada arpa bitkisine uygulanan 10 mM borik asit konsantrasyonunda APX enzim aktivitesinin bor elementine karşı hassas olan çeşitte arttığı, toleranslı olan çeşitte ise azaldığı bildirilmiştir (Karabal, vd., 2003). Literatürde bor ve askorbat/glutasyon çemberi arasında yakın bir ilişkinin olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Farklı bitkilerin kullanıldığı bazı çalışmalarda bor eksikliği durumunda askorbat seviyesinin düştüğü

bildirilmiştir (Lukaszewski ve Blevins, 1996; Çakmak ve Römheld, 1997; Liu, vd., 2000a). Bu sebeple bor ile askorbat arasında doğrudan bir ilişki olduğu düşünülebilir. Bor elementinin bitkilerde lipitlerin peroksidasyonu ve antioksidan yollarda değişimlere neden olduğu da bilinmektedir (Karabal, vd., 2003). Bu durum fazla miktardaki borun bitkileri oksidatif strese sürüklediğinin kanıtı olabilir. Cervilla ve arkadaşları (2007), iki farklı domates çeşidi ile yaptıkları çalışmada bitkilere artan düzeyde bor uygulayarak antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Sonuçta bor toksisitesinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve askorbat konsantrasyonunun her iki çeşitte de artışa neden olduğunu ve APX enzim aktivitesinin de buna bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada da uygulanan yüksek konsantrasyonlardaki borik asit oksidatif strese neden olmakta ve aspir çeşitlerinin APX aktivitesini artırarak antioksidan savunma mekanizmalarını uyardığı belirlenmiştir. Artan borik asit konsantrasyonu aspir çeşitlerinde oksidatif strese bağlı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğini artırdığı ve bu durumdan kendini korumak için aspir bitkisinin APX enzim aktivitesini artırdığı düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar ve literatür bilgileri uygulanan borik asit konsantrasyonlarının aspir bitkisinde olumsuz etki oluşturduğu ve bitkiyi oksidatif strese sürüklediğinin göstergesi niteliğindedir. Elde edilen sonuçlar çerçevesinde APX enziminin de SOD enzimi gibi bor stresine karşı geliştirilen savunma mekanizmasında rol oynayan bir faktör olabileceği kanaatindeyiz.

### **5.12. Borik Asit Uygulanan Aspir Çeşitlerinde Toplam GR Aktivitesi**

GR, çeşitli stres faktörlerine karşı bitkilerin toleransının belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Bowler, vd., 1992). Bazı araştırmacılar çevresel stres altında GR aktivitesinin artmış olduğunu bildirmişlerdir (Hernandez, vd., 2001; Yoshida, vd., 2006; Sharma ve Dubey, 2005, 2007; Maheshwari ve Dubey, 2009). Çalışmamızda Balcı ve Dinçer çeşidinde 5 mM ve 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre GR aktivitesi azalma gösterirken, 15 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre artış göstermiştir (Şekil 4.15). Bu sonuçların her iki çeşit için  $p < 0,05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Wang ve arkadaşları (2011) armut bitkisi ile yaptıkları çalışmada bitkinin yapraklarında artan bor dozlarına paralel olarak GR aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir.

Remzibey çeşidinde tüm borik asit uygulamalarında kontrol grubuna göre GR aktivitesi artış göstermiştir ve bu artış istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ; Şekil 4.15).

GR aktivitesi en yüksek olan çeşit Remzibey olarak tespit edilmiştir. Buna göre Remzibey çeşidinde glutatyon redüktaz enzimi yüksek bor uygulamasına karşı savunma mekanizmalarından biri olarak görev yapabilmektedir. Farklı borik asit konsantrasyonlarının uygulandığı iki farklı arpa çeşidi incelendiğinde, bora toleranslı arpa çeşidinde yaprak dokularında GR aktivitesinde bir farklılık saptanmazken, bora duyarlı arpa çeşidinde yaprak dokularının GR aktivitesinde anlamlı bir artış olduğu belirtilmiştir (Karabal, vd., 2003).

Balcı ve Dinçer çeşitlerinin 5 ve 10 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre GR aktivitesinde bir artışın olmaması, bu çeşitlerde GR enziminin 5 ve 10 mM borik asitten etkilenmediğini ya da bitkideki GR enziminin diğer antioksidan savunma mekanizmaları kadar etkin olmadığını düşündürmektedir. Daha öncede belirtildiği gibi yapılan birçok çalışmada aynı türün genotipleri arasında bor toksisitesine karşı göstermiş olduğu büyük farklılıklar mevcuttur (Paul, vd., 1988; Huang ve Graham, 1990; Nable, 1991). Bu durumun çeşitler arasındaki genom yapısı ve tolerans sınırlarının farklılığı gibi birçok nedenden dolayı olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, aspir çeşitleri arasında GR enzim aktivitesi bakımından belirlenen farklılıklar bu nedenlerle açıklanabilir.

SOD enzim aktivitesinin artması ile oluşan  $H_2O_2$ 'yi detoksifiye edebilmek için diğer antioksidan enzimlerden ilk olarak APX enzimi görev almakta APX'in yetersizliğinde CAT ve GR enzimleri devreye girmektedir. APX enziminin  $H_2O_2$ 'yi gidermekte CAT ve GR enziminden daha etkin olduğu da bilinmektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar bu bilgileri destekler niteliktedir. APX aktivitesinin 15 mM'da azalmasından dolayı  $H_2O_2$ 'nin hücreden yok edilmesinde, azalan APX aktivitesini tolere edebilmek için CAT ve GR enzim aktivitesinin artmaya başladığı görülmektedir. Aspir çeşitlerinde artan SOD enzim aktivitesine paralel olarak APX enzim aktivitesi de artış göstermiştir. Bu durum bor toksisitesinin sebep olduğu oksidatif stresin bertaraf edilmesinde aspir çeşitlerinin antioksidan enzimlerinin birbirleri ile uyum içinde ve etkin şekilde görev aldıklarını göstermektedir. Literatürde yer alan birçok çalışma bu görüşü destekler niteliktedir. Aftab, vd., (2010), *Artemisia annua* L. bitkisi ile yaptıkları çalışmada 0, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 mM borik asit konsantrasyonlarının SOD ve CAT enzim aktivitelerinde artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Wang, vd., (2011), farklı bor konsantrasyonları uyguladıkları asma bitkisinde, yapraklardaki SOD ve APX enzim

aktivitelerinin artan bor düzeyine paralel olarak önce arttığını sonra azaldığını bildirmişlerdir.

### **5.13. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerine Ait Yaprak Dokularındaki SOD mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi**

SOD enzimi olağanüstü katalitik etkinlikte çalışan bir metalloproteindir (Fridovich, 1989). SOD enziminin gen ifadelerindeki artışın, abiyotik ve biyotik stres faktörlerin neden olduğu oksidatif strese karşı bitkilerin tolerans geliştirmesi ve stres altında canlılığını sürdürmesinde önemli rolleri olduğu bilinmektedir (Harinasut, vd., 2003; Attia, vd., 2009). Bu çalışmada Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde SOD enziminin gen ifadesi 5 mM ve 10 mM borik asit konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre önemli ( $p<0,05$ ) bir artış göstermiştir (Şekil 4.17, Şekil 4.18). Literatürde yer alan önceki çalışmalarda da bitki türlerine göre SOD enzimini kodlayan genlerin ifadelerinin değişiklik gösterdiği ve bu ifade değişikliklerinin stres savunmasında önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Soydam Aydın, vd., 2012; Arvind ve Prasad, 2003). Bu durum borik asitin neden olduğu oksidatif stres sonucu artan süperoksit radikalının bertaraf edildiğini; SOD enziminin Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde oldukça etkin olduğunu göstermektedir. Hernandez ve arkadaşları (2000) mısır bitkisi ile yaptıkları çalışmada SOD transkriptlerinin oksidatif stres sırasında arttığını belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada da farklı tuz konsantrasyonları uygulanan domates bitkisinde SOD aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Shalata, vd., 2001). Sairam ve Srivastava (2002), Cu/Zn- SOD, Fe-SOD ve Mn-SOD aktivitesinin tuz stresine toleranslı buğday genotiplerinde nispeten daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

Balcı çeşidinde SOD mRNA miktarı kontrol grubuna göre 5 mM ve 10 mM borik asit uygulamasında istatistiksel olarak önemli bir azalma gösterirken ( $p<0,05$ ), 15 mM borik asit uygulamasında ise kontrol grubuna göre artış göstermiştir (Şekil 4.16). Gomez ve arkadaşlarının (1999) bezelye bitkisi ile yaptıkları çalışma bizim çalışmamızın sonucunu desteklemektedir. Yüksek tuz konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları bezelye bitkisinde SOD transkriptlerinin arttığını tespit etmişlerdir.

SOD enzimini kodlayan genlerin kantitatif gerçek zamanlı PZR ile ifade seviyeleri ölçüldüğünde elde edilen sonuçlar ile spektrofotometrik SOD aktivitesi sonuçları birlikte ele alındığında; 15 mM borik asit konsantrasyonu haricinde sonuçların uyum içerisinde olduğu görülmektedir. 15 mM borik asit uygulamasında ise Balcı

çeşidinde SOD mRNA seviyesi artarken, SOD enzim aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum 15 mM borik asit konsantrasyonunda, sentezlenen tüm SOD mRNA transkriptlerinin translasyonla proteine çevrilmemiş olmasından kaynaklanıyor olabilir. Borun gen ifadesinin ve antioksidan enzim aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı daha önce kanıtlanmıştır (Keleş, vd., 2011). Ayrıca bizim görüşümüzü destekler nitelikte bir çalışma yapan Reid, (2007) bor elementinin premRNA işlenmesini inhibe ederek protein sentezine engel olduğunu bildirmiştir. Bu bilgilere dayanarak 15 mM bor konsantrasyonunun aspir bitkisinde gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzenlenmesinde etkili olduğu ve sentezlenen SOD mRNA'larının çoğunun transle edilmesini engellediği, böylece azalan protein miktarından dolayı da SOD enzim aktivitesinin azalma gösterdiği düşünülmektedir (Ara, vd., 2013).

Her iki çalışmada da sonuçlar aspir bitkisinde borik asitin neden olduğu oksidatif hasarı bertaraf etmek için SOD enziminin önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Çeşitler arasında kontrol grubuna göre en yüksek SOD gen ifadesi Remzibey çeşidinde, en düşük gen ifadesi ise Balcı çeşidinde elde edilmiştir.

#### **5.14. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerine Ait Yaprak Dokularındaki CAT mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi**

Antioksidan enzimlerden katalaz, karakterize edilen ilk enzimdir (Sharma, vd, 2012). Çevresel stresler, stresin yoğunluğuna, süresine ve tipine bağlı olarak CAT aktivitesinin artmasına veya azalmasına neden olmaktadır (Moussa ve Abdel-Aziz, 2008). Bu çalışmada, Balcı çeşidinin borik asit konsantrasyonlarındaki CAT mRNA seviyesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ; Şekil 4.19). Dinçer çeşidinde 10 mM ve 15 mM borik asit uygulamalarında CAT mRNA seviyesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalırken, 5 mM borik asit uygulamasında kontrol grubuna göre meydana gelen artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ; Şekil 4.20). Remzibey çeşidinde ise CAT mRNA seviyesinin kontrol grubuna göre 5 mM ve 15 mM borik asitte azalması; 10 mM borik asit uygulamasında artışı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde  $p < 0,05$  seviyesinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.21). Borik asitin aspir çeşitlerinde meydana getirdiği oksidatif stres sonucu üretilen  $H_2O_2$ 'yi yok etmek için katalaz enziminin yetersiz kaldığı, uygulanan borik asit konsantrasyonların CAT geninin transkripsiyonunu inaktive ettiğinden dolayı bu gen ifadesi seviyesinde düşüş olduğu tahmin edilmektedir.

Ayrıca CAT enziminin kararsız bir yapıya sahip olması ve yüksek konsantrasyonlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile inhibe olabilmesi de aspir bitkisinde borik asit ile CAT mRNA seviyesinin azalmasının nedeni olabilir (Feierabend, vd., 1992; Streb, vd., 1993). Arpa ile yapılan bir çalışmada uygulanan farklı konsantrasyonlardaki salisik asitin CAT aktivitesini azalttığı, CAT gen ekspresyonunu inhibe ederek mRNA seviyesinde önemli bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Zeshuang, vd., 1998).

Balcı çeşidinde CAT mRNA seviyesi ile enzim aktivitesi sonuçları karşılaştırıldığında iki grupta da kontrol grubuna göre, borik asit uygulamalarında azalma olduğu belirlenmiştir fakat Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde aynı durum geçerli değildir. Dinçer çeşidinde 5 mM borik asit uygulamasında CAT mRNA seviyesi kontrol grubuna göre artarken, CAT enzim aktivitesi kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Remzibey çeşidinde ise 10 mM borik asit uygulamasında CAT mRNA seviyesi kontrol grubuna göre artış gösterirken, enzim aktivitesi azalmıştır. Yine Remzibey 15 mM borik asit uygulamasında CAT mRNA seviyesi kontrol grubuna göre azalırken, enzim aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. CAT gen ifadesi sonuçları ile enzim aktivitesi sonuçlarının farklılık göstermesi, borik asitin gen düzenlemelerinde rol oynadığını göstermektedir (Princi, vd., 2016). Daha önceki çalışmalarda da bor elementinin gen ifadelerinin düzenlenmesinde çeşitli aşamalarda rol oynayarak, transkripsiyon ve translasyona müdahale edebildiği belirtilmiştir (Nozawa, vd., 2006; Reid, 2010). Bizim sonuçlarımızın da birbiri ile uyumsuz olması post-transkripsiyon veya post-translasyon düzenleme aşamalarında borik asitin gen ifadelerinin düzenlenmesinde olumsuz etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte, gen promotörleri, transkripsiyon faktörleri veya diğer başka bir gen/genler gibi genetik faktörlerde bu farklılığa neden olabileceği düşünülmektedir (Ara, vd., 2013).

### **5.15. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerine Ait Yaprak Dokularındaki APX mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi**

APX kodlayan genlerin çeşitli stres koşulları altında yeniden düzenlendiği ve gen ifadelerinin değişim gösterdiği bilinmektedir (Fryer vd., 2003; Menezes-Benavente, vd., 2004; Teixeira, vd., 2006; Rosa, vd., 2010; Bonifacio, vd., 2011). Bu çalışmada borik asit uygulaması ile aspir çeşitlerinde APX gen ifadesinin değişim gösterdiği ve çeşitler arasında APX mRNA seviyelerinde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Balcı çeşidinde APX mRNA seviyesinin 5 mM ve 10 mM borik asit uygulamasında kontrol

grubuna göre azalma göstermesi istatistiksel olarak önemsizdir ( $p < 0,05$ ). 15 mM borik asit uygulamasında ise kontrol grubuna göre önemli ( $p < 0,05$ ) bir artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.22). Dinçer çeşitinde APX mRNA seviyesi 5 mM ve 15 mM borik asit uygulamalarında kontrol grubuna göre önemli ( $p < 0,05$ ) bir artış göstermiştir (Şekil 4.23). Remzibey çeşitinde ise tüm borik asit konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre APX mRNA seviyesinin önemli düzeyde ( $p < 0,05$ ) arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.24). Bu çalışmaya benzer olarak Kayıhan ve arkadaşları (2016) da *Arabidopsis thaliana* ile yaptıkları bir araştırmada artan düzeylerde bor uygulaması sonucu APX enzim aktivitesi ve APX gen ifadelerinin benzer şekilde sonuç verdiğini tespit etmişlerdir. Uygulanan bor konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre APX enzim aktivitesi ve APX gen ifadesinin yükseldiğini belirtmişlerdir. Literatürde yer alan farklı çalışmalar da hardal, buğday, mercimek ve fasülye gibi birçok bitkide, stres şartlarında APX mRNA seviyelerinin ve APX enzim aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir (Mobin ve Khan, 2007; Khan, vd., 2007; Singh, vd., 2008; Polidoros ve Scandalios, 1999).

APX, farklı hücre içi bölümlerde rol alan, ROS seviyelerini düzenleyen anahtar bir enzimdir. APX kodlayan genlerin ifadesinin, farklı bitki türlerinde çeşitli abiyotik stresler tarafından farklı şekilde modüle edildiği bilinmektedir. (Caverzan, vd., 2012). Bu çalışmanın sonucunda, uygulanan borik asitin aspir çeşitlerinde oksidatif strese neden olarak ROS seviyesinin artışı indüklediğini; aspir çeşitlerinin APX mRNA seviyelerindeki artışın, oluşan bu ROS'ları yok etmek için aspir bitkisinin moleküler bir cevabı olduğu düşünülmektedir (Landi, vd., 2012).

Yaptığımız çalışmada GR enzim aktivitesi ve GR gen ifadesinin her ikisinin de borik asit uygulamalarında, Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde kontrol grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Balcı çeşidinde ise APX mRNA seviyesi 5 mM ve 10 mM'da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz düzeyde azalırken, enzim aktivitesi bu konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre önemli bir artış göstermiştir. Borun bir sinyal molekülü olarak transkripsiyon faktörleri ile doğrudan veya dolaylı olarak etkileşime girdiği ve birçok hedef genin ekspresyonunu düzenlediği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Gonza'les Fontes, vd., 2008, 2013; Reid, 2010; Ara, vd., 2013; Princi, vd., 2016). Bununla birlikte bazı genetik faktörler veya epigenetik faktörler de gen ifadelerini etkilemektedir (Ara, vd., 2013). Sonuçlar arasındaki uyumsuzluğun bu nedenlerden kaynaklandığı düşünülebilir.

### 5.16. Borik Asit Uygulamasının Aspir Çeşitlerine Ait Yaprak Dokularındaki GR mRNA Seviyesi Üzerine Etkisi

Glutatyon redüktaz enzimi, oksidatif strese karşı savunmada yer alırken çeşitli stres faktörlerine karşı bitkilerin toleransının belirlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Bowler, vd., 1992; Racchi, vd., 2001). Bu çalışmada Balcı çeşidinde GR mRNA seviyesi tüm borik asit konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre önemli bir azalma göstermiştir ( $p < 0,05$ ; Şekil 4.25). Dinçer çeşidinde 10 mM borik asit uygulamasında GR mRNA seviyesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artarken, diğer konsantrasyonlardaki değişimlerin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ; Şekil 4.26). Remzibey çeşitinde ise 5 mM ve 10 mM borik asit konsantrasyonlarında GR mRNA seviyesi kontrol grubuna göre önemli bir artış göstermiştir ( $p < 0,05$ ; Şekil 4.27).

Remzibey ve Dinçer çeşitlerinin *GR* gen ifadesindeki artışının, oluşan  $H_2O_2$ 'yi yok etmek için çeşitlerin moleküler cevabı olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar GR enziminin Remzibey çeşidinde aktif bir şekilde oksidatif strese karşı bir savunma mekanizması olarak görev alabileceğini göstermektedir. Balcı ve Dinçer çeşitlerinde, borik asitin neden olduğu oksidatif stres sonucu oluşan  $H_2O_2$ 'yi yok etmek için GR enziminin yetersiz kaldığı, uygulanan borik asitin çeşitlerde olumsuz yönde etki oluşturarak *GR* gen ifadesinin inhibe edilmesine neden olduğu düşünülmektedir (Landi, vd., 2012). Literatürde aspir bitkisinin borik asit ve *GR* gen ifadesi ilişkisine dair bir araştırmaya rastlanmamıştır. Fakat Taşğın ve arkadaşlarının (2017) soya bitkisinde yaptıkları kuraklık ve salisilik asit uygulaması sonuçları örnek olarak gösterilebilir. Çalışmada soya bitkisinde kuraklık ve salisilik asit uygulaması ile GR mRNA seviyesinin ve GR aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir.

GR enzimini kodlayan genlerin kantitatif gerçek zamanlı PZR ile ifade seviyeleri ölçüldüğünde elde edilen sonuçlar ile spektrofotometrik SOD aktivitesi sonuçlarının birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir. Borun tRNA'ların riboz şekeri üzerindeki cis hidrokisillerine bağlanarak translasyona müdahale edebileceği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Princi, vd., 2016). Sonuçların birbiri ile uyumsuz olması bu durumdan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca borun post-transkripsiyonel ve post-translasyonel gen düzenlemelerine etki ettiği, bundan dolayı da transkript seviyesi ve enzim aktivitesi arasında fark olduğu düşünülmektedir (Ara, vd., 2013).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bor elementi kuzeybatı Anadolu topraklarında bol miktarda bulunan ve endüstride pek çok alanda hammadde olarak kullanılan bir elementtir. Aynı zamanda bitkilerin ihtiyaç duyduğu mikro elementler arasında yer alan bor; zar geçirgenliği, protein metabolizması, kök büyümesi, nükleik asit ve ATP sentezi, polen çimlenmesi gibi önemli fizyolojik olaylarda rol oynar. Çok az miktarda ihtiyaç duyulan, yokluğunda ve fazlalığında bitki metabolizmasında bazı olumsuzluklara sebep olan bor ile zorlu koşullara kolayca adapte olabilen ve yaygın kullanım alanına sahip bir endüstri bitkisi olan aspir çalışmamızın konusunu oluşturmuştur.

Çalışmada üç farklı konsantrasyondaki borik asit üç aspir çeşidine uygulanarak ekofizyolojik parametrelerle SOD, CAT, APX, GR enzim aktiviteleri ve bu enzimlerin mRNA seviyesindeki değişiklikler araştırılmıştır. Yüksek borik asit konsantrasyonunun aspir çeşitlerinde çimlenme, kök-gövde uzunluğu, kök yaş-kuru ağırlığı, gövde yaş-kuru ağırlığı, kök-gövde biyokütke ve tohum canlılık indeksi parametrelerinin azalmasına neden olduğu ve erken büyüme evresini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Tolerans indeksi sonuçlarına göre bor elementine karşı en duyarlı çeşidin Remzibey en toleranslı çeşidin ise Balcı olduğu belirlenmiştir. Dinçer çeşidi ise bora karşı toleransta Balcı çeşidine daha yakındır. Elde edilen tolerans indeksi sonuçlarının büyüme parametrelerini de desteklemesi, bu özelliklerin bora karşı dayanıklı çeşitlerin belirlenmesinde rol alabileceğini göstermektedir.

Borun fotosentetik pigmentler üzerine çeşitler arasında farklı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Balcı ve Remzibey çeşitlerinde toplam klorofil (klo  $a+b$ ) içeriğinin azalması borun tilakoid membranların yapısını bozduğu ve klorofil sentezinden sorumlu protein ve enzimleri inhibe ettiği oksidatif stresin bir sonucu şeklinde açıklanabilir.

Protein miktarı bakımından bordan en çok etkilenen çeşit Remzibey iken en az etkilenen çeşit Balcı çeşididir. Yüksek bor konsantrasyonu protein sentezini indükleyerek protein miktarının artmasına sebep olmuştur. Remzibey çeşidinde azalan protein miktarı ise borun olumsuz etkisi nedeni ile proteinlerin parçalanması şeklinde açıklanabilir.

Bor elementi bitkilerde antioksidan yollarda değişimlere neden olmaktadır. Bu çalışmada Balcı, Dinçer ve Remzibey çeşitlerinde borik asitin antioksidan enzimler üzerine etkisi dört farklı enzim (SOD, CAT, APX ve GR) ele alınarak incelenmiştir.

Artan bor konsantrasyonlarında SOD ve APX enzim aktivitesi artmış; CAT ve GR enzim aktivitesi azalmıştır. Spektrofotometrik sonuçların yanı sıra aynı enzimlerin gen ekspresyonlarındaki değişim de belirlenmiştir. Antioksidan enzimlerin gen ifadeleri ve enzim aktivitelerine ait sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; bor stresinin neden olduğu ROS'ların giderilmesinde Dinçer çeşidinde APX ve SOD, Balcı çeşidinde APX, Remzibey çeşidinde ise çalışılan tüm antioksidan enzimlerin görev aldığı ortaya konmuştur. Bu sonuçlar göstermektedir ki bor stresinin neden olduğu oksidatif stresle baş edebilmek için en yüksek antioksidan kapasite Remzibey'de, en düşük Balcı çeşidindedir.

Bitki metabolizmasında önemli bir mikro besin elementi olan bor; farklı bitkilerde farklı miktarlarda, farklı tepkiler oluşturmaktadır. Endüstride birçok kullanım alanı bulunan, gelecekte biyodizel üretiminde kullanılabilecek potansiyele sahip, stres koşullarına adaptasyon yeteneği nedeni ile marjinal alanların değerlendirilmesinde alternatif bir bitki olan aspirin tüm bitkilerde olduğu gibi, bora karşı olan ekolojik, fizyolojik ve moleküler yanıtları tam olarak bilinmemektedir. Özellikle antioksidan enzim aktivitesi çalışmaları ve genomik çalışmalar bakımından bor ve aspirin birlikte ele alındığı çalışmalarla ilgili literatürde önemli bir boşluk bulunmaktadır. Bu bağlamda çalışmamız ilerleyen zamanlarda daha da önem kazanacak bitkiler arasında yer alan aspirin fizyolojisi ve moleküler özellikleri ile ilgili yapılacak olan diğer çalışmalara öncü bir çalışma niteliğindedir. Bu çalışma değişen ekolojik koşullar nedeni ile bitki tarafından geliştirilen savunma mekanizmasının aydınlatılmasında gerek diğer antioksidan enzimlerle ilgili gerekse moleküler seviyede yapılacak olan araştırmalara temel oluşturacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

- Adriano, D. C., "Trace elements in the terrestrial environment", *Springer-Verlag*, New York, 73-105 (1986).
- Aftab, T., Khan, M. M. A., Naeem, M., Idrees, M., Moinuddin., Teixeira da Silva, J.A., Ram, M., "Exogenous nitric oxide donor protects *Artemisia annua* from oxidative stress generated by boron and aluminium toxicity", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80: 60–68 (2012).
- Aftab, T., Khan, M., Masroor, A., Idrees, Mohd., Naeem, M., Singh, Minu. and Mauji, R., "Stimulation of crop productivity, photosynthesis and artemisinin production in *Artemisia annua* L. by triacontanol and gibberellic acid application", *Journal of Plant Interactions*, 5 (4), 273-281 (2010).
- Ahlawat, I. P. S., "Agronomy–Rabi Crops Safflower", *Division of Agronomy Indian Agricultural Research Institute*, 10 (2008).
- Akman, Y., Ketenoğlu, O., Kurt, L., Güney, K., Hamzaoğlu, E. ve Tuğ, N., "Angiospermae (Kapalı Tohumlular)", *Palme Yayınları*, İstanbul, 810 (2007).
- Alpaslan, M., Taban, S., İnal, A., Kütük, A. C., Erdal, İ., "Besin çözeltisinde yetiştirilen buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkisinde bor-azot ilişkisi", *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 2, 215-219 (1996).
- Altun, F., "Bor", *Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü Yayınları*, Ankara, 80 (2005).
- Angın, D. ve Şensöz, S., "Aspir tohumu pres küspesinin pirolizinde sürükleyici gaz (N<sub>2</sub>) akış hızının etkisi ve sıvı ürün karakterizasyonu", *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18 (4): 535-542 (2006).
- Ara, N., Nakkanong, K., Lv, W., Yang, J., Hu, Z. and Zhang, M., "Antioxidant Enzymatic Activities and Gene Expression Associated with Heat Tolerance in the Stems and Roots of Two Cucurbit Species (*Cucurbita maxima* and *Cucurbita moschata*) and Their Interspecific Inbred Line *Maxchata*", *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 24008-24028 (2013).
- Arnon, D. I., "Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*", *Plant Physiol.*, 24: 1-15 (1949).
- Arora, A., Byrem, T. M., Nair, M. G. and Strasburg, G. M., "Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 373 (1): 102–109 (2000).
- Arslan, B., Altuner, F. ve Tunçtürk, M., "Van'da yetiştirilen bazı aspir (*Carthamus tinctorius*, L.) çeşitlerinin verim ve verim özellikleri üzerinde bir araştırma", *Türkiye 5.TB Kongresi*, Diyarbakır (2003).
- Aruoma, O. I., "Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 2 (1998).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Arvind, P., Prasad, M. N. V., “Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L., A free-floating freshwater macrophyte”, *Plant Physiol Biochem*, 41: 391-7 (2003).
- Asada, K. and Takahashi, M., “Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis”, in *Photoinhibition: Topics of Photosynthesis*, 227–287 (1987).
- Asada, K., “Ascorbate peroxidase: a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants”, *Physiologia Plantarum*, 85 (2): 235–241 (1992).
- Asada, K., “Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues”, in *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants*, 77–104 (1994).
- Ashagre, H., Ibrahim, A., Hamza, İ. A., Fita, U. and Nedesa, W., “Influence of boron on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.)”, *Afr. J. Plant Sci.*, 8 (2): 133-139 (2014a).
- Ashagre, H., Ibrahim, A., Hamza, İ. A., Fita, U. and Estifanos, E., “Boron toxicity on seed germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.)”, *Herald Journal of Agriculture and Food Science Research*, 3 (1): 1-6 (2014b).
- Atalay, E., Gezgin, S., Babaoğlu, M., “Buğday (*Triticum durum* Desf.) ve Arpa (*Hordeum Vulgare* L.) İn Vitro Fidelerinin Bor Alımının ICP-AES ile Tespiti”, *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(32): 47-52 (2003).
- Attia, S., Egger, M., Müller, M., Zwahlen, M., Low, N., “Sexual transmission of HIV according to viral load and antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis”, *AIDS*, 23 (11): 1397-1404 (2009).
- Atukeren, P. and Gümüştas, K., “Expression Of Hypoxia Inducible Factor-1 Alpha In Tumors Of Patients With Of Patients With Glioblastoma Multiforme And Transitional Meningioma”, *Journal of Clinical Neuroscience*, 15: 1039-1042 (2008).
- Aydın, O. ve Akınerdem, F., “Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) farklı ekim sıklıklarının verim ve kalite üzerine etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya (2012).
- Babaoğlu, M., “Aspir tarımı (*Carthamus tinctorius* L.)”, 2005 [http://www.ttae.gov.tr/makaleler/aspir\\_tarimi.htm](http://www.ttae.gov.tr/makaleler/aspir_tarimi.htm) (2018).
- Babaoğlu, M., “Aspir ve tarımı”, *Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü*, Edirne (2007).
- Babaoğlu, M., “Dünya ve Türkiye’de aspir bitkisinin tarihi, kullanım alanları ve önemi”, *Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü*, Edirne (2006).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Barnes, J. D., Zheng, Y. and Lyons, T. M., "Plant resistance to ozone: the role of ascorbate", *in Air Pollution and Plant Biotechnology*, 235–254 (2002).
- Bassil, E. S., Kaffka, S. R. and Hutmacher, R. A., "Response of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to residual soil N following cotton (*Gossypium* spp.) in rotation in the San Joaquin Valley of California", *Journal of Agricultural Science*, 138: 395-402 (2002).
- Bast, A., Haenen, G., Goelmen, J. A., "Oxidants and antioxidants: State of the art", *Am J. Med.*, 91(3): 2-13 (1991).
- Baydar, H., "Giberellik asidin aspir (*Carthamus tinctorius* L.)’de erkek kısırlık, tohum verimi ile yağ ve yağ asitleri sentezi üzerine etkisi", *Türk J. Biol.*, 24: 159-168 (2000).
- Baykal, A. S. ve Oncel, I., "Changes of soluble phenolic and soluble protein amounts on the tolerance of boron toxicity in wheat seedlings", *Cumhuriyet Science Journal*, 27: 1 (2006).
- Bergman, J. W. and Charles, R. F., "Evaluation of safflower and other oil seed crops grown in the United States Northern Plains region for biofuels/biobased products", *Proceedings of VII<sup>th</sup> International Safflower Conference*, Wagga Wagga, Australia (2008).
- Bergmann, W., "Nutritional Disorders of Plants, Development, Visual and Analytical Diagnosis", *Gustav Fischer Verlag Jena*, Stuttgart, 741 (1992).
- Beyer, W. F. and Fridovich, I., "Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions", *Anal Biochem.*, 161 (2): 559-566 (1987).
- Bhattacharjee, S., "Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plant", *Curr. Sci.*, 89: 1113-1121 (2005).
- Blevins, D. G. and Lucaszewski, K. M., "Boron in Plant Structure and Function", *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49: 481-500 (1998).
- Bonifacio, A., Martins, M. O., Ribeiro, C. W., Fontenele, A. V., Carvalho, F. E., Margis-Pinheiro, M., Silveira, J. A., "Role of peroxidases in the compensation of cytosolic ascorbate peroxidase knockdown in rice plants under abiotic stress", *Plant Cell Environ*, 34: 1705–1722 (2011).
- Boo, Y. C. and Jung, J., "Water deficit - Induced oxidative stress and antioxidative defenses in rice plants", *Journal of Plant Physiology*, 155 (2): 255–261 (1999).
- Bowler, C., Van Montagu, M. and Inz'e, D., "Superoxide dismutase and stress tolerance", *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43 (1): 83–116 (1992).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Boyacı, S. and Çağlar, S. A., “Study on the production of branched apple tree under nursery condition in Turkey, *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2 (1): 107-111 (2009).
- Bradford, M. M., “A rapid and sensitive method for the quantification of micro gram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding”, *Anal. Biochem.*, 72: 248–254 (1976).
- Brown, P. H., Bellaloui, N., Wimmer, M. A., Bassil, E. S., Ruiz, J., Hu, H., Pfeffer, H., Dannel, F. and Romheld, V., “Boron in plant biology”, *Plant Biol.*, 4: 203-223 (2002).
- Burke, J. J. and Oliver, M. J., “Differential temperature sensitivity of pea superoxide dismutases”, *Plant Physiol.*, 100: 1595–1598 (1992).
- Campbell, W. J., “Nitrate reductase and its role in nitrate assimilation in plants”, *Physiol. Plant*, 74: 214–219 (1988).
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F. and Margis-Pinheiro, M., “Plant responses to stresses: Role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection”, *Genetics and Molecular Biology*, 35 (4): 1011-1019 (2012).
- Cervilla, J. A., Molina, E., Rivera, M., Torres-González, F., Bellón, J. A., Moreno, B., Luna, J. D., Lorente, J. A., Mayoral, F., King, M., Nazareth, I., “The risk for depression conferred by stressful life events is modified by variation at the serotonin transporter 5HTTLPR genotype: evidence from the Spanish PREDICT-Gene cohort”, *Mol. Psychiatry.*, 12(8): 748-755 (2007).
- Chang, C., Wang, B., Shi, L., Li, Y., Duo, L., Zhang, W., “Alleviation of salt stress-induced inhibition of seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by ethylene and glutamate”, *Journal of Plant Physiology*, 167: 1152-1156 (2010).
- Chauhan, R. P. S. and Power, S. L., “Tolerance of wheat and pea to boron in irrigation water”, *Plant and Soil*, 50: 145-190 (1978).
- Chen, Z., Young, T. E., Ling, J., Chang, S. C. and Gallie, D. R., “Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100 (6): 3525–3530 (2003).
- Choi, E., Kolesik, P., McNeill, A., Collins, H., Zhang, Q., Huynhi, B., Graham, R., Stangoulis, J., “The Mechanism of Boron Tolerance for Maintenance of Root Growth in Barley (*Hordeum vulgare* L.)”, *Plant Cell and Environment*, 30: 984-993 (2007).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Corleto, A., Cazzato, E. and Vetricelli, P., "Performance of hybrid and O.P. safflower in two different Mediterranean environments", *Proceedings of the Fourth International Safflower Conference*, Bari-Italy, 276-278 (1997).
- Corpas, F. J., Palma, J. M., Sandalio, L. M., Valderrama, R., Barroso, J. B. and del Rio, L. A., "Peroxisomal xanthine oxidoreductase: characterization of the enzyme from pea (*Pisum sativum* L.) leaves", *Journal of Plant Physiology*, 165 (13): 1319–1330 (2008).
- Cöşge, B., Gürbüz, B. ve Kıralan, M., "Oil content and fatty acid composition of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties sown in spring and winter", *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1(3): 11-15 (2007).
- Cramer, G. R., "Abiotic stress & plant responses from the whole vine to the genes", *Aust J Grape Wine Res.*, 16: 86-93 (2010).
- Cramer, G. R., Ergul, A., Grimplet, J., Tillett, R. L., Tattersall, E. A., Bohlman, M. C., Vincent, D., Sonderegger, J., Evans, J., Osborne, C., Quilici, D., Schlauch, K. A., Schooley, D. A., Cushman, J. C., "Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles", *Funct Integr Genomics*, 7 (2): 111-134 (2007).
- Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., and Shinozaki, K., "Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective", *BMC Plant Biology*, 11: 163 (2011).
- Çakmak, I. and Horst, J. H., "Effects of Aluminium on Lipid Peroxidation, Superoxide Dismutase, Catalase, and Peroxidase Activities in Root Tips of Soybean (*Glycine Max*)", *Physiologia Plantarum*, 83: 463-468 (1991).
- Çakmak, I. And Romheld, V., "Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants", *Plant and Soil*, 193: 71–83 (1997).
- Çamaş, M., "Borun Genotoksik Etkilerinin *Hordeum vulgare* L. Üzerinde İncelenmesi", Yüksek lisans tezi, *Gebze İleri Teknoloji Enstitüsü*, Kocaeli (2006).
- Çamaş, N., Çırak, C. and Esenal, E., "Seed yield, oil content and fatty acids composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown in Northern Turkey conditions", *J. of Fac. of Agric.*, OMU 22 (1): 98-104 (2007).
- Çulha, Ş., "Tuz stresinin aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerindeki bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin incelenmesi", Yüksek lisans tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara (2011).
- Dajue, L. and Mündel, H. H., "Safflower (*Carthamus tinctorius* L.)", *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*, 7 (1996).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Dajue, L., “Progress of safflower research and production in China”, *3th International Safflower Conference*, Beijing, China, 35-46 (1993).
- Dalton, D. A., Baird, L. M., Langeberg, L. et al., “Subcellular localization of oxygen defense enzymes in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) root nodules”, *Plant Physiology*, 102 (2): 481–489 (1993).
- Dalton, T. P., Shertzer, H. G., Puga, A., “Regulation of gene expression by reactive oxygen”, *Annu. Rev. Pharmacol.*, 39: 67-101 (1999).
- Dannel, F., Pfeffer, H. and Romheld, V., “Update on boron in higher plants-uptake, primary translocation and compartmentation”, *Plant Biol.*, 4: 193-204 (2002).
- De Pinto, M. C. and De Gara, L., “Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation”, *Journal of Experimental Botany*, 55 (408): 2559–2569 (2004).
- Del Río, L. A., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Palma, J. M., Gómez, M., Barroso, J. B., “Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes”, *J. Exp. Bot.*, 53 (372): 1255-72 (2002).
- Del Rio, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M., Barroso, J. B., “Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling”, *Plant Physiol.*, 141: 330-335 (2006).
- Demirci, M., Esendal, E., Geçgel, Ü. ve Taşan, M., “Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Yağının Yağ Asidi Kompozisyonu ve Besin Değeri”, *Türkiye I. Yağlı Tohumlar, Bitkisel Yağlar ve Teknolojileri Sempozyumu*, İstanbul, 126-130 (2003).
- Dhindsa, R. S., and Cleland R. E., “Water stress and protein synthesis: I. Differential inhibition of protein synthesis”, *Plant Physiol.*, 55(4): 778-781 (1975).
- Dipierro, S. and Borraccino, G. “Dehydroascorbate reductase from potato tubers”, *Phytochemistry*, 30 (2): 427–429 (1991).
- Diplock, T., Machlin, L. J., Packer, L. and Pryor, W. A., “Vitamin E: biochemistry and health implications”, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 570: 372–378 (1989).
- Dordas, C., Chrispeels, M. J. and Brown, P. H., “Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots”, *Plant Physiol.*, 124: 1349-1361 (2000).
- Dubey, R. S., “Protein synthesis by plants under stressful conditions”, *Handbook of Plant and Crop Stress*, New York, 277- 299 (1994).
- Duke, J., “Handbook of Energy Crops” (1983).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Edwards, E. A., Rawsthorne, S. and Mullineaux, P. M., “Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.)”, *Planta*, 180 (2): 278–284 (1990).
- Ekmekçi, Y., Terzioglu, S., “Effects of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats”, *Pest. Biochem. Physiol.*, 83: 69-81 (2005).
- Eltayeb, A. E., Kawano, N. G., Badawi, H. et al., “Overexpression of monodehydroascorbate reductase in transgenic tobacco confers enhanced tolerance to ozone, salt and polyethylene glycol stresses”, *Planta*, 225 (5): 1255–1264 (2007).
- Eltayeb, A. E., Yamamoto, S., Habora, M. E. E., Yin, L., Tsujimoto, H. and Tanaka, K., “Transgenic potato overexpressing Arabidopsis cytosolic AtDHAR1 showed higher tolerance to herbicide, drought and salt stresses”, *Breeding Science*, 61 (1): 3–10 (2011).
- Erturk, F. A., Nardemir, G., Hilal, A. Y., Arslan, E., Agar, G., “Determination of genotoxic effects of boron and zinc on *Zea mays* using protein and random amplification of polymorphic DNA analyses”, *Toxicol Ind Health*, 31 (11): 1015-1023 (2013).
- Esim, N., Tiryaki, D., Karadagoglu, Ö., Atıcı, Ö., “Toxic effects of boron on growth and antioxidant system parameters of maize (*Zea mays* L.) roots”, *Toxicology and Industrial Health*, 29: 9 (2012).
- Farr, H. J., “Early Growth Tolerance to Boron and Salt in Wheat and Barley”, Msc Thesis, *Agricultural Technology*, 95 (2010).
- Feierabend, J., Schaan, C., Hertwig, B., “Photoinactivation of catalase occurs under both high- and low-temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II”, *Plant Physiol*, 100: 1554–1561 (1992).
- Forcat, S., Bennett, M. H., Mansfield, J. W., Grant, M. R., “A rapid and robust method for simultaneously measuring changes in the phytohormones ABA, JA and SA in plants following biotic and abiotic stress”, *Plant Methods*, 4 (2008).
- Foyer, C. H. and Noctor, G., “Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria”, *Physiologia Plantarum*, 119 (3): 355–364 (2003).
- Foyer, C. H., Descourvières, P. and Kunert, K. J., “Protection against oxygen radicals: An important defence mechanism studied in transgenic plants”, *Plant. Cell. Environ*, 17: 507–523 (1994).
- Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F. and Scott, I. M., “Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling”, *Physiologia Plantarum*, 100 (2): 241–254 (1997).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Foyer, C. H., Noctor, G., “Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses”, *Plant Cell*, 17: 1866-1875 (2005).
- Francois, L. E. and Bernstein, L., “Salt Tolerance of Safflower”, *Agron. J.*, 54: 38-40 (1964).
- Fridovich, I., “Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas”, *Journal of Biological Chemistry*, 264 (14): 7761–7764 (1989).
- Fryer, M. J., “The antioxidant effect of thylakoid vitamin-E ( $\alpha$ -tocopherol)”, *Plant, Cell and Environment*, 15 (4): 381–392 (1992).
- Fryer, M. J., Ball, L., Oxborough, K., Karpinski, S., Mullineaux, P. M., Baker, N. R., “Control of Ascorbate Peroxidase2 expression by hydrogen peroxide and leaf water status during excess light stress reveals a functional organisation of Arabidopsis leaves”, *The Plant Journal*, 33 (4): 691-705 (2003).
- Gao, Q. and Zhang, L., “Ultraviolet-B-induced oxidative stress and antioxidant defense system responses in ascorbate deficient vtc1 mutants of *Arabidopsis thaliana*”, *Journal of Plant Physiology*, 165 (2): 138–148 (2008).
- Gezgin, S., “Tahılların Bor Noksanlığına Tepkileri”, *Ülkesel Tahıl Sempozyumu* (2008).
- Ghorashy, S. R., Sionit, N. and Kheradnam, M., “Salt tolerance of safflower varieties (*Carthamus tinctorius* L.) during emergence”, *Agron. J.*, 64: 256 (1972).
- Gill, S. S., Khan, N. A., Anjum, N. A., Tuteja, N., “Amelioration of cadmium stress in crop plants by nutrients management: Morphological, physiological and biochemical aspects”, *Plant Stress, in press*, 1-23 (2009).
- Gill, S. S., Tuteja, N., “Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants”, *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (12): 909-930 (2010).
- Goldberg, S., “Reactions of boron with soils”, *Plant and Soil*, 193: 35–48 (1997).
- Gómez, J. A., Giraldez, J., Pastor, M., Fereres, E., “Effects of tillage method on soil physical properties, infiltration and yield in an olive orchard”, *Soil and Tillage Research*, 52 (3): 167-175 (1999).
- González-Fontes, A., Rexach, J., Navarro-Gochicoa, M. T., Herrera-Rodríguez, M. B., Beato, V. M., Maldonado, J. M., Camacho-Cristóbal, J. J., “Is boron involved solely in structural roles in vascular plants?”, *Plant Signal Behav.*, 3: 24–26 (2008).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Gonza'lez-Fontes, A., Rexach, J., Quiles-Pando, C., Herrera-Rodr'iguez, M. B., Camacho-Cristo'bal, J. J., Navarro-Gochicoa, M. T., "Transcription factors as potential participants in the signal transduction pathway of boron deficiency", *Plant Signal Behav.*, 8 (11): 1–3 (2013).
- Good, A. G., Zaplachinski, S. T., "The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in brassica napus", *Physiol Plant.*, 90 (1): 9-14 (1994).
- Grace, S. G. and Logan, B. A., "Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway", *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 355 (1402): 1499–1510 (2000).
- Gratao, P. L., Polle, A., Lea, P. J., Azevedo, R.A., "Making the life of heavy metal stressed plants a little easier", *Funct. Plant Biol.*, 32: 481-494 (2005).
- Guan, Z., Chai, T., Zhang, Y., Xu, J. and Wei, W., "Enhancement of Cd tolerance in transgenic tobacco plants overexpressing a Cd-induced catalase cDNA", *Chemosphere*, 76 (5): 623–630 (2009).
- Gupta, A. S., Heinen, J. L., Holaday, A. S., Burke, J. J. and Allen, R. D., "Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90 (4): 1629–1633 (1993).
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., "Free Radicals in Biology and Medicine", *Oxford University Press*, 3 (1999).
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., "The Importance of Free Radicals and Catalytic Metal Ions In Human Diseases", *Mol. Aspects Med.*, 8 (2): 89-193 (1985).
- Han, S., Tang, N., Jiang, H. X., Yang, L. T., Li, Y., Chen, L. S., "CO<sub>2</sub> assimilation, Photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress", *Plant Sci.*, 176: 143-153 (2009).
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K., Charoensataporn, R., "Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar", *Science Asia*, 29 (2003).
- Harite, Ü., "Pamukta Bor Toksisitesine Dayanıklılık", Yüksek Lisans Tezi, *Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Aydın (2008).
- Hern'andez, J. A., Ferrer, M. A., Jim'enez, A., Barcel'ó, A. R. and Sevilla, F., "Antioxidant systems and O<sup>-</sup><sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins", *Plant Physiology*, 127 (3): 817–831 (2001).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Hernández, J. A., Jimenez, A., Mullineaux, P. M. and Sevilla, F., “Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defense”, *Plant, Cell and Environment*, 23: 853-862 (2000).
- Hossain, M. A. and Asada, K., “Purification of dehydroascorbate reductase from spinach and its characterization as a thiol enzyme”, *Plant and Cell Physiology*, 25 (1): 85–92 (1984a).
- Hossain, M. A., Nakano, Y. and Asada, K., “Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplasts and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide”, *Plant and Cell Physiology*, 25 (3): 385–395 (1984b).
- Hossain, M. F., Shenggang, P., Meiyang, D., Zhaowen, M., Karbo, M. B., Bano, A., Xiangru, T., “Photosynthesis and antioxidant response to winter rapeseed (*Brassica napus* L.) as affected by boron”, *Pak. J. Bot.*, 47 (2): 675–684 (2015).
- Hu, H., and Brown, P. H., “Absorption of Boron by Plants Roots”, *Plant and Soil*, 193: 49-58 (1997a).
- Hu, H., Penn, S. G., Lebrilla, C. B. and Brown, P. H., “Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants”, *Plant Physiol.*, 113: 649–655 (1997b).
- Huang, C. and Graham, R. D., “Resistance of wheat genotypes to boron toxicity is expressed at the cellular level”, *Plant and Soil*, 126: 295–300 (1990).
- Hussein, M. M., Shaaban, M. M. and El-Saady, A. K. M., “Response of Cowpea Plants Grown Under Salinity Stress to PK-Foliar Applications”, *American Journal of Plant Physiology*, 3: 81-88 (2008).
- IBM SPSS, Version 21, Chicago II, USA.
- Işık, G., Leblebici, S., “Seed germination behavior of some safflower (*Carthamus tinctorius*) varieties according to habitat conditions containing different concentrations of boric acid”, *Pak J. Bot.*, 48(6): 2211-2214 (2016).
- Ivanov, B. N. and Khorobrykh, S., “Participation of photosynthetic electron transport in production and scavenging of reactive oxygen species”, *Antioxidants and Redox Signaling*, 5(1): 43–53 (2003).
- İlkdoğan, U., “Türkiye’de aspir üretimi için gerekli koşullar ve oluşturulacak politikalar”, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara (2012).
- İşler, N., “Aspir Tarımı”, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Hatay <http://www.mku.edu.tr/files/898-7f299b9f-6e6e-4418-aa25-7dd9fbd65874.pdf> (2018).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Jabeen, N. and Ahmad, R. "Improvement in growth and leaf water relation parameters of Sunflower and Safflower plants with foliar application of nutrient solutions under salt stress", *Pak. J. Bot.*, 44 (4): 1341-1345 (2012).
- Jackson, C., Dench, J., Moore, A. L., Halliwell, B., Foyer, C. H. and Hall, D. O., "Subcellular localisation and identification of superoxide dismutase in the leaves of higher plants", *European Journal of Biochemistry*, 91 (2): 339–344 (1978).
- Jamei, R., Heidari, R., Khara, J., Zare, S., "Hypoxia Induced changes in the lipid peroxidation, membrane permeability, reactive oxygen species generation, and antioxidative response systems in *Zea mays* leaves", *Turk. J. Biol.*, 33: 45-52 (2009).
- Jebara, S., Jebara, M., Liman, F. and Aouani, E., "Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaicol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress", *Journal of Plant Physiology*, 162: 929-936 (2005).
- Kacar, B. and Katkat, V., "Bitki Besleme", **Nobel Yayın** (2006).
- Kacar, B. ve Katkat, V., "Gübreler ve Gübreleme Tekniği", Uludağ Üniv. Güçlendirme Vakfı, *Vipaş Yayın*, Bursa (1999).
- Kaçar, B., Katkat, A. V., Öztürk, Ş., "Bitki Fizyolojisi", *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara, 4-848: 556 (2010).
- Kagan, V. E., Fabisiak, J. P. and Quinn, P. J., "Coenzyme Q and vitamin E need each other as antioxidants", *Protoplasma*, 214 (1-2): 11–18 (2000).
- Kamal-Eldin, A. and Appelqvist, L. A., "The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols", *Lipids*, 31 (7): 671–701 (1996).
- Kanematsu, S. and Asada, K., "Cu/zn-superoxide dismutases in rice: occurrence of an active, monomeric enzyme and two types of isozyme in leaf and non-photosynthetic tissues", *Plant and Cell Physiology*, 30 (3): 381–391 (1989).
- Karaaslan, D. ve Hakan, M., "Diyarbakır koşullarında aspir için en uygun yazlık ekim zamanının ve çeşitlerinin belirlenmesi", *Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi*, Erzurum-Türkiye, 665-668 (2007).
- Karabal, E., Yücel, M., Öktem, A. H., "Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity", *Plant Science*, 164: 925-933 (2003).
- Kaya, C. and Ashraf, M., "Exogenous application of nitric oxide promotes growth and oxidative defense system in highly boron stressed tomato plants bearing fruit", *Scientia Horticulturae*, 185: 43-47 (2015).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Kaya, C., Ashraf, M., Sonmez, O., Aydemir, S., Tuna, A. L., Cullu, M. A., “The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity”, *Sci. Hortic.*, 121: 1–6 (2009).
- Kaya, M. D., İpek, A. and Özdemir, A., “Effects of Different Soil Salinity Levels on Germination and Seedling Growth of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.)”, *Tr. J. Agri. and Forestry*, 27: 221- 227 (2003).
- Kayıhan, D. S., Kayıhan, C., Çiftçi, Y. Ö., “Excess boron responsive regulations of antioxidative mechanism at physio-biochemical and molecular levels in *Arabidopsis thaliana*”, *Plant Physiol Biochem*, 109: 337-345 (2016).
- Keleş, Y., Ergün, N., Öncel, I., “Antioxidant enzyme activity affected by high boron concentration in sunflower and tomato seedlings”, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42: 173–183 (2011).
- Khan, N. A., Samiullah, T., Singh, S., Nazar, R., “Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress”, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193: 435–444 (2007).
- Khan, N. A., Singh, S. (Eds.), “Abiotic Stress and Plant Responses”, *IK International*, (2008).
- Kıllı, F., “Gıda ve Yakıt Amaçlı Kolza ve Aspir Üretim Potansiyeli ve Bazı Yağlı Tohumlu Bitkilerin Yakıtla İlişkili Önemli Özellikleri”, *1.Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu*, 40 (2007).
- Kırıcı, S. ve İnan, M., “Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)’de farklı çiçek hasat tarihlerinin çiçek ve tohum verimleri ile toplam boyar madde ve yağ oranlarına etkileri”, *Türkiye 4. Tarla Bitkileri Kongresi*, Tekirdağ, 67-71 (2001).
- Kızıl, S., Çakmak, Ö., Kırıcı, S. and İnan, M., “A comprehensive study on Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in semi-arid conditions”, *Biotechnol&Biotechnol*. 23(2): 947-953 (2008).
- Kilian, J., Whitehead, D., Horak, J., Wanke, D., Weigl, S., Batistic, O., D’Angelo, C., Bornberg-Bauer, E., Kudla, J., Harter, K., “The AtGenExpress global stress expression data set: protocols, evaluation and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses”, *Plant J.*, 50(2): 347-363 (2007).
- Knights, S., “Safflower: potential and world adaptability, IREC Farmers”, *Newsletter*, 176: 34-35 (2007).
- Kobayashi, K., Kumazawa, Y., Miwa, K. And Yamanaka, S., “ $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glutamyl) lysine cross-links of spore coat proteins and transglutaminase activity in *Bacillus subtilis*”, *FEMS Microbiology Letters*, 144 (2-3): 157–160 (1996).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Köşkeroğlu, S., “Tuz ve su stresi altındaki mısır (*Zea mays* L.) bitkisinde prolin birikim düzeyleri ve stres parametrelerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, **Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, İzmir (2005).
- Küçükakyüz, K., Yıldıztekin, M., Civelek, H. S., Nadeem, S., Tuna, A. L., “Antioxidative Defence Mechanisms in Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Plants Sprayed with Different Pesticides and Boron compounds”, **International Journal of Secondary Metabolite**, 5 (3): 200-209 (2018).
- Kwak, J. M., Mori, I. C., Pei, Z. M. et al., “NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF genes function in ROS-dependent ABA signaling in Arabidopsis”, **EMBO Journal**, 22 (11): 2623–2633 (2003).
- Landi, M., Degl’Innocenti, E., Pardossi, A. and Guidi, L., “Antioxidant and Photosynthetic Responses in Plants Under Boron Toxicity: A Review”, **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, 7 (3): 255-270 (2012).
- Lawlor, D. W. and Cornic, G., “Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants”, **Plant Cell and Environment**, 25: 275-294 (2002).
- Lester, N. P., Shuter, B. J. and Abrams, P. A., “Interpreting the von Bertalanffy model of somatic growth in fishes: the cost of reproduction”, **Proceedings of the Royal Society of London B**, 271: 1625–1631 (2004).
- Levitt, J., “Responses of Plant to Environmental Stresses”, **Vol.II, Water Radiation, Salt and Other Stresses, Academic Press, Inc., 2nd. Edition**, 607 (1980).
- Lin, C. C. and Kao, C. H., “Effect of NaCl on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism in rice leaves”, **Plant Growth Regulation**, 30: 151-155 (2000).
- Lin, N., Fan, S., Shan, G., Zuo, P. and Cui, L., “Safflower Yellow for Acute Ischemic Stroke: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials”, **Complementary Therapies in Medicine**, 22 (2): 354-361 (2014).
- Liu, D., Jiang, W., Liu, C., Xin, C., Hou, W., “Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian mustard [*Brassica juncea* (L.)]”, **Bioresource Technology**, 71 (3): 273-277 (2000a).
- Liu, D., Jiang, W., Zhang, L., Li, L., “Effects of Boron Ions on Root Growth and Cell Division of Broadbean (*Vicia faba* L.)”, **Israel Journal of Plant Science**, 48: 47–51 (2000b).
- Liu, J. X. and Howell, S. H., “Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental stress responses in plants”, **Plant Cell**, 22 (9): 2930-2942 (2010).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Lovatt, C. J. and Bates, L. M., “Early effects of excess boron on photosynthesis and growth of *Cucurbita pepo*.”, *J. Exp. Bot.*, 35: 297-305 (1984).
- Luis, M., Cervilla, J. A., Begoña B., Rios, J. J., Rosales, M. A., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. M., Romero, L. and Ruiz, J. M., “Parameters Symptomatic for Boron Toxicity in Leaves of Tomato Plants”, *Journal of Botany*, 17 (2012).
- Lukaszewski, K. M. and Blevins, D. G., “Root Growth Inhibition in Boron-Deficient or Aluminum-Stressed Squash May Be a Result of Impaired Ascorbate Metabolism”, *Plant physiology*, 112 (3): 1135-1140 (1996).
- Madhusudhan, R., Ishikawa, T., Sawa, Y., Shigeoka, S. and Shibata, H., “Characterization of an ascorbate peroxidase in plastids of tobacco BY-2 cells”, *Physiologia Plantarum*, 117 (4): 550–557 (2003).
- Mahajan, S., Tuteja, N., “Cold, salinity and drought stresses: an overview”, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158 (2005).
- Mahboobi, H., Yücel, M., Öktem, H. A., “Changes in Total Protein Profiles of Barley Cultivars in Response to Toxic Boron Concentration”, *Journal of Biological Sciences*, 23 (3): 391-399 (2000).
- Maheshwari, R. and Dubey, R. S., “Nickel-induced oxidative stress and the role of antioxidant defence in rice seedlings”, *Plant Growth Regulation*, 59 (1): 37–49 (2009).
- Marschener, H., “Mineral Nutrition of Higher Plants”, *Ed 2. Academic Pres.*, 889 (1995).
- Melchiorre, M., Quero, G. E., Parola, R., Racca, R., Trippi, V. S., Lascano, R. S., “Physiological characterization of four model Lotus diploid genotypes: *L. japonicus* (MG20 and Gifu), *L. filicaulis*, and *L. burtii* under salt stress”. *Plant Science*, 177: 618–628 (2009).
- Memon, S. Q., Mirjat, M. S., Mughal, A. Q. and Amjad, N., “Effect of conventional and non-conventional tillage practices on maize production”, *Pak. J. Agri., Agril. Engg., Vet. Sci.*, 29 (2): 155-163 (2013).
- Menezes-Benavente, L., Teixeira, F. K., Kamei, C. L. A., Margis-Pinheiro, M., “Salt stress induces altered expression of genes encoding antioxidant enzymes in seedlings of a Brazilian indica rice (*Oryza sativa* L.)”, *Plant Sci.*, 166: 323–331 (2004).
- Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F. and Noctor, G. “Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models”, *Journal of Experimental Botany*, 61 (15): 4197–4220 (2010).
- Millî Eğitim Bakanlığı, “Tarım”, *Yağ Bitkileri Modülü*, Ankara (2016).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Mirshekari, B., “Seed priming with iron and boron enhances germination and yield of dill (*Anethum graveolens*)”, *Turk J. Agric. For.*, 36: 27-33 (2012).
- Mishra, S., Jha, A. B. and Dubey, R. S., “Arsenite treatment induces oxidative stress, upregulates antioxidant system, and causes phytochelatin synthesis in rice seedlings”, *Protoplasma*, 248 (3): 565–577 (2011).
- Mittler, R., “Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance”, *Trends in Plant Science*, 7 (9): 405–410 (2002).
- Mittler, R. and Zilinskas, B. A., “Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase”, *Journal of Biological Chemistry*, 267 (30): 21802–21807 (1992).
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F., “Reactive oxygen gene network of plants”, *Trends Plant Sci.*, 9: 490-498 (2004).
- Miyake, C., Schreiber, U., Hormann, H., Sano, S. and Asada, K., “The FAD-enzyme monodehydroascorbate radical reductase mediates photoproduction of superoxide radicals in spinach thylakoid membranes”, *Plant and Cell Physiology*, 39 (8): 821–829 (1998).
- Mobin, M., Khan, N. A., “Photosynthetic activity, pigment composition and anti-oxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress”, *J. Plant Physiol.*, 164: 601-610 (2007).
- Molassiotis, A., Panteli, V., Patiraki, E., Ozden, G., Platin, N., Madsen, E., Browall, M., Fernandez-Ortega, P., Pud, D., Margulies, A., “Complementary and alternative medicine use in lung cancer patients in eight European countries”, *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 12: 34–39 (2006).
- Molinero-Ruiz, M. L., Melero-Vara, J. M., Gulya, T. J. and Dominguez, J., “First report of resistance to metalaxyl in downy mildew of sunflower caused by *Plasmopara halstedii* in Spain”, *Plant Dis.*, 87: 749 (2003).
- Mouhtaridou, G. N., Sotiropoulos, T. E., Dimassi, K. N., Therios, I. N., “Effects of Boron on Growth, and Chlorophyll and Mineral Contents of Shoots of the Apple Rootstock MM 106 cultured in vitro”, *Biologia Plantarum*, 48 (4): 617–619 (2004).
- Moussa, R. and Abdel-Aziz, S. M., “Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress”, *Australian Journal of Crop Sciences*, 1 (1): 31–36 (2008).
- Mündel, H. H., Morrison, R. J., Blackshaw, R. E. and Roth, B. (ed.), “Safflower Production on the Canadian Prairies”, *Alberta Agric. Res. Inst.*, Edmonton, AB, Canada (1992).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Mündel, H. H., Blackshaw, R. E., Byers, J. R., Huang, H. C., Johnson, D. L., Keon, R., Kubik, J., McKenzie, R., Otto, B., Roth, B. and Stanford, K., "Safflower production on the canadian prairies", *Graphcom Printers LTD.*, Lethbridge-Alberta, 37 (2004).
- Nable, R. O., "Distribution of Boron Within Barley Genotypes with Differing Susceptibilities to Boron Toxicity", *Journal of Plant Nutrition*, 14 (5): 453-461 (1991).
- Nable, R. O., "Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat genotypes: A preliminary examination of the resistance mechanism", *J. Plant and Soil.*, 112: 45-52 (1988).
- Nable, R. O., Banuelos, G. S. and Paull, J. G., "Boron toxicity", *Plant and Soil*, 193: 181-198 (1997).
- Nas, S., Gökalp, Y. H. ve Ünsal, M., "Bitkisel Yağ Teknolojisi", *Pamukkale Üniversitesi Mimarlık Fakültesi Matbaası*, 322 (2001).
- Navrot, N., Rouhier, N., Gelhaye, E., Jaquot, J.P., "Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria", *Physiol. Plant.*, 129: 185-195 (2007).
- Nawar, W. W., "Lipids. In Food Chemistry", *3rd ed. O.R. Fennema (Ed.)*, 225-319 (1996).
- Neill, S., Desikan, R. and Hancock, J., "Hydrogen peroxide signalling", *Current Opinion in Plant Biology*, 5 (5): 388-395 (2002).
- Noctor, G. and Foyer, C. H., "Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control", *Annual Review of Plant Biology*, 49: 249-279 (1998).
- Nozawa, A., Takano, J., Kobayashi, M., VonWire'n, N., Fujiwara, T., "Roles of BOR1, DUR3 and FPS1 in B transport and B tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*", *FEMS Microbiol. Lett.*, 262: 216-222 (2006).
- Oelke, E. A., Oplinger, E. S., Teynor, T. M., Putnam, D. H., Doll, J. D., Kelling, K. A., Durgan, B. R. and Noetzel, D. M., "Safflower", (2000) <http://www.hort.purdue.edu/NEWCROP/AFCM/safflower.html> (2018).
- Oluk, E. A., Demiray, H., Yardım, D., "Bor fazlalığının ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. sambro) bitkisinin in vitro koşullarda kök gelişimi ve anatomisi üzerine etkileri", *Ege Üni. Ziraat Fak. Dergisi*, 43: 145-152 (2006).
- Öğüt, H. ve Oğuz, H., "Üçüncü Milenyumun Yakıtı Biyodizel", *Nobel Yayın Dağıtım*, II. Baskı, 745: 190 (2006).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Özbek, N., “Toprak Verimliliği ve Gübreler, 1. Toprak Verimliliği”, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları*, Ankara, 525 (1973).
- Özdemir, F. A., Aymelek, F. ve Karataş, F., “Aspir Bitkisinde Redükte, Okside Glutasyon ile A, C, E Vitamini ve  $\beta$ -karoten Miktarlarının Araştırılması”, *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 23: 65-71 (2011).
- Özel, A., Demürbük, T., Atilla, M. and Çopur, O., “Effects of Different Sowing Date and Intra-row Spacing on Yield and Some Agronomic Traits of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Under Harran Plains Arid Conditions”, *Turk J. Agric.*, 28: 413-419 (2004).
- Pahlavani, M. H., Mirlohi, A. F. and Saedi, G., “Inheritance of flower color and spininess in safflower (*Carthamus tinctorius* L.)”, *Journal of Heredity*, 95 (3): 265-267 (2004).
- Park, M., Li, Q., Shcheynikov, N., Muallem, S., Zeng, W., “Borate transport and cell growth and proliferation”, *Not only in plants. Cell Cycle*, 4: 24-26 (2005).
- Patykowski, J. and Urbanek, H. “Activity of Enzymes Related to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Generation and Metabolism in Leaf Apoplastic Fraction of Tomato Leaves Infected with *Botrytis cinerea*”, *Journal of Phytopathology*, 151 (3): 153-161 (2003).
- Paull, J. G., Cartwright, B. and Rathjen, A. J., “Responses of wheat and barley genotypes to toxic concentrations of soil boron”, *Euphytica*, 39: 137-144 (1988).
- Paull, J. G., Nable, R. O., Lake, A. W. H., Materne, M. A. and Rathjen, A. J., “Response of annual medics (*Medicago* spp.) and field peas (*Pisum sativum*) to high concentrations of boron: Genetic variation and the mechanism of tolerance”, *Aust. J. Agric. Res.*, 43: 203-213 (1992).
- Peryea, F. J., Bingham, F. T. and Rhoades, J. D., “Mechanisms of boron regeneration”, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 49: 840-843 (1985).
- Pinheiro, C. ve Chaves, M. M., “Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data?”, *J. Exp. Bot.*, 62 (3): 869-882 (2011).
- Pinheiro, E., Bianchini, R., Carrera, E. V. and Heath, T., “Load Balancing and Unbalancing for Power and Performance in Cluster-Based Systems”, *Technical Report DCS-TR*, 440 (2001).
- Pinto, E., Sigaud-Kutner, T. C. S., Leitao, M. A. S., Okamoto, O. K., Morse, D. and Colepicolo, P., “Heavy metal-induced oxidative stress in algae”, *Journal of Phycology*, 39 (6): 1008-1018 (2003).
- Princi, M. P., Lupini, A., Araniti, F., Longo, C., Mauceri, A., Sunseri, F., Abenavoli, M. R., “Boron Toxicity and Tolerance in Plants”, *Plant Metal Interaction*, Reggio Calabria, Italy, 115-147 (2016).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Polidoros, N. A., Scandalios, J. G., “Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.)”, *Physiol Plant*, 106: 112-120 (1999).
- Qin, A., Shi, Q. and Yu, X., “Ascorbic acid contents in transgenic potato plants overexpressing two dehydroascorbate reductase genes”, *Molecular Biology Reports*, 38 (3): 1557–1566 (2011).
- Quilantan, V. L., Villareal, L., Muñoz Burgos, S. and Obeso Santos, E., “The Effect of Borders and Inter-Varietal Competition in Safflower”, *Agric. Tech. Mex.*, 4 (1): 49-61 (1977).
- Racchi, M. L., Bagnoli, F., Balla, I. and Danti, S., “Differential activity of catalase and superoxide dismutase in seedlings and in vitro micropropagated oak (*Quercus robur* L.)”, *Plant Cell Reports*, 20 (2): 169–174 (2001).
- Radoti'c, K., Duci'c, T. and Mutavdzi'c, D., “Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium”, *Environmental and Experimental Botany*, 44 (2): 105–113 (2000).
- Radwan, D. E. M., Fayez, K. A., Mahmoud, S. Y. and Lu, G., “Modifications of antioxidant activity and protein composition of bean leaf due to Bean yellow mosaic virus infection and salicylic acid treatments”, *Acta Physiologiae Plantarum*, 32 (5): 891–904 (2010).
- Rahamatalla, A. B., Babiker, E. E., Krishna, A. G. and Eltinay, A. H., “Changes in Chemical Composition, Minerals and Aminoacids during Seed Growth and Development of Four Safflower Cultivars”, *Plant Foods for Human Nutrition*, 52: 161-170 (1998).
- Rao, R. V. and Ming-De, Z., “Safflower genetic resources-IBPGR activities on Safflower”, *Proceedings of the International Safflower Conference*, Beijing, China, 287-292 (1993).
- Rao, M. V., Paliyath, G., Ormrod, D. P., “Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*”, *Plant Physiol.*, 110: 125–136 (1996).
- Rauf, M., Munir, M., Hassan, M., Ahmad, M. and Afzal, M., “Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage”, *African Journal of Biotechnology*, 6 (8): 971-975 (2007).
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M., “Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants”, *J. Plant Physiol.*, 161: 1189-1202 (2004).
- Reid, R., “Can we really increase yields by making crop plants tolerant to boron toxicity?”, *Plant Sci.* 178: 9–11 (2010).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Reid, R. J., Hayes, J. E., Post, A., Stangoulis, J. C. R., Graham, R. D. A., “Critical analysis of causes of boron toxicity in plants”, *Plant Cell and Environment*, 25: 1405-1414 (2004).
- Reid, R. J., “Identification of boron transporter genes likely to be responsible for tolerance to boron toxicity in wheat and barley”, *Plant Cell Physiol.*, 48: 1673-1678 (2007).
- Rerkasem, B. S., Lordkaew, S. and Jampod, S., “Assessment of grain set failure and diagnosis for boron deficiency in wheat”, *CIMMYT*, Mexico, 500-504 (1991).
- Rezaee, F., Ghanati, F. and Behmanesh, M., “Antioxidant activity and expression of catalase gene of (*Eustoma grandiflorum* L.) in response to boron and aluminum”, *South African Journal of Botany*, 84: 13-18 (2013).
- Roessner, U., Patterson, J. H., Forbes, M. G., Fincher, G. B., “An investigation of boron toxicity in barley using metabolomics”, *Plant Physiology*, 142: 1087–1101 (2006).
- Roh, J. S., Han, J. Y., Kim, J. H. ve Hwang, J. K., “Inhibitory Effects of Active Compounds Isolatd from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seeds for Melanogenesis”, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27 (12): 1976–1978 (2004).
- Rosa, S. B., Caverzan, A., Teixeira, F. K., Lazzarotto, F., Silveira, J. A., Ferreira-Silva, S. L., Abreu-Neto, J., Margis, R., Margis-Pinheiro, M., “Cytosolic APx knockdown indicates an ambiguous redox responses in rice”, *Phytochemistry*, 71: 548–558 (2010).
- Rozen, S. and Skaletsky, H., “Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers”, *Methods Mol Biol.*, 132: 365-386 (2000).
- Sairam, R. K. and Saxena D. C., “Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stres tolerance”, *J. Agronomy and Crop Science*, 184: 55-61 (2000).
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. “Changes in Antioxidant Activity in Sub-Cellular Fractions of Tolerant and Susceptible Wheat Genotypes in Response to Long Term Salt Stress”, *Plant Science*, 162: 897-904 (2002).
- Sairam, R. K. and Tyagi, A., “Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants”, *Current Science*, 86(3): 407-421 (2004).
- Sarsu, F., “Yağlı Tohumlu Bitkiler”, *Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı yayınları*, Ankara, 207 (2014).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Scandalios, G., Guan, L. and Polidoros, A. N., “Catalases in plants: gene structure, properties, regulation and expression”, *in Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidants Defenses*, 343–406 (1997).
- Scandalios, J. G. “Oxygen stress and superoxide dismutases”, *Plant Physiology*, 101 (1): 7–12 (1993).
- Schuller, D. J., Ban, N., Van Huystee, R. B., McPherson, A. and Poulos, T. L., “The crystal structure of peanut peroxidase”, *Structure*, 4 (3): 311–321 (1996).
- Semchuk, N. M., Lushchak, O. V., Falk, J., Krupinska, K. and Lushchak, V. I., “Inactivation of genes, encoding tocopherol biosynthetic pathway enzymes, results in oxidative stress in outdoor grown *Arabidopsis thaliana*”, *Plant Physiology and Biochemistry*, 47 (5): 384–390 (2009).
- Shaikh, I. R. S., Rafique, A. S., Shaikh, A. A., “Phytotoxic effects of heavy metals Parveen Rajjak (Cr, Cd, Mn and Zn) on Wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth in black cotton soil of Nanded. India.”, *Res. J. Chem. Sci.*, 3 (6): 14-23 (2013).
- Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. and Tal, M., “Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidant system”, *Physiologia Plantarum*, 112: 487-494 (2001).
- Shah, A., Wu, X., Ullah, A., Fahad, S., Muhammed, R., Yan, L., Jiang, C., “Deficiency and toxicity of boron: Alterations in growth, oxidative damage and uptake by citrange orange plants”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145: 575-582 (2017).
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Lu, Z. H. and Kang, C. M., “Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells”, *International Journal of Biological Sciences*, 4 (1): 8–14 (2008).
- Sharma, P. and Dubey, R. S., “Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings”, *Plant Growth Regulation*, 46 (3): 209–221 (2005).
- Sharma, P. and Dubey, R. S., “Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum”, *Plant Cell Reports*, 26 (11): 2027–2038 (2007).
- Sharma, P., Bhushan, A. J., Dubey, R. S. and Pessarakli, M., “Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions”, *Journal of Botany*, 26 (2012).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Shelp, B. J., Liu, L. and McLellan, D., “Glucosinolate composition of broccoli (*Brassica oleracea* var.) grown under various boron treatments at three Ontario sites”, *Canadian Journal of Plant Science*, 73 (3): 885-888 (1993).
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., Yoshimura, K., “Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes”, *J. Exp. Bot.*, 53 (372): 1305-1319 (2002).
- Siddiqi, E. H., Ashraf, M. and Arkam, N. A., “Variation in seed germination and seedling growth in some diverse lines of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under salt stress”, *Pak. J. Bot.*, 39 (6): 1937-1944 (2007).
- Sieferman-Harms, D., “The light harvesting function of carotenoids in photosynthetic membrane”, *Plant Physiology*, 69 (3): 561-568 (1987).
- Sillanpaa, M., “Micronutrient assessment at the country level: An international study”, The Government of Finland (FINNDA), *Food and Agriculture Organizations of the United Nations*, Rome, Italy (1990).
- Singh, S., Khan, N. A., Nazar, R., Anjum, N. A., “Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) under cadmium stress”, *Am. J. Plant Physiol.*, 3: 25-32 (2008).
- Sivritepe, N., “Asmalarda tuza dayanıklılık testleri ve tuza dayanımda etkili bazı faktörler üzerine araştırmalar”, Doktora Tezi, *Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 176 (1995).
- Skirycz, A. and Inze, D., “More from less: plant growth under limited water”, *Current Opinion in Biotechnology*, 21 (2): 197-203 (2010).
- Smirnoff, N., Running, J. A. and Gatzek, S., “Ascorbate biosynthesis: a diversity of pathways”, *in Vitamin C*, 7-29 (2004).
- Smith, V. H. and Jimmerson, J., “Safflower” (2005) <http://www.ampc.montana.edu/briefings/briefing58.pdf> (2018).
- Sotiropoulos, T. E., Therios, I. N., Almaliotis, D., Papadakis, I. and Dimassi, K. N., “Response of cherry rootstocks to boron and salinity”, *Journal of Plant Nutrition*, 29: 1691-1698 (2006).
- Soydam Aydın, S., Büyük, İ., Aras, S., “Relationships among lipid peroxidation, enzyme activity and gene expression proles of superoxide dismutase (SOD) in *Lycopersicum esculentum* L. exposed to cold stress”, *Genetics and molecular research*, 12 (3): 3220-3229 (2012).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Söylemezoğlu, G., Güneş, A., Çelik, H., İnal, A., Yaşa, Z., Bağcı, E. G. ve Çakır, A., “Amerikan asma anaçlarında bor ve tuz stresine tolerans mekanizmalarının stres ile ilgili fizyolojik parametreler ve antioksidan enzimler ile belirlenmesi”, (Basılmamış), **TUBİTAK, Ankara**, Proje No: 106 O 061: 211 (2010).
- Stavrianakou, S., Liakoura, V., Levizou, E., Karageorgou, P., “Allelopathic effects of water-soluble leaf epicuticular material from *Dittrichia viscosa* on seed germination of crops and weeds”, **Allelopathy Journal**, 14 (1): 35-41 (2004).
- Streb, P., Michael-Knauf, A., Feierabend, J., “Preferential photoinactivation of catalase and photoinhibition of photosystem II are common early symptoms under various osmotic and chemical stress conditions”, **Physiol Plant**, 88: 590–598 (1993).
- Sungur-Acar, Y., İşkil, R., Erden, Y., “Bor stresi altında *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh’da süperoksit dismutaz genlerinin ekspresyon profillerinin belirlenmesi”, **BORON**, 3 (3): 145-150 (2018).
- Süer, İ. E., “Bazı Aspir (*Carthamus Tinctorius* L. ) Çeşitlerinde Farklı Gelişme Dönemlerinde Yapılan Sulamaların Verim Ve Bazı Agronomik Özellikler Üzerine Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Adana (2011).
- Şakir, Ş. and Başalma, D., “The effect of sowing time on yield and yield components of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars and lines”, **VI. International Safflower Conference**, İstanbul-Turkey, 147-153 (2005).
- Taban, S., Erdal, İ., “Bor uygulamasının değişik buğday çeşitlerinde gelişme ve toprak üstü aksamda bor dağılımı üzerine etkisi”, **Turk. J. Agric. For.**, 24: 255-262 (2000).
- Taban, S., Güneş, A., Alpaslan, M., Özcan, H., “Değişik Mısır (*Zea Mays* L. Cvs.) çeşitlerinin Tuz Stresine Duyarlılıkları”. **Tr. J. of Agriculture and Forestry**, 23: 625-633 (1999).
- Takahashi, S., Seki, M., Ishida, J., Satou, M., Sakurai, T., Narusaka, M., Kamiya, A., Nakajima, M., Enju, A., Akiyama, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., “Monitoring the expression profiles of genes induced by hyperosmotic, high salinity, and oxidative stress and abscisic acid treatment in *Arabidopsis* cell culture using a full-length cDNA microarray”, **Plant Mol. Biol.**, 56 (1): 29-55 (2004).
- Tanaka, M. and Fujiwara, T., “Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants”, **Pflugers Arch.**, 456 (4): 671-677 (2007).
- Taşgın, E., Nadaroğlu, H., Adıgüzel, A., Baltacı, M. Ö., Sönmez, Z., “Soya Bitkisindeki Glutasyon Redüktaz Aktivitesi ve mRNA Seviyesinin Kuraklık Stresinde Salisilik Asit ile Değişimleri”, **APJES**, 5 (2): 48-52 (2017).

- Tayefi-Nasrabadi, H., Dehghan, G., Daeihassani, B., Movafegi, A. and Samadi, A., “Some biochemical properties of guaiacol peroxidases as modified by salt stress in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars”, *African Journal of Biotechnology*, 10 (5): 751–763 (2011).
- Teixeira, F. K., Menezes-Benavente, L., Galvão, V. C., Margis, R., Margis-Pinheiro, M., “Rice ascorbate peroxidase gene family encodes functionally diverse isoforms localized in different subcellular compartments”, *Planta*, 224: 300–314 (2006).
- Tepe, M. and Aydemir, T., “Antioxidant responses of lentil and barley plants to boron toxicity under different nitrogen sources”, *African Journal of Biotechnology*, 10 (53): 10882-10891 (2011).
- Turan, M. A., Taban, N., Taban, S., “Effect of calcium on the alleviation of boron toxicity and localization of boron and calcium in cell wall of wheat”, *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.*, 37 (2): 99-103 (2009).
- Tuteja, N., Hirt, H., “Cold, salt and drought stress. in: Plant Stress Biology”, *From Genomics towards System Biology*, 137-159 (2010).
- Türkan, S., “Asmalarda su stresi, mineral madde alımı ve bunlar arasındaki ilişkiler”, Doktora Semineri, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (1997).
- Türkan, Y., “Buğdayda Bor Toksisitesi ile Fosfor Arasındaki Etkileşimin Büyüme ve Çözünür Karbonhidratlar ile İlişkisinin İncelenmesi”, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara (2006).
- Tziourtzioumis, D., Demetriades, L., Zogou, O. and Stamatelos, A. M., “Experimental Investigation Of The Effect Of A B70 Biodiesel Blend On A Common-Rail Passenger Car Diesel Engine”, *Automobile Engineering*, 223: 685-701 (2009).
- Uher, J., “Safflower in European Floriculture”, *In: Proceeding of VII<sup>th</sup> International Safflower Conference*, Wagga Wagga, Australia (2008).
- Ushimaru, T., Maki, Y., Sano, S., Koshiba, K., Asada, K. and Tsuji, H., “Induction of Enzymes Involved in the Ascorbate-Dependent Antioxidative System, Namely, Ascorbate Peroxidase, Monodehydroascorbate Reductase and Dehydroascorbate Reductase, after Exposure to Air of Rice (*Oryza sativa*) Seedlings Germinated under Water”, *Plant and Cell Physiology*, 38 (5): 541–549 (1997).
- Uysal, N., Baydar, H. ve Erbaş, S., “Isparta popülasyonundan geliştirilen Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) hatlarının tarımsal ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi”, *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(1): 52-63 (2006).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., et al., “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease”, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39: 44-84 (2007).
- Vangronsveld, J. and Clijsters, H., “Toxic effects of metals”, *in Plants and the Chemical Elements*, 150–177 (1994).
- Vermaas, W., Madsen, C., Yu, J., Visser, J., Metz, J., Nixon, P. J., and Diner, B., “Turnover of the D1 protein and of Photosystem II in a *Synechocystis* 6803 mutant lacking Tyr<sub>z</sub>”, *Photosynthesis Research*, 45 (2): 99-104 (1995).
- Wang, J. Z., Tao, S. T., Qi, K. J., Wu, J., Wu, H. Q., Zhang, S. L., “Changes in photosynthetic properties and antioxidative system of pear leaves to boron toxicity”, *African Journal of Biotechnology*, 10: 19693-19700 (2011).
- Wang, J., Zhang, H. and Allen, R. D., “Overexpression of an Arabidopsis peroxisomal ascorbate peroxidase gene in tobacco increases protection against oxidative stress”, *Plant and Cell Physiology*, 40 (7): 725–732 (1999).
- Wang, P., Ou, S. and Peilin, C., “Optimization of conditions for safflower cell culture and accumulation of cellicolous product tocopherols”, *Chinese Journal of Biotechnology*, 15 (4): 231-237 (1999).
- Wang, Y., Wisniewski, M., Meilan, R., Cui, M., Webb, R. And Fuchigami, L., “Overexpression of cytosolic ascorbate peroxidase in tomato confers tolerance to chilling and salt stress”, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130 (2): 167–173 (2005).
- Warrington, K., “The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants”, *Annals of botany.*, 37: 457-466 (1923).
- Weiss, E. A., “Safflower. In: Oilseed Crops”, *Blackwell Sci. Ltd.*, Victoria-Australia, 93-129 (2000).
- Willekens, H., Inze, M., Van Montagu, D. and Van Camp, W., “Catalases in plants”, *Molecular Breeding*, 1 (3): 207–228 (1995).
- Yabuta, Y., Motoki, T., Yoshimura, K., Takeda, T., Ishikawa, T. And Shigeoka, S., “Thylakoid membrane-bound ascorbate peroxidase is a limiting factor of antioxidative systems under photo-oxidative stress”, *Plant Journal*, 32 (6): 915–925 (2002).
- Yaman, H., Katar, D. ve Bayraktar, N., “Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerinin çıkış ve genç bitki gelişimi döneminde bor toksisitesi etkisinin belirlenmesi”, *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Ens. Der.*, 21 (1): 8-15 (2012).

### KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Yan, J., Tsuichihara, N., Etoh, T. and Iwai, S., “Reactive oxygen species and nitric oxide are involved in ABA inhibition of stomatal opening”, *Plant, Cell and Environment*, 30 (10): 1320–1325 (2007).
- Yazdi-Samadi, B. and Zali, A. A., “Comparison of Winter and Spring-type Safflower”, *Crop Sci.*, 19: 783-785 (1979).
- Yıldıztekin, M., Tuna, A. L., “Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Bitkisi Polikültür Koşullarda Yetiştirildiğinde Bor Alımı Etkilenir mi?”, *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 52 (1): 99-106 (2015).
- Yılmazlar, B. ve Bayraktar, N., “Konya Şartlarında Farklı Ekim Zamanlarının Bazı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinde Önemli Tarımsal Karakterler Üzerine ve Verime Etkisi”, *Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi*, Hatay, 172-177 (2009).
- Yorgancılar, M. ve Babaoğlu, M., “Buğday Çeşitlerinde Borun Çimlenme Üzerine Etkisinin In Vitro ve Saksı Şartlarında Araştırılması“, *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19 (35): 109-114 (2005).
- Yoshida, S., Tamaoki, M., Shikano, T. et al., “Cytosolic dehydroascorbate reductase is important for ozone tolerance in *Arabidopsis thaliana*”, *Plant and Cell Physiology*, 47 (2): 304–308 (2006).
- Young, J., “The photoprotective role of carotenoids in higher plants”, *Physiologia Plantarum*, 83 (4): 702–708 (1991).
- Yu, S. Y., Lee, Y. J., Kim, J. D., Kang, S. N., Lee, S. K., Jang, J. Y., Lee, H. K., Lim, J. H. and Lee, O. H., “Phenolic Composition, Antioxidant Activity and Anti-Adipogenic Effect of Hot Water Extract from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed”, *Nutrients*, 5 (12): 4894-4907 (2013).
- Zeshuang, S., Guoying, J., Yingchun, L., Yuxian, Z., “Decrement of catalase mRNA level after salicylic acid treatment”, *Chinese Sci. Bull.*, 43: 4 (1998).
- Zhang, J., Smith, K. M., Tackaberry, T., Sun, X., Carpenter, P., Slugoski, M. D., Robins, M. J., Nielsen, L. P., Nowak, I., Baldwin, S. A., Young, J. D., Cass, C. E., “Characterization of the transport mechanism and permeant binding profile of the uridine permease Fui1p of *Saccharomyces cerevisiae*”, *J. Biol. Chem.*, 281 (38): 28210-28221 (2006).

## EK-1

## ANOVA Analiz Sonuçları

BALCI_KOK_UZUNLUK					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,318	3	,773	8,851	,006
Within Groups	,698	8	,087		
Total	3,017	11			

BALCI_GOVDE_UZUNLUK					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,862	3	,287	16,182	,001
Within Groups	,142	8	,018		
Total	1,004	11			

DINCER_KOK_UZUNLUK					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,676	3	2,892	17,916	,001
Within Groups	1,291	8	,161		
Total	9,967	11			

DINCER_GOVDE_UZUNLUK					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,880	3	,293	19,347	,001
Within Groups	,121	8	,015		
Total	1,001	11			

REMZI_KOK_UZUNLUK					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39,517	3	13,172	18,801	,001
Within Groups	5,605	8	,701		
Total	45,122	11			

REMZI_GOVDE_UZUNLUK					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,164	3	1,055	50,933	,000
Within Groups	,166	8	,021		
Total	3,330	11			

BALCI_KOK_YA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,040	3	,013	16,870	,001
Within Groups	,006	8	,001		
Total	,046	11			

BALCI_KOK_KA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,001	3	,000	7,000	,013
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,002	11			

DINCER_KOK_YA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,227	3	,076	12,500	,002
Within Groups	,048	8	,006		
Total	,275	11			

DINCER_KOK_KA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,005	3	,002	61,237	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,005	11			

REMZI_KOK_YA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,087	3	,029	91,965	,000
Within Groups	,003	8	,000		
Total	,090	11			

REMZI_KOK_KA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,002	3	,001	12,267	,002
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,002	11			

BALCI_GOVDE_YA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,726	3	,575	5,258	,027
Within Groups	,875	8	,109		
Total	2,601	11			

BALCI_GOVDE_KA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,028	3	,009	3,332	,077
Within Groups	,023	8	,003		
Total	,051	11			

DINCER_GOVDE_YA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,381	3	1,127	12,680	,002
Within Groups	,711	8	,089		
Total	4,092	11			

DINCER_GOVDE_KA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,054	3	,018	13,967	,002
Within Groups	,010	8	,001		
Total	,064	11			

REMZI_GOVDE_YA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,491	3	,497	9,934	,004
Within Groups	,400	8	,050		
Total	1,891	11			

REMZI_GOVDE_KA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,017	3	,006	1,072	,414
Within Groups	,042	8	,005		
Total	,059	11			

BALCI_KOK_BIOKUTLE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	66073,990	3	22024,663	6,023	,019
Within Groups	29254,498	8	3656,812		
Total	95328,488	11			

DINCER_KOK_BIOKUTLE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	290817,291	3	96939,097	84,024	,000
Within Groups	9229,638	8	1153,705		
Total	300046,929	11			

REMZI_KOK_BIYOKUTLE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	71232,378	3	23744,126	10,622	,004
Within Groups	17882,795	8	2235,349		
Total	89115,173	11			

BALCI_GOVDE_BIOKUTLE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1773711,359	3	591237,120	3,543	,068
Within Groups	1335082,923	8	166885,365		
Total	3108794,282	11			

DINCER_GOVDE_BIOKUTLE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3341883,414	3	1113961,138	14,207	,001
Within Groups	627285,053	8	78410,632		
Total	3969168,467	11			

REMZI_GÖVDE_BIYOKUTLE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1069640,252	3	356546,751	1,127	,394
Within Groups	2530280,190	8	316285,024		
Total	3599920,442	11			

BALCI_KLO_A					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,262	3	,421	19764,500	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	1,262	11			

DINCER_KLO_A					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,565	3	,188	12437,463	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,565	11			

REMZI_KLO_A					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,631	3	,210	37330,275	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,631	11			

BALCI_KLO_B					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,155	3	,052	2119,357	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,155	11			

DINCER_KLO_B					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,114	3	,038	708,307	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,114	11			

REMZI_KLO_B					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,087	3	,029	712,635	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,088	11			

BALCI_TOTAL_KLO					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,295	3	,765	12848,376	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	2,296	11			

DINCER_TOTAL_KLO					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,180	3	,393	4199,213	,000
Within Groups	,001	8	,000		
Total	1,181	11			

REMZI_TOTAL_KLO					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,186	3	,395	12623,207	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	1,186	11			

BALCI_PROTEIN					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24,297	3	8,099	286,167	,000
Within Groups	,736	26	,028		
Total	25,033	29			

DINCER_PROTEIN					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,102	3	,367	17,814	,000
Within Groups	,660	32	,021		
Total	1,762	35			

REMZI_PROTEIN					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7,450	3	2,483	116,299	,000
Within Groups	,598	28	,021		
Total	8,048	31			

BALCI_SOD					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	118545,319	3	39515,106	325,024	,000
Within Groups	2431,521	20	121,576		
Total	120976,840	23			

DINCER_SOD					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	74999,804	3	24999,935	406,963	,000
Within Groups	1228,610	20	61,430		
Total	76228,413	23			

REMZI_SOD					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2818,244	3	939,415	81,909	,000
Within Groups	217,911	19	11,469		
Total	3036,154	22			

BALCI_CAT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,158	3	,053	105,296	,000
Within Groups	,012	24	,001		
Total	,170	27			

DINCER_CAT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,008	3	,003	61,894	,000
Within Groups	,001	25	,000		
Total	,009	28			

REMZI_CAT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,137	3	,046	212,967	,000
Within Groups	,004	20	,000		
Total	,141	23			

BALCI_APX					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17,729	3	5,910	94,226	,000
Within Groups	1,631	26	,063		
Total	19,360	29			

DINCER_APX					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9,393	3	3,131	113,656	,000
Within Groups	,882	32	,028		
Total	10,275	35			

REMZI_APX					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,795	3	,265	9,103	,000
Within Groups	,903	31	,029		
Total	1,698	34			

BALCI_GR					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,001	3	,000	3582,956	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,001	11			

DINCER_GR					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,067	3	,022	1311,160	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,067	11			

REMZI_GR					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,008	3	,003	15,575	,001
Within Groups	,001	8	,000		
Total	,009	11			

BALCI_SOD_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	3	,000	857,509	,000
Within Groups	,000	9	,000		
Total	,000	12			

DINCER_SOD_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11,944	3	3,981	46,137	,000
Within Groups	,863	10	,086		
Total	12,807	13			

REMZI_SOD_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,182	3	,061	917,427	,000
Within Groups	,001	8	,000		
Total	,183	11			

BALCI_CAT_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,012	3	,004	148,480	,000
Within Groups	,000	11	,000		
Total	,012	14			

DINCER_CAT_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	3	,000	104,902	,000
Within Groups	,000	10	,000		
Total	,000	13			

REMZI_CAT_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42,308	3	14,103	16457,225	,000
Within Groups	,007	8	,001		
Total	42,315	11			

BALCI_APX_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,149	3	1,050	161,173	,000
Within Groups	,078	12	,007		
Total	3,227	15			

DINCER_APX_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2647,784	3	882,595	198,133	,000
Within Groups	35,636	8	4,455		
Total	2683,421	11			

REMZI_APX_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60,296	3	20,099	451021,469	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	60,296	11			

BALCI_GR_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	3	,000	79,919	,000
Within Groups	,000	9	,000		
Total	,000	12			

DINCER_GR_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,501	3	,167	475,815	,000
Within Groups	,003	8	,000		
Total	,504	11			

REMZI_GR_mRNA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	3	,000	15605,917	,000
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,000	11			

## ÖZGEÇMİŞ



### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Şifanur SÜLÜŞ  
Doğum Yeri ve Tarihi : Mecitözü /01.01.1992

### Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (2011-2015)  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### İş Deneyimi

1. Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Genel Laboratuvarları, 2012- 30 iş günü (Staj)
2. Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Tıbbi Genetik Laboratuvarı, 2012- 30 iş günü (Staj)
3. İŞKUR- İş Başı Eğitim Programı, 2017

### Akademik Faaliyetler:

#### Tezler

Sülüş Ş., 2015, *E. coli*'de OmpC ve OmpF Porin Proteinlerinin Metal Stresi Altında Ekspresyon Durumlarının Araştırılması, Lisans Bitirme Tezi, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü.

#### Kongreler

1. Sülüş Ş., Lelebici S., 2018, Determination with qRT-PCR of Expression Levels of some Antioxidative Enzymes in Safflower Types (*Carthamus tinctorius* L.) Applied by Boric Acid. 7<sup>st</sup> International Molecular Biology and Biotechnology Congress, 25-27 April, Konya, Turkey (Poster Sunum).
2. Sülüş Ş., Lelebici S., 2018, Physiological Determination of Reactions Formed by Different Boric Acid Applications in Some Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Types. International Symposium Ecology, 19-23 June, Kastamonu, Turkey (Sözlü Sunum).

#### Projeler

1. Sülüş Ş., *E. coli*'de OmpC ve OmpF Porin Proteinlerinin Metal Stresi Altında Ekspresyon Durumlarının Araştırılması. 2209-Üniversite Öğrencileri Yurt İçi/Yurt Dışı Araştırma Projeleri Destekleme Programı - A (2014-1), Proje Yürütücüsü
2. Farklı Konsantrasyonlardaki Tuz Uygulamasının Bazı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinde Oluşturduğu Fizyolojik ve Moleküler Farklılıkların Belirlenmesi, BŞEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri, Proje No: 2016-02.BŞEÜ.06-01, 2018, Yardımcı Araştırmacı (Tamamlandı).

#### İletişim

Adres :Cumhuriyet Mahallesi Akbaba Sokak No:7/3 Üsküdar/İSTANBUL  
E-Posta : sifanurgunor@gmail.com

**Tarih:** ..... / ..... / 2018