



T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASPIR (*Carthamus tinctorius* L.) YETİŞTİRİCİLİĞİNDE ÇİNKO VE
BOR UYGULAMASININ *CtFAD2* GENİ mRNA İFADE SEVİYELERİ
ÜZERİNE MUHTEMEL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATİCE KÜBRA KARAPÜR

TEMMUZ

**HATİCE KÜBRA
KARAPÜR**

**BIYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

TEMMUZ 2022

**ASPIR (*Carthamus tinctorius* L.) YETİŞTİRCİLİĞİNDE ÇİNKO VE BOR
UYGULAMASININ *CtFAD2* GENİ mRNA İFADE SEVİYELERİ ÜZERİNE
MUHTEMEL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Hatice Kübra KARAPÜR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ekrem BÖLÜKBAŞI

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2022

Yüksek Lisans Tezi Kabul ve Onay Sayfası

Hatice Kübra KARAPÜR tarafından hazırlanan “Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Yetiştiriciliğinde Çinko ve Bor Uygulamasının *CtFAD2* Geni mRNA İfade Seviyeleri Üzerine Muhtemel Etkilerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ekrem BÖLÜKBAŞI

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Başkan : Prof. Dr. Mehmet Gökhan HALICI

Biyoloji Anabilim Dalı, Erciyes Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Tez Savunma Tarihi: 25/07/2022

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdür

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(İmza)

Hatice Kübra KARAPÜR

25/07/2022

ASPİR (*Carthamus tinctorius* L.) YETİŞTİRCİLİĞİNDE ÇİNKO VE BOR
UYGULAMASININ *CtFAD2* GENİ mRNA İFADE SEVİYELERİ ÜZERİNE
MUHTEMEL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hatice Kübra KARAPÜR

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2022

ÖZET

Su ve toprağın yapısında yüksek konsantrasyon seviyelerinde birikim gösteren ağır metallerin genotoksik etkiye neden olduğu ve fonksiyonel grupta bulunan biyomoleküllerin birçoğuna zararlı etki yarattığı gözlenmektedir. Örnek olarak düşük miktar çinko konsantrasyonu tüm canlı organizmalar için gerekliyken, yüksek miktarda çinko konsantrasyonuna maruz kalan başta bitkiler, hayvanlar ve insanlar olmak üzere birçok canlıyı olumsuz yönde etkileyen elementlerdendir. Aspir bitkisi ekonomik değeri yüksek olan önemli bir tarım bitkisidir. Elde edilen yağ oleik asit ve linoleik asit içeriği açısından oldukça yüksektir. Bu çalışmada, çinko ve bor ağır metalinin farklı derişimlerde (0, 40, 80, 160, 320, 640 mg/L) stresine maruz bırakılan üç tanesi Türk ve bir tanesi Amerika menşeli dört farklı aspir çeşidinin (BALCI, LİNAS, ASOL, BDYAS-04) kök, kotiledon ve yaprak kısımlarından alınan örneklerde oleik asitin linoleik aside dönüşümünden sorumlu *CtFAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin ekspresyon seviyeleri Real-Time PCR yöntemi ile belirlenmiştir. 21 gün süre ile iklimlendirme kabiniinde yetiştirilmesi sağlanan aspir çeşitleri bu işlemin ardından 24 saat süreyle farklı derişimlerde çinko ve bor ağır metal stresine maruz bırakılarak bu sürenin sonunda aspir çeşitlerinin kök, yaprak ve kotiledon örnekleri alınarak RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve Real-Time PCR analizi yapılmıştır. Artan çinko konsantrasyonlarına (80 mg/L ile 160 mg/L) maruz bırakılan aspir çeşitlerinde *FAD2* genlerinin ifade seviyelerinde azalma gözlemlenirken, 160 mg/L ve 320 mg/L'den sonraki seviyelerde yeniden artış olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde aspir çeşitlerine farklı derişimlerde uygulanan çinko stresi *FAD2* genlerinin ekspresyon seviyelerinin düşük derişimlerde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak artan çinko derişimlerinde *FAD2* genlerinin ekspresyon seviyelerinde azalma ve kritik nokta olarak kabul edilen 160 mg/L ve 320 mg/L'den sonra yeniden artış göstermesi, maruz bırakılan strese karşı savunma mekanizmasının devreye girmesine neden olmuştur. Devreye giren savunma mekanizması *FAD2* genlerinin strese karşı savunmada aktif rol aldığıının göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Sayfa Adedi	: 88
Anahtar Kelimeler	: Aspir, Çinko, Bor, Real-Time PCR, <i>FAD2</i> geni
Danışman	: Dr. Öğr. Üyesi Ekrem BÖLÜKBAŞI

DETERMINATION OF THE POSSIBLE EFFECTS OF ZINC AND BORON
APPLICATION ON *CtFAD2* GENE mRNA EXPRESSION LEVELS IN ASPIR
(*Carthamus tinctorius* L.) CULTURE

(M. Sc. Thesis)

Hatice Kübra KARAPÜR

AMASYA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES

July 2022

ABSTRACT

It is observed that heavy metals that accumulate at high concentration levels in the structure of water and soil cause a genotoxic effect and have a detrimental effect on most of the biomolecules contained in the functional group. As an example, a low concentration of zinc is necessary for all living organisms, while it is one of the elements that adversely affect many living things, especially plants, animals and humans, exposed to a high concentration of zinc. Safflower is an important agricultural plant with high economic value. The resulting oil is quite high in oleic acid and linoleic acid content. In this study, zinc and boron, in different concentrations of heavy metals (0, 40, 80, 160, 320, 640 mg/L) of three Turkish subjected to stress, and one of them from America, four different safflower cultivars (BALCI, LINAS, ASOL, BDYAS-04) root, cotyledon and leaf *CtFAD2* responsible for the conversion of oleic acid to linoleic acid are examples of parts received from (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) gene expression levels of real-time PCR method were determined. Safflower varieties that were grown in the acclimatization cabin for 21 days were subjected to zinc and boron heavy metal stress at different concentrations for 24 hours after this process, and at the end of this period, stem, leaf and cotyledon samples of safflower varieties were taken and RNA isolation, cDNA synthesis and Real-Time PCR analysis were performed. A decrease in the expression levels of *FAD2* genes was observed in safflower varieties exposed to increased zinc concentrations (80 mg/L to 160 mg/L), while a re-increase was observed at levels after 160 mg/L and 320 mg/L. When the results obtained in the study were evaluated, it was determined that zinc stress applied to safflower varieties at different concentrations caused an increase in the expression levels of *FAD2* genes at low concentrations. As a result, a decrease in the expression levels of *FAD2* genes at increased zinc concentrations and a re-increase after 160 mg/L and 320 mg/L, which are considered critical points, led to the activation of the defense mechanism against exposed stress. The activated defense mechanism has been accepted as an indication that *FAD2* genes take an active part in the defense against stress.

Page Number : 88
Key Words : Safflower, Zinc, Boron, Real-Time PCR, *FAD2* gene.
Supervisor : Asst. Prof. Dr. Ekrem BÖLÜKBAŞI

ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu tez konusunu bana veren, çalışmalarım boyunca destekleyen, yönlendiren ve yazımı sırasında bana zaman ayırarak yardımını esirgemeyen tez danışmanım Doktor Öğretim Üyesi Ekrem BÖLÜKBAŞI'na teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tez dönemi boyunca benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok sevdiğim aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca; Amasya Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Birimi'ne (Proje No: FMB-BAP 20-0480) bu çalışmaya maddi destek verdiği için teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
RESİMLER DİZİNİ.....	xix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xx
1. GİRİŞ	1
1.1 Aspir Bitkisinin Tanımı, Tarihçesi ve Önemi	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Çevre Kirliliği ve Sebepleri	5
2.2. Ağır Metaller ve Çevreye Etkileri.....	5
2.3. Çinko (Zn) Metali ve Etkileri.....	8
2.4. Bor (B) Metali ve Etkileri	9
2.5. Yağ Asitleri ve Doymamış Yağ Asitlerinin Doymuş Yağ Asitlerine Dönüşümü (Desatürasyon)	11
2.5.1. Yüksek yapılı bitkilerde yağ asidi desatürazlar ve sorumlu genler	13
2.6. Aspir Bitkisi ve FAD2 Geni.....	14
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
4.1. Materyal Temini.....	24
4.2. Besi Ortamının Hazırlanması	25

4.3. Stres Uygulaması Yapılacak Olan Çinko Ağır Metalinin Hazırlanması ve Bor Uygulaması	26
4.4. Aspir Bitkisi Yetiştirilme Aşaması	26
4.5. Çinko ve Bor Streslerinin Aspir Fide Çeşitlerine Uygulanması Aşaması	26
4.6. Total RNA İzolasyonu	27
4.7. DNaz Uygulaması	28
4.8. Agaroz Jel Elektroforezi	28
4.9. cDNA (Komplementer DNA) Elde Edilmesi	28
4.10. Primer Dizaynı	31
4.11. Real-Time PCR Reaksiyonu	32
4.12. Normalizasyon ve İstatistiksel Analiz.....	33
5. BULGULAR.....	34
5.1. Aspir Bitkisinde Stres Uygulamaları	34
5.1.1. Çinko (Zn) stresi	34
5.1.2. Bor uygulamaları.....	34
5.2. Total RNA İzolasyonu	35
5.3. cDNA (Komplementer DNA) Elde Edilmesi	35
5.4. Real-Time PCR Reaksiyonu	40
5.4.1. Çinko (Zn) stresine maruz kalan örneklerden elde edilen sonuçların normalize edilmesi ve istatistiksel analizi	42
5.4.1.1. BALCI çeşidi	42
5.4.1.2. BDYAS-04 çeşidi	47
5.4.1.3. LİNAS çeşidi	52
5.4.1.4. ASOL çeşidi	57
5.5.2. Bor uygulaması yapılan örneklerin normalizasyonu ve analizi	62
5.4.2.1 BDYAS-04 çeşidi	62

5.4.2.2. BALCI çeşidi	68
5.4.2.3. LİNAS çeşidi	73
5.4.2.4. ASOL çeşidi	78
6. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	85
KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	94



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Kullanılan aspir bitkisinin çeşitleri ve özellikleri	24
Çizelge 4.2. Besin ortamı çözeltisi hazırlanırken kullanılmış olan makro ve mikro besin madde içerikleri	25
Çizelge 4.3. Çözeltideki son iyon konsantrasyonu	25
Çizelge 4.4. RNase free tüpüne eklenen bileşenler ve miktarları	28
Çizelge 4.5. Total RNA ve primer karışımının bileşenleri ve son derişim miktarları	30
Çizelge 4.6. Ters transkripsiyon tepkimesinde kullanılan bileşenler ve miktarları	30
Çizelge 4.7. Ters transkripsiyon reaksiyon işleminin gerçekleştirildiği program	31
Çizelge 4.8. <i>FAD2</i> gen ailesine ait çalışmada kullanılacak genlerin bilgileri	31
Çizelge 4.9. Çalışmada kullanılan genler için tasarlanan Real-Time PCR primer dizileri	32
Çizelge 5.1. Çinko (Zn) ve Bor (B) ağır metal stresi uygulanan (BDYAS-04) çeşidinden elde edilen RNA örneklerinden sentezlenen cDNA'lara ait saflık ve miktar analizleri	36
Çizelge 5.2. Çinko (Zn) ve Bor (B) ağır metal stresi uygulanan (BALCI) çeşidinden elde edilen RNA örneklerinden sentezlenen cDNA'lara ait saflık ve miktar analizleri	37
Çizelge 5.3. Çinko (Zn) ve Bor (B) ağır metal stresi uygulanan (LİNAS) çeşidinden elde edilen RNA örneklerinden sentezlenen cDNA'lara ait saflık ve miktar analizleri	38
Çizelge 5.4. Çinko (Zn) ve Bor (B) ağır metal stresi uygulanan (ASOL) çeşidinden elde edilen RNA örneklerinden sentezlenen cDNA'lara ait saflık ve miktar analizleri	39
Çizelge 5.5. Çinko stresi uygulaması yapılan BALCI çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış <i>FAD2</i> genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri	43
Çizelge 5.6. Çinko stres faktörüne maruz kalan BALCI çeşidine ait yaprak numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	44

Çizelge**Sayfa**

Çizelge 5.7. Çinko stres faktörüne maruz kalan BALCI çeşidine ait kök numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	45
Çizelge 5.8. Çinko stres faktörüne maruz kalan BALCI çeşidine ait kotiledon numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	46
Çizelge 5.9. Çinko stresi uygulaması yapılan BDYAS-04 çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış <i>FAD2</i> genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri	48
Çizelge 5.10. Çinko stres faktörüne maruz kalan BDYAS-4 çeşidine ait yaprak numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	49
Çizelge 5.11. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait kök numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	50
Çizelge 5.12. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait kotiledon numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	52
Çizelge 5.13. Çinko stresi uygulaması yapılan LİNAS çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış <i>FAD2</i> genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri	53
Çizelge 5.14. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	54
Çizelge 5.15. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	55
Çizelge 5.16. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	56
Çizelge 5.17. Çinko stresi uygulaması yapılan ASOL çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış <i>FAD2</i> genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri	58
Çizelge 5.18. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	59
Çizelge 5.19. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	61
Çizelge 5.20. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait kotiledon numune	

örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	62
---	----



Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.21. Bor stresi uygulaması yapılan BDYAS-04 çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış <i>FAD2</i> genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri.....	64
Çizelge 5.22. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	65
Çizelge 5.23. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	66
Çizelge 5.24. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	67
Çizelge 5.25. Bor stresi uygulaması yapılan BALCI çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış <i>FAD2</i> genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri	69
Çizelge 5.26. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	70
Çizelge 5.27. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi	72
Çizelge 5.28. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	73
Çizelge 5.29. Bor stresi uygulaması yapılan LİNAS çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış <i>FAD2</i> genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri	74
Çizelge 5.30. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	75
Çizelge 5.31. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	77
Çizelge 5.32. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	78
Çizelge 5.33. Bor stresine maruz kalmış ASOL çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış <i>FAD2</i> genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri	80

Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.34. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	81
Çizelge 5.35. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	82
Çizelge 5.36. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi.....	83



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Türkiye'de 2000-2006 yılları arasında üretilen aspir miktarı (Bölükbaşı, 2018'den değiştirilerek alınmıştır)	3
Şekil 4.1. Çalışmada kullanılacak aspir bitkisinin farklı kısımlarındaki <i>FAD2</i> genlerinin karşılaştırmalı ifade düzeyleri (Cao ve diğerlerinden değiştirilerek alınmıştır)	32
Şekil 5.1. İzolesi sağlanan RNA'ların bazılarının % 1,2'lik agoroz jeldeki görüntüleri.	35
Şekil 5.2. Çalışması yapılmış olan bazı örneklerde ACT ve <i>FAD2</i> genlerinin erime eğrisi analizi	40
Şekil 5.3. Çalışması yapılan bazı örneklerde ACT ve <i>FAD2</i> genlerine ait Real Time PCR pik profilleri	41
Şekil 5.4. Çinko stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	45
Şekil 5.5. Çinko stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	46
Şekil 5.6. Çinko stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	47
Şekil 5.7. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	50
Şekil 5.8. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	51
Şekil 5.9. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	52
Şekil 5.10. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	55
Şekil 5.11. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	56
Şekil 5.12. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	57
Şekil 5.13. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	60

Şekil
Sayfa

Şekil 5.14. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	61
Şekil 5.15. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	62
Şekil 5.16. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	66
Şekil 5.17. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	67
Şekil 5.18. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	68
Şekil 5.19. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	71
Şekil 5.20. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	72
Şekil 5.21. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	73
Şekil 5.22. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	76
Şekil 5.23. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	77
Şekil 5.24. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	78
Şekil 5.25. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	82
Şekil 5.26. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	83
Şekil 5.27. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait <i>FAD2</i> genlerinin ifade seviyeleri	84

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. Aspir bitkisinin tohumu ve çiçeği (URL)	2



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
cm	Santimetre
g	Gram
mg	Miligram
L	Litre
ml	Mililitre
C	Santigrat derece
nm	Nanometre
μ M	Mikromolar
ppm	parts per million
%	Yüzde
Zn	Çinko
B	Bor
N	Azot
O	Oksijen
CO ₂	Karbondioksit

Kısaltmalar	Açıklama
ATP	Adenozin Tri Fosfat
EDTA	Etilen Daimin Tetra Asetik Asit
FAD	Fatty acid desaturase

cDNA	Tamamlayıcı DNA
ROS	Reactive Oxygen Species
FAO	Food and agriculture organization
EPA	United States Environmental Protection Agency
RNA	Ribonükleik asit
PCR	Polymerase chain reaction



1. GİRİŞ

1.1 Aspir Bitkisinin Tanımı, Tarihçesi ve Önemi

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisi ($2n=24$) kromozoma sahip, cins kabilesi devedikeni (Cynareae), alt familyası papatyagiller (Tubuliflorae) ve üst familyası iki çenekli papatyagiller (Compositae) olan bir canlı türüdür. Akdeniz bölgesinin doğu kesimi bu cinsin orijinal merkezi olarak kabul edilmektedir. Bu cins yaklaşık 25 tür içermekle birlikte 3000 yıllık geçmişe sahip eski bir kültür bitkisi özelliği taşımaktadır. İspanya'dan Kuzey Afrika'ya Orta Doğu'dan Kuzey Hindistan'a kadar dağılım göstererek dünya çapında geniş bir alana yayıldığı görülmektedir. Yapraklarında ve brakte üzerinde çok sayıda dikenleri bulunan otsu yapılı bitki türüdür. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisinin dünya çapında bu kadar geniş yayılım göstermesi beraberinde kullanım alanını da genişletmektedir. Özellikle kurutulmuş çiçek kısımları geleneksel Çin Tıbbı'nda Koroner kalp hastalığı ve inme başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde 2500 yıldan fazla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Yue, Tang, Li ve Duan, 2013).

Dünya üzerinde göstermiş olduğu bu dağılım tıbbi alan başta olmak üzere gıda sektöründen, boya sanayisine kadar birçok farklı alanda kullanıldığı bilinmekte ve gün geçtikçe kullanım alanının genişlediği görülmektedir. Aspir bitkisinin kullanıldığı bu sektörlere ek olarak ise biyoyakıt elde edilmesi ve endüstriyel yağ üretimi içinde kullanıldığı bilinmektedir. Bu kadar farklı alanda kullanılması beraberinde aspir üzerinde yapılan çalışmaları arttırarak insan yararına önemli çalışmalar yürütülmeye başlanmıştır. Bu çalışmalar insanlarda meydana gelen transgenik, insülin ve apolipoprotein gibi bazı hastalıklardan korunmasında, tedavi edilmesinde ve olası değişen fonksiyonların tanılanıp düzenlenmesinde kullanılmaktadır (Ambreen ve diğerleri, 2015).

Aspir bitkisi, içerisinde önemli doymamış yağ asitlerinden Linoleik (Omega-6) yağ asidi ve Oleik (Omega-9) yağ asidi bulundurmaktadır. Yağ oranı değişkenlik gösterse de ortalama %30-35 civarındadır. Linoleik yağ asidi hammadde olarak kullanılmakta olup karma yem sanayisi ve kimya sektörünün önemli bir parçasıdır. Oleik yağ asidi ise zeytinyağı kalitesine yakın bir yağ olması sebebiyle gıda sektöründe yemeklik olarak tüketilebilme özelliğine sahiptir (Johnson ve Jimmerson, 2003).

Aspir bitkisinin çiçek kısımlarından temin edilen carthamin maddesi doğal boya sektöründe hammadde olarak kullanılmakta olup yetiştirme şartları diğer yağ bitki yetiştirme şartlarına göre daha az seçici özellik göstermektedir. Tohumu ise değişken hava şartlarına özellikle soğukluk ve kuraklığa karşı yüksek direnç göstermekle birlikte, kuru tarım üretimi yapılan alanlarda yabancı otlara ve tuzluluk stresine karşıda önemli bir toleransa sahip olması aspir bitkisini yetiştirme açısından avantajlı hale getirmektedir. Aspir özellikle sulu tarım alanlarında yetiştirilebilecek önemli bir bitki türüdür (Kurt, Uysal, Demir, Özgür ve Kılınç, 2011).

Aspir bitkisinin tüm bu özellikleri sayesinde günümüzde popülerliği ve önemi artarak geniş tarım alanlarında üretimine geçilmiştir. FAO tarafından yapılan araştırmalar en fazla üretimin ABD’de olduğunu göstermektedir. Ülkemizde ise aspirin değeri tam olarak anlaşılamamakta ve az miktarda üretim yapılmaktadır. Dünyanın diğer önemli aspir üretici ülkeleri ise Hindistan, Meksika, Kazakistan, Arjantin, Çin ve Etiyopya belirlenmiştir (Bölükbaşı, 2018).



Resim 1.1. Aspir bitkisinin tohumu ve çiçeği (URL)

Türkiye’de az miktarlara aspir bitkisi üretimine 1960’lı yılların başında başlanmıştır. 1965 yılının sonunda 900 tona ulaşırken, 1980 yılında üretiminde bir düşüş görülmekte olup elde edilen aspir miktarı 535 tondur. 1990 yılında ise bu oran 125 tonlara kadar düşüş göstermektedir. 2005 yılına gelindiğinde ise bu artış beraberinde aspir bitkisi üretiminde devlet teşviki kapsamına alınarak aspir üretimi yapan çiftçiye destek sağlanmıştır. Bu sayede aspir üretiminde gözle görülür bir şekilde artışa neden olmuştur. 2010 yılı aspir

üretimi 26000 ton, 2014 yılı 62000 ton, 2015 yılı 70000 ton ve 2016 yılında yapılan aspir bitkisi üretimi 58000 tonlara ulaşmıştır (Bölükbaşı, 2018) (Şekil 1.1).

Yıl	Üretim (Ton)	Yıl	Üretim (Ton)
2000	18	2009	20076
2001	25	2010	26000
2002	25	2011	18228
2003	170	2012	19500
2004	150	2013	45000
2005	215	2014	62000
2006	395	2015	70000
2007	2280	2016	58000
2008	7068		

Şekil 1.1. Türkiye'de 2000-2006 yılları arasında üretilen aspir miktarı (Bölükbaşı, 2018'den değiştirilerek alınmıştır)

Aspir bitkisinin çevreye uyum yeteneği çok gelişmiş olduğu için ülkemizde birçok bölgede rahat bir şekilde ekimi yapılabilir. Kökleri neredeyse tüm toprak katmanlarına kadar ulaşabilmekte ve bu sayede toprağın farklı katmanlarında bulunan su ve zengin mineral ihtiyacını karşılayabilmektedir. Kuru tarım alanlarında uygun yetiştirme şartları altında ve uygun sulama yöntemleri kullanılarak elde edilen verim neredeyse 2 kata kadar artış gösterebilmektedir. Bu artış bitkisel yağ açığımızı büyük ölçüde kapatabilecek düzeydedir. Kış koşullarına daha fazla dayanıklılık gösteren aspir bitkisi çeşitleri, yaz koşullarına göre yetişen aspir bitkisi çeşitlerine kıyasla %50-100 oranında daha fazla verim göstermektedir (Yılmaz, M. Tunçtürk ve R.Tunçtürk, 2015).

Türkiye'de üretilen aspir bitkisinin verimlilik oranı bölgeden bölgeye değişiklik gösterebilmekte ve araştırmalar sonucu ortaya çıkan verimden yaklaşık olarak 50-100 kg/da daha düşük olduğu tespit edilmektedir. Aspir bitkisi yetiştirilirken tüm tarımsal yöntemler eksiksiz bir şekilde uygulansa dahi yapılmış olan emekler ve masraflar boşa gidebilmektedir. Bu sebeple birlikte ekim alanının geniş yer kaplaması hasat ve harmanın önemini ne kadar arttırmış olsa da aspir bitkisinin üretiminde pazarlama sorunlarıyla karşılaşılmasının önüne geçilememiştir. Aspir yetiştiriciliği yapan üreticiler, ürettikleri aspir bitkilerini satamama problemine maruz kalmakta ve yetiştirmekten vazgeçmektedir. Yetersiz miktarda aspir yetiştirilmesi aslında pazar sorununun yaşanmasının en önemli nedeni olarak görülmektedir. Yeterli miktarda üretimi yapılamayan aspir bitkisi, yağ

fabrikalarında gerekli işlemlerden geçememekte ve işlenmesinde sıkıntı meydana gelmektedir. Bu sebeple üretim sorunu, pazar sorunuyla karşı karşıya kalmakta, pazar sorunu ise aspir bitkisi üretimi sorununu beraberinde getirmektedir. Böylece pazar ve hammadde döngüsü içerisinde çıkılamayan sürekli aynı sonucu veren ve çözümünde yetersiz kalınan bir problem haline gelmektedir (Yılmaz, M. Tunçtürk ve R.Tunçtürk, 2015).



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çevre Kirliliği ve Sebepleri

Gelişen ve değişen dünya her ne kadar olumlu sonuçları beraberinde getirirse de bu gelişim ve değişimin meydana getirmiş olduğu bazı olumsuz durumlar ortaya çıkmaktadır. Bu olumsuzlukların başında dünyanın büyük bir savaş verdiği çevre kirliliği sorunu gelmektedir. Çevre kirliliğini; canlıların ve cansızların yaşamını büyük ölçüde tehdit eden, kaynakların kullanımını sınırlayarak ekolojik dengedeki bitkilerin, hayvanların, insanların ve çeşitli mikroorganizmaların yapılarını bozarak küresel ısınmaya sebep olan bir kavram olarak açıklayabiliriz. Çevre kirliliği oluşumunun temel sebepleri öncelikli olarak kaynakların sınırsız kullanılabilceğinden meydana gelen bilinçsiz tüketim ve çevreye karşı toplum bilincinin yeterince gelişmemiş olması olarak sıralayabiliriz.

Dünya nüfusunun artışıyla birlikte sanayileşmede ve şehirleşme oranı doğru orantılı olarak bir artış göstermektedir. Sanayi kuruluşların fazla olduğu bölgelerde çevreye bilinçsiz olarak bırakılan atıklar havaya, suya ve toprağa karışarak ekosisteme büyük ölçüde zarar vermekte ve çevrenin günden güne kirlenmesine neden olmaktadır. Bu kirlilik beraberinde canlı yaşamını büyük ölçüde tehdit etmektedir (Elkoca, 2003)

Doğadaki çevre kirliliğinin büyük bir kısmı kimyasal içeriklidir. Fakat bazı kirleticiler radyasyon gibi fiziksel içeriklide olabilmektedir. Ağır metaller ve organik kimyasallar (pestisitler, herbisitler, insektisitler) canlı organizmaları etkilemekte, özellikle bitkiler üzerinde birçok olumsuz sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bitkiler enerji üretimini sağlayan en önemli canlı organizma olmakla birlikte birçok organizmanın da beslenme kaynağı olmaktadır. Bu sebeple bitkiler, çevresel kirleticileri en üst trofik düzeye kadar arttırarak ulaştırabilmekte ve yaşamları boyunca birçok biyotik ve abiyotik stres faktörüne maruz kalmaktadır (Kovalchuk ve Kovalchuk 2008).

2.2. Ağır Metaller ve Çevreye Etkileri

Abiyotik faktörler arasında yer alan ve çevreye büyük ölçüde zarar veren ağır metal stresi bitkiler üzerinde baskı kuran oldukça önemli bir faktördür. Ağır metaller düşük konsantrasyonlarda bile olsa zararlı, zehirli ve ölümcül etkiye sahip olabilirler. Ağır metalleri fiziksel ve kimyasal açıdan tanımlamak gerekirse yoğunlukları 5 g/cm^3 'ten büyük ya da relative atom kütlesi 50 ve üzerinde bulunan elementler ağır metal olarak adlandırılmaktadır. Bu sınıflandırma 60'tan fazla elementin ağır metal olarak nitelendirilmesini sağlamıştır. Doğada bulunan başlıca ağır metallere örnek olarak; çinko (Zn), kobalt (Co), demir (Fe), bakır (Cu), civa (Hg), kurşun (Pb) ve kadmiyum (Cd) verilebilir. Bu elementler genel olarak karbonat veya silikat içersinde ya da sülfür bileşiklerine bağlı durumda bulunabilmektedir (Bölükbaşı, 2013).

Ağır metalleri diğer toksik elementlerden ayıran en önemli özellik ise insanlar tarafından elde edilememesi ve yok edilememesidir. Bu özellikleri nedeniyle sularda ve toprakta tortullanma ve çökme özelliği göstermeye yatkındırlar. Atmosfere bırakılan ağır metaller yeryüzü sularına ve yer altı sularına karışarak ekosistemi olumsuz etkileyip zarar veren en önemli çevre kirleticisidir. Kanalizasyon atıkları, motorlu taşıtların sebep olduğu egzoz gazları, biyositler, kentsel atıklar, madencilik başlıca ağır metal kaynaklarıdır (Seven, Darend ve Sevd, 2018).

Dünyamızın son 50 yılına bakıldığında endüstriyel üretimin artması ağır metallere maruz kalan insanların oranını da ciddi bir şekilde arttırdığı gözlemlenmiştir. İnsanlar ağır metallerle iç içe yaşamlarını sürdürmekte günlük hayatlarının büyük bir kısmını bu ağır metalleri bilinçsiz bir şekilde kullanarak geçirmektedirler. Kozmetik ürünler, boyalar, şampuanlar, diş macunları ve içme suyundaki kurşun büyük oranda vücutta kimyasal birikime neden olmaktadır. Bu durum sadece insanları etkilememekte, tarım alanlarına da büyük oranda zarar vermektedir. Tarım alanlarında kullanılan ilaçlar ve kimyasal gübreler tarım toprağında yoğun miktarda toksik elementler birikmesine neden olmakta, toprağın verimini düşürmekte ve canlıların sağlığını tehdit etmektedir. Ağır metallerin toprağa ulaşması ise genel olarak fosforlu gübre kullanımından kaynaklanmaktadır. Fosforlu gübre için yapılan bilimsel araştırmalarda fosforlu gübrenin üretimi için yurt dışından getirilen fosfat kayasından kaynaklandığı tespit edilmiştir (Sönmez, Kaplan ve Sönmez, 2008).

(EPA)'nın hazırladığı ve tedbir alınması gereken listede 129 adet çevre kirleticisi ağır metal olduğu tespit edilmiştir. Toprakta oluşan kirliliğin en önemli sebepleri listede bulan

ağır metallerdir. Toprakta biriken bu metaller canlı yaşamını tehdit etmekte, biyoçeşitliliği etkileyerek elde edilen ürünlerin azalmasına neden olmaktadır. Özellikle enerji akışındaki trofik düzeyde bulunan canlılarda birikerek, enerji aktarımının bozulmasına yol açmaktadır. Bu durum ekosistemdeki dengeyi etkileyen en tehlikeli nedenler olarak nitelendirilmektedir (Özay ve Mammadov, 2013).

Krom, nikel, kurşun gibi ağır metaller toprak yapısında 10-100 mg/kg aralığında, kadmiyum ağır metali ise 1 mg/kg'ın altındaysa bu değerler normal değer olarak bilinmektedir. Bu değer aralığının üzerinde bulunmaları durumunda olumsuz etkileriyle karşı karşıya kalınmaktadır. Kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) ağır metali en tehlikeli çevresel kirleticiler olarak tanımlanmakta insan, bitki ve hayvan sağlığını ciddi boyutlarda etkilemektedir. Krom elementi gerekli bir mikro element olmakla birlikte yüksek seviyelere ulaştığında canlının bünyesinde toksik birikmeye neden olmaktadır. Kanserojen etkiye sahip olan diğer ağır metal elementi ise nikeldir. Nikel bu olumsuz özelliğinin yanı sıra yüksek yapıya sahip olan bitkiler için oldukça önemli ve gerekli olan besin elementidir. Yapılan araştırmalarda bazı endemik bitki türlerinin ağır metalli toprağa has olarak, yaşamını bu şekilde devam ettirdiği ve bünyesinde biriken toksik yapıları ağır metal etkisine karşı, diğer bitkilerden farklı olarak ağır metale karşı uyumluluk gösterdiği saptanmıştır. Araştırmalar sonucunda farklı bitki türlerinin aynı stres altında farklı toleranslar geliştirdikleri görülmüştür (Bölükbaşı, 2013).

Farklı yollarla toprağa ulaşan ve çok karmaşık bir yapının meydana gelmesine neden olan ağır metaller toprakta bulunan mikroorganizmaların işleyişini etkileyerek toprağın yapısını bozmakta, bitki florasını olumsuz etkilemektedir. Yapısal işlevi bozulan toprakta bulunan amonyum iyonlarının, nitrit ve nitrat iyonlarına dönüşümleri sırasında aksamalar meydana gelmektedir. Enzim aktivitesi düşmekte ve bu durum organik maddelerin mineral maddelere dönüşümlerini de zorlaştırmaktadır. Bu döngülerin bozulması toprak verimini azaltarak bitki kalitesini düşürmektedir. Toprakta biriken ağır metaller toprağın yapısında bulunan demir, alüminyum ve kil gibi organik maddeler sayesinde birikimleri az seviyelere görülebilmektedir. Özellikle killi topraklar katyon değiştirme özelliğine sahip oldukları için yüksek miktarda ağır metalleri emme özelliği gösterirler. Ağır metal birikim ve toksisitesi organik madde bakımından zengin toprak tiplerinde gerçekleşmektedir. Bu nedenle ağır metaller kile ve organik maddeye kuvvetli bağlanma özelliği gösterdiğinden dolayı genel olarak toprağın üst katmanlarında yayılım göstermektedir. Toprakta biriken

ağır metallerin çözünürlüğüne toprak pH'ı önemli derecede etkiye sahiptir. Yapılan araştırmalar biriken ağır metal ile toprağın pH değeri arasında yakın bir bağlantı olduğunu göstermektedir (Yerli, Çakmakcı, Sahin ve Tüfenkçi, 2020).

2.3. Çinko (Zn) Metali ve Etkileri

Yer kabuğunda bulunan 23. Element çinko metalidir. Kimyasal sembolü 'Zn' Latince ismi 'zinkum' kelimesinden gelmekte ve İngilizce ismi 'Zinc' olarak bilinen çinko elementi periyodik tabloda 2B grubu geçiş metalidir. Rengi ise açık gri veya mavimsi olarak tanımlanabilir. Atom ağırlığı 65.38, atom numarası ise 30'dur (Karimi Ansari, 2020).

İlaç, boya, kâğıt sanayisinde ve diş dolgusu yapı maddesi olarak kullanılmaktadır. Diğer ağır metallerle karşılaştırıldığında onlar kadar zehirli bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür (Yalçın, 2014).

Çinko (Zn) metali bitki büyümesi için önemli bir mikro besin özelliği taşımaktadır. Bu özelliği sayesinde büyüme hormonlarını ve proteinleri destekleyerek bitkilerin metabolik ve fizyolojik süreçlerinde aktif rol oynamaktadır. Çinko toksisitesi, toprakta verimliliği ve toprak yapısını güçlendirmeye katkı sağlayan mikroorganizmaları olumsuz etkilediği gözlenmektedir. Çinko toksisitesi toprak enzimlerinin aktif bölgeleriyle oldukça önemli bir ilişkiye sahiptir. Hücrenin göstermiş olduğu performansta önemli yapıların yerini almaktadır. Toprakta çinko eksikliği toprağın pH değerini, bikarbonat miktarını ve organik maddeler gibi toprak özelliklerini etkileyerek magnezyum (Mg) ve demir (Fe)'in topraktaki rolünü saf dışı bıraktığı belirtilmektedir (Alengebawy, Abdelkhalek, Qureshi, ve Wang, 2021).

Toprakta bulunan toplam çinko derişimi 10 ila 300 ppm arasında, bitkilerin alabileceği toplam çinko derişimi ise 3,6 ila 5,5 ppm arasında değişim göstermektedir. Normal bir bitkide olması gereken çinko derişim miktarı 5 ila 100 ppm arasında olmalıdır. Bitkilerde genel olarak çinko toksisite miktarı 400 ppm derişiminden sonra başlamaktadır. Bitkilerde görülen bu yüksek ppm derişimi, bitkilerin büyüme kısımlarının yeterince gelişememesine sebep olabilmektedir. Kök ve sürgünlerdeki büyüme oranında ise zamanla bir azalış gözlenebilmektedir. Kök bölgesi incelenerek genç oluşumlu yaprakların kıvrılarak kloroz (bitkilerde oluşan renk kaybı, bitkinin yapraklarının sararması, bitki hastalığı) şeklinde görülmesine neden olabilmekte ayrıca hücrelerde büyüme ve uzama miktarı zamanla

engellenebilmektedir. Bu durum bitkinin kloroplast organelinde NADPH değerin artmasına neden olarak beraberinde karboksilaz (RUBP) enzim aktivitesini azaltabilmektedir. Bu durum beraberinde bitkinin kloroplast canlılığını yitirmesine fotosentez hızının düşmesine ve ATP sentezinin azalmasına yol açmakla birlikte hücre organellerinin işlevlerini kaybederek parçalanmasına neden olabilmektedir (Asri ve Sönmez, 2006; Akalin Koca, 2019).

Toprakta yeterli miktarda çinko bulunması bitkide büyümeyi sağlayan hormonların oluşumuna katkı sağlayarak bitki üzerinde olumlu etki yaratmakta bu nedenle tohum verimi ve elde edilen ürünün kalitesi artmaktadır (Karimi Ansari, 2020).

Bitkiler için oldukça önemli olan çinko elementi, farklı enzim çeşitlerinin bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. Bu enzimler hücre zarının stabilizasyonu için oldukça önemli bir etkiye sahiptir. Zn^{+2} iyonu olarak da bitki kökleri vasıtasıyla alınabilen çinko elementi doğal ya da yapay bileşiklerin karıştırılması ile bitki kökleri tarafından da alınabilmektedir. Çinko elementi triptofan sentezinde etkili olan bazı proteinlerin içeriğinde bulunabilir. Bitkilerde ana gövdenin uzaması ve yanıl tomurcukların büyümesini sağlayan oksin hormonu ile bitkilerin genç oluşumlu yaprak kısımlarının üst bölgesinde etkisini gösteren ve büyümesini sağlayan indol-3-asetik asit (İAA) hormonu üretilmesi için zorunlu bir elementtir. Bitkide üretilen bu hormonların yeterli miktarda üretilmemesine çinko elementinin azlığı neden olmaktadır. Çinko elementinin az olması hormon üretimini zayıflattığı için bitkinin boyunun kısa, yapraklarının küçük ve bitki boğum aralarının daha dar bir görünümde olmasına neden olabilmektedir. Ayrıca çinko elementi klorofil ve polen üretiminde bitki için oldukça önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir (Acar, 2019).

2.4. Bor (B) Metali ve Etkileri

Bor doğal çevrede serbest şekilde bulunmamakla birlikte başka elementlerin oksitleriyle bir arada bulunma özelliği göstermektedir. Bor B_2O_3 formunda ve oksijen elementiyile bağ yapabilmektedir. Oksijen elementiyile bağ yapabilme özelliğinden dolayı doğada oldukça fazla borla oksijen bileşimine rastlanabilmekte ve borat adını almaktadır. Mineraller halinde bulunabilme özelliğine sahip olan bir elementtir. Doğada bulunan mineral formları genel olarak; kalsiyum ve sodyum şeklinde ayrıca magnezyum oksitlere bağlı şekilde kristal suyu olarak tanımlanan mineraller olarak bulunabilmektedir. En basit

olarak tanımlanabilecek bor bileşikleri borik asit ile bor oksittir. Bor oksit ise doğal çevrede sıklıkla karşımıza çıkabilen bileşik özelliği taşımaktadır. Doğada sodyum ile bulunması sonucu “boraks” olarak adlandırılmaktadır. Suda çabuk eriyebilme özelliği taşıyan bor, kokusuz şekilde ve granül yapıda ya da toz taneleri şeklinde doğada yerini alabilmektedir. Ülkemizde de oldukça yaygın olarak bulunan bor minerali doğada 230 farklı çeşitte bulunabilmektedir. Borik asit okyanus sularından buharlaşıp havaya karışarak yağış şeklinde toprağa ulaşabilmektedir. Toprağa ulaşan borik asit yeryüzü ve yeraltı su yapısına karışarak insanların bünyelerine geçebilmektedir (Deliboran, 2020).

Kurak ve yarı kurak bölgelerde bor toksisitesinin daha fazla olduğu görülmektedir. Bu bölgelerde bor derişimin fazla olmasının en önemli sebeplerinden biride sulama sularındaki bor seviyesidir. Sulama sularında bulunan bor elementi 1 mg kg^{-1} seviyelerinde bile özellikle bor elementine duyarlı bitkilerde önemli oranlarda toksisiteye neden olmaktadır. Bor elementine dayanıklı olan bitkilerde ise 10 mg kg^{-1} seviyelerinde toksisiteye neden olduğu görülmektedir. Bu toksisitenin temel sebepleri ise bor yarı metalince zengin sulama kaynakları, endüstriyel atık maddeler, kimyasal ve yüzeyde yapılan gübreleme sonucudur. Bu bölgelerdeki topraklarda bor çözünmesinin fazla olduğu gözlemlenmektedir. Bor elementinin bitkilerde az olması veya toksisite göstermesi arasındaki aralık son derece dardır. Bu sebeple bor elementi bitkilerin diğer besin elementlerine kıyasla daha sık gerek duyulan bir element olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalara dayanarak bor elementinin toksisite miktarları bitki türünden türüne değişiklik göstermektedir. Ayrıca bor toksisitesini, bitkinin hangi koşullarında yetiştirildiği etkilemektedir. Tarla ya da sera koşullarında yetiştirilen bitkilerde bor toksisitesinde önemli bir farklılık oluşmaktadır. Genel olarak sera koşullarında yetişen bitkilerde toksisite miktarının tarlada yetişen bitkilere göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Çakır, 2009).

Bor elementinin en önemli işlevi hücre duvarı sentezi ve yapısına katılarak hücre bütünlüğünü korumaktır. Hücre duvarında bulunan bor miktarı ise bitkinin türüne, bitkinin hangi organında bulunduğuna bağlıdır. Genel olarak tek çenekli bitkilerin hücre duvarlarında çift çenekli bitkilere göre daha az pektin bulunabilmektedir. Bu nedenle daha az bor gereksinimine sahip olabilmekte ve fazla bor elementine karşı düşük bir tolerans gösterirler. Bor, glikoprotein ve glikolipit ile bir araya gelerek plazma zarında *cis*-diol kompleks bileşiklerini meydana getirir. Bu yapı membran metabolizmasında ve fonksiyonunda önemli bir yere sahiptir. Ayrıca enzim tepkimelerinin yanında hormon, iyon

ve metabolit taşınmasında büyük rol oynamaktadır. Bor elementi enzim sentezinde enzimleri uyarak inhibe edilmesini ve stabilizesini sağlamaktadır (Brđar-Jokanović, 2020).

Yüksek ya da çok düşük bor seviyeleri mahsulden elde edilen verimin düşmesine ve mahsulün verimsizleşmesine yol açmaktadır. Bu sebeple bor konsantrasyonunu sınırlı bir aralıkta tutmak gerekmektedir. Bor eksikliğine genellikle çok yağış alan bölgelerde rastlanabilir. Bunun nedeni ise borik asitin çözünür bir yapıda olmasıdır. Bor toksisitesi ise bu durumun aksine kurak ve yarı kurak bölgelerde ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bor toksisitesine neden olan bazı faktörleri madencilik, aşırı gübreleme veya sulama olarak sıralayabiliriz (Quiroga, Erice, Aroca ve Ruiz-Lozano, 2020).

Fazla miktarlarda bor metale maruz kalan bitkiler, bu metale karşı bazı tepki çeşitleri gösterebilmektedir. Bu tepkiler bitkide canlılığını kaybetme, gelişmede gecikme, yapraklarda kloroz ve nekrotik belirtiler, meyve sayısında azalma, boyutunda ve ağırlığında azalma gibi değişimler meydana geldiği gözlemlenmektedir. Yapılan araştırmalar sonucu bor toksisitesinin reaktif oksijen türü (ROS) oluşumuna neden olduğu ve hücre membran hasarına yol açtığı gözlemlenmektedir (Cervilla, Blasco, Ríos, Romero ve Ruiz, 2007).

Bor ağır metalinin toprak ya da sularda diğer ağır metallerle bir araya gelmesi bitki için tehlikeli bir hale gelmekte ve zehir miktarı artmaktadır. Toprağın yapısında bulunan diğer besin maddeleriyle birleşerek toprakta bulunan kalsiyum, azot, magnezyum, mangan ve demir elementleriyle zıt yönlü; çinko potasyum, bakır, kükürt ve fosfor elementleri ile aynı yönlü etki gösterdiği belirtilmektedir (Yerli ve diğerleri, 2020).

2.5. Yağ Asitleri ve Doymamış Yağ Asitlerinin Doymuş Yağ Asitlerine Dönüşümü (Desatürasyon)

Yağ (lipit) olarak tanımlanan maddeler suda çözünme özelliği göstermezken eter, kloroform ve benzen gibi organik yapıları çözücülerde çözünme özelliği gösterirler. Trigliseritler; üç yağ asidi ve bir gliserolden oluşan bileşik yapılardır. Katı ve sıvı yağlar bu bileşik yapı grubunda yer almaktadır. Trigliseritleri oluşturan yapılardan biri olan

gliserol yağ bitkilerinin tümünde aynıyken, yağ asitleri ise her yağ bitkisi için farklı bileşimler halinde ortaya çıkmaktadır (Karaca ve Aytaç, 2007).

Yağ asitleri bileşimi yağ bitkilerinde sürekli olarak aynı düzende ve sabit değildir. Farklı koşullar altında az miktarlarda da olsa değişim gösterirler. Birbirinden farklı yağ bitkisi kullanılarak yapılan çalışmalarda; sıcaklık başta olmak üzere, farklı iklim şartlarına da duyarlılık gösterdiği gözlemlenmiştir (Baydar ve Turgut, 1999).

İçerisinde barındırdıkları yağ asitleri bileşimi, yağın hangi alanda kullanıldığı hakkında bilgi vermektedir. Yağın en önemli ögesi ise; yağ asidi yapısında bulunan düz bir hidrokarbon zinciri taşıyan karboksil ($-\text{COOH}$) grubudur. Hidrokarbon zincirin yapısında bulunan karbon atomları arasında çiftli bağ bulunup bulunmamasına göre ve eğer çiftli bağa sahip ise bu bağın hidrokarbon zincirindeki konumu ve sayısı bakımından farklılık göstermesi yağ asitlerinin birbirinden ayrı özellik taşımasını sağlamaktadır. Ayrıca bitkisel yağların özellikleri saptanırken bitkisel yağın elde edildiği bitkinin yağ asitleri oranına bakılmakta ve bitkiden bitkiye değişim gösterdiği için hangi amaçla tüketim yapılacaksa o amaca uygun üretim yapılması daha uygun olmaktadır. Yağ asitleri genel olarak düz hidrokarbon zinciri ve türevlerinden oluştuğu için doymuş (saturated fatty acids) ve doymamış (unsaturated fatty acids) yağ asitleri şeklinde gruplandırılarak ayrı ayrı incelenmektedir. Karbon atomları arasında kurulan tekli kovalent ($-\text{C}-\text{C}-$) bağdan oluşan ayrıca oda koşullarında katı olarak bulunan yağ asitlerine doymuş yağ asitleri denilmektedir. Bu şekilde bulunan ve yağ asitleri bakımından zengin olan yağlar ise doymuş yağ olarak adlandırılmaktadır. Bitkisel yağların yapısında bulunan en önemli doymuş yağ asitleri Stearik asit (C18:0), Behenik asit (C22:0), Laurik asit (C12:0), Arasidik asit (C20:0), Palmitik asit (C16:0) ve Miristik asit (C14:0)'tir. Yaygın şekilde bulunan yağ asitlerine stearik asit ve palmitik doymuş yağ asitleri örnek olarak verilebilir (Karaca ve Aytaç, 2007).

Karbon atomları arasında kurulan, hidrokarbon zinciri üzerinde tekli ya da çoklu çift kovalent bağdan oluşan yağ asitlerine doymamış yağ asitleri denilmektedir. Eğer yağ asitleri, çiftli karbon bağ yapısı bakımından zenginse bu yağlara doymamış yağ asitleri denilmekte ve oda koşulları göz önüne alındığında sıvı halde bulunmaktadır. Bitkisel olarak bulunan doymamış yağlar insan vücuduna dışarıdan takviye olarak alınmalıdır. Kendi içinde ikiye ayrılan doymamış yağlar; yapısında tek bir tane çiftli bağ bulunduran

tekli doymamış yağ ve yapısında birden fazla çiftli bağ bulunduran çoklu doymamış yağ olarak adlandırılmaktadır. Palmitoleik asit ve oleik asit tekli doymamış yağların en önemlileri olarak kabul edilmekle birlikte, çoklu doymamış yağlardan Linoleik ve α -linolenik yağ asitleri önemli birer örnek olarak kabul edilmiştir (Bölükbaşı, 2018).

Yağ asidi desatürazları hemen hemen birçok organizmada bulunmaktadır. Bitkilerde, hayvanlarda, bakterilerde ve mantarlarda bölgesel kullanılması enzimlerin aktivite gösterebilmesi için gerekli olan iyonlara göre farklılık göstermektedir. Yağ asidi desatürazları zara bağlı ve çözünür olarak iki evrimsel gruba ayrılmaktadır. Zara bağlı yağ asidi desatürazlar, Memelilerde, mantarlarda, böceklerde, yüksek bitkilerde ve siyanobakterilerde $\Delta 5$, $\Delta 6$, $\Delta 9$, $\Delta 12$ ve $\Delta 15$ desatüraz içeren yağ asitleri substrat olarak karışık yağlardaki eşleştirilmiş olan yağ asitlerini kullanmaktadır. Elektron taşıyıcı olarak ise sitokrom (sit) b5 kullanmaktadır. Bitki açıl taşıyıcı protein(ACP) ailesi gibi çözünür yağ asidi desatürazları ise tiyoester kullanmaktadır. Elektron verici olarak ferradoksin ve ferredoksin oksidoredüktaz kullanmaktadır (Tang ve diğerleri, 2018).

Aspir tohumları %13 ve %46 arasında yağ oranı bulundurmaktadır. Bünyesinde bulunan yağ miktarının yaklaşık olarak %90 civarı doymamış yağ asitlerinden olan oleik ve linoleik asitten meydana gelmektedir. Aspir yağının diğer bitkisel yağlardan ayıran en önemli özelliklerinden biri ise linoleik asit bakımından zengin olmasıdır. Yaklaşık olarak %75 civarında linoleik asit içermektedir. Geçtiğimiz son yıllarda yapılan çalışmalar ve tarımsal faaliyetler sonucunda yüksek miktarlarda yaklaşık olarak % 75-84 civarı oleik asit ve yaklaşık %71-89 civarı linoleik asit içeren aspir ıslah edilmiştir (Uysal, Baydar ve Erbaş, 2006; Bölükbaşı, 2018).

2.5.1. Yüksek yapılı bitkilerde yağ asidi desatürazlar ve sorumlu genler

Yağ asitleri (FA) tüm organizmaların normal çalışması için gerekli yapılardır. FA'lar plazma zarlarının bileşenleri ve enerji depolama malzemesi olarak işlev görmektedir. Gen ekspresyonunun yanı sıra hücrelerin büyümesini ve farklılaştırılmasını düzenleyen sinyal molekülleri olarak görev almaktadır. FA'ların yapısı uzama ve doyma ile değiştirilebilir. FA'ların biyolojik etkileri moleküllerindeki doymamış bağ sayısına bağlıdır (Czumaj ve Śledziński, 2020).

Alt yapılı ökaryotik canlılar çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) üretmek için çeşitli yağ asidi desatürazları içermekte ve son yıllarda yapılan araştırmalar mikrobiyal yağ asidi desatürazları araştırmacıların büyük ilgisini çekmektedir (Tang ve diğerleri, 2018).

Doymamış yağ asitlerinin desatürazlar ile tepkimesin sonucunda iki grup çift bağa sahip yağ asitleri oluşmaktadır. Bu yağ asitleri linoleik (LA:C18:^{2Δ9Δ12}) ve α-linolenik (ALA:C18:^{3Δ9Δ12Δ15}) yağ asitleridir. Bu yağ asitleri, ökaryot yapıya sahip hücrelerde önemli bir yere sahiptir. Özellikle hücre membranlarında bulunan lipidlerin ve depolama olarak görev alan lipidlerin önemli iki bileşenidir. Ek olarak bu iki yağ asidi LA ve ALA insanlar içinde oldukça önemli bir işleve sahiptir. Bu nedenle dışarıdan takviye olarak vücuda alınması gerekmektedir (Bölükbaşı, 2018).

PUFA'lar plazma zarlarının bileşimini değiştirme, gen transkripsiyonunu düzenleme ve hücre sinyalini kendine uydurma yetenekleri nedeniyle çeşitli biyolojik cevaplar üretebilmektedir. Desatürazlar gen ekspresyon düzeyinde meydana gelen değişikliğe bağlı olarak PUFA'ların gelişmiş birikimleri plazmanın normal akışkanlığını ve bütünlüğünü korumaktadır. Bitkilerdeki yağ asidi desatürazlarını kodlayan genler *FAD* ailesine aittir (Czumaj ve Śledziński, 2020).

Yüksek yapılı bitkilerin kloroplast ve endoplazmik retikulum organellerinde bir küme yağ asidi desatüraz enzimi görev yapmaktadır. Bu enzimler organellerdeki çoklu doymamış yağ asitlerinin dönüşümünde görev almaktadır. Bu tür dönüşümler bitkinin farklı organlarında ve farklı desatüraz enzimleri sayesinde gerçekleşmektedir. Örnek olarak aspir bitkisine bakıldığında çiçek kısımlarındaki yağ asitleri dönüşümünün *FAD3* (fatty acid desaturase-3) enzimiyle, köklerdeki ve yapraklardaki ve çok az miktarda da olsa çiçek kısımlarındaki yağ asitlerinin dönüşümü ise *FAD7* ve *FAD8* desatüraz enzimleri tarafından gerçekleştirilmektedir (Bölükbaşı, 2018).

2.6. Aspir Bitkisi ve *FAD2* Geni

Aspir bitkisinde bulunan *FAD2* geni, çeşitli dokulardaki gelişim aşamalarında ifade edilen ve fonksiyonel olarak çeşitli proteinleri kodlayabilen en az 11 üyesi olan gen ailesinin bir parçasıdır. İlk kez *Arabidopsis thaliana* bitkisinden *FAD2* geninin klonlanmasından bu

yana birçok farklı bitki türünden elde edildiği gözlenmektedir (Shafiei-Kojj ve diğerleri, 2020; Cao ve diğerleri, 2013).

Mısır bitkisi ve *Arabidopsis* 'te sadece tek bir tane kopyasını bulunduran *FAD2* geni; diğer yağ bitkilerinden olan ayçiçeği, soya fasulyesi ve kanola gibi bitkilerinde *FAD2* geninin birden fazla kopyası bulunmaktadır. Son zamanlarda aspir bitkisi üzerine yapılan çalışmalarda *FAD2-1*, *FAD2-2* ve *FAD2-3* olacak şekilde üç farklı *FAD2* geni saptanmıştır. Bu genlerden *FAD2-1* geni gelişmekte olan tohum yapısında fazla miktarda bulunmaktadır. Ayrıca aspir bitkisinde bulunan bu genin, ayçiçeği bitkisinde bulunan *FAD2-1* geniyle çok benzer özellik gösterdiği bilinmektedir. Yapılan araştırmalar göstermektedir ki aspir bitkisinde bulunan *FAD2-1* geninin kodladığı enzim işlevindeki değişimler, oleik asit ile ilgili bir etken olarak hipotez edilmektedir (Güzel, 2016).

FAD2 geni ve bu genin meydana getirdiği enzim birden fazla doymamış yağ asitlerinin birikmesine neden olarak hücre membranının biyofiziksel yapısında önemli bir yere sahiptir. Genel olarak aşırı sıcak, aşırı tuz ve patojen stresine karşı çeşitli yanıt verme potansiyeli bulunmaktadır. *FAD2*'nin gen ekspresyonu, çoklu doymamış yağ asitleri üretimine neden olarak bitkinin savunma sisteminde görev almaktadır (Cao ve diğerleri, 2013).



3. KAYNAK ÖZETLERİ

Türkiye ve dünyada aspir bitkisi üzerine yapılan sayıca az miktarda çalışma olduğu gözlenmiştir. Yapılan bu çalışmada Çinko (Zn) ağır metali ve Bor (B) elementine farklı konsantrasyon düzeneklerinde maruz bırakılan Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)'in türlerinde oleik asidin linoleik aside dönüştürülmesinde görev alan *FAD2* geninin mRNA seviyelerinde meydana gelebilecek muhtemel etkilerinin belirlenmesi amaçlanarak olumlu ve olumsuz yönleri değerlendirilerek genotoksosite düzeyleri kantitatif Real-Time PCR (qRT-PCR) yöntemiyle araştırılarak belirlenmesi sağlanmıştır.

Bu nedenle Aspir üretiminin yapıldığı tarım alanlarında toprağın özellikleri, yapısı ve gereksinimleri incelenerek Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisinde oleik asidin linoleik aside dönüştürülmesinde görev alan *FAD2* geninin ifadesi üzerine Çinko (Zn) ve Bor (B) elementlerinin etkileri moleküler biyolojik açıdan da belirlenmiştir.

Uysal ve diğerleri (2006) aspir bitkisi üzerinde yürütmüş oldukları çalışmalarında Isparta ilindeki aspir popülasyonunu değerlendirerek geliştirilen Gelendost adını verdikleri Gelendost-1 ve Gelendost-2 aspir bitkileriyle tarımsal ve teknolojik açıdan standart çeşitleri olan Dinçer 5-118, Yenice 5-38 ve Remzibey 05 aspir bitkisini kıyaslamışlardır. Karşılaştırma sonucunda Gelendost türünün tarımsal özelliklerinin düşük olduğunu fakat teknolojik özellikler bakımından yüksek bir performans gösterdiğini gözlemişlerdir. Dikenli genetik yapısıyla Remzibey 05 ve Gelendost-1 aspir çeşitleri, genetik yapı olarak dikensiz özelliğe sahip Dinçer 5-118, Yenice 5-38 ve Gelendost-2 aspir çeşitlerine kıyasla daha yüksek yağ miktarı verdikleri gözlemlenmiştir. Gelendost-1 aspir çeşidinin ortalama yağ miktarını yaklaşık %27 oranında bulmuşlardır. Bulunan bu oran en yüksek yağ oranına sahip Remzibey 05 çeşidiyle yakın bir orana sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Gelendost çeşidinin linoleik yağ asidi bakımından zengin, oleik yağ asidi bakımından fakir olduğu sonucuna varmışlardır (Uysal ve diğerleri, 2016).

Yıldırım ve diğerleri (2001) Van ili ekolojik koşulları göz önüne alınarak yaptıkları 5-38 Yenice aspir çeşidi çalışmalarında farklı dozlarda azotlu ve fosforlu gübre kullanarak bitkinin boyunu, verimini bitki başına düşen tabla sayılarını, ham elde edilen yağ miktarını, yağ verimini ve bin tane ağırlığını araştırmışlardır. Azot gübresini kullanarak yaptıkları

çalışmada bitki boyunu, bitki başına düşen tabla sayısını, tohum verimini ve ham yağ verimini olumlu etkilediğini gözlemlerken, fosforlu gübre dozlarını kullandıkları bitkinin sadece boyunun ve tabla sayısının olumlu etkilendiğini gözlemişlerdir.

Keleş ve Öztürk (2012) çalışmalarında aspir çeşitlerini farklı ekim zamanlarında yetiştirerek verim ve kalitesini incelemişlerdir. Ekim ve Mayıs aylarında yetiştirdikleri aspir çeşitlerinin kabuk, yağ ve protein oranı bakımından farklılık gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Ekim zamanının gecikmesi durumunda verimin azaldığını ve kalitenin düştüğünü belirtmişlerdir.

Gautam ve diğerleri (2016) aspir bitkisine 10 ve 20 gün boyunca bakır stresi uygulamışlardır. Yapılan çalışmalarda kontrol grubuna 0,5 μM bakır konsantrasyonu ile deney grubuna 25, 50 ve 100 μM olmak üzere farklı bakır yoğunluklarına maruz bırakmışlardır. Uygulanan bakır ağır metal stresi 10. ve 20. günün sonunda hasat işlemi yapıldı. Bakır stresi uygulanan aspir fidelerindeki yapraklarda enzimatik olmayan antioksidan düzeyinde kontrol grubuna kıyasla daha fazla bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca gelişmiş aspir yapraklarında prolin miktarında artış gözlemişlerdir. Sonuç olarak bakır stresinin aspir bitkisi üzerinde zamana ve doza bağlı etkililerini gözlemlemişlerdir.

Doğan (2012) yapmış olduğu çalışmasında iki farklı tür bitki kullanmış ve kullandığı bitkinin biri aspir bitkisidir. Aspir tohumlarına farklı seviyelerde bor bileşiklerinden oluşan kontrollü deney düzeneği hazırlamıştır. Potasyum tetraboratlı ortam koşullarında çimlenmesi sağlanan tohumların, farklı ortamda çimlenen tohumlarına kıyasla çimlenme yeteneğinin arttığını, çimlenme hızının yükseldiğini ve çimlenme süresinin daha kısa olduğunu gözlemlemişlerdir. Yapılan bu çalışma, tohumlarının çimlenme hızlarını ve çimlenme yeteneklerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Sonuç olarak bor bileşiklerine karşı aspir tohumlarının tolerans aralığının oldukça kısıtlı olduğu sonucu anlaşılmıştır. Belirlenen değerin ne üzerinde ne de altında uygulanan bor bileşiklerinin istenilen sonucu vermediği görülmüştür. Ve en uygun potasyum tetraborat değerinin 0,1 mg/L doz olduğu görülmüştür.

Yentür (2019) yaptığı tez çalışmasında aspir bitkisine çinko oksit nanopartikül (ZnO-NP) ve Cd kirleticisi aspir bitkisi köklerine uygulanarak verdiği tepkilerini araştırmıştır.

Hoagland besi ortamı hazırladığı çözeltiye 0-5-10 mg/L artan oranlarda ZnO-NP ve 0-3-6 mg/L Cd uygulayarak bitkileri 20 gün süreyle kontrollü şartlar altında yetiştirilmesini sağlamıştır. Daha sonra bitkilerin hasat işlemi öncesinde yaprak organlarındaki klorofil muhtevalarını belirleyerek ardından bitkinin kuru ağırlığını ve Cd, Zn, N, P, K, Fe, Cu, Mn gibi bazı elementlerin konsantrasyon oranını belirlemiştir. ZnO-NP uygulamalarının, yaprak organlarında klorofil pigmentinin içeriği ve bitkinin kuru ağırlığı ile olumlu ilişkisi olduğunu gözlemlemiştir. Fakat uygulanan Cd, bu özelliklerin azalmasına yol açmıştır. ZnO-NP uygulamaları sonucunda köklerde ve yeşil kısımlarında Zn oranında bir artış gözlemlemiştir. Ardından yapılan Kadmiyum ve ZnO-NP tatbik edilerek kontrol deneyi bitkisinin yeşil kısımlarında bulunan P, N, Cu, Mn, K ve Fe elementlerinin oranları değişim göstermiştir. Yapılan araştırma sonucunda ise ZnO-NP uygulanan dozlarla ilişkili olarak aspir bitkisinde Cd birikimi fazla olduğu sonucuna varılmıştır.

Katar ve diğerleri (2014) Ankara koşullarında yapmış oldukları aspir bitkisi çalışmalarında Remzibey aspir çeşidini kullanmışlardır. Yapmış oldukları bu çalışmada üzere 6 farklı bor dozu ile çalışmalarını sürdürmüşlerdir. Çalışmanın amacı aspir bitkisinin bor uygulamaları sonrasında boyunu, bitki başına düşen dal sayılarını ve tabla sayılarını, ağırlığını, ham yağ oranını, tohum ağırlıklarını ve tohum verimini araştırmışlardır. Uygulanan farklı bor dozları bitkinin boyu, tohum verimi ve tohum ağırlığı gibi özelliklerinde etkili olduğu görülmüştür.

Gülmezoğlu ve Aytaç (2016) çalışmalarında ise Remzibey-05 çeşidindeki aspir bitkisini kullanarak yaprak ve toprağına çinko (Zn) uygulaması yapmışlardır. Çalışmanın amacı ise aspir bitkisindeki tabla sayısı ile tane verimini; çiçeklenme zamanı ile hasat zamanındaki Zn oranını belirlemektir. Çinko (Zn) EDTA ve Zn sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)'ın etkilerini belirlemek amacıyla deney ortamını hazırlamışlardır. Zn-EDTA çözeltisi öncelikle topraktan uygulamış ardından yaprak kısmına ve en son toprak ve yaprağı birlikte uygulamışlardır. $ZnSO_4$ ise aynı sıra ile uygulanmıştır. Araştırmada uyguladıkları farklı çinko kaynakları tane veriminde kontrol grubuna göre daha fazla artış gözlemlemiştir. Ayrıca Zn-EDTA uyguladıkları deney grubunda en yüksek oranda tane verimine ve çinko içeriğine rastlamışlardır.

Bölükbaşı (2018) ise yapmış olduğu doktora tez çalışmasında aspir bitkisinin 4 farklı çeşidini kullanarak, oleik asidin linoleik aside dönüşümünden sorumlu *FAD2* gen ifade

seviyelerini belirlemeyi amaçlamıştır. Kök, kotiledon ve yaprak kısımlarından örnekler alarak ifade seviyelerini Real-Time PCR ile belirlenmiştir. 4 farklı aspir çeşidi 21 gün süre iklimlendirme ünitesinde gelişimi sağlandıktan sonra 0, 40, 80, 160, 320 ve 640 mg/L şeklinde olmak üzere farklı oranlarda bakır, kurşun ve kadmiyum ağır metalleriyle karşı karşıya bırakılmıştır. Daha sonra yapmış olduğu çalışmada kök, kotiledon ve yaprak kısımlarından örnekleri alarak cDNA sentezlerini, RNA izolasyonlarını ve Real-Time PCR analizlerini yapmıştır. Çalışmanın sonucunda elde edilen veriler göstermiştir ki artan bakır konsantrasyonlarına maruz bırakılan aspir bitkisi türlerinde *FAD2* gen ifade düzeylerinde bir azalış meydana gelmiştir. Kurşun stresine maruz bırakılan aspir çeşitlerinin ise kontrol grubuna kıyasla bir azalış olduğu, kadmiyum stresinde ise *FAD2* gen ifade seviyelerinde bir artış gösterdiği ancak sonraki konsantrasyonlarla birlikte ifade seviyelerinde bir azalış olduğu gözlenmiştir. Yapılan tez çalışmasında elde edilen veriler neticesinde yağ asidi dönüşümlerinden sorumlu olan *FAD2* geninin aspir bitkilerinde ağır metal stresine karşı oluşturmuş olduğu bir savunma mekanizması geliştirdiği sonucuna varılmıştır.

Kobuk ve diğerleri (2019) beş çeşit aspir tohumu ve sekiz aspir hattı kullanarak çalışmışlardır. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) tohumlarının genotiplerini fiziksel ve kimyasal açıdan analiz ederek değerlendirmişlerdir. Çalışmada aspir çeşitleri ve hatlarının fiziksel özellikleri bakımından değerlendirildiğinde benzerlik gösterdiği, kimyasal özellikleri bakımından toplanan veriler ışığında ise aspir çeşitlerinin ve aspir hatlarının yağ içeriklerinin %25,78; %35,16 arasında değişim gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Yapılan çalışmada en yüksek yağ içeriğinin BAY-ER 15 hattında %35,16 oranında olduğu tespit edilmiştir. Genotiplerindeki yağ içeriğini sırasıyla Olası çeşidi %34,90 oranıyla, LİNAS çeşidi %34,10 oranıyla ve BAY-ER 5 hattı ise %33,07 oranıyla takip ettiğini gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda BAY-ER 12 ve BAY-ER 16 hatları ile Olası çeşidinin genotiplerini, oleik asit genotipleri olarak tespit etmişlerdir.

Karabaş (2013) yapmış olduğu çalışmasında ülkemizde yetiştiriciliği giderek artan aspir bitkisinin Remzibey-05 çeşidinin tohumundan elde edilen yağın hammadde olarak biyodizel yakıt olabilme durumu araştırmıştır. Öncelikle aspir bitkisi belirli işlemlerden geçerek ham yağ elde edilmiş ve daha sonra metil ester üretimi gerçekleştirilmiştir elde edilen sonuçlarda %98 oranında ester dönüşümü olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda aspir bitkisinden elde edilen ham yağın metil ester oranı, biyodizel olma koşullarıyla

karşılaştırılmış ve taşıdığı özellikleri bakımından biyodizel standartlarına uygun görülerek dizel motorlarında kullanılabilecek bir seçenek olarak kabul edilmiştir.

Eryılmaz ve diğerleri (2014)'de Yozgat koşulları altında Dinçer (Dikensiz) aspir çeşidini yetiştirerek biyodizel yakıt olarak kullanıma uygunluğunu araştırmıştır. Aspir bitkisinden üretimi yapılan ham yağın biyodizel veri analizleri yapılarak biyodizel yakıt olması için gerekli şartları taşıdığı tespit edilmiş ve biyodizel yakıt olarak kullanılmasına engel bulunmamıştır.

Ünsal (2019) yapmış olduğu yüksek lisans tez çalışmasında Göktürk, Hasankendi ve Asol olmak üzere 3 farklı aspir çeşidine, 0, 50, 100 ve 150 kg/ha 4 farklı doz azot uygulaması yaparak yağ verimlerini ve bu verime neden olan etkenleri kaydetmiştir. Çalışma sonucunda yağ verimliliğinin 59,9; 68,8 kg/da arasında değişiklik gösterdiği sonucuna varılmıştır. Azot uygulaması sonucunda bitki boylarında ve tabla sayısında da değişim gözlenmiş ancak Göktürk ve Asol çeşitlerinde yağ verimi ile tohum verimliliğine çok fazla bir etkisi olmadığı, yetiştirildiği bölge koşulları göz önüne alındığında aspir üretiminde en yüksek yağ verimine Hasankendi çeşidinde rastlanmıştır.

Yaman ve diğerleri (2012) bor dozlarının farklı aspir bitkisi çeşitlerindeki kök uzunluğu, boyu ve kuru ağırlığına etkisini araştırmıştır. Yenice 5-38, Shifa, Dinçer ve Remzibey-05 çeşitlerini ve TAEK-USLU hattını kullanmıştır. Bor dozlarını ise 0- 7,5- 15- 22,5- 30- 37,5- 45- 60-75 ve 90 ppm şeklinde uygulayarak 14 gün süre ile gözlem yapmıştır. Elde ettiği veriler sonucunda kontrol grubundaki aspir bitkisinin kök uzunluğunun, boyunun ve yaş-kuru ağırlıklarının artan bor konsantrasyonlarına karşı bir değişim göstermediği sonucuna varılmıştır. TAEK-USLU hattında 25 ppm konsantrasyonunda en uzun kök uzunluğunun Shifa çeşidinde, en kısa kök uzunluğunun ise 90 ppm'de Shifa çeşidinde olduğu görülmüştür. Dinçer çeşidinde ise 90 ppm'de en kısa boy uzunluğu görülmüştür. Shifa çeşidinde bitki kuru ağırlığı 22,5 ppm konsantrasyonunda en yüksek olduğu, en düşük kuru ağırlığın ise 90 ppm'de Yenice 5-38 çeşidinde olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda bor toksisitesine duyarlılığı yüksek TAEK-USLU hattı ve Shifa çeşidinin kullanılabileceği ve çalışma sonucunda 90 ppm'de kullanılan en yüksek bor dozunun bile yüksek toksisite göstermediği ortaya çıkmıştır.

Aras (2015) proje çalışmasında aspir bitkisinin günümüzde öneminden bahsederek oleik veya linoleik asit içeren çeşitli aspir bitkilerinin seleksiyonunu ele almıştır. Yapmış olduğu proje kapsamında içerdikleri yağ asidi içeriklerine göre kullanmış olduğu 4 tane yerli aspir çeşidi üzerinde erken seleksiyonda kullanılabilir genleri belirlemeyi amaçlamıştır. LINAS, OLAS, REMZİBEY-05 ve DİNCER çeşitlerindeki aspir bitkilerinin *CtFAD2* geninin bitkideki kök ve yaprak kısımlarındaki gen ifade seviyelerini ele alarak qRT-PCR sonucundan elde ettiği veriler doğrultusunda kullanılan farklı aspir çeşitlerinde aktif olan tüm genlerin ekspresyon seviyelerinde bir farklılık olduğunu görmüştür. 6 adet kullanılan *CtFAD2* genleri içinden yüksek verim, yağ ve yüksek mRNA seviyesine LINAS çeşidinin yaprak kısımlarında gözlemleyerek, kullanılan bu 6 gen içerisinde *CtFAD2-1*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-10* gen ifadeleri kullanılan aspir bitkisi çeşitlerinin yaprak kısımlarında benzerlik gösterdiğini veriler sonucunda ortaya koymuştur. Proje sonucunda erken seleksiyonda kullanılabilecek genlerin aspir çeşitlerinin yaprak kısımlarındaki *CtFAD2-10*, *CtFAD2-5* ve *CtFAD2-1* en iyi genler olduğu ve böylece yetiştirilen aspir çeşitlerinden daha fazla verim alınabileceği sonucuna varmıştır.

Wu ve diğerleri (2021) aspir bitkisini içerdiği yüksek linoleik yağ içeriği ve barındırdığı flavonoid nedeniyle önemli bir ürün olarak tanımlamışlardır. Yapılan filogenetik (doğal) sınıflandırmada aspir bitkisinin 30,7 ve 60,5 milyon yıl önce enginar (*Cynara cardunculus*) ve ayçiçeğinden (*Helianthus annuus*) ayrıldığını göstermiştir. Yapılan araştırmada eş zamanlı dizileme, Hi-C haritalama teknolojileri ve genetik bağlantı analizini kullanarak 12 farklı aspir bitkisinin kromozomlarında bulunan yüksek kaliteli gen verilerini analiz etmişlerdir. Karşılaştırmalı genetik analizler sonucunda aspir bitkisinin zengin lipid metabolizmasının absisik asit (ABA) sinyalinde ve iletiminde önemli bir yeri olduğu tespit edilmiştir. Özellikle linoleik asit ve flavonoid biyosentez aşamasında görev alan desatüraz (*FAD2*) ve kalkon sentaz (*CHS*) enzimlerin görev yaptığını gözlemlemişlerdir. Tohumlarda yüksek LA içeriği hayati önem taşıdığını bitkinin tohum ve yumurtalık kısımlarında *FAD2* genlerinin düzenleyici kısımlarında bir farklılaşma meydana geldiği gözlemlenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda aspir bitkisindeki yağ asitlerinin ve flavonoid biyosentezi hakkında önemli bilgiler ortaya konulmuştur.

Li ve diğerleri (2021)'nin yapmış olduğu çalışma aspir bitkisine bulunan doymamış yağ asitlerinin biyosentezinden sorumlu moleküler yapının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bitki çiçeklenmesiyle birlikte 10, 14, 18 ve 22 gün sonra transkripsiyon dizilemesi

gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerde 10. ve 14. günde yapılan DAF analizinde yağ asitlerinin düzenli sentezinin yapıldığı, bozulmaların ise 18. günden itibaren başladığı görülmüştür. Ayrıca yapılan gen ekspresyonunda 10. ve 14. günde $\Delta 9$ -Stearoyl ACP desaturaz (SAD) geni ile 14. ve 18. günlerde oleat desaturaz (*FAD2-1*) gen kodlandığı tespit edilmiş ve PCR deneyleriyle doğrulaması yapılmıştır. Sonuç olarak *FAD2-1* geninin ekspresyon düzeyini düzenleyen 13 tane aday transkripsiyon faktörü (TF) tespit ederek yeni aday genler belirlenmiştir.



4. MATERİYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal Temini

Yapılan bu çalışmada materyal olarak 3 tanesi yerli (BALCI, ASOL ve LİNAS) ve 1 tanesi Amerika (BDYAS-04) menşeli olmak üzere 4 farklı aspir çeşidi kullanılmıştır. Materyal temini ise Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü ve Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden sağlanmıştır. Çalışma kapsamında kullanmış olduğumuz aspir bitkisi çeşitleri ile bu çeşitlerin yapıları ve teknolojik özellikleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kullanılan aspir bitkisinin çeşitleri ve özellikleri

ASOL (TR)	LİNAS (TR)	BDYAS-4 (ABD)	BALCI (TR)
Tescil yılı: 2015	Tescil yılı: 2013	Tescil yılı: 2016 (Göktürk)	Tescil Yılı: 2011
İslah yöntemi: Seleksiyon	İslah yöntemi: Seleksiyon		İslah yöntemi: Seleksiyon
Yapısal Özellikler: Bitki boy uzunluğu: 90-100 Dallanma oranı: İyi Yapraklar: Orta Diken yapısı: Dikenli Çiçek rengi: Sarı Tohum rengi : Krem	Yapısal Özellikler: Bitki boy uzunluğu: 85-90 cm Dallanma oranı: İyi Yapraklar: Orta Diken yapısı: Dikenli Çiçek rengi: Turuncu Tohum rengi : Krem	Yapısal Özellikler: Bitki boy uzunluğu: 80-100 cm Dallanma oranı: Yüksek Yapraklar: Orta Diken yapısı: Dikenli Çiçek rengi: Önce sarı sonra turuncu Tohum rengi : Krem	Yapısal Özellikler: Bitki boy uzunluğu: 55-70 cm Dallanma oranı: İyi Yapraklar : Orta Diken yapısı : Dikenli Çiçek rengi : Sarı Tohum rengi : Krem
Teknolojik Özellikler: Protein (%) miktarı: 14 Yağ oranı (%) miktarı: 40-41	Teknolojik Özellikler: Protein miktarı (%): 14 Yağ oranı miktarı (%): 37-38	Teknolojik Özellikler: Protein miktarı(%): 14-16 Yağ oranı miktarı(%): 34-36	Teknolojik Özellikler: Protein miktarı (%): 14 Yağ oranı miktarı(%): 38-41

4.2. Besi Ortamının Hazırlanması

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisi tohumlarının yetiştirilmesi ve sulanmasında 21 gün süreli besi ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan besi ortamında 1/10'luk (1X) Hoagland besin çözeltisi hazırlanmıştır. Besin ortamı hazırlamak için kullanılan makro ve mikro besin içerikleri ve bu çözeltideki miktarları Çizelge 4.2 ve bunların çözeltideki son konsantrasyonları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Besin ortamı çözeltisi hazırlanırken kullanılmış olan makro ve mikro besin madde içerikleri

Çözeltideki Makro Besin		Çözeltisi Mikro Besin	
K₂SO₄	15.7 g	H₃BO₃	0.124 g
KH₂PO₄	2.7 g	MnSO₄	0.066 g
MgSO₄.7H₂O	24 g	CuSO₄.5H₂O	0.100 g
Ca (NO₃)₂. 4H₂O	47.23 g	NH₄Mo	0.048 g
KCl	0.0746 g	ZnSO₄.7H₂O	0.1553 g
2 L'lik saf su içerisinde çözülür		2 L'lik saf su içerisinde çözülür	

Çizelge 4.3. Çözeltideki son iyon konsantrasyonu

Çözelti içerisindeki iyonların son konsantrasyonları			
Ca	2 mM	Mn	10 ⁻⁶ M
NO₃	4 mM	Cu²⁺	10 ⁻⁷ M
Mg	1 mM	NH₄	10 ⁻⁸ M
K	2 mM	Zn	10 ⁻⁶ M
P	0.2 mM	Fe	10 ⁻⁴ M
B	10 ⁻⁶ M		

Besin ortamı hazırlığında her 10L 10X makro besin ortamı için gerekli 50 ml makro besin bileşeni karıştırılmıştır. Hazırlanmış olan bu çözelti 1/10 oranında seyreltilmiştir. Her 1L 1X konsantrasyondaki solüsyona 1 ml 1000X FeEDTA solüsyonu ilave edilmiştir (1L dH₂O içerisinde çözünebilmesi için 1000X FeEDTA ve 365 g FeEDTA hazırlanmıştır).

4.3. Stres Uygulaması Yapılacak Olan Çinko Ağır Metalinin Hazırlanması ve Bor Uygulaması

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerine uygulanacak olan çinko ağır metal solüsyonunu hazırlamak için $ZnSO_4$ (Çinko Sülfat) bileşiği belirtilen oranlarda 1X'lik Hoagland solüsyonunda çözülmesi sağlanmıştır. Bir sonraki aşamada aspir çeşitleri 21 gün sürede yetiştirilecek olan besin ortamına konulmuş ve besin ortamının koşullarının sabit kalması sağlanmıştır. Stok çözelti solüsyonundaki ağır metal ise 4000 mg/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Aspir bitki çeşitleri yetişirken yetiştirme süresi içinde kalacakları (40 mg/L, 80 mg/L, 160 mg/L, 320 mg/L ve 640 mg/L) konsantrasyonları seyreltilerek hazırlanmıştır. Kontrol grubu hazırlığı yapılırken herhangi bir ağır metal içermeyen 1X'lik Hoagland solüsyonu kullanılmıştır. Bor uygulaması için; (40µM, 80µM, 160µM, 320µM, 640µM) bor konsantrasyonları ve borikasit (H_3BO_3) kullanılarak solüsyon hazırlanmıştır. Kontrol grubu hazırlık aşamasında ise herhangi bir borikasit barındırmayan 1X'lik Hoagland solüsyonu kullanılmıştır.

4.4. Aspir Bitkisi Yetiştirilme Aşaması

Çalışmada kullanılmış olan aspir bitkisi tohumları yüzey sterilizasyonunu işlemi (%70 alkol, %30 sodyum hipoklorit) yapılmasının ardından steril perlit içeren bitki yetiştirme kaplarına (viyollere) ekimi yapılmıştır. Tohum ekimi sırasında viyolün her bir bölümüne eşit sayıda ve homojen miktarda tohumun gelmesine özen gösterilmiştir. 4 farklı aspir çeşidinin ekimi 21 günlük süre ile iklimlendirme ünitesinde 24 saatlik periyotun 16 saati gündüz (25 °C'de ve % 70 nem oranında), 8 saati gece (22 °C'de ve % 60 nem oranında) döngüsünde ve hazırlanmış 1X Hoagland çözeltisiyle belli zaman aralıklarında sulanarak yetiştirilmesi sağlanmıştır.

4.5. Çinko ve Bor Streslerinin Aspir Fide Çeşitlerine Uygulanması Aşaması

İklimlendirme ünitesinde 21 gün süre ile yetiştirilen aspir bitki çeşitleri 21. günün bitiminde farklı derişimlerde hazırlanan çinko ve bor solüsyonu içerisine alınmıştır. Kontrol grubunda ise sadece 1X Hoagland solüsyonu kullanılmıştır. Böylece kontrol grubuna karşın farklı derişimlerden oluşan deney düzeneği kurulumu yapılmıştır. Çinko stresi ve bor stresi 24 saat süre ile uygulanmış ve 24 saatin sonunda fideler saf su ile

yıkılarak örnek alımı yapılmıştır. kök, kotiledon ve yaprak olmak üzere 3 farklı dokudan örnek alımı gerçekleştirilmiş ardından alınan örnekler sıvı azot uygulaması yapılarak RNA izolasyon işlemine kadar -80 °C olan dondurucuya kaldırılmıştır.

4.6. Total RNA İzolasyonu

Çinko ve bor streslerine 24 saat süre ile maruz bırakılan farklı aspir çeşitlerinden alınan kök, kotiledon ve yaprak örnekleri RNA izolasyonu işlemine kadar -80 °C’de derin dondurucuda saklanmıştır. Muhafazası sağlanan bu örneklerden RNA izolasyonu Nucleozol protokolüne göre gerçekleştirilmiş olup ardından RNA miktarı ve saflığı tayini için Nanodrop ND-Spectrometer 1000 cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Uygulanan Nucleozol Protokolü

Örnekler havan içerisinde sıvı azot yardımıyla ezilerek yaklaşık 300-500 mg ezilmiş örnek 2 ml’lik eppendorf tüpe aktarılır. Örneğin aktarıldığı eppendorf tüpün üzerine 1 ml trizol eklenir. Eppendorf tüp kuvvetli bir şekilde sallanarak (el ile) karışım sağlanır. Daha sonra vortekslenerek örnekler oda sıcaklığında yaklaşık 10 dk. bekletilir. Tüp üzerine 250 µl kloroform eklenir, dikkatlice karıştırılır ve yeniden oda sıcaklığında 10 dk. bekletilir. Tüpler 14.000 rpm’de 4 °C’de 10 dk. santrifüj edilerek, santrifüj sonunda üst sıvı (süpernetant) yeni tüpe dikkatlice aktarılır. Süpernetantın aktarıldığı yeni tüp üzerine 250 µl 1,2 M NaCl, 250 µl 0,8 M Na-sitrat ve 250 µl isopropanol eklenir. Tüpler 10 dk. oda koşullarında (tercihen -20 °C’de 10 saat veya gece boyu) bekletilir. 14.000 rpm’de 4 °C’de 10 dk. santrifüj edilir. Süpernetant yani üst sıvı dikkatlice uzaklaştırılır/atılır. Pellet (RNA) tüp dibinde gözlemlenir. Pellet %70 EtOH ile birkaç sefer yıkanır ve dikkatlice soğuk zincirden uzaklaşmadan kurutulması sağlanır. 30-50 µl DEPC (Dietilpirokarbonat) ile muamele edilmiş su eklenerek örnekler 10 dk. 55 °C’de inkübe edilir ve ardından -80 °C’de saklanır.

Nucleozol protokolüne göre izolesi sağlanan RNA’ların saflık ve miktar tayini Nanodrop ND-Spectrometer 1000 cihazı kullanılarak belirlenmiştir. İzolesi yapılan RNA’ların kalite tespiti % 1,2’lik agaroz jel elektroforezi yardımıyla teyit edilmesi sağlanmıştır.

4.7. DNaz Uygulaması

İzolesi sağlanmış olan tüm RNA örnekleri oluşabilecek DNA bulaşmasına karşı DNase enzimi (Thermo Scientific EN0521) ile muamele edilmiştir. DNaz uygulama basamakları aşağıdaki gibi uygulanmıştır.

a) Tabloda yer alan bileşenler RNase free tüpüne aşağıdaki sırasıyla eklendi (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. RNase free tüpüne eklenen bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Miktar
RNA	3 µL (1 µg)
10 X Reaksiyon tamponu (MgCl ₂ 'lü)	1 µL
DNase enzimi (1U)	1 µL
DEPC2'li ultra saf su ile son hacim 10 µL'ye tamamlanır	

b) 1 saat boyunca 37 °C'de inkübasyonu sağlandı.

c) 1 µL 50 mM EDTA üzerine ilave edildi.

d) Ardından DNase inhibasyonu için 65 °C'de 10 dk. inkübe edilir.

4.8. Agaroz Jel Elektroforezi

Kontrol aşaması ve teyit için izole edilen RNA'lar % 1,2 agaroz konsantrasyonu ve 0,5 µl/ml etidyum bromür barındıran jelde, 1X TBE (Tris borat EDTA) tamponu içerisinde 5 V/cm olacak şekilde yaklaşık olarak 1-1,5 saat koşturulma işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından jel görüntüleme sisteminde görüntülenerek (Gene Genius, Syngene) fotoğrafları çekilmiştir.

4.9. cDNA (Komplementer DNA) Elde Edilmesi

cDNA elde edilmesi, ProtoScript II First Strand cDNA Synthesis Kit (BioLabs Inc.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *FAD2* ve aktin (ACT) genlerinin bölge yapılarının uzun olması sebebiyle anchored-oligo(dT)18 primeri kullanılmıştır. cDNA sentezinin ilk

aşamasında hazırlanmış olan total RNA-primer karışımı ile bu karışımın içerisinde bulunan bileşenler ve son derişim miktarları Çizelge 4.5’de verilmiştir



Çizelge 4.5. Total RNA ve primer karışımının bileşenleri ve son derişim miktarları

Bileşenler	Son Konsantrasyonlar
Total RNA	1-6 μL (1 μg 'a kadar)
anchored-oligo(dT)₁₈ (50 μM)	2 μL
ddH₂O18	Toplam hacim 8 μL 'ye tamamlanır

cDNA elde edilme prosedürü uygulaması aşağıdaki gibi yapılmıştır.

- Soğuk zincir içinde 0,2 mL'lik tüpe Çizelge 4.5'de verilen bileşenler sırasıyla eklendi.
- Biorad marka ısı döngü cihazında Total RNA-primer karışımı 65 °C' de 10 dk. bekletilerek RNA'nın ikincil yapısının denatürasyonu sağlandı.
- Ardından örnekler hemen buz üzerine alınma işlemi gerçekleştirildi. Çizelge 4.6'da verilen diğer bileşenler ters transkripsiyon reaksiyonunu gerçekleştirmek için sırasıyla buz üzerinden alınmadan eppendorf tüpe ilavesi yapıldı.

Çizelge 4.6. Ters transkripsiyon tepkimesinde kullanılan bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Miktar
ProtoScript II Reaction Mix (2X)	10 μL
ProtoScript II Enzyme Mix (10X)	2 μL

- Santrifüj edilmeden önce yukarda belirtilen bileşenlerle hazırlanan tüpler pipetaj işlemine tabii tutuldu.
- Biorad marka ısı döngü cihazında ters transkripsiyon reaksiyonu Çizelge 4.7'de verilen program ile gerçekleştirildi.

Çizelge 4.7. Ters transkripsiyon reaksiyon işleminin gerçekleştirildiği program

Primer	Hedef mRNA	inkübasyon süresi
Anchored-oligo(dT)18 primer	4 kb'a kadar	70 °C'de 5 dk. 42 °C'de 60 dk. 80 °C'de 5 dk.

f) Real time PCR reaksiyonu gerçekleştirilene kadar elde edilen cDNA'ların, -20 °C'de derin dondurucuda muhafazası sağlanmıştır.

4.10. Primer Dizaynı

Yapılan bu çalışmada housekeeping gen olarak kullanımı yapılacak *Aktin* (*ACT*) ve *FAD2* gen bölgelerine ait primerlerin dizaynı, NCBI (National Center for Biotechnology Information) gen bankasında bulunan aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisine ait dizilerin kullanılmasıyla yapılmıştır. Çalışmada kullanılan primerlerin dizaynı için yağ asitleri desatüراز ilişkili genlere (*FAD2*) ait bilgiler gen bankasından temin edilmiştir. Bu genlere ait bilgiler Çizelge 4.8'de verilmiştir. Bu genlere ait diziler belirlenmesiyle en uygun primerler dizayn edilmiştir (Çizelge 4.9).

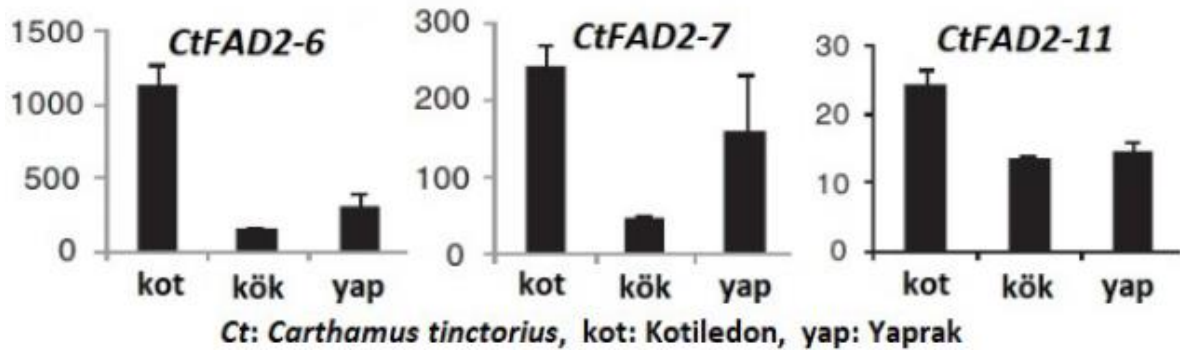
Çizelge 4.8. *FAD2* gen ailesine ait çalışmada kullanılacak genlerin bilgileri

Genin Adı	Uzunluğu	GenBank Numarası
<i>FAD2-6</i>	1148 bç	KC257452.1
<i>FAD2-7</i>	1210 bç	KC257453.1
<i>FAD2-11</i>	1213 bç	KC257457.1
<i>ACTIN</i>	1678 bç	KJ634809.1

Çizelge 4.9. Çalışmada kullanılan genler için tasarlanan Real-Time PCR primer dizileri

Primer	Sekans	Primer Uzunluğu (bp)	Bağlanma Sıcaklığı (°C)
<i>CtFAD2-6</i>	F: 5'ACCAATGCAGTCAAGCCCAT 3'	20	60 °C
	R: 5'TCTGCACCTTCATCTGGCTC 3'	20	60 °C
<i>CtFAD2-7</i>	F: 5' CGCAAACCATTTCCTACCGC 3'	20	60 °C
	R: 5' CGTCGATTTTCAGGCCTTGGA 3'	20	60 °C
<i>CtFAD2-11</i>	F: 5'ACGCCTTATTTTCGCCTGGAA 3'	20	60 °C
	R: 5'TCGCGATCTTGACTTACGT 3'	20	60 °C
<i>ACTIN</i>	F: 5' GGC GTGACCTTACAGATTC 3'	19	60 °C
	R: 5' CAAGCTCTTGCTCGTAGTC 3'	19	60 °C

Yapılan çalışmada kullanılan aspir bitkisinin kök, kotiledon ve yaprak kısımlarında üç farklı *FAD2* geninin ortak ifade edilmesi oldukça önemli bir noktadır. Çalışma yürütülürken bu ayrıntıya dikkat edilmiştir (Cao ve diğerleri, 2013) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Çalışmada kullanılacak aspir bitkisinin farklı kısımlarındaki *FAD2* genlerinin karşılaştırma sonucu ifade düzeyleri (Cao ve diğerleri 2013'ten değiştirilerek alınmıştır)

4.11. Real-Time PCR Reaksiyonu

cDNA elde edilmesiyle beraber Real-Time PCR uygulama aşamaları; Light Cycler Nano (Roche) cihazı aracılığıyla ve SYBR Green I Master boyası kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca normalizasyon işlem sürecinde kullanılmak üzere housekeeping gen olarak *Actin* (*ACT*) geni seçilmiştir. Real-Time PCR reaksiyonu sırasında SYBR Green boyası kullanılarak yapılan kantitatif analizde (miktar belirleme = ekspresyon miktarının tespiti)

PCR'ın etkinliğini belirlemek ve bir dimer oluşup oluşmadığını gözlemlemek amacıyla Melting Curve (Erime Eğrisi) analizi yapılmıştır.

Çalışma aşamasına geçmeden önce reaksiyon koşullarına uygun ortam hazırlığı yapılmış ve denemeler sonucunda en uygun primer ile cDNA derişimleri tayin belirlenmiştir. Ön Real-Time PCR denemeleri sırasında belirlenen koşullar arasında en iyi cq (quantification of cycle) değerini sağlayan şartların, çalışmalarda kullanılmak üzere seçimi yapılmıştır. Elde edilen bulgular uygun koşullar sağlanarak Real-Time PCR reaksiyonları üç teknik tekrar gerçekleştirilmiştir.

4.12. Normalizasyon ve İstatistiksel Analiz

Gen ekspresyonunda Ct değeri olarak belirlenen sonuçlar housekeeping gen olarak, çalışma sırasında kullanılan *ACT* (*aktin*) ve kontrol şartları dikkate alınarak normalizasyonu sağlanmıştır. Housekeeping gen olarak seçilen ve aktinle (*ACT*) karşılaştırılması strese maruz bırakılan aspir çeşitlerinin kök, kotiledon ve yaprak örneklerine ait transkript profilleriyle yapılmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda Livak ve Schmittgen'in $2^{-\Delta\Delta C_t}$ metoduna göre normalizasyonu sağlanmıştır. Bu verilerin ortalama değerleri, standart sapmaları, standart hata ve istatistiksel nicelikleriyle anlamlılık dereceleri istatistik programı (IBM SPSS Statistic-21) ile hesaplanması yapılmıştır.

Bu tez çalışmasında; farklı konsantrasyonlarda çinko ağır metal stresine (40 mg/L, 80 mg/L, 160 mg/L, 320 mg/L ve 640 mg/L) ve bor streslerine (40µM, 80µM, 160µM, 320µM, 640µM) maruz bırakılan aspir çeşitlerinin (BALCI, ASOL, LİNAS ve BDYAS-04) kök, kotiledon ve yaprak olmak üzere üç farklı kısımlarından alınan örneklerde *FAD2* gen ailesine (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) ait mRNA ifade seviyeleri tespit edilmeye çalışılmıştır.

5. BULGULAR

Farklı konsantrasyonlarda çinko (Zn) ve bor (B) stresi uygulanan BALCI, BDYAS-04, LİNAS ve ASOL aspir bitkisi çeşitlerinin kök, yaprak ve kotiledon dokularından alınan örnekleri, *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerine ait mRNA ifade profilleri housekeeping gen olarak kullanılan aktin (*ACT*) geni, kontrol şartları sağlanarak $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metoduna göre normalize edilmiştir.

Normalizasyonu sağlanan gen ifadesi verilerinin ortalaması alınarak elde edilen sonuçlara göre her bir aspir çeşidinin farklı dokularındaki *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin konsantrasyona bağlı ifade seviyesindeki değişimlerin grafikler üzerinde gösterimi sağlanmıştır.

5.1. Aspir Bitkisinde Stres Uygulamaları

5.1.1. Çinko (Zn) stresi

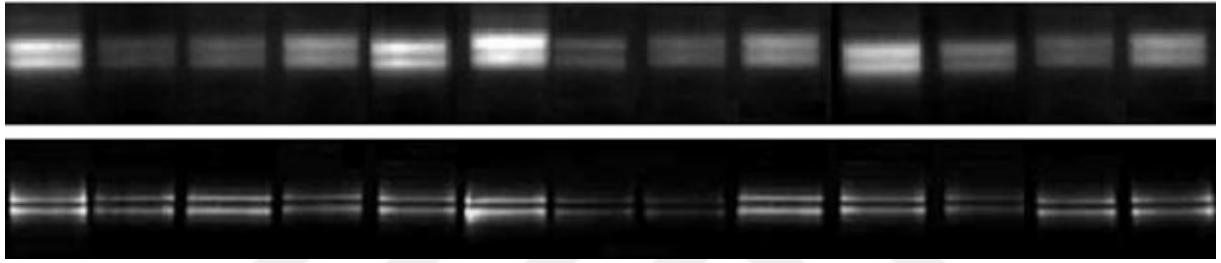
İklimlendirme kabiniinde 21 gün boyunca büyümesi ve gelişmesi sağlanan aspir bitkisi çeşitlerine 21. gün sonunda kontrol grubu için farklı (40 mg/L, 80 mg/L, 160 mg/L, 320 mg/L ve 640 mg/L) derişimlerde hazırlanan çinko ağır metal solüsyonu içerisine alınmıştır. Kontrol grubu için sadece 1X hoagland solüsyonu kullanılmıştır. 24 saat boyunca iklimlendirme ünitesinde çinko stresi uygulanmıştır. 24. saatin sonunda aspir bitkisi çeşitlerinin kök, kotiledon ve yaprak kısımlarından örneklem alımı gerçekleştirilmiştir.

5.1.2. Bor uygulamaları

İklimlendirme kabiniinde 21 gün boyunca büyümesi ve gelişmesi sağlanan aspir bitkisi çeşitlerine 21. gün sonunda farklı derişimlerde (40µM, 80µM, 160µM, 320µM, 640µM) hazırlanmış olan Bor solüsyonu içerisine alınmıştır. Kontrol grubunda sadece 1X hoagland solüsyonu kullanılmıştır. 24 saat süre ile iklimlendirme kabiniinde bor stresi uygulaması yapılmıştır. 24. saatin sonunda aspir bitkisi çeşitlerinin kök, kotiledon ve yaprak kısımlarından örneklem alımı gerçekleştirilmiştir.

5.2. Total RNA İzolasyonu

24 saat süre boyunca çinko ağır metali ve bor uygulaması yapılan aspir bitkisi çeşitlerinin yaprak, kök ve kotiledon kısımlarından alınan örnekler, -80 °C’de derin dondurucuda RNA izolasyonu işlemine kadar bekletilmiştir. Bekletilen bu örneklerin RNA izolasyonu Nucleozol protokol aşamalarına göre yapılarak ardından RNA miktarını ve saflığını belirlemek için Nanodrop ND-Spectrometer 1000 cihazı kullanılmıştır. İzolasyonu sağlanan RNA’lar kontrol ve teyit amaçlı % 1,2’lik agoroz jelde yürütülmesi sağlanarak kontrol aşaması gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. İzolesi sağlanan RNA’ların bazılarının % 1,2’lik agoroz jeldeki görüntüleri

5.3. cDNA (Komplementer DNA) Elde Edilmesi

Sentezi sırasında cDNA, ProtoScript-II First Strand cDNA Synthesis Kit (BioLabs Inc.) kullanılarak elde edilmiştir. Aktin (ACT) ve *FAD2* gen bölgelerinde saptanan uzunluk (400 bp’den uzun) sebebi ile Anchored-oligo(dT)18 primeri tercih edilmiştir. Çizelge 5.1’de ağır metal stresi ve bor uygulaması yapılmış, 4 farklı aspir çeşitlerinin farklı doku örneklerinden alınan cDNA’ların saflık tayini ve miktar ölçümleri verilmiştir.

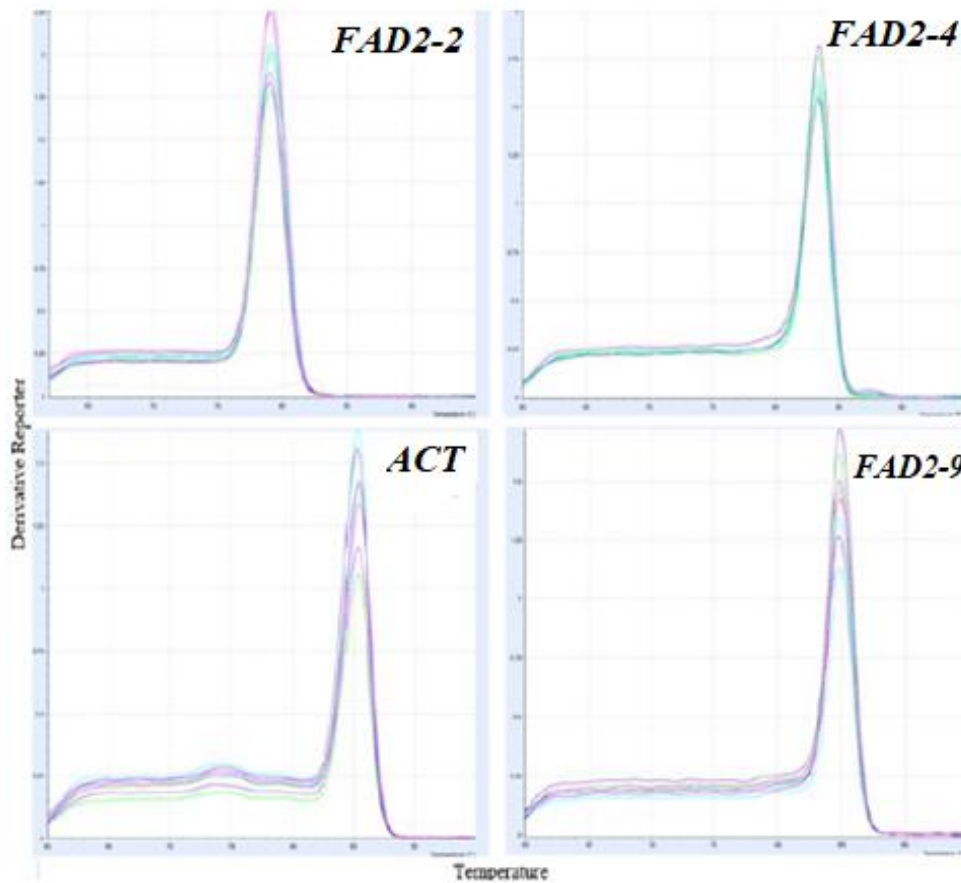
Çizelge 5.3. Çinko (Zn) ve Bor (B) ağır metal stresi uygulanan (LİNAS) çeşidinden elde edilen RNA örneklerinden sentezlenen cDNA'lara ait saflık ve miktar analizleri

Part	Çinko (Zn)	260/280	ng/μL	Bor (B)	260/280	ng/μL
L	KONTROL	1,82	1559,18	KONTROL	1,83	1530,24
L	40 mg/L	1,82	1540,21	40 μM	1,82	1573,99
L	80 mg/L	1,84	1566,83	80 μM	1,82	1512,98
L	160 mg/L	1,84	1527,96	160 μM	1,84	1536,17
L	320 mg/L	1,85	1545,09	320 μM	1,82	1509,37
L	640 mg/L	1,84	1540,24	640 μM	1,82	1525,13
R	KONTROL	1,82	1534,71	KONTROL	1,82	1468,29
R	40 mg/L	1,85	1544,53	40 μM	1,81	1523,96
R	80 mg/L	1,85	1553,14	80 μM	1,82	1533,65
R	160 mg/L	1,82	1559,18	160 μM	1,82	1509,01
R	320 mg/L	1,82	1540,21	320 μM	1,86	1536,17
R	640 mg/L	1,84	1566,83	640 μM	1,86	1573,99
C	KONTROL	1,85	1545,09	KONTROL	1,85	1512,98
C	40 mg/L	1,86	1536,17	40 μM	1,83	1509,37
C	80 mg/L	1,85	1509,37	80 μM	1,84	1525,13
C	160 mg/L	1,85	1525,13	160 μM	1,85	1504,58
C	320 mg/L	1,83	1468,29	320 μM	1,85	1547,56
C	640 mg/L	1,84	1480,56	640 μM	1,83	1538,29

R: kök, C: kotiledon, L: yaprak

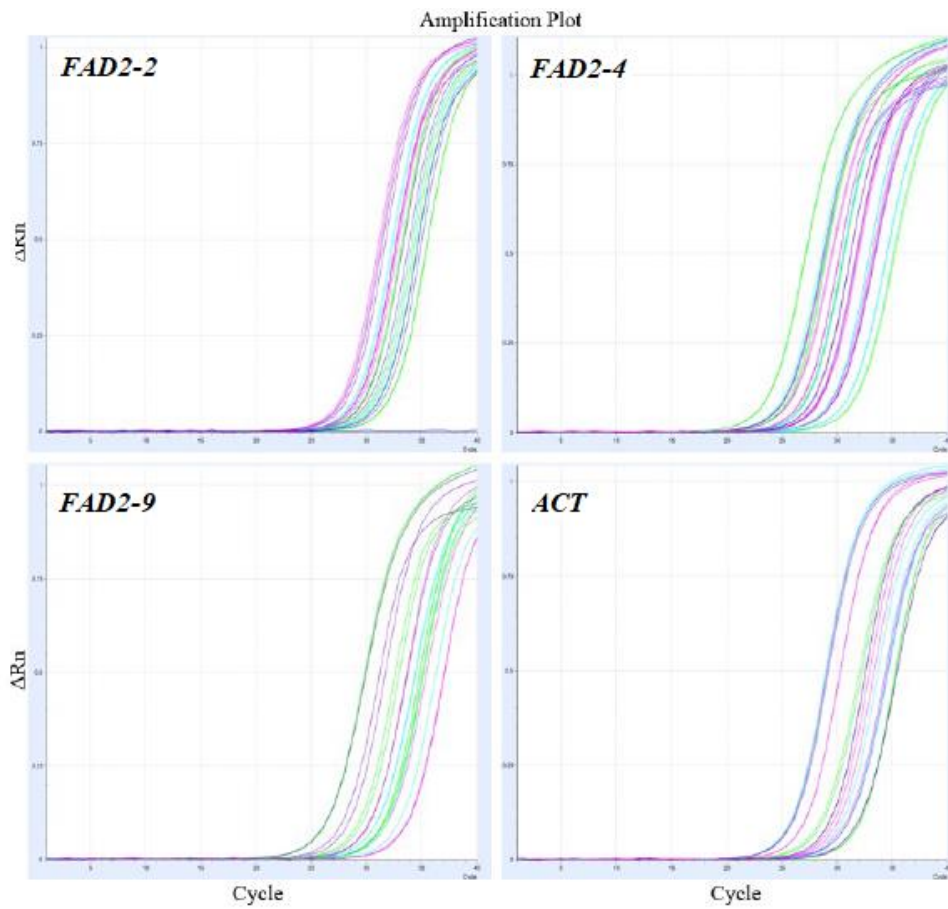
5.4. Real-Time PCR Reaksiyonu

Çalışmada Real-Time PCR reaksiyonu aşaması üç tekrar şeklinde Light Cycler Nano (Roche) cihazıyla SYBR Green I Master boyası kullanılarak yapılmıştır. *FAD* genlerinin mRNA ifadelerinin normalize aşamasında housekeeping gen olarak *Actin* (*ACT*) geni tercih edilmiştir. Real-Time PCR reaksiyonu sırasında SYBR Green I boyası kullanılarak gerçekleştirilen kantitatif analizle miktar belirlemesi ve ekspresyon miktarının tespitine takiben PCR'ın etkin rolünü belirlemek ve herhangi bir dimerin meydana gelip gelmediği izlemek amacıyla erime eğrisi (Melting Curve) analizi yapılmıştır. Stres nedenlerinin aspir çeşitlerinin farklı dokularında çalışılan genler için, bazı örneklerinin erime eğrisi (Melting Curve) analiz sonuçları Şekil 5.2'de verilmiştir.



Şekil 5.2. Çalışması yapılmış olan bazı örneklerde *ACT* ve *FAD2* genlerinin erime eğrisi analizi

Farklı derişimlerde çinko ve bor ağır metal stresine maruz kalmış olan farklı aspir çeşitlerinden alınan *ACT* ve *FAD2* gen örneklerinin Real-Time PCR reaksiyonu eş zamanlı olarak izlenerek ardından pik profilleri kaydedilmiştir. Pik profilinde gözlenen Ct (Cycle Treshold) değeri; Real-Time PCR reaksiyonunda logaritmik olarak ilk önemli artış olan döngüyü ifade etmektedir. Her örneğe ait Ct değerleri, elde edilmiş bu pik profilleri sayesinde belirlenmesi yapılmıştır. Strese neden olan faktörlerin aspir çeşitlerinin farklı dokularında çalışılmış bazı örneklere ait olan Real-Time PCR pik profilleri Şekil 5.3'te sunulmuştur.



Şekil 5.3. Çalışması yapılan bazı örneklerde *ACT* ve *FAD2* genlerine ait Real Time PCR pik profilleri

Çinko ve bor stresıyla karşı karşıya bırakılan aspir bitkisi çeşitlerinin farklı kısımlarından alınan doku örneklerine ait transkripsiyon ve kontrol profilleri belirlenmesinde housekeeping gen olarak belirlenen *aktin* (*ACT*) ile kıyaslaması yapılmıştır. Bu kıyaslama sonucunda elde edilen verilerin analizleri için Livak ve Schmittgen'in $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi kullanılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001).

Ct değeri olarak belirlenen gen ifadesi sonuçları ise housekeeping gen olarak çalışmada kullanılan *aktin* (*ACT*) geni ve bu genin kontrol şartları dikkate alınarak normalizasyon aşaması yapılmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001). Elde edilen verilerin ortalaması, standart sapmaları ve standart hata değerleri istatistik programı (IBM SPSS Statistic-21) ile hesaplaması yapılmıştır.

5.4.1. Çinko (Zn) stresine maruz kalan örneklerden elde edilen sonuçların normalize edilmesi ve istatistiksel analizi

5.4.1.1. BALCI çeşidi

Farklı derişimlerde Çinko (Zn) stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin yaprak, kök ve kotiledon dokularından alınan örneklerin *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genine ait olan kısmının mRNA ifadeleri, housekeeping gen olarak tanımlanan *aktin* (*ACT*) geni ve bu genin kontrol şartları dikkate alınarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre normalizasyonu sağlanmıştır. Normalizasyon sonucunda gen ifade seviyelerinden elde edilen verilerin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma hesaplamaları yapılmıştır (Çizelge 5.5).

Çizelge 5.5. Çinko stresi uygulaması yapılan BALCI çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış *FAD2* genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri

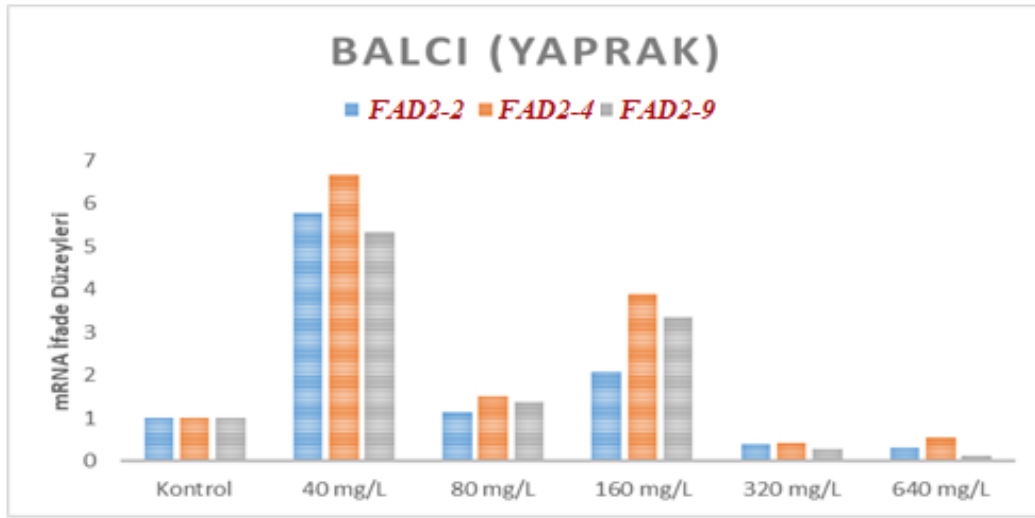
		Ortalama			Standart Sapma			Standart Hata		
YAPRAK	mg/L	<i>FAD2-2</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-9</i>	<i>FAD2-2</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-9</i>	<i>FAD2-2</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-9</i>
	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	5,76622	6,64928	5,31662	0,37102	0,75733	0,81996	0,21421	0,43724	0,47341
	80	1,13099	1,50242	1,39000	0,41967	0,64946	0,61242	0,24229	0,37497	0,35358
	160	2,07456	3,89567	3,36465	0,15074	0,44184	1,21042	0,08703	0,25509	0,69883
	320	0,39600	0,42469	0,29739	0,09999	0,11505	0,04747	0,05773	0,06642	0,02740
	640	0,30226	0,55724	0,12409	0,03899	0,12353	0,02644	0,02251	0,07132	0,01527
KÖK	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	45,56407	50,92761	19,80113	22,69707	28,21560	9,28928	13,10416	16,29028	5,36317
	80	1,03451	18,92782	14,98828	0,42693	14,17411	3,25155	0,24649	8,18343	1,87728
	160	4,40750	33,73914	68,07173	0,76195	2,67816	29,35496	0,43991	1,54624	16,94809
	320	4,24551	21,61145	17,79799	1,38489	5,70495	8,14372	0,79957	3,29375	4,70178
	640	0,38225	1,55906	2,39715	0,07513	0,71439	0,48159	0,04337	0,41245	0,27805
KOTİLEDON	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	14,41884	5,89735	7,42254	5,27731	1,70272	1,57902	3,04685	0,98307	0,91165
	80	52,68731	25,78899	20,31605	26,98569	4,12072	1,83980	15,58020	2,37910	1,06221
	160	19,30420	38,40436	38,80327	5,10546	5,32455	6,24697	2,94764	3,07413	3,60669
	320	19,21773	27,81580	44,27723	5,43514	3,09310	13,29053	3,13798	1,78580	7,67329
	640	5,78142	21,71542	38,67946	2,39252	1,39506	5,45629	1,38132	0,80544	3,15019

Normalizasyonu sağlanan gen ifadelerine ait olan verilerinin aritmetik ortalaması alınarak elde edilen sonuçlara göre her bir aspir çeşidinin kök, yaprak ve kotiledon gibi farklı dokularındaki *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin derişimine bağı ekspreyon seviyesindeki değışimlerin grafikler üzerinde gösterimi sağlanmıştır.

Çinko ağır metal stresi uygulanan BALCI çeşidinin yaprak kısımlarından alınan numunelerin derişimlerine bağı *FAD2* gen ekspreyon düzeylerindeki değışim sonuçları Şekil 5.4'te gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* gen ifade düzeyinin en yüksek 40 mg/L derişiminde ve yaklaşık olarak 6 kat artış gösterdiği, en düşük artışı ise 640 mg/L derişimde ifade ettiği gözlenmiştir. Diğer bir *FAD2* geni olan *FAD2-4* geni en yüksek 40 mg/L derişimde ifadesi gözlenirken, en düşük ifade seviyesi gözlemi ise 320 mg/L derişimde ifade olmuştur. *FAD2-9* geninin en yüksek 40 mg/L derişimde ifade olurken en düşük ifade edildiğı derişim ise 640 mg/L'dir (Çizelge 5.5). Ayrıca yaprak dokularına uygulanmış olan farklı derişimlerdeki çinko stresi sonucunda elde edilen veriler *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değışimin önemli ($p<0,05$) olduğı sonucuna ulaşarak bu durumun tespiti Dunnett's T3 testi ile teyit edilmiştir (Çizelge 5.6).

Çizelge 5.6. Çinko stres faktörüne maruz kalan BALCI çeşidine ait yaprak numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

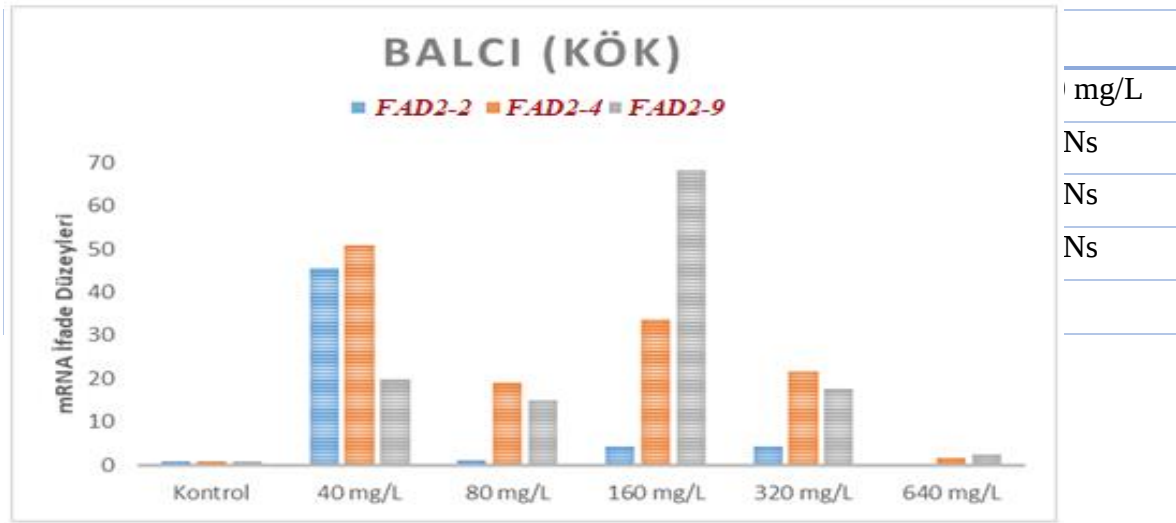
	Konsantrasyonlar				
Genler	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-2</i>	***	Ns	**	**	**
<i>FAD2-4</i>	*	Ns	*	*	*
<i>FAD2-9</i>	***	Ns	Ns	Ns	Ns
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.4. Çinko stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Çinko stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin yaprak kısımlarından alınan numunelerin derişimlerine bağlı *FAD2* gen ekspresyon düzeylerindeki değişim sonuçları Şekil 5.5'te gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre *FAD2-2* gen ekspresyon seviyesi 40 mg/L derişiminde yaklaşık 45 kat ile en yüksek orana sahip olduğu gözlemlenirken, en düşük ise 640 mg/L derişiminde ifade edilmiştir. *FAD2-4* geni ise en yüksek 40 mg/L derişimde ifade olurken en düşük 640 mg/L derişimde ifade olmuştur. *FAD2-9* geninin en yüksek ifade edildiği derişim 160 mg/L ve en düşük ifade edildiği derişim miktarı ise 640 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 5.5). Ayrıca kök dokularına farklı derişimlerde çinko stresi uygulaması yapılmış ve kök numunelerinden elde edilen veriler çinko stresi sonucu *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli ($p < 0,05$) olduğu sonucuna ulaşılarak teyit edilme işlemleri Dunnett's T3 testi ile yapılmıştır (Çizelge 5.7).

Çizelge 5.7. Çinko stres faktörüne maruz kalan BALCI çeşidine ait kök numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

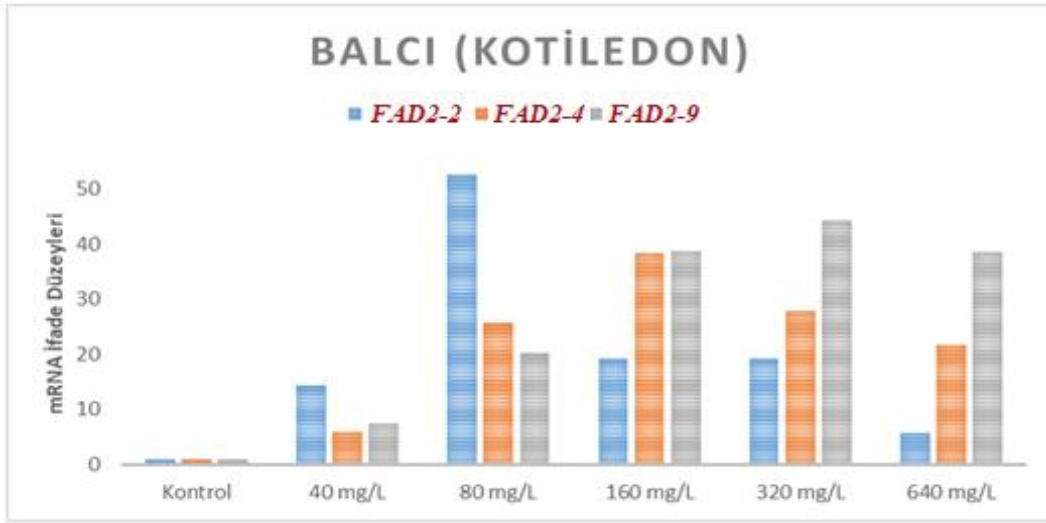


Şekil 5.5. Çinko stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Çinko stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinden alınan kotiledon numunelerindeki derişimlere bağlı *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeyindeki değişimler Şekil 5.6’da verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* gen ekspresyon seviyesi 80 mg/L derişimde yaklaşık 52 kat artış göstererek en yüksek seviyeye ulaşmıştır. En düşük seviye gözlemi ise 640 mg/L derişimde yaklaşık 6 kat şeklinde artış göstererek ifade olduğu görülmüştür. *FAD2-4* geni ise en yüksek 160 mg/L derişiminde ifade olurken en düşük ise 40 mg/L derişiminde ifade olmuştur. *FAD2-9* geni en yüksek ifade düzeyi 320 mg/L derişiminde, en düşük ifade edildiğı derişim ise 40 mg/L’dir (Çizelge 5.5). Ayrıca kotiledon dokularına farklı derişimlerde uygulanan çinko stresi sonucunda elde edilen *FAD2* genlerine ait ifade düzeylerindeki değişimin önemli olduğu ($p < 0,05$) sonucuna ulaşarak bu durumun teyit edilmesi Dunnett’s T3 testi ile tayin edilmiştir (Çizelge 5.8).

Çizelge 5.8. Çinko stres faktörüne maruz kalan BALCI çeşidine ait kotiledon numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

Genler	Konsantrasyonlar				
	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	Ns	Ns	***	*	Ns
<i>FAD2-4</i>	Ns	Ns	*	*	*
<i>FAD2-2</i>	Ns	Ns	*	Ns	*
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.6. Çinko stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

5.4.1.2. BDYAS-04 çeşidi

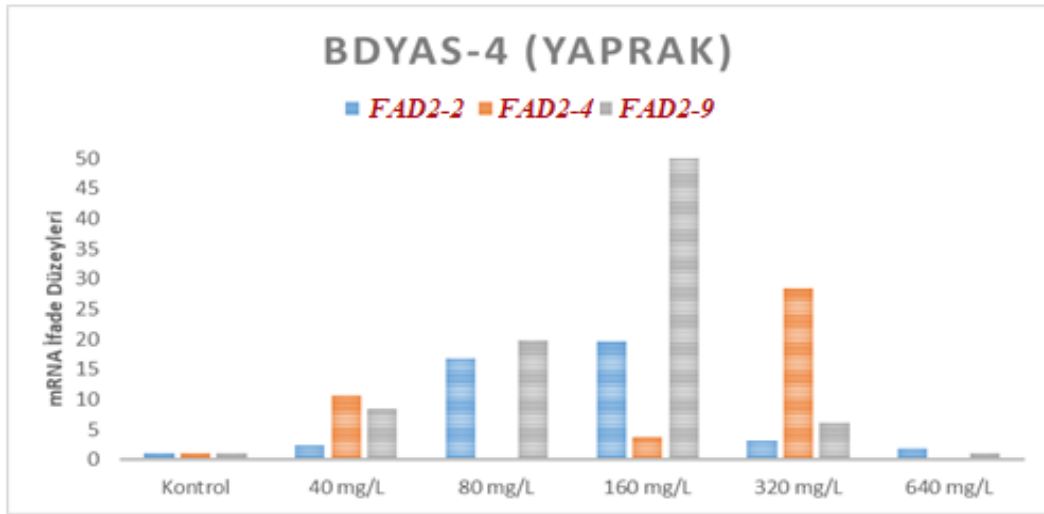
Farklı derişimlerde uygulaması yapılan Çinko (Zn) stresi BDYAS-04 çeşidinin kotiledon, kök ve yaprak dokularından alınan numunelerinde *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerine ait mRNA ifadeleri housekeeping gen olarak kabul edilen *aktin* (*ACT*) geni ve kontrol şartları sağlaması yapılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre normalizasyonu yapılmıştır. Normalizasyon sonucunda elde edilen gen ifade verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma hesaplamaları yapılmıştır (Çizelge 5.9).

Normalizasyonu sağlanan edilen gen ifade verilerinin ortalamaları alınarak elde edilen veriler doğrultusunda her bir aspir çeşidinin kök, yaprak ve kotiledon gibi farklı dokularında meydana gelen *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin derişimlerine bağlı ifade seviyelerindeki değişimlerin grafikler üzerinde gösterimi sağlanmıştır.

Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere bağlı *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeyindeki değişim sonuçları Şekil 5.7’de verilmiştir. Kontrol grubuna göre, *FAD2-2* gen ifade düzeyi 160 mg/L derişim seviyesinde yaklaşık 18 kat artış gösterdiği görülmüştür. En düşük ifade seviyesi ise 640 mg/L derişiminde meydana gelmiştir. *FAD2-4* genindeki ifade seviyesi ise en yüksek 320 mg/L derişiminde ve en düşük 80 mg/L’de ifade olmuştur. *FAD2-9* geninin ise en yüksek derişimi 160 mg/L’de gözlemlenirken ve en düşük ifade edildiği derişim seviyesi 640 mg/L’de gözlenmiştir (Çizelge 5.9). Ayrıca yaprak numunelerine uygulanan farklı derişimlerdeki çinko stresi sonucu elde edilen *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli ($p<0,05$) olduğu saptanarak değişim durumu Dunnett’s T3 testi ile tayin edilmiştir (Çizelge 5.10).

Çizelge 5.10. Çinko stres faktörüne maruz kalan BDYAS-4 çeşidine ait yaprak numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

Genler	Konsantrasyonlar				
	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	***	**	**	***	**
<i>FAD2-4</i>	**	***	*	**	**
<i>FAD2-2</i>	Ns	Ns	**	*	Ns
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					

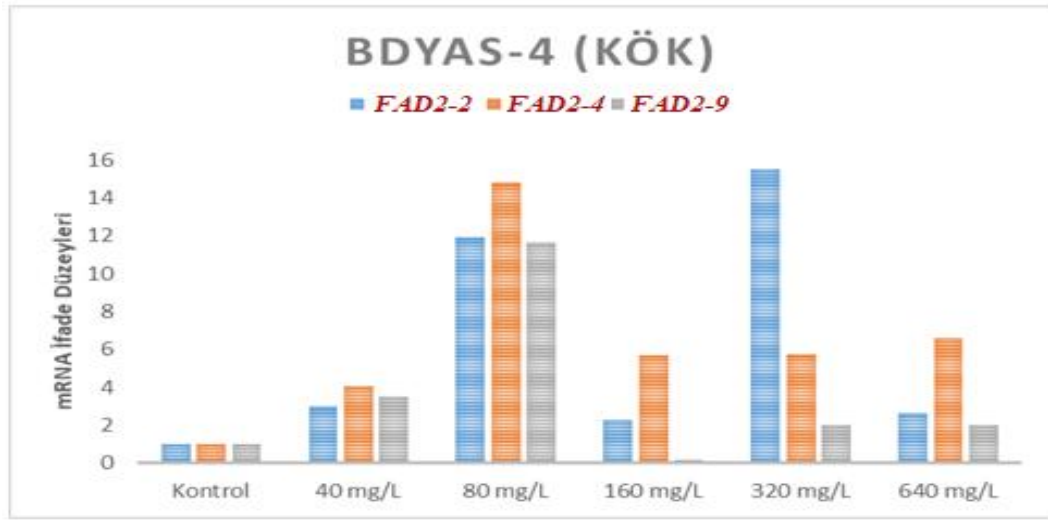


Şekil 5.7. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kök dokularından alınan numunelerde derişimlere bağlı *FAD2* genlerinin ifade düzeyindeki değişim sonuçları Şekil 5.8’de verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* gen ekspresyon seviyesi 320 mg/L derişiminde yaklaşık 15 kat artışa neden olduğu görülmüştür. En düşük ifade seviyesi ise 160 mg/L derişiminde gözlenerek yaklaşık 2 kat artış şeklinde olmuştur. *FAD2-4* gen ifadesi ise en yüksek artışı 80 mg/L derişiminde gösterirken, en düşük artışı 40 mg/L derişimde göstermiştir. *FAD2-9* geninin ise en yüksek derişimi 80 mg/L’de olurken, en düşük ifade edildiği derişim seviyesi ise 160 mg/L’de gözlenmiştir (Çizelge 5.9). Ayrıca kök dokularına uygulanan farklı derişimlerdeki çinko stresi sonucunda kök örneklerindeki numunelerden elde edilen *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli ($p < 0,05$) olduğu saptanarak bu değişim durumu tespiti Dunnett’s T3 testi ile tayin edilmiştir (Çizelge 5.11).

Çizelge 5.11. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait kök numunelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	*	Ns	*	Ns	Ns
<i>FAD2-4</i>	Ns	Ns	**	Ns	Ns
<i>FAD2-2</i>	**	Ns	***	Ns	**
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					

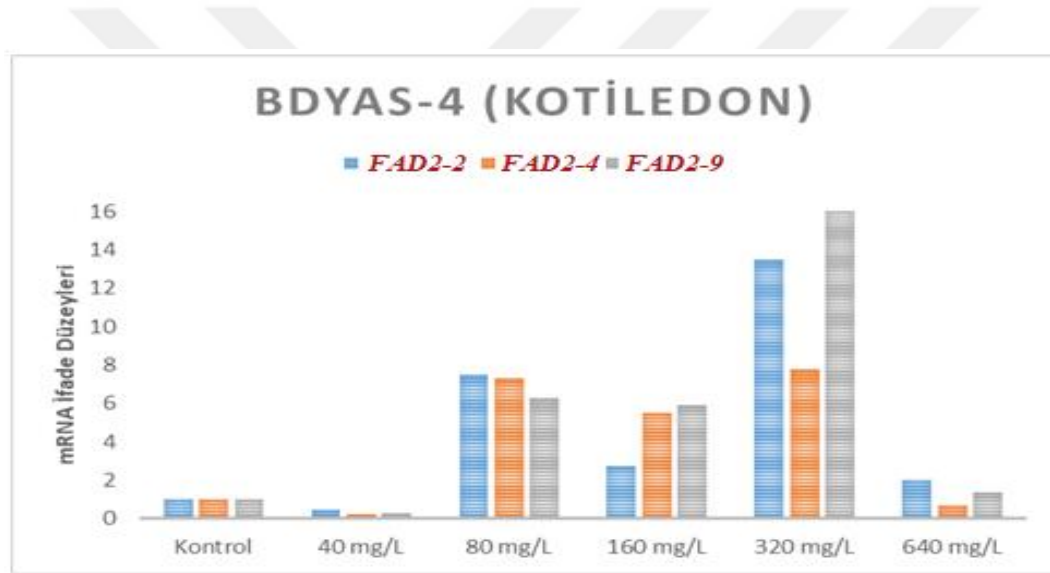


Şekil 5.8. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişime bağılı *FAD2* genlerinin ifade düzeylerindeki değışim miktarları Şekil 5.9’da gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* gen ifade seviye miktarı 320 mg/L derişiminde artış ile en yüksek olduğı görölmektedir. En düşük ifade seviyesinin ise 40 mg/L derişimde meydana geldiğı görölmektedir. *FAD2-4* geni ise en yüksek ifade seviyesini 320 mg/L derişiminde gösterirken, en düşük ifade seviyesi artışını ise 40 mg/L derişimde göstermiştir. *FAD2-2* geni ifade düzeyi en yüksek 320 mg/L’de gözlenmiş olup en düşük ifade edildiğı seviye derişimi ise 40 mg/L’de olmuştur (Çizelge 5.9). Ayrıca çinko stresine maruz kalan kotiledon numune örneklerinden elde edilen sonuçlar, *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değışiminin önemli ($p < 0,05$) olduğunu göstererek bu durumun teyit edilmesi Dunnett’s T3 (*FAD2-4*) ve Tukey HSD (*FAD2-9* ve *FAD2-2*) testi ile olmuştur (Çizelge 5.12).

Çizelge 5.12. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	Ns	***	**	***	Ns
<i>FAD2-4</i>	*	*	Ns	*	Ns
<i>FAD2-2</i>	Ns	***	***	***	Ns
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.9. Çinko stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

5.4.1.3. LİNAS çeşidi

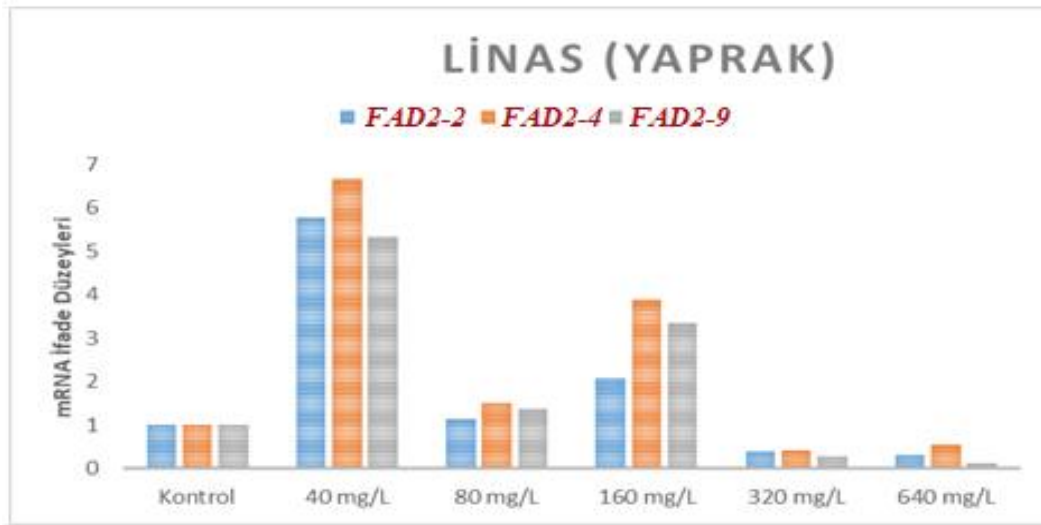
Aspir bitkisinin LİNAS çeşidinin kök, kotiledon ve yaprak gibi dokularına farklı derişimlerde maruz bırakılan çinko stresinin *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerine ait mRNA ifade seviyeleri housekeeping gen olarak tanımlanan *aktin* (*ACT*) geni ve kontrol şartları sağlanarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre normalizasyonu sağlanmıştır. Normalizasyon aşaması sonucunda elde edilmiş olan gen ifade verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma hesaplamaları yapılmıştır (Çizelge 5.13).

Normalizasyonu sağlanan gen ifade verilerinin aritmetik ortalaması alınarak elde edilen sonuçlar doğrultusunda aspir çeşitlerinin kök, yaprak ve kotiledon gibi farklı dokularında meydana gelen *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin derişimlerine bağı olarak ifade seviyeleri üzerindeki değışimlerin sonuçları grafiklerle gösterimi yapılmıştır.

Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin yaprak numunelerindeki derişime bağı olarak *FAD2* genlerinin ifade düzeylerindeki değışim miktarları Şekil 5.10'da verilmiştir. Kontrol grubuna göre *FAD2-2* gen ifade seviyeleri 40 mg/L'de en yüksek seviyede olmuştur. En düşük seviyedeki derişim ise 640 mg/L'de olduğı görölmektedir. *FAD2-4* geninde ise en yüksek 40 mg/L derişiminde olurken en düşük ifade seviyesi ise 320 mg/L derişiminde olmuştur. *FAD2-9* geninin ise en yüksek ifade seviyesi 40 mg/L'de olurken en düşük ifade edildiğı derişim 640 mg/L'de olmuştur (Çizelge 5.13). Ayrıca farklı derişimlerde çinko stresine maruz bırakılan yaprak numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değışimin önemli olduğunu ($p<0,05$) bu durumun tespit edilmesinde Dunnett's T3 testi ile tayin olmuştur (Çizelge 5.14).

Çizelge 5.14. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

Genler	Konsantrasyonlar				
	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	***	Ns	**	**	*
<i>FAD2-4</i>	*	Ns	*	*	*
<i>FAD2-2</i>	**	Ns	Ns	Ns	*
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					

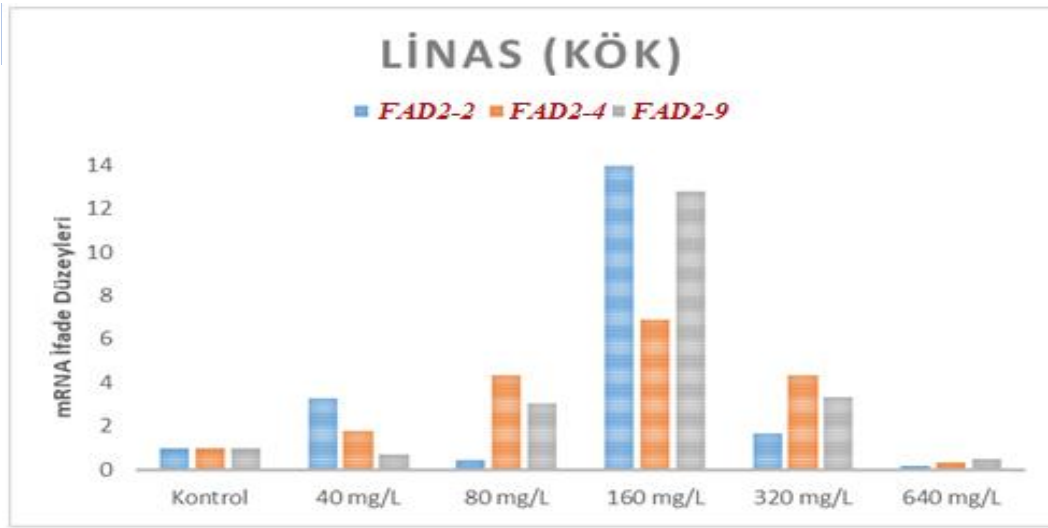


Şekil 5.10. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kök numunelerine uygulanan derişimlere bağılı olarak *FAD2* genlerinin ifade düzeylerindeki meydana gelen değışimler Şekil 5.11’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ifade seviyesi 160 mg/ L’deki derişimde en yüksek seviyeye ulaştığı, 640 mg/L’deki derişiminde ise en düşük seviyede ifade edildiğı görülmüştür. *FAD2-4* geninin en yüksek ifade seviyesi 160 mg/L derişiminde olurken ve en düşük ifade seviyesi 640 mg/L’deki derişiminde görülmüştür. *FAD2-9* geninin ise en yüksek ifade seviyesi 160 mg/L’deki derişiminde meydana gelirken en düşük ifade seviyesi 640 mg/L’deki derişimde olmuştur (Çizelge 5.13). Ayrıca kök numunelerine uygulanan farklı derişimlerdeki çinko stres uygulamalarından elde edilen veriler *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değışimin önemli miktarda ($p < 0,05$) olduğı görüldüğü bu durumun teyit edilmesi için Dunnett’s T3 testi kullanılmıştır (Çizelge 5.15).

Çizelge 5.15. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>FAD2-4</i>	Ns	Ns	Ns	**	Ns
<i>FAD2-2</i>	Ns	Ns	Ns	*	Ns

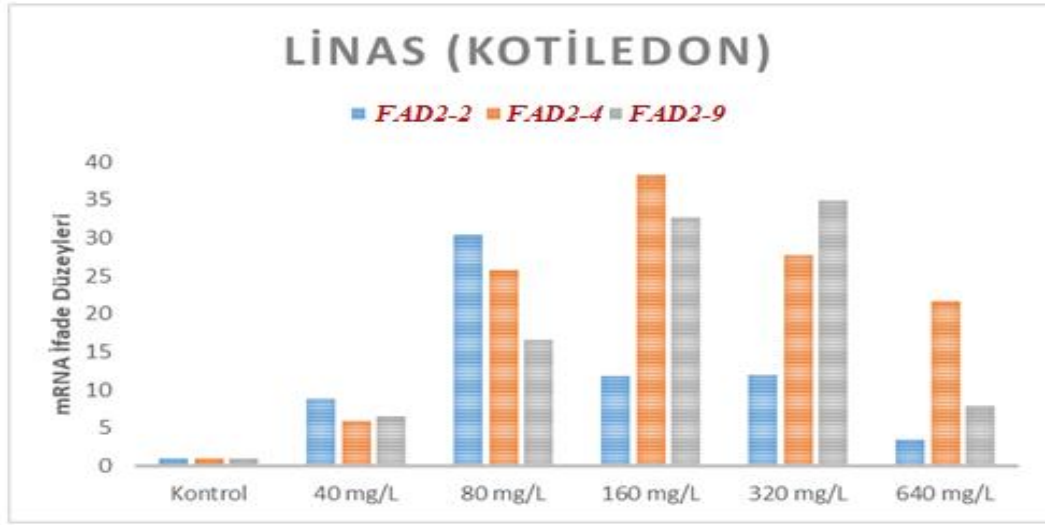


Şekil 5.11. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kotiledon numunelerine uygulanan derişimlere bağı olarak *FAD2* genlerinin ifade düzeylerinde meydana gelen değışimler Şekil 5.12’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre *FAD2-2* geninin ifade seviyesi 80 mg/L’deki derişiminde arttığı gözlemlenmiştir. En düşük ifade olduğı derişim seviyesi ise 640 mg/L ‘dir. *FAD2-4* geninin göstermiş olduğı en yüksek derişim miktarı 160 mg/L olmakla birlikte en düşük gen ifadesi derişim miktarı 40 mg/L’dir. *FAD2-9* geninin ise ifade seviyesi en yüksek 320 mg/L’de olurken en düşük ifade seviyesi 40 mg/L’de olduğı görülmüştür (Çizelge 5.13). Ayrıca çinko stresinin farklı derişimlerine maruz kalan kotiledon dokularından elde edilmiş olan veriler *FAD2* genlerinde meydana gelen ifade seviyelerindeki değışimin önemli miktarda ($p < 0,05$) olduğı görülerek bu durum teyit edilmesi için Dunnett’s T3 testi kullanılmıştır (Çizelge 5.16).

Çizelge 5.16. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	Ns	Ns	***	Ns	Ns
<i>FAD2-4</i>	Ns	Ns	*	*	*
<i>FAD2-2</i>	Ns	**	*	Ns	*
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.12. Çinko stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

5.4.1.4. ASOL çeşidi

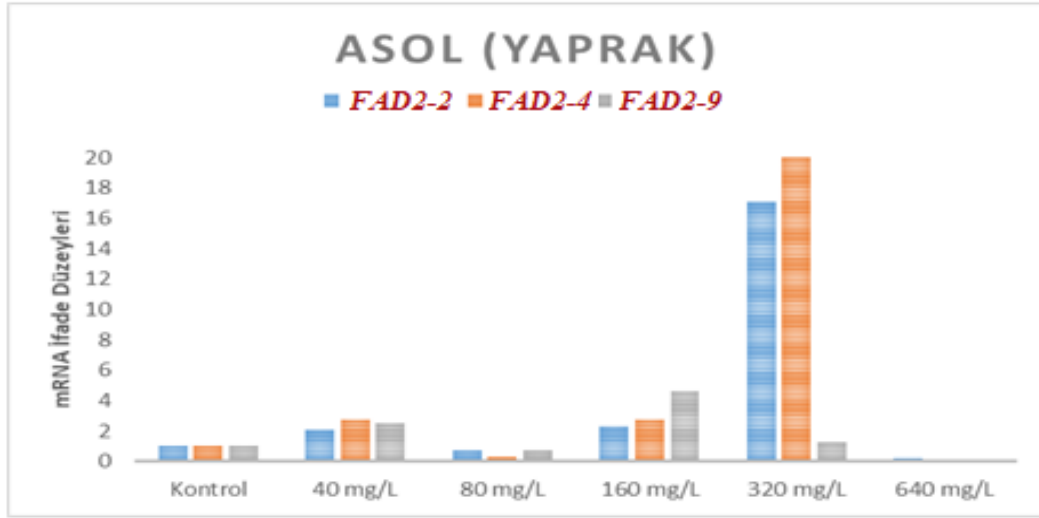
Aspir bitkisinin ASOL çeşidinin kök, yaprak ve kotiledon dokularına uygulanan farklı derişimlerdeki Çinko (Zn) stresinin *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerine ait mRNA ifadeleri housekeeping gen olarak tanımlanan *aktin* (*ACT*) geni ve bu genin kontrol şartları sağlanarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre normalizasyonu yapılmıştır. Normalizasyon sonucunda elde edilen verilerin gen ifade seviyelerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma hesaplamaları yapılmıştır (Çizelge 5.17).

Normalizasyonu sonucunda elde edilen verilere göre gen ifade seviyelerinin aritmetik ortalamaları alınarak bu sonuçlar doğrultusunda aspir çeşidinin kök, yaprak ve kotiledon gibi farklı dokularından alınan numunelerde meydana gelen *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin derişimlerine bağı olarak ifade seviyelerindeki değışim miktarları grafikler kullanılarak gösterilmiştir.

Çinko stresine maruz kalan ASOL çeşidinin yaprak dokularından alınan derişimlere bağı olarak *FAD2* genlerinin ifade düzeylerinde meydana gelen değışimler miktarları Şekil 5.13’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon seviyesindeki değışim miktarı 320 mg/L’deki derişimle yaklaşık 18 kat artış sağlayarak en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. Meydana gelen en düşük ifade seviyesi ise 640 mg/L derişiminde meydana geldiği görülmektedir. *FAD2-4* geninin ise en yüksek ifade seviyesi 320 mg/L’deki derişimde gösterirken, en düşük ifade seviyesini 80 mg/L’deki derişimde göstermiştir. *FAD2-9* geninin ifade seviyesi en yüksek 160 mg/L’de olurken, en düşük ifade edildiğı seviye derişimi ise 80 mg/L’de meydana gelmiştir (Çizelge 5.17). Ayrıca çinko stresinin farklı derişimleri uygulanan yaprak dokusu numunelerinden elde edilmiş olan veriler *FAD2* genlerinin ifade seviyelerinde meydana gelen değışimin önemli ($p<0,05$) olduğu bulunmuş ve bu durum Dunnett’s T3 (*FAD2-4* ve *FAD2-2*) ve Tukey HSD (*FAD2-9*) testi ile doğruluğı teyit edilmiştir (Çizelge 5.18).

Çizelge 5.18. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	***	Ns	***	***	**
<i>FAD2-4</i>	***	**	*	**	**
<i>FAD2-2</i>	**	Ns	Ns	Ns	*
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					

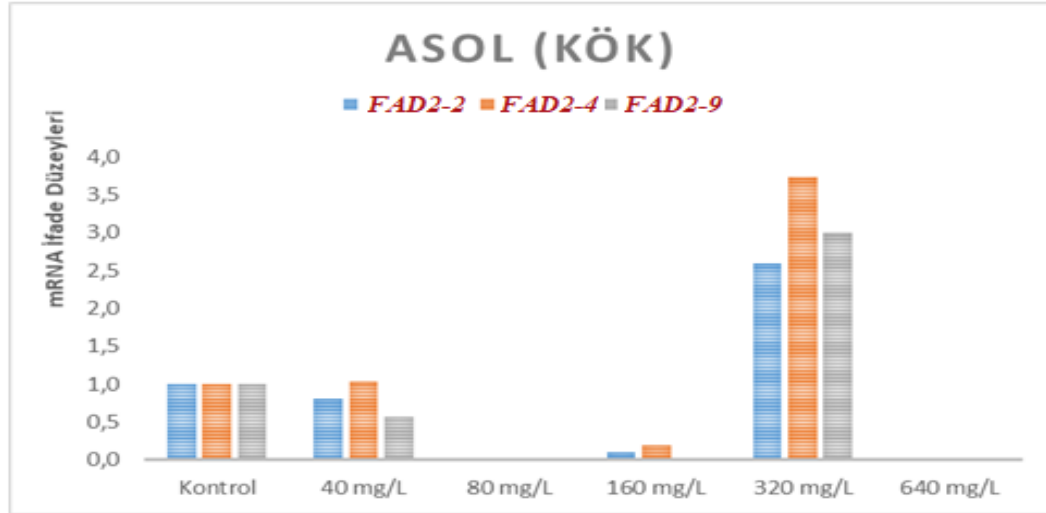


Şekil 5.13. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kök numunelerine uygulanan derişimlere bağılı olarak *FAD2* genlerinin ifade düzeylerinde meydana gelen derişim miktarları Şekil 5.14'te gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon düzeyi 320 mg/L derişimde en yüksek olduğu görülmektedir. En düşük ifade edildiği 160 mg/L derişiminde artış gözlenmektedir. *FAD2-4* geni ise en yüksek 320 mg/L derişimde ifade gösterirken, en düşük 160 mg/L derişimde ifade olmuştur. *FAD2-9* geninin ise en yüksek ifade seviyesi 320 mg/L'deki derişime meydana gelirken en düşük ifade edildiği derişim miktarı ise 40 mg/L'dedir (Çizelge 5.17). Ayrıca kök numunesine uygulanan farklı derişimlerdeki çinko stresinin farklı *FAD2* genlerinde ifade düzeylerinde değışimlerinde önemli ($p < 0,05$) etkiye sahip olduğu bulunarak bu durumun doğruluğu için Dunnett's T3 testi kullanılmıştır (Çizelge 5.19).

Çizelge 5.19. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

Genler	Konsantrasyonlar				
	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	***	***	***	*	***
<i>FAD2-4</i>	Ns	***	***	Ns	***
<i>FAD2-2</i>	***	***	***	Ns	***
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.14. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

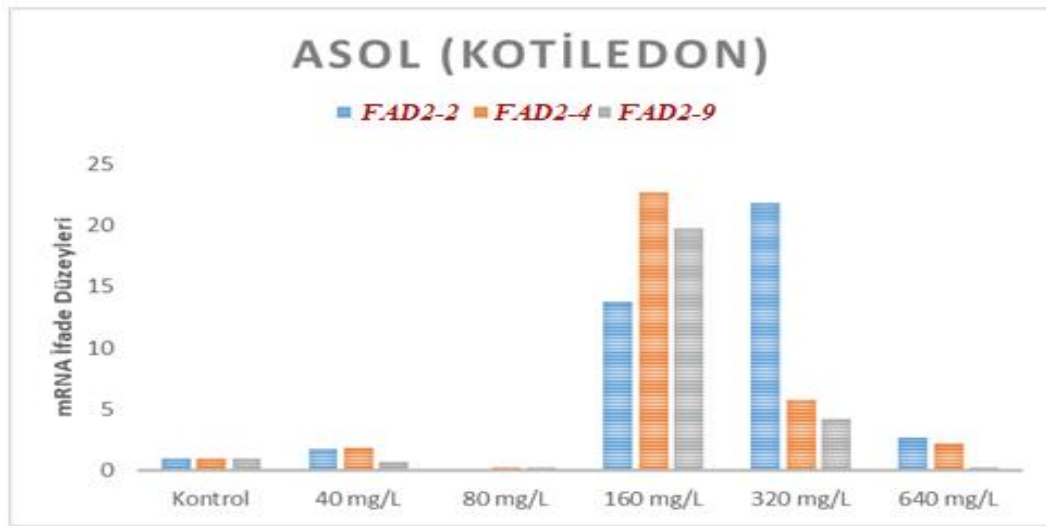
Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kotiledon dokularına uygulanan derişimlere bağılı olarak *FAD2* genlerinin ekspresyon seviyelerindeki değışim miktarları Şekil 5.15’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon seviyeleri 320 mg/L’de artış göstermiştir. En düşük ifade seviyesi ise 40 mg/L derişiminde görölmektedir. *FAD2-4* geni ise en yüksek ifadeyi 160 mg/L derişimde gösterirken en düşük ifade seviyesini 40 mg/L ve 640 mg/L derişimde göstermiştir. *FAD2-9* geni en yüksek 160 mg/L derişiminde göstererek, en düşük ifade seviyesini 40 mg/L’de göstermiştir. (Çizelge 5.17). Ayrıca kotiledon numunesine uygulanan farklı derişimlerdeki çinko stresinin farklı *FAD2* genlerinde ifade düzeylerinde değışimlerinde önemli ($p<0,05$)

etkiye sahip olduğu bulunarak bu durumun doğruluğu için Dunnett's T3 testi kullanılmıştır (Çizelge 5.20).

Çizelge 5.20. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

Genler	Konsantrasyonlar				
	40 mg/L	80 mg/L	160 mg/L	320 mg/L	640 mg/L
<i>FAD2-9</i>	**	**	**	**	**
<i>FAD2-4</i>	Ns	*	**	**	*
<i>FAD2-2</i>	**	*	**	**	***

* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)



Şekil 5.15. Çinko stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kotiledon numunelerindeki değişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

5.5.2. Bor uygulaması yapılan örneklerin normalizasyonu ve analizi

5.4.2.1 BDYAS-04 çeşidi

Farklı derişimlerde Bor (B) stresi uygulaması yapılan aspir bitkisinin BDYAS-04 çeşidinin kök, yaprak ve kotiledon doku örneklerinin *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerine ait mRNA ekspresyonları housekeeping gen olarak tanımlanan *aktin* (*ACT*) geni ve bu genin kontrol şartları sağlanarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre normalizasyonu yapılmıştır.

Normalizasyon aşaması sonucunda elde edilen gen ifadelerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma sonuçları hesaplanmıştır (Çizelge 5.21).

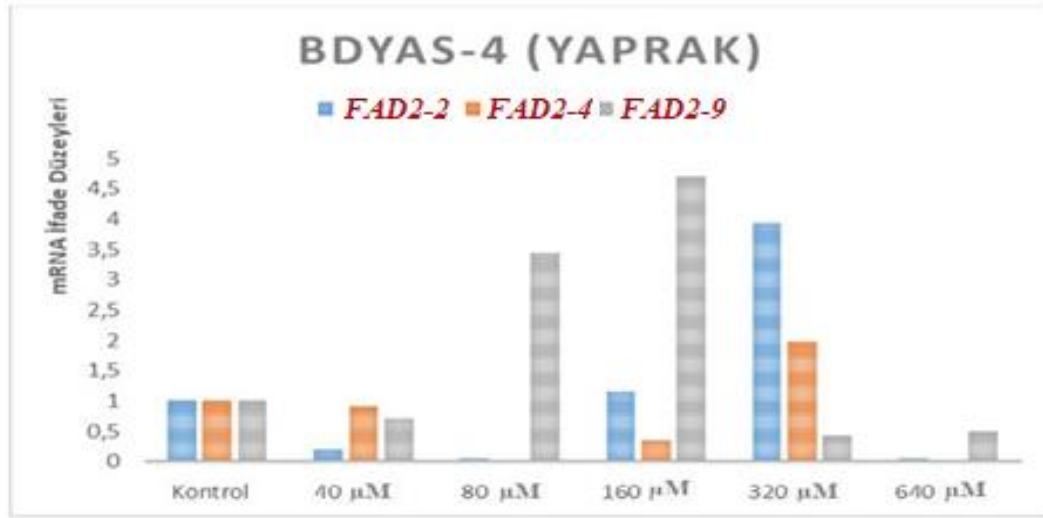


Normalizasyonu sağlanan gen ifadesi verilerinin aritmetik ortalaması alınarak elde edilen sonuçlar doğrultusunda her bir aspir çeşidinin kök, kotiledon ve yaprak gibi farklı dokularındaki *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin derişimlerine bağı ifade seviyelerindeki değışim sonuçları grafikler üzerinde belirtilmiştir.

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan BDYAS-4 çeşidindeki yaprak dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değışimler Şekil 5.16'da gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon seviyesi 320 mg/L'deki derişimde yaklaşık 4 kat artış göstererek en yüksek şekilde ifade olduğı gözlenmiştir. En düşük ifade seviyesindeki değışim ise 80 mg/L derişiminde meydana gelmiştir. *FAD2-4* geninin ise en yüksek ifadesi 320 mg/L derişiminde olurken, en düşük ifade seviyesi 160 mg/L derişimde olmuştur. *FAD2-9* geninin en yüksek ifadesi 160 mg/L derişiminde olurken en düşük ifade edildiğı derişim ise 320 mg/L'de olmuştur (Çizelge 5.21). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan yaprak numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değışimin önemli olduğunu ($p<0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett's T3 testi ile Tukey HSD (*FAD2-4*) testi ile doğruluğı kabul edilmiştir (Çizelge 5.22).

Çizelge 5.22. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

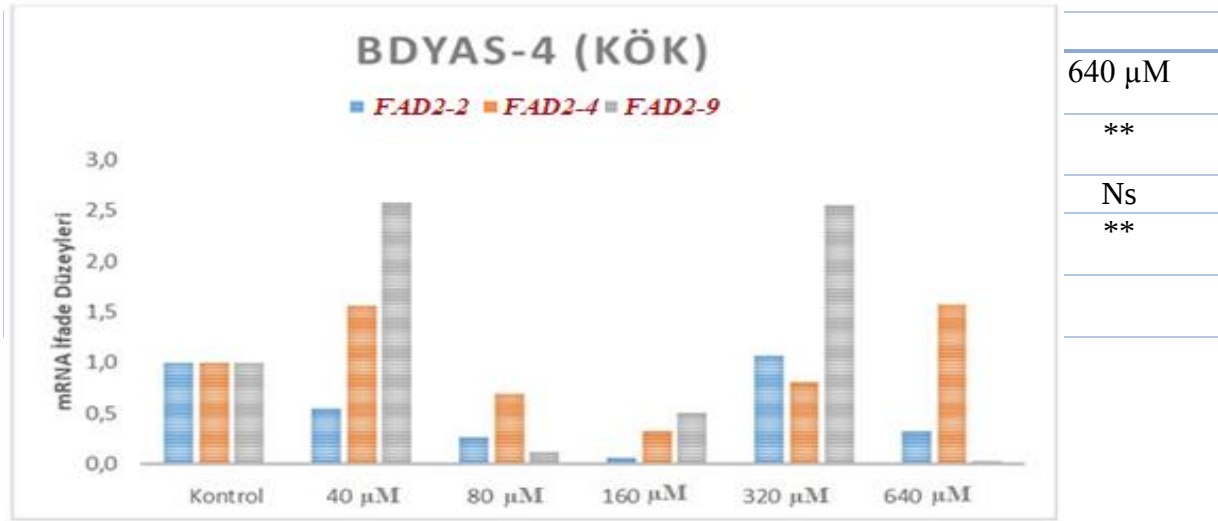
Genler	Konsantrasyonlar				
	40 μ M	80 μ M	160 μ M	320 μ M	640 μ M
<i>FAD2-9</i>	**	**	Ns	*	**
<i>FAD2-4</i>	Ns	***	***	***	***
<i>FAD2-2</i>	Ns	Ns	*	Ns	Ns
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.16. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan BDYAS-4 çeşidinin kök numune örneklerine bağlı *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeyinde meydana gelen değişimler Şekil 5.17’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyonu 40 mg/L ve 320 mg/L derişimde yaklaşık 2,5 kat artış göstererek en yüksek şekilde ifade olurken, en düşük ise 160 mg/L derişimde ifade olduğu görülmüştür. *FAD2-4* geninin ifade seviyesi en yüksek 640 mg/L derişiminde olurken en düşük 160 mg/L derişiminde olmuştur. *FAD2-9* geninin ise en yüksek ifade olduğu derişim 40 mg/L ve 320 mg/L’de olurken ve en düşük ifade seviyesi ise 80 mg/L derişiminde olmuştur (Çizelge 5.21). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan kök numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli olduğunu ($p < 0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett’s T3 testi ile Tukey HSD (*FAD2-4*) testi ile doğruluğu kabul (Çizelge 5.23).

Çizelge 5.23. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

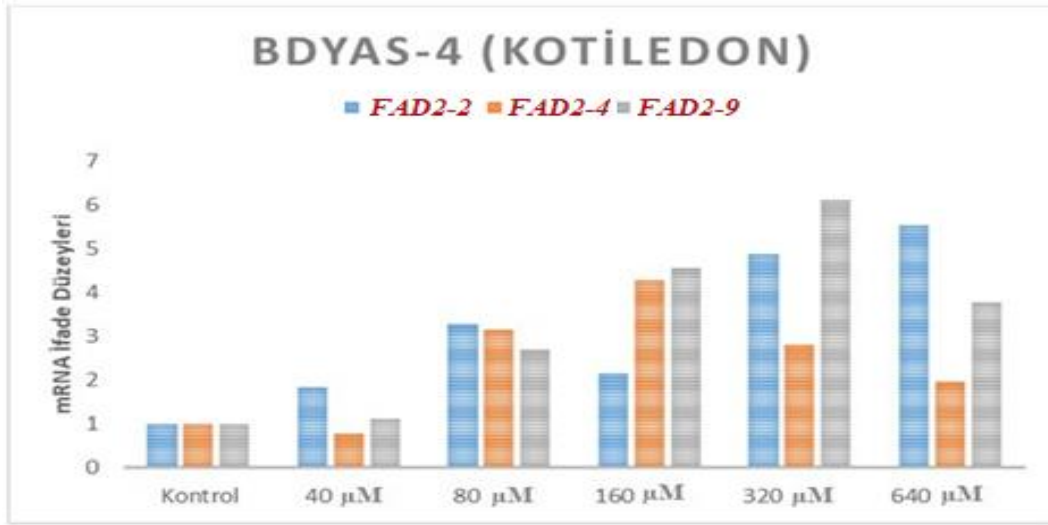


Şekil 5.17. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan BDYAS-4 çeşidinin kotiledon numune örneklerine bağlı *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeyinde meydana gelen değişimler Şekil 5.18’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* gen ekspresyon seviyesinde 640 mg/L derişiminde yaklaşık 6 kat artış göstererek ifade olmuştur. En düşük ifade seviyesi ise 40 mg/L derişiminde 2 kat artış gözlenerek ifade olmuştur. *FAD2-4* geni ise en yüksek 160 mg/L derişim seviyesinde ifade olurken en düşük ifade derişimi 40 mg/L’de olmuştur. *FAD2-9* geninin ise en yüksek ifade derişimi 320 mg/L derişiminde olurken, en düşük ifade edildiği derişim ise 40 mg/L’dir (Çizelge 5.21). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan kotiledon numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli olduğunu ($p < 0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett’s T3 testi ile Tukey HSD (*FAD2-4*) testi ile doğruluğu kabul edilmiştir (Çizelge 5.24).

Çizelge 5.24. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 µM	80 µM	160 µM	320 µM	640 µM
<i>FAD2-9</i>	Ns	**	Ns	***	***
<i>FAD2-4</i>	Ns	**	Ns	*	*
<i>FAD2-2</i>	Ns	**	***	***	***
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.18. Bor stresine maruz bırakılan BDYAS-4 çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

5.4.2.2. BALCI çeşidi

Farklı derişimlerde Bor (B) stresi uygulaması yapılan aspir bitkisinin BALCI çeşidinin kök, yaprak ve kotiledon doku örneklerinin *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerine ait mRNA ekspresyonları housekeeping gen olarak tanımlanan *aktin* (*ACT*) geni ve bu genin kontrol şartları sağlanarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre normalizasyonu yapılmıştır. Normalizasyon aşaması sonucunda elde edilen gen ifadelerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma sonuçları hesaplanmıştır (Çizelge 5.25).

Çizelge 5.25. Bor stresi uygulaması yapılan BALCI çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış *FAD2* genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri

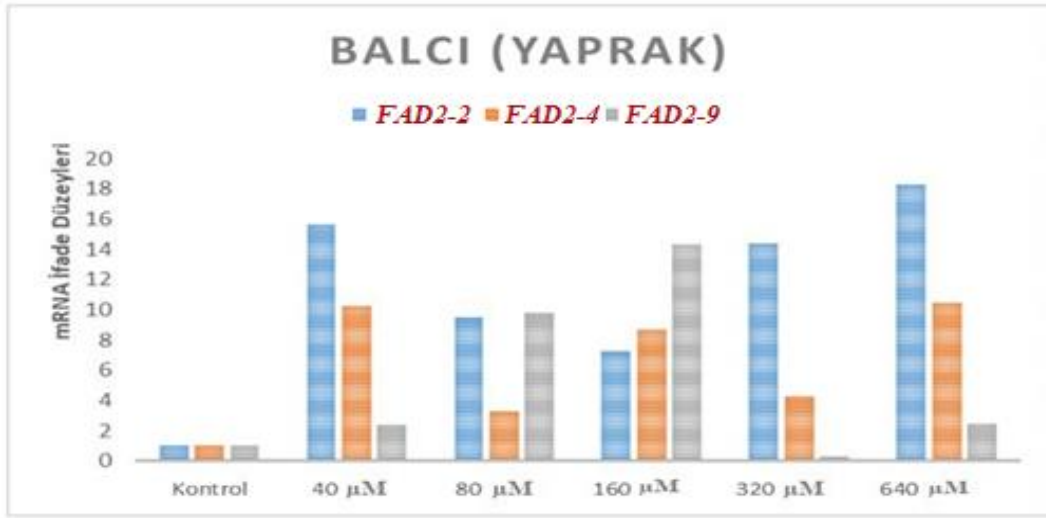
		Ortalama			Standart Sapma			Standart Hata		
YAPRAK	μM	<i>FAD2-9</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-2</i>	<i>FAD2-9</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-2</i>	<i>FAD2-9</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-2</i>
	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	9,52709	3,25869	9,78642	1,22671	0,61054	3,12453	0,70824	0,35249	1,80395
	80	7,25209	8,64408	14,34087	1,13818	1,72735	2,08053	0,65713	0,99729	1,20119
	160	14,36040	4,26039	0,26121	2,11419	0,15802	0,05815	1,22063	0,09123	0,03357
	320	18,31624	10,45389	2,46048	4,52803	1,53114	0,37356	2,61426	0,88400	0,21568
	640	15,64965	10,22171	2,39775	5,05895	1,68295	0,42246	2,92079	0,97165	0,24391
KÖK	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	10,21834	4,23551	17,75621	1,44590	0,24112	1,75852	0,83479	0,13921	1,01528
	80	9,19766	19,27982	16,32068	1,28658	1,33311	0,93925	0,74281	0,76967	0,54228
	160	16,41403	22,97337	3,08384	1,51342	5,65527	0,96597	0,87377	3,26507	0,55771
	320	24,00828	6,27329	3,86109	4,94038	0,92114	0,46993	2,85233	0,53182	0,27131
	640	13,63664	17,65678	18,59443	1,25539	2,12837	1,51181	0,72480	1,22882	0,87285
KOTİLEDON	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	17,76059	26,60507	68,94573	7,51593	2,07409	1,96295	4,33933	1,19748	1,13331
	80	37,97217	62,40647	2,52341	0,78094	1,53874	0,68661	0,45087	0,88839	0,39641
	160	45,55923	12,12712	2,24263	2,06927	0,87661	0,89004	1,19469	0,50611	0,51386
	320	25,49977	21,60077	9,80563	1,39320	1,37903	5,03193	0,80436	0,79619	2,90519
	640	25,25063	52,05280	1,07139	3,66284	4,82043	0,33793	2,11474	2,78308	0,19511

Normalizasyonu sağlanan gen ifadesi verilerinin aritmetik ortalaması alınarak elde edilen sonuçlar doğrultusunda her bir aspir çeşidinin kök, kotiledon ve yaprak gibi farklı dokularındaki *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin derişimlerine bağı ifade seviyelerindeki değışim sonuçları grafikler üzerinde belirtilmiştir.

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan BALCI çeşidindeki yaprak dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değışimler Şekil 5.19'da verilmiştir. *FAD2-2* genin ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna kıyasla 40 mg/L derişime yaklaşık 15 kat miktarında ani şekilde meydana gelen bir artış saptanmıştır. Bu artış miktarı 160 mg/L derişimine kadar azalma gösterirken, 320 mg/L derişiminde tekrar bir artış söz konusu olmuştur. 640 mg/L derişiminde yaklaşık olarak 18 kat artış göstererek en optimum düzeye ulaşmıştır. *FAD2-4* geninin ekspresyon seviyesi 40 mg/L derişimde yaklaşık olarak 10 kat miktarında ani bir artış saptanırken bu değıer sonrasında 320 mg/L derişimine ulaşınca kadar artış ve azalış eğilimleri gözlenmiştir. 640 mg/L derişiminde ise optimum duruma gelmiştir. *FAD2-9* geninin ekspresyon seviyesi 160 mg/L derişimine kadar artış gözlemlenirken, 320 mg/L derişiminde ani bir düşüş göstererek kontrol grubuna kıyasla oldukça azalma gösterdiği ve 640 mg/L derişiminde ise yeniden artışa rastlanmıştır (Çizelge 5.25). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan yaprak numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değışimin önemli olduğunu ($p<0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett's T3 testi ile Tukey HSD (*FAD2-4*) testi ile doğruluğı kabul edilmiştir (Çizelge 5.26).

Çizelge 5.26. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

Genler	Konsantrasyonlar				
	40 μ M	80 μ M	160 μ M	320 μ M	640 μ M
<i>FAD2-9</i>	*	Ns	**	***	*
<i>FAD2-4</i>	***	Ns	***	*	***
<i>FAD2-2</i>	Ns	Ns	*	*	*
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					

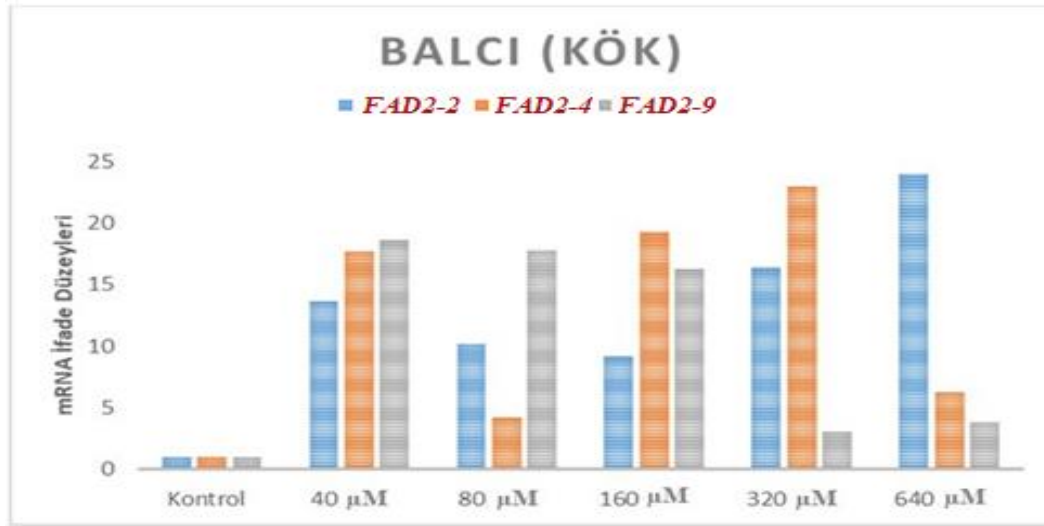


Şekil 5.19. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan BALCI çeşidindeki kök dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değişimler Şekil 5.20’de gösterilmiştir. *FAD2-2* geninin ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla 40 mg/L derişiminde yaklaşık olarak 13 kat olarak ani bir artışa rastlanmıştır. Bu artış 160 mg/L derişime kadar azalma gösterirken, 320 mg/L derişiminde yaklaşık 16 kat artma görülmüştür. 640 mg/L derişiminde ise 24 kat kadar artış göstererek en yüksek duruma ulaştığı görülmektedir. *FAD2-4* geninin ekspresyon seviyesi 40 mg/L derişiminde ise aniden yaklaşık 18 kat bir artış gözlenmiştir. 80 mg/L derişiminde tekrar düştüğü görülmüştür. Ancak 320 mg/L derişime gelene kadar oldukça yükselme eğilimi göstererek yaklaşık 23 kata ulaştığı görülse de 640 mg/L derişiminde tekrar bir düşüş görülmüştür. *FAD2-9* geni ekspresyon seviyesinde 40 mg/L derişiminde 19 kat kadar ani bir artma olurken artış gösteren bu derişim seviyesinde giderek azalma durumu söz konusudur (Çizelge 5.25). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan yaprak numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli olduğunu ($p < 0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett’s T3 (*FAD2-9* ve *FAD2-2*) testi ile Tukey HSD (*FAD2-4*) testi ile doğruluğu kabul edilmiştir (Çizelge 5.27).

Çizelge 5.27. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

Genler	Konsantrasyonlar				
	40 μ M	80 μ M	160 μ M	320 μ M	640 μ M
<i>FAD2-9</i>	*	*	*	***	*
<i>FAD2-4</i>	***	Ns	***	***	Ns
<i>FAD2-2</i>	*	**	*	Ns	Ns
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.20. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

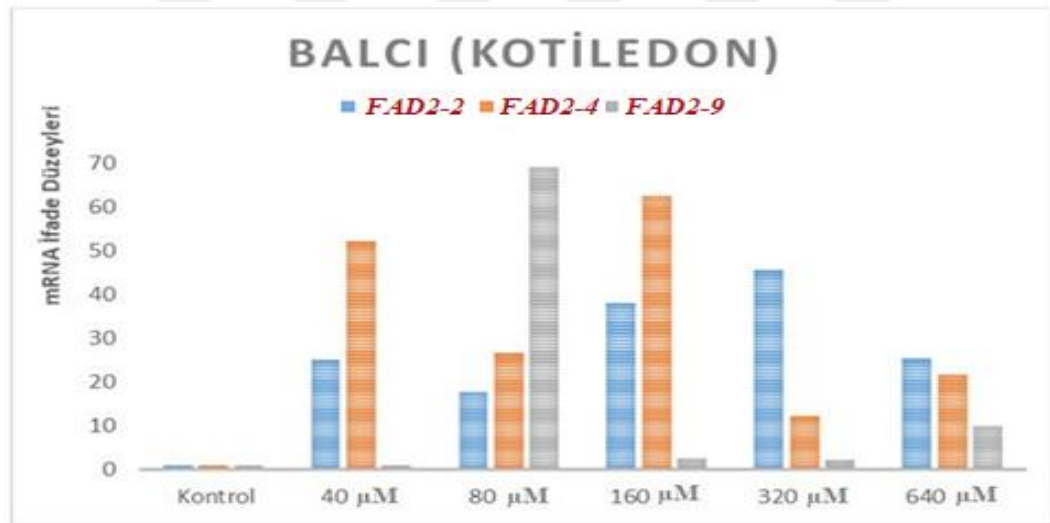
Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan BALCI çeşidindeki kotiledon dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değişimler Şekil 5.21’de verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon düzeyinde 320 mg/L derişiminde 45 kat ile en yüksek, gen ifadesi en düşük değerini ise 80 mg/L derişimde 18 kat artma şeklinde göstermiştir. *FAD2-4* geninin ifade seviyesi en yüksek 160 mg/L derişimde gösterirken, en düşük ise 320 mg/L derişiminde ifade olduğu görülmüştür. *FAD2-9* geni ise 80 mg/L de en yüksek ifadeye sahip olurken, en düşük ifade edildiği derişim 40 mg/L olmuştur (Çizelge 5.25). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan kotiledon numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli olduğunu ($p<0,05$) bu durumun tespit edilmesi de

Dunnett's T3 (*FAD2-9* ve *FAD2-2*) testi ile Tukey HSD (*FAD2-4*) testi ile doğruluğu kabul edilmiştir (Çizelge 5.28)

Çizelge 5.28. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 μ M	80 μ M	160 μ M	320 μ M	640 μ M
<i>FAD2-9</i>	*	Ns	**	*	*
<i>FAD2-4</i>	***	**	***	Ns	*
<i>FAD2-2</i>	Ns	Ns	*	Ns	Ns

* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)



Şekil 5.21. Bor stresine maruz bırakılan BALCI çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

5.4.2.3. LİNAS çeşidi

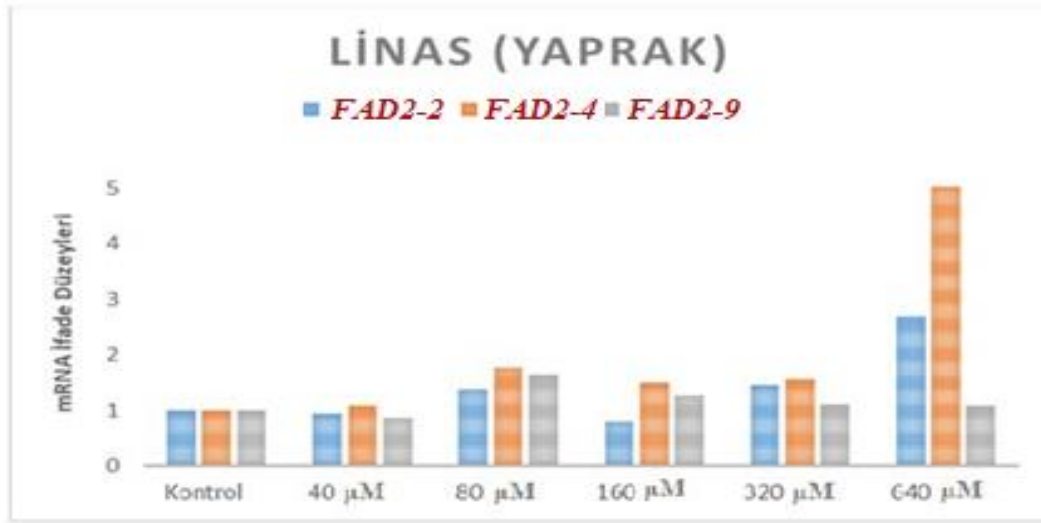
Farklı derişimlerde Bor (B) stresi uygulaması yapılan aspir bitkisinin LİNAS çeşidinin kök, yaprak ve kotiledon doku örneklerinin *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerine ait mRNA ekspresyonları housekeeping gen olarak tanımlanan *aktin* (*ACT*) geni ve bu genin kontrol şartları sağlanarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre normalizasyonu yapılmıştır. Normalizasyon aşaması sonucunda elde edilen gen ifadelerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma sonuç hesaplamaları (Çizelge 5.29).

Normalizasyonu sağlanan gen ifadesi verilerinin aritmetik ortalaması alınarak elde edilen sonuçlar doğrultusunda her bir aspir çeşidinin kök, kotiledon ve yaprak gibi farklı dokularındaki *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin derişimlerine bağı ifade seviyelerindeki değışim sonuçları grafikler üzerinde belirtilmiştir.

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan LİNAS çeşidindeki yaprak dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değışimler Şekil 5.22’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* genin ekspresyon seviyesi 640 mg/L derişiminde yaklaşık 3 kat artışa neden olarak en yüksek ifade seviyesine ulaşmıştır. En düşük ifade seviyesi ise 160 mg/L derişiminde meydana gelmiştir. *FAD2-4* geninin en yüksek ifade edildiğı derişim 640 mg/L olurken, en düşük ifade seviyesi 40 mg/L derişiminde olmuştur. *FAD2-9* geninin ise en yüksek ifade seviyesi 80 mg/L olurken, en düşük ifade seviyesi 40 mg/L derişiminde meydana gelmiştir (Çizelge 5.29). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan yaprak numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değışimin önemli olduğunu ($p<0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett’s T3 (*FAD2-9* ve *FAD2-2*) testi ile Tukey HSD (*FAD2-4*) testi ile doğruluğı kabul edilmiştir (Çizelge 5.30).

Çizelge 5.30. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 μ M	80 μ M	160 μ M	320 μ M	640 μ M
<i>FAD2-9</i>	Ns	Ns	Ns	*	Ns
<i>FAD2-4</i>	Ns	Ns	Ns	*	Ns
<i>FAD2-2</i>	Ns	***	Ns	Ns	Ns
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					

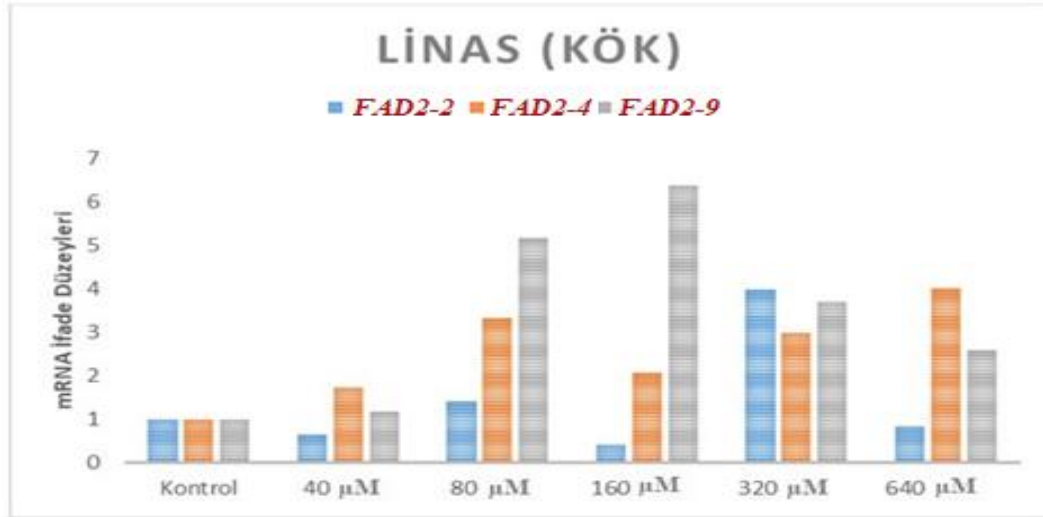


Şekil 5.22. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan LİNAS çeşidindeki kök dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değişimler şekil 5.23’de gösterilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon seviyelerinde en yüksek 320 mg/L derişiminde ve 4 kat bir artış gözlenmektedir. En düşük ifade seviyesi ise 160 mg/L derişiminde meydana gelmiştir. *FAD2-4* geninin ifade seviyesi en yüksek 640 mg/L derişiminde meydana gelirken, en düşük ifade seviyesi 40 mg/L derişimde görülmüştür. *FAD2-9* geninin en yüksek gen ifadesi 160 mg/L derişimi olurken en düşük ifade seviyesi 40 mg/L derişiminde meydana geldiği görülmektedir (Çizelge 5.29). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan yaprak numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli olduğunu ($p < 0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett’s T3 (*FAD2-4*) testi ile Tukey HSD (*FAD2-9* ve *FAD2-4*) testi ile doğruluğu kabul edilmiştir (Çizelge 5.31).

Çizelge 5.31. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 μ M	80 μ M	160 μ M	320 μ M	640 μ M
<i>FAD2-9</i>	Ns	Ns	Ns	***	Ns
<i>FAD2-4</i>	Ns	**	Ns	*	**
<i>FAD2-2</i>	Ns	Ns	*	***	*
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.23. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

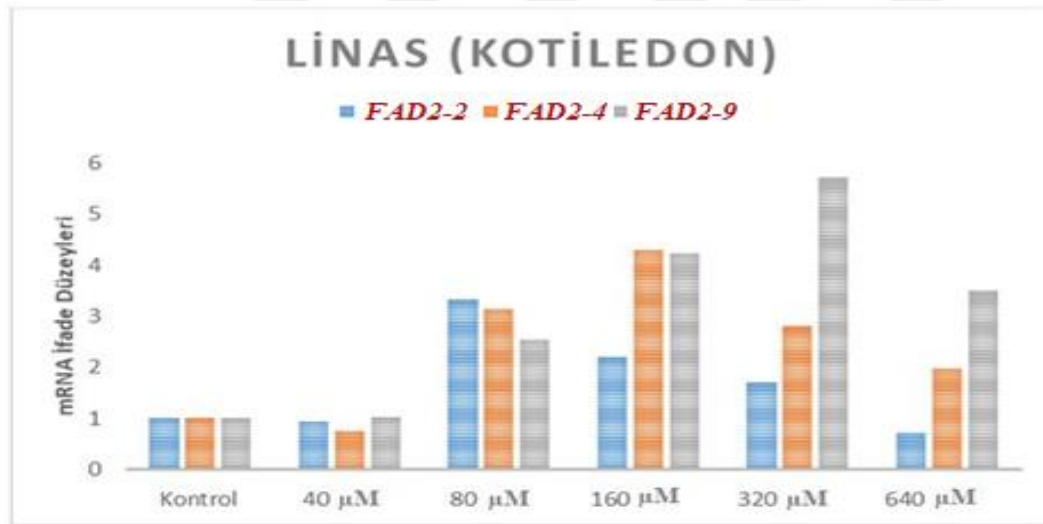
Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan LİNAS çeşidindeki kotiledon dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değişimler Şekil 5.24’de verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyonunda en yüksek ifade seviyesini 80 mg/L derişiminde ve 3 kat olarak göstermiştir. En düşük ifade seviyesi ise 640 mg/L derişiminde görülmüştür. *FAD2-4* geninin ifade seviyesi 160 mg/L derişimde en yüksek olurken, 40 mg/L derişiminde en az ifade olmuştur. *FAD2-9* geninin ise en yüksek ifade seviyesi 320 mg/L derişimi olurken, en düşük ifade edildiği derişim miktarı ise 40 mg/L’dir (Çizelge 5.29). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz

bırakılan kotiledon numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli olduğunu ($p<0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett's T3 (*FAD2-9*, *FAD2-4*) testi ve Tukey HSD (*FAD2-2*) testi ile doğruluğu kabul edilmiştir (Çizelge 5.32).

Çizelge 5.32. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 μ M	80 μ M	160 μ M	320 μ M	640 μ M
<i>FAD2-9</i>	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>FAD2-4</i>	Ns	**	Ns	*	*
<i>FAD2-2</i>	Ns	**	***	***	***

* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)



Şekil 5.24. Bor stresine maruz bırakılan LİNAS çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

5.4.2.4. ASOL çeşidi

Farklı derişimlerde Bor (B) stresi uygulaması yapılan aspir bitkisinin ASOL çeşidinin kök, yaprak ve kotiledon doku örneklerinin *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerine ait mRNA ekspresyonları housekeeping gen olarak tanımlanan *aktin* (*ACT*) geni ve bu genin

kontrol şartları sağlanarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre normalizasyonu yapılmıştır. Normalizasyon aşaması sonucunda elde edilen gen ifadelerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma sonuç hesaplamaları (Çizelge 5.33).



Çizelge 5.33. Bor stresine maruz kalmış ASOL çeşidinin farklı dokularından alınan numune örneklerine ait normalizasyonu sağlanmış FAD2 genlerinin ekspresyon verilerinin aritmetik ortalamaları, standart hataları ve standart sapma değerleri

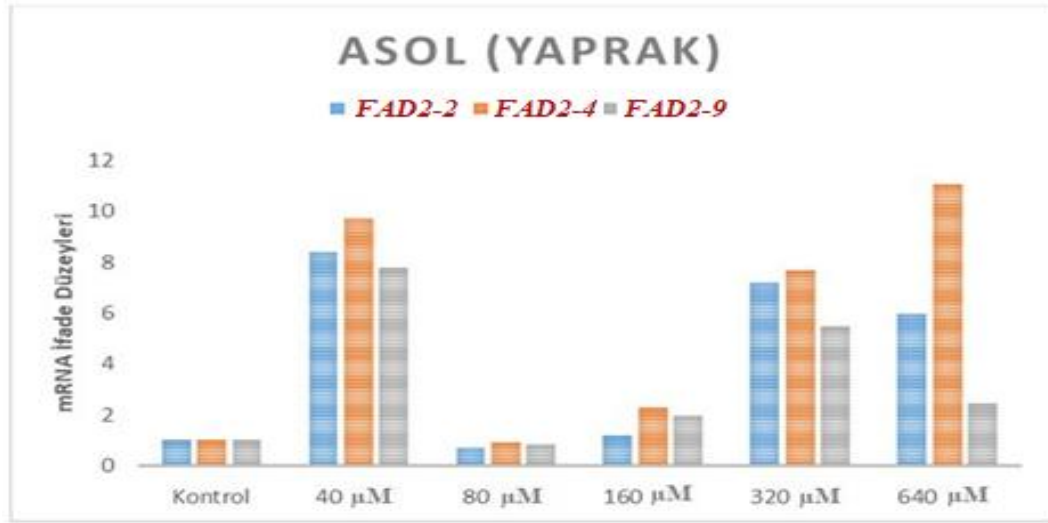
		Ortalama			Standart Sapma			Standart Hata		
YAPRAK	μM	<i>FAD2-9</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-2</i>	<i>FAD2-9</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-2</i>	<i>FAD2-9</i>	<i>FAD2-4</i>	<i>FAD2-2</i>
	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	0,71418	0,92850	0,85593	0,01962	0,11416	0,09517	0,01133	0,06591	0,05495
	80	1,21438	2,27720	1,97064	0,07615	0,19837	0,69643	0,04397	0,11453	0,40208
	160	7,18868	7,68719	5,49709	0,33927	0,12300	0,79313	0,19588	0,07101	0,45791
	320	5,97464	11,04703	2,44064	0,81481	2,66538	0,45699	0,47043	1,53886	0,26384
	640	8,39685	9,71704	7,75369	0,41647	1,43460	1,23540	0,24045	0,82827	0,71326
KÖK	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	0,96684	15,99135	15,31854	0,38203	7,29866	7,75784	0,22057	4,21388	4,47899
	80	1,06279	8,10906	16,47391	0,22857	0,90857	7,72605	0,13196	0,52456	4,46064
	160	6,80145	34,98766	26,90692	2,47309	11,65494	3,49816	1,42784	6,72898	2,01966
	320	3,35926	13,84117	21,29567	0,31249	5,81812	4,10248	0,18041	3,35909	2,36857
	640	21,72537	24,98494	9,65203	4,88303	11,92643	2,81343	2,81922	6,88573	1,62434
KOTİLEDON	K	1	1	1	-	-	-	-	-	-
	40	47,31467	22,55803	17,67609	28,05617	4,29628	1,22927	16,19824	2,48046	0,70972
	80	14,46213	29,21194	29,95519	2,03249	2,23540	6,75816	1,17346	1,29061	3,90183
	160	16,57346	23,90170	37,78259	4,79114	2,31777	9,95296	2,76617	1,33816	5,74635
	320	4,38973	15,61766	27,47067	2,36646	3,45049	4,94963	1,36628	1,99214	2,85767
	640	58,49239	23,45923	30,16695	21,16872	4,62733	7,48355	12,22177	2,67159	4,32063

Normalizasyonu sağlanan gen ifadesi verilerinin aritmetik ortalaması alınarak elde edilen sonuçlar doğrultusunda her bir aspir çeşidinin kök, kotiledon ve yaprak gibi farklı dokularındaki *FAD2* (*FAD2-2*, *FAD2-4*, *FAD2-9*) genlerinin derişimlerine bağı ifade seviyelerindeki değışim sonuçları grafikler üzerinde belirtilmiştir.

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan ASOL çeşidindeki yaprak dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değışimler Şekil 5.25’de gösterilmiştir. Kontrole grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon düzeyi 40 mg/L derişiminde yaklaşık 9 kat artış göstererek en yüksek seviyeye geldiğı görülmektedir. En düşük ifade olduğı derişim ise 80 mg/L’dir. *FAD2-4* geninin ise en yüksek ifade seviyesi 640 mg/L derişiminde meydana gelirken, en düşük ifade seviyesi ise 80 mg/L derişiminde olmuştur. *FAD2-9* geninin ise 40 mg/L derişiminde ifade seviyesi en yüksek olurken ve 80 mg/L derişiminde ifade seviyesinin en düşük seviyede olduğı görülmektedir (Çizelge 5.33). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan kotiledon numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değışimin önemli olduğunu ($p<0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett’s T3 testi ile doğruluğı kabul edilmiştir (Çizelge 5.34).

Çizelge 5.34. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait yaprak numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 μ M	80 μ M	160 μ M	320 μ M	640 μ M
<i>FAD2-9</i>	**	*	*	**	*
<i>FAD2-4</i>	*	Ns	*	*	*
<i>FAD2-2</i>	**	Ns	Ns	Ns	Ns
* $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					

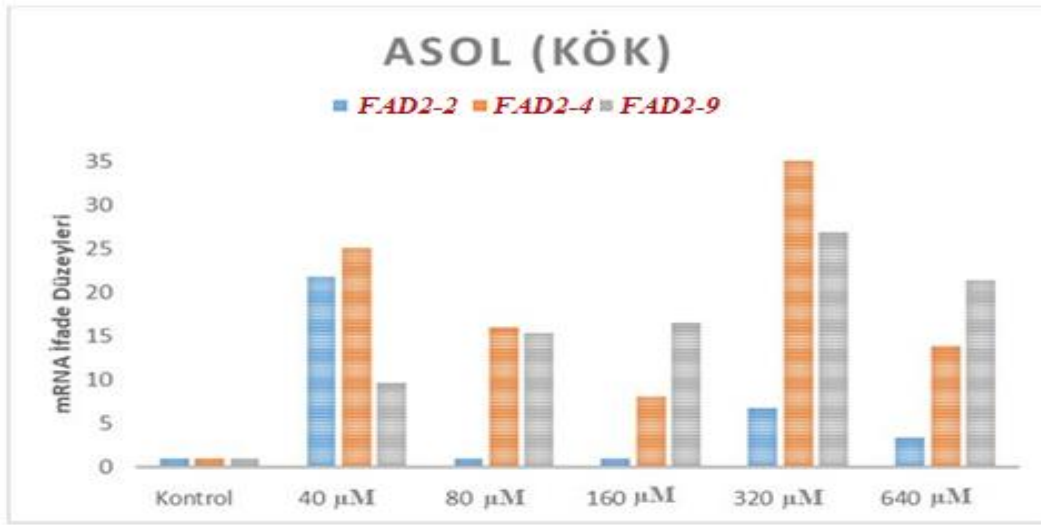


Şekil 5.25. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin yaprak numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan ASOL çeşidindeki kök dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değişimler Şekil 5.26’da verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon seviyesi 40 mg/L derişiminde 21 kat kadar en yüksek artışı göstermektedir. En düşük ifade seviyesi ise 80 mg/L derişiminde meydana gelmiştir *FAD2-4* geni ise en yüksek ifade seviyesini 320 mg/L derişiminde gösterirken, en düşük ifade seviyesini 160 mg/L derişiminde göstermiştir. *FAD2-9* geni ise 320 mg/L derişiminde en yüksek ifade olurken, 40 mg/L derişiminde en az ifade olduğu görülmektedir. (Çizelge 5.33). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan kotiledon numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli olduğunu ($p < 0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett’s T3 (*FAD2-4*) testi ve Tukey HSD (*FAD2-9* ve *FAD2-2*) testi ile doğruluğu kabul edilmiştir (Çizelge 5.35).

Çizelge 5.35. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait kök numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 µM	80 µM	160 µM	320 µM	640 µM
<i>FAD2-9</i>	***	Ns	Ns	***	***
<i>FAD2-4</i>	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>FAD2-2</i>	Ns	*	*	***	**
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					

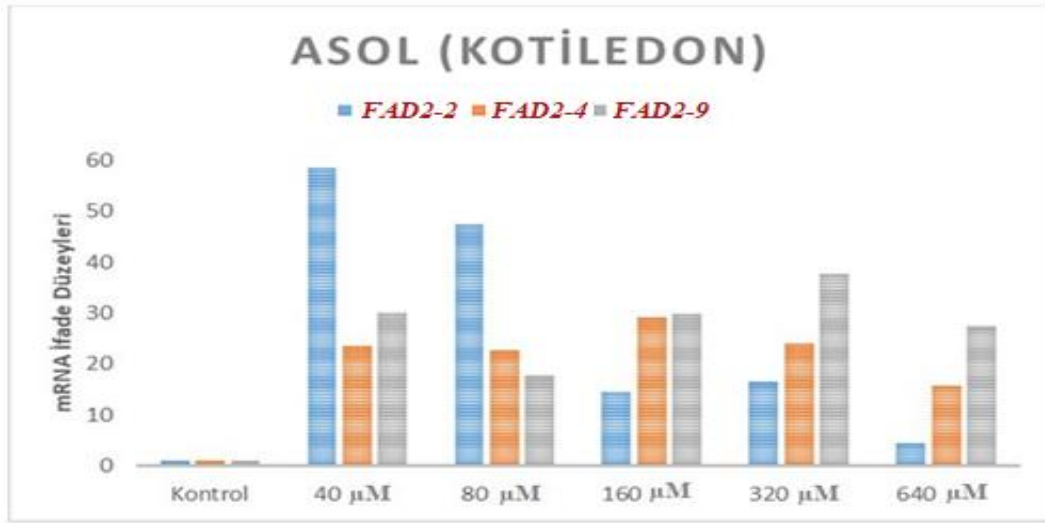


Şekil 5.26. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kök numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

Bor stresinin farklı derişimlerine maruz kalan ASOL çeşidindeki kotiledon dokusundan alınan numunelerdeki *FAD2* genlerinin ekspresyon düzeylerinde meydana gelen değişimler Şekil 5.27’de verilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla *FAD2-2* geninin ekspresyon seviyelerinde 40 mg/L derişiminde yaklaşık 58 kat artış göstererek en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. İfade seviyesi en düşük 640 mg/L derişiminde ve yaklaşık 5 kat kadar meydana gelmiştir. *FAD2-4* geninin ifade seviyesi en fazla 160 mg/L derişiminde olurken, en düşük ifade seviyesi ise 640 mg/L derişiminde meydana gelmiştir. *FAD2-9* geninin ise 320 mg/L derişiminde yüksek miktarlarda olduğu, en düşük ifade seviyesinin ise 80 mg/L derişiminde olduğu (Çizelge 5.33). Ayrıca farklı derişimlerde bor stresine maruz bırakılan kotiledon numunelerinden elde edilen sonuçlar *FAD2* genlerine ait ifade seviyelerindeki değişimin önemli olduğunu ($p < 0,05$) bu durumun tespit edilmesi de Dunnett’s T3 testi ile doğruluğu kabul edilmiştir (Çizelge 5.36).

Çizelge 5.36. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidine ait kotiledon numune örneklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlılık düzeyi

	Konsantrasyonlar				
Genler	40 µM	80 µM	160 µM	320 µM	640 µM
<i>FAD2-9</i>	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
<i>FAD2-4</i>	*	Ns	**	*	Ns
<i>FAD2-2</i>	Ns	**	*	Ns	Ns
* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ Ns: Anlamsız (non significant)					



Şekil 5.27. Bor stresine maruz bırakılan ASOL çeşidinin kotiledon numunelerindeki derişimlere ait *FAD2* genlerinin ifade seviyeleri

6. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan tez çalışmasında 3 tanesi yerli BALCI, ASOL ve LİNAS ve 1 tanesi Amerika BDYAS-04 menşeli olmak üzere 4 farklı aspir çeşidi kullanılmıştır. Kullanılan bu aspir çeşitlerine farklı derişimlerde (0, 40, 80, 160, 320, 640 mg/L) çinko ve bor uygulamaları yapılarak kök, yaprak ve kotiledon dokularından örneklerin yağ asitleri dönüşümünden sorumlu olan *FAD2* geni ve bu gen ailesinden *FAD2-2*, *FAD2-4* ve *FAD2-9* aspir çeşitlerindeki mRNA ifade seviyeleri belirlenmiştir. Bu incelemeler için Real-Time PCR yöntemi kullanılarak uygulanan çinko ve bor stresinin aspir çeşitleri üzerindeki strese karşı vermiş oldukları cevaplar incelenerek değerlendirilmiştir.

Bitkilerde ağır metal stresi tilakoid zarda bitkinin fotosentez yapması için gerekli olan yağ ve protein organik maddelerinin üretimesiyle birlikte klorofildeki magnezyum iyon değişimi başta olmak üzere bir çok yaşambilimsel durumların direkt olarak etkilenmesine neden olmaktadır. Bitkilerde ağır metal stresi ROS (reaktif oksijen türleri) artışına neden olmakta ve reaktif oksijen türlerinin artışı bitkinin membran yapısına zarar vererek bütünlüğünün bozulmasına yol açan en önemli etmendir (Bölükbaşı, 2018).

Kaynak taraması sonucunda görülmüştür ki aspir ile yapılan ağır metal çalışmalarında da çinko elementinin bitkiler için benzer sonuçlar verdiği ve bitkiler için önemli düzeyde mikrobesein elementi olduğu düşüncesi kabul görmektedir. Yapılan bu tez çalışma sonucunda elde edilen veriler strese maruz kalan *FAD2* gen ailesinin çinko ve bor stresine karşı direnç gösterdiği açıkça görülmektedir. Elde etmiş olduğumuz verilerin hepsi birlikte analiz edildiğinde ağır metal streslerinden olan çinko ve bor elementleri aspir bitkisi çeşitlerinin farklı dokularında *FAD2* geni ifade olarak çinko ve bor stresine karşı cevap verdiği ve stres savunmasında bu gen ailesinin önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Uygulama sonucunda ise *FAD2* genlerinin ekspresyon seviyeleri, düşük derişimlerinde artışa neden olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Özellikle çinko derişimi aspir bitkisinin BALCI çeşidinin kök dokusunda fayda gösterirken, yaprak dokusu 320 ve 640 mg/L derişimlerinde savunma mekanizması yetersiz kalmıştır. Çinko stresinden en az etkilenen dokusu kotiledon olmuştur. Çinko stresine maruz bırakılan aspir çeşitlerinin etkilenme seviyelerinden bahsederek eğer bu

çeşitlerden en hassas olanı ASOL çeşidi olurken, çinko stresinden BDYAS-04 çeşidi en az etkilenen çeşit olmuştur. Çinko derişimlerin gösterilen artışla birlikte *FAD2* gen ifade seviyesindeki azalmalar, *FAD2* gen ailesinin stres koşulları altında savunma mekanizmasını aktive ettiği kabul edilmektedir. Farklı genlerin ekspresyonunun bitkilerde dokulara özel bir nitelik taşıdığı görülmektedir.

Bor stres uygulaması yapılan BDYAS-04 çeşidinde yaprak, kök ve kotiledon dokuları kıyaslandığında *FAD2* geni ifade seviyesinin, bu dokular için genel olarak 40 mg/L derişiminde azaldığı gözlemlenmiştir. Dokularda ise *FAD2* genlerinin en yüksek ifade olduğu seviye ise genel olarak 640 mg/L derişiminde ve kotiledon dokusunda olduğu tespit edilmiştir. Bor stresi uygulaması yapılan BALCI çeşidinin dokularında ise değişen derişimlere karşı *FAD2* gen ifade seviyelerinde ani artış ve azalışlar BALCI çeşidinin dokularındaki ifade seviyelerini etkileyerek, özellikle yaprak dokusunda meydana gelen bu ani değişimler bu dokunun strese karşı bir cevap oluşturduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir. LİNAS çeşidine uygulanan bor stresi ise bu çeşidin dokularında *FAD2* gen ailesinin en düşük ifade seviyeleri 40 mg/L ve 160 mg/L derişimlerde gözlenirken, dokular ve derişimler kıyaslandığında en yüksek derişimi 640 mg/L'de ve yaprak dokusunda meydana gelmiştir. LİNAS çeşidinin kotiledon dokusu ise sürekli artan derişimlerde *FAD2* gen ifade seviyesinde paralel olarak bir artış göstermiştir. Fakat 640 mg/L ve 40 mg/L derişiminde gen ifadesinde azalmalar saptanmıştır. ASOL çeşidine uygulanan bor stresinin dokularından alınan örnekler incelendiğinde *FAD2* genlerinin genel olarak 80 mg/L derişiminde gen ifadesinde azalış gözlemlenirken, kontrol grubuna kıyasla en düşük derişim olan 40 mg/L derişiminde genel olarak ifade seviyelerinde bir artış meydana gelmiştir. Ardından *FAD2* gen ailesinde meydana gelen gen ifade seviyesindeki bu artışı 320 mg/L takip etmiştir. Fakat derişimler ve dokular kıyaslandığında *FAD2* geninin en yüksek ifade olduğu derişim 640 mg/L'de ve yaprak dokusunda meydana gelmiştir. En düşük *FAD2* gen ifade seviyesi ve dokusu 40 mg/L derişiminde kök dokusunda gözlemlenmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında çinko ve bor streslerine maruz bırakılan dört farklı aspir bitkisinin, kök, kotiledon ve yaprak gibi farklı dokularındaki *FAD2* gen ailesinin ifade seviyeleri olduğu sonucuna varılmakla birlikte *FAD2* gen ailelerinin ve gen özelliklerinin aktif kısımlarının dokuya özel olarak stres mekanizmasında etkin bir biçimde yer aldığını göstermektedir. Yapılan bu çalışmadan elde edilen bulgu sonuçlarından yola çıkarak *FAD2*

gen ailelerinin aspir bitkisinin farklı çeşitlerinde ve farklı dokularında uygulamaları yapılan çinko ve bor streslerinin dokulara ve aspir çeşitlerine özel olarak savunma mekanizması geliştirdiği görülmekte olup ayrıca önemli bir yağ asidi dönüştürme potansiyeli olduğu görülmektedir. Ayrıca *FAD2* gen ailesinin strese cevap oluşturmada önemli ve etkin rol aldığı anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak; Özellikle *FAD2* gen ailesinin daha çok yağ bitkisi özelliği taşıyan bitkiler üzerinde çalışmaların geniş bir yayılım göstererek yürütülmesi elde edilen yağın kalite standardını arttırarak meydana gelebilecek stres faktörlerine karşı direncinin artmasını sağlayacaktır. Yapılan bu tez çalışması sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda aspir bitkisi oldukça öneme sahip olan yağ bitkisi ünvanını taşımaktadır. Aspir bitkisinde bulunan *FAD2* genleri olası stres koşullarıyla özellikle ağır metal stresi sorunuyla karşılaştıkları durumlarda etkin şekilde rol oynayarak savunma durumunda yerini aldığı görülmektedir.



KAYNAKLAR

- Acar, İ. (2019). *Yapraktan ve Topraktan Uygulanan Çinkonun Soya Fasulyesinin (Glycine Max. L.) Verim ve Verim Öğeleri Üzerine Etkileri*, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Akalin Koca, M. (2019). *Çinko Uygulamasının Nohut (Cicer arietinum L.) Çeşitlerinin Tane Çinko İçeriğinin Zenginleştirilmesi ve Verim Öğelerine Etkisi*, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R. and Wang, M. Q. (2021). Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. *Toxics*, 9(3), 42.
- Ambreen, H., Kumar, S., Variath, M. T., Joshi, G., Bali, S., Agarwal, M., ... and Goel, S. (2015). Development of Genomic Microsatellite Markers in *Carthamus tinctorius* L.(Safflower) Using Next Generation Sequencing and Assessment of Their Cross-Species Transferability and Utility for Diversity Analysis. *Plos One*, 10(8), e0135443.
- Aras, S. (2015). Yerli ve Yabancı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşitlerinde Oleik Asidin (Omega 9) Linoleik Aside (Omega 6) Çevriminden Sorumlu Olan ve Kaliteli Yağ Üretiminde Rol Sahibi Olduğu Düşünülen FAD2 Genlerinin Real-Time Pcr Aracılığıyla Analizi (Proje No: 14A0430002). Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Sonuç Raporu. *Ankara*, 1-16.
- Asri, F. Ö. ve Sönmez, S. (2006). Ağır Metal Toksisitesinin Bitki Metabolizması Üzerine Etkileri. *Derim*, 23(2), 36-45.
- Baydar, H. ve Turgut, İ. (1999). Yağlı Tohumlu Bitkilerde Yağ Asitleri Kompozisyonunun Bazı Morfolojik ve Fizyolojik Özelliklere ve Ekolojik Bölgelere Göre Değişimi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(supp1), 81-86.
- Bölükbaşı, E. (2013). *Ayçiçeği (Helianthus annuus L.) Bitkisi Tohumlarının Çimlenmesinde Çinko (Zn²⁺) Stresi ile Protein İçeriği, Dna ve Dna Metilasyon Modelindeki Meydana Gelen Olası Değişimlerin Moleküler Markörler ile Değerlendirilmesi*, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bölükbaşı, E. (2018). *Bakır (Cu²⁺), Kurşun (Pb²⁺) ve Kadmiyum (Cd²⁺) Ağır Metal Streslerine Maruz Kalmış Aspir (Carthamus tinctorius L.) Çeşitlerinde FAD2 Geni mRNA İfade Seviyelerinin Belirlenmesi*, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Brđar-Jokanović, M. (2020). Boron Toxicity and Deficiency in Agricultural Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1424.
- Cao, S., Zhou, X. R., Wood, C. C., Green, A. G., Singh, S. P., Liu, L. and Liu, Q. (2013). A large and Functionally Diverse Family of FAD2 Genes in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *BMC Plant Biology*, 13, 5.

- Cervilla, L. M., Blasco, B., Ríos, J. J., Romero, L. and Ruiz, J. M. (2007). Oxidative Stress and Antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) Plants Subjected to Boron Toxicity. *Annals of Botany*, 100(4), 747-756.
- Czumaj, A. and Śledziński, T. (2020). Biological Role of Unsaturated Fatty Acid Desaturases in Health and Disease. *Nutrients*, 12(2), 356.
- Çakır, F. (2009). *Yüksek Düzeyde Bor İçeren Topraklarda Yetişen Bazı Yabancı Ot Türlerinin İncirde Beslenme Dengesi Üzerine Etkileri*, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Deliboran, A. (2020). Neden Bor? Borun Çevre İle İnsan, Hayvan ve Bitki Sağlığı Açısından Önemi. *Bahçe*, 49(2), 127-141.
- Doğan, M. (2014). Farklı Bor Uygulamalarının *Capparis* L. spp. ve *Carthamus* L. spp. Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 16(2), 154-161.
- Elkoca, E. (2003). Hava Kirliliği ve Bitkiler Üzerindeki Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(4), 367-374.
- Eryılmaz, T., Yeşilyurt, M. K., Cesur, C., Yumak, H., Aydın, E., Çelik, S. A. ve Yıldız, A. K. (2014). Yozgat İli Şartlarında Yetiştirilen Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Dinçer Çeşidinden Üretilen Biyodizelin Yakıt Özelliklerinin Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2014(1), 62-75.
- Gautam, S., Anjani, K. and Srivastava, N. (2016). In vitro Evaluation of Excess Copper Affecting Seedlings and Their Biochemical Characteristics in *Carthamus tinctorius* L.(Variety PBNS-12). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 22(1), 121-129.
- Gülmezoğlu, N. ve Aytaç, Z. (2016). Farklı Çinko Uygulamalarının Aspir Bitkisinin Verimi ve Çinko Alımı Üzerine Etkisi. *Toprak Su Dergisi*, 5(2), 11-17.
- Güzel, M. (2016). *Aspir Islahında Klasik ve Moleküler Yöntemlerden Yararlanılarak Oleik Asit Oranının Kalıtımının Belirlenmesi*, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- İnternet: Botanik Türkiye. URL: <https://medium.com/botanikturkiye/kurak-alanlar%C4%B1n-ya%C4%9Fl%C4%B1-bitkisi-aspir-carthamus-tinctorius-8e6deebe69d4>. Son Erişim Tarihi: 19.08.2022
- Johnson, B. J. and Jimmerson, J. (2003). Safflower. Briefing No: 58. *Agricultural Marketing Policy Center. Montana State University, Montana, USA*.
- Karabaş, H. (2013). Ülkemiz Islahçı Çeşitlerinden Remzibey-05 Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Tohumlarından Üretilen Biyodizelin Yakıt Özelliklerinin İncelenmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1), 9-17.
- Karaca, E. ve Aytaç, S. (2007). Yağ Bitkilerinde Yağ Asitleri Kompozisyonu Üzerine Etki Eden Faktörler. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(1), 123-131.

- Karimi Ansari, B. (2020). *Çinko (Zn²⁺) Toksisitesi Koşullarında Aynisefa (Calendula officinalis) Bitkisinin Morfolojik ve Fizyolojik Değişimlerinin ve Fitoremediasyon Potansiyelinin Belirlenmesi*, Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Katar, D., Arslan, Y., Kodaş, R., Subaşı, İ. ve Mutlu, H. (2014). Bor Uygulamalarının Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Bitkisinde Verim ve Kalite Unsurları Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(2), 71-79.
- Keleş, R. ve Öztürk, Ö. (2012). Farklı Ekim Zamanlarının Bazı Aspir Çeşitlerinde Verim ve Kalite Üzerine Etkileri. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 5(1), 112-117.
- Kobuk, M., Ekinci, K. ve Erbaş, S. (2019). Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Genotiplerinin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(1), 89-96.
- Kovalchuk, I. and Kovalchuk, O. (2008). Transgenic Plants As Sensors of Environmental Pollution Genotoxicity. *Sensors*, 8(3), 1539-1558.
- Kurt, O., Uysal, H., Demir, A., Özgür, Ü. ve Kılınç, R. (2011). Samsun Ekolojik Koşullarına Adapte Olabilecek Kışlık Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Genotiplerinin Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(3), 212-216
- Li, D., Wang, Q., Xu, X., Yu, J., Chen, Z., Wei, B. and Wu, W. (2021). Temporal Transcriptome Profiling of Developing Seeds Reveals Candidate Genes Involved in Oil Accumulation in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *BMC Plant Biology*, 21(1), 1-17.
- Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and The $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods*, 25(4), 402-408.
- Özay, C. ve Mammadov, R. (2013). Ağır Metaller ve Süs Bitkilerinin Fitoremediasyonda Kullanılabilirliği. *Bahkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 15(1), 68-77.
- Quiroga, G., Erice, G., Aroca, R. and Ruiz-Lozano, J. M. (2020). Elucidating the Possible Involvement of Maize Aquaporins in the Plant Boron Transport and Homeostasis Mediated by *Rhizophagus irregularis* Under Drought Stress Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1748.
- Seven, T., Can, B., Darende, B. N. ve Ocak, S (2018). Hava ve Toprakta Ağır Metal Kirliliği. *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1(2), 91-103
- Shafiei-Koij, F., Ravichandran, S., Barthet, V. J., Rodrigue, N., Mirlohi, A., Majidi, M. M. and Cloutier, S. (2020). Evolution of *Carthamus* Species Revealed Through Sequence Analyses of the FAD2 Gene Family. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(3), 419-432.

- Sönmez, İ., Kaplan, M. ve Sönmez, S. (2008). Kimyasal Gübrelerin Çevre Kirliliği Üzerine Etkileri ve Çözüm Önerileri. *Derim*, 25(2), 24-34.
- Tang, W., Ouyang, C., Liu, L., Li, H., Zeng, C., Wang, J., ... and He, B. (2018). Genome-Wide Identification of the Fatty Acid Desaturases Gene Family in Four *Aspergillus* Species and Their Expression Profile in *Aspergillus Oryzae*. *AMB Express*, 8(1), 1-13.
- Uysal, N., Baydar, H. ve Erbaş, S. (2006). Isparta Populasyonundan Geliştirilen Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Hatlarının Tarımsal ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(1), 52-63.
- Ünsal, M. B. (2020). *Çukurova Koşullarında Farklı Azot Dozu Uygulamalarının Bazı Aspir (Carthamus tinctorius L.) Çeşitlerinde Verim ve Verim Özelliklerine Etkisi*, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Wu, Z., Liu, H., Zhan, W., Yu, Z., Qin, E., Liu, S., ... and Qin, R. (2021). The Chromosome- Scale Reference Genome of Safflower (*Carthamus tinctorius*) Provides Insights Into Linoleic Acid And Flavonoid Biosynthesis. *Plant Biotechnology Journal*, 19(9), 1725.
- Yalçın, V. (2014). *Bazı Ağır Metallerin (Pb, Cd, Ni) Sucul Bitkiler (Salvinia Natans (L.) All., Lemna Minor L.) Üzerinde Yaptığı Stres ve Biyolojik Yanıtlar*, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Nevşehir.
- Yentür, F. A. (2019). *Nano-Zno Uygulamasının Aspir Bitkisinin Kadmiyum Fitoekstraksiyonuna Etkisinin Araştırılması*, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Yerli, C., Çakmakçı, T., Sahin, U. ve Tüfenkçi, Ş. (2020). Ağır Metallerin Toprak, Bitki, Su ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9(Özel Sayı), 103-114.
- Yıldırım, B., Tunçtürk, M., Dede, Ö. ve Okut, N. (2005). Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)'de Farklı Azot ve Fosfor Dozlarının Verim ve Kalite Üzerine Etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(2), 113-116
- Yılmaz, A., Tunçtürk, M. ve Tunçtürk, R. (2015, 7-10 Eylül). *Türkiye’de Yağlı Tohum Üretimi ve Yağ Açığının Giderilmesinde Aspir Bitkisinin Önemi*. 11. Tarla Bitkileri Kongresi, Çanakkale.
- Yue, S., Tang, Y., Li, S. and Duan, J. A. (2013). Chemical and Biological Properties of Quinochalcone C-Glycosides From the Florets of *Carthamus tinctorius*. *Molecules*, 18(12), 15220-15254.



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Hatice Kübra KARAPÜR

Bilimsel Faaliyetler

1-) 6. ULUSLARARASI ASYA MODERN BİLİMLER KONGRESİ 27-29 Mayıs 2022

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2017
Yüksek Lisans	Amasya Üniversitesi	-
İş Deneyimi/Yıl	Çalıştığı Yer	Görevi
2017- 2018	MEB	Ücretli Öğretmenlik