

T.C.
BİLECİK ŐEHY EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AYÇİÇEĞİ BİTKİSİNDE (*Helianthus annuus* L.) KOMBİNE UYGULANAN BORİK
ASİT VE SICAKLIK STRESİNİN BAZI EKOLOJİK PARAMETRELER,
ANTİOKSİDAN ENZİMLER VE GEN İFADELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FADİME DONBALOĞLU BOZCA

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ SEMA LEBLEBİCİ

BİLECİK, 2020

10371337

T.C.
BİLECİK ŐEHY EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AYÇİÇEĞİ BİTKİSİNDE (*Helianthus annuus* L.) KOMBİNE UYGULANAN BORİK
ASİT VE SICAKLIK STRESİNİN BAZI EKOLÖJİK PARAMETRELER,
ANTİOKSİDAN ENZİMLER VE GEN İFADELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FADİME DONBALOĞLU BOZCA

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ SEMA LEBLEBİCİ

BİLECİK, 2020

10371337

BEYAN

“Ayçiçeği Bitkisinde (*Helianthus Annuus* L.) Kombine Uygulanan Borik Asit ve Sıcaklık Stresinin Bazı Ekolojik Parametreler, Antioksidan Enzimler ve Gen İfadeleri Üzerine Etkisi” adlı yüksek lisans tezimin projesinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel ahlak kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte beyan edilmelidir.	
DESTEK ALINMIŞTIR	DESTEK ALINMAMIŞTIR
Destek alındı ise;	
Destekleyen Kurum:	
Desteğin Türü	Proje Numarası
1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)	
2- TÜBİTAK	
Diğer;	

Fadime DONBALOĞLU BOZCA

30.12.2020

f donbaloglu

ÖN SÖZ

Çalışmalarım süresince her türlü bilgi ve yardımlarından faydalandığım, hiçbir zaman ilgi ve desteğini esirgemeyen, karşılaştığım tüm problemleri çözebilmek için seferber olan, bu çalışmalarını yapabilmem için gerekli olanakları sağlayan sevgili danışmanım Sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Sema LEBLEBİCİ'ye bana kattığı bilgi, tecrübe ve değerler için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın en iyi şekilde yürütülmesi için bölümümüzün tüm imkanlarını seferber eden, her zaman bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Cihan DARCAN'a ve gerek laboratuvar çalışmalarım sırasında gerek diğer zamanlarda tüm destekleriyle ve tecrübeleriyle yanımda olan benimle birlikte düşünen sevgili hocalarım Öğr. Gör. Özge Kaygusuz, Öğr. Gör. Gülçin ÇETİN KILIÇASLAN, Öğr. Gör. Osman TÜRKYILMAZ, Dr. Öğr. Üyesi Ardahan ESKİ, Duygu BEKİRCAN ESKİ ve Hüseyin İZGÖRDÜ'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrı yerlerde olsak da gönül bağımızın kopmadığı sevgili arkadaşlarım Halime ve Gülseren'e manevi destekleri için teşekkür ederim. Uzun yıllardır her derdimi her sevincimi paylaştığım her önemli anımda yanımda olan, konuşmadan bile anlaşabildiğim pek sevgili can dostlarım Aybüke ve Merve'ye; üniversite yıllarımın bana kattığı güzelliklerden olan sevgili arkadaşlarım Nurşah, Büşra, Dilara, Buse, Betül ve İlkay'a bu uzun yolda başından beri benimle birlikte oldukları için en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tanıdıkları günden beri beni kızları olarak gören, seven, koruyan kollayan Aslı ve Ali BOZCA'ya ve pek sevgili küçük kardeşim Yiğit'e manevi destekleri için teşekkür ederim. Her zaman varlıklarının en büyük şans olduğunu düşündüğüm, benim bu günlere gelmem için büyük emekler veren, maddi manevi tüm desteklerini ve sonsuz sevgilerini her zaman hissettiğim sevgili annem Emine, babam Reşit ve abim Tamer DONBALOĞLU iyi ki varsınız, teşekkür ederim. Ailemin diğer üyesi sevgili Zeyna, bana mutluluğun ve sevginin tür tanımadığını öğrettiğin ve beni hep mutlu ettiğin için teşekkürler.

Ve tabi ki, yürüdüğüm her yolda, aldığım her kararda, yaptığım her işte, hayatımın her anında yanımda olan, desteklerini ve sonsuz sevgisini her daim hissettiren, her şeyi yapabilmek için bana güç veren sevgili hayat arkadaşım Yağız BOZCA, iyi ki varsın, teşekkür ederim.

ÖZET

AYÇİÇEĞİ BİTKİSİNDE (*Helianthus annuus* L.) KOMBİNE UYGULANAN BORİK ASİT VE SICAKLIK STRESİNİN BAZI EKOLOJİK PARAMETRELER, ANTİOKSİDAN ENZİMLER VE GEN İFADELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Değişen iklim koşulları özellikle bitkilerin ekolojik, fizyolojik ve moleküler düzeydeki metabolik faaliyetleri üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır; bitki verimi, kalitesi ve üretimini olumsuz yönde etkilemektedir. Sıcaklığın yanı sıra bitkilerde abiyotik strese sebep olan bir diğer faktör ise toprakta bulunan makro ve mikro besin elementlerinin miktarlarıdır. Bor elementi, bitkide zar geçirgenliği, kök büyümesi, nükleik asit ve ATP sentezi gibi önemli metabolik olaylarda etkilidir. Borun bitkiler üzerindeki bu etkileri, başka bir abiyotik stres faktörünün etkisini inhibe ya da teşvik edebileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada sıcaklık ve bor uygulamasının hem ayrı ayrı hem de kombine etkileri araştırılmıştır. 15, 25 ve 40°C’de yetiştirilen, 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan ayçiçeği bitkisinde kök ve gövde uzunluğu, kök ve gövde yaş-kuru ağırlığı, kök ve gövde biyokütlesi, borik asit tolerans indeksi, lipid peroksidasyonu, toplam protein miktarı, SOD, CAT, APX enzim aktiviteleri ve bu enzimlerin gen ekspresyon seviyelerindeki değişimleri belirlenmiştir. Sonuç olarak 25 ve 40°C’deki örneklerin artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kök ve gövdeye ait ekolojik parametrelerde azalmanın olduğu 15°C’deki örneklerde ise literatürde yer alan düşük sıcaklıkla ilgili çalışmaların aksine kök ve gövdeye ait ekolojik parametrelerin olumlu etkilendiği ve artış gösterdiği tespit edilmiştir. 40°C’deki kök ve yaprak örneklerinin antioksidan enzim aktiviteleri ve mRNA seviyelerinin arttığı belirlenmiştir. 15°C’de ise antioksidan enzim aktiviteleri ve mRNA seviyelerinin kök örneklerinde arttığı, yaprak örneklerinde azaldığı tespit edilmiştir. Ekolojik parametreler incelendiğinde düşük sıcaklıkta yüksek bor uygulamasının ilginç bir şekilde bitki büyümesini teşvik ettiği, antioksidan enzim aktiviteleri ve mRNA ekspresyon seviyeleri incelendiğinde ise bitkinin düşük sıcaklığı tolere etmesinde oldukça etkili olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Helianthus annuus* L., abiyotik stres, ekolojik parametreler, antioksidan enzim, gen ekspresyonu

ABSTRACT

THE EFFECT OF COMBINED BORIC ACID AND TEMPERATURE STRESS ON SOME ECOLOGICAL PARAMETERS, ANTIOXIDANT ENZYMES AND GENE EXPRESSION IN SUNFLOWER PLANT (*Helianthus annuus* L.)

The changes in climatological conditions have negative effects on the ecological, physiological, and molecular metabolic activities of plants; it adversely affects plant yield, quality, and production. In addition to temperature, another factor that causes abiotic stress in plants is the amount of macro and micronutrients in the soil. Boron element is effective in important metabolic events in the plant such as membrane permeability, root growth, nucleic acid, and ATP synthesis. It suggests that boron may inhibit or promote another abiotic stress factor that affects plants. Although there are studies about the effects of temperature or boron on plants in the literature, there are no studies unraveling the combined effects of boron element on plant metabolism, which are applied simultaneously at different temperatures. In this study, individually and combined effects of heat and boron application were investigated. Root and stem length, root and stem wet-dry weight, root and stem biomass, boric acid tolerance index, lipid peroxidation, total protein amount, SOD, CAT, APX enzyme activities, and changes in gene expression levels of these enzymes were determined in sunflower plants grown at 15, 25 and 40°C and treated with 10 mM and 25 mM boric acid. As a result, the ecological parameters of the root and stem decreased due to the increasing boric acid concentration of the plants at 25 and 40°C. Besides the ecological parameters of the root and stem were positively affected and increased at 15°C in contrast to the studies on low temperature in the literature has been determined. Antioxidant enzyme activities and mRNA levels of root and leaf samples increased at 40°C. However, antioxidant enzyme activities and mRNA levels increased in root samples and decreased in leaf samples at 15°C. When ecological parameters are examined, interestingly it has been revealed that the application of high boron concentration at low temperature encourages the growth of the plant, and when the antioxidant enzyme activities and mRNA expression levels are examined, it has been shown that the plant is very effective in tolerating low-temperature stress.

Keywords: *Helianthus annuus* L., abiotic stress, ecological parameters, antioxidant enzyme, gene expression

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖN SÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
GRAFİKLER LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Ayçiçeği Bitkisinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları.....	1
1.2. Bitkilerde Stres	3
1.2.1. Sıcaklık Stresi	8
1.2.2. Borun Bitkiler Üzerindeki Etkileri.....	14
1.3. Antioksidatif Savunma Sistemi	17
1.3.1. Lipid Peroksidasyonu.....	17
1.3.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Serbest Radikaller	18
1.3.3. Antioksidatif Savunma Sisteminin Enzimatik Olmayan Bileşenleri	21
1.3.3.1. Askorbat (AsA).....	21
1.3.3.2. Glutasyon (GSH)	22
1.3.3.3. Tokoferoller	22
1.3.3.4. Karotenoidler.....	22
1.3.3.5. Fenolik Bileşikler.....	23
1.3.4. Antioksidatif Savunma Sisteminin Enzimatik Bileşenleri.....	23
1.3.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	24
1.3.4.2. Katalaz (CAT)	25

1.3.4.3. Askorbat Peroksidaz (APX)	26
1.3.4.4. Guaiakol Peroksidaz (GPX)	27
1.3.4.5. Glutasyon Redüktaz (GR)	27
1.3.4.6. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHA/MDHAR).....	28
1.3.4.7. Dehidroaskorbat Redüktaz (DHA/DHAR).....	28
1.4. Literatür Özeti.....	28
2. MATERYAL METOD.....	34
2.1. Bitki Örneklerinin Yetiştirilmesi, Sıcaklık ve Borik Asit Uygulamaları.....	34
2.2. Bitkilerin Ekolojik Ölçümlerinin Belirlenmesi.....	35
2.3. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi için Yaprak ve Köklerden Protein Ekstraksiyonu	35
2.4. Lipid Peroksidasyonun belirlenmesi.....	36
2.5. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	36
2.5.1. 2.5.1. Toplam Protein içeriğinin belirlenmesi.....	36
2.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi	37
2.5.3. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi.....	38
2.5.4. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi	38
2.6. Antioksidan Enzimlere Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi.....	39
2.6.1. Total RNA izolasyonu	39
2.6.2. Total RNA miktarının belirlenmesi.....	39
2.6.3. cDNA Sentezi	39
2.6.4. Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için primer tasarımı	40
2.6.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı PZR	41
2.7. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi.....	41
3. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	42

3.1. Sonuçlar	42
3.1.1. Bitkilerin Ekolojik Ölçümlerinin Belirlenmesi	42
3.1.2. Lipid Peroksidasyonun Belirlenmesi	50
3.1.3. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	53
3.1.3.1. Toplam protein içeriğinin belirlenmesi	53
3.1.3.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi	56
3.1.3.3. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi	59
3.1.3.4. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi	63
3.1.4. Antioksidan Enzimlere Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi	68
3.1.4.1. Total RNA miktarının belirlenmesi	68
3.1.4.2. SOD mRNA seviyesindeki değişiminin belirlenmesi	68
3.1.4.3. Katalaz (CAT) Geninin mRNA Seviyesindeki Değişiminin Belirlenmesi	77
3.1.4.4. Askorbat Peroksidaz (APX) Geninin mRNA Seviyesindeki Değişiminin Belirlenmesi	81
3.2. Tartışma	85
3.2.1. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının ekolojik etkileri	86
3.2.2. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının lipid peroksidasyonu üzerine etkileri	94
3.2.3. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının toplam protein üzerine etkileri	97
3.2.4. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının fizyolojik etkileri	101
3.2.5. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının SOD, CAT ve APX gen ifadeleri üzerine etkisi	109
3.3. Öneriler	117
KAYNAKÇA	120
EK-1	140

Ayçiçeği bitkisine ait deney gruplarının ekolojik verileri.....	140
EK-2.....	141
Kök örneklerine ait antioksidan enzim aktiviteleri.....	141
EK-3.....	142
Yaprak örneklerine ait antioksidan enzim aktiviteleri.....	142
EK-4.....	143
Kök örneklerine ait antioksidan enzimlerin gen ifade seviyeleri.....	143
EK-5.....	144
Yaprak örneklerine ait antioksidan enzimlerin gen ifade seviyeleri.....	144
ÖZGEÇMİŞ.....	145

TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1.1. Biyotik ve abiyotik stres faktörleri	3
Tablo 2.1. Protein örneklerini ve kökleri hazırlamak için kullanılacak solüsyonlar ve miktarları	37
Tablo 2.2. Kullanılan primerlerin dizileri.....	40
Tablo 2.3. qPZR bileşenleri ve eklenen miktarlar	41
Tablo 2.4. qPZR sıcaklık döngüsü.....	41



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Ayçiçeği yaprağı ve çiçeği.....	1
Şekil 1.2. Abiyotik stres faktörlerine karşı bitkinin verdiği cevapların genel dinamikleri.....	5
Şekil 1.3. Bitkinin abiyotik streslere verdiği genel cevaplar	7
Şekil 1.4. Bitkilerde önerilen ısı-stres tolerans mekanizmaları	11
Şekil 1.5. Borun fizyolojik ve moleküler hedefleri.....	15
Şekil 1.6.. ROS'un artmasına sebep olan abiyotik stresler ve ROS'un hücre üzerindeki etkisi	19
Şekil 1.7. Antioksidan savunma sisteminin enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri	20
Şekil 1.8. Bitkilerde antioksidatif savunma sisteminde yer alan enzimler tarafından katalize edilen reaksiyonlar	24
Şekil 1.9. Antioksidatif enzimlerin gen ekspresyonunu etkileyen çevresel faktörler	26
Şekil 2.1. 15/10, 25/20 ve 40/35°C'de yetiştirilen bitkilere ait deneylerin şematik gösterimi	34
Şekil 2.2. 15/10, 25/20 ve 40/35°C'de yetiştirilen bitkilerin saksı görüntüleri	35
Şekil 3.1. 15, 25 ve 40°C'de yetiştirilen bitkilere ait 5. uygulamadaki saksı görüntüleri	42
Şekil 3.2. 15, 25 ve 40°C'de yetiştirilen örneklere ait 10. uygulamadaki bitki görüntüleri	43
Şekil 3.3. Kök ve yaprak örneklerine ait RNA'ların agaroz jel görüntüleri	68

GRAFİKLER LİSTESİ

	Sayfa No
Grafik 3.1. Ayçiçeği bitkisine ait kök ve gövde uzunluğu.....	44
Grafik 3.2. Ayçiçeği bitkisine ait kök yaş kuru ağırlıkları.....	46
Grafik 3.3. Ayçiçeği bitkisine ait gövde yaş kuru ağırlıkları	47
Grafik 3.4. Ayçiçeği bitkisine ait gövde ve kök biyokütlesi üzerine etkisi	49
Grafik 3.5. Ayçiçeği bitkisine ait borik asit tolerans indeksleri.....	50
Grafik 3.6. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulamasının MDA içeriği.....	51
Grafik 3.7. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulamasının MDA içeriği.....	52
Grafik 3.8. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulamasının toplam protein miktarı	54
Grafik 3.9. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulamasının toplam protein miktarı	55
Grafik 3.10. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki SOD aktivitesi	56
Grafik 3.11. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki SOD aktivitesi	57
Grafik 3.12. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki SOD aktivitesi	58
Grafik 3.13. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki SOD aktivitesi	59
Grafik 3.14. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki CAT aktivitesi	60
Grafik 3.15. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki CAT aktivitesi	61
Grafik 3.16. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki CAT aktivitesi	62
Grafik 3.17. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki CAT aktivitesi	63
Grafik 3.18. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki APX aktivitesi	64
Grafik 3.19. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki APX aktivitesi	65
Grafik 3.20. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki APX aktivitesi	66
Grafik 3.21. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki APX aktivitesi	67
Grafik 3.22. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki SOD-Mn mRNA seviyesi....	69
Grafik 3.23. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki SOD-Mn mRNA seviyesi..	70

Grafik 3.24. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki SOD-Mn mRNA seviyesi	71
Grafik 3.25. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki SOD-Mn mRNA seviyesi	72
Grafik 3.26. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki SOD-Fe mRNA seviyesi	73
Grafik 3.27. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki SOD-Fe mRNA seviyesi	74
Grafik 3.28. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki SOD-Cu/Zn mRNA seviyesi	75
Grafik 3.29. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki SOD-Cu/Zn mRNA seviyesi	76
Grafik 3.30. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki CAT mRNA seviyesi	78
Grafik 3.31. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki CAT mRNA seviyesi	79
Grafik 3.32. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki CAT mRNA seviyesi.....	80
Grafik 3.33. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki CAT mRNA seviyesi....	81
Grafik 3.34. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki APX mRNA seviyesi	82
Grafik 3.35. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki APX mRNA seviyesi	83
Grafik 3.36. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki APX mRNA seviyesi.....	84
Grafik 3.37. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki APX mRNA seviyesi....	85

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

% : Yüzde

α : Alfa

β : Beta

γ : Gamma

δ : Delta

ε : Ekstriksiyon katsayısı

σ : Sigma

μl : Mikrolitre

μg : Mikrogram

$^{\circ}\text{C}$: Santigrat

AsA : Askorbat

AsA-GSH : Askorbat glutatyon

ATP : Adenozin trifosfat

APX : Askorbat peroksidaz

B : Bor

BA : Borik Asit

B(OH)₃ / H₃BO₃ : Borik asit

BSA : Sığır Serum Albumini

Ca⁺² : Kalsiyum

CAT : Katalaz

CDPK : Kalsiyum bağımlı protein kinaz

cm : Santimetre

CO₂ : Karbondioksit

Cu/Zn-SOD : Bakır/çinko süperoksit dismutaz

DHAR : Dehidroazorat redüktaz
DNA : Deoksiribonükleik asit
dk : Dakika
EDTA : Etilendiamin tetra asetik asit
Fe-SOD : Demir süperoksit dismutaz
g : Gram
GPX : Guaiacol peroksidaz
GR : Glutasyon redüktaz
GSH : Glutasyon
GSSG : Yükseltgenmiş glutasyon
H₂O₂ : Hidrojen peroksit
ha : Hektar alan
HO₂ : Hidroperoksil
HSP : Isı şok proteinleri
IAA : İndol asetik asit
IC₅₀ : %50 inhibisyon aktivitesi
kD : Kilodalton
kg : Kilogram
K₂HPO₄ : Dipotasyum hidrojen fosfat
KH₂PO₄ : Potasyum dihidrojen fosfat
LEA : Geç embriyonik bağımlı proteinler
M : Molar
MAPK : Mitojenle aktifleştirilmiş protein kinazlar
MDA : Malondialdehit
MDHA : Monodehidroaskorbat
MDHAR : Monodehidroaskorbat redüktaz

mg : Miligram
mmol : Milimol
Mn-POD : Manganez peroksidaz
ml : Mililitre
NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotid
NBT/RF : NitroMavi Tetrazolium/Riboflavin
Na₂B₄O₇-10H₂O : Boraks
NaCl : Sodyum klorür
NaClO : Sodyum hipoklorit
nm : Nanometre
nmol : Nanomol
¹O₂ : Tekli oksijen
O²⁻ : Süperoksit radikali
OH⁻ : Hidroksil radikali
PCD : Programlanmış hücre ölümü
PUFA : Çoklu doymamış yağ asitleri
ppm : Milyonda bir
PVP : Polivinilpirolidon
PZR : Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA : Ribonükleik asit
ROS : Reaktif oksijen türleri
rpm : Dakikadaki devir sayısı
TBA : Tiyobarbitürik asit
TCA : Trikloroasetik asit
V : Volt
X-XOD : Ksantin/ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

1.1. Ayçiçeği Bitkisinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), diploid ($2n=34$) genoma sahip tek yıllık bir bitkidir (Panero ve Funk, 2002: 7).

Ayçiçeğinin (*Helianthus annuus* L.) anavatanı Kuzey Amerika'dır ve kültüre alınması 4000 yıl önceye kadar uzanmaktadır (Smith, 2014: 58 ; Seiler vd., 2017: 2).

Bugün ayçiçeği dünyada uygun iklim koşullarına sahip 70'ten fazla ülkede üretimi yapılan en önemli endüstri bitkilerinden biridir. Ülkemizde Trakya, Ege ve Marmara bölgelerinde yoğun olarak, diğer bölgelerde de az miktarda yağ elde etmek için ve çerezlik olarak yetiştirilmektedir (Kalyar vd., 2014: 655).

Ayçiçeği (*H. annuus* L.), Asteraceae (Papatyagiller) familyası, *Heliathus* cinsine ait bir bitkidir. Üç metre yüksekliğe ulaşabilen, derin bir kazık kök sistemine ve güçlü tek bir gövdeye sahiptir. 5 cm ile 30 santimetre (cm) arasında değişen geniş, büyük, oval yaprakları ile 10-30 cm çapına sahip çiçek tablası vardır (Şekil 1.1). Tohumları ise gri, beyaz ya da siyah renkli çizgili selüloz bir kabuk içinde bulunmaktadır.



Şekil 1.1. Ayçiçeği yaprağı ve çiçeği

Kaynak: (Muller Seeds, 2020: 1)

Ayçiçeği ışığı seven ve iyi nem tutan topraklarda yetişen bir bitkidir. Tohumlarının çimlenebilmesi için toprak sıcaklığının en az 8-10 derece olması gerekmektedir. Çiçeklenme içinse en uygun sıcaklıklar 21-24 derece arasındadır. Uygun sıcaklıklardan daha yüksek veya daha düşük sıcaklıklar çimlenme ve çiçeklenme verimini etkilemektedir. Ayçiçeği bitkisi derin bir kazık kök sistemine sahip olduğu için topraktan çok fazla besin maddesi almaktadır. Bununla birlikte güçlü kök sistemi sayesinde kısa süren kuraklıklardan çok fazla etkilenmemektedir. Ancak uzun süren kuraklıklar bitkinin tohum verimini düşürmektedir (Ankara Üniversitesi, 2019: 3).

Ayçiçeğinin insan tüketimi için kullanılan temel parçaları tohumlarıdır. Tohumları hem çerezlik olarak hem de yağlık olarak kullanılmaktadır. Elde edilen yağ gıda olarak tüketilmesinin yanı sıra, sanayide boya ve sabun yapımında da kullanılmaktadır. Arda kalan tohum kabukları ise mayaların hazırlanmasında, alkol ve furfural elde edilmesinde değerlendirilmektedir. Bitkiden elde edilen küspe, protein (%20) ve yağ (%1-7) içeriği bakımından oldukça besleyici bir hayvan yemidir, bu sebeple sığır ve süt inekleri için değerli bir besin kaynağıdır. Küspeye ek olarak çiçek tablaları da öğütülerek küçükbaş ve kümes hayvanları için yem olarak kullanılmaktadır. Ayçiçeğinin saplarından dahi yararlanılmaktadır. Bitki sapları yakıt ve gübre olarak kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak sapların kâğıt yapımında ve selüloz sanayisinde kullanıldığı bilinmektedir (Türkçe Bilgi, 2019: 1).

Tarım Bakanlığının Ocak 2020 tarihinde yayınladığı ayçiçeği ile ilgili raporda, Türkiye’de ayçiçeği üretiminin 2018 yılında bir önceki yıla göre artarak yaklaşık 2 milyon tona ulaştığı, 2019 yılında ise 2018 yılına göre artarak 2,1 milyon ton olduğu bildirilmiştir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2020). İklim değişikliklerinin ve bor stresinin ayçiçeği bitkisi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, ülkemizde ayçiçeği üretiminin olumsuz etkilerinin azaltılmasına ve ayrıca bor miktarı fazla olan topraklarda da ayçiçeği tarımının teşvik edilerek yıllık ciro kaybının en aza indirilmesine yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Yine aynı raporda dünyada bitkisel yağ üretiminin başta palm yağı olmak üzere soya, kolza ve ayçiçeğinden karşılandığı, Türkiye’de ise bu üretimin büyük oranda ayçiçeğinden sağlandığı bildirilmiştir. Bununla birlikte Türkiye’de yağ ihtiyacına bakıldığında, kişi başı tüketim miktarının nüfus artışına paralel olarak arttığı ancak bu ihtiyacı karşılayacak düzeyde üretimin gerçekleşmediği belirtilmiştir. Yurt içinde üretilen ayçiçeği ile toplam bitkisel yağ talebinin sadece %18,4’ü karşılanmaktadır. Giderek artan önemli miktardaki yağ açığının, tohum ve ham yağ ithalatı yoluyla sağlandığı, bu nedenle Türkiye’nin bitkisel yağ sanayi ve

hammadde yönünden %65 oranında dışa bağımlı durumda olduğu bildirilmiştir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2020). Ayrıca Türkiye'nin ithal ettiği ürünler arasında bitkisel yağ ve türevleri ilk sırayı oluşturmaktadır. Bu sebeple oluşan yağ talebini karşılayabilmek ve ithalatı azaltmak için, ürün verimi ve kalitesini artırmaya yönelik moleküler ve biyolojik çalışmalarla birlikte ayçiçeği gibi önem arz eden yağlık endüstri bitkilerinin materyal olarak kullanıldığı bilimsel araştırmalar Türkiye'de çeşitli kurum ve kuruluşlar tarafından öncelikli olarak desteklenmektedir.

1.2. Bitkilerde Stres

Tüm canlılar yaşadıkları çevre ile ilişki halindedirler ve yaşamları boyunca optimum koşullar dışında kimi zaman olumsuz koşullarla karşılaşabilirler. Bu olumsuz koşullar nedeni ile bitkiler yaşamları boyunca birçok stres faktörüne maruz kalmaktadırlar. Bu stres faktörleri bitkinin büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilemekte, doku ve organların kaybına, stres faktörünün uzun süre devam etmesi durumunda bitkinin ölümüne sebep olmaktadır (Büyük vd., 2012: 97; Korkmaz ve Durmaz, 2017: 193). Bitkiler, bu koşullar altında hayatta kalabilmek için değişen çevre koşullarını algılayarak bünyelerinde morfolojik, fizyolojik ve moleküler bazı değişimler meydana getirirler (Fujita vd., 2006: 436). Bazı bitki türleri değişen bu etmenlere karşı adaptasyon geliştirip metabolik olarak etkilenmezken, bazı bitki türleri ise bu etmenlerden en az şekilde hasar görebilmek için karmaşık mekanizmalar geliştirerek bazı özel cevaplar oluşturmaktadır (Bohnert vd., 2006: 180) (Bohnert, 2006). Stres faktörleri biyotik ve abiyotik stresler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Tablo 1.1).

Tablo 1.1. Biyotik ve abiyotik stres faktörleri

<i>Biyotik Stres Faktörleri</i>	<i>Abiyotik Stres Faktörleri</i>
<p>Patojen enfeksiyonları</p> <p>Yaralanmalar</p> <p>(Mekanik etkiler Böcekler Otçul hayvanlar)</p>	<p>Kuraklık</p> <p>Yüksek tuzluluk</p> <p>Sıcaklık</p> <p>Radyasyon</p> <p>Su baskını</p> <p>Kimyasallar (pestisit, toksin, ağır metaller vb.)</p>

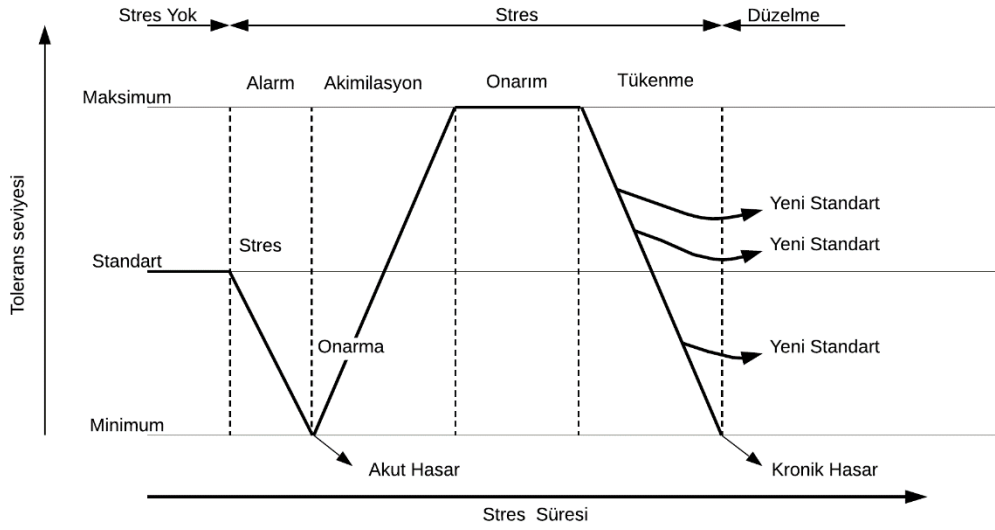
Kaynak: (Fujita vd., 2006: 437)

Parazitler, bakteriler, mantarlar, nematodlar, böcekler, virüsler gibi canlı organizmalar bitkiye zarar verip bitkide biyotik stresin oluşmasına sebep olmaktadır. Bu canlı organizmalar aynı zamanda bitki hastalıklarından da sorumlu sayılmaktadır (Sardhara ve Mehta, 2018: 6). Biyotik stresin; %28,2 buğday, % 37,4 pirinç, %31,2 mısır, %40,3 patates, %26,3 soya fasulyesi ve %28,8 pamuk verimi kaybına neden olduğunu bildirmiştir (Wang vd., 2013: 7371). Mantar faktörü, bitki ve bitki hastalıklarına diğer faktörlere göre daha çok neden olan bir biyotik stres faktörüdür. Mantar faktörünün yanı sıra, diğer mikroorganizmalar da bitki solgunluğuna, yaprak lekelerine, kök çürümesine ve tohum hasarına neden olmaktadır (Sardhara ve Mehta, 2018: 6).

Bitkiler ve bitki parazitleri milyonlarca yıldır birlikte değişime uğramışlardır. Bu evrimsel süreçte bitkiler, mikrobiyal patojenlerin ve otçul hayvanlarının saldırılarının sıklığını ve etkisini en aza indirgeyebilmek için çok çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bu savunma mekanizmaları bitkide ya sürekli aktif halde bulunmaktadır ya da sadece saldırı olduğunda aktive olan fiziksel ve kimyasal adaptasyonları içermektedir (Vinebrooke vd., 2004: 455).

Abiyotik stres, canlı olmayan faktörlerin canlı organizmalar üzerindeki olumsuz etkisi olarak tanımlanmaktadır. Abiyotik faktörün, organizmanın popülasyon performansını veya popülasyondaki bireylerin fizyolojisini önemli ölçüde etkilemek için ekolojik şartları normalin üzerinde değiştirmesi gerekmektedir (Vinebrooke vd., 2004: 451). Değişen ekolojik koşullar ekin verimliliğinin belirlenmesinde ve bitkilerin farklı ekosistemler arasındaki dağılımında rol oynamaktadır. Bitkilerin karşılaşılabileceği bazı abiyotik stres koşulları arasında; kuraklık, anormal sıcaklıklar (sıcaklık ya da soğukluk), topraktaki besin elementlerinin azlığı veya toksik iyonların fazlalığı, ışık şiddetinin fazlalığı, kök büyümesini engelleyen kuru toprak sertliği sayılmaktadır (Duque vd., 2013: 51).

Abiyotik streslere karşı bitkinin oluşturduğu adaptasyonlar oldukça karmaşık ekofizyolojik, biyokimyasal, hücresel ve moleküler düzenlemeler içermektedir. Bitkiler abiyotik stres etkisine karşı, genel olarak üç aşamalı bir cevap oluşturmaktadır: i) alarm aşaması, ii) direnç aşaması ve iii) tükenme evresi (Şekil 1.2) (Kosová vd., 2011: 1303). Lichtenthaler, bu cevaba dördüncü bir faz olan rejenerasyon yani onarım fazını da eklemiştir ki bu, sadece stres etkeninin zararının çok şiddetli olmadan önce yok olmasıyla bitkinin fizyolojik fonksiyonlarının kısmen veya tamamen yenilenmesine izin vermektedir (Lichtenthaler, 1996: 5).



Şekil 1.2. Abiyotik stres faktörlerine karşı bitkinin verdiği cevapların genel dinamikleri

Kaynak: (Kosová vd., 2011: 1303)

Genellikle, bitkiyi birçok stres faktörü aynı anda etkileyebilmektedir. Örneğin yaz aylarında, yüksek sıcaklık, su yokluğu ve yüksek ışık stresi gibi çeşitli abiyotik stres faktörleri bitkilere aynı anda etki etmektedir (Lichtenthaler, 1996: 10).

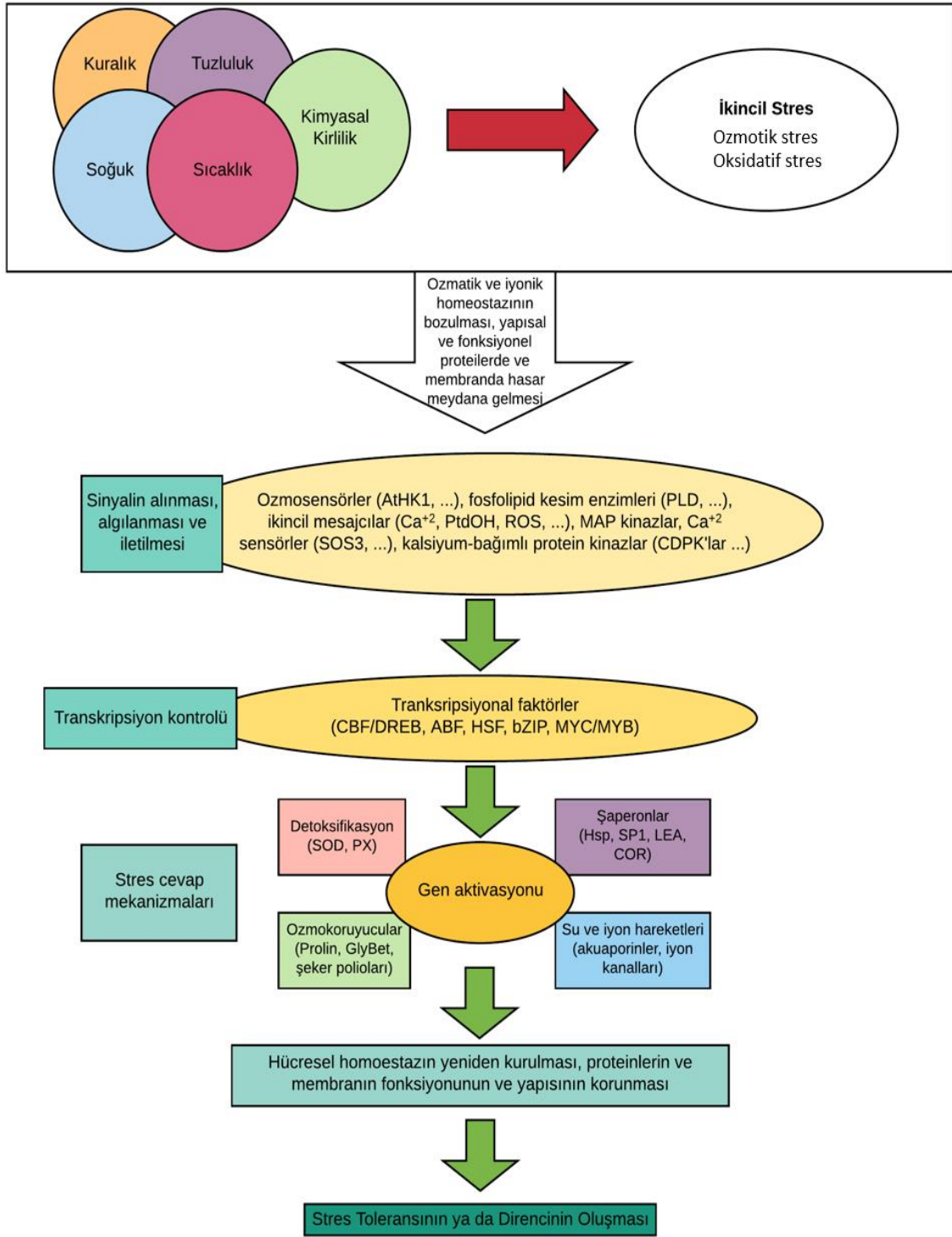
Ekolojik koşullar optimum düzeyden farklılaştığında bitki ilk olarak bu değişikliği algılamaktadır. Bitkinin stresi algılaması karmaşık bir durumdur ve bütün stresler tek bir mekanizma ile algılanmamaktadır. Algılama, değişen bir veya daha fazla biyotik ya da abiyotik ekolojik faktörün bitki tarafından algılandığı ilk olaydır. Karmaşık bir metabolik durum olan stres algılama, tüm streslerde tek bir algılama mekanizması ile kontrol edilmemektedir. Örneğin, kuraklık veya aşırı su varlığı gibi stresler bitkinin toprak altında bulunan organlarını etkilerken, fotoinhibisyon gibi stresler ise bitkinin toprak üstünde bulunan organlarını etkilemektedir. Dolayısıyla, farklı stresler için farklı algılama mekanizmaları bulunmaktadır (Verslues ve Zhu, 2005: 376). Dış uyaranları algılamanın en yaygın modeli, spesifik bir reseptöre bağlanan bir kimyasal ligand modelidir. Bununla birlikte, bu model, fiziksel stresler için değil, sadece kimyasal stresler (örneğin ağır metal stresi, besin tükenmesi stresi) için uygundur; ancak sıcaklık, radyasyon stresi gibi fiziksel streslerin algılanması herhangi bir kimyasal ligand içermemektedir (Verslues ve Zhu, 2005: 376).

Abiyotik strese karşı bitkiler çok çeşitli cevaplar oluşturmaktadır. Tuzluluk, kuraklık, yüksek ve düşük sıcaklıklar hücrede dehidrasyona sebep olmakta ve hücrenin homeostazını

bozmaktadır. Stresin devamında bitki kendini biriken maddelerin toksik etkisinden korumak ve büyüme-gelişmede meydana gelen olumsuzlukları minimumda tutabilmek için çeşitli makromolekülleri ve iyonları dengede tutmaya çalışmaktadır. Olası bir dehidrasyon durumunda bitkiler buna cevap olarak su geçişinde rol oynayan akuaporinleri ve iyon kanallarını aktive ya da inaktive etmektedir. Böylece su iletimini ve iyon dengesini stres durumunda dengede tutmaya çalışmaktadır (Büyük vd., 2012: 99).

Bitkilerde abiyotik strese karşı oluşturulan bir diğer cevap ise çeşitli koruyucu moleküllerin sentezlenmesidir. Bunlardan biri oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizlenmesinde görev alan ozmolitlerdir (Smirnoff ve Cumbes, 1989: 48). Reaktif oksijen türleri, bitkinin normal büyüme ve gelişmesi sırasında da oluşmaktadır, ancak oluşan ROS miktarı ve detoksifikasyon mekanizması bir denge halinde olduğu için bitkide herhangi bir zararlı etki oluşturmamaktadır. Stres faktörü varlığında ise ROS konsantrasyonu artmakta, bununla birlikte ROS miktarı ve antioksidan enzimler arasındaki denge bozulmaktadır. Devamında bitki oksidatif strese girmektedir.

Bitkiler, olumsuz ekolojik koşullara ve sesil bir yaşama uyum sağlamak için toleransı artıran çok sayıda mekanizma geliştirmiştir. Oluşan streslerin etkilediği moleküler mekanizmaların başında bitkilerdeki çeşitli genlerin ekspresyon düzeylerinin değişimi gelmektedir (Duque vd., 2013: 55). Bu genlerin ürünleri sadece bitkinin stres toleransını değil aynı zamanda strese olan tepkisini de etkilemektedir. Abiyotik stres, proteinlerin yanlış katlanmasına hatta protein sentezinin inhibisyonuna sebep olmaktadır. Bu da bitkinin büyüme ve gelişmesinin olumsuz etkilemektedir (Cramer vd., 2011: 8). Abiyotik stres aynı zamanda bitkilerde birbiriyle ilişkili sinyal yollarının aktivesine sebep olmakta ve bitkide kademeli ve karmaşık bir cevap yolunu başlatmaktadır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Bitkinin abiyotik streslere verdiği genel cevaplar

Kaynak: (Wang vd., 2013: 2)

1.2.1. Sıcaklık Stresi

Günümüzde ekolojik sorunların başında gelen küresel ısınma, dünya genelinde sıcaklık artışına ve buna bağlı olarak da kuraklığa sebep olmaktadır. Değişen iklim koşulları bitki verimliliği ve ürün kalitesi için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bu bağlamda en önemli abiyotik faktörlerden biri sıcaklıktır.

Optimum düzeyin üstündeki veya altındaki sıcaklıklar, tüm organizmalar tarafından sıcaklık stresi olarak algılanmaktadır. Sıcaklık stresi hücresel homeostazı bozmakta ve büyüme-gelişimde önemli bir geriliğe hatta ölüme yol açabilmektedir. Sesil organizmalar olan bitkiler sürekli olarak sıcaklık değişimlerine ve diğer abiyotik faktörlere maruz kalmaktadır. Tüm dünya çapında yaygın tarımsal kayıplar başta kuraklık olmak üzere diğer streslerle birlikte sıcaklıktaki değişimlere bağlanmaktadır (Kotak vd., 2007: 310).

Çok yüksek sıcaklıklarda, bitki hücrelerinde birkaç dakika içinde şiddetli bir hasar meydana gelebilir hatta bu durum hücre ölümü ile sonuçlanabilir (Shinozaki ve Yamaguchi-Shinozaki, 1998: 161). Orta derecede yüksek sıcaklıklarda bitkideki hasarlar veya ölüm uzun süreli maruz kalmadan sonra ortaya çıkmaktadır. Yüksek sıcaklıklardan kaynaklanan ve bitkiyi doğrudan etkileyen metabolik olaylar arasında protein denatürasyonu ve agregasyonu ile membran lipitlerinin artan akışkanlığı sayılabilir. Dolaylı veya daha yavaş meydana gelen sıcaklık hasarı ise kloroplast ve mitokondri içindeki enzimlerin inaktivasyonu, protein sentezinin inhibisyonu, protein bozulması ve membran bütünlüğünün kaybıdır (Wahid vd., 2007: 202). Sıcaklık stresi ayrıca mikrotübüllerin ayrılması veya uzaması, mitotik hücrelerde mikrotübül asterlerinin oluşumu ve fragmoplast mikrotübüllerin uzaması yoluyla mikrotübüllerin organizasyonunu da etkilemektedir (Smertenko vd., 1997: 1540). Bu olumsuz etkiler devamında bitkide açlığa, büyümenin inhibisyonuna, iyon akışının azalmasına, toksik bileşiklerin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine yol açmaktadır (Wahid vd., 2007: 207).

Yüksek sıcaklıklar; yaprakların ve dalların kavurulması, yapraklarda, dallarda ve gövdelerde güneş yanıklarının oluşumu, yapraklarda yaşlanma, sürgün ve kök büyümesinin inhibisyonu, meyvelerde renk değişikliği ve hasarı ile bitki veriminde azalma dahil olmak üzere hasat öncesi ve sonrası çok çeşitli zararlara neden olabilmektedir. Sıcaklık stresi bitkinin diğer jenerasyonların oluşumunda en önemli faktör olan tohumların gelişimini de etkilemektedir. Tohum üzerinde sıcaklık stresinin uzun vadeli etkileri içerisinde çimlenmede gecikme veya

canlılık kaybı sayılabilir. Bu da çimlenme ve fide oluşumu azaltmaktadır (Wahid vd., 2007: 202).

Yüksek sıcaklıklara maruz kalan bitkilerde kuraklık stresindekine benzer bazı anatomik değişiklikler meydana gelmektedir. Bu anatomik değişiklikler şu şekilde sıralanabilir; bitkinin tümünde, hücre boyutunda azalma, stomalarda kapanma ve su kaybında kısıtlama, hem kök hem de sürgünde daha büyük ksilem damarları (Bañon vd., 2004: 339). Hücre seviyesinde ise, yüksek sıcaklıklar tilakoit zarların yapısal organizasyonunu değiştirerek kloroplastlarda büyük değişiklikler meydana getirmektedir. Bu da fotosentez olayında önemli değişikliklere yol açarak bitkinin fotosentez performansını azaltmaktadır (Karim vd., 1997: 222).

Yüksek sıcaklık stresi bitkide fenolojik değişikliklere de sebep olmaktadır. Vejetatif evrede maruz kalınan yüksek sıcaklık, yapraktaki gaz değişim özelliklerini olumsuz yönde etkilenmektedir. Bitki, üreme evresinde yüksek sıcaklık stresine maruz kalırsa açılan çiçeklerde dökülmeler gözlenmektedir (Young vd., 2004: 493).

Yüksek sıcaklık stresi altında genel olarak gündüzleri artan terleme sebebiyle bitkilerdeki su miktarı azalmaktadır. Oluşan bu su eksikliği birçok fizyolojik olayı etkilemektedir (Tsukaguchi vd., 2003: 27). Örneğin, farklı bitki türleri; şekerler ve şeker alkoller (polioller), prolin, üçüncül ve kuaterner amonyum bileşikler ve üçüncül sülfon bileşikler gibi çeşitli ozmolitleri biriktirmektedir (Sairam ve Tyagi, 2006: 408). Yüksek sıcaklığın bitkilerdeki bir diğer etkisi de fotosentez ve solunum arasında dengesizliğin meydana gelmesidir. Bu durumda fotosentez oranı azalırken, solunum oranı önemli ölçüde artmaktadır. Ayrıca, sıcaklık arttıkça enzim inaktivasyonu ve denatürasyonu meydana gelmekte, bu nedenle gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonların oranı düşmektedir. Bu durum ise fotosentezin ciddi şekilde azalmasına neden olmaktadır. Yüksek sıcaklık stresi, moleküllerin membranlar arasındaki kinetik enerjisini ve hareketini artırmaktadır ve böylece membran molekülleri arasındaki kimyasal bağları gevşetmektedir. Proteinlerin denatürasyonuna sebep olması ya da doymamış yağ asitlerinin miktarının artması, çift katlı lipid tabakasına sahip membranı daha akışkan hale getirmektedir (Savchenko vd., 2002: 349).

Bitkiler olumsuz ekolojik koşulları izleme ve adapte olma yeteneğine sahiptir. Ancak streslere uyum veya tolerans derecesi türlere ve genotiplere göre değişmektedir. Fitohormonlar da bu konuda önemli bir rol oynamaktadır. Hormonal homeostaz, stabilite, içerik, biyosentez ve dağıtım sıcaklık stresi altında değişiklik göstermektedir (Maestri vd., 2002: 667). Fitohormonların düzenlenmesinin yanında yüksek sıcaklık, flavonoidler ve fenilpropanoidler

gibi ikincil metabolitlerden olan fenolik bileşiklerin de üretimini indüklemektedir (Wahid vd., 2007: 207).

Yüksek sıcaklık stresi fenolojik, anatomik ve fizyolojik cevapların yanı sıra moleküler cevaplarında oluşmasına sebep olmaktadır. Sıcaklık stresi doku dehidrasyonuna ek olarak, oksidatif stres oluşumunda da etkilidir. Örneğin, tekli oksijen (1O_2), süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^-) dahil olmak üzere reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve hücredeki reaksiyonları, yüksek sıcaklığa bağlı hücresel yaralanma belirtileri olarak sayılmaktadır (Liu ve Huang, 2000: 509). ROS, membran lipitlerinin ve pigmentlerinin otokatalitik peroksidasyonuna neden olmaktadır. Böylece hücre zarının önemli bir özelliği olan yarı geçirgenliğinin kaybına ve işlevlerinin değişmesine yol açmaktadır (Xu vd., 2006: 282).

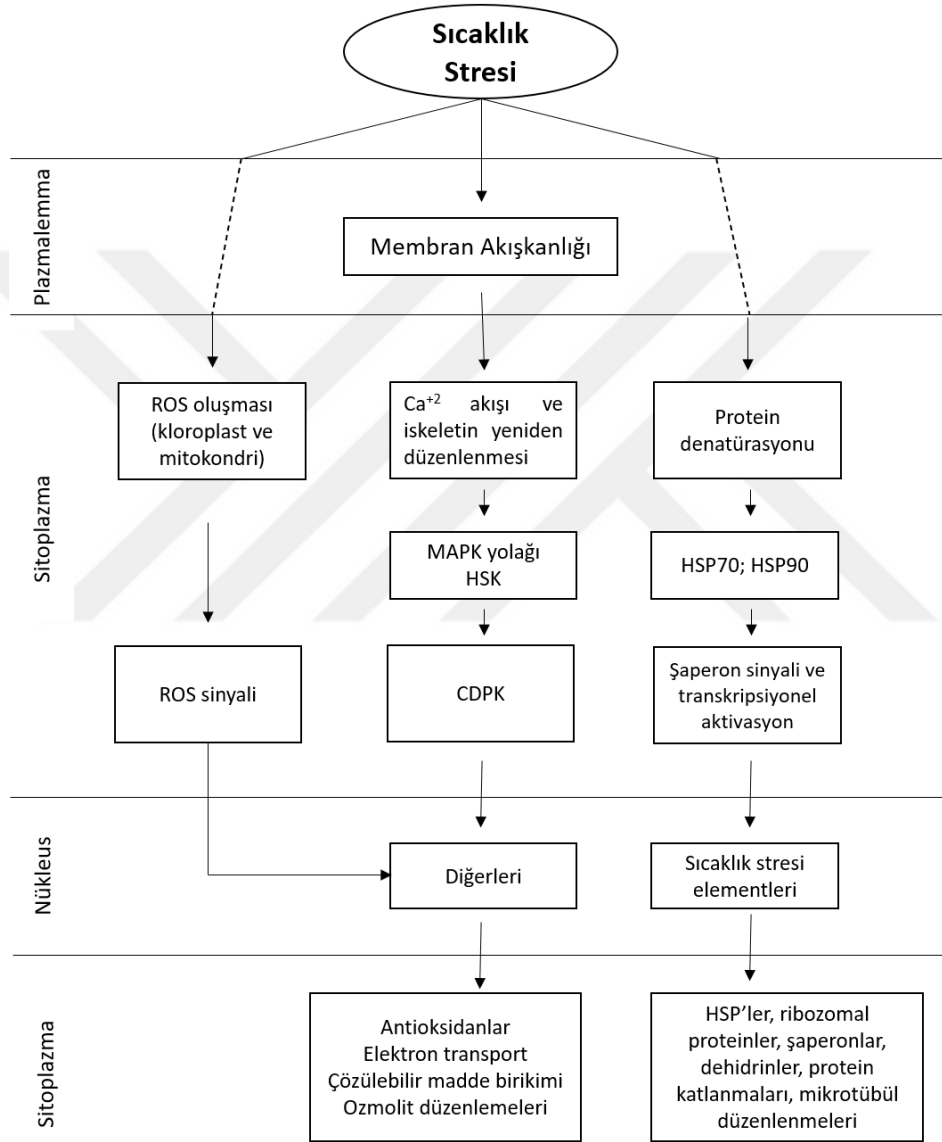
Sıcaklık stresi, bazı hücre içi proteinleri ve membran proteinlerinin yanlış katlanmasını ve denatürasyon riskini arttırmaktadır. Bitkiler ekolojik streslerle başa çıkmak için çeşitli stres proteinleri sentezlerler. Sıcaklık stresinde eksprese edilen ve hücrede şaperon görevi gören en önemli proteinlerden biri ısı şoku proteinleri (HSP'ler)'dir. Bu proteinler moleküler ağırlıklarına göre; HSP110, HSP90, HSP70, HSP60 ve küçük HSP'ler olmak üzere beş alt aileye ayrılmaktadır (Baniwal vd., 2004: 477). Bitkiler ani veya kademeli bir sıcaklık artışı yaşadığında HSP'lerin üretimi artmaktadır. HSP'lerin eksprese olması, bakteriden insana kadar tüm organizmalarda gözlemlenen sıcaklık stresine evrensel bir yanıt olarak kabul edilmektedir (Baniwal vd., 2004: 472)

HSP'lerin yanı sıra, ubikitin, sitosolik bakır/çinko süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD) ve mangan peroksidaz (Mn-POD), ozmotin benzeri bir protein olan Pir proteinleri, geç embriyonik bağımlı (LEA) proteinler gibi bir dizi başka bitki proteininin ekspresyonu da sıcaklık stresi ile uyarılmaktadır (Wahid vd., 2007: 207). Bu proteinlere ek olarak, oluşan reaktif oksijen türlerini temizleyecek antioksidan enzimlerinin ekspresyonu da uyarılmaktadır (Wahid vd., 2007: 210).

Bitkilerin strese karşı gösterdiği tepki mekanizmaları ve bunların stres toleransındaki rollerinin aydınlatılması büyük bir öneme sahiptir. Bitkiler yüksek sıcaklık koşullarında hayatta kalmak için uzun süreli fenolojik ve evrimsel uyarlamalar ile yaprak yönünü değiştirme, transpirasyonun düzenlenmesi veya membran lipit kompozisyonunun değiştirilmesi gibi kısa süreli stresten kaçınma veya strese alışma mekanizmaları gibi farklı mekanizmalar göstermektedir. Yüksek sıcaklıkta yetişen birçok zirai bitkide, erken olgunlaşma ve buna bağlı

düşük verim kayıpları bir kaçış mekanizması olarak değerlendirilmektedir (Adams vd., 2001: 876).

İyon taşıyıcıları, ozmoprotektanlar, serbest oksijen radikali temizleyicileri, sinyal yolları ve transkripsiyonel kontrol ile ilgili faktörler dahil olmak üzere bazı önemli tolerans mekanizmaları stres etkilerine karşı koymak için oldukça önemli rol oynamaktadır (Wang vd., 2004: 244).



Şekil 1.4. Bitkilerde önerilen ısı-stres tolerans mekanizmaları

(MAPK, mitojenle aktive olan protein kinazlar; ROS, reaktif oksijen türleri; HAMK, ısı şoku ile etkinleştirilen MAPK; HSE, ısı şoku elemanı; HSP'ler, ısı şoku proteinleri; CDPK, kalsiyuma bağımlı protein kinazlar, HSK, histidin kinaz.)

Kaynak: (Wahid vd., 2007: 211)

Yüksek sıcaklığın bitkiler tarafından algılanması ve bitkilerin sıcaklık stresinin olumsuz etkileriyle başa çıkmaları, bazı metabolitlerin üretimi ile başlayan bir dizi değişiklik ve mekanizma ile sağlanmaktadır (Şekil 1.4) (Wahid vd., 2007: 211). Sıcaklık stresinin ilk etkisi membran üzerinde görünmektedir ve membranın akışkanlığını arttırmaktadır. Membran akışkanlığı kalsiyum (Ca^{+2}) akışının indüklenmesine ve hücre iskeletinin yeniden yapılandırılmasına yol açmaktadır. Bu da mitojenle aktifleştirilmiş protein kinazların (MAPK) ve kalsiyum bağımlı protein kinazın (CDPK) artışına yol açmaktadır. Bu metabolik olayın nükleer düzeyde uyarılması, hücrenin ozmotik dengesinin sağlanması için antioksidanların ve uyumlu ozmolitlerin üretimine yol açmaktadır. Organellerde (örn., kloroplast ve mitokondri) ROS üretimi, antioksidanların yanı sıra sinyalleşme için büyük önem taşımaktadır (Bohnert vd., 2006: 180). Antioksidan savunma mekanizması sıcaklık-stres adaptasyonunun önemli bir parçasıdır ve termotoleransın kazanılması ile yakından ilişkilidir (Maestri vd., 2002: 669).

Yüksek sıcaklık kadar, düşük sıcaklıklar da bitkilerde stres oluşturmada ve bitkilerin gelişmesi üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Düşük sıcaklık stresinin bitkiler üzerindeki bu tür zararlı etkileri, stresin büyüklüğüne, süresine ve bitkinin hangi büyüme aşamasında olduğuna göre değişmektedir (Hussain vd., 2018: 2).

Düşük sıcaklık stresi bitkilerin morfolojisinde ve veriminde değişikliklere sebep olmaktadır. Bazı tarla bitkileri, özellikle çimlenme ve fide gelişiminin erken aşamalarında soğuğa son derece duyarlı olmaktadır. Her tohumun çimlenebilmek için optimum sıcaklık ve toprak nemine gereksinimi vardır (Hussain vd., 2018: 3). Soğuk stresi çimlenmeyi ciddi şekilde bozmakta ve fide canlılığını azaltmaktadır (Kang ve Saltveit, 2002: 571; Wang vd., 2016:1) Bununla birlikte bitki gelişimini geciktirerek ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır (Cruz ve Milach, 2004: 2; Oliver vd., 2007: 1319; Ruelland vd., 2009: 38). Soğuk stresi yapraklarda lezyonlara sebep olmakta, yaprak gelişimini geciktirmekte, yaprak sayısında azalmaya sebep olmakta, hücre döngüsünü uzatarak hücre üretimini azaltmakta, patojen ve hastalıklara duyarlılığı arttırmaktadır (Korkmaz ve Dufault, 2001: 408; Rymen vd., 2007: 1436). Düşük sıcaklık stresi aynı zamanda kök uzunluğunu, biyokütlesini ve morfolojisini düzenleyerek kök büyümesini kısıtlamaktadır (Hussain vd., 2018: 3). Tahıl ürünlerinde, üreme gelişimi sırasındaki düşük sıcaklık stresi, çiçeklerin dökülmesine, ovül gelişiminin durmasına, polen kısırlığına, polen tüpünün bozulmasına, zayıf meyve setlerine ve dolayısıyla nihai verimin azalmasına sebep olmaktadır (Thakur vd., 2010: 434)

Düşük sıcaklık stresi altında bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal cevaplar da oluşmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda olduğu gibi soğuk stresi de bitkilerde optimum düzeydeki fotosentez ve solunumun seviyelerini değiştirmektedir (Hussain vd., 2018: 4). Soğuk stresi altında, stoma ve mezofilden karbondioksit (CO₂) iletimi azalmakta, kloroplastik gelişim bozulmakta ve metabolit taşınımı azalmaktadır (Hussain et al., 2018: 4; Sowiński vd., 2005: 67).

Düşük sıcaklık topraktaki fiziksel, kimyasal özellikler ile mikrobiyal faaliyetlerini etkileyerek bitki-besin ilişkilerini değiştirmektedir (Yan vd., 2012: 716). Zayıf kök sistemine sahip olan bitkilerde, soğuk stresi altında azot, fosfor ve potasyum dahil olmak üzere çeşitli besin maddelerinin alımı azalmaktadır (Hussain vd., 2018: 4; Yan vd., 2012: 716). Azalan kök uzunluğu, düşük hidrolik iletkenlik, zayıf kök dallanması ve daha kalın kök eksenini gözlemlenmekte bu da bitkilerde mineral besin alımının azalmasına yol açmaktadır (Farooq vd., 2009: 502). Soğuk stresi bitkinin ozmotik dengesini bozmakta ve dehidrasyon stresine de neden olmaktadır (Farooq vd., 2009: 504; Wang vd., 2016: 7). Çoğu stres durumunda olduğu gibi, düşük sıcaklık stresinde de ROS oluşmaktadır ve aşırı ROS üretimi oksidatif hasara neden olmaktadır (Farooq vd., 2009: 504; Ruelland vd., 2009: 38). Fazla ROS birikimi protein oksidasyonuna, membran lipitlerinin peroksidasyonuna, deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) hasarına ve hatta hücre ölümüne yol açmaktadır (Apel ve Hirt, 2004: 2). ROS üretimi ve güvenli detoksifikasyon arasındaki dengesizlik, oksidatif stres olarak adlandırılan metabolik durumu temsil etmektedir. ROS oluşumu ve detoksifikasyonu arasındaki denge düşük sıcaklık stresi altındaki bitki hücrelerinin hayatta kalması için oldukça önemlidir (Baier vd., 2005: 1). Bitkiler, düşük sıcaklık stresi gibi olumsuz koşullar altında oluşan oksidatif hasarla başa çıkabilmek için antioksidatif savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Bitkiler hücrel homeostazı korumak ve oksidatif hasarı azaltmak için çeşitli enzimatik (SOD, askorbat peroksidaz (APX), POD, katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) vb.) ve enzimatik olmayan (indirgenmiş ve oksitlenmiş glutatyon, askorbik asit, α-tokoferol ve karotenoidler) antioksidanların aktivitelerini arttırmaktadır (Gill ve Tuteja, 2010: 910). Düşük sıcaklık ayrıca biyokimyasal reaksiyonların hızlarını doğrudan azalttığından veya dolaylı olarak gen ekspresyonunun yeniden programlanmasına neden olduğundan hücrel metabolizmayı büyük ölçüde değiştirmektedir (Chinnusamy vd., 2007: 445).

Ayrıca soğuk stresi, COR (soğuğa duyarlı) genlerinin promotörlerinde cis-elemanlarına bağlanabilen ve ekspresyonlarını indükleyebilen ETİLEN YANIT FAKTÖRÜ/APETALA2

ailesi transkripsiyon faktörlerinin (örn. CBF'ler) ekspresyonunu düzenlemektedir (Chinnusamy vd., 2007: 446). Bununla birlikte soğuk stresinde oksidatif stres arttığı için, SOD, APX, POD, CAT, GR gibi enzimatik antioksidanların ekspresyonu da artmaktadır (Fan vd., 2014: 1; Hussain vd., 2018: 5). Soğuk stresi aynı zamanda prolin birikimini artırmakta ve bu da proline yanıt veren elemente (PRE ve ACTCAT) sahip genlerin ekspresyonlarını indüklemektedir (Chinnusamy vd., 2007: 446). Genel olarak, sıcaklık stresi altında transkripsiyon faktörlerinin birçoğunun ekspresyonu artarken, birincil büyüme süreçlerinde rol oynayan birkaç transkripsiyon faktörünün ekspresyonu ise azalmaktadır (Hussain vd., 2018: 7).

1.2.2. Borun Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi için makro ve mikro besin elementlerini yeterli miktarda alması gerekmektedir. Eksiklik veya toksisiteye neden olan bir besin elementinin yetersiz alınımı bitki büyümesini etkilemekte ve bitkilerde verim ve ürün kalitesi kayıplarına sebep olmaktadır. Bitkiler için en önemli mikro besin elementlerinden biri Bor'dur.

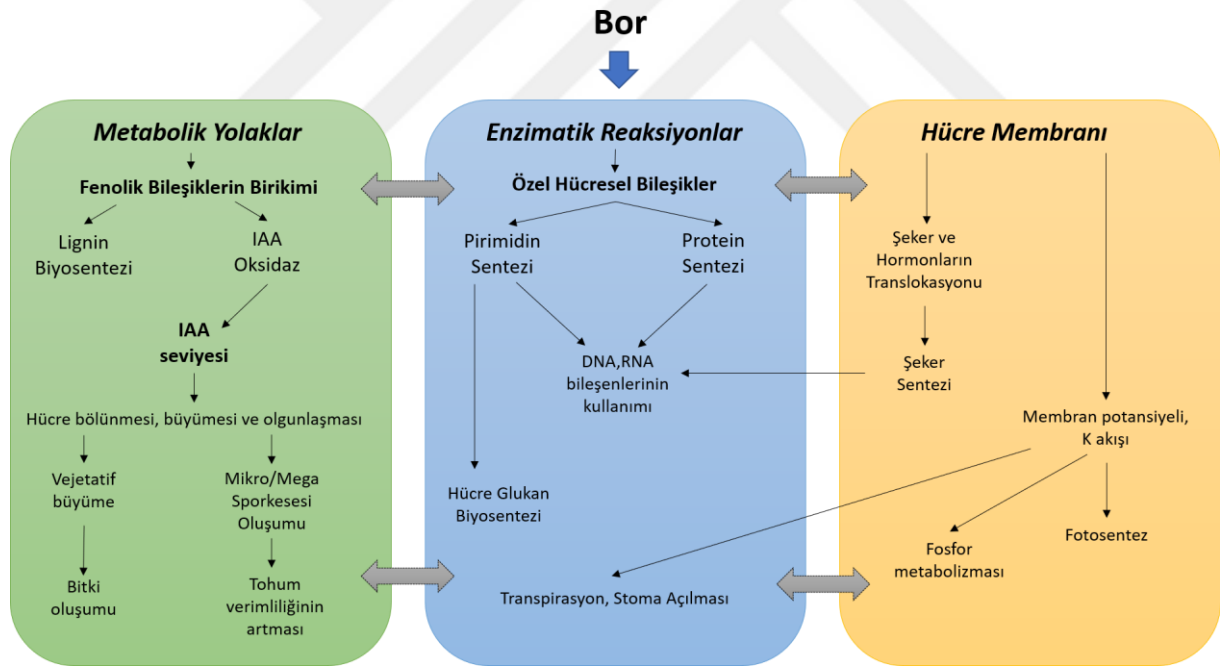
Bor (B), periyodik cetvelde 13. gruba ait kimyasal bir element olup hem asitleri hem de bazları üretme kabiliyetine sahip metalik ve metalik olmayan özellikler taşımaktadır. Bor su, toprak ve atmosferde yaygın olarak bulunan bir elementtir (Princi et al., 2015: 116). B'nin inorganik formları hem doğal olarak hem de antropojenik kaynaklı olmak üzere iki şekilde bulunabilir. Doğada boratlar, oksijen ile boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) halinde, daha az sıklıkla borik asit [$\text{B}(\text{OH})_3$ veya H_3BO_3] olarak ve çok nadiren flor ile anyon BF_4^- olarak yer alır. Bunun aksine, bitki ve hayvan hücrelerinde, yaklaşık 7,5'lik bir pH'da, sitoplazmik bölgede, B'nin %99,95'inden fazlası H_3BO_3 formunda, kalan kısmı ise borat ($\text{B}(\text{OH})_4^-$ iyonları formunda bulunmaktadır (Power ve Woods, 1997: 2).

Topraktaki mikrobelerin bitkilerdeki alt ve üst sınır değerlerinin, özellikle bor için, belirlenmesi oldukça zordur. Dünyanın tarımsal topraklarının çoğu, nötr pH değerinde 5-30 ppm toplam bor içermektedir (Brdar-Jokanović, 2020: 5). Bor eksikliği ve toksisite arasındaki aralık diğer elementlerle karşılaştırıldığında son derece dardır (Brdar-Jokanović, 2020: 5). Genellikle, 0,5 ppm'den daha az bor içeren toprakların yetersiz olduğu düşünülürken, sadece birkaç ppm ise toksisiteye neden olabilmektedir (Yau vd., 1995: 190).

Borik asit, yağışla kolayca süzülen çözünür bir bileşiktir; bu nedenle, bor eksikliği genellikle nemli bölgelerde görülmektedir (Rehman vd., 2014: 1; Marschner, 1995: 379; Rerkasem vd., 2019: 4; Shorrocks, 1997: 1). Bor eksikliğinin aksine, toprak bor toksisitesi daha

az gözlenmekte ve kurak ve yarı kurak alanlarda ortaya çıkmaktadır (Nable vd., 1997: 181; Koç, 2007: 378; Landi vd., 2019: 1015).

Bor, çoğunlukla hücre zarının fosfolipid çift katmanından geçerek hücreye kolayca girebilen küçük, yüksüz borik asit molekülleri şeklinde bitki kökleri tarafından alınmaktadır (Marschner, 1995: 385; Brown vd., 2002: 206). Her ne kadar borun bitki metabolizmasındaki rolü halen tam olarak anlaşılmamış olsa da borun bitkilerde şekerlerin taşınımı, hücre duvarının sentezlenmesi, membran bütünlüğü, fotosentez ürünlerinin bitkinin diğer organlarına taşınması, karbonhidrat ve fenol metabolizması gibi önemli fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda bora ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir (Cervilla vd., 2009: 672; Barut vd., 2018: 34). Bor, enzim reaksiyonlarının yanı sıra iyonların, metabolitlerin ve hormonların taşınmasında rol oynamaktadır (Goldbach ve Wimmer, 2007: 39). Bor elementi enzimleri uyarır, inhibe eder veya stabilize eder; şekerlerin zar boyunca taşınması, lignin ve flavonoid sentezi ve oksinlerin, azot bileşiklerinin ve fenollerin metabolizmasında rol oynar (Şekil 1.5) (Seth ve Aery, 2017: 2).



Şekil 1.5. Borun fizyolojik ve moleküler hedefleri

Kaynak: (Princi vd., 2015: 121)

Bitki sağlığı için gerekli minerallerden herhangi birinin seviyesinin azalmasına mineral eksikliği denir. Düşük mineral içeriği o mineralin bitkideki fonksiyonunu etkileyebilecek bir seviye olarak tanımlanabilir. Bor eksikliği de dünya çapında tarımsal sorunlardan biridir ve bitkisel üretim için büyük bir dezavantaj oluşturmaktadır (Blevins ve Lukaszewski, 1998: 483; Kato vd., 2009: 58). Toprak bor konsantrasyonları Nepal'de 0.19 ppm, Zambiya'da 0.25 ppm, Nijerya'da 0.27 ppm, Filipinler'de 0.28 ppm, Kore'de 0.37 ppm, Sierra Leone'de 0.39 ppm ve Hindistan'da 0.42 ppm olarak yetersiz konsantrasyonlarda olduğu bilinirken; Pakistan, Macaristan, Türkiye, Meksika ve Irak'ta sırasıyla 0.68, 1.02, 1.10, 1.26 ve 1.51 ppm olarak toksik konsantrasyonlarda ölçülmüştür (Shorrocks, 1997: 129).

Sekiz önemli mikro element arasında en az anlaşılmış olmasına rağmen bor (B) eksikliği belirtileri ayrıntılı olarak aydınlatılmıştır. Bor eksikliği belirtileri bitki türleri arasında farklılıklar göstermektedir. Bor immobil bir element olduğundan, eksikliği ilk önce daha genç dokularda görülmektedir (Koshiba vd., 2009: 557). Bor eksikliği bitkide birçok anatomik, fizyolojik ve biyokimyasal değişikliğe neden olmaktadır (Shorrocks, 1997: 121).

Bor toksisitesi hem ürün verimini hem de kalitesini etkileyen önemli bir faktördür. Bor toksisitesinin en tipik semptomları arasında yaprak renginin farklılaşmasının yanı sıra bitki canlılığının azalması, bitki gelişiminin gecikmesi, meyvelerin sayısı ve büyüklüğünün azalması sayılabilir (Princi vd., 2015: 129).

Bor toksisitesinin birincil fenotipik etkisi olarak genellikle bitki kuru ağırlığının azalması ve kök büyüme inhibisyonu görülmektedir (Turan vd, 2009: 100). Bor fazlalığı, kolşisininkine benzer bir şekilde mitoz bölünme sırasında kök ucu hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler yaratmaktadır (Liu vd., 2000: 50; Konuk vd., 2007: 77). Yüksek B konsantrasyonun toksisite mekanizmaları hala belirsiz olmasına rağmen, fotosentezi olumsuz etkilediği bildirilmiştir. Yüksek B stresi altında, yaprağın kenarlarında kurumalar görülmekte, böylece fotosentetik alan daralmakta, klorofil içeriği azalmakta ve sonuç olarak fotosentez oranı düşmektedir (Han vd., 2009: 151; Chen vd., 2014: 240). B toksisitesi genellikle, hidroksil radikalleri (OH[•]), süperoksit radikalleri (O₂^{•-}) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi ROS birikmesine ve nihayetinde de hücre ölümüne neden olan oksidatif strese sebep olmaktadır. Ayrıca, B toksisitesinin fotosentez, enerji metabolizması, antioksidasyon, detoksifikasyon, proteoliz ve hücre naklinde yer alan çeşitli protein çeşitlerinin miktarını artırdığı belirtilmiştir (Sang vd., 2015: 1).

1.3. Antioksidatif Savunma Sistemi

Bitkiler, ROS'ları temizleyebilmek için enzimatik bileşenlerden oluşan ve enzimatik olmayan antioksidatif savunma sistemine sahiptir. Bitki hücrelerinde kloroplast, mitokondri ve peroksisom gibi farklı organellerde spesifik ROS üreten ve ROS'u temizleyen sistemler bulunmaktadır. Hücrenin farklı kısımları çeşitli ROS temizleme yolları ile koordine bir şekilde çalışmaktadır (Pang ve Wang, 2008: 232).

Optimum koşullar altında, toksik potansiyeli olan oksijen metabolitleri düşük bir seviyede üretilmektedir ve ROS üretimi ile yıkımı arasında bir denge bulunmaktadır. Bu denge, hücre içi ROS seviyelerinde hızlı artışlara neden olan ve aynı zamanda lipitlere, proteinlere ve nükleik asitlere oksidatif zarar verebilecek bir dizi olumsuz ekolojik faktör tarafından bozulabilmektedir. Oksidatif hasarı önlemek için, yüksek bitkiler endojen antioksidan savunma seviyesini artırmaktadır (Sharma vd., 2012: 96).

1.3.1. Lipid Peroksidasyonu

Lipidler, prokaryotik ve ökaryotik membranların ana bileşenleridir. Plazma membranının ve hücre içi zarların yapısal bileşenleri olarak görev alırlar; aynı zamanda enerji ve karbon depolanması, sinyal iletimi ve strese karşı tepkilerde çeşitli biyolojik fonksiyonları bulunmaktadır (Hashemi, 2020: 2).

Radyasyon, ultraviyole ışınlar, aşırı sıcak ve soğuklar, tütün dumanı, patojen enfeksiyonları, çevresel toksinler ve herbisite/insektisiteye maruz kalma gibi dış uyarıcılar hücre içi ROS üretiminin kaynaklarıdır (Ayala vd., 2014: 2). Çevresel stresin sebep olduğu, artan oksidatif stresin sonuçları arasında hücre, doku ve organ yaralanması bulunmaktadır. Hücre zarı da birçok çevresel stresin ana hedeflerinden biri olmaktadır. Yüksek seviyelerde serbest radikaller veya reaktif oksijen türleri (ROS) lipidlere doğrudan zarar vermektedir (Moldovan ve Moldovan, 2004: 398). Lipidleri en fazla etkileyen en yaygın iki ROS, hidroksil radikali (HO^\cdot) ve hidroperoksildir (HO_2). Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), peroksidasyona karşı çok hassas olan en önemli membran lipit bileşiklerinden biridir. ROS'un zararlı etkilerinin ana nedeni, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun zincir reaksiyonunu başlatma yeteneğidir, bu da lipit peroksidasyonuna ve membran bozulmasına yol açmaktadır. Reaksiyon başlama, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç ana aşamaya ayrılmaktadır.

Başlangıç aşamasında radikal bir yağ asidi üretilir. OH^\cdot gibi reaktif oksijen türleri (ROS), su ve radikal yağ asitleri üretmek için doymamış yağ asidinin hidrojen atomu ile birleşmektedir.

Yağ asidi radikalinin stabilitesi düşüktür, böylece moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksil-yağ asidi radikalinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu radikal de düşük stabiliteye sahiptir ve ayrıca başka bir serbest yağ asidi ile reaksiyona girerek bir lipit peroksit ve farklı bir radikal yağ asidi üretmektedir. Devamında her zaman başka bir radikal üretirken, radikal, radikal olmayan bir madde ile reaksiyona girmektedir. Bu işleme “zincir reaksiyonu mekanizması” denir. İki radikal birlikte reaksiyona girdiğinde radikal olmayan bir madde üretilir. Böylece radikal reaksiyon durmaktadır (Hashemi, 2020: 9). Çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) asil zincirine serbest radikaller saldırır ve oksijen molekülü ile kolayca reaksiyona giren, lipit peroksil radikali oluşturan bir radikal yağ meydana getirir. Devamında lipit peroksil radikali, bir zincir reaksiyonu ilerleterek komşu PUFA'lara saldırabilir. Bir linolenik asit peroksil radikali ikinci bir oksijen molekülü ile kendiliğinden reaksiyona giren ve daha sonra fitoprostan G1'e (PPG1) indirgenen bir siklik peroksil radikali oluşturabilir. Fitoprostan G1 (PPG1) kendiliğinden bozularak, malondialdehit (MDA), diğer alkanlar ve alkenler veya başka fitoprostanlar oluşturabilir (Sattler vd., 2006: 3709).

Genellikle bitkilerde membran lipit peroksidasyonu MDA ölçülerek tespit edilmektedir. MDA, ekolojik faktörlere bağlı stresin oluşturduğu oksidatif lipid hasarının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan temel belirteçlerden biridir (Kong vd, 2016: 4).

1.3.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Serbest Radikaller

Bitkilerin ürün miktarının ve kalitesinin artırılmasını için bitki doku ve organlarının gelişimi daha iyi anlaşılmalıdır. Bitki morfogenezi hem iç faktörler olan genetik olaylar hem de dış faktörler olan çevresel etmenler tarafından düzenlenmektedir (Huang vd., 2019: 1).

Reaktif oksijen türleri (ROS), bitki aerobik metabolizmasının yan ürünleri olarak üretilmektedir. ROS, süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-) gibi serbest radikalleri ve ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2), tekli oksijen (1O_2) ve benzeri gibi radikal olmayan molekülleri içermektedir (Sharma vd., 2012: 2).

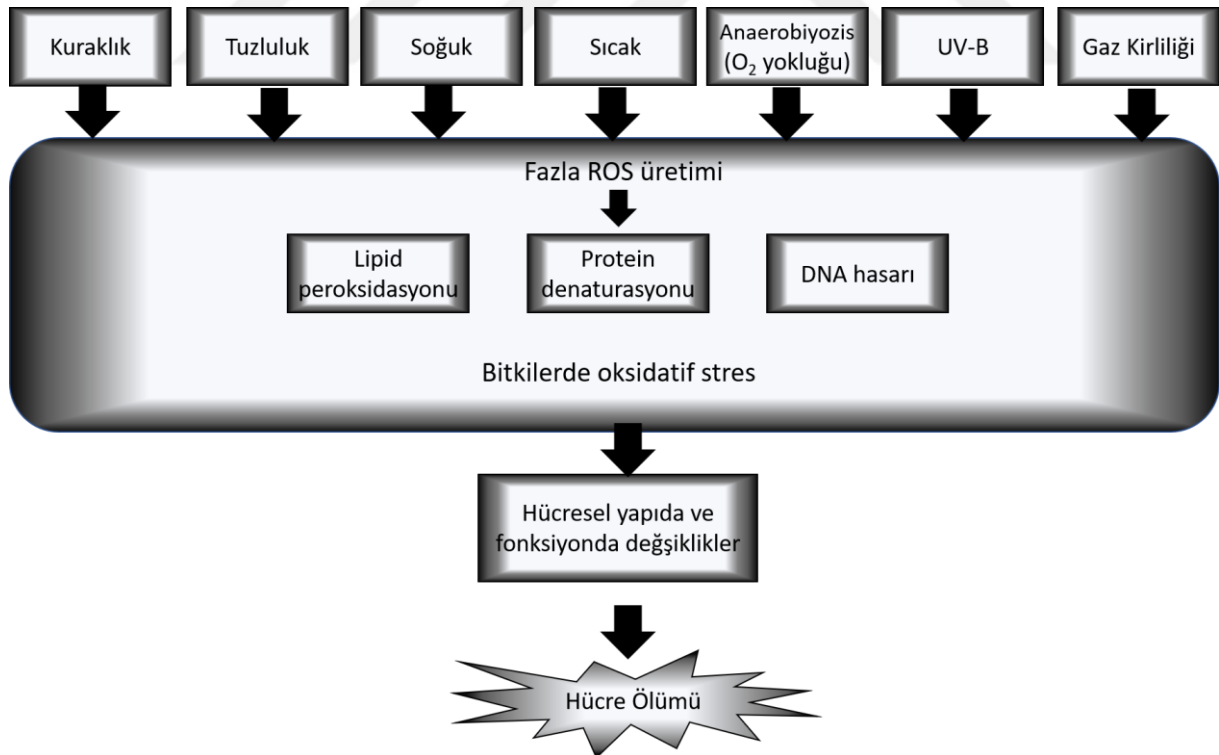
Yüksek enerjiye maruz kalma veya elektron transfer reaksiyonları ile moleküler oksijenin (O_2) aşamalı olarak azaltılması, yüksek derecede reaktif ROS üretimine yol açmaktadır. Bitkilerde ROS, her zaman kloroplastların (Dietz vd., 2016: 1542), mitokondrinin (Huang vd., 2016: 2) ve peroksizomların (Sandalio ve Romero-Puertas, 2015: 476) elektron taşıma aktivitelerinden elektronların O_2 'ye sızması veya farklı hücresel kısımlarda lokalize

edilmiş çeşitli metabolik yolların bir yan ürünü olarak oluşmaktadır (Del Río vd., 2006: 331; Blokhina ve Fagerstedt, 2010: 449).

Genel olarak, hücresel proliferasyon ve farklılaşma dahil olmak üzere birçok temel biyolojik sürecin ilerlemesi için düşük ROS seviyeleri gereklidir. Ek olarak, ROS, bitki gelişim süreçlerini ve stres yanıtlarını kontrol etmek için epigenetik etmenler ve hormonlarla etkileşime girmektedir (Tsukagoshi vd., 2010: 606; Zafra vd., 2010: 2; Zeng vd., 2017: 1).

Tüm ROS'ların kaynağı olan oksijen (O_2) bitkilerde stabil olup çok reaktif değildir. Bununla birlikte, bitki metabolizmasını etkileyen bazı işlemlerle çeşitli organellerde yüksek enerjili ROS'a dönüştürülmektedir (Mittler, 2017: 17). Reaktif moleküller olarak, ROS bazı hücresel bileşenleri oksitleyip değiştirerek orijinal işlevlerini bozmaktadır 374 491 (Apel ve Hirt, 2004: 374; Mittler vd., 2004: 491).

Kuraklık, tuzluluk, soğuk, metal toksisitesi ve UV-B radyasyonu gibi abiyotik stresler ve patojen saldırıları, hücresel homeostazın bozulması nedeniyle bitkilerde ROS oluşumunun artmasına neden olmaktadır (Mittler, 2002: 1; Sharma ve Dubey, 2005: 210; Han vd., 2009: 144; Mishra vd., 2011: 566) .

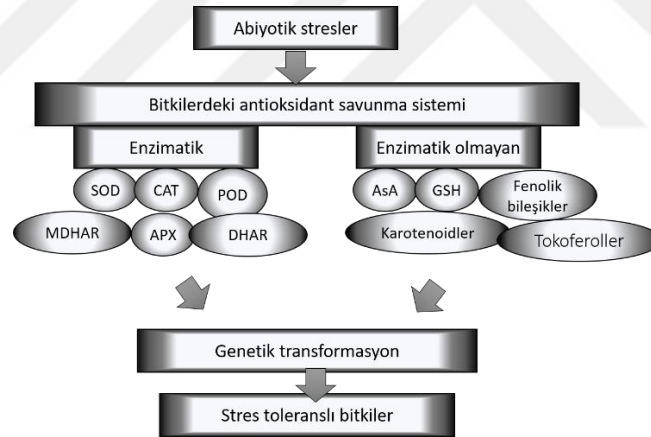


Şekil 1.6. ROS'un artmasına sebep olan abiyotik stresler ve ROS'un hücre üzerindeki etkisi

Kaynak: (Sharma vd., 2016: 93)

Yüksek konsantrasyonlardaki tüm ROS'ların organizmalar için son derece zararlı etkileri olmaktadır. Hücrenin savunma mekanizmaları yetersiz kaldığında, hücrede artan ROS seviyesi, "oksidatif stres" şeklinde ifade edilmektedir. Ekolojik stresler sırasında artan ROS üretimi, lipidlerin peroksidasyonuna, proteinlerin oksidasyonuna, enzim inhibisyonuna, nükleik asitlerin zarar görmesine, programlanmış hücre ölümünün (PCD) aktivasyonuna yol açarak hücreler için büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Şekil 1.6) (Shah vd., 2001: 1142; Mittler, 2002: 405; Meriga vd., 2004: 67; Sharma ve Dubey, 2005: 220; Maheshwari ve Dubey, 2009: 47; Mishra vd., 2011: 17; Srivastava ve Dubey, 2011: 14).

ROS'un zarar verici veya sinyal verici bir molekül olarak davranıp davranmayacağı, ROS üretimi ve yıkımı arasındaki hassas dengeye bağlıdır. ROS'un farklı rollere sahip olması nedeniyle, hücrelerin ROS'a bağımlı herhangi bir oksidatif hasarı önlemek ve ROS'u tamamen ortadan kaldırmamak için ROS seviyesini iyi bir şekilde kontrol etmesi gerekmektedir. Fazla ROS'un yıkımı veya detoksifikasyonu, enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidanlardan oluşan etkili bir antioksidatif sistem ile elde edilmektedir (Şekil 1.7) (Noctor ve Foyer, 1998: 251).



Şekil 1.7. Antioksidan savunma sisteminin enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri

Kaynak: (Sharma vd., 2016: 97)

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), guaiacol peroksidaz (GPX), askorbat glutatyon (AsA-GSH) döngüsü enzimleri örneğin askorbat peroksidaz (APX), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroazorat redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR) enzimatik antioksidanlar olarak işlev görürken (noctor and foyer, 1998); askorbat (AsA), glutatyon (GSH), karotenoidler, tokoferoller ve fenolikler, hücre içinde güçlü

enzimatik olmayan antioksidanlar olarak işlev görmektedir. Literatürde yer alan çalışmalar, değişen ekolojik faktörlerin neden olduğu oksidatif stresle mücadele etmek için bitkilerdeki antioksidan savunma sistemine ait birçok enzim aktivitesinin arttığını bildirmektedir. Yüksek antioksidan kapasitesinin korunması için toksik ROS'u yıkmak, bitkilerin bu ekolojik streslere karşı artan toleransı ile ilişkilendirilmektedir (Zaefyzadeh vd., 2009: 6; Chen vd., 2011: 277) .

1.3.3. Antioksidatif Savunma Sisteminin Enzimatik Olmayan Bileşenleri

Antioksidatif savunma sisteminin enzimatik olmayan başlıca bileşenleri arasında hücrel redoks tamponları askorbat (AsA), glutatyon (GSH), bunlarla birlikte tokoferol, karotenoidler ve fenolik bileşikler bulunmaktadır (Sharma vd., 2012: 9).

Enzimatik olmayan antioksidatif savunma sistemi bileşenleri çok sayıda hücrel bileşenle etkileşime girmektedir. Oksidatif strese karşı savunmada önemli rollerine ve enzim kofaktörü olmalarına ek olarak bu antioksidanlar, mitoz bölünme ve hücre uzamasından yaşlanmaya ve hatta hücre ölümüne kadar çeşitli süreçleri etkileyerek bitki büyümesi ve gelişmesinde değişikliklere sebep olurlar (De Pinto ve De Gara, 2004: 9). Literatürde yer alan çalışmalar enzimatik olmayan antioksidan içeriği azalmış mutantların oksidatif strese karşı aşırı duyarlı olduklarını belirtmektedir (Gao ve Zhang, 2008: 9; Semchuk vd., 2009: 5).

1.3.3.1. Askorbat (AsA)

Askorbat (AsA), hücrede en fazla bulunan, düşük moleküler ağırlığa sahip bir antioksidandır. Artan ROS seviyesinin neden olduğu oksidatif strese karşı savunmada önemli bir role sahiptir. AsA, bir dizi enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonda elektron verme yeteneği nedeniyle güçlü bir antioksidan olarak kabul edilmektedir (Colville ve Smirnoff, 2008: 9). AsA'nın bitkilerde büyüme, farklılaşma ve metabolizma gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir. AsA, özellikle fotosentetik dokularda bol miktarda bulunmaktadır (Sharma vd., 2016: 97). AsA'nın neredeyse %90'ından fazlası sitoplazmada lokalize olmuştur ancak diğer çözümlü antioksidanlardan farklı olarak, milimolar konsantrasyonda mevcut olduğu için apoplastta önemli bir kısmı kaplamaktadır. Apoplastik AsA'nın potansiyel olarak zararlı dış oksidanlara karşı ilk savunma hattını temsil ettiğine inanılmaktadır (Barnes vd., 2002: 246). AsA, kritik makromolekülleri oksidatif hasardan korumaktadır.

Çevresel stres altındaki bitkilerde AsA seviyesi, antioksidan talebine bağlı olarak AsA biyosentezinin ve yıkımının dengede olmasına bağlıdır (Chaves vd., 2002: 913). AsA

biyosentezinde yer alan enzimlerin aşırı ekspresyonu, bitkilerde abiyotik stres toleransı ile ilişkilendirilmektedir (Sharma vd., 2012: 14).

1.3.3.2. Glutasyon (GSH)

Tripeptit glutasyon (γ -glutamilsisteinil-glisin, GSH), ROS kaynaklı oksidatif hasara karşı hücre içi savunmada önemli bir rol oynayan, düşük moleküler ağırlıklı, protein yapıda olmayan tiyollerden biridir. Sitosol, kloroplastlar, endoplazmik retikulum, vakuoller ve mitokondri gibi neredeyse tüm hücre kısımlarında tespit edilmiştir (Foyer ve Noctor, 2003: 359).

GSH, hücre içinde önemli bir antioksidan olmasının yanı sıra, bir redoks tamponu görevi görmektedir. Ayrıca ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda yer almakta ve çeşitli moleküllerin sentezinde öncü görevi görerek ağır metal konsantrasyonlarının kontrol edilmesinde rol almaktadır. İndirgeyici rolü sebebiyle hücre büyümesi ve bölünmesi, sülfat taşınmasının düzenlenmesi, sinyal transdüksiyonu, metabolitlerin konjugasyonu, enzimatik düzenleme, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezi gibi hücre homeostaziyi korumak için çeşitli biyolojik süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır (Foyer vd., 1997: 244; Foyer vd., 2001: 2). GSH kimyasal olarak O_2^- , OH^- , H_2O_2 ile reaksiyona girebilmekte ve bu nedenle doğrudan serbest radikal süpürücü olarak işlev görebilmektedir (Sharma vd., 2012: 12).

1.3.3.3. Tokoferoller

Tokoferoller (α , β , γ ve δ), oksijensiz radikallerin, lipid peroksi radikallerinin ve 1O_2 'nin atılmasına katılan bir grup lipofilik antioksidanı temsil etmektedir (Sharma vd., 2016: 99). Tokoferoller sadece fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenmekte ve bitkilerin yalnızca yeşil kısımlarında bulunmaktadır. Tokoferollerin, kloroplastlarda O_2 ile fiziksel ve kimyasal olarak reaksiyona girerek lipidleri ve diğer membran bileşenlerinin stabilitesini sağladığı, böylece PSII'nin yapısını ve fonksiyonunu koruduğu bilinmektedir (Ivanov ve Khorobrykh, 2003: 49). α -tokoferol birikimi ile farklı bitki türlerinin soğuk, kuraklık ve tuzluluğa tolerans sağladığı gösterilmiştir (Munné-Bosch vd., 1999: 4; Bafeel ve Ibrahim, 2008: 5).

1.3.3.4. Karotenoidler

Karotenoidler, fotosentez sırasında ışık toplamaya yardımcı pigmentler olarak görev yapmaktadır. Bununla birlikte karotenoidler, lipofilik antioksidanlar grubuna ait olmakla birlikte çeşitli ROS formlarını da detoksifiye edebilmektedirler (Young, 1991: 708).

Karatenoidlerin bir diğeri görevi de bitki gelişimini ve bitkinin biyotik-abiyotik strese karşı tepkilerini etkileyen sinyal moleküllerinin öncüsü olmaktır (Li vd., 2008: 1).

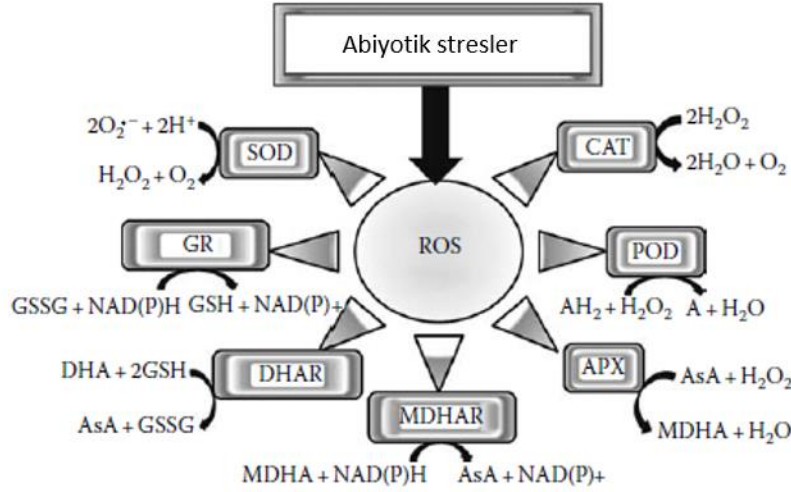
1.3.3.5. Fenolik Bileşikler

Fenolikler, antioksidan özelliklere sahip olan çeşitli ikincil metabolitlerdir (flavonoidler, tanenler, hidrokisinasamat esterler ve lignin). Bitki dokularında bol miktarda bulunurlar (Grace ve Logan, 2000: 10). Polifenoller, antioksidan etkisi dahil olmak üzere biyolojik aktivitelerine katkıda bulunan –OH veya OCH₃'a sahip bir aromatik halka içermektedir. Flavonoidler, antioksidan ve UV-B koruyucu olarak işlev görmektedir. Birçok flavonoidin iyi bilinen antioksidanlardan daha iyi performans gösterdiği bilinmektedir (Hernández vd., 2009: 2).

Ağır metal stresi sırasında, fenolik bileşikler metal şelatörler olarak işlev görebilmektedir. Diğer yandan fenolik bileşiklerin, ROS'ları doğrudan temizleyebilme ve lipit alkoksil radikalini yakalayarak lipit peroksidasyonunu inhibe edebilme gibi görevleri bulunmaktadır. Bununla birlikte membran akışkanlığını da azaltmaktadır (Arora vd., 2000: 103). Fenolikler, özellikle flavonoidler ve fenilopropanoidler, peroksidaz tarafından oksitlenmektedir ve H₂O₂ temizleyici olarak fenolik / AsA / POD sistemine etki etmektedir. Antioksidan etkileri esas olarak kimyasal yapılarından kaynaklanır. Çoklu streslere yanıt olarak bitkilerde fenolik metabolizmanın indüklendiğine dair literatürde bazı kanıtlar bulunmaktadır (Arora vd., 2000: 108; Grace ve Logan, 2000: 1508; Hernández vd., 2009: 1; Michalak, 2006: 3).

1.3.4. Antioksidatif Savunma Sisteminin Enzimatik Bileşenleri

Antioksidatif savunma sisteminin enzimatik bileşenleri arasında, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), guaiakol peroksidaz (GPX), askorbatglutasyon (AsA-GSH) döngüsü enzimleri askorbat peroksidaz (APX), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutasyon redüktaz (GR) sayılmaktadır. Bu enzimler hücrenin farklı bölümlerinde görev yapmaktadır ve hücreler oksidatif strese maruz kaldığında çeşitli reaksiyonları katalize etmektedirler (Şekil 1.8) (Noctor ve Foyer, 1998: 251).



Şekil 1.8. Bitkilerde antioksidatif savunma sisteminde yer alan enzimler tarafından katalize edilen reaksiyonlar

Kaynak: (Sharma et al., 2016: 100)

1.3.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Bitkilerde, kuraklık, yüksek veya düşük sıcaklık, sel, ağır metal fazlalığı ve makro-mikro besin eksikliği gibi çevresel sorunlar genellikle ROS türlerinin artmasına neden olmaktadır (Bela vd., 2017: 113). Süperoksit dismutaz (SOD, 1.15.1.1) tüm aerobik organizmaların oksidatif strese karşı savunma mekanizmasında merkezi bir rol oynar (Scandalios, 1993: 1). SOD, ksantin oksidaz tarafından üretilen oksijensiz radikalleri oksijen ve hidrojen perokside dönüştürmektedir. SOD, serbest radikallere karşı önemli bir hücre içi antioksidan savunma olarak kabul edilmektedir (Stephenie vd., 2020: 3).

SOD, biri α -heliks, diğeri α -heliksler ve β -tabakalardan oluşan iki alt birimden oluşmaktadır (Perry vd., 2010: 246). Literatürde bakır/çinko SOD (Cu/Zn-SOD), manganez SOD (Mn-SOD) ve demir SOD (Fe-SOD) olmak üzere üç tane SOD izozimi olduğunu belirtmişlerdir (Harris vd., 1980: 301). Bu kofaktörler, SOD tarafından toksik ara maddelerin metabolize edilmesinde maksimum bir katalitik aktivite gerçekleştirmek için gereklidir. Metal bağlama bölgesi SOD'un iki bölgesi arasında bulunur ve yan zincirler aspartat, histamin ve histidin içerir (Miller vd., 2010: 275; Perry vd., 2010: 247). Bu kofaktörler, ROS'a elektron verme ve katalitik mekanizma boyunca yenilenme eğilimindedir.

Bitkilerde üç SOD izoformu; kloroplastik ve sitosolik olan Cu/Zn-SOD izoformu; kloroplastik olan Fe-SOD izoformu ve mitokondride bulunan Mn-SOD izoformu olmak üzere hücrenin farklı bölgelerinde bulunmaktadır (Jamdhade vd., 2017: 990; Pilon vd., 2011: 221).

Süperoksit dismutaz, aerobik organizmalarda oksijen radikal aracılı toksisiteye karşı savunmada önemli bir rol oynamaktadır. SOD, oksijensiz radikalleri, aktif bölgesinde bulunan geçiş metali iyonu ile, son derece yüksek bir reaksiyon hızında bir oksidasyon/reduksiyon döngüsü vasıtasıyla temizlemektedir (Bafana vd., 2011: 133).

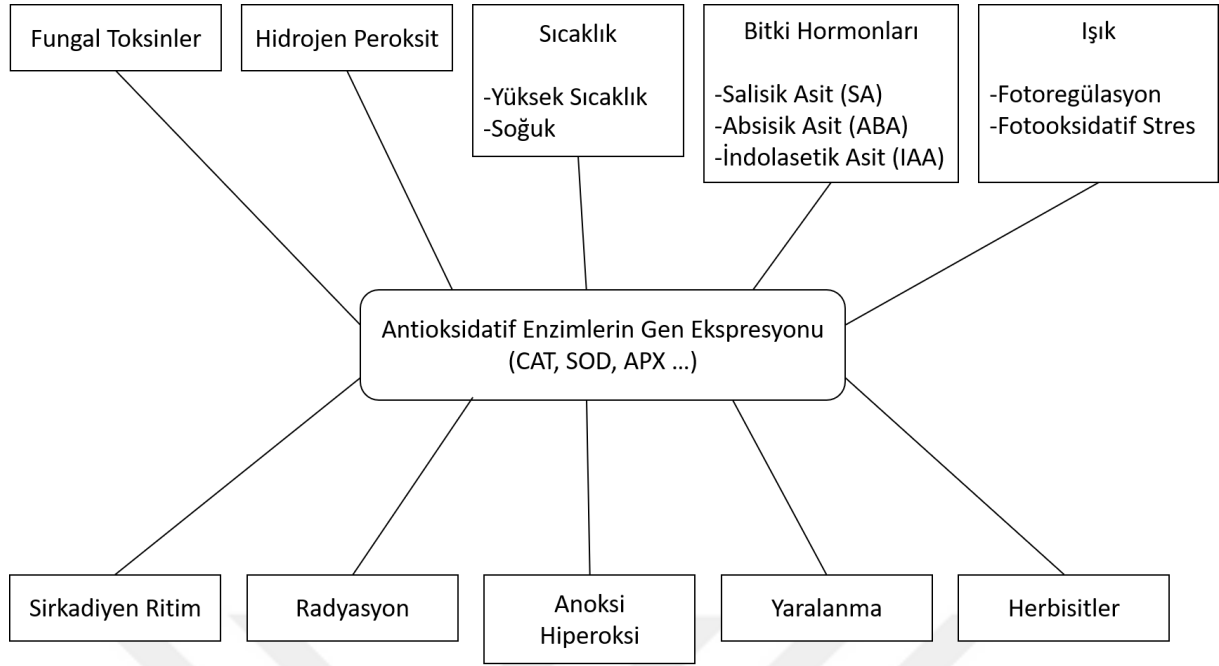
Süperoksit radikali (O_2^-) kararsızdır, bu nedenle çoğu zaman kendiliğinden ayrılmakta ve reaksiyon ortamında bulunabilen geçiş metali iyonları tarafından bozunmaktadır. Bitki materyallerindeki SOD aktivitesini ölçmek için ksantin/ksantin oksidaz (X-XOD), NitroMavi Tetrazolium/Riboflavin (NBT/RF) ve pirogallol otooksidasyon yöntemleri kullanılmaktadır (Janknegt vd., 2007: 219; Li vd., 2012: 80). Bu yöntemler, bir indikatör ile O_2^- arasındaki reaksiyondan kaynaklanan bir ürün üzerinde SOD tarafından inhibisyonu içeren dolaylı yöntemlerdir. Bir enzim aktivitesi birimi genellikle bir indikatör ile O_2^- reaksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. O_2^- , bir bileşiğin otooksidasyonu sırasında enzimatik olarak veya enzimatik olmayan bir şekilde üretilmektedir. Nihai ürün genellikle spektroskopik olarak ölçülebilmektedir (Bannister vd., 1987: 112).

1.3.4.2. Katalaz (CAT)

Katalaz (CAT, 1.11.1.6), tek hücreli prokaryotlardan çok hücreli ökaryotlara kadar tüm canlı varlıklarda bulunan bir antioksidan enzimdir (I. Sharma ve Ahmad, 2014: 131). Enzimatik bir antioksidan olan katalaz, hidrojen peroksidi (H_2O_2) yüksek verimlilikle suya ve oksijene indirgeyerek hücrel oksidatif hasarı önleyen önemli bir role sahiptir (Sharma vd., 2012: 11).

Katalaz baskın bir peroksizomal enzimdir, ancak hücrelerin mitokondri ve sitoplazmasında da bulunmaktadır. Bitkilerde, katalaz mitokondriyal elektron taşınması, yağ asitlerinin oksidasyonu ve en önemlisi fotorespiratuar oksidasyon sırasında normal ve stres koşullarında oluşan H_2O_2 'yi temizlemektedir.

Katalaz, oksijene maruz kalan tüm organizmalarda bulunan bir redoks enzimidir. Enzim, 220.000 ila 350.000 kilodaltonluk (kD) dört özdeş monomer alt birimine sahip tetramerik bir yapıdadır. Katalaz, zamana ve stres çeşidine bağlı olarak ifade edilen çoklu genler (Cat1, Cat2, Cat3) tarafından kodlanan çoklu izoformlar (CAT1, CAT2, CAT3) olarak bulunmaktadır (I. Sharma ve Ahmad, 2014: 132).



Şekil 1.9. Antioksidatif enzimlerin gen ekspresyonunu etkileyen çevresel faktörler
Kaynak: (I. Sharma ve Ahmad, 2014: 141)

Katalazların bitkilerin antioksidan savunma sistemindeki önemi çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (Beulah ve Ramana, 2013: 3; Shim vd., 1999: 39). Willekens ve diğ. (1997) CAT-eksik mutantlarının tuz, ozon, parakuat ve H₂O₂ ile muamele edilmiş yabancı bitkilere kıyasla oksidatif strese daha yatkın olduğunu gözlemlemişlerdir (Willekens vd., 1997: 1). Artan CAT aktivitesi, ortalama metal stresi altında bitkilerin hayatta kalması için çok önemli olmakla birlikte, yüksek metal stresi, katalaz enziminin geri dönüşümsüz hasarına yol açmaktadır (Bočová vd., 2012: 727; P. Sharma vd., 2012: 11; Youssef ve Azooz, 2013: 29).

1.3.4.3. Askorbat Peroksidaz (APX)

Askorbat peroksidaz (APX, EC 1.1.11.1), AsA-GSH döngüsünün merkezi bir bileşenidir ve hücre içi ROS seviyelerinin kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. APX, iki AsA molekülünü kullanarak H₂O₂'yu suya ve iki monodehidroaskorbat (MDHA) molekülüne indirgemektedir.

APX, Sınıf I hem-peroksidaz süper ailesinin bir üyesi olup (Welinder, 1992: 389), redoks sinyalleri ve H₂O₂ (Patterson ve Poulos, 1995: 2) tarafından düzenlenmektedir. Amino asit sekanslarına dayanarak, yüksek bitkilerde farklı hücre altı lokalizasyonlarda kimyasal ve enzimatik olarak farklı beş APX izoenzimi bulunmuştur. Bunlar sitosolik, stromal, tilakoidal,

mitokondriyal ve peroksizomal izoformlardır (Jiménez vd.,1998: 8; Madhusudhan vd., 2003: 1; Sharma ve Dubey, 2004: 549). Organellerde bulunan APX, organellerde üretilen H₂O₂'yi temizlerken, sitosolik APX, sitosol, apoplastta veya organellerden yayılan H₂O₂'yi ortadan kaldırmaktadır (Mittler ve Zilinskas, 1992: 5).

APX kodlayan genlerin ekspresyonu, kuraklık ve tuz stresi, yüksek ışık, yüksek ve düşük sıcaklıklar, patojen atakları, H₂O₂ ve absisik asit gibi çeşitli çevresel uyanlarla düzenlenmektedir. Birçok araştırmacı kuraklık, tuzluluk, soğuk, metal toksisitesi ve UV ışınları gibi abiyotik streslere yanıt olarak APX aktivitesinin arttığını bildirmiştir (Boo ve Jung, 1999: 260; Sharma ve Dubey, 2005: 220, 2007: 10; Hefny ve Abdel-Kade, 2007: 34; Han vd., 2009: 151 ; Maheshwari ve Dubey, 2009: 46). Ayrıca APX genlerinin transkripsiyonel ekspresyonu dokuya ve gelişim aşamasına bağlı olarak da değişmektedir (Caverzan vd., 2012: 5).

1.3.4.4. Guaiakol Peroksidaz (GPX)

Peroksidazlar (POD'lar), mantarlarda, bitkilerde ve omurgalılarda bulunan ve stres koşulları altında H₂O₂'yi H₂O ve O₂'ye dönüştüren geniş bir enzim ailesine aittir (Mika ve Lüthje, 2003: 1). İndirgeyici bir substrat olarak yaygın olarak guaiakol kullanan klasik salgı bitkisi POD'larına guaiakol peroksidaz (GPX) da denmektedir.

Vukaoller, hücre duvarı ve sitozol gibi bitki dokularında lokalize olan GPX'in birçok izoenzimi bulunmaktadır (Asada, 1992: 235). GPX'lerin hücre duvarının lignifikasyonuna, indol asetik asitin (IAA) bozulmasına, etilenin biyosentezine, yara iyileşmesine ve patojenlere karşı savunmaya katıldığı belirtilmiştir (Kobayashi vd., 1996: 159). Çeşitli stres koşullarının GPX'in aktivitesini indüklediği gösterilmiştir (Han vd., 2009: 150; Mishra vd., 2011: 17; Radotić vd., 2000: 112; Shah vd., 2001: 7; Sharma ve Dubey, 2004: 549; Verma ve Dubey, 2003: 653).

1.3.4.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

NAD(P)H'ye bağlı bir enzim olan glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2), GSSG'nin GSH'ye indirgenmesini katalize etmekte ve böylece yüksek hücrel indirgenmiş/yükseltgenmiş glutasyon (GSH/GSSG) oranını korumaktadır. Glutasyon, hücrelerin çoğunda en çok bulunan indirgeyici tiyollerden biridir ve indirgenmiş formunda reaktif oksijen türlerinin hücrel kontrolünde anahtar rol oynamaktadır (Couto vd., 2016: 28). GR, flavoenzim grubuna aittir ve temel bir disülfid grubu içermektedir (Ghisla ve Massey, 1989: 14).

Bazı çalışmalar, diğer antioksidan enzimlerde olduğu gibi biyotik ve abiyotik stresler altında GR aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir (Hernández vd., 2001: 10; Yoshida vd., 2006: 307; Sharma ve Dubey, 2005: 219, 2007: 10; Maheshwari ve Dubey, 2009: 46).

1.3.4.6. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHA/MDHAR)

Askorbik asit (AsA), prokaryotlarda, ökaryotlarda (özellikle bitkilerde) reaktif oksijen türlerini azaltarak redoks homeostazını korumaktadır. Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), bir elektron vericisi olarak NADH veya NADPH'ı kullanarak monodehidroaskorbatın azalmasını katalizleyerek AsA'yı yeniden üretmektedir (Park vd., 2016: 2). Hücre zarı veya tilakoid zarda olduğu gibi hücre içinde de MDHA doğrudan AsA'ya indirgenebilmektedir (Miyake ve Asada, 1994: 547).

Sürekli ışığa/karanlığa maruz kalma, yüksek ışık yoğunluğu, yaralama, düşük ve yüksek sıcaklıklar, fazla kadmiyum ve herbisit uygulaması dahil olmak üzere stres koşullarında yetiştirilen bezelye bitkilerinde farklı hücre bölümlerinde bulunan MDHAR izoformlarının fonksiyonel analizi MDAR aktivitesinde önemli bir artış olduğunu göstermiştir (Leterrier vd., 2005: 10).

1.3.4.7. Dehidroaskorbat Redüktaz (DHA/DHAR)

Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), oksitlenmiş askorbatın (dehidroaskorbat, DHA) glutatyon (GSH) bağımlı azalmasını katalizleyen, askorbatın geri dönüşümüne katılan önemli bir enzimdir. Sonuç olarak, DHAR azaltılmış askorbat havuzunu yeniden oluşturur ve reaktif oksijen türlerini (ROS) detoksifiye eder (Do vd., 2016: 2).

Kuraklık, metal toksisitesi ve soğuk gibi çevresel stresler DHAR'ın bitkilerdeki aktivitesini artırmaktadır (Boo ve Jung, 1999: 260; Hernández vd., 2001: 6; Sharma ve Dubey, 2005: 220, 2007: 9; Yoshida vd., 2006: 306; Maheshwari ve Dubey, 2009: 45)

1.4. Literatür Özeti

Tez konumuzu oluşturan sıcaklık ve bor stresi ile ilgili literatürde yer alan son 20 yıla ait çalışmalardan bazıları bu bölümde özetlenmiştir.

Liu ve Huang'ın (2000) tavus otu ile yaptığı bir çalışmada sıcaklık stresinin yapraklarda klorofil içeriğini düşürdüğünü hem yaprak hem köklerde elektrolit sızıntısını artırdığını belirtmişlerdir. Aynı zamanda lipid peroksidasyon ürünü MDA'yı arttırdığını, SOD ve CAT aktivitesini düşürürken, POD aktivitesini arttırdığı gözlemlenmiştir (Liu ve Huang, 2000:

5). Sairam ve arkadaşları (2000), buğdayla yaptıkları çalışmada sıcaklık stresinin yapraktaki su içeriğini azalttığını, askorbik asit ve H₂O₂ içeriğini, lipid peroksidasyonu, SOD, CAT ve APX enzim aktivitesini artırdığını bildirmişlerdir (Sairam vd., 2000: 240). Lee ve Lee'nin (2000) yapmış olduğu biri diğer çalışmada, soğuk stresi uygulanan salatalık tohumlarında antioksidatif enzimlerden SOD, APX, GR ve GPX aktivitelerinin arttığını, CAT aktivitesinin ise azaldığını tespit etmişlerdir (Lee ve Lee, 2000: 82).

Mashkina ve arkadaşları (2001), yüksek sıcaklık stresi altındaki ayçiçeğinin kloroplastlarındaki SOD, CAT ve POD gibi önemli antioksidatif enzimlerin aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir (Mashkina vd., 2001: 790).

Chaitanya ve arkadaşlarının (2002), üç farklı dut (*Morus alba* L.) çeşidiyle yaptığı çalışmada 120, 240 ve 360 dakika süreyle uygulanan sıcaklık stresinin her üç dut çeşidinde de (K-2, MR-2 ve BC2-59) SOD, CAT, POD, APX ve GR aktivitelerini artırdığı bildirmişlerdir (Chaitanya vd., 2002: 4).

Rivero ve arkadaşlarının (2004), domatesle yaptıkları çalışmada sıcak stresinin sürgün ağırlığını azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca H₂O₂ birikimine sebep olduğu, buna bağlı olarak SOD aktivitesinin arttığı; CAT, GPX, APX, DHAR, GR aktivitelerinin azaldığı ve AsA, DHA, GSSG ve GSH gibi antioksidan seviyelerinin arttığı rapor edilmiştir (Rivero vd., 2004: 563). El-Shintinawy ve arkadaşları (2004) arpadaki antioksidan enzimlerin aktivitelerinde sıcaklıktaki değişimden kaynaklı belirgin ve önemli değişiklikler göstermiştir. SOD ve POD aktivitelerinin, orta ve yüksek sıcaklık derecelerinde aşamalı olarak arttığı, ancak en yüksek sıcaklık uygulamasının (8 saat boyunca 45°C) her iki enzim aktivitesinde bir azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık, CAT aktivitesinin tüm sıcaklık değişimlerinde azaldığı belirtilmiştir (El-Shintinawy vd., 2004: 19). Cruz ve Milach (2004), yaptıkları bir çalışmada soğuk stresinin pirinç tohumlarının çimlenme yüzdesi ve koleoptil uzunluğunu azalttığını göstermişlerdir (Cruz ve Milach, 2004: 1).

Huang ve Guo (2005), yaptıkları çalışmada toleranslı Xiangnuo-1 ve duyarlı IR-50 adlı iki farklı pirinç çeşidi kullanarak soğuk stresinin pirinç üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Xiangnuo-1'de elektrolit sızıntısının ve malondialdehit içeriğinin soğuk stresinden çok az etkilendiği, ancak IR-50 çeşidinde arttığı gözlemlenmiştir. Xiangnuo-1'in SOD, CAT, APX ve GR ve AsA içeriği artarken, IR-50 içeriği düşük sıcaklıklarda azalmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, savunma enzimlerinin yüksek aktivitelerinin ve stres altındaki yüksek antioksidan içeriğinin, soğuk toleransı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Soğuk stresinde SOD,

CAT, APX ve GR'nin yüksek aktiviteleri ve yüksek AsA içeriği, Xiangnuo-1'de soğuga toleransla ilişkilendirilirken, antioksidan enzim aktivitelerinin ve AsA içeriğinin azalması, IR-50'de soğuga duyarlıkla ilişkilendirilmiştir (Huang ve Guo, 2005: 83).

Almeselmani ve arkadaşları (2006), beş farklı buğday genotipi kullanarak yaptıkları çalışmada, buğday genotiplerinden HD-2815 ve HDR-77'nin, yüksek sıcaklık stresi altında PBW-343, PBW-175 ve HD-2865'e kıyasla nispeten daha yüksek SOD, APX, GR, CAT ve POX aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir (Almeselmani vd., 2006: 386). Balla ve arkadaşları (2007), buğdayla yaptıkları bir başka çalışmada ise sıcaklık stresinin APX ve GR aktivitesini arttırdığını gözlemlemişlerdir (Balla vd., 2007: 3).

Amutha ve arkadaşları (2007), ayçiçeği ile yaptıkları çalışmada, yüksek sıcaklık stresinin çözünebilir protein ve prolin miktarını arttırdığını gözlemlemişlerdir (Amutha vd., 2007: 1).

Bafeel ve İbrahim (2008), yaptıkları çalışmada soğuk stresinin yonca yapraklarında H₂O₂ seviyesinde belirgin bir artışa sebep olduğunu, bunun sonucunda ise H₂O₂ birikimine bağlı oksidatif stresin arttığını belirtmişlerdir. Oksidatif stresin artmasıyla birlikte lipid peroksidasyonun ve malondialdehit (MDA) içeriğinin, antioksidatif savunma sistemi bileşenlerinden α -tokoferol seviyesinin ve SOD'un aktivitesinin önemli bir şekilde arttığı; ancak CAT, APX ve GR'nin aktivitelerinin ise diğerlerine göre daha az bir artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir (Bafeel ve İbrahim, 2008: 593). Yong ve arkadaşları (2008), çilek yaprakları ile yaptıkları çalışmada düşük sıcaklığın O₂⁻ üretimi ile H₂O₂ ve MDA içeriğinin arttığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda SOD, CAT, POD ve APX aktivitelerinin belli bir dereceye kadar yavaş bir artış gösterdiğini ve daha sonra azaldığını belirtmiştir (Yong vd., 2008: 461). Fernandez ve arkadaşları (2008), yaptıkları bir çalışmada hem soğuk hem tuzluluk stresi altında olan ayçiçeğinin 80 genini incelemiş, bunlardan 50 tanesinin, her iki stres altında yukarı veya aşağı regüle edildiğini, soğuk ve tuzluluk stresinin ortak düzenleyici mekanizmalar içerdiğini belirtmişlerdir. İlginç bir şekilde, birbirinden bağımsız olduğu tespit edilen soğuk stresinde 15, tuz stresinde ise 12 sekansın spesifik olarak yukarı veya aşağı regüle edildiği belirlenmiştir. Bu genlerin, transkripsiyon, translasyon, protein metabolizması, ROS üretimi veya ROS'ların temizlemesi gibi farklı düzenleyici mekanizmalarda potansiyel olarak görev aldığı belirtilmiştir (Fernandez vd., 2008: 1). Yin ve arkadaşlarının (2008) zambak (*Lilium longiflorum* L.) bitkisiyle yaptığı çalışmada 37°C ve 42°C'ye 10 saat boyunca maruz kalan bitkilerin SOD, POD, CAT, APX ve GR enzim aktivitelerinde ve AsA ile GSH seviyelerinde artış olduğu

gözlenmiştir. Bununla birlikte, 10 saat boyunca 47°C sıcaklığa maruz kalan bitki örneklerinde SOD, APX ve GR aktiviteleri ve GSH konsantrasyonu kontrol grubuna benzerken, POD ve CAT aktivitesi ile AsA konsantrasyonunun kontrole kıyasla önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (Yin vd., 2008: 50). Han ve arkadaşları (2008) narenciye tohumlarıyla yaptıkları bir çalışmada, bor eksikliğinin yapraklardaki CO₂ asimilasyonu ve stoma iletkenliğini azalttığını, ancak hücreler arası CO₂ konsantrasyonunu artırdığını rapor etmişlerdir. Ayrıca bor eksikliği olan yapraklarda kontrol grubuna göre daha yüksek SOD, APX, MDAR ve GR aktivitesi gözlenirken, DHAR ve CAT aktivitelerinin ise daha düşük olduğu gözlenmiştir (Han vd., 2008: 8). Fryer ve arkadaşları (1998) mısırdaki yaptıkları bir çalışmada, Zang ve arkadaşları (2008) ise çilek yapraklarıyla yaptıkları bir başka çalışmada soğuk stresinin APX, MDHAR, DHAR, GR ve SOD enzim aktivitelerini artırdığını bildirmişlerdir (Fryer vd., 1998 : 557; Yong vd., 2008: 461).

Radyuk ve arkadaşları (2009), arpa fideleri ile yaptıkları çalışmada, soğuk stres koşulları altında düşük moleküler ağırlıklı antioksidanların, özellikle indirgenmiş AsA'nın içeriğinin arttığını, stres sona erdikten sonra toplam AsA, GSH ve karotenoidlerin toplam içeriğinin başlangıç seviyesine yakın ama yine de başlangıçtan daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir (Radyuk vd., 2009: 175). Rani ve arkadaşları (2009), hardal otuyla yaptıkları çalışmada sıcaklık stresinin SOD, POD, CAT, APX ve GR aktivitelerini önemli ölçüde artırdığı belirtmişlerdir (Rani vd., 2013: 3).

Li ve arkadaşları (2014), salkım otu ile yaptıkları bir çalışmada, sıcaklık stresinin elektron sızıntısını ve MDA'ı artırdığını tespit etmiştir. Bununla birlikte antioksidan enzimlerden SOD, CAT, POD ve APX aktivitelerinin arttığını gözlemlemişlerdir (Li vd, 2014: 1). Fan ve Ren (2014) bermuda çimiyle yaptıkları çalışmada, soğuk stresinin bermuda çiminin büyüme ve terleme oranını önemli ölçüde düşürdüğünü, malonaldehit ve elektrolit sızıntı değerini artırıp hücre membranını yüksek ölçüde dengesizleştirdiği bildirmiştir. Ayrıca, SOD ve POD aktivitelerinin kontrol grubuna göre yükseldiğini, MnSOD, Cu/ZnSOD, POD ve APX dahil olmak üzere antioksidan enzim genlerinin ekspresyonunun arttığını belirtmişlerdir (Fan vd., 2014: 6).

Sang ve arkadaşları (2015) B toksisitesinin etkilerini araştırmak için biri B toksisitesine dayanıklı biri dayanıksız iki farklı narenciye çeşidinde protein profilleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmak için 2 boyutlu elektroforezi (2-DE) yapmışlardır. Sonuç olarak B-toksisitesinin antioksidasyon ve detoksifikasyon, proteoliz, hücre nakli ile ilişkili protein türlerini artırdığı

ve protein biyosentezinde yer alan protein çeşitlerinin seviyesini azalttığı belirtilmiştir (Sang vd., 2015: 1).

Harsh ve arkadaşlarının (2016), güve fasulyesiyle yaptıkları bir çalışmada, sıcaklık stresinin toplam şeker ve prolin birikimine sebep olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte CAT, GPOX ve SOD enzim aktivitelerinde de artış gözlenmiştir (Harsh vd., 2016: 6).

Kabay ve Şensoy (2017), yüksek sıcaklık stresine toleranslı ve duyarlı olan iki farklı fasulye genotipi ile yaptıkları bir çalışmada, duyarlı genotiplerde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarlarında azalma gözlemlerken, MDA, CAT, SOD ve APX miktarlarında artış gözlemiştir (Kabay ve Şensoy, 2017: 436). Seth ve Aery (2017) buğdayla yaptığı bir çalışmada, yeterli bor uygulamasının yaprakta çözünür protein, toplam fenol, çözünür şeker, prolin içeriği ve POD aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir (Seth ve Aery, 2017: 8).

Bor, bitki tarafından yeterli miktarlarda alındığında bitkinin abiyotik stresleri tolere edebilmesine yardımcı olmaktadır.

Blamey (1997) yaptığı bir çalışmada bor stresine maruz kalan ayçiçeğinde, önce yapraklarında hafif bir kloroz devamında ana damarlar arasında koyu kahverengi benekli nekroz oluştuğunu belirtmiştir (Blamey vd., 1997: 148). Bununla birlikte kuraklık stresi durumunda, bitkilere bor uygulamasının SOD, CAT ve POD gibi antioksidant enzimlerin konsantrasyonunu artırarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) toksisitesini azalttığı bildirilmiştir (Waraich vd., 2011: 771). Tarla bitkilerinde yapılan bir çalışmada ise borun antioksidant enzim aktivitelerini artırarak sıcaklık stresıyla artan ROS hasarını azalttığı bildirilmiştir. Bitkilere uygulanan bor takviyesinin şeker taşınımını artırdığı ve bu sayede tohum çimlenmesine ve tohum oluşumunun iyileşmesine yardımcı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bor uygulamasının karbonhidrat metabolizmasını teşvik ettiği, fotosentez oranını artırdığı; fenolik bileşiklerin ve ROS türlerinin üretimini azaltarak hücre hasarını en aza indirdiği bildirilmiştir (Waraich vd., 2012: 232).

Tavalli ve arkadaşlarının (2018) antep fıstığı ile yaptığı bir çalışmada orta düzeydeki bor konsantrasyonlarının bitkinin tuz stresi ile başa çıkmasında olumlu etkisinin olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, yeterli bor kaynağının, bitki hücrelerinin oksidatif hasarı tolere etme kabiliyetini arttırdığı, plazma membranı ve hücre duvarının yapısal bütünlüğünü korumak için yararlı olduğu bildirilmiştir (Tavallali vd., 2018: 59).

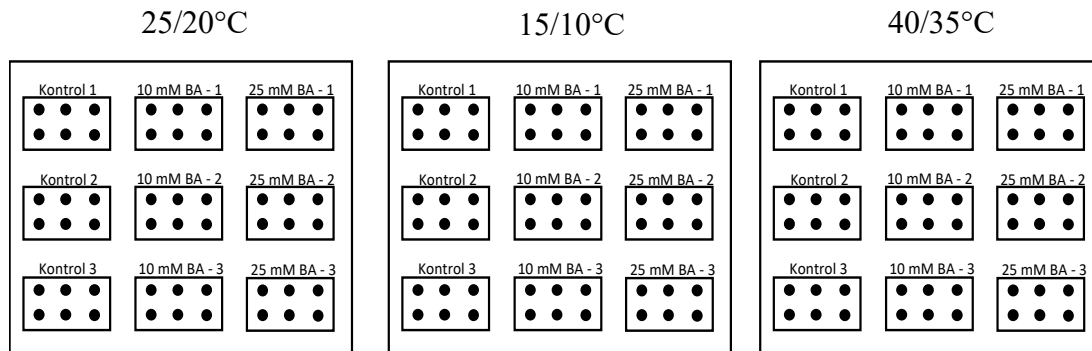
Yukarıda belirtilen güncel literatür bilgileri göz önünde bulundurulduğunda birçok bitkide sadece sıcaklık stresi ve sadece borun bitkiler üzerine etkisi çalışılmıştır. Ancak her iki stres faktörünün kombine etkisinin ayçiçeği bitkisinde oluşturduğu etkileri gösteren herhangi bir literatür bilgisine rastlanmamıştır. Bu sebeple çalışmamızda farklı sıcaklık derecelerinin ve iki farklı bor uygulamasının hem ayrı ayrı hem de sinerjistik etkileri ekofizyolojik ve moleküler düzeyde araştırılmıştır. 15, 25, 40°C’de yetiştirilen ve 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan ayçiçeği bitkisinde MDA, SOD, CAT, APX enzimlerinin enzim aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle tespit edilmiştir. Bu enzimlerin gen ekspresyon seviyelerindeki değişimleri qRT-PCR ile belirlenmiştir. Bir uzun gün bitkisi olan ayçiçeğinde bitkinin belirtilen streslere karşı geliştirdiği adaptasyon yeteneğinde etkili olan enzimlerin gen ekspresyonu seviyeleri ve enzim aktiviteleri belirlenerek bor uygulaması ve sıcaklık değişimlerine bitkinin verdiği yanıtlar ayrı ayrı ve kombine olarak ortaya konmuştur.

2. MATERYAL METOD

2.1. Bitki Örneklerinin Yetiştirilmesi, Sıcaklık ve Borik Asit Uygulamaları

Bu çalışmada Türkiye’de en çok kullanılan ayçiçeği tohum çeşidi olan Sy-Suzuka deney materyali olarak kullanılmıştır. Tohumlar Ziya Organik Tarım İşletmeleri Anonim Şirketi’nden temin edilmiştir.

Tohumlar, sterilizasyon için %10’luk NaClO (Tekkim) içerisinde 5 dakika bekletilmiş, daha sonra 3 kez distile sudan geçirilmiştir. 2,7 litrelik (L) saksılar eşit seviyeye kadar torf ile doldurulmuştur. Her saksıya 6 adet ayçiçeği (SY Suzuka) tohumu ekilmiş ve her bir uygulama için (kontrol, 10 mM borik asit (BA)(Merck), 25 mM BA) 3 tekrarlı olacak şekilde tohumlar ekilmiştir. Tohumlar kotiledonlar çıkana kadar (5 gün) sadece saf su ile sulanmış, daha sonra gün aşırı olarak kontrol grubu için 150 ml saf su, bor uygulaması için ise ilk deney grubu 150 ml 10 mM ve ikinci deney grubu 150 ml 25 mM olmak üzere 2 farklı borik asit çözeltisi ile sulanmıştır. Her bir sıcaklık için kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit uygulamasını kapsayan toplam 9 saksı kullanılmıştır (Şekil 2.1). Ekimi yapılan tohumlar iklim odasında (Dıgitech) 16/8 saatlik fotoperiyotta %60 nemde sırası ile 15/10 (düşük sıcaklık), 25/20 (optimum sıcaklık) ve 40/35°C’de (yüksek sıcaklık) yetiştirilmiştir. Yetiştirilen fideler hem 5. uygulamadan (sulama) sonra hem de 10. uygulamadan (sulama) toplanmıştır.



Şekil 2.1. 15/10, 25/20 ve 40/35°C’de yetiştirilen bitkilere ait deneylerin şematik gösterimi (Noktalar tohumları, dikkörtgenler ise saksıları göstermektedir.)



Şekil 2.2. 15/10, 25/20 ve 40/35°C’de yetiştirilen bitkilerin saksı görüntüleri

2.2. Bitkilerin Ekolojik Ölçümlerinin Belirlenmesi

Deney sonunda elde edilen fideler (10. uygulamadan sonra) saksılarda çıkarılarak topraklarından temizlenmiştir. Fidelerden kök-gövde uzunlukları (cm) ve kök-gövdeye ait yaş-kuru ağırlıkları (g) belirlenmiştir. Yaş ağırlıkları alınan kök ve sürgünler 70°C’ye ayarlı etüvde 72 saat tutularak kurutulmuş daha sonra kuru ağırlıkları tartılarak kaydedilmiştir. Fidelerden bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm) cetvel ile, kök ve gövdeye ait yaş-kuru ağırlıklar ise hassas terazi kullanılarak ölçülmüştür (Sulus ve Leblebici, 2020: 2). Örneklerin kök ve gövde biyokütleleri ile borik asit tolerans indeksi hesaplanmıştır.

2.3. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi için Yaprak ve Köklerden Protein Ekstraksiyonu

Hem 5. hem de 10. uygulamadan sonra toplanan bitkilere ait taze yaprak ve kök örnekleri 10-15 saniye sıvı azot içinde bekletilmiş daha sonra deneylerde kullanılana kadar -80°C’de saklanmıştır. Daha sonra bitki örnekleri çıkarılıp yapraklar ve kökler sıvı azotla havanda toz haline gelene kadar homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örneklerden 0,1 g

tartılarak üzerine 1 ml ekstraksiyon tamponu (50 mM K₂HPO₄ (Carlo Erba), 50 mM KH₂PO₄ (Carlo Erba), %1 PVP (Biomatik), 1mM EDTA (VWR Chemicals)) eklenmiştir. Bu karışım vorteksle (Isolab) 15 sn boyunca iyice karıştırılmış ve sonra 20000 g'de 20 dk +4°C'de santrifüj (Beckman Coulter) edilmiştir. Oluşan süpernatant ependorfa alınıp -80°C'ye (Thermo Scientific) kaldırılmıştır. Kök örnekleri için de aynı protokol uygulanmıştır.

APX aktivitesini ölçmek için ekstraksiyon tamponundaki diğer kimyasallara ek olarak 5 mM askorbik asit (Tekkim) eklenmiştir (Tepe ve Aydemir, 2011: 3).

2.4. Lipid Peroksidasyonun belirlenmesi

Bitkilerde lipit peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) içeriği olarak ifade edilmektedir. Bitkiden alınan 0.5 g yaprak örneği 10 ml % 0.1'lik trikloroasetik asit (TCA) (Bio Basic) ile homojenize edildikten sonra homojenat 15000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneğin berrak kısmından 1 ml alınıp, üzerine 4 ml %20'lik TCA içerisinde çözülmüş % 0.5'lik tiyobarbitürik asit (TBA) (Carlo Erba) katılmıştır. Karışım 95°C'de 30 dakika bekletildikten sonra hızla buz banyosunda soğutulup 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılmış daha sonra berrak kısımdan alınıp spektrofotometrede (Thermo Scientific) 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbansı ölçülmüştür. Daha sonra bu absorbanslar ve aşağıdaki formül kullanılarak malondialdehit (MDA) içeriği belirlenmiştir (Kabay ve Şensoy, 2017: 431).

$$\text{MDA (nmol ml}^{-1}\text{)} = [(A_{532}-A_{600})/155\ 000] 10^6$$

2.5. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.5.1. 2.5.1. Toplam Protein içeriğinin belirlenmesi

Enzim aktiviteleri hesaplanırken protein miktarları kullanıldığı için elde edilen tüm yaprak ve kök ekstraktların protein içerikleri belirlenmiştir. Yaprak ve kök örneklerinin protein konsantrasyonları belirlenirken Bradford metodu (Bradford, 1976: 249) ve sığır serum albümini (BSA) standart olarak kullanılmıştır. Protein içeriği belirlenirken 780 µl dH₂O üzerine 20 µl enzim çözeltisi konulmuştur. Bu karışımın üzerine 200 µl 5X Bradford (Serva) çözeltisi eklenmiş ve vortekste karıştırılmıştır. Bu karışım karanlıkta ve oda sıcaklığında 5 dk boyunca bekletilmiş, daha sonra absorbans değerleri spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda üç tekrarlı olarak okunmuştur. Standart grafiği için 0,1 mg/ml BSA (Sigma) stoğu kullanılmıştır. BSA stoğundan 0,1,2,3,4,5,6,7,8,9 ve 10 µg protein alınıp absorbans değerleri belirlenmiştir. Standartların absorbans değerleri kullanılarak bir grafik çizilmiştir.

Grafikten elde edilen formül ($y = 0,042x + 0,033$) kullanılarak konsantrasyonu bilinmeyen örneklerin konsantrasyonları hesaplanmıştır.

2.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit anyonunu (O_2^-) hidrojen peroksit ve moleküler oksijene parçalayan önemli bir enzimdir. SOD aktivitesi belirlenirken, SOD tayin kiti kullanılmıştır (19160 SOD Determination Kit, Sigma-Aldrich). SOD belirleme kiti yüksek çözünürlüklü tetrazolyum tuzu WST-1'in süperoksit anyonunu indirgeyerek suda çözünür bir formazan boyası üretmesi esasına dayanır. O_2 ile indirgenme oranı doğrusal olarak ksantin oksidaz (XO) aktivitesi ile ilişkilidir ve SOD tarafından inhibe edilir. Bu sayede SOD aktivitesi IC_{50} (%50 inhibisyon aktivitesi) kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. SOD aktivitesi belirlenirken kör ve izole edilen protein örnekleri 3 tekrarlı olacak şekilde aşağıdaki tabloya göre 96'lık plakaya hazırlanmıştır (Tablo 2.1). Daha sonra 96'lık plaka $37^\circ C$ 'de 20 dakika inkübe edilmiş ve absorbans değerleri 450 nm'de mikropilaya okuyucu (Thermo Scientific) kullanılarak belirlenmiştir.

SOD aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{SOD Aktivitesi (\%50 inhibisyon)} = \left\{ \frac{[(A_{\text{Blank 1}} - A_{\text{Blank 3}}) - (A_{\text{Sample}} - A_{\text{Blank 2}})]}{(A_{\text{Blank 1}} - A_{\text{Blank 3}})} \right\} \times 100$$

Tablo 2.1. Protein örneklerini ve körleri hazırlamak için kullanılacak solüsyonlar ve miktarları

	Protein Örneği	Kör 1	Kör 2	Kör 3
Protein Örneği	20 μl		20 μl	
Ultrasaf H_2O		20 μl		20 μl
WST Çalışma Solüsyonu	200 μl	200 μl	200 μl	200 μl
Enzim Çalışma Solüsyonu	20 μl	20 μl		
Dilüsyon Tamponu			20 μl	20 μl

WST Çalışma Solüsyonu: 1 ml WST + 19 ml tampon solüsyonu

Enzim Çalışma Solüsyonu: 15 μl enzim solüsyonu + 2.5 ml dilüsyon tamponu

2.5.3. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi

CAT aktivitesi, hidrojen peroksitin katalaz enzimi ile su ve oksijene parçalanması sonucu absorbanstaki değişimin spektrofotometrede izlenmesi ile belirlenmiştir. 20 µl protein özütü üzerine 1 ml CAT reaksiyon tamponu (50 mM K₂HPO₄, 50 mM KH₂PO₄ ve 30 mM H₂O₂ (Carlo Erba)) eklenmiş ve pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Kör olarak protein özütü içermeyen reaksiyon tamponu kullanılmış ve örneklerin köre karşı 240 nm dalga boyunda 3 dk boyunca 15 sn aralıklarla kinetik ölçümü alınarak absorbanlarındaki değişim kaydedilmiştir (Tepe ve Aydemir, 2011: 3).

Toplam CAT aktivitesi belirlenirken aşağıda verilen denklem kullanılmıştır.

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

ϵ : Ekstinksiyon katsayısı (40 mmol/L.cm)

V_{toplaml} : Toplam hacim (1,020 ml)

V_{enzim} : Reaksiyona konulan enzim hacmi (0.02 ml)

t: Reaksiyonun gerçekleştiği süre (3 dk)

l: Küvete ait ışık yolu (1 cm)

TP: Total protein miktarı (mg/ml)

2.5.4. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi

Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi belirlenirken 20 µl protein özütü üzerine 1 ml APX reaksiyon tamponu (50 mM K₂HPO₄, 50 mM KH₂PO₄, 250 µM askorbik asit ve 5 mM H₂O₂) eklenmiş ve pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Spektrofotometrede enzim özütü içermeyen APX reaksiyon tamponu kör olarak kullanılmış, örnekler 290 nm dalga boyunda köre karşı 3 dk boyunca 15 sn aralıklarla kinetik ölçümü alınmış ve absorbanstaki azalma değerleri kaydedilmiştir. Toplam APX aktivitesi U/µg protein olarak hesaplanmıştır (Cervilla vd., 2007: 750).

Toplam APX aktivitesi belirlenirken aşağıda verilen denklem kullanılmıştır.

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

ϵ : Ekstinksiyon katsayısı (2,8 mmol/L.cm)

V_{toplaml} : Toplam hacim (1,020 ml)

V_{enzim} : Reaksiyona konulan enzim hacmi (0.02 ml)

t: Reaksiyonun gerçekleştiği süre (3 dk)

l: Küvete ait ışık yolu (1 cm)

TP: Total protein miktarı (mg/ml)

2.6. Antioksidan Enzimlere Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi

2.6.1. Total RNA izolasyonu

Total RNA izolasyonu için Macherey-Nagel Toplam DNA, RNA ve protein izolasyon kiti kullanılmıştır (Macherey-Nagel, MN). Eş zamanlı olarak farklı sıcaklık ve farklı borik konsantrasyonları uygulanan bitki örnekleri -80°C 'den çıkarılıp steril havanlara alınmıştır ve sıvı azotla toz halini alıncaya kadar parçalanmıştır. Kitin kullanım kılavuzunda belirtildiği gibi parçalanmış 100 mg bitki örneği üzerine 350 μl RP1 ve 3,5 μl β -merkaptoetanol eklenerek vorteks yapılmıştır. Karışım NucleoSpin filtreye (pembe) alınmış ve 1 dakika 11000 g'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra filtre atılarak toplama tüpünde toplanan sıvı üzerine 350 μl %70 etanol eklenmiş ve pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. Elde edilen karışım NucleoSpin TriPrep Column'a alınmış ve 30 sn 11000 g'de santrifüj edilmiştir. Filtrede kalan DNA parçalarından kurtulmak için filtre üzerine 95 μl rDNase reaksiyon karışımından eklenmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda filtre üzerine 200 μl RA2 tamponundan eklenerek 30 sn 11000 g'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra 600 μl RA3 eklenerek tekrar 30 sn 11000 g'de santrifüj edilmiştir. Son olarak 250 μl RA3 eklenerek 2 dakika 11000 g'de santrifüj edilmiştir. Filtrenin üzerine 60 μl RNase-olmayan H_2O eklenmiş, 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve 1 dakika 11000 g'de santrifüj edilerek RNA elde edilmiştir. Elde edilen RNA'lar daha sonra kullanılmak üzere -80°C 'de saklanmıştır.

2.6.2. Total RNA miktarının belirlenmesi

İzole edilen RNA örneklerinden 5 μl alınarak %1'lik 100 ml agaroz jelde 135V'da 40 dk yürütülmüştür. Jelde parlak iki bant olarak görünen örnekler cDNA sentezi için seçilmiş, çok silik ve sürüntü halinde görünen örnekler için RNA izolasyonu tekrarlanmıştır.

2.6.3. cDNA Sentezi

İzole edilen RNA örnekleri cDNA sentez kiti (NucleoGene RNA to cDNA Mix (5X), Nucleogene) kullanılarak cDNA'ya çevrilmiştir. Her bir örnekten bant parlaklığına göre 5 ya da 10 μl RNA alınmış, üzerine kitin kullanım kılavuzunda belirtildiği gibi Nucleogene RNA'dan cDNA karışımından (5X) (toplam hacimde 1X olacak şekilde) 4 μl , enzim

karışımından (20X) (toplam hacimde 1X olacak şekilde) 1 µl alınmış ve son olarak toplam hacim 20 µl olacak şekilde dH₂O eklenmiştir. Daha sonra örnekler 5 dk 25°C’de, 30 dakika 42°C’de, 5 dk 85°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon bittikten sonra örnekler kantitatif gerçek zamanlı PZR’da kullanılmak üzere -20°C’ye kaldırılmıştır.

2.6.4. Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için primer tasarımı

Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) deneyleri için her gene özel primerler tasarlanmıştır ve primer listesi aşağıda verilmiştir (Tablo 2.2). Primerler tasarlanırken G-C oranına ve dimerleşme yapmamalarına dikkat edilmiştir. Liyofilize gelen primerler 15 sn 10000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Her primere üzerinde yazan miktar kadar nükleaz-serbest dH₂O eklenmiş, pipetaj yaparak karıştırılmış ve 100 µM’lık stok solüsyonları hazırlanmıştır. Daha sonra bu stok solüsyonlardan 10 µM’lık çalışma solüsyonları hazırlanmış ve ikisi de daha sonra kullanılmak üzere -20°C’ye kaldırılmıştır.

Tablo 2.2. Kullanılan primerlerin dizileri

Primerin Adı	Dizisi (5' – 3')	T _m
SOD-Mn (F)	5'-CTGGAAAGAATCTTGCCCCTACTCGT -3'	65
SOD-MN (R)	5'- CAACCAATTTTTCCATAGAACCAAAAT G -3'	59
SOD-Fe (F)	5'- TAATGGCGTCTGTCACCACA -3'	57
SOD-Fe (R)	5'- TGTGCAGCATTGTTGAAGGC -3'	57
SOD-Cu/Zn (F)	5'- ACACAATCTTTGCAGGGGTGTTCTGAGA -3'	65
SOD-Cu/Zn (R)	5'- TGCAGTACCATCT TCGCCTACTGTGACA -3'	67
CAT (F)	5'- CTTCCCGCTTGAATGTGAAG -3'	64
CAT (R)	5'- CCGATTACATAAACCCATCATC -3'	60
APX (F)	5'- TGGCGATGCCTATTGTAGAC -3'	57
APX (R)	5'- TCCTCGCAAAAATCGATAGC -3'	55
Aktin (F)	5'- AGGGCGGTCTTTCCAAGTAT -3'	64
Aktin (R)	5'- ACATACATGGCGGGAACATT -3'	63

2.6.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı PZR

Elde edilen cDNA'lar kantitatif gerçek zamanlı PZR için kalıp olarak kullanılmıştır. Kantitatif gerçek zamanlı PZR Biorad SsoFast EvaGreen Supermix kiti kullanılarak yapılmıştır. Bileşenler kitin kullanım kılavuzunda belirtildiği şekilde ilave edilmiş ve PZR, PZR cihazında (Agilent) gerçekleştirilmiştir. PZR reaksiyonu her bir cDNA örneği için, SOD-Mn, SOD-Fe, SOD-Cu/Zn, CAT, APX enzim genleri hem de normalizör gen olan Aktin geni primerleri kullanılarak 3'er tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.3. qPZR bileşenleri ve eklenen miktarlar

Bileşenler	Miktar
cDNA kalıp	1 µl
Primer F	0,5 µl
Primer R	0,5 µl
DEPC'li su	3 µl
Biorad SsoFast EvaGreen Supermix	5 µl
Total Hacim	10 µl

Tablo 2.4. qPZR sıcaklık döngüsü

95°C	5 dk
95°C	30 sn
60°C	60 sn

2.7. İstatiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

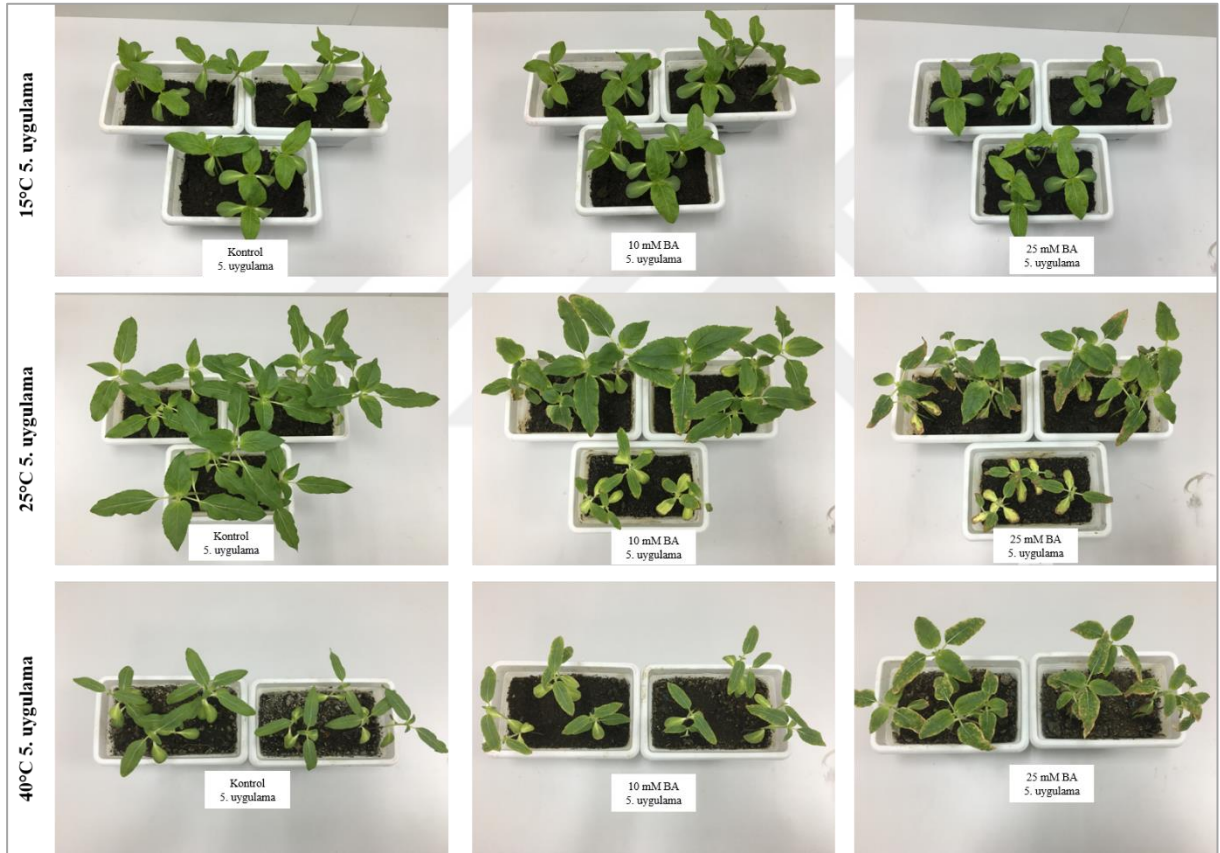
Kontrol grupları ve farklı sıcaklık ve farklı borik asit konsantrasyonlarına maruz kalan deney gruplarıyla yapılan her çalışma en az 3 bağımsız ve 3 bağımlı tekrarla yapılmıştır. İstatiksel analizler için Graphpad programında iki yönlü varyans analizi (Two-Way ANOVA) kullanılarak p değeri hesaplanmıştır. Önemli değerler “*” işareti ile gösterilmiştir.

3. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

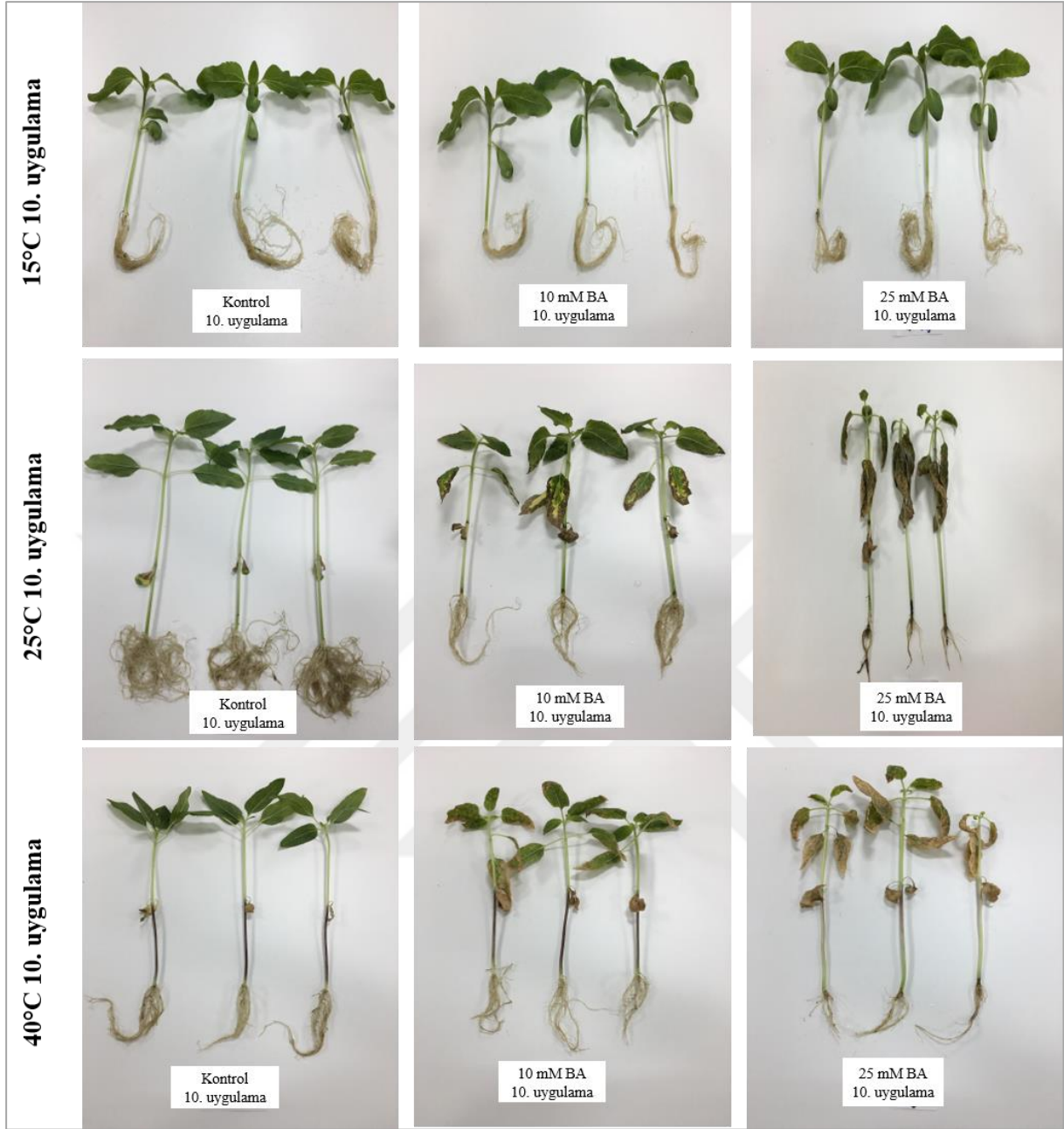
3.1. Sonuçlar

3.1.1. Bitkilerin Ekolojik Ölçümlerinin Belirlenmesi

Üç farklı sıcaklık ve iki farklı borik asit konsantrasyonunda yetiştirilen bitkilerden 5 ve 10. uygulamadan sonra kök ve yaprak örnekleri toplanarak bazı ekolojik parametreler belirlenmiştir. 25 ve 40°C’de yetiştirilen örneklerin 5 ve 10. uygulamalarında 10 ve 25 mM borik asit konsantrasyonunun yapraklarda kloroza ve devamında kurumaya, köklerde ise gelişim problemlerine sebep olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1, Şekil 3.2).



Şekil 3.1. 15, 25 ve 40°C’de yetiştirilen bitkilere ait 5. uygulamadaki saksı görüntüleri

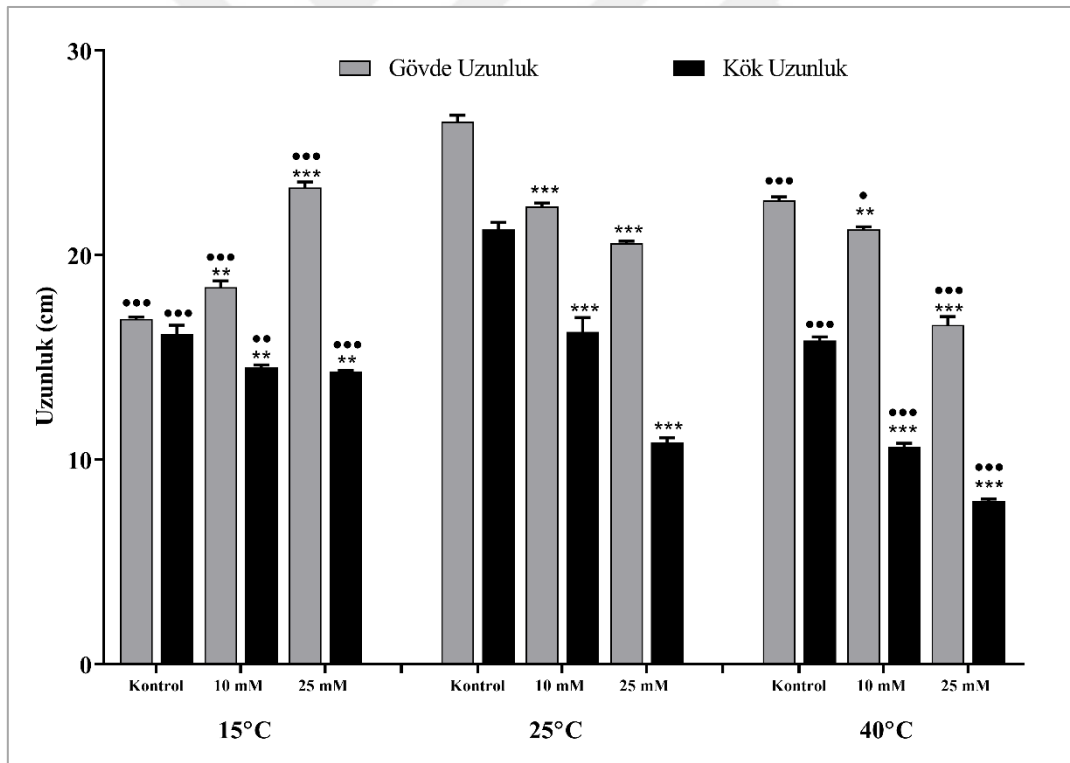


Şekil 3.2. 15, 25 ve 40°C’de yetiştirilen örneklere ait 10. uygulamadaki bitki görüntüleri

İki farklı konsantrasyonda borik asit uygulanan bitkiler karşılaştırıldığında, 25°C’de yetişen bitkilerin hem gövde hem kök uzunluğunda kontrole göre önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir. 15°C’de yetişen bitkilerde artan borik asit konsantrasyonu ile bitkinin gövde uzunluğunu düzenli olarak önemli derecede artarken, kök uzunluğunu ise düzenli olarak önemli derecede azaldığı belirlenmiştir. 40°C’de yetişen bitkilerde ise artan borik asit konsantrasyonunun 25°C’deki örneklerde olduğu gibi hem gövde hem kök uzunluğunu düzenli olarak önemli derecede azalttığı görülmüştür.

15°C ve 40°C sıcaklıkta yetişen bitkilerin kontrol gruplarına ait gövde ve kök uzunluklarının, 25°C’de yetişen bitkilere göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. 10 mM borik asit uygulanan bitkilerin gövde ve kök uzunluklarının da kontrole benzer şekilde 15°C ve 40°C’de 25°C’ye göre önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. 25 mM borik asit uygulanan ve 40°C’de yetiştirilen bitkilerin gövde ve kök uzunluklarının ise 25°C’de yetiştirilen bitkilere göre düzenli olarak azaldığı belirlenmiştir. 25 mM borik asit uygulanan ve 15°C’de yetiştirilen bitkilerin gövde ve kök uzunluklarının 40°C’de yetişen bitkilerin aksine kontrol sıcaklığı olan 25°C göre arttığı tespit edilmiştir.

Farklı borik asit konsantrasyonları uygulanan ve farklı sıcaklıklarda yetiştirilen tüm bitkiler karşılaştırıldığında en uzun gövde (26,52 cm) ve kök uzunluğu (25,25 cm) 25°C’de yetişen kontrol grubunda gözlenirken en kısa gövde (16,59 cm) ve kök uzunluğu (7,97 cm) ise 40°C’de yetişen 25 mM borik asit uygulanan bitki grubunda gözlenmiştir (Grafik 3.1).



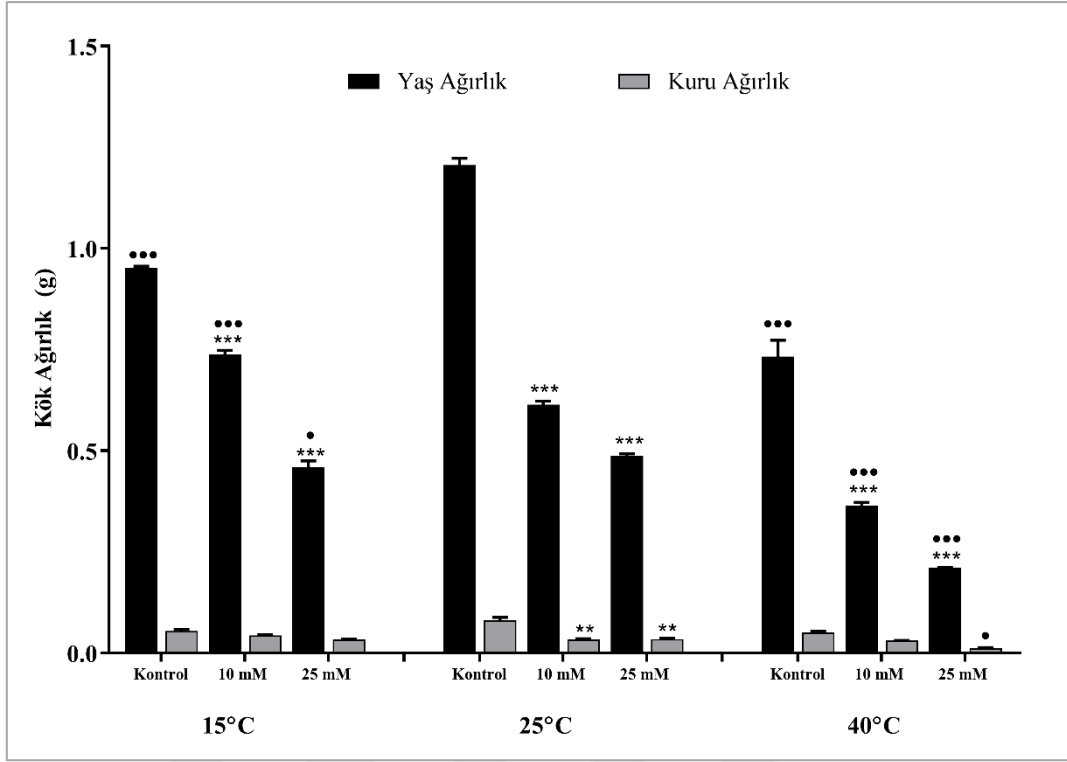
Grafik 3.1. Ayçiçeği bitkisine ait kök ve gövde uzunluğu

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

İki farklı borik asit konsantrasyonunda yetişen bitkilerin kök örneklerine ait yaş ve kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında, 25°C’de artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kök yaş ve kuru ağırlığında önemli ölçüde bir azalma tespit edilmiştir. 15°C’de yetişen bitkilerde artan borik asit konsantrasyonu ile kök yaş ağırlığı önemli ölçüde azalırken, kök kuru ağırlığında önemli bir değişiklik bulunmamıştır. 40°C’de yetiştirilen bitkilerde ise artan borik asit konsantrasyonunun kök yaş ağırlığında önemli ölçüde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. 40°C’de yetiştirilen bitkilerin 10 mM borik asit konsantrasyonunda kök kuru ağırlığında kontrole göre önemli bir azalma görülmezken, 25 mM borik asit konsantrasyonundaki azalmanın önemli olduğu tespit edilmiştir.

Bitki örneklerine ait kontrol gruplarının kök yaş ağırlıkları birbirleriyle karşılaştırıldığında 15°C ve 40°C’de yetiştirilen bitkilerin (sırasıyla 0,95 g, 0,73 g) 25°C’de (1,206 g) yetişen bitkilere göre yaş ağırlıklarında önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Kontrol gruplarının kök kuru ağırlıklarındaki önemli bir azalma bulunmamıştır. 15°C’de yetişen 10 mM borik asit uygulanan bitkilerin kök yaş ağırlığı (0,73 g) 25°C’de yetişenlere (0,61 g) göre önemli ölçüde artmıştır. 15°C ve 25°C’de 10 mM borik asit konsantrasyonunda yetişen bitkilerin kök kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında ise kuru ağırlıklarında önemli bir azalma bulunmamıştır. 40°C’de yetişen 10 mM borik asit uygulanan bitkilerin kök yaş ağırlığı (0,36 g) 25°C’de yetişenlere (0,61 g) göre önemli ölçüde azalırken, kök kuru ağırlığında önemli bir azalma görülmemiştir. 25 mM borik asit konsantrasyonunda hem 15°C’de (0,45 g) hem de 40°C’de (0,21 g) yetişen bitkilerin kök yaş ağırlığında 25°C’ye (0,48 g) göre önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Kök kuru ağırlıklarında ise 15°C’de 25°C’ye göre önemli ölçüde bir azalma görülmezken, 40°C’de 25°C’ye göre önemli ölçüde azalma belirlenmiştir.

Farklı borik asit konsantrasyonları uygulanan ve farklı sıcaklıklarda yetiştirilen tüm bitkiler karşılaştırıldığında en yüksek kök yaş (1,206 g) ve kuru ağırlığı (0,080 g) 25°C’de yetişen kontrol grubunda gözlenirken en düşük kök yaş (0,21 g) ve kuru ağırlığı (0,012 g) ise 40°C’de yetişen 25 mM borik asit uygulanan bitki örneklerinde gözlenmiştir (Grafik 3.2).



Grafik 3.2. Ayçiçeği bitkisine ait kök yaş kuru ağırlıkları

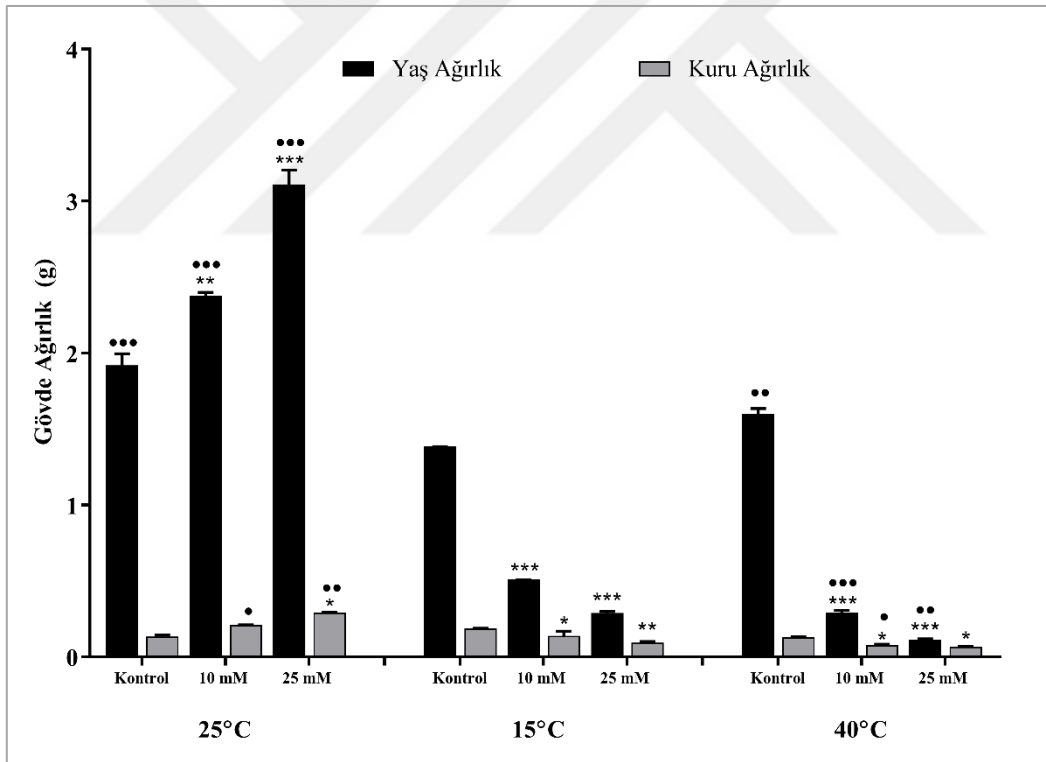
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı sıcaklık ve iki farklı borik asit konsantrasyonlarında yetişen bitkilerin gövde yaş ve kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında 25°C’de artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak gövde yaş ve kuru ağırlığında düzenli olarak önemli ölçüde bir azalma gözlenmiştir. 15°C’de yetişen bitkilerin gövdelerinin yaş ağırlıklarının artan borik asit konsantrasyonu ile önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Kuru ağırlıklarındaki artışın ise 10 mM borik asit konsantrasyonunda önemli olmadığı fakat 25 mM borik asit konsantrasyonunda önemli olduğu belirlenmiştir. 40°C’de yetişen bitkilerin gövde yaş ve kuru ağırlığının artan borik asit konsantrasyonu ile önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir.

Farklı sıcaklıklarda yetişen bitkilerin kontrol gruplarının gövde yaş ağırlıkları birbirleriyle karşılaştırıldığında 15°C (1,91 g) ve 40°C’de (1,59 g) yetiştirilen bitkilerin 25°C’de (1,38 g) yetişen bitkilere göre yaş ağırlıklarında önemli ölçüde artış tespit edilmiştir. Kontrol gruplarının gövde kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında ise 15°C ve 40°C’de yetişen bitkilerin gövde kuru ağırlığındaki azalmanın 25°C’de yetişen bitkilere göre önemli olmadığı belirlenmiştir. 10 mM borik asit konsantrasyonu karşılaştırıldığında 15°C’de yetişen bitkilerin gövde hem yaş (2,37 g) hem kuru (0,20 g) ağırlıklarının 25°C’de yetişen bitkilerin gövde yaş

(0,50 g) ve kuru (0,13 g) ağırlıklarına göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. 40°C’de yetişen bitkilerin 10 mM borik asit konsantrasyonu 25°C’de yetişen bitkilerin 10 mM borik asit konsantrasyonu ile karşılaştırıldığında ise gövde hem yaş (0,29 g) hem kuru (0,076 g) ağırlığının 25°C’de yetişen bitkilere göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. 25 mM borik asit konsantrasyonunun da ise 15°C’de yetişen bitkilerin gövde yaş (3,107 g) ve kuru (0,29 g) ağırlıklarının 25°C’de yetişen bitkilerin yaş (0,28 g) ve kuru (0,092 g) ağırlıklarına göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Aynı borik asit konsantrasyonunda 40°C’de yetişen bitkilerin 25°C’de yetişen bitkilere göre gövde yaş (0,11 g) ağırlığında önemli bir azalma görülürken, kuru ağırlığında önemli bir azalma bulunmamıştır.

Sıcaklık ve borik asit uygulanan tüm bitkiler karşılaştırıldığında ise en fazla gövde yaş (3,107 g) ve kuru ağırlığı (0,29 g) 15°C’de yetişen 25 mM borik asit uygulanan bitki grubunda gözlenirken en düşük gövde yaş (0,11 g) ve kuru ağırlığı (0,067 g) ise 40°C’de yetişen 25 mM borik asit uygulanan bitki grubunda gözlenmiştir (Grafik 3.3).



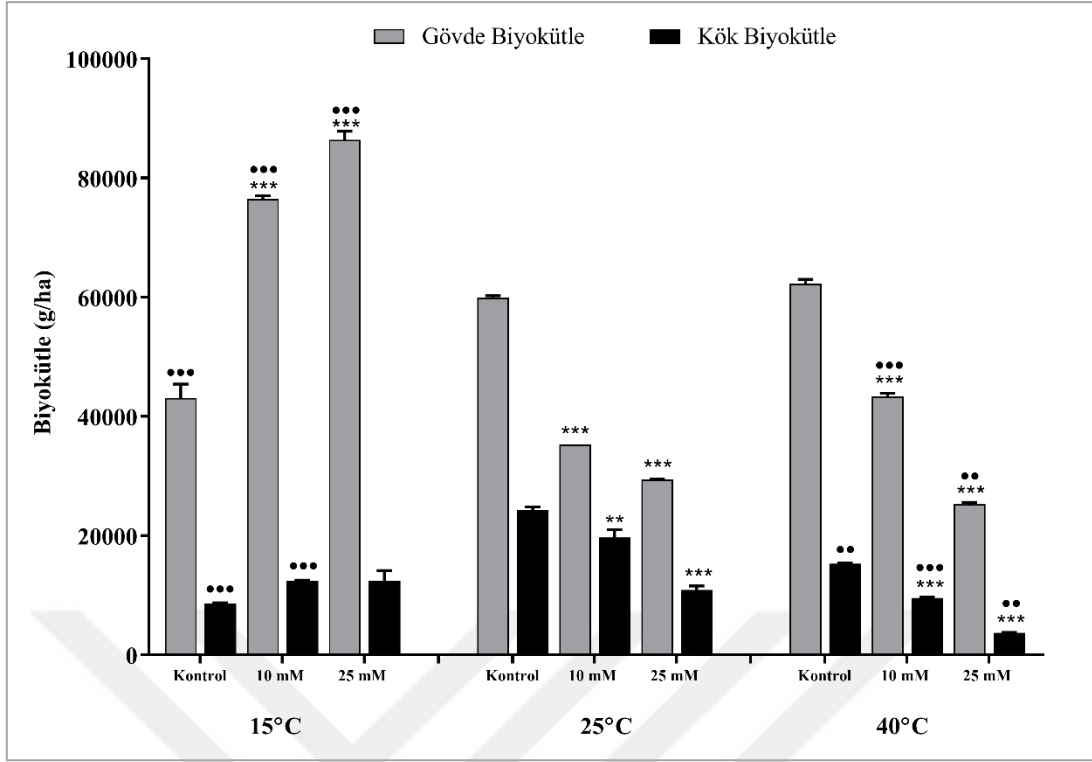
Grafik 3.3. Ayçiçeği bitkisine ait gövde yaş kuru ağırlıkları

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Bitki örneklerinin gövde ve kök biyokütleleri karşılaştırıldığında 25°C’de artan borik asit konsantrasyonlarında gövde ve kök biyokütlesinde düzenli olarak önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. 15°C’de yetişen bitkilerde ise artan borik asit konsantrasyonu gövde biyokütlesini önemli olarak artırmıştır. Fakat kök biyokütlesinde önemli bir artış bulunmamıştır. 40°C’de yetişen bitkilerde ise artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre hem gövde hem kök biyokütlesinde önemli olarak azalma tespit edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda yetişen bitkilerin kontrol gruplarına ait gövde ve kök biyokütleleri birbirleriyle karşılaştırıldığında 15°C’de yetiştirilen bitkilerin 25°C’de yetiştirilen bitkilere göre gövde ve kök biyokütlelerinde önemli ölçüde azalma olduğu tespit edilmiştir. 40°C’deki kontrol gruplarının gövde biyokütlelerindeki azalmanın 25°C’de yetiştirilen bitkilere göre önemli olmadığı gözlemlenirken, kök biyokütlelerindeki azalmanın önemli olduğu belirlenmiştir. 15°C’de yetişen, 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerin gövde biyokütlesi 25°C’de yetişen bitkilerle karşılaştırıldığında her iki borik asit konsantrasyonunda da önemli ölçüde artış gösterdiğini tespit edilmiştir. Kök biyokütleleri karşılaştırıldığında sadece 10 mM borik asit konsantrasyonundaki azalmanın 25°C’dekine göre önemli olduğu saptanmıştır. 40°C’de yetişen bitkilerin gövde ve kök biyokütlesi 25°C’dekilerle karşılaştırıldığında ise hem 10 mM hem 25 mM BA konsantrasyonlarında önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

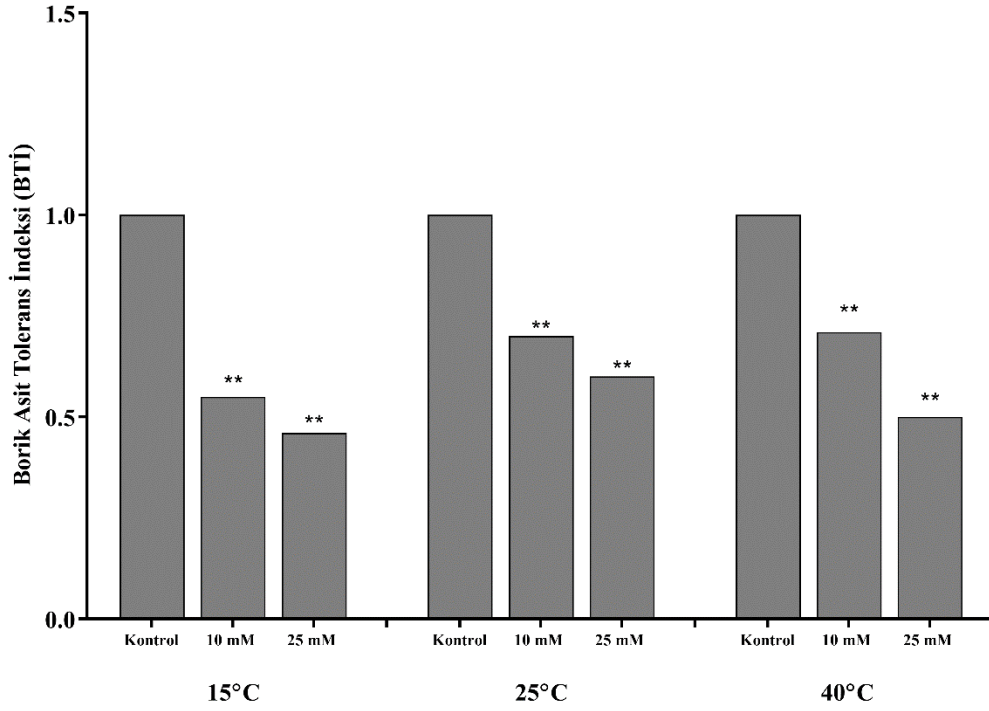
Farklı borik asit konsantrasyonları uygulanan ve farklı sıcaklıklarda yetiştirilen tüm bitkiler karşılaştırıldığında en yüksek gövde (86420 g/ha) biyokütlesi 15°C’de yetişen 25 mM borik asit uygulanan bitki grubunda, en yüksek kök biyokütlesi (24261 g/ha) ise 25°C’de yetişen kontrol grubunda gözlenirken, en düşük gövde (25254 g/ha) ve kök (3706 g/ha) biyokütlesi ise 40°C’de yetişen 25 mM borik asit uygulanan bitki grubunda gözlenmiştir (Grafik 3.4).



Grafik 3.4. Ayçiçeği bitkisine ait gövde ve kök biyokütlesi üzerine etkisi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Bitki örneklerinin borik asit tolerans indeksi (BTİ) karşılaştırıldığında her üç sıcaklıkta artan borik asit konsantrasyonunun bor tolerans indeksinin kontrole göre azaldığı gözlenmiştir. En yüksek bor tolerans indeksi (0,71) 40°C 10 mM borik asit konsantrasyonunda, en düşük bor tolerans indeksi (0,46) ise 15°C 25 mM borik asit konsantrasyonunda tespit edilmiştir (Grafik 3.5).



Grafik 3.5. Ayçiçeği bitkisine ait borik asit tolerans indeksleri
 (* sıcaklıklar kendi içlerinde, * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$)

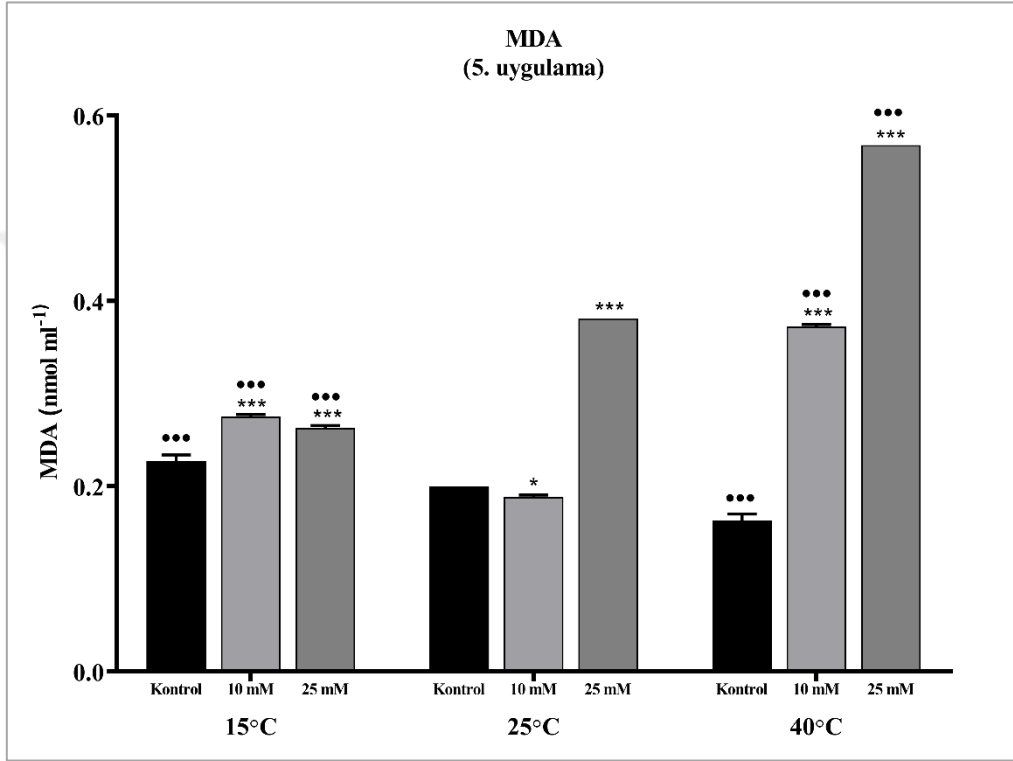
3.1.2. Lipid Peroksidasyonun Belirlenmesi

Beşinci borik asit uygulamasının sonunda toplanan bitkilerde 25°C’de 10 mM borik asit uygulanan bitki grubunun lipid peroksidasyonunda kontrole göre önemli bir azalma gözlenirken, 25 mM borik asit uygulanan bitki grubunda kontrole göre önemli ölçüde bir artış gözlenmiştir. 15°C ve 40°C’de yetiştirilen bitkilerin lipid peroksidasyonunda ise 10 ve 25 mM borik asit uygulanan bitki gruplarında kontrole göre artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak önemli ölçüde bir artış tespit edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda yetişen bitkilerin kontrol grupları karşılaştırıldığında, 15°C’de yetişen bitkilerin MDA içeriği 25°C’de yetişen bitkilere göre önemli ölçüde artarken, 40°C’de yetişen bitkilerin MDA içeriği ise önemli ölçüde azalmıştır. 10 mM borik asit konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise 15°C’de ve 40°C’de yetişen bitkilerin MDA içeriğinin 25°C’dekine göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Farklı sıcaklıklarda yetişen bitkilerin 25 mM borik asit konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise 15°C’de yetişen bitkilerin MDA içeriğinin 25°C’de

yetişen bitkiye göre önemli ölçüde azaldığı, 40°C'deki bitkilerin ise MDA içeriğinin 25°C'dekilere göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında en yüksek MDA içeriğine (0,56 nmol ml⁻¹) 40°C 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken en düşük MDA içeriğine (0,163 nmol ml⁻¹) ise 40°C kontrol bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.6).



Grafik 3.6. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulamasının MDA içeriği

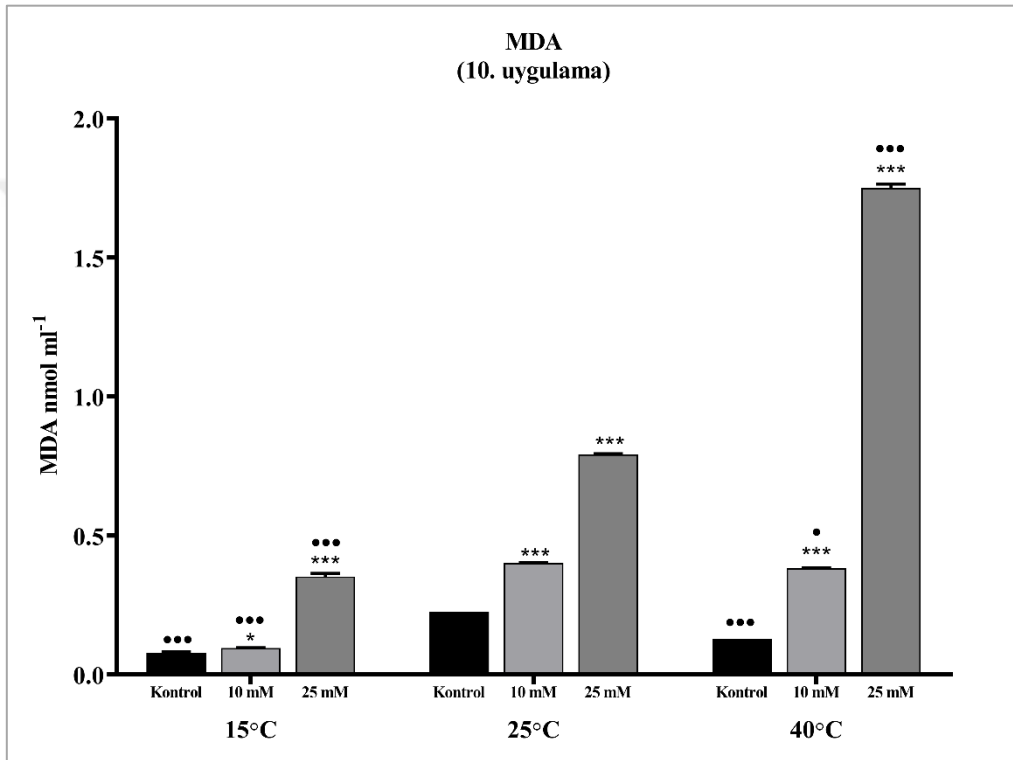
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Onuncu uygulamanın sonunda toplanan bitkilerde ise 25°C'de hem 10 mM BA hem de 25 mM BA uygulamasında lipid peroksidasyonunda kontrole göre düzenli olarak önemli bir şekilde arttığı gözlenmiştir. 15°C'de ve 40°C'de yetişen bitkilerde de aynı şekilde kontrol grupları ile karşılaştırıldığında 10 ve 25 mM borik asit konsantrasyonu uygulanan bitki gruplarının MDA içeriğinin düzenli olarak önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda yetişen bitkilerin kontrol ve 10 mM borik asit uygulanan bitki grupları karşılaştırıldığında 15°C ve 40°C'de yetişen bitkilerin MDA seviyesinin 25°C'de yetişen bitkilere göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. 25 mM borik asit uygulanan bitki

grupları karşılaştırıldığında ise 15°C’de yetişen bitkilerin MDA seviyesi 25°C’dekine göre önemli ölçüde azalırken, 40°C’de yetişen bitkilerin MDA seviyesi ise 25°C’dekine göre önemli ölçüde artmıştır.

Tüm deney gruplarındaki bitki örnekleri karşılaştırıldığında en yüksek MDA seviyesine (1,75 nmol ml⁻¹) 40°C’de 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük MDA seviyesine (0,079 nmol ml⁻¹) ise 15°C kontrol bitki grubunda tespit edilmiştir (Grafik 3.7).



Grafik 3.7. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulamasının MDA içeriği

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

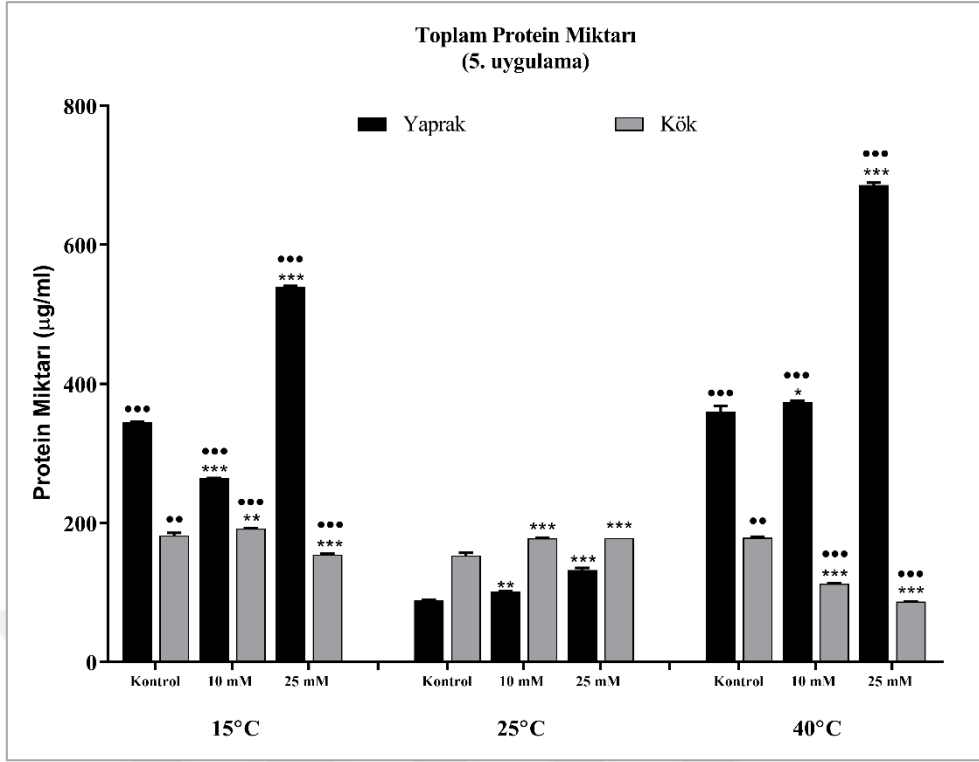
3.1.3. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.1.3.1. Toplam protein içeriğinin belirlenmesi

Üç farklı sıcaklıkta yetişen bitkilerin 5. uygulamadaki kök ve yapraklarının toplam protein miktarı karşılaştırıldığında 25°C'deki örneklere ait yaprak ve köklerinin protein miktarının artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 15°C'de 10 mM borik asit konsantrasyonunda kontrole göre yaprakta protein miktarı önemli ölçüde azalırken, kökte ise önemli ölçüde artmıştır. 25 mM borik asit konsantrasyonunda ise kontrole göre yapraktaki protein miktarı önemli ölçüde artarken, kökteki protein miktarı ise azalmıştır. 40°C'de diğer örneklerden bağımsız olarak hem 10 mM hem de 25 mM borik asit konsantrasyonunda kontrole göre yapraktaki toplam protein miktarında artış görülürken, köklerde ise her iki konsantrasyonda da kontrole göre toplam protein miktarında önemli ölçüde azalma görülmüştür.

Farklı sıcaklıklarda yetişen bitkilerin kontrol grupları karşılaştırıldığında 15°C'de ve 40°C'deki kontrol gruplarına ait kök ve yaprakların toplam protein miktarı 25°C'de yetişen kontrol gruplarına göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. 15°C ve 40°C'deki 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklere ait yaprakların toplam protein miktarı, 25°C'ye göre önemli ölçüde artmıştır. 15°C'de 10 mM borik asit uygulanan örneklere ait kök toplam protein miktarı 25°C'ye göre önemli ölçüde artarken, 40°C'deki örneklerin önemli ölçüde azalmıştır. 25 mM borik asit uygulanan örneklerin kök toplam protein miktarı ise 15°C'de ve 40°C'de, 25°C'ye göre önemli ölçüde bir azalma göstermiştir.

Yetiştirilen tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında en yüksek toplam protein miktarına yaprakta (685,71 µg/ml) 40°C'de 25 mM borik asit uygulanan bitki grubunda rastlanırken, kökte (191,71 µg/ml) 15°C'de 10 mM BA konsantrasyonunda rastlanmıştır. En düşük toplam protein miktarına ise yaprakta (88,80 µg/ml) 25°C'de kontrol bitki grubunda rastlanırken, kökte (86,79 µg/ml) 40°C'de 25 mM borik asit konsantrasyonunda rastlanmıştır (Grafik 3.8).



Grafik 3.8. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulamasının toplam protein miktarı

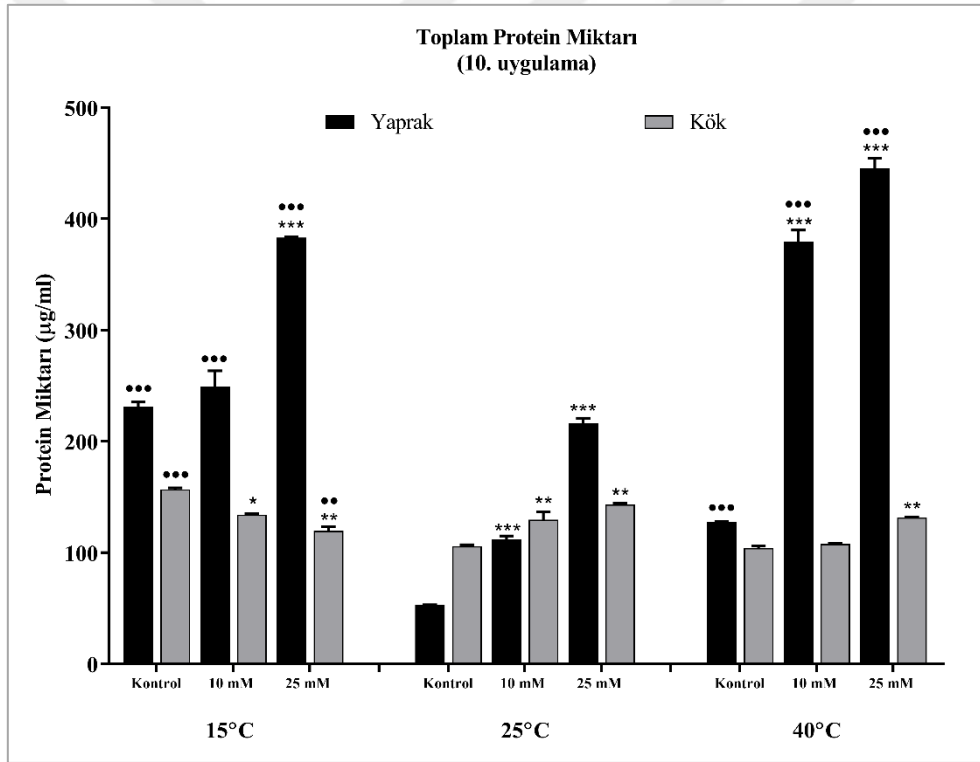
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Üç farklı sıcaklıkta yetişen bitkilerin 10. Uygulamalarına ait kök ve yapraklarının toplam protein miktarı karşılaştırıldığında 25°C'deki bitkilerin yaprak ve köklerinin artan borik asit konsantrasyonu ile birlikte önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 15°C'deki bitkilerin yaprak örneklerinde sadece 25 mM borik asit konsantrasyonunda kontrole göre toplam protein miktarında önemli ölçüde artarken, köklerinde ise hem 10 mM hem de 25 mM'da kontrole göre önemli ölçüde azalma olduğu belirlenmiştir. 40°C'de yetiştirilen örneklerin yapraklarında 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonundaki toplam protein miktarında önemli ölçüde artış gözlenirken, köklerdeki toplam protein miktarında ise sadece 25 mM borik asit konsantrasyonunda önemli bir artış gözlenmiştir.

25°C, 15°C ve 40°C'de yetiştirilen bitkilerin kontrol grupları karşılaştırıldığında; 15°C'de yetişen bitkilerin yaprak ve köklerindeki toplam protein miktarı 25°C'deki örneklere göre artarken, 40°C'de yetiştirilen bitkilerin sadece yapraklarındaki total protein miktarı 25°C'dekilere göre önemli ölçüde azalma göstermiştir. 10 mM borik asit konsantrasyonları karşılaştırıldığında 15 ve 40°C'de yetiştirilen bitkilerin yapraklarındaki toplam protein miktarının, 25°C'deki örneklere göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 25 mM borik asit

konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise 15°C'deki yaprak örneklerinin total protein miktarının 25°C'deki bitkilerin yapraklarına göre arttığı, ancak köklerdeki toplam protein miktarının 25°C'deki bitkilerin köklerine göre azaldığı belirlenmiştir. 40°C'de yetiştirilen ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerin ise sadece yapraklara ait toplam protein miktarının 25°C'de 25 mM borik asit uygulanan bitkilerin yapraklarına göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

Yetiştirilen tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında en yüksek toplam protein miktarına yaprakta (445,32 µg/ml) 40°C'de 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, kökte (156,90 µg/ml) 15°C'de kontrol grubunda rastlanmıştır. En düşük toplam protein miktarına ise yaprakta (53,04 µg/ml) 25°C'de kontrol grubunda rastlanırken, kökte (104,05 µg/ml) 40°C'de kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.9).



Grafik 3.9. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulamasının toplam protein miktarı

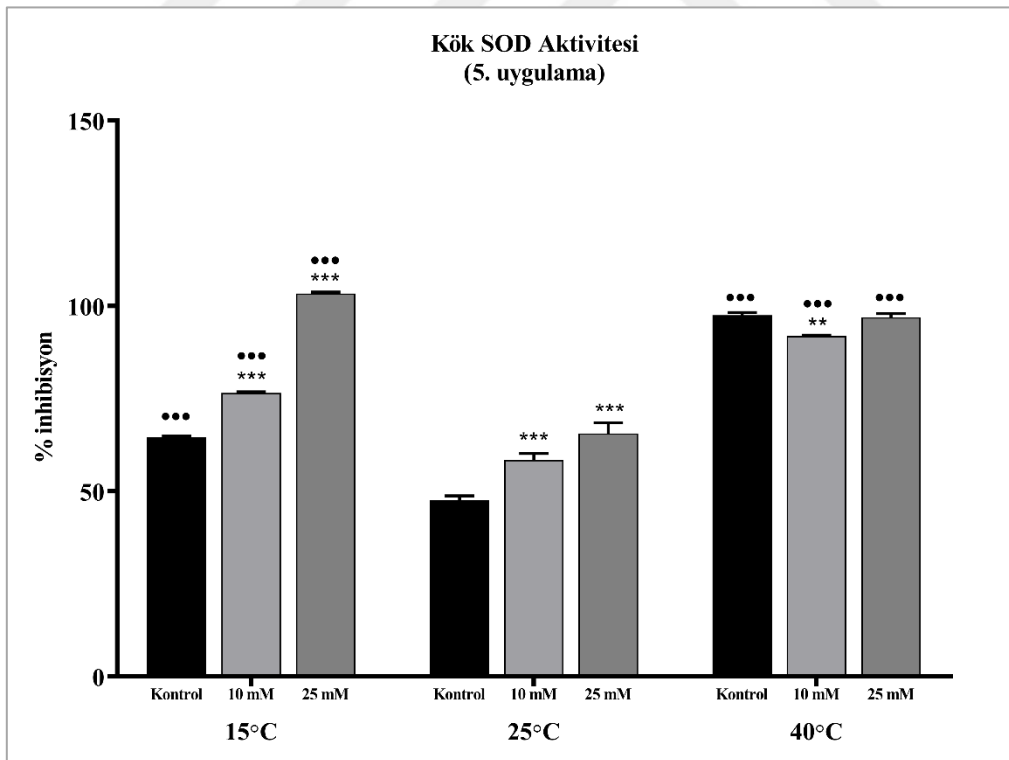
(* sıcaklıklar kendi içlerinde; • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

3.1.3.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi

Üç farklı sıcaklıkta yetişen bitki örneklerinin 5. uygulamasındaki köklerde toplam SOD aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C ve 15°C’de yetiştirilen bitkilerin borik asit konsantrasyonu arttıkça SOD aktivitesinin de kontrole göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 40°C’de yetiştirilen bitkilerde ise SOD aktivitesi 10 mM borik asit konsantrasyonunda kontrole göre önemli ölçüde azalırken, 25 mM borik asit konsantrasyonunda ise kontrole göre önemli bir değişiklik belirlenmemiştir.

Farklı sıcaklıklarda yetişen bitkilerin kontrol grupları karşılaştırıldığında, 15°C ve 40°C’de kontrol gruplarının köklerindeki SOD aktivitesinin 25°C kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Kontrol gruplarına benzer şekilde, 15°C ve 40°C’de yetiştirilen, 10 ve 25 mM borik asit uygulanan bitkilerinin köklerindeki SOD aktivitesinin 25°C’ye göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında en yüksek SOD aktivitesine (%103,33) 15°C’de 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük SOD aktivitesine (%47,56) ise 25°C’de kontrol bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.10).



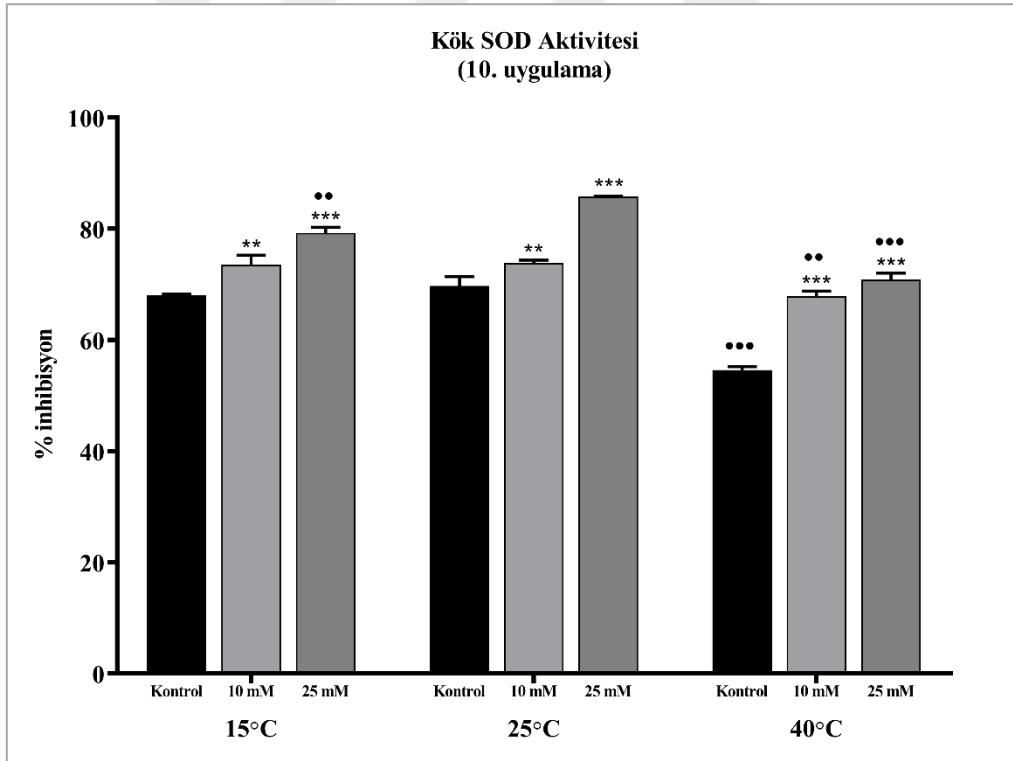
Grafik 3.10. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki SOD aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, • p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı sıcaklık dereceleri ve farklı borik asit konsantrasyonlarının kombine uygulanmasıyla yetiştirilen 10. uygulamadaki örneklerde ait köklerdeki toplam SOD aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C, 15°C ve 40°C’de artan borik asit konsantrasyonuna paralel olarak SOD aktivitesinin kontrole göre düzenli bir şekilde önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Kontrol grupları ve 10 mM borik asit uygulanan bitki grupları kendi içinde karşılaştırıldığında sadece 40°C’de yetiştirilen gruplara ait kök SOD aktivitesi 25°C’ye göre önemli ölçüde azalmıştır. Bununla birlikte 25 mM borik asit uygulanan bitki grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında ise 15°C ve 40°C’de yetiştirilen örneklerin kök SOD aktivitesinin 25°C’ye göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir.

Yetiştirilen tüm bitkiler karşılaştırıldığında en yüksek SOD aktivitesine (%85,79) 25°C’de 25 mM borik asit uygulanan örneklerde rastlanırken, en düşük SOD aktivitesine (%54,58) ise 40°C’de kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.12).



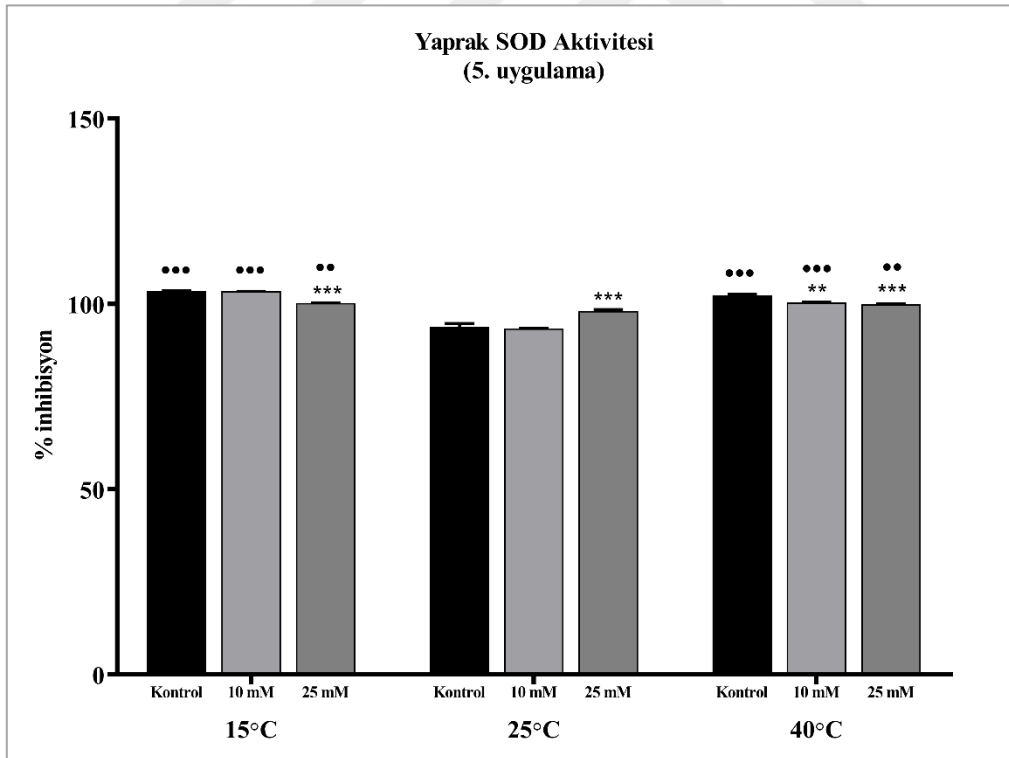
Grafik 3.11. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki SOD aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı sıcaklıklarda ve borik asit konsantrasyonlarında yetişen bitkilerin 5. uygulamalarının yapraklarındaki toplam SOD aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C’de sadece 25 mM borik asit konsantrasyonundaki SOD aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 15°C’de sadece 25 mM borik asit konsantrasyonunda yetişen bitkinin yapraklarında SOD aktivitesi kontrole göre azalmıştır. 40°C’de ise diğerlerinden bağımsız olarak hem 10 mM hem de 25 mM borik asit konsantrasyonunda yetişen bitkilerin yapraklarında SOD aktivitesi düzenli olarak artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak önemli ölçüde azalmıştır.

Kontrol grupları karşılaştırıldığında 15°C ve 40°C’de yetiştirilen bitkilerin yapraklarının SOD aktivitesinin 25°C’de yetişen bitkilerin kontrol gruplarına göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonu uygulanan bitki grupları karşılaştırıldığında 15°C ve 40°C’de yetiştirilen bitkilerin yapraklarının SOD aktivitesinin 25°C’de yetiştirilen bitkilere göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

Tüm bitki grupları karşılaştırıldığında en yüksek SOD aktivitesine (%103,4) 15°C’de 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük SOD aktivitesine (%93,36) ise 25°C’de 10 mM borik asit bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.11).



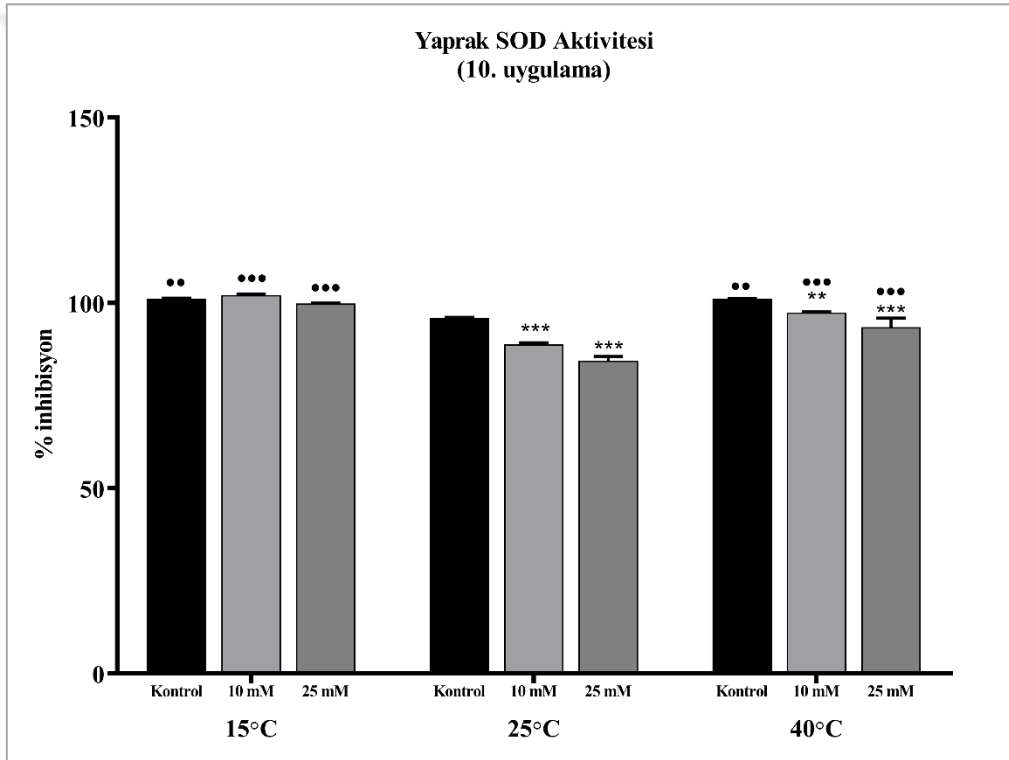
Grafik 3.12. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki SOD aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı sıcaklık dereceleri ve farklı borik asit konsantrasyonlarının kombine uygulanmasıyla yetiştirilen bitki örneklerinin 10. uygulamalarına ait yapraklarındaki toplam SOD aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C ve 40°C’de artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır.

Kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 15°C ve 40°C’deki bitkilerin SOD aktivitesinin 25°C’dekilere göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

Tüm bitki grupları karşılaştırıldığında ise en yüksek SOD aktivitesine (%102,15) 15°C’de 10 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük SOD aktivitesine (%84,42) ise 25°C’de 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.13).



Grafik 3.13. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki SOD aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

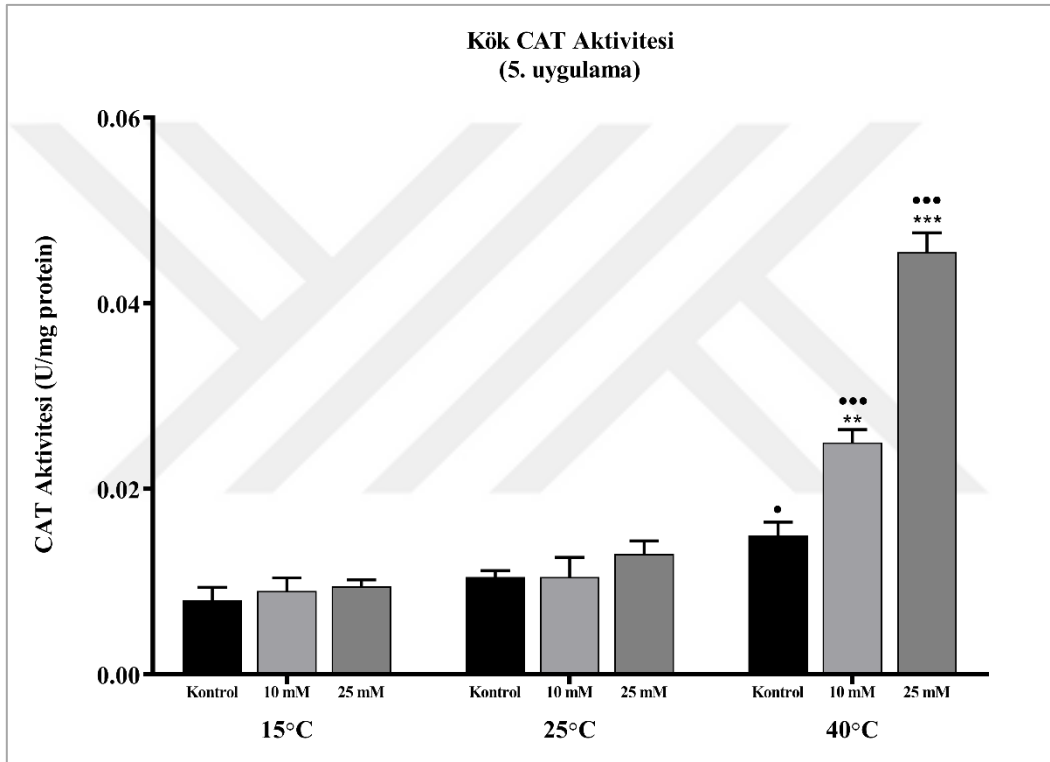
3.1.3.3. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi

Farklı sıcaklıklarda ve borik asit konsantrasyonlarında yetiştirilen bitkilerin 5. uygulamalarının köklerindeki toplam CAT aktivitesi karşılaştırıldığında sadece 40°C’de

yetişen bitkilerin CAT aktivitesinin artan borik asit konsantrasyonuyla birlikte düzenli olarak önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit bitki grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında sadece 40°C’de yetişen bitkilerin tüm deney gruplarının kök CAT aktivitesi 25°C’de yetişenlere göre önemli oranda artmıştır.

Yetiştirilen tüm bitkiler karşılaştırıldığında en yüksek CAT aktivitesine (0,045 U/mg) 40°C’de 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük CAT aktivitesine (0,008 U/mg) ise 15°C’de kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.14).



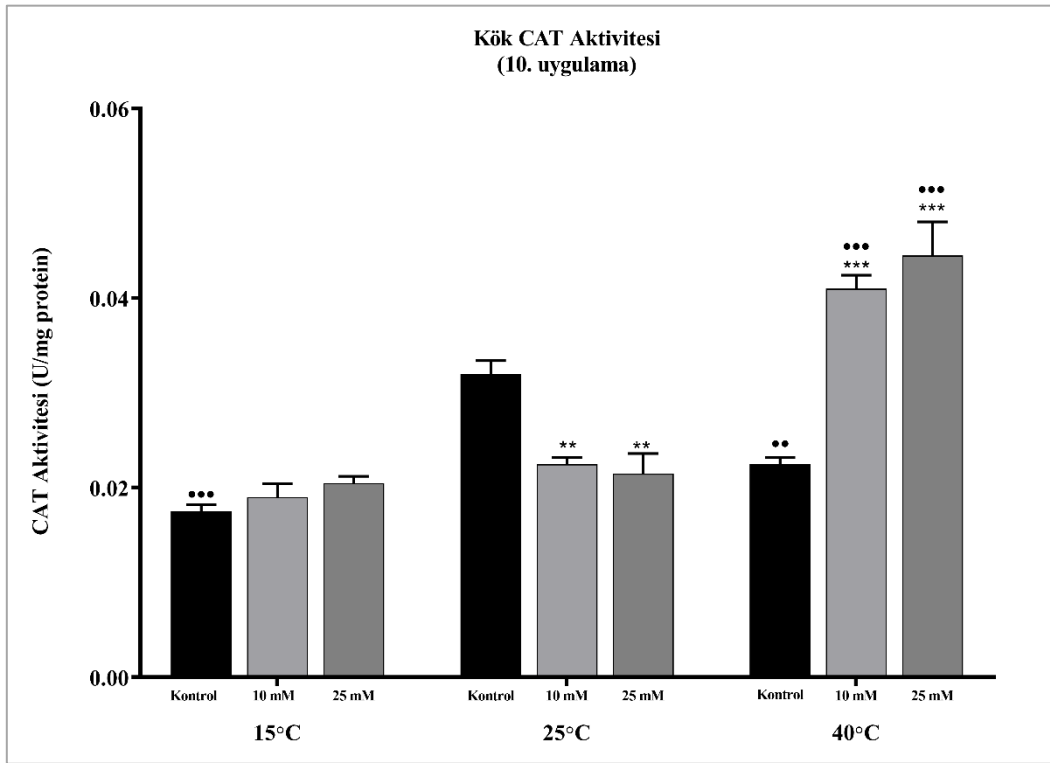
Grafik 3.14. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki CAT aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde; • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı sıcaklık dereceleri ve farklı borik asit konsantrasyonlarının kombine uygulanmasıyla yetiştirilen örneklerin 10. uygulamasına ait kök toplam CAT aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C’deki örneklerde artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak CAT aktivitesinin kontrole göre düzenli olarak önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. 40°C’deki örneklerin ise 25°C’dekinden farklı olarak CAT aktivitesinin artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

Kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında, 15 ve 40°C'deki kontrol gruplarının CAT aktivitesi 25°C'deki örneklerin kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır. 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının CAT aktivitesinin ise sadece 40°C'deki örneklerde 25°C'dekilere göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Yetiştirilen tüm örnekler karşılaştırıldığında ise en yüksek CAT aktivitesine (0,044 U/mg) 40°C'de 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük CAT aktivitesine (0,017 U/mg) ise 15°C'de kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.16).



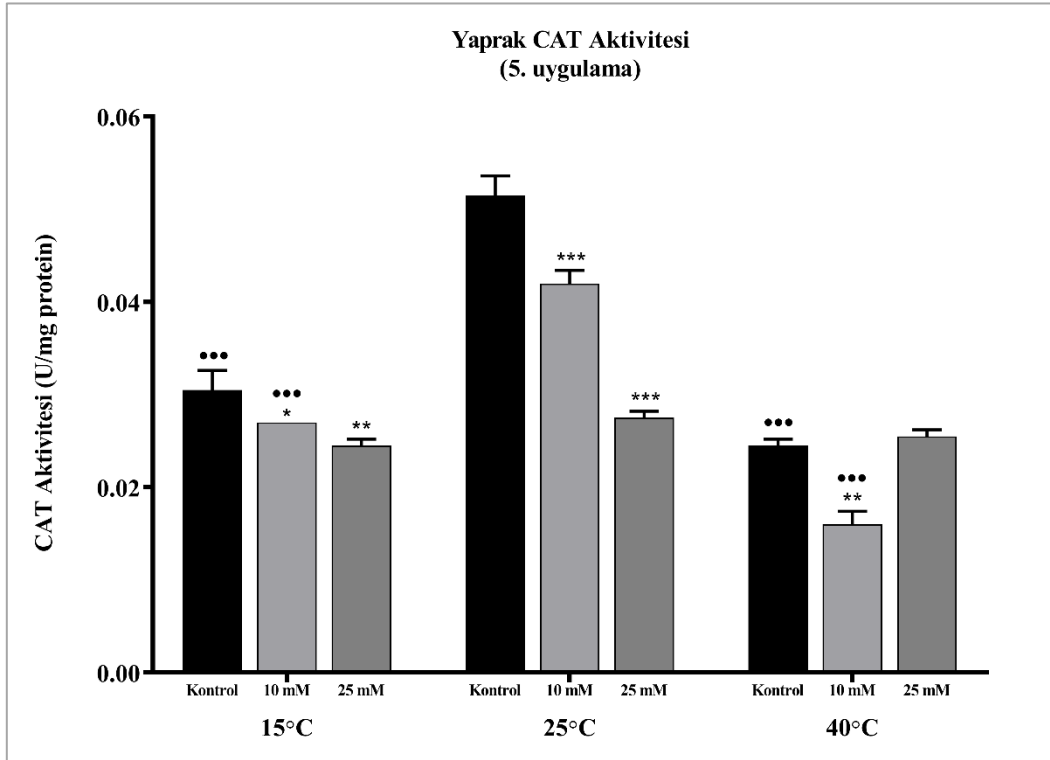
Grafik 3.15. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki CAT aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, • p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Bitki örneklerinin 5. uygulamasına ait yaprakların toplam CAT aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C ve 15°C'de yetişen örneklerdeki CAT aktivitesinin artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre düzenli şekilde önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir. 40°C'de yetişen bitkilerde ise sadece 10 mM borik asit bitki grubunun CAT aktivitesinde kontrole göre önemli ölçüde bir azalma tespit edilmiştir.

Kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 15°C ve 40°C’de yetişen kontrol ve 10 mM borik asit bitki gruplarının yapraklarına ait CAT aktivitesinin 25°C’de yetişen bitki gruplarına göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir.

Tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında ise en yüksek CAT aktivitesine (0,051 U/mg) 25°C’de kontrol grubunda rastlanırken, en düşük CAT aktivitesine (0,016 U/mg) ise 40°C’de 10 mM borik asit bitki grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.15).



Grafik 3.16. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki CAT aktivitesi

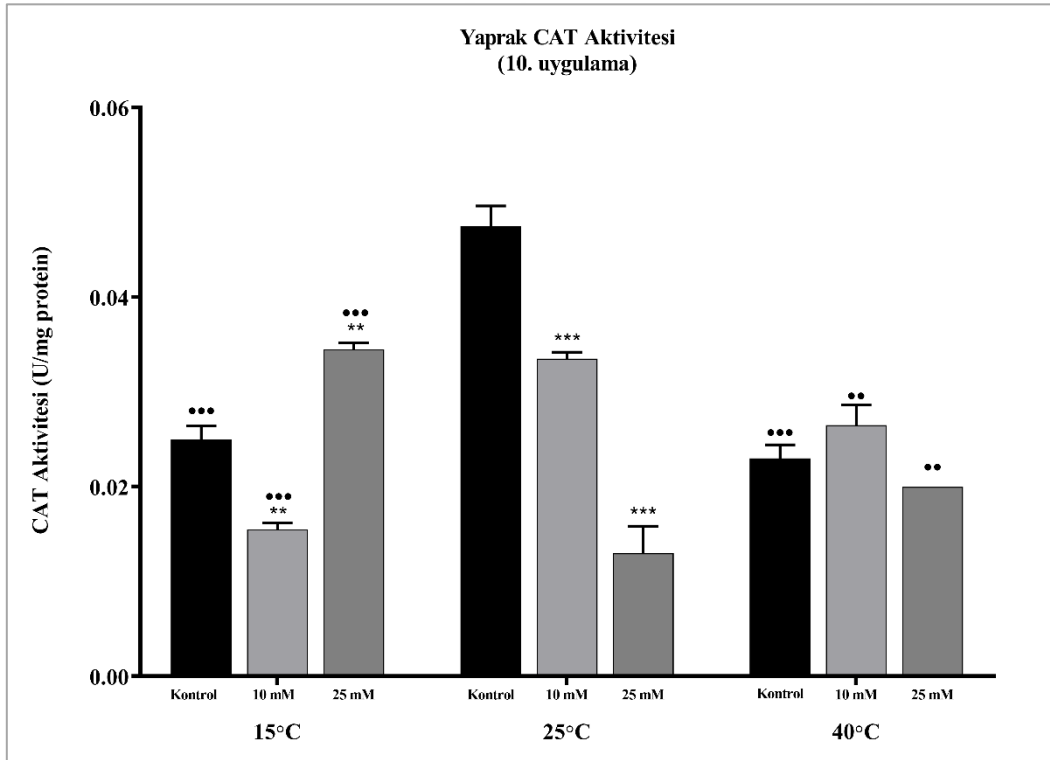
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı sıcaklık dereceleri ve farklı borik asit konsantrasyonlarının kombine uygulanmasıyla yetiştirilen 10. uygulamadaki yaprak örneklerinin toplam CAT aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C’de yetişen bitkilerde CAT aktivitesinin artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre düzenli olarak önemli şekilde azaldığı belirlenmiştir. 15°C’deki örnekler 10 mM borik asit deney grubunun CAT aktivitesi kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalırken, 25 mM borik asit deney grubunun CAT aktivitesi ise kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır. 40°C’de ise 10 mM borik asit deney grubunun

CAT aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde artarken, 25 mM borik asit deney grubunun CAT aktivitesi ise kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır.

Kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında ise 15°C ve 40°C’de yetişen bitkilerin kontrol ve 10 mM borik asit deney gruplarının CAT aktivitesi 25°C’deki örneklerle göre önemli ölçüde azalmıştır. 25 mM borik asit deney grupları karşılaştırıldığında ise 15°C ve 40°C’de yetişen bitkilerin toplam CAT aktivitesinin 25°C’de yetişen 25 mM borik asit deney gruplarına göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir.

Tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında ise en yüksek CAT aktivitesine (0,047 U/mg) 25°C’de kontrol bitki grubunda rastlanırken, en düşük CAT aktivitesine (0,013 U/mg) ise 25°C’de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.17).



Grafik 3.17. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki CAT aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, • p<0,01; ***, ••• p<0,001)

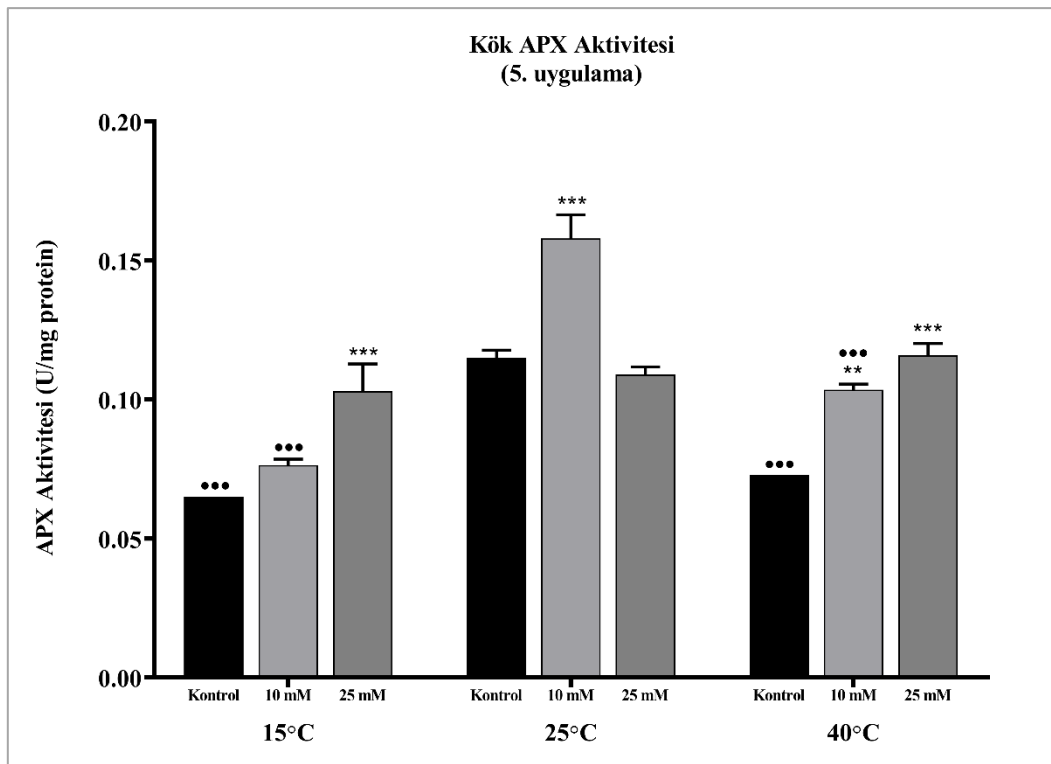
3.1.3.4. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi

Farklı borik asit konsantrasyonları uygulanan bitkilerin APX aktivitesi karşılaştırıldığında, 25°C’de yetişen bitkilerin sadece 10 mM borik asit deney grubunun APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. 15°C’de ise sadece 25 mM borik

asit deney grubunun APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 40°C’de yetişen bitkilerin ise 10 ve 25 mM borik asit deney grubunun APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 15 ve 40°C’deki kontrol ve 10 mM borik asit deney gruplarının APX aktivitesi 25°C’deki örneklerle göre önemli ölçüde azalmıştır.

Yetiştirilen tüm örnekler karşılaştırıldığında ise en yüksek APX aktivitesine (0,158 U/mg) 25°C’de 10 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük APX aktivitesine (0,065 U/mg) ise 15°C’de kontrol grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.18).



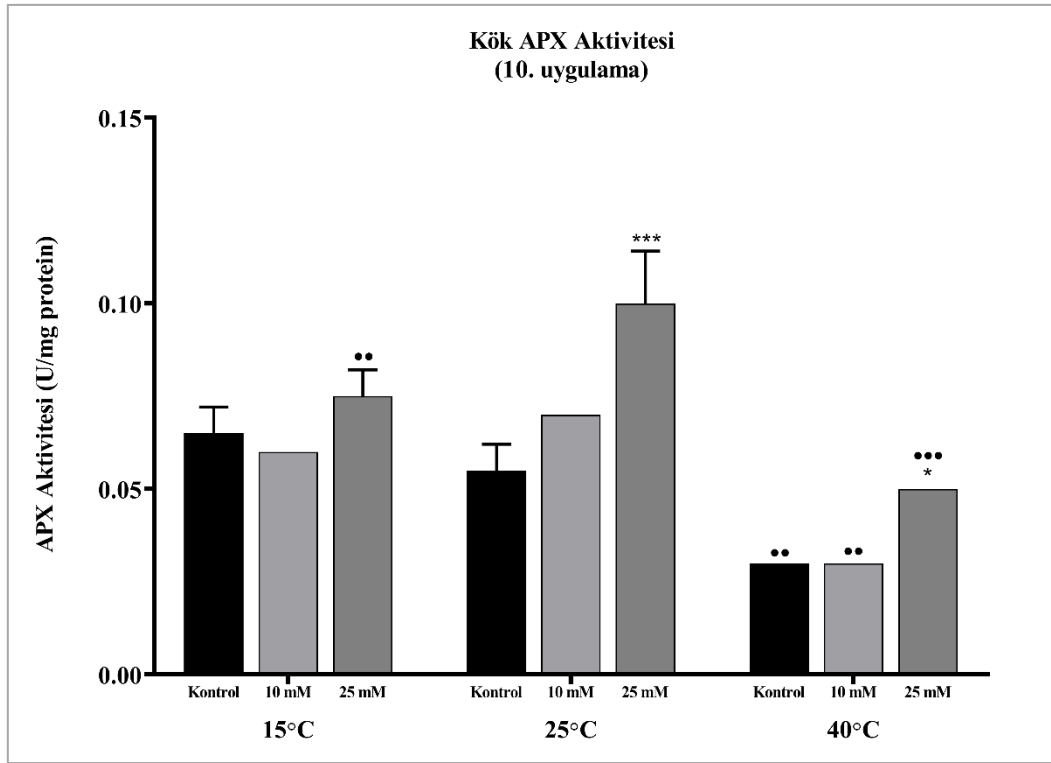
Grafik 3.18. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki APX aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı sıcaklık dereceleri ve farklı borik asit konsantrasyonlarının kombine uygulanmasıyla yetiştirilen 10. uygulamaya ait köklerin APX aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C ve 40°C’de sadece 25 mM borik asit deney grubunun APX aktivitesinde kontrole göre önemli ölçüde artış belirlenmiştir.

Farklı sıcaklıklardaki deney gruplarının APX aktivitesi kendi içlerinde karşılaştırıldığında 15°C'deki örneklerin sadece 25 mM borik asit deney grubunun APX aktivitesi 25°C'deki örneklere göre önemli ölçüde azalmıştır. 40°C'deki örneklerin kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının APX aktivitesi 25°C'deki örneklere göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Yetiştirilen tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında ise en yüksek APX aktivitesine (0,1 U/mg) 25°C'de 25 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük APX aktivitesine (0,03 U/mg) ise 40°C'de kontrol ve 10 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.20).



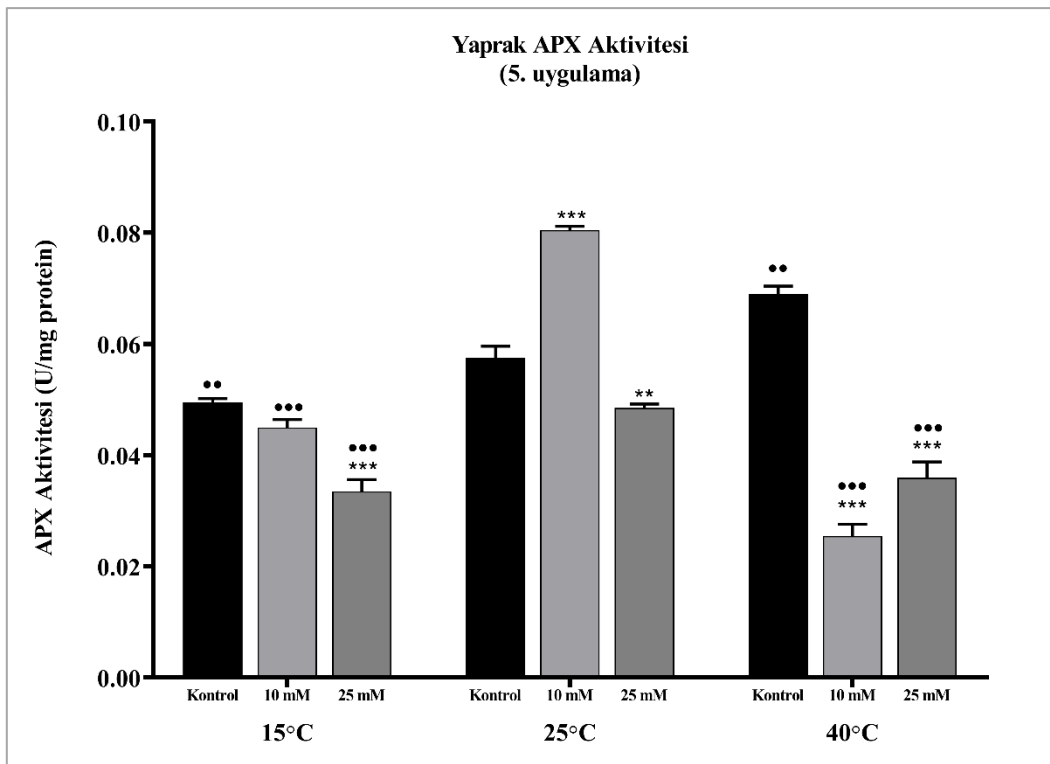
Grafik 3.19. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki APX aktivitesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Örneklerin 5. Uygulamasına ait yapraklar karşılaştırıldığı zaman 25°C'de 10 mM borik asit deney grubunun APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı gözlenirken, 25 mM BA deney grubunun APX aktivitesinin ise kontrole göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. 15°C'de yetişen bitkilerin ise sadece 25 mM borik asit deney grubunun kontrole göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. 40°C'de yetişen bitkilerde ise hem 10 mM hem de 25 mM borik asit deney grubunun APX aktivitesi kontrole göre azalmıştır.

Kontrol, 10 mM ve 25 mM BA deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 15°C'nin kontrol grubunun APX aktivitesi 25°C'nin kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalırken, 40°C'nin kontrol grubunun APX aktivitesi ise 25°C'nin kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır. 10 mM ve 25 mM BA deney grupları karşılaştırıldığında ise 15°C ve 40°C'de yetişen bitki gruplarının her birinin APX aktivitesinin 25°C'de yetişen bitkilere göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında ise en yüksek APX aktivitesine (0,080 U/mg) 25°C'de 10 mM borik asit bitki grubunda rastlanırken, en düşük APX aktivitesine (0,025 U/mg) ise 40°C'de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.19).



Grafik 3.20. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki APX aktivitesi

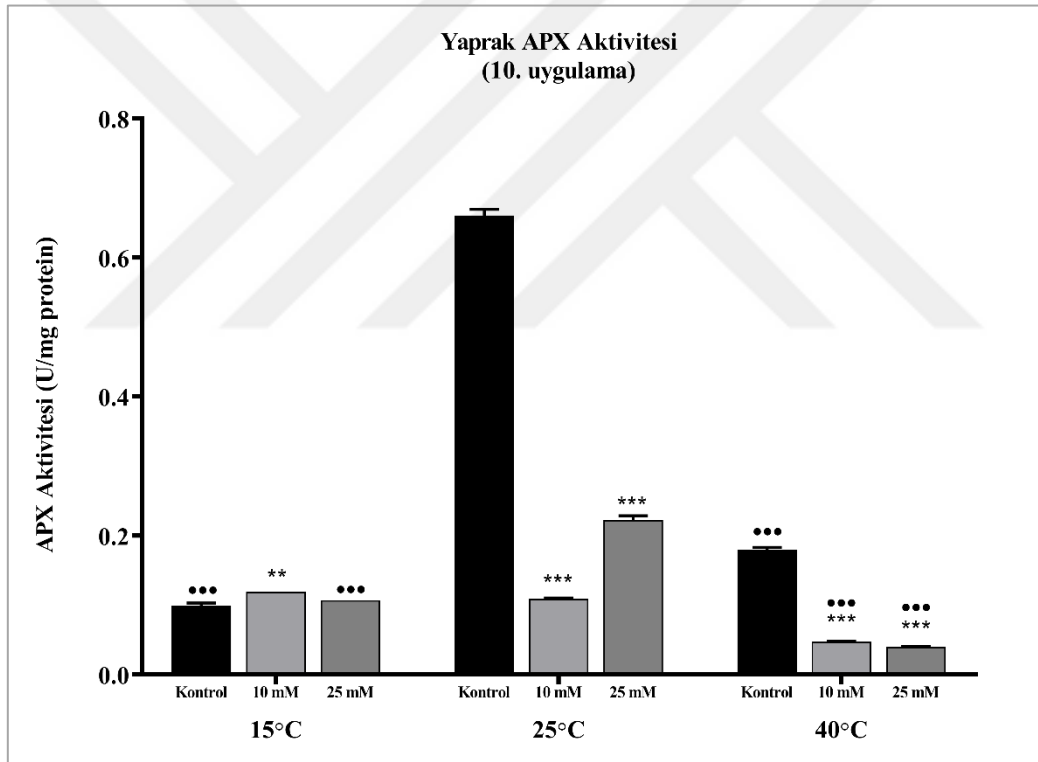
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı sıcaklık dereceleri ve farklı borik asit konsantrasyonlarının kombine uygulanmasıyla yetiştirilen bitki örneklerinin 10. uygulamasına ait yaprakların APX aktivitesi karşılaştırıldığında 25°C'deki örneklerin 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının APX aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. 15°C'deki örneklerde sadece 10 mM borik asit deney grubunun APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı

belirlenmiştir. 40°C'deki örneklerin ise artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak APX aktivitesinin kontrole göre düzenli olarak önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında ise 15°C ve 40°C'deki örneklerin kontrol gruplarının APX aktivitesinin 25°C'dekilere göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. 10 mM borik asit deney grubu karşılaştırıldığında sadece 40°C'de yetişen bitki grubunun 25°C'dekine göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. 25 mM borik asit deney grubunda ise 15°C ve 40°C'deki örnekler için APX aktivitesinin 25°C'deki yaprak örneklerine göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Tüm yaprak örnekleri karşılaştırıldığında ise en yüksek APX aktivitesine (0,66 U/mg) 25°C'de kontrol grubunda rastlanırken, en düşük APX aktivitesine (0,039 U/mg) ise 40°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.21).

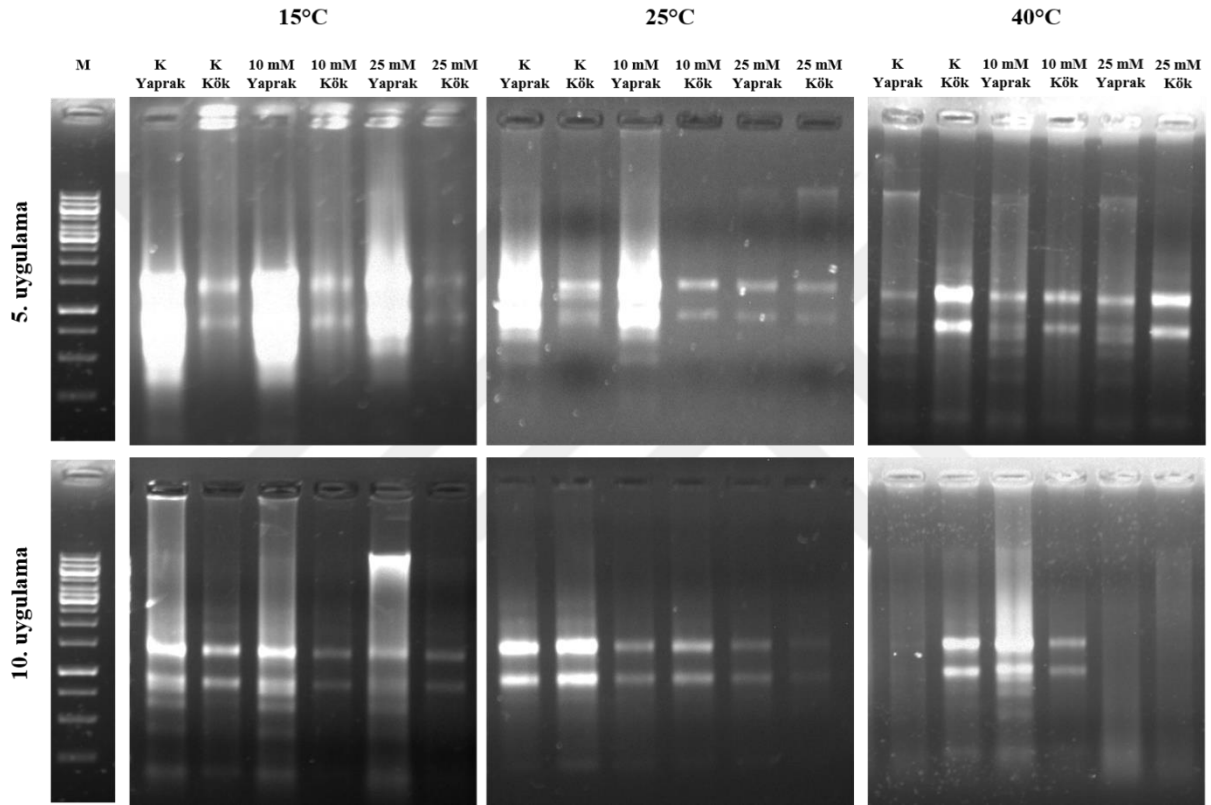


Grafik 3.21. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki APX aktivitesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, • p<0,01; ***, •• p<0,001)

3.1.4. Antioksidan Enzimlere Ait Gen İfadelerinin Belirlenmesi

3.1.4.1. Total RNA miktarının belirlenmesi

Ayçiçeği bitkisine uygulanan iki farklı abiyotik stresin antioksidan enzimlere ait gen ifadeleri üzerindeki etkisi gerçek zamanlı PZR ile incelenmiştir. Üç farklı sıcaklık ve iki farklı borik asit konsantrasyonunun birlikte uygulanmasıyla yetiştirilen bitki örneklerine ait kök ve yaprakların her birinden RNA izole edilmiş ve agaroz jelde yürütülerek RNA kalitesi ve miktarı tespit edilmiştir (Şekil 3.3).



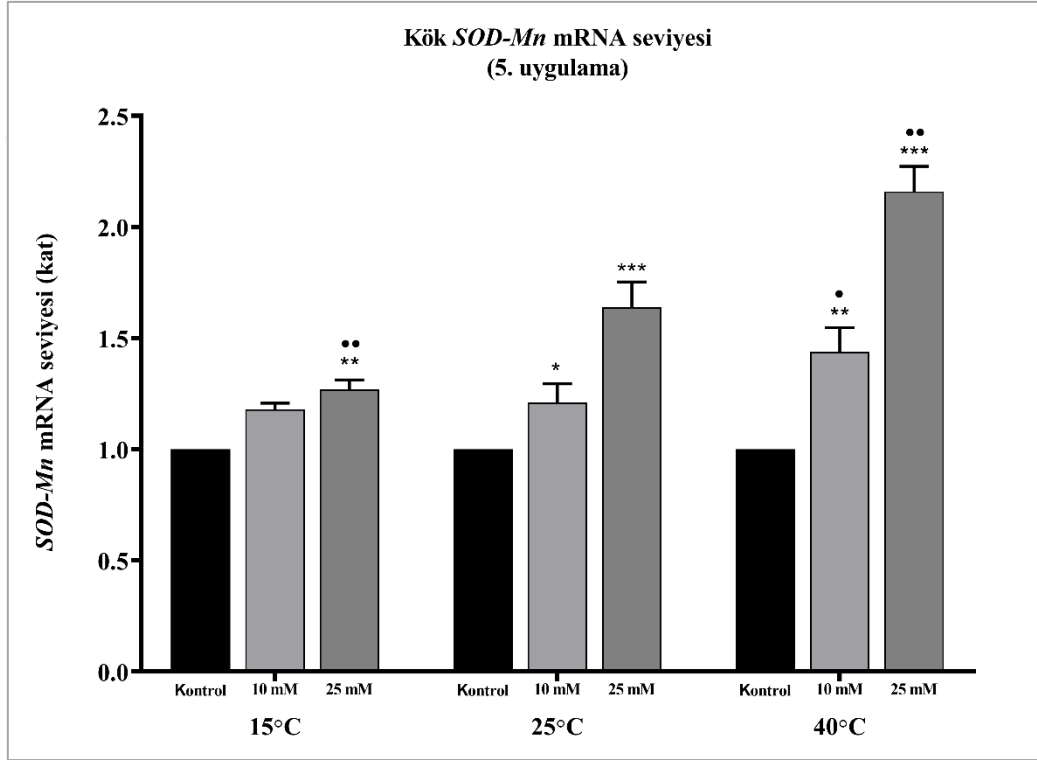
Şekil 3.3. Kök ve yaprak örneklerine ait RNA'ların agaroz jel görüntüleri

3.1.4.2. SOD mRNA seviyesindeki değişiminin belirlenmesi

İki farklı borik asit konsantrasyonu uygulanan bitkilerin 5. uygulamasında köklerdeki *SOD-Mn* mRNA seviyesindeki değişim incelendiğinde, 25°C ve 40°C'de yetişen örneklerde borik asit konsantrasyonu arttıkça *SOD-Mn* gen ifadesinin de kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. 15°C'de yetişen örneklerde ise sadece 25 mM borik asit deney grubunun *SOD-Mn* gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir.

Örneklerin kontrol, 10 mM ve 25 mM borik asit deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 10 mM borik asit deney grubunun *SOD-Mn* gen ifadesinin sadece 40°C'deki örneklerinde 25°C'deki örneklere göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. 25 mM borik asit deney grubunda ise 15°C'deki örneklerin *SOD-Mn* gen ifadesi 25°C'dekilere göre önemli ölçüde azalırken, 40°C'deki örneklerin *SOD-Mn* gen ifadesi ise 25°C'de yetişen bitki grubuna göre önemli ölçüde artmıştır.

Tüm örnekler arasında en yüksek *SOD-Mn* gen ifadesine (2,16) 40°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.22).



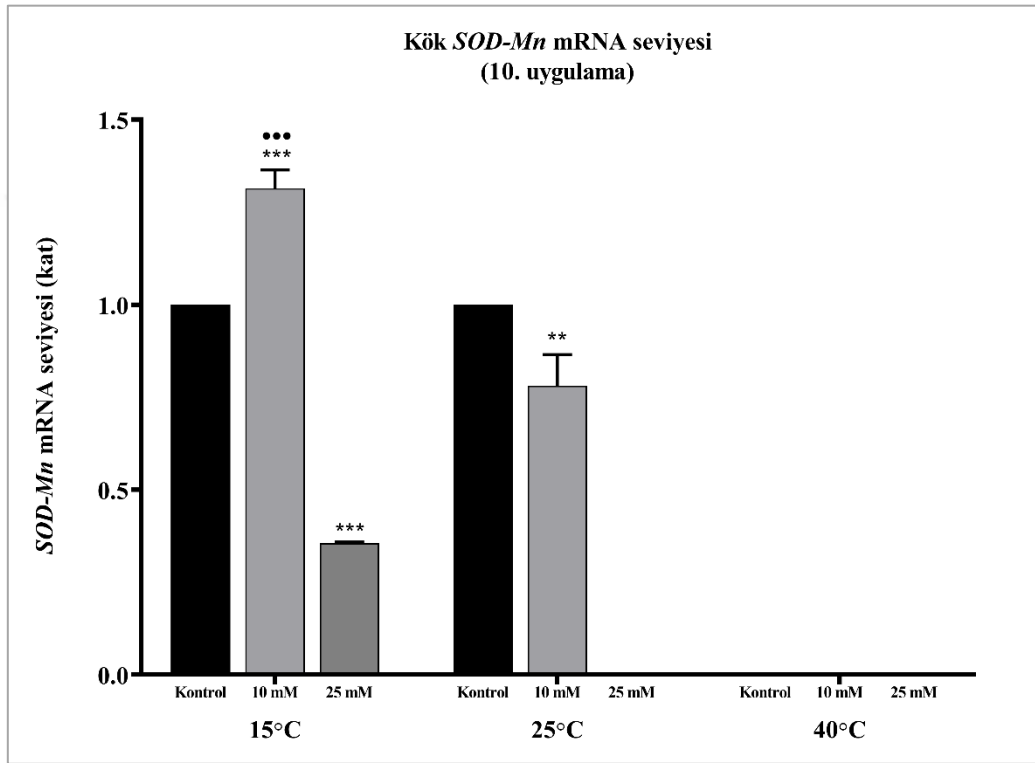
Grafik 3.22. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki *SOD-Mn* mRNA seviyesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

10. uygulamaya ait köklerdeki *SOD-Mn* gen ifadesi karşılaştırıldığında 25°C'de 10 mM borik asit deney grubunda *SOD-Mn* gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. 15°C'de yetişen bitkilerde ise 10 mM borik asit deney grubunun *SOD-Mn* gen ifadesi kontrole göre önemli ölçüde artarken, 25 mM BA deney grubunun *SOD-Mn* gen ifadesi ise kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır.

Farklı sıcaklıklarda yetiştirilen deney grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında ise 15°C'deki örneklerin 10 mM borik asit deney gruplarının *SOD-Mn* gen ifadesinin 25°C'dekilere göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir.

Yetiştirilen tüm bitkiler göz önüne alındığında en yüksek *SOD-Mn* gen ifadesine (1,315) 15°C'de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır. 25°C'de yetiştirilen 25 mM borik asit deney grubu ile 40°C'de yetiştirilen tüm deney gruplarında sağlıklı kök örnekleri elde edilemediğinden qRT-PZR'de *SOD-Mn* ifadesine ait veri saptanamamıştır (Grafik 3.23).



Grafik 3.23. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki *SOD-Mn* mRNA seviyesi

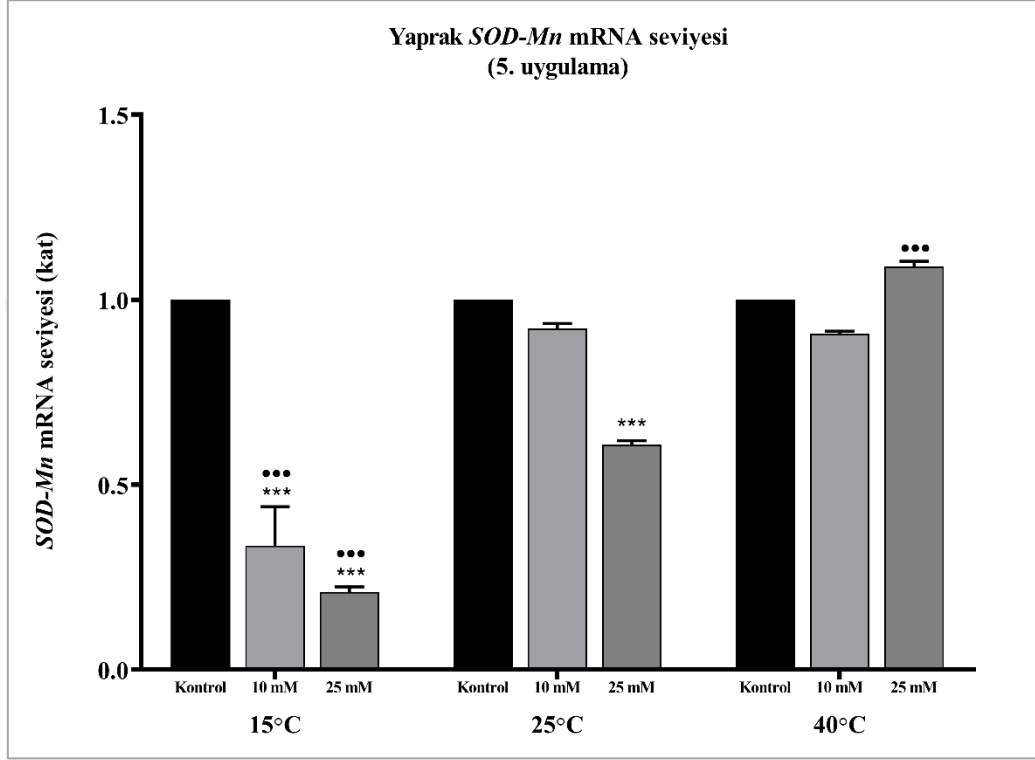
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Örneklerin 5. uygulamasına ait yapraklardaki *SOD-Mn* mRNA seviyesindeki değişim incelendiği zaman 25°C'de yetişen bitkilerde sadece 25 mM borik asit grubunun *SOD-Mn* gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. 15°C'deki örneklerde ise artan borik asit konsantrasyonu *SOD-Mn* gen ifadesini kontrole göre düzenli olarak önemli ölçüde azaltmıştır.

Farklı sıcaklıklarda yetişen deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında; 10 mM borik asit deney grubuna ait *SOD-Mn* ifadesinin 15°C'de, 25°C'deki örneklere göre önemli

ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. 25 mM borik asit deney grubunda 15°C'deki örneklerin *SOD-Mn* gen ifadesinin 25°C'deki örneklere göre önemli ölçüde azaldığı, 40°C'de yetişen bitkilerin *SOD-Mn* gen ifadesinin ise önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Yetiştirilen tüm bitkiler karşılaştırıldığında en yüksek *SOD-Mn* gen ifadesine (1,09) 40°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.24).



Grafik 3.24. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki *SOD-Mn* mRNA seviyesi

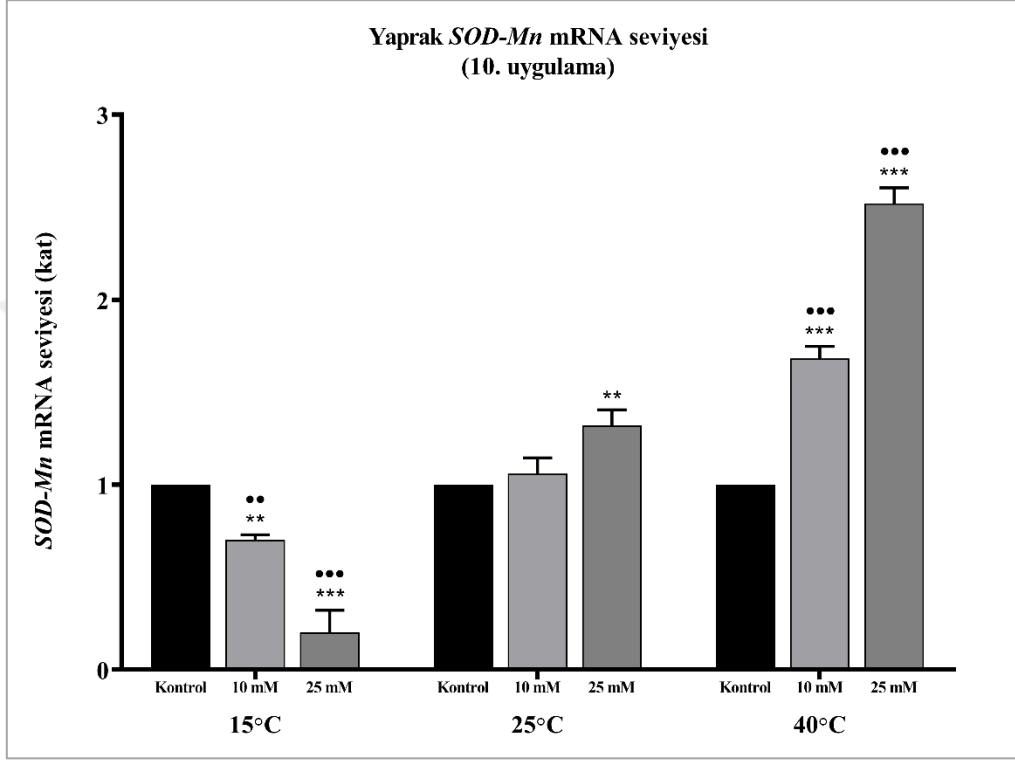
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Bitki örneklerinin 10. uygulamalarına ait yapraklardaki *SOD-Mn* gen ifadesi karşılaştırıldığında 25°C'de yetişen bitkilerden sadece 25 mM borik asit deney grubunun *SOD-Mn* ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. 15°C'de ise artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak *SOD-Mn* ifadesinin kontrole göre düzenli olarak önemli ölçüde azaldığı, 40°C'de yetişen bitkilerde ise kontrole göre düzenli olarak önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir.

Deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında; 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının *SOD-Mn* gen ifadesi borik asit konsantrasyonu artışına bağlı olarak 15°C'de,

25°C’de yetişen bitki gruplarına göre önemli ölçüde azalırken; 40°C’de ise 25°C’de yetişen bitkilere göre önemli ölçüde artmıştır.

Tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında en yüksek *SOD-Mn* gen ifadesine (2,52) 40°C’de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanırken, en düşük *SOD-Mn* gen ifadesine (0,201) ise 15°C’de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.25).



Grafik 3.25. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki *SOD-Mn* mRNA seviyesi

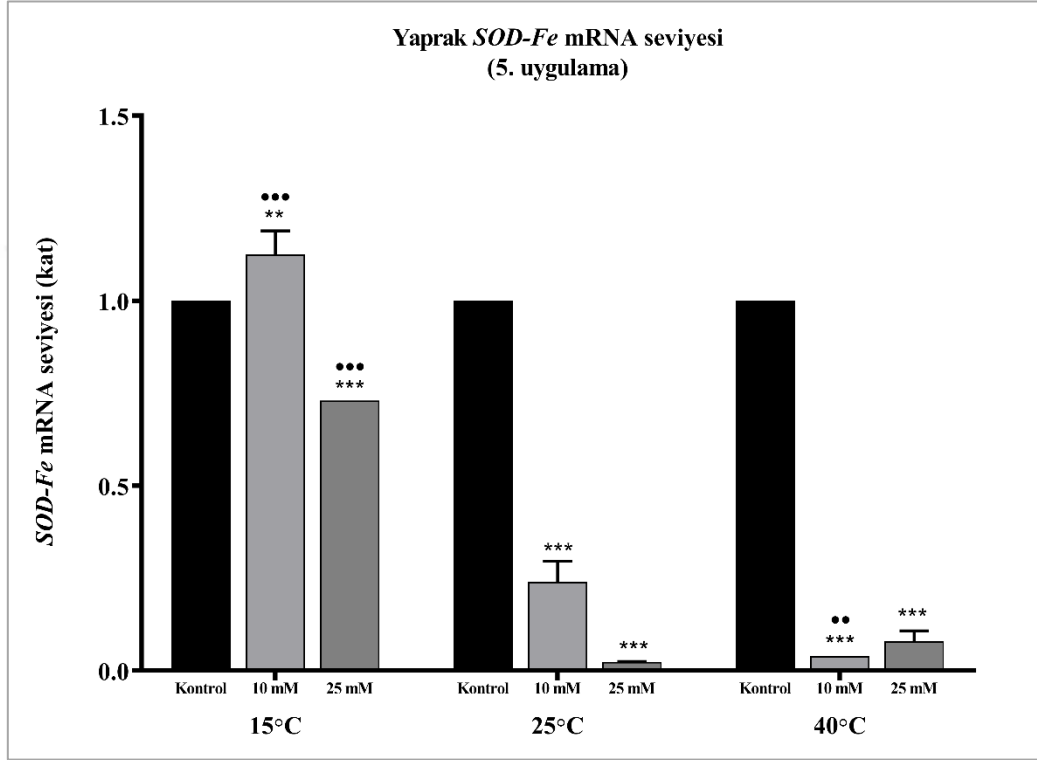
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı borik asit konsantrasyonlarında yetiştirilen örneklerin 5. uygulamalarına ait yaprakların *SOD-Fe* gen ifadesi karşılaştırıldığında 25°C’de yetişen bitkilerde artan borik asit konsantrasyonunun *SOD-Fe* gen ifadesini kontrole göre önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. 15°C’de yetişen bitkilerde 10 mM borik asit deney grubunun *SOD-Fe* gen ifadesi kontrole göre artarken, 25 mM borik asit deney grubunda ise kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır. 40°C’de ise artan borik asit konsantrasyonunun yaprak *SOD-Fe* gen ifadesini kontrole göre önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir.

Deney grupları kendi içleriyle karşılaştırıldığında 15°C’de yetişen 10 mM borik asit uygulanan örneklerin *SOD-Fe* gen ifadesinin 25°C’de yetişen örneklere göre önemli ölçüde

arttığı, 40°C’de yetişen örneklerin ise 25°C’dekilere göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. 25 mM borik asit deney grubunun *SOD-Fe* gen ifadesi ise sadece 15°C’de yetişen örneklerde 25°C’de yetişenlere göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Tüm bitki grupları göz önüne alındığında en yüksek *SOD-Fe* ifadesine (1,125) 15°C’de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanırken, en düşük *SOD-Fe* ifadesine (0,024) 25°C’de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.26).

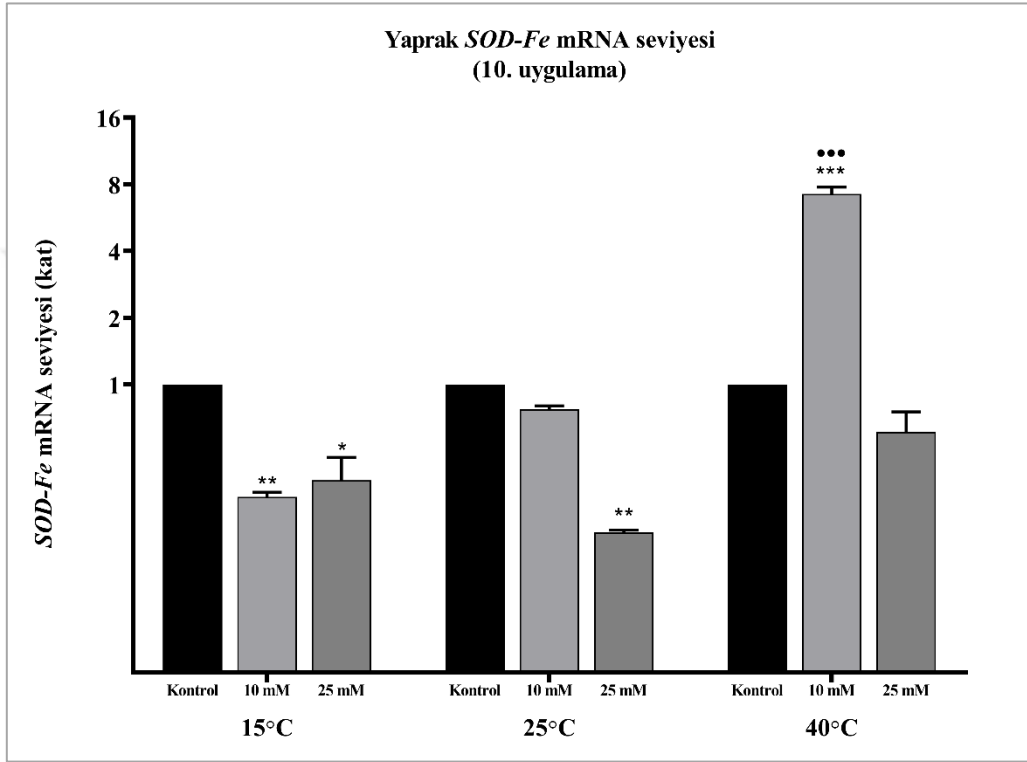


Grafik 3.26. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki *SOD-Fe* mRNA seviyesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

10. uygulamaya ait yaprak *SOD-Fe* gen ifadesi karşılaştırıldığında 25°C’de yetişen bitkilerde sadece 25 mM borik asit deney grubunun *SOD-Fe* gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. 15°C’de yetişen bitkilerde artan borik asit konsantrasyonunun *SOD-Fe* gen ifadesini kontrole göre önemli ölçüde azalttığı; 40°C’de yetişen bitkilerde ise sadece 10 mM borik asit deney grubunda kontrole göre önemli bir artışa sebep olduğu tespit edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda yetişen deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında sadece 40°C’de yetişen 10 mM borik asit deney grubunun *SOD-Fe* ifadesinin 25°C’de yetişen 10 mM deney grubuna göre önemli ölçüde arttığı görülmüştür.

Yetişen tüm bitki grupları göz önüne alındığında en yüksek *SOD-Fe* ifadesine (7,25) 40°C’de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanırken en düşük *SOD-Fe* ifadesine (0,221) 25°C’de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.27).



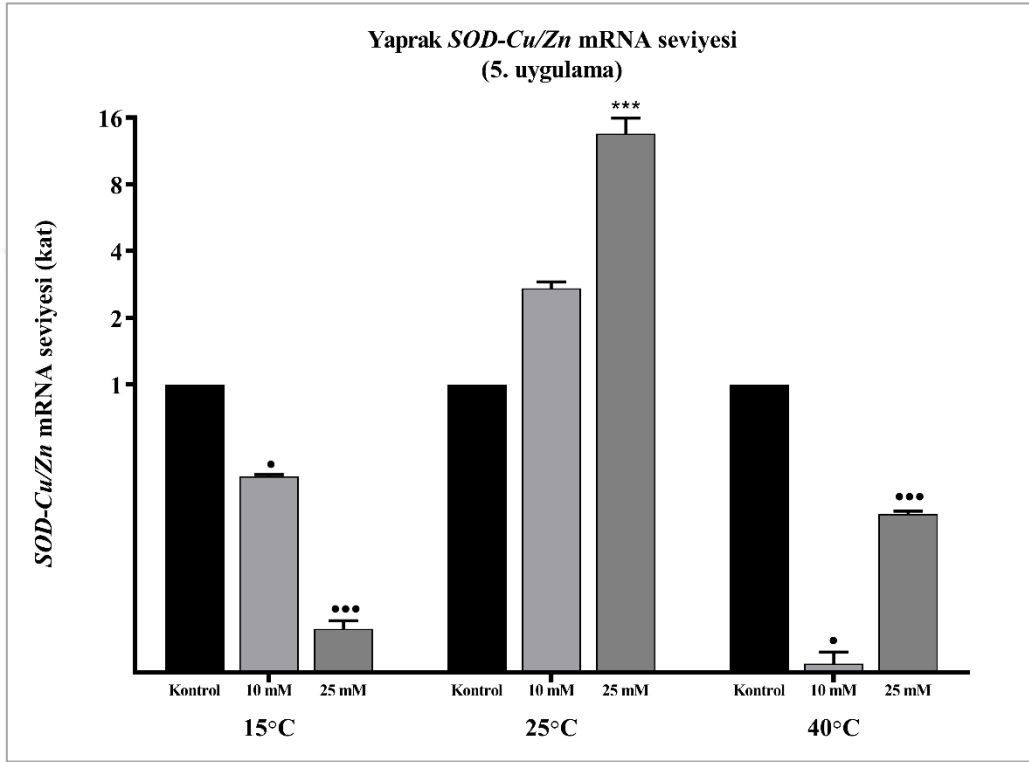
Grafik 3.27. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki *SOD-Fe* mRNA seviyesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde; • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

SOD-Fe geni sadece kloroplastlarda bulunmaktadır. Bu nedenle üç farklı sıcaklık ve iki farklı borik asit konsantrasyonu ile muamele edilen tüm deney gruplarının 5. ve 10. uygulamasındaki kök örneklerinde *SOD-Fe* gen ifadesine ait veri yoktur.

Yetiştirilen bitki örneklerinin 5. uygulamasına ait yaprak *SOD-Cu/Zn* gen ifadesi karşılaştırıldığında, sadece 25°C’deki bitki örneklerinden 25 mM borik asit deney grubunun *SOD-Cu/Zn* ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında ise 15°C ve 40°C'deki örneklerde artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak 10 mM ve 25 mM borik asit deney grubuna ait *SOD-Cu/Zn* gen ifadesinin 25°C'deki örneklere göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Tüm bitki grupları göz önüne alındığında en yüksek *SOD-Cu/Zn* gen ifadesine (13,54) 25°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanırken, en düşük *SOD-Cu/Zn* gen ifadesine (0,055) 40°C'de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.28).



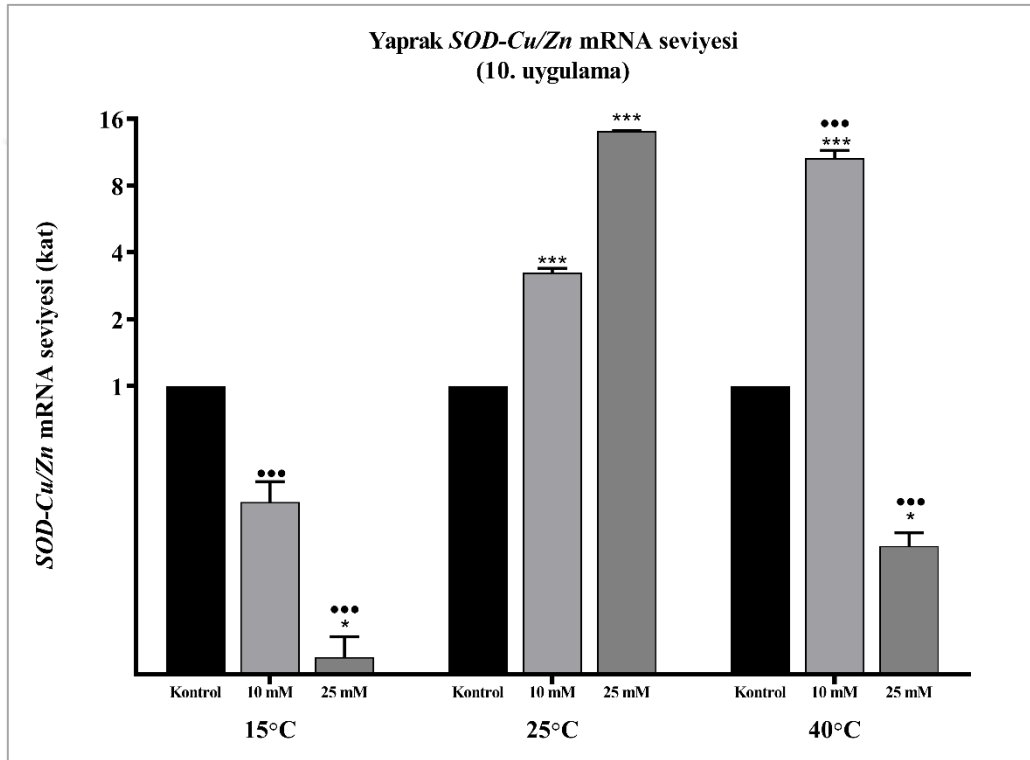
Grafik 3.28. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki *SOD-Cu/Zn* mRNA seviyesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı konsantrasyonlarda yetiştirilen bitkilerin 10. uygulamasına ait yaprak *SOD-Cu/Zn* gen ifadeleri karşılaştırıldığında 25°C'de yetişen bitkilerin artan borik asit konsantrasyonu ile birlikte *SOD-Cu/Zn* gen ifadesinin kontrole göre düzenli bir şekilde önemli derecede arttığı gözlenmiştir. 15°C'de yetişen bitkilerde ise sadece 25 mM borik asit deney grubu *SOD-Cu/Zn* gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. 40°C'de yetişen bitkilerde 10 mM borik asit deney grubunun *SOD-Cu/Zn* gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı, 25 mM borik asit deney grubunun ise kontrole göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında; 10 mM borik asit deney grubu *SOD-Cu/Zn* gen ifadesinin 15°C'deki örneklerde 25°C'deki örneklerle göre önemli ölçüde azaldığı, 40°C'deki örneklerin yetişeninin ise 25°C'de yetişene göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. 25 mM borik asit deney grupları karşılaştırıldığında ise, 15°C ve 40°C'de yetişen örneklerin *SOD-Cu/Zn* ifadesinin 25°C'deki örneklerle göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir.

Yetişen tüm bitki grupları karşılaştırıldığında en yüksek *SOD-Cu/Zn* gen ifadesine (14,12) 25°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanırken, en düşük *SOD-Cu/Zn* gen ifadesine (0,06) 15°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.29).



Grafik 3.29. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki *SOD-Cu/Zn* mRNA seviyesi

(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

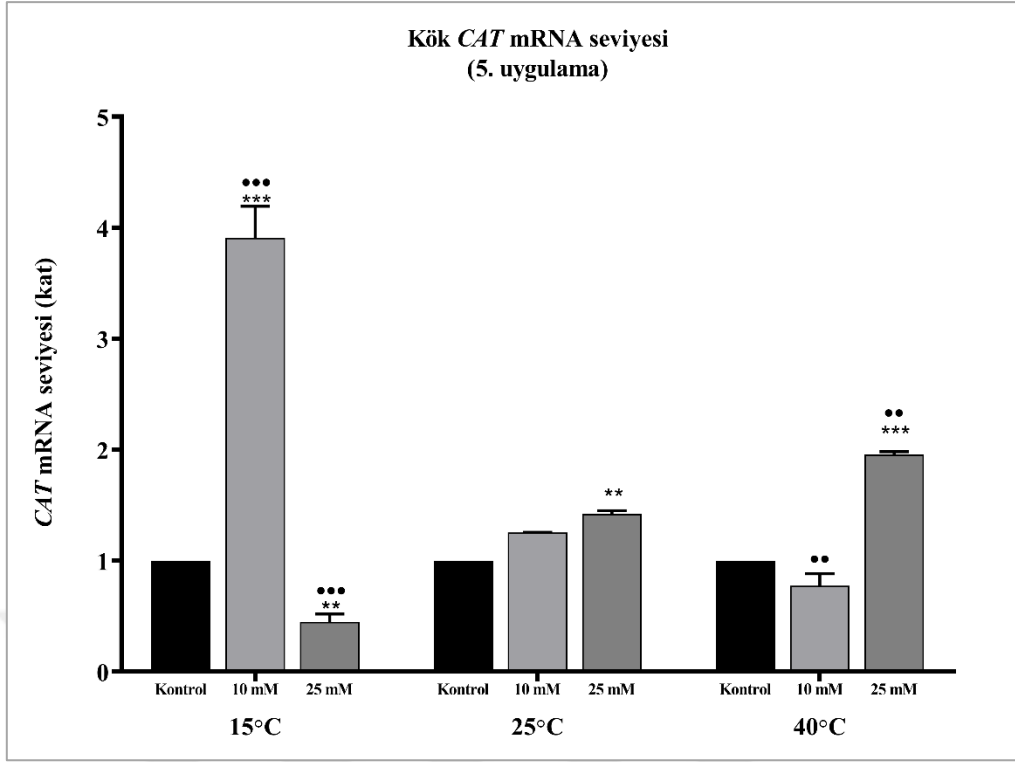
Üç farklı sıcaklık ve iki farklı borik asit konsantrasyonu ile muamele edilen tüm deney gruplarının 5. ve 10. uygulamasına ait sağlıklı kök örnekleri elde edilemediğinden *SOD-Cu/Zn* genine ait veri bulunamamıştır.

3.1.4.3. Katalaz (CAT) Geninin mRNA Seviyesindeki Değişiminin Belirlenmesi

Üç farklı sıcaklık uygulaması ile birlikte iki farklı konsantrasyonda borik asit uygulanan bitki örneklerine ait 5. uygulamadaki köklerin *CAT* geni mRNA seviyesindeki değişim incelendiğinde, 25°C’de yetişen bitkilerde sadece 25 mM borik asit deney grubunda *CAT* gen ifadesi kontrole göre önemli ölçüde artmıştır. 15°C’de yetişen bitkilerde 10 mM borik asit deney grubunun *CAT* gen ifadesi kontrole göre önemli ölçüde artarken, 25 mM borik asit deney grubunda ise kontrole göre azalmıştır. 40°C’deki örneklerde ise sadece 25 mM borik asit deney grubunun *CAT* gen ifadesinde kontrole göre önemli ölçüde artış tespit edilmiştir.

Deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 10 mM borik asit deney grubunun *CAT* gen ifadesi 15°C’de 25°C’ye göre önemli ölçüde artarken, 40°C’deki örneklerin *CAT* gen ifadesi ise 25°C’deki örneklere göre önemli ölçüde azalmıştır. 25 mM borik asit deney grubunda ise, 10 mM borik asit deney grubunun aksine 15°C’deki örneklerin *CAT* gen ifadesi 25°C’de yetişen örneklere göre azalırken, 40°C’deki örneklerin *CAT* gen ifadesi ise 25°C’de yetişenlere göre önemli ölçüde artmıştır.

Tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek *CAT* gen ifadesine (3,91) 15°C’de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanırken en düşük *CAT* gen ifadesine (0,45) 15°C’de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.30).

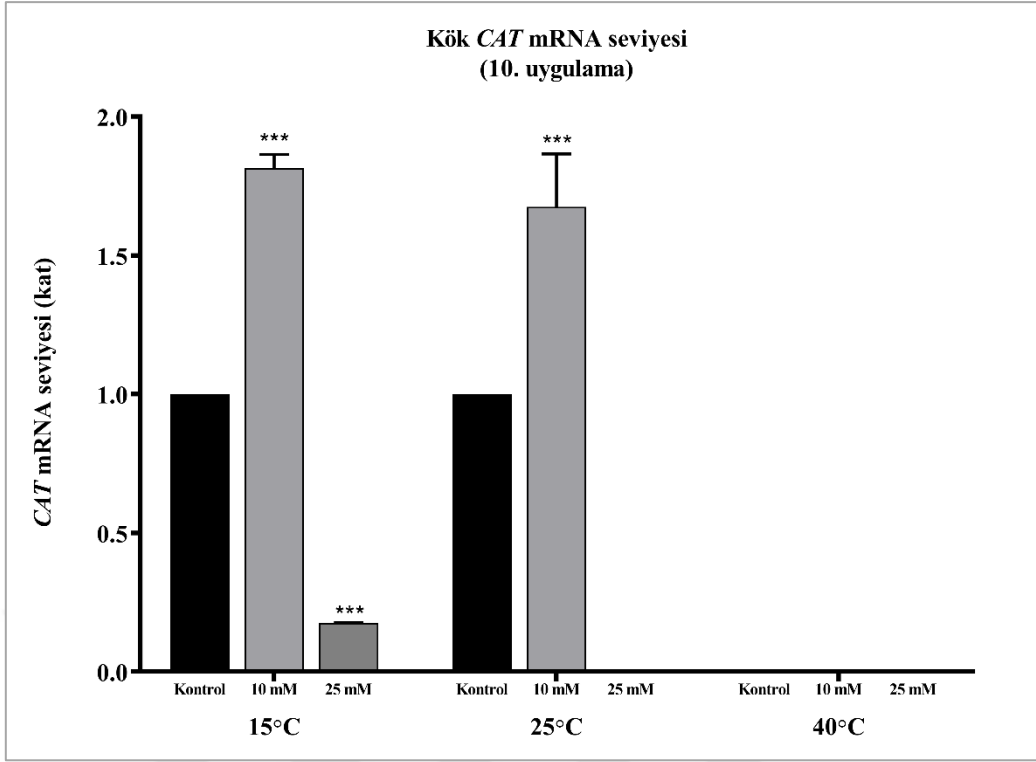


Grafik 3.30. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki *CAT* mRNA seviyesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$)

Farklı konsantrasyonlarda yetiştirilen bitkilerin 10. uygulamasına ait kök *CAT* mRNA ifadesi karşılaştırıldığında, 25°C ve 15°C'deki örneklere 10 mM borik asit deney grubu *CAT* gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 25 mM borik asit deney grubunun *CAT* gen ifadesi ise kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır.

Yetiştirilen tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek *CAT* gen ifadesine (1,81) 15°C'de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanırken, en düşük *CAT* gen ifadesine (0,176) ise 15°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır.

25°C'de yetiştirilen 25 mM borik asit deney grubu ile 40°C'de yetiştirilen tüm deney gruplarında sağlıklı kök örnekleri elde edilemediğinden qRT-PZR'de *CAT* gen ifadesine ait veri saptanamamıştır (Grafik 3.31).

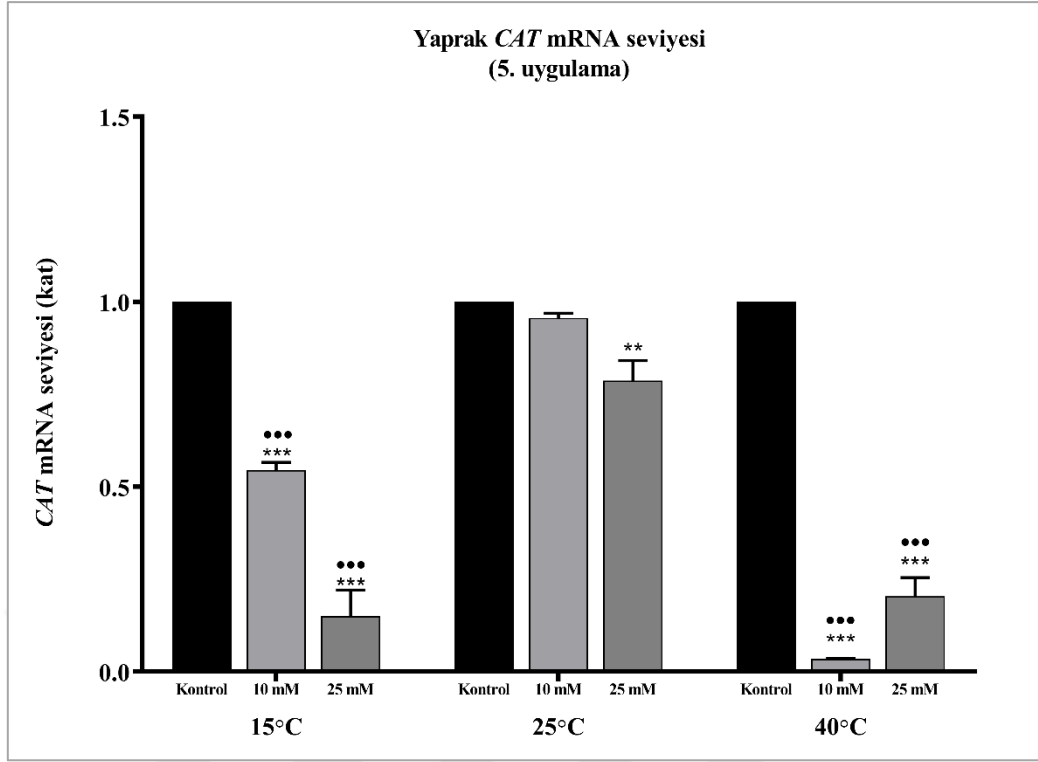


Grafik 3.31. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki *CAT* mRNA seviyesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$)

Bitki örneklerinin 5. uygulamasına ait yaprak *CAT* mRNA seviyesi karşılaştırıldığında 25°C’de yetişen bitkilerin *CAT* gen ifade seviyesi sadece 25 mM borik asit deney grubunda kontrole kıyasla önemli ölçüde azalmıştır. 15°C ve 40°C’de yetişen bitkilerde ise *CAT* gen ifadesi artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak 10 mM ve 25 mM borik asit deney grubunda kontrole göre düzenli olarak önemli ölçüde azalmıştır.

Deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında, 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının hem 15°C hem de 40°C’deki örneklerin *CAT* gen ifadesinin 25°C’deki deney gruplarına göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Tüm bitki grupları göz önüne alındığında, en düşük *CAT* gen ifadesine (0,034) 40°C’de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.32).

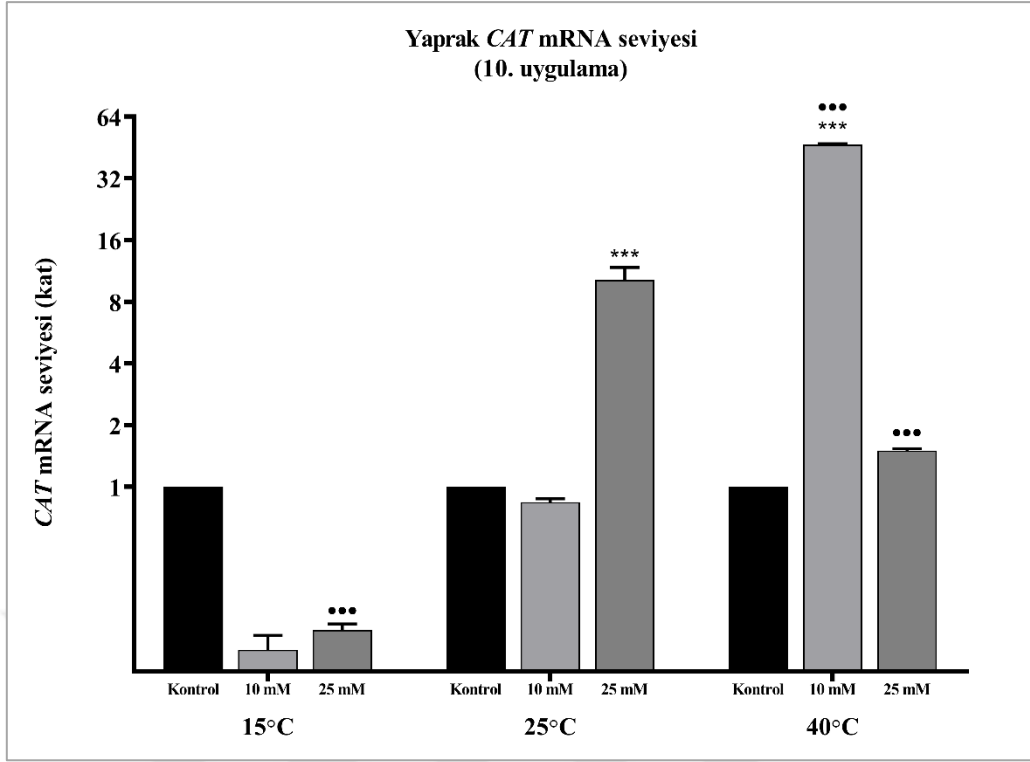


Grafik 3.32. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki *CAT* mRNA seviyesi
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$)

Bitki örneklerinin 10. uygulamasına ait yaprak *CAT* mRNA seviyesi karşılaştırıldığında, 25°C’de yetiştirilen bitkilerde sadece 25 mM borik asit deney grubunun *CAT* gen ifade seviyesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. 40°C’de yetişen bitkilerde ise sadece 10 mM borik asit deney grubunun *CAT* gen ifadesi kontrole göre önemli ölçüde artmıştır.

Deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında, 10 mM borik asit deney grubunun sadece 40°C’deki örneklerinde *CAT* gen ifadesinin 25°C’deki örneklere göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 25 mM borik asit deney grubunun ise 15°C’de ve 40°C’deki örneklerin *CAT* gen ifadesinin 25°C’de yetişenlere göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir.

Tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında, en yüksek *CAT* gen ifadesine (46,85) 40°C’de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanırken, en düşük *CAT* gen ifadesine (0,16) ise 15°C’de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.33).



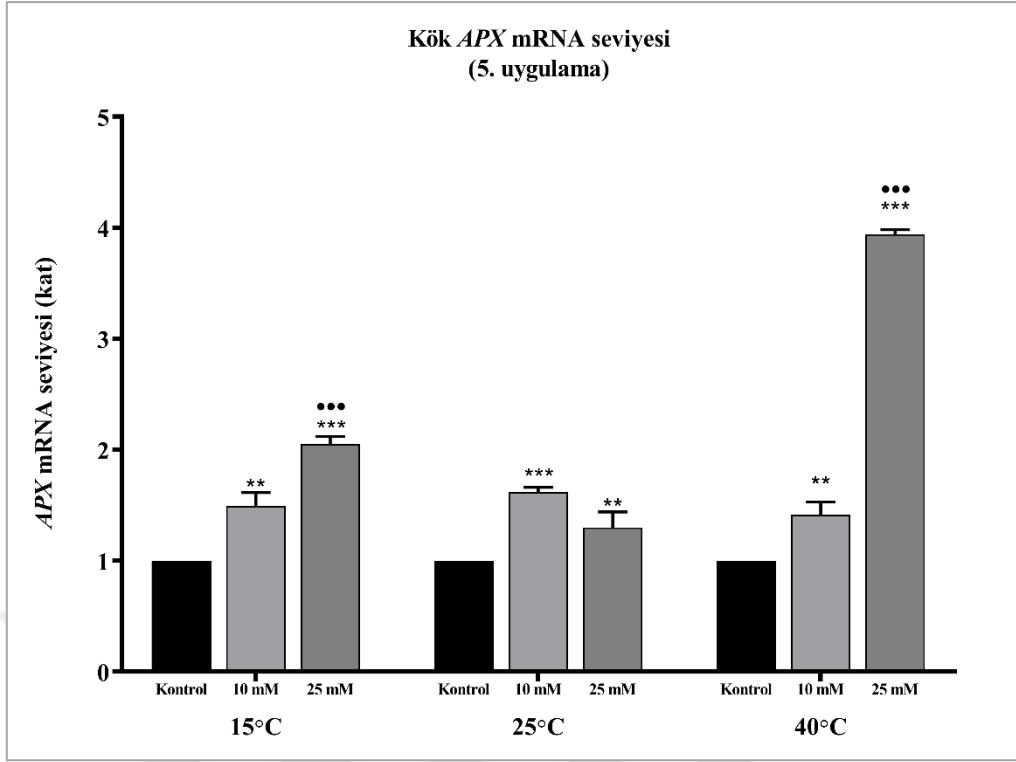
Grafik 3.33. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki *CAT* mRNA seviyesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$)

3.1.4.4. Askorbat Peroksidaz (APX) Geninin mRNA Seviyesindeki Değişiminin Belirlenmesi

Üç farklı sıcaklık uygulaması ile birlikte iki farklı konsantrasyonda borik asit uygulanan bitki örneklerine ait 5. uygulamadaki köklerde *APX* geninin mRNA seviyesi karşılaştırıldığında, 25°C'deki örneklerin 10 mM ve 25 mM borik asit deney grubunun *APX* gen ifadelerinin kontrole göre önemli derece arttığı gözlenmiştir. 15°C ve 40°C'deki örneklerde ise artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarında *APX* gen ifadesinin kontrole göre düzenli olarak önemli bir artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda yetişen deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 15°C ve 40°C'de yetişen 25 mM borik asit deney gruplarının *APX* gen ifadesinin 25°C'de yetişen 25 mM borik asit deney gruplarına göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Yetiştirilen tüm bitki grupları karşılaştırıldığında, en yüksek *APX* gen ifadesine (3,94) 40°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.34).

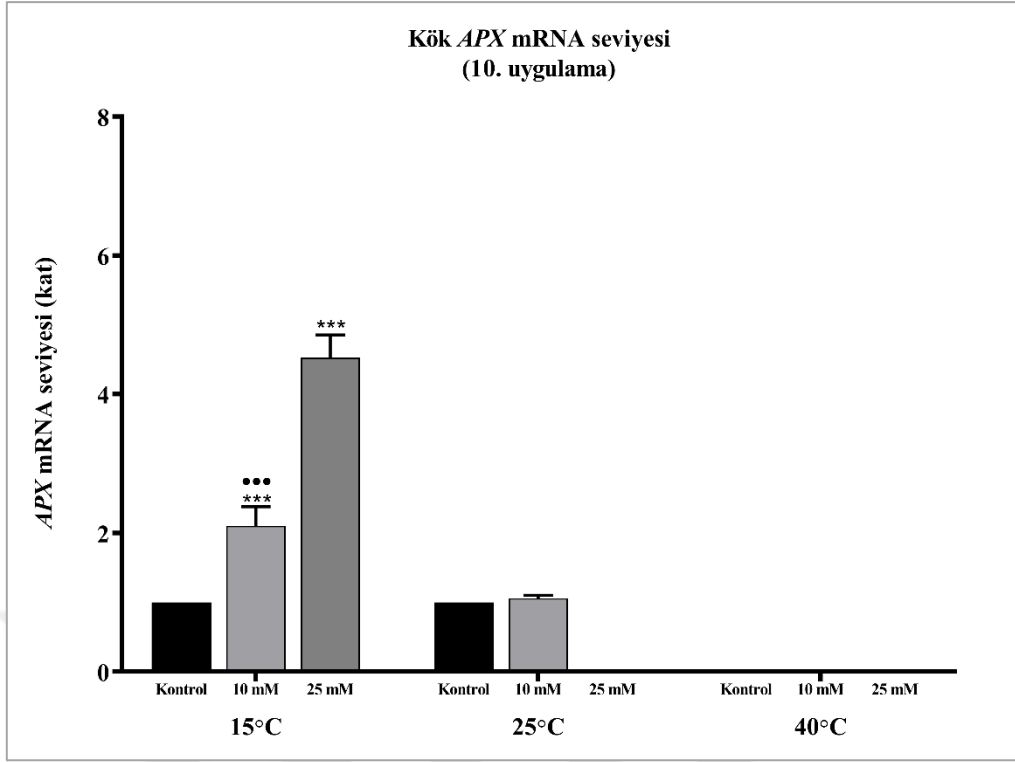


Grafik 3.34. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama kök örneğindeki APX mRNA seviyesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

Farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanan bitkilerin 10. uygulamasına ait kökler karşılaştırıldığında, 15°C'deki örneklerde artan borik asit konsantrasyonunun 10 mM ve 25 mM borik asit deney grubunda APX gen ifadesini düzenli olarak önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda yetişen bitkilerin deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında 15°C'deki 10 mM borik asit deney grubu APX gen ifadesinin 25°C'de yetişen örneklere göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Yetiştirilen tüm bitki örnekleri karşılaştırıldığında, en yüksek APX gen ifadesine (4,52) 15°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır. 25°C'de yetiştirilen ve 25 mM borik asit uygulanan deney grubu ile 40°C'de yetiştirilen tüm deney gruplarında sağlıklı kök örnekleri elde edilemediğinden qRT-PZR'de APX gen ifadesine ait veri saptanamamıştır (Grafik 3.35).

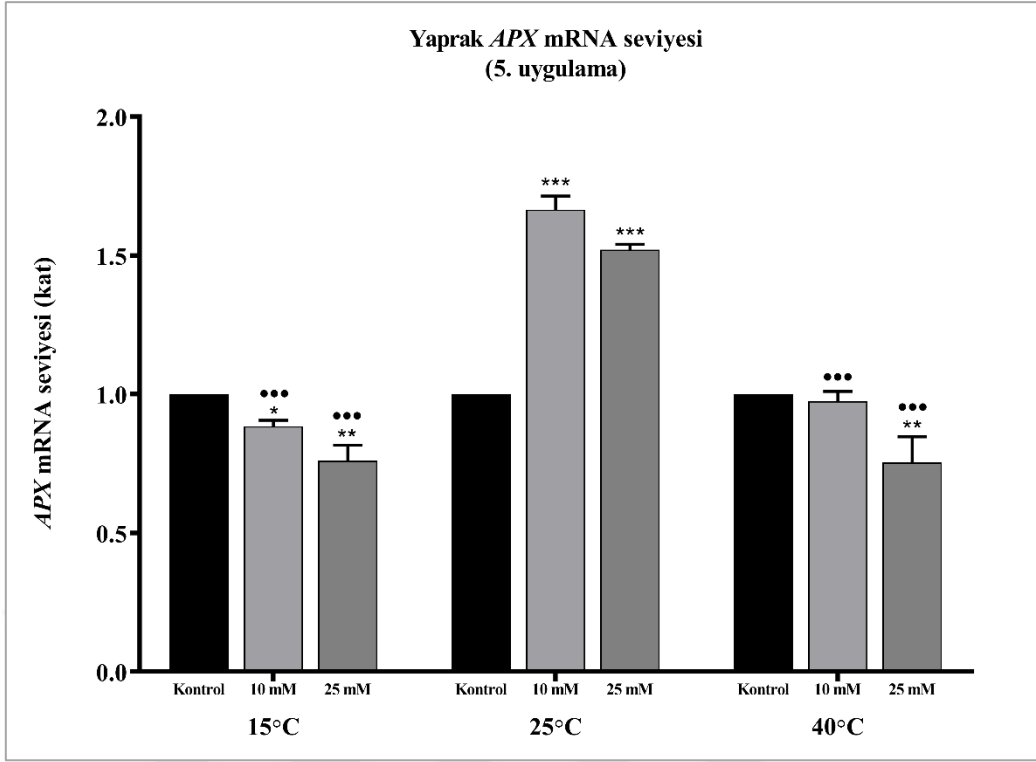


Grafik 3.35. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama kök örneğindeki *APX* mRNA seviyesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • $p < 0,05$; **, •• $p < 0,01$; ***, ••• $p < 0,001$)

Bitki örneklerinin 5. uygulamalarına ait yaprak *APX* gen ifadeleri karşılaştırıldığında, 25°C’de yetiştirilen örneklerin 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarında *APX* gen ifadesinin kontrole göre önemli oranda arttığı gözlenmiştir. 15°C’deki örneklerin artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak *APX* ifadesinin 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarında kontrole göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. 40°C’de yetişen örneklerin ise sadece 25 mM borik asit deney grubunda *APX* gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Deney grupları birbiriyle karşılaştırıldığında, 15°C ve 40°C’de yetişen örneklerin 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının 25°C’deki örneklere göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir.

Tüm bitki örnekleri göz önüne alındığında, en yüksek *APX* ifadesine (1,66) 25°C’de 10 mM borik asit deney grubunda rastlanırken, en düşük *APX* aktivitesine (0,75) ise 40°C’de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.36).

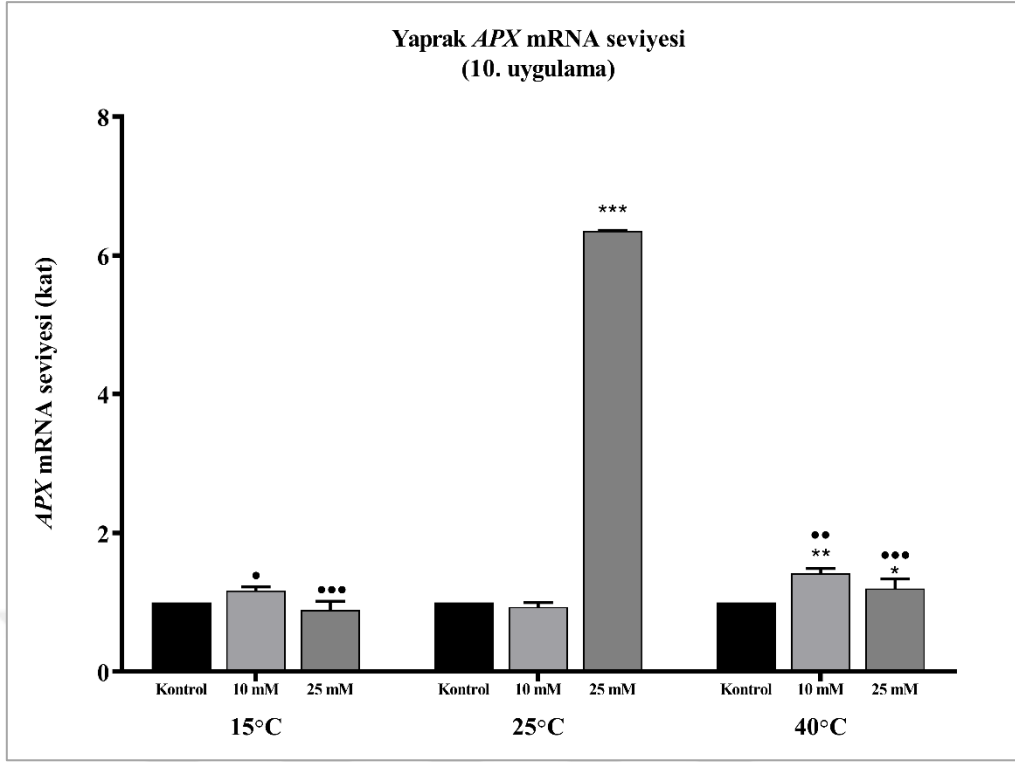


Grafik 3.36. Ayçiçeği bitkisinin 5. uygulama yaprak örneğindeki APX mRNA seviyesi (* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

10. uygulamaya ait yaprak örneklerinin APX gen ifadesi karşılaştırıldığında 25°C'deki örneklerden sadece 25 mM borik asit deney grubu APX gen ifadesinin, 40°C'deki örneklerin ise 10 mM ve 25 mM borik asit deney grubu APX gen ifadesinin kontrole göre önemli derecede arttığı gözlenmiştir.

Deney grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında, 15°C ve 40°C'deki 10 mM borik asit deney grubu APX gen ifadesinin 25°C'deki örneklere göre önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. 25 mM borik asit deney grubu karşılaştırıldığında ise 15°C ve 40°C'deki örneklerin APX gen ifadesinin 25°C'deki örneklere göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir.

Tüm bitki örnekleri göz önüne alındığında, en yüksek APX gen ifadesine (6,35) 25°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanırken, en düşük APX gen ifadesine (0,89) ise 15°C'de 25 mM borik asit deney grubunda rastlanmıştır (Grafik 3.37).



Grafik 3.37. Ayçiçeği bitkisinin 10. uygulama yaprak örneğindeki APX mRNA seviyesi
(* sıcaklıklar kendi içlerinde, • sıcaklıklar birbirleriyle; *, • p<0,05; **, •• p<0,01; ***, ••• p<0,001)

3.2. Tartışma

Bitkiler hareketsiz doğaları gereği yaşam döngüleri boyunca maruz kaldıkları biyotik ve abiyotik streslerden kaçamazlar. Bu sebeple bitkiler, çeşitli stres faktörlerini tanımak ve bu streslerle uyum sağlamak için morfolojik, anatomik, fizyolojik ve moleküler düzeyde çok çeşitli mekanizmalar geliştirirler (Jain ve Brar, 2009: 512). Bitkilerde strese sebep olan abiyotik faktörlerden biri sıcaklıktır. Özellikle son yıllarda etkisini gösteren küresel ısınma nedeni ile sıcaklıklarda meydana gelen değişimler tüm canlılarda olduğu gibi bitkiler için de sıcaklık faktörünü daha önemli hale getirmiştir. Her bitki türünün normal büyüme ve gelişme gösterebilmesi için optimum bir sıcaklık aralığı bulunmaktadır. Sıcaklığın optimum değerlerin altına düşmesi ya da üstüne çıkması organizma tarafında stres olarak algılanmaktadır (Kotak vd., 2007: 313). Bitkide strese sebep olan bir diğer faktör de mineral besin elementlerinin toprakta olması gereken düzeye göre eksik ya da fazla bulunmasıdır. Çalışmamızın konusunu oluşturan faktörlerden biri olan bor elementi bitkide birçok metabolik olayda rol oynayan önemli bir mikro besin elementidir. Alt ve üst sınırlarının bitki türüne göre değişiklik

göstermesi ve bu sınır değerlerin birbirine yakın olması stres oluşumunda bor elementini ön plana çıkarmaktadır (Brdar-Jokanović, 2020: 5).

3.2.1. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının ekolojik etkileri

Son yıllarda değişen iklim koşulları bitkilerin verimi ve ürün kalitesini olumsuz etkileyen önemli bir ekolojik sorun haline gelmiştir. Dokulara zarar verecek kadar yüksek sıcaklıklara maruz kalan bitkilerde gözle görülür değişimler, ekolojik özelliklerde meydana gelmektedir. Yüksek sıcaklık stresinin morfolojik semptomları arasında; yapraklarda ve dallarda klorozis, yaprak yaşlanması ve dökülmesi, sürgün ve kök büyümesinin engellenmesi yer almaktadır (Rodríguez vd., 2005: 3). Aynı zamanda hücrelerin mikrotübüllerinin ayrılmasını, uzamasını, mitotik hücrelerde mikrotübül asterlerinin oluşumu ve fragmoplast mikrotübüllerin uzamasını engellemektedir. Bu durum da devamında hücre bölünmesinin inhibisyonuna sebep olmaktadır (Smertenko et al., 1997: 1540). Yüksek sıcak stresinin bitki kök sistemi üzerindeki zararlı etkileri ise tipik olarak kök biyokütlesinde, kök sayısında, toplam bitki uzunluğunda ve metabolik aktivitelerde azalma ile karakterize edilmektedir (Huang vd., 2012: 8). Ayrıca yüksek sıcaklık stresi fotosentezde azalmaya, devamında ise fotosentezin azalmasına bağlı olarak sınırlı bitki büyümesine sebep olmaktadır (Wise vd., 2004: 722).

Bor toksisitesinin birincil fenotipik etkisi olarak genellikle bitki kuru ağırlığının azalması ve kök büyüme inhibisyonu görülmektedir (Turan vd., 2009: 100). Bor fazlalığı, kolşisin etkisine benzer bir etki göstererek mitoz bölünme sırasında kök ucu hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler yaratmaktadır (Liu vd., 2000: 50; Konuk vd., 2007: 77). Yaprak alanının, genişliğinin veya uzunluğunun ise yüksek bordan etkilenmediği belirtilmiştir (Yau vd., 1995: 187).

Çalışmamızda bitki örneklerine uygulanan iki abiyotik stresten sadece borik asidin etkisini ortaya koymak için kontrol sıcaklığı olan 25°C’de yetiştirilen örneklerin ekolojik parametreleri karşılaştırılmıştır. İki farklı borik asit konsantrasyonunun örnekler üzerindeki etkisi incelendiğinde 25°C’de 10 mM ve 25 mM borik asit uygulamasının kök ve gövde uzunluğunun kontrole göre düzenli bir şekilde ve önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ($p < 0,0001$) (Grafik 3.1). Çalışmamıza paralel olarak Nable ve arkadaşları (1988) buğday ve arpa ile yaptıkları çalışmada toksik miktarda borun genel kök zayıflığına ve yan köklerin büyümesinin azalmasına sebep olduğunu belirtmişlerdir (Nable, 1988: 181). Aynı şekilde iki farklı nohut çeşidi ile yapılan çalışmada, borik asidin artan konsantrasyonlarının Gökçe çeşidinde kök ve sürgün uzunluğunu artırdığı, Küsmen çeşidinde ise azalttığı belirtilmiştir

(Ardic vd., 2009: 334). Kök ve gövde uzunluğuna paralel olarak kök yaş ve kuru ağırlığının her iki borik asit konsantrasyonunda da kontrole göre azaldığı tespit edilmiştir (sırası ile $p<0,0001$; $p<0,01$) (Grafik 3.2). Ayrıca 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerin gövde yaş (sırası ile $p<0,0001$; $p<0,0001$) ve kuru ağırlığının (sırası ile $p<0,05$; $p<0,01$) da kontrole göre azaldığı belirlenmiştir (Grafik 3.3). Literatürde yapılan çalışmalar bulgularımızı desteklemektedir. Ayçiçeği ile yapılan bir çalışmada, bor stresine maruz kalan ayçiçeğinin önce yapraklarında önce hafif bir klorozun, devamında ana damarlar arasında koyu kahverengi nekrozların oluştuğu, aynı zamanda kök kuru ağırlığının ve bitki toplam kuru ağırlığının azaldığı bildirilmiştir (Blamey vd., 1997: 148). Domatesle yapılan bir araştırmada yüksek miktarda bor uygulamasının bitkinin yaş ve kuru ağırlığını önemli şekilde azalttığı ifade edilmiştir (Güneş vd., 2000: 506). Farklı genotipe sahip 70 adet durum buğdayıyla yapılan bir çalışmada ise toksik miktarlarda uygulanan borun etkilerinin ciddiyetinin genotipler arasında değişiklik gösterdiği; yüksek miktarda bor muamelesinin kuru madde ağırlığını bazı genotiplerde azalttığı, bazı genotiplerde artırdığı, bazı genotipler de ise etkilemediği bildirilmiştir (Torun vd., 2006: 56). Örneklerin biyokütleleri karşılaştırıldığında ise 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerin kök (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,0001$) ve gövde biyokütlesinin (sırasıyla $p<0,0001$ ve $p<0,0001$) kontrole göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Grafik 3.4). Buğday ile yapılan bir çalışmada bor toksisitesinin buğday bitkilerinin büyümesini inhibe ettiği ve biyokütlesini azalttığı belirtilmiştir (İrfan vd., 2019; 23).

Sadece yüksek sıcaklık stresinin ayçiçeği üzerindeki etkisini ortaya koymak için 40°C'de yetiştirilen kontrol grubu ile 25°C'deki kontrol grubu örnekleri karşılaştırılmıştır. Buna göre, 40°C'de kontrol grubunda yer alan bitki örneklerinin gövde ve kök uzunluğunun 25°C'de yetişen kontrol grubuna göre azaldığı istatistiksel olarak tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.1). Yüksek sıcaklık stresine ilgili literatürde yer alan diğer çalışmalar araştırmamızın bulgularını destekler niteliktedir. Tütün ile yapılan bir çalışmada sıcaklık stresinin mikrotübül organizasyonunun ve hücre dinamiğinin değiştiği, devamında ise hücre bölünmesi inhibisyonuna sebep olduğunu gözlenmiştir (Smertenko vd., 1997: 1540). Liu ve Huang'ın (2000) tavus otu ile yaptığı bir çalışmada sıcaklık stresinin yapraklarda klorofil içeriğini düşürdüğü hem yaprak hem köklerde elektrolit sızıntısını artırdığı belirtilmiştir (Liu ve Huang, 2000: 503). 40°C'de yetişen kontrol grubu örneklerinin kök yaş ağırlığının 25°C'deki kontrol grubuna göre azaldığı ($p<0,0001$), kök kuru ağırlığındaki değişimin ise istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Grafik 3.2). Gövde yaş ağırlığının ise diğer sonuçların aksine 40°C'de yetişen örneklerde 25°C'dekilere göre istatistiksel olarak arttığı ($p<0,01$), gövde kuru

ağırlığında ise istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.3). Naz ve arkadaşları (2018) patates ile yaptıkları bir çalışmada yaprak yaş ve kuru ağırlıklarının yüksek sıcaklık stresi ile belirgin bir şekilde azaldığını gözlemlemişlerdir (Naz vd., 2018: 229). Wahid ve arkadaşları (2006) benzer şekilde yüksek sıcaklık stresinin mısırdaki sürgün kuru ağırlığını ve nispi su içeriğini önemli ölçüde azalttığı bildirmişlerdir (Wahid, 2007: 221). Bavita ve arkadaşlarının (2012) buğday ile yaptığı başka bir çalışmada, buğdayın 2 gün süre ile yüksek sıcaklığa maruz kalması sonucu kök hücrelerinde yüksek miktarda O_2^- üretiminin sebep olduğu güçlü bir oksidatif stres gözlenmiş ve bu stres ile ilişkili olarak kök büyümesinin inhibe olduğu belirtilmiştir (Bavita vd., 2012: 377). Örneklerin biyokütlesi karşılaştırıldığında $40^\circ C$ 'deki kontrol grubuna ait gövde biyokütlesinde $25^\circ C$ 'deki örneklerle göre herhangi bir istatistiksel değişim yok iken, kök biyokütlesinde $25^\circ C$ 'deki kontrol grubuna göre istatistiksel bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p < 0,01$) (Grafik 3.4). Çalışmamıza paralel olarak; Rahman ve arkadaşları (2009) buğday ile yaptıkları çalışmada yüksek sıcaklık stresinin bitki büyümesini inhibe ettiğini, yaprak alanını ve bitki biyokütlesini azalttığını belirtmişlerdir (Rahman vd., 2009: 361). Meena ve arkadaşlarının (2016) guar fasulyesi ile yaptığı bir başka araştırmada ise yüksek sıcaklığın, net fotosentezde, yaprak alanında, biyokütle birikiminde ve tohum ağırlığında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (Meena vd., 2016: 800).

Çalışmamızı mevcut literatürden farklı kılan hipotez olan hem yüksek sıcaklık hem de iki farklı borik asit uygulamasının kombine etkilerini ortaya koymak için $40^\circ C$ 'deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan $25^\circ C$ 'deki deney gruplarımızla karşılaştırılmıştır. Buna göre $40^\circ C$ 'de, 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerde gövde (sırasıyla $p < 0,05$; $p < 0,0001$) ve kök (sırasıyla $p < 0,0001$; $p < 0,0001$) uzunluğu kontrol sıcaklığımız olan $25^\circ C$ 'deki örneklerle göre önemli bir azalma göstermiştir (Grafik 3.1). 10 mM borik asit örneklerinin kök yaş ağırlığı $25^\circ C$ 'deki örneklerle göre önemli bir azalma gösterirken ($p < 0,0001$), kök kuru ağırlığında istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir (Grafik 3.2). 25 mM borik asit örneklerinin kök yaş ($p < 0,0001$) ve kuru ($p < 0,05$) ağırlığının ise $25^\circ C$ 'deki örneklerle göre istatistiksel olarak azaldığı tespit edilmiştir (Grafik 3.2). $40^\circ C$ 'deki 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerin gövde yaş ağırlıkları (sırasıyla $p < 0,0001$; $p < 0,01$) $25^\circ C$ 'de yetişen örneklerle göre istatistiksel olarak azalırken, gövde kuru ($p < 0,05$) ağırlığında ise sadece 10 mM borik asit örneklerinde önemli bir azalma gözlenmiştir (Grafik 3.3). $40^\circ C$ 'deki 10 mM borik asit uygulanan örneklerin gövde ve kök biyokütlesi karşılaştırıldığında, gövde biyokütlesinin $25^\circ C$ 'deki örneklerle göre önemli ölçüde arttığı ($p < 0,0001$), kök biyokütlesinin ise istatistiksel olarak azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0,0001$) (Grafik 3.4). 25 mM borik asit grubunun gövde ve

kök biyokütlesinin ise 25°C'deki örneklerle göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.4). 40°C'deki bitki örneklerine ait tüm ekolojik parametrelerde artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak düzenli bir azalmanın olduğu ve bu azalmanın her bir parametre için istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4).

Yüksek sıcaklık ve borik asit uygulamasının kök ve gövde uzunluğu, kök-gövde yaş ve kuru ağırlığı ile kök-gövde biyokütlesine olan olumsuz etkileri hücre bölünmesinin inhibisyonu, fotosentez oranının düşmesi ve buna bağlı olarak organik madde birikiminin sınırlandırılması ile açıklanabilir. Ayrıca stres faktörlerinin kombine etkisinin bir sonucu olarak köklerin optimum gelişim sağlayamadığı ve buna bağlı olarak topraktan yeterli miktarda su ve suda çözülmüş besin elementlerini alamadığı ortaya konmuştur. Literatürdeki bu bilgiler ışığında kök ve gövde biyokütlesinde meydana gelen azalma ihtiyaç duyulan su ve organik maddelerin bitkide yeterince birikmemesi ve dolayısıyla kuru ağırlıktaki azalma ile açıklanabilir (Wahid, 2007: 221; Rahman vd., 2009: 361; Bavita et al., 2012: 377).

Bor stresi, bitkiyi başka abiyotik streslerle birlikte uygulandığında, tek uygulandığı durumdan daha fazla etkilemektedir. Çalışmamızın sonuçları ile paralel olarak acı biber ile yapılan bir çalışmada, tuz ve borun birlikte uygulandığı durumda stres faktörlerinin tek uygulandığı duruma göre daha etkili olduğu; artan tuz ve bor konsantrasyonlarının bitki toplam kuru ağırlık ve toplam klorofil içeriğini azalttığı bildirilmiştir (Supanjani ve Lee, 2006: 229). Çalışmamızın sonuçlarının aksine; literatürde aynı anda farklı abiyotik streslere maruz kalan bitkilerin gelişiminin olumlu yönde etkilendiğine dair araştırmalar da bulunmaktadır. Örneğin kuraklık stresine sahip ayçiçeği bitkisi ile yapılan bir çalışmada, bitkiye uygulanan bor takviyesinin (0, 15, 30 ve 45 ppm) bor ile ilişkili biyokimyasal süreçleri etkileyerek klorofil pigmentini, prolin içeriğinin birikimini ve besin alımını arttırdığı ve bu sayede bitkinin kuraklık stresiyle daha etkili bir biçimde başa çıkabildiği belirtilmiştir (Shehzad vd., 2018: 11). Ayrıca kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde bor uygulamasının karbonhidrat metabolizmasını teşvik ettiği, bitkideki fotosentetik oranı artırdığı bildirilmiştir (Waraich vd., 2012: 232). Kuraklık stresine sahip çay bitkisiyle yapılan bir başka çalışmada, bitkilere uygulanan bor takviyesinin (2,5 ve 46 μ M) bitkinin kök ve gövde kuru ağırlığını arttırdığı rapor edilmiştir (Hajiboland ve Bastani, 2012: 49). Yine kuraklık stresine sahip buğday bitkisinde yapılan bir başka çalışmada ise bor uygulamasının (50 ppm) bitkinin klorofil içeriğini ve fotosentez oranını arttırdığı belirtilmiştir (Abdel-Motagally ve El-Zohri, 2018: 184). Yüksek sıcaklık stresi altındaki pamuk bitkisiyle yapılan bir çalışmada bor takviyesinin (%0,1) yüksek sıcaklık

stresinin etkileri arasında olan düşük klorofil içeriği ve net fotosentez oranını iyileştirdiği bildirilmiştir (Sarwar vd., 2019: 14).

Bitkinin optimum yetiştirme sıcaklığının altında olan düşük sıcaklıklar tıpkı yüksek sıcaklıklarda olduğu gibi bitkide strese sebep olmaktadır. Düşük sıcaklık, kloroplast işlevini bozarak fotosentetik kapasiteyi düşürmekte, uzun süreli maruz kalmalarda ise büyümeyi durdurmaktadır (Allen ve Ort, 2001: 2). İlginç bir şekilde, düşük sıcaklık stresinin görünür etkileri ortaya çıkmadan önce bile, optimum altı düşük sıcaklığın yaprak büyümesini engellediği gözlenmiştir (Ben-Haj-Salah ve Tardieu, 1995: 868). Yaprak büyümesinin aynı zamanda yetersiz kök gelişimi ile de ilgili olduğu, yetersiz kök gelişiminin ise toprak sıcaklığıyla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Farooq vd., 2009: 502). Farklı bitki türleri ve bitki organlarında, elverişsiz çevresel koşullara verilen yanıtlardan en önemlisi hücre büyümesinin ve proliferasyonunun inhibisyonudur. Soğuk stresine maruz kalan bitkiler hücre döngüsünü uzatarak hücre üretimini azaltmaktadır. Azalmış hücre üretimi, bitkide daha yavaş büyümeye ve yaprak boyutunun daha küçük olmasına yol açmaktadır (Rymen et al., 2007: 1436) Soğuk stresi aynı zamanda fotosentez seviyesini de düşürmektedir bu da devamında bitkinin gelişimini sınırlandırmaktadır. Düşük sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde mikrotübüller kararsızlaşır ve depolimerize olurlar, bu durum da hücre bölünmesini inhibe eder (Ruelland vd., 2009: 38).

Çalışmamızda düşük sıcaklık stresinin ayçiçeği bitkisi üzerinde etkilerini belirlemek için örnekler 15°C'de yetiştirilmiştir. 15°C'deki kontrol grubu ile 25°C'de yetişen kontrol grubu karşılaştırıldığında kök ve gövde uzunluğunun 25°C'deki kontrol grubuna göre önemli bir azalma gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0,0001$) (Grafik 3.1). Literatürde düşük sıcaklık stresi ile ilgili çalışmalar, ekolojik parametrelere ait sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Mısır ile yapılan bir çalışmada soğuk stresinin kök gövde uzunluğunu ve fotosentezi azalttığı bildirilmiştir (Sowiński vd., 2005: 77). Bir başka soğuk stresi çalışmasında, soğuk stresinin mısırdaki azalan kök uzunluğuna, düşük hidrolik iletkenliğe, zayıf kök dallanmasına ve daha kalın kök eksenine sebep olduğu, bu durumun da bitkilerde mineral besin alımının azalmasına yol açtığı bildirilmiştir (Farooq et al., 2009: 511). Salatalıkla yapılan bir çalışmada ise salatalığın (*Cucumis sativus* L.) kök ucu hücrelerinde, 5 saatlik düşük sıcaklık (4°C) uygulamasından sonra, yalnızca plazma membranının altında değil, aynı zamanda organellerle ilişkili mikrotübüllerde de depolimerizasyonlar görüldüğü belirtilmiştir (Zhao vd., 2003: 36). Pirinçle yapılan bir çalışmada ise düşük sıcaklık stresinin hem kök ve gövde uzunluğunu hem

de kök ve gövde yaş ağırlığını azalttığı tespit edilmiştir (Hussain vd., 2016: 9). Soğuğa dayanıklı olmayan pirinç türüyle yapılan çalışmada, düşük sıcaklığın çimlenme indeksini ve koleoptil uzunluğunu azalttığı bildirilmiştir (Cruz ve Milach, 2004: 1). 15°C’de yetişen kontrol grubunun kök yaş ağırlığının 25°C’deki kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,0001$), kuru ağırlıkta ise istatistiksel olarak önemli bir değişikliğin olmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.2). Gövde yaş ve kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında, 15°C’deki kontrol grubuna ait gövde yaş ağırlığının ilginç bir şekilde 25°C’deki kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı gözlenirken ($p<0,0001$), gövde kuru ağırlığında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir (Grafik 3.3). Soğuk stresinin bitki gelişimini geciktirerek ciddi verim kayıplarına neden olduğu belirtilmiştir (Oliver vd., 2007: 8). Mısırla yapılan bir çalışmada soğuk stresinin yaprak boyutunda azalmaya ve hücre döngüsünde uzamaya sebep olduğu bildirilmiştir (Rymen vd., 2007: 1436). Karpuzla yapılan bir çalışmada düşük sıcaklık stresinin yaprak alanını, bitki boyunu, klorofil seviyesini, kök ve sürgün yaş-kuru ağırlığını azalttığı bildirilmiştir (Korkmaz ve Dufault, 2001: 408). Domatesle yapılan bir araştırmada ise, düşük sıcaklık stresinin gövde yaş ve kuru ağırlığını azalttığı bildirilmiştir (Adams vd., 2001: 876). Literatürde yer alan biyokütle çalışmalarına paralel olarak, 15°C’de yetişen kontrol grubunun gövde ve kök biyokütlesi karşılaştırıldığında biyokütlelerin 25°C’de yetişen örnekler göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.4). Salatalıkla yapılan bir çalışmada soğuk stresinin kök gelişimini ve biyokütlesini azalttığı, zayıf kök sistemine sahip olan bitkilerin ise azot, fosfor ve potasyum dahil olmak üzere çeşitli besin maddelerinin alımını azalttığı bildirilmiştir (Yan vd., 2012: 714; Hussain vd., 2018: 3). Mısırdaki yapılan bir diğer çalışmada ise düşük sıcaklık stresinin aynı zamanda kök uzunluğunu, kök biyokütlesini ve kök morfolojisini düzenleyerek kök büyümesini kısıtladığı belirtilmiştir (Cutforth vd., 1986: 54; Hussain vd., 2018: 3).

Literatüre göre bor, bitki tarafından yeterli miktarda alındığında bitkinin abiyotik stresleri tolere edebilmesine yardımcı olmaktadır. Düşük sıcaklıkta borik asit uygulamasının etkileri 15°C’deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan 25°C’deki deney gruplarımızla karşılaştırılarak ortaya konmuştur. Buna göre, 15°C’de yetişen 10 mM borik asit uygulanan örnekler 25°C’deki örneklerle karşılaştırılmış, kök ve gövde uzunluğunun 25°C’de yetişen örnekler göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Çalışmamızın en dikkat çekici sonuçlarına düşük sıcaklık ve yüksek borik asit uygulamasının kombine etkisinde rastlanmıştır. İlginç bir şekilde hem düşük sıcaklık stresi hem de borik asit stresi uygulanan örneklerde artan borik asit konsantrasyonu ile ekolojik parametreler kontrole göre artış

göstermiştir. 25 mM borik asit uygulanan örneklerin kök ve gövde uzunluğunun ise 25°C'de yetişen örneklerle göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.1). Kök yaş ve kuru ağırlığı incelendiğinde ilginç bir şekilde 15°C'de yetişen 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerin kök yaş ağırlığının 25°C'deki 10 mM borik asit örneklerine göre önemli ölçüde arttığı (sırası ile $p<0,0001$; $p<0,05$) görülürken, kuru ağırlıklarında istatistiksel olarak bir değişiklik tespit edilmemiştir (Grafik 3.2). Gövde yaş kuru ağırlıkları da 15°C'de 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerde gövde yaş (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,0001$) ve kuru ağırlığı da (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,01$) 25°C'deki örneklerle göre istatistiksel olarak önemli ölçüde artmıştır (Grafik 3.3). Gövde ve kök biyokütlesi karşılaştırıldığında, gövde biyokütlesinin 25°C'de yetişen 10 mM borik asit örneklerine göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), kök biyokütlesinin ise 25°C'de yetişen 10 mM borik asit örneklerine göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,0001$). 25 mM borik asit uygulanan örneklerin gövde biyokütlesi 25°C'deki örneklerle göre önemli ölçüde artarken ($p<0,01$), kök biyokütlesinde istatistiksel olarak bir değişim belirlenmemiştir (Grafik 3.4). 15°C'deki bitki örnekleri kendi içinde karşılaştırıldığında, kök uzunluğunun 10 mM ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerin kontrol grubuna göre önemli bir azalma gösterdiği (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,01$); gövde uzunluğunun ise önemli bir şekilde arttığı belirlenmiştir (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,0001$) (Grafik 3.1). 15°C'deki örneklerin kök yaş ve kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında, 10 ve 25 mM borik asit uygulanan örneklerin kök yaş ağırlığında, kontrole göre önemli bir azalmanın olduğu ($p<0,0001$), kuru ağırlığında ise önemli bir değişime rastlanmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.2). Gövde yaş ağırlığının 10 mM ve 25 mM borik asit örneklerinde (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,0001$); gövde kuru ağırlığında ise ($p<0,05$) sadece 25 mM borik asit örneklerinde kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış gösterdiği belirlenmiştir (Grafik 3.3). Gövde ve kök biyokütlesi karşılaştırıldığında 10 mM ve 25 mM borik asit örneklerinin ise artan borik asit konsantrasyonuna paralel olarak gövde biyokütlesinin 15°C'deki kontrole göre istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), kök biyokütlelerin de ise istatistiksel bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.4). Düşük sıcaklık stresine sahip bitkilere yapılan bor takviyesinin düşük sıcaklık stresinin sebep olduğu olumsuz etkileri azalttığı belirtilmiştir (M. Huang ve Guo, 2005: 756). Literatürde bizim sonuçlarımızdan bağımsız sonuçlarda bulunmaktadır. Acı biberi ile yapılan bir çalışmada tuzluluk ve bor stresinin birlikte uygulandığı durumda bitkinin kuru ağırlığını tek tek uyguladığı zamana göre daha fazla azalttığı bildirilmiştir (Supanjani ve Lee, 2006: 229). Xida 319 ve Xida 889 adlı iki çeşit mısır ile yapılan bir çalışmada ısı ve kuraklık stresinin birlikte uygulandığı durumda bitki boyunu, gövde çapını,

yaprak alanını, gövde kök yaş-kuru ağırlığını streslerin tek tek uygulandığı duruma göre önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Hussain vd., 2019: 2).

Çalışmamızda düşük sıcaklık ile yüksek konsantrasyondaki borik asit uygulamasının, beklenen sonuçların aksine gövdeye ait ekolojik parametrelerde istatistiksel olarak da desteklenen önemli bir artışa sebep olduğu belirlenmiştir. Düşük sıcaklıkta bitkinin su kaybının az olması, topraktan su alımını ve dolayısıyla suda çözünmüş olan bor elementinin alımını sınırlandırdığını düşündürmektedir. Bu sebeple borun bitkide toksik seviyelere ulaşmadığı ve bitkinin gövde gelişimini olumlu etkileyerek ekolojik parametreleri artırdığı öngörülmektedir. Düşük sıcaklık nedeni ile bitkide transpirasyonun az olması mobil bir element olan borun bitkinin toprak üstü kısımlarına hareketini kısıtlamakta ve düşük seviyelerde kalmasına sebep olmaktadır. Ancak köklerin toprakta biriken su ve suda çözünmüş haldeki borik asit ile sürekli temas halinde olması, kök gelişimi ile ilgili parametrelerin negatif yönde etkilendiğini düşündürmektedir.

Tolerans indeksi, bir bitkinin uygulanan bir ekolojik faktöre karşı gösterdiği dayanma sınırıdır (Sulus ve Leblebici, 2020: 4). Çalışmamızdaki her üç sıcaklıkta yetişen örnek gruplarında, bor tolerans indeksi artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre düzenli olarak azalmıştır ($p < 0,01$). 25°C ve 40°C'deki örneklerin bor tolerans indeksi diğer ekolojik parametrelerle paralel olarak artan borik asit konsantrasyonu ile azalma göstermektedir. Buğday bitkisiyle yapılan bir çalışmada en yüksek bor tolerans indeksine kontrol grubunda rastlanırken bor konsantrasyonu arttıkça tolerans indeksinin azaldığı bildirilmiştir (Ashagre vd., 2014: 137). Sülüş ve Leblebici (2020)'nin aspir bitkisinin üç farklı çeşidi ile yapmış oldukları çalışmada ise yüksek borik konsantrasyonlarının her üç çeşitte de bor toleransını azalttığı rapor edilmiştir (Sulus ve Leblebici, 2020: 4). 15°C'de bor tolerans indeksi 25°C ve 40°C'de olduğu gibi artan bor konsantrasyonuna bağlı olarak azalmaktadır. Oysaki diğer sıcaklıklardan farklı olarak 15°C'de gövde uzunluğu, gövde yaş ve kuru ağırlığı gibi ekolojik parametrelerin artan borik asit konsantrasyonlarına bağlı olarak artması bor tolerans indeksinin de yüksek olması beklentisini artırmaktadır. Ancak borik asit tolerans indeksi kök uzunluğuna bağlı olduğundan, 15°C'deki kök uzunluğu da diğer sıcaklıktakilere benzer şekilde azaldığı için borik asit tolerans indeksi 15°C'de de azalmıştır (Grafik 3.5).

3.2.2. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının lipid peroksidasyonu üzerine etkileri

Toprak suyunun fazlalığı ya da eksikliği, mineral besin elementlerinin fazlalığı ya da eksikliği, yüksek veya düşük sıcaklıklar gibi çeşitli abiyotik faktörler bitkilerde oksidatif strese sebep olmaktadır. Oksidatif stres sonucu oluşan yüksek reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasara duyarlı ana hücrel bileşenlerden biri, lipidlerdir. Bu sebeple oksidatif stresin varlığını ortaya koyabilmek için ilk olarak MDA içeriği belirlenmelidir (Labudda, 2013: 4).

Oksidatif strese neden olan yüksek miktardaki borik asit diğer abiyotik stres faktörlerinde olduğu gibi bitkide reaktif oksijen türlerini ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunu arttırmaktadır. Çalışmamızda bitki örneklerine uygulanan iki abiyotik stresten sadece borik asidin etkisini ortaya koymak için kontrol sıcaklığı olan 25°C'de yetiştirilen deney gruplarına ait MDA içeriği araştırılmıştır. 5. uygulama örneklerinin MDA içeriği karşılaştırıldığında 25°C'de 10 mM borik asit uygulanan örneklerin MDA içeriğinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,05$), 25 mM borik asit deney grubu örneklerinin MDA içeriğinin ise kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.6). 25°C'de yetiştirilen 10. uygulamaya ait bitki örneklerinin 10 mM ve 25 mM deney gruplarının MDA içeriğinin artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre düzenli olarak önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.7).

Bor toksisitesinin MDA içeriği üzerindeki etkisiyle ilgili literatürde yer alan çalışmaların büyük çoğunluğu sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. Buğday tohumlarıyla yapılan çalışmalarda, bor toksistesinin MDA içeriğini kontrole göre arttırdığı bildirilmiştir (Mohamed vd., 2016: 240; Genisel vd., 2017: 5). Mısır bitkisinin kökleriyle yapılan bir başka çalışmada toksik miktarlarda bor uygulanan mısır köklerinin MDA içeriğinin kontrole göre arttığı belirtilmiştir (Esim vd., 2013: 802). Toleranslı ve hassas olmak üzere iki farklı arpa çeşidiyle yapılan bir çalışmada, bor toksisitesinin, her iki çeşidin de MDA içeriklerinde konsantrasyona bağımlı bir şekilde önemli bir artışa neden olduğu belirtilmiştir (Karabal vd., 2003: 929). Benzer şekilde mercimek ve arpa bitkileriyle yapılan bir başka çalışmada da bor toksisitesinin iki bitkide türünde MDA içeriğini kontrole göre arttırdığı bildirilmiştir (Tepe ve Aydemir, 2011: 4). Sekiz farklı patates çeşidiyle yapılan bir çalışmada ise sonuçlarımızdan farklı bulgular elde edilmiştir. Çalışmada patates çeşitlerine 0,5; 2,5 ve 5 mM olmak üzere üç farklı borik asit konsantrasyonu uygulanmıştır. Morene çeşidinde, MDA içeriği 0,5 mM bor konsantrasyonunda azalırken; Armada, Slaney, Konsul ve Poroventa çeşitlerinde, MDA içeriği

her bir borik asit konsantrasyonunda dalgalı sonuçlar vermiştir. Jaerla çeşidinde ise, MDA içeriğinin kontrol grubuna göre tüm konsantrasyonlarda azaldığı ifade edilmiştir (Ayvaz vd., 2015: 50).

Yüksek MDA içeriği, membran lipid peroksidasyonunun birincil göstergesidir. Optimum sıcaklık koşulları altında bitkiler, reaktif oksijen türlerinin üretilmesi ve temizlenmesi arasında bir denge sağlamaktadır. Yüksek sıcaklık stresi ise bu dengeyi bozabilir. Böylece reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak ya da hücrede oluşan radikal temizleme yeteneğini azaltarak lipid peroksidasyonunu arttırabilir (Amutha vd., 2007: 237). Sadece yüksek sıcaklık stresinin ayçiçeği bitkisi üzerindeki etkisini ortaya koymak için 40°C'de yetiştirilen kontrol grubu ile 25°C'deki kontrol grubu örnekleri karşılaştırılmıştır. Çalışmamızın 5. ve 10. Borik asit uygulamasında 40°C'deki kontrol grubunun MDA içeriğinin 25°C'deki kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.6; 3.7).

Yüksek sıcaklık ve borik asit uygulamasının kombine etkileri 40°C'deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan 25°C'deki deney gruplarımızla karşılaştırılarak ortaya konmuştur. 40°C'de her iki borik asit deney grubunun MDA içeriğinin 25°C'deki deney gruplarının MDA içeriğine göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.6). 40°C'deki 10. uygulama 10 mM borik asitte yetişen örneklerin MDA içeriğinin 25°C'deki örneklerle göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,05$) (Grafik 3.7). 40°C'deki 10. uygulama 25 mM borik asitte yetişen örneklerin MDA içeriğinin ise 25°C'deki örneklerle göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.7). 5. ve 10. uygulama 40°C'de yetişen örneklerle ait MDA içeriğinin artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak düzenli olarak arttığı bu artışın her iki borik asit uygulaması için istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.6; 3.7).

Literatürde yer alan çalışmalar sonuçlarımız ile oldukça uyumludur. Ayçiçeği, buğday, salkım otu ve tavus otu ile yapılan çalışmalarda, yüksek sıcaklık uygulanan bitki örneklerinde lipid peroksidasyonunun yani MDA içeriğinin kontrole göre arttığı bildirilmiştir (Liu ve Huang, 2000: 506; Sairam vd., 2000: 248; Amutha vd., 2007: 237; Bavita vd., 2012: 376; Li vd., 2014: 589) Paskalya zambağı ile yapılan bir çalışmada, bitki örneklerine 20°C (kontrol sıcaklığı), 37°C, 42°C ve 47°C olmak üzere dört farklı sıcaklık uygulanmıştır. 10 saat süre ile 37°C ve 42°C'ye maruz bırakılan bitki örneklerinin MDA içeriğinin kontrole göre az miktarda yükseldiği, 10 saat süre ile 47°C'ye maruz kalan örneklerde ise MDA içeriğinin kontrole göre artışının daha fazla olduğu belirtilmiştir (Yin vd., 2008: 48). Arpa ile yapılan bir başka

çalışmada ise arpa çeşitlerine 35°C ve 45°C sıcaklık uygulandığı ve bitki örneklerinin her bir sıcaklıkta sırası ile 2, 4, 6 ve 8 saat tutulduğu bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda tüm arpa çeşitlerinde dört farklı süre ile uygulanan her iki yüksek sıcaklık derecesinde yetişen örneklerde MDA içeriğinin kontrole göre arttığı bildirilmiştir (El-Shintinawy vd., 2004: 19).

Oksidatif hasarı değerlendirmek için bir gösterge olarak kullanılan MDA içeriği yüksek sıcaklıklarda olduğu gibi düşük sıcaklıklarda da oksidatif stresi belirteci olarak kullanılmaktadır (Fan vd., 2014: 1). Çalışmamızda sadece düşük sıcaklık stresinin ayçiçeği bitkisi üzerindeki etkilerini gözlemlemek için örnekler 15°C’de yetiştirilmiştir. 5. uygulamada 15°C’deki kontrol grubunun MDA içeriğinin 25°C’de yetişen kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$) (Grafik 3.6) 10. uygulamada ise MDA içeriğinin 25°C’deki kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.7).

Düşük sıcaklık ve borik asit uygulamasının etkileri 15°C’deki bitki grupları ile kontrol sıcaklığı olan 25°C’deki bitki gruplarının karşılaştırılması ile ortaya konmuştur. 15°C’de 5. uygulama 10 mM borik asit örneklerinin MDA içeriği 25°C’deki 10 mM borik asit örneklerine önemli ölçüde artmıştır ($p<0,0001$). 15°C’de 25 mM borik asit deney grubunun MDA içeriği ise 25°C’deki örneklere göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.6). 15°C’de 10. uygulamadaki 10 mM ve 25 mM BA deney gruplarının MDA içeriğinin kontrol sıcaklığımız olan 25°C’deki deney gruplarına göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.7). Çalışmamızda düşük sıcaklık ve iki farklı borik asit uygulamasının kombine etkileri 15°C’deki bitki örneklerinin kendi içinde karşılaştırılması ile belirlenmiştir. 15°C’de 5. ve 10. Uygulamaya ait bitki örneklerinin MDA içeriği hem 10 mM hem de 25 mM borik asit deney grubunda 15°C’deki kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede arttığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.6; 3.7). Düşük sıcaklık stresine maruz bırakılan kahve bitkisi ile yapılan bir çalışmada MDA içeriğinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Campos vd., 2003: 285). Düşük sıcaklık stresinde yetiştirilen mısır ve pirinç ile çilek bitkisine ait yapraklarda benzer şekilde düşük sıcaklıkta MDA içeriğinin arttığı belirtilmiştir (Fryer et al., 1998: 11; Yong et al., 2008: 461; Zhang et al., 2008: 4, Hussain et al., 2016: 6) Yonca ile yapılan bir çalışmada, soğuk stresi uygulanan bitkilerde MDA içeriğinin önemli ölçüde arttığı, soğuk stresi uygulaması bitip bitki iyileşme dönemine girdiğinde ise MDA içeriğinin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (Bafeel ve İbrahim, 2008: 596).

Literatürde yer alan çalışmalara paralel olarak, çalışmamızda da MDA içeriğinin 5. ve 10. borik asit uygulamasında nasıl değiştiği araştırılmıştır. 25°C’de yetişen örneklerin 5.

uygulamasında MDA içeriği 10 mM borik asitte uygulamasında kontrole göre azalmış, 25 mM borik asitte ise artmıştır. 10. uygulamada ise MDA içeriği artan borik asit konsantrasyonuna bağlı düzenli olarak önemli ölçüde artmıştır. 15°C'deki örneklerin 5. ve 10. uygulamadaki MDA içeriği artan borik asit konsantrasyonuna göre bir artış göstermiştir. Ancak 10. uygulamadaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 40°C'deki örneklerde ise her iki uygulamadaki MDA içeriğinin artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Ayrıca 25°C'de yetişen bitkilerin tüm deney gruplarında 10. uygulamadaki MDA içeriğinin 5. uygulamadaki deney gruplarına göre arttığı tespit edilmiştir. 15°C'de yetişen örneklerin 10. uygulamadaki kontrol ve 10 mM bitki örneklerinde MDA içeriğinin 5. uygulamaya göre arttığı 25 mM borik asit örneklerinde ise azaldığı belirlenmiştir. 40°C'de yetişen örneklerin tüm deney grupları karşılaştırıldığında 10. uygulamadaki MDA içeriğinin 5. uygulamaya göre arttığı tespit edilmiştir. Literatürdeki çalışmalar bulgularımızı destekler niteliktedir. Bermuda çimi ile yapılan bir çalışmada soğuk ile muameleden sonra bitkilerin 1. ve 3. günlerinde yaprak dokularının MDA içeriğinin arttığı ifade edilmiştir. Aynı zamanda MDA içeriklerinin 1. günde 3. güne göre 2 kat daha yüksek olduğunu ve soğuk ile muamele süresinin uzamasıyla MDA içeriğinin azaldığını bildirmişlerdir (Fan vd., 2014: 4). Çalışmamızdan farklı olarak, iki farklı pirinç çeşidi ile yapılan bir araştırmada düşük sıcaklık uygulandıktan sonra, Xiangnuo-1 çeşidinde MDA içeriğinin bir miktar arttığı, ancak düşük sıcaklık muamelesine devam edildiğinde azaldığı; IR-50 çeşidinin MDA içeriğinin ise stresle ilk muamelede ve devamında hızla arttığı belirtilmiştir (Huang ve Guo, 2005: 82). Çalışmamız, artan borik asit konsantrasyonlarına paralel olarak MDA içeriğinin de arttığını göstermektedir. İlginç bir şekilde 25°C'de ve 40°C'de yetişen bitkilerin 10. uygulamasının MDA içeriği 5. uygulamasına göre artarken, 15°C'de yetişen bitkilerin 10. uygulamasının MDA içeriği 5. uygulamasına göre azalmıştır. Bu durum, devam eden abiyotik streslerin 25°C'de ve 40°C'de oksidatif stresin artmasına sebep olmasıyla açıklanabilirken, 15°C'de uygulanan borik asit konsantrasyonlarının bitkinin düşük sıcaklık stresini tolere edebilmesine yardımcı olmasıyla açıklanabilir.

3.2.3. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının toplam protein üzerine etkileri

Yüksek ve düşük sıcaklıklar, mineral elementlerin fazlalığı ve eksikliği, kuraklık gibi çeşitli stres koşulları altında bitkiler, stres tolerans mekanizmasında yer alan proteinleri sentezlerler. Abiyotik stres faktörlerinin devamlılığı bitki büyüme ve gelişimini olumsuz

etkileyen protein sentezinin inhibisyonuna sebep olmaktadır (Wahid vd., 2007: 201). Bu nedenle abiyotik streslere maruz kalan bitkilerde toplam protein miktarında değişiklik görülmektedir (Mahboobi vd., 2000: 395).

Borun bitki metabolizmasındaki rolü halen tam olarak anlaşılmamış olsa da, hücre duvarının sentezlenmesi, membran bütünlüğü, fotosentez ürünlerinin bitkinin diğer organlarına taşınması, karbonhidrat ve protein metabolizması gibi önemli biyokimyasal olaylarda bora ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir (Cervilla et al., 2009: 672; Barut et al., 2018: 34). Yüksek miktarda borun fotosentez, enerji metabolizması, antioksidasyon, detoksifikasyon, proteoliz ve hücre naklinde görev alan çeşitli proteinlerin miktarını artırdığı belirtilmiştir (Sang vd., 2015: 1). Çalışmamızda bitki örneklerine uygulanan iki abiyotik stresten sadece borik asidin etkisini ortaya koymak için kontrol sıcaklığı olan 25°C’de yetiştirilen 10 mM ve 25 mM borik asit deney grubunun yaprak ve köklerine ait toplam protein miktarları kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. 25°C’de 5. uygulamada 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının yaprak ($p<0,0001$) ve köklerine ait (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,0001$) toplam protein miktarı kontrole göre önemli bir artış göstermiştir (Grafik 3.8). 10. uygulamada 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının yaprak ($p<0,0001$) ve köklerine ait ($p<0,01$) toplam protein miktarında da benzer şekilde kontrole göre istatistiksel bir artış görülmüştür (Grafik 3.9). Toplam protein miktarı ile ilgili bilgiler çalışmamızın sonuçları ile paralellik göstermektedir. Arpa çeşitleriyle yapılan bir çalışmada toksik miktarda bor uygulanmasının toplam protein miktarını kökte az miktarda, yaprakta ise önemli miktarda arttırdığı belirtilmiştir (Mahboobi vd., 2000: 395). Buğday yapraklarıyla yapılan bir çalışmada benzer şekilde borik asit uygulamasının yapraklardaki toplam protein miktarının arttırdığı bildirilmiştir (Wimmer vd., 2003: 5). Üzüm çeşitleriyle yapılan bir çalışmada ise bor uygulamasıyla birlikte toplam protein miktarının arttığı belirtilmiştir (Sarabandi vd., 2019: 359). Çalışmamızdan farklı olarak *Arabidopsis thaliana* yaprakları ile yapılan bir çalışmada toplam protein miktarının, bor stresi koşulları altında önemli ölçüde değişmediği belirtilmiştir (Chen vd., 2014: 237). İki farklı narenciye türü ile yapılan çalışmada ise, bor fazlalığının Xuegan çeşidinde (toleranslı) toplam protein miktarını arttırırken Sour pummel çeşidinde (hassas) ise azalttığı bildirilmiştir (Guo vd., 2016: 4).

Yüksek sıcaklık, proteinlerin ve enzimlerin denatüre olmasına, buna bağlı olarak bitki metabolizmasındaki biyokimyasal ve moleküler düzeyde değişikliklerin meydana gelmesine neden olmaktadır (Gülen ve Eris, 2004: 742). Sadece yüksek sıcaklığın ayçiçeği üzerindeki

etkisini ortaya koymak için 40°C’de yetiştirilen kontrol grubu ile 25°C’deki kontrol grubu örnekleri karşılaştırılmıştır. 40°C’de yetişen 5. uygulama kontrol grubunun yaprak ($p<0,0001$) ve köklerine ait ($p<0,01$) toplam protein miktarının, 25°C’de yetiştirilen 5. uygulama kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir (Grafik 3.8). 40°C’de yetiştirilen 10. uygulama kontrol grubunun yapraktaki toplam protein miktarının 25°C’deki kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), ancak köke ait toplam protein miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.9). Armutla yapılan bir çalışmada, örnekler 8 saat boyunca 39, 42 ve 45°C sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Protein yıkımının zamanla 42°C ve 45°C’de arttığı, ancak 39°C’de ilk 2 saatte arttığı sonrasında azaldığı bildirilmiştir (Ferguson vd., 1994: 6). 30, 35, 40 ve 45°C’de yetiştirilen çilek bitkisiyle yapılan bir çalışmada toplam protein miktarının yüksek sıcaklık stresiyle birlikte azaldığı belirtilmiştir (Gulen ve Eris, 2004: 742; Ergin vd., 2016: 913). Domates kökleriyle yapılan bir çalışmada yüksek sıcaklığa maruz kalan bitki örneklerinin toplam protein miktarında azalma olduğu rapor edilmiştir (Giri vd., 2017: 5). Tavus otlarıyla yapılan bir çalışmada, bitki örnekleri 30, 35 ve 40°C’de yetiştirilmiş, uygulanan tüm sıcaklıklarda toplam protein miktarının kontrole göre azaldığı belirtilmiştir (He vd., 2005: 845). Kanola bitkisiyle yapılan çalışmada da benzer şekilde yüksek sıcaklık stresinin toplam protein miktarını azalttığı bildirilmiştir (Pourabdollah Najafabadi vd., 2015: 34). Soya fasulyesi ile yapılan bir çalışmada örnekler 28, 36 ve 42°C’de yetiştirilmiştir. 28 ve 36°C’de örneklerin toplam protein miktarının belli bir seviyeye kadar arttığı, 42°C’de ise ani bir azalmanın olduğu belirtilmiştir (Krishnan vd., 2020: 10).

Yüksek sıcaklıkta ve borik asit uygulamasının etkileri 40°C’deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan 25°C’deki deney gruplarımızla karşılaştırılarak ortaya konmuştur. 40°C 5. ve 10. uygulamadaki 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarında yaprak toplam protein miktarı 25°C’deki deney gruplarına göre önemli ölçüde artış göstermiştir (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,0001$) (Grafik 3.8; 3.9). 40°C’de 5. uygulama 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarında kök toplam protein miktarı 25°C’deki deney gruplarına göre önemli ölçüde azalırken ($p<0,0001$), 10. uygulamada ise istatistiksel bir değişime rastlanmamıştır (Grafik 3.8; 3.9). Çalışmamızda yüksek sıcaklık ve iki farklı borik asit uygulamasının kombine etkileri 40°C’de yetiştirilen bitki örnekleri kendi içinde karşılaştırılarak belirlenmiştir. 5. uygulamada artan borik asit konsantrasyonuyla birlikte yapraktaki toplam protein miktarının kontrole göre ölçüde arttığı (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,0001$), kökteki toplam protein miktarının ise önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.8). 10. uygulamada hem 10 mM hem de 25 mM borik asit deney gruplarında yapraktaki toplam protein miktarının kontrole göre önemli

ölçüde arttığı ($p<0,0001$), kökteki toplam protein miktarının ise sadece 25 mM borik asit deney grubunda istatistiksel olarak artış gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.9).

Düşük sıcaklığa maruz kalma genellikle bitkilerde çözünür proteinler, apoplastik protein (antifriz aktivitesine sahip), enzimler, fenolikler gibi fizyolojik ve ilerleyen aşamalarda moleküler değişikliklere neden olmaktadır. Bu durum bitkinin yaralanmaya direnme veya düşük hayatta kalma yeteneği ile karakterize edilen bir alışma tepkisine neden olabilmektedir. Düşük sıcaklıklarda bitki hücrelerinin protein içeriklerini artırarak donma noktalarını düşürmeye çalıştıkları, böylece hücresel organelleri ve plazma zarını soğğun neden olduğu hasardan korudukları bilinmektedir (Zaro vd., 2019: 881).

Bitkilerde azalan sıcaklıklara yanıt olarak artan protein içeriği, hücrelerin normal işleyişini bozmadan düşük sıcaklıkları tolere edebileceğini gösterir, çünkü sadece hasar görmemiş hücreler protein üretebilmektedir (Koç vd., 2010: 1). Literatürde yer alan bu bilgiye istinaden çalışmamızda sadece düşük sıcaklık stresinin ayçiçeği üzerindeki etkisini ortaya koymak için 15°C’de yetiştirilen kontrol grubu ile 25°C’deki kontrol grubu örnekleri karşılaştırılmıştır. 15°C’de yetiştirilen 5. ve 10. uygulama kontrol grubunun yaprak ($p<0,0001$) ve köklerine ait (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,0001$) toplam protein miktarının 25°C’de yetiştirilen kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir (Grafik 3.8, 3.9).

Düşük sıcaklıkta borik asit uygulamasının etkileri 15°C’deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan 25°C’deki deney gruplarımızla karşılaştırılarak ortaya konmuştur. 15°C’de 5. ve 10. Uygulamaya ait 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının yaprak toplam protein miktarı 25°C’deki deney gruplarına göre önemli ölçüde artmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.8, 3.9). 15°C’de 5. uygulama 10 mM borik asit deney grubunun kök toplam proteini 25°C’deki deney grubuna göre önemli ölçüde artarken ($p<0,0001$), 25 mM borik asit deney grubunun kök toplam proteini 25°C’deki deney grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.8). 15°C’de 10. uygulama deney gruplarından sadece 25 mM borik asit örneklerine ait kök toplam proteininin 25°C’deki örneklere göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.9). Protein içeriği aynı bitki türünün çeşitlerine göre değişiklik gösterebileceği gibi maruz kaldıkları sıcaklığa göre de değişiklik gösterebilir. Çünkü bitkiler soğuk stresine farklı tepkiler verebilirler (Zaro vd., 2019: 883). Biri soğğa hassas diğeri toleranslı iki biber çeşidiyle yapılan bir çalışmada, soğuk ile muamele edilmiş KM-121 ve Mert fidelerinin gövde ve yapraklarındaki toplam çözünebilir protein içeriğinin, kontrol fidelerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Koç vd., 2010: 2). Buğday yaprakları ve soya fasulyesi

ile yapılan bir çalışmada düşük sıcaklık stresinin toplam protein miktarını artırdığı bildirilmiştir (Pinedo vd., 2000: 365; Zeindali-Yadegari vd., 2007:4).

Çalışmamızda düşük sıcaklık ve iki farklı borik asit uygulamasının kombine etkileri 15°C’de yetiştirilen bitki örnekleri kendi içinde karşılaştırılarak belirlenmiştir. 15°C’de 5. uygulama 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam proteini kontrole göre önemli ölçüde azalırken ($p<0,0001$), 25 mM borik asit uygulanan örneklerin yaprak toplam proteini kontrole göre önemli ölçüde artmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.8). 15°C’de 5. uygulama 10 mM borik asit uygulanan örneklerin kök toplam proteini kontrole göre önemli ölçüde artarken ($p<0,01$), 25 mM borik asit deney grubunun kök toplam proteini kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.8). 15°C, 10. uygulamada sadece 25 mM borik asit örneklerine ait yaprak toplam proteininin kontrole göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), 10 mM ve 25 mM borik asit örneklerine ait kök toplam proteininin ise kontrole göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$) (Grafik 3.9). Daha önce yapılan çalışmalar bulgularımızla paralellik göstermektedir. Altı avokado çeşidi ile yapılan bir çalışmada, bitki örnekleri -2,5°C, -4°C, -5°C ve -6°C’de yetiştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda Geadá, Fortuna, Fuerte, Quintal ve Primavera çeşitlerinde protein içeriğinin tüm sıcaklıklarda önemli derecede azaldığı, Margarida çeşidinde ise protein içeriğinin, düşük sıcaklıklara tepki olarak değişmeden kaldığı rapor edilmiştir (Zaro vd., 2019: 884). Fasulye, mısır ve buğday ile yapılan bir başka çalışmada ise düşük sıcaklık stresinin mısır ve buğdayda toplam protein miktarını artırdığı, fasulyede ise azalttığı bildirilmiştir (Demir, 2019: 124).

3.2.4. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının fizyolojik etkileri

Abiyotik stresinin neden olduğu hücrel değişiklikler, hücrelerde toksik bileşenlerin aşırı birikmesine bu da devamında bitkide strese neden olmaktadır. Bu nedenle stres toleransının gelişebilmesi, strese yanıt olarak sürekli üretilen reaktif oksijen türlerini nötralize edebilen antioksidan bileşiklere ve antioksidan enzim sistemlerinin aktif hale gelmesine dayanmaktadır (Balla vd., 2007: 1). SOD enzimi tüm aerobik organizmaların oksidatif strese karşı savunma mekanizmasında merkezi bir rol oynamaktadır (Scandalios, 1993: 7). Enzimatik bir antioksidanlardan bir diğeri olan katalaz, hidrojen peroksidi (H_2O_2) yüksek verimlilikle suya ve oksijene indirgeyerek hücrel oksidatif hasarı önleyen önemli bir role sahiptir (Sharma vd., 2012: 7). Askorbat peroksidaz, AsA-GSH döngüsünün merkezi bir bileşenidir ve hücre içi ROS seviyelerinin kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Yüksek sıcaklık stresinin ve bor

toksitesitesi gibi abiyotik streslere sahip bitkiler antioksidan enzimlerden APX aktivitesini düzenlemektedir (Bavita vd., 2012: 374).

Optimal değerlerin üzerindeki bor seviyesinin tüm antioksidan enzimlerde olduğu gibi SOD, CAT ve APX aktivitelerini etkilediği bilinmektedir (Genisel vd., 2017: 2). Bununla birlikte, literatürde bor toksitesitesinin antioksidan enzimlerin aktivitelerini azalttığı mı yoksa artırdığı mı hususunda bazı tartışmalar vardır.

Çalışmamızda bitki örneklerine uygulanan iki abiyotik stresten sadece borik asidin etkisini ortaya koymak için kontrol sıcaklığı olan 25°C’de yetiştirilen deney gruplarının toplam SOD, CAT ve APX aktiviteleri kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Hem 5. hem de 10. uygulamada artan borik asit konsantrasyonuyla köklerdeki toplam SOD aktivitesi kontrole göre artmıştır (sırasıyla $p<0,0001$ ve $p<0,01$) (Grafik 3.10; 3.11). 5. uygulama deney gruplarının kök toplam CAT aktivitesinde kontrole göre istatistiksel bir değişim yokken, 10. uygulama deney gruplarının kök toplam CAT aktivitesinde kontrole göre önemli ölçüde azalma tespit edilmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.14, 3.15). 5. uygulamada sadece 10 mM borik asit deney grubunun toplam kök APX aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde artarken, 10. uygulamada sadece 25 mM borik asit deney grubunun toplam kök APX aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde artmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.18, 3.19). Örneklerin 5. uygulama deney grubunun yapraklarına ait toplam SOD aktivitesinin sadece 25 mM borik asit konsantrasyonunda önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), 10. uygulamada ise 10 mM ve 25 mM deney gruplarında kontrole göre düzenli bir şekilde önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.12; 3.13). CAT aktivitesinde ise, 5. ve 10. uygulamada artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak iki deney grubunda da kontrole göre düzenli bir şekilde önemli ölçüde bir azalma belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.16, 3.17). APX aktiviteleri karşılaştırıldığında; 25°C’de 5. uygulamada 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), 25 mM borik asit deney grubunun toplam yaprak APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.20). 25°C’de 10. uygulamada hem 10 mM hem 25 mM borik asit konsantrasyonlarında yaprak toplam APX aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.21). Literatürde bizim sonuçlarımızla örtüşen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Buğdayla yapılan bir çalışmada yüksek miktarda bor uygulamasının SOD, CAT ve APX aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Genisel vd., 2017: 4). İki çeşit nohutla yapılan bir çalışmada, 1,6 ve 6,4 mM borik asit uygulamasının hem Gökçe hem de Küsmen çeşidinde SOD aktivitesini artırdığı, APX

aktivitesini ise azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca yine aynı çalışmada CAT aktivitesinin Gökçe çeşidinde arttığı, Küsmen çeşidinde ise azaldığı rapor edilmiştir (Ardıç vd., 2009: 333). Mısır ile yapılan başka bir çalışmada, bitkilere 2 ve 4 mM borik asit uygulanmış ve hem 11. hem 15. günde SOD ve CAT aktivitesinin değişimi incelenmiştir. Hem artan borik asit konsantrasyonuna hem de uygulanma süresine paralel olarak SOD ve CAT aktivitesinin arttığı belirtilmiştir (Esim vd., 2013: 802). Biri duyarlı biri dirençli iki çeşit arpa ile yapılan bir çalışmada, 5 ve 10 mM borik asit uygulamasının her iki çeşitte de hem yaprakta hem kökte SOD, CAT ve APX aktivitesini arttırdığı; ayrıca CAT aktivitesinde yapraklardaki aktivite artışının köklere göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Karabal vd., 2003: 931). Mercimek ve arpa ile yapılan bir çalışmada, 5 ve 10 mM bor uygulamasının iki türde de hem gövde hem köklerde SOD aktivitesini arttırdığı rapor edilmiştir (Tepe ve Aydemir, 2011: 5). Aynı çalışmada mercimek bitkisinde CAT ve APX aktivitesinin azaldığı, arpa bitkisinde ise arttığı rapor edilmiştir (Tepe ve Aydemir, 2011: 6).

Yüksek sıcaklık stresinin de bor toksisitesine benzer şekilde antioksidan enzimlerden SOD, CAT ve APX aktivitesini etkilediği bilinmektedir (Bavita vd., 2012: 374; Li vd., 2014: 591; Genisel vd., 2017: 5). Sadece yüksek sıcaklık stresinin ayçiçeği üzerindeki etkisini ortaya koymak için 40°C’de yetiştirilen kontrol grubu ile 25°C’deki kontrol grubu örnekleri karşılaştırılmıştır. 40°C’deki 5. uygulama kontrol kök grubunun toplam SOD ve CAT aktivitesinin 25°C’dekine göre önemli ölçüde arttığı, APX aktivitesinin ise azaldığı (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,05$; $p<0,0001$) belirlenmiştir. 10. uygulama kontrol kök gruplarında ise her üç enzim aktivitesinin de 25°C’dekine göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,01$; $p<0,01$) (Grafik 3.10, 3.11, 3.14, 3.15, 3.18, 3.19). Yaprakta ise 5. ve 10. uygulamada 40°C’deki kontrol grubunun toplam SOD aktivitesinin 25°C’dekine göre önemli ölçüde arttığı (sırasıyla $p<0,0001$ ve $p<0,01$), CAT aktivitesinin ise azaldığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.12; 3.13, 3.16, 3.17). Toplam APX aktivitesi karşılaştırıldığında, 40°C’de yetiştirilen 5. uygulama kontrol grubu örneklerinin 25°C’deki kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,01$), 10. uygulama kontrol grubunun ise azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.20, 3.21). Literatürde yüksek sıcaklık ile ilgili yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Buğday ile yapılan çalışmalarda gövde ve kök SOD, CAT ve APX aktivitesinin yüksek sıcaklık stresiyle arttığı rapor edilmiştir (Sairam vd., 2000: 249; Bavita vd., 2012: 374). Beş farklı buğday genotipi ile yapılan bir çalışmada, yüksek sıcaklık stresinin bitkinin tüm gelişim aşamalarında SOD, CAT ve APX aktivitesinin artırdığı bildirilmiştir (Almeselmani vd., 2006: 385). Biri toleranslı biri hassas iki çeşit hardal otu ile yapılan bir çalışmada, yüksek sıcaklık

stresinin hem BPR-542-6 (toleranslı) hem de NPJ-119 (hassas) çeşidinde SOD, CAT ve APX aktivitesini kontrole göre arttırdığı bildirilmiştir (Rani vd., 2013: 4). Arpa ile yapılan bir başka çalışmada ise arpa çeşitlerine 35°C ve 45°C sıcaklık uygulandığı ve bitki örneklerinin her bir sıcaklıkta sırası ile 2, 4, 6 ve 8 saat süre ile tutulduğu bildirilmiştir. SOD aktivitesinin orta ve yüksek ısı dozları ile kademeli olarak arttığı, ancak en yüksek süre ve sıcaklıkta (8 saat boyunca 45°C) azalma gösterdiği rapor edilmiştir. CAT aktivitesinin tüm sıcaklıklarda azaldığı rapor edilmiştir (El-Shintinawy vd., 2004: 19). Güve fasülyesi ile yapılan bir çalışmada, yüksek sıcaklık stresinin SOD ve CAT aktivitesinin kontrole göre arttığı tavus otu ile yapılan bir çalışmada ise azalttığı bildirilmiştir (Liu ve Huang, 2000: 6; Harsh vd., 2016: 6). 6 saat boyunca 40°C sıcaklığa maruz bırakılan dut bitkisi ile yapılan bir çalışmada ise yüksek sıcaklığın kontrole göre SOD, CAT ve APX aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (Chaitanya vd., 2002: 4). İki çeşit salkım otu ile yapılan bir çalışmada bitkiler 28 gün boyunca yüksek sıcaklığa (38°C) maruz bırakılmışlardır. Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan Kenblue-38 çeşidinin SOD aktivitesinin 21. güne kadar kontrole göre arttığı, 28. günde ise kontrol seviyesine yaklaştığı bildirilmiştir. EverGlade-38 çeşidinin ise SOD aktivitesinin 14. güne kadar kontrole göre arttığı, 28. günde ise kontrole göre azaldığı belirtilmiştir (Li vd., 2014: 590). Aynı çalışmada yüksek sıcaklık stresinin iki çeşitte de CAT ve APX aktivitesini önce önemli ölçüde arttırdığı daha sonra ise azalttığı bildirilmiştir (Li vd., 2014: 591). Domatesle yapılan bir çalışmada bitkiler 30 gün boyunca 25°C (kontrol sıcaklığı) ve 35°C (yüksek sıcaklık) sıcaklıkta yetiştirilmiş ve sonuçta SOD aktivitesini kontrole göre arttırdığı, CAT aktivitesinin ise azaldığı belirtilmiştir (Rivero vd., 2004: 560). Paskalya zambağı ile yapılan bir çalışmada, bitki 37, 42 ve 47°C sıcaklıklarının her birinde sırasıyla 1, 2, 4, 6, 8 ve 10 saat tutulmuştur. Tüm sıcaklıklarda kontrole göre SOD, CAT ve APX aktivitesinin arttığı, ancak 47°C'de SOD ve APX aktivitesinin 4. saatten sonra CAT aktivitesinin ise 2. saatten sonra azalmaya başladığı bildirilmiştir (Yin vd., 2008: 50). İki farklı buğday çeşidi ile yapılan bir çalışmada, GK Öthalom çeşidinde yaprak APX aktivitesinin yüksek sıcaklık stresinin (35°C) uygulandığı ilk gün ve yedinci gün kontrolden yüksek olduğu, ancak Bankuti 1201 çeşidinde yaprak APX aktivitesinin yüksek sıcaklık stresinin uygulandığı ilk gün kontrolden yüksek olduğu, yedinci gün ise kontrolden düşük olduğu belirtilmiştir (Balla vd., 2007: 198).

Yüksek sıcaklıkta borik asit uygulamasının etkileri 40°C'deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan 25°C'deki deney gruplarımızla karşılaştırılarak ortaya konmuştur. Kök toplam SOD aktivitesinin, 40°C'deki 5. uygulamada 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarında da 25°C'deki deney gruplarına göre önemli ölçüde arttığı ($p < 0,0001$), 10.

uygulamada ise önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,0001$) (Grafik 3.10; 3.11). 40°C’de 5. ve 10. uygulamada artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının kök toplam CAT aktivitesinin 25°C’deki deney gruplarına göre düzenli bir şekilde önemli olarak arttığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.14, 3.15). 40°C’de yetişen 5. uygulama deney gruplarından sadece 10 mM borik asit deney grubunun kök toplam APX aktivitesinde 25°C’de yetişen deney grubuna göre önemli ölçüde azama gözlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.18). 40°C’de yetişen 10. uygulama deney gruplarında ise hem 10 mM ($p<0,01$) hem de 25 mM ($p<0,0001$) borik asit deney gruplarının kök toplam APX aktivitesinin 25°C’de yetişen deney gruplarına göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Grafik 3.19). Yaprak toplam SOD aktivitesinin, 40°C’deki 5. ve 10. uygulamada 10 mM ($p<0,0001$) ve 25 mM deney grubunda (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,0001$) önemli ölçüde arttığı APX aktivitesinin ise azaldığı ($p<0,0001$) tespit edilmiştir (Grafik 3.12; 3.13; 3.20, 3.21). 40°C’de yetişen 5. uygulama deney gruplarından sadece 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesi 25°C’deki deney grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.16). 10. uygulama 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesi 25°C’deki deney grubuna göre önemli ölçüde azalırken ($p<0,01$), 25 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesi ise önemli ölçüde artmıştır ($p<0,01$) (Grafik 3.17).

İki abiyotik stresin kombine etkilerini karşılaştırdığımızda, kök toplam SOD aktivitesinin 5. uygulamada sadece 10 mM borik asit deney grubunda kontrole göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,01$), 10. uygulamada hem 10 mM hem de 25 mM deney grubunda kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.10; 3.11). CAT ve APX aktivitesinin 5. (sırasıyla, $p<0,0001$; $p<0,01$) ve 10. (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,05$) uygulamalarında her iki borik asit konsantrasyonunda kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.14, 3.15, 3.18, 3.19). Yaprak toplam SOD ve APX aktivitesinde ise 5. ve 10. uygulamada 10 mM (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,0001$) ve 25 mM ($p<0,0001$) borik asit konsantrasyonlarında kontrole göre önemli azalmanın olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.12; 3.13, 3.20, 3.21). 40°C’de yetişen 5. uygulama 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.16). 40°C’de yetişen 10. uygulama 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,01$), 25 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesinin ise kontrole göre azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.17).

Domates ile yapılan bir çalışmada, sıcaklık ve kuraklık stresinin bitki üzerindeki kombine etkisi incelenmiştir. SOD ve APX aktivitesi kontrol grubuna göre hem sıcaklık ve kuraklık stresinin ayrı uygulandığı deney gruplarında hem de kombine uygulandığı deney gruplarında kontrole göre önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. CAT aktivitesinin ise kuraklık stresinin uygulandığı deney grubunda ve hem kuraklık hem sıcaklık stresinin birlikte uygulandığı deney grubunda kontrole göre önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir (Raja vd., 2020: 9). Pamuk bitkisiyle yapılan bir çalışmada, yüksek sıcaklık stresine sahip bitkilere uygulanan borik asidin (%0,1), bitkilerin SOD ve CAT aktivitesini kontrole göre arttırdığı böylece bitkilerin oksidatif stresle başa çıkmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir (Sarwar vd., 2019: 6). İki mısır çeşidi (Xida 319 ve Xida 889) ile yapılan bir çalışmada, bitkilere sıcaklık ve kuraklık stresi ayrı ayrı ve kombine şekilde uygulanmıştır. Her iki mısır çeşidinde de SOD aktivitesinin streslerin tek tek ve kombine uygulandığı deney gruplarında kontrole göre arttığı bildirilmiştir. CAT ve APX aktivitelerinin ise streslerin tek tek ve kombine uygulandığı deney gruplarında kontrole göre azaldığı belirtilmiştir. En yüksek SOD aktivitesine sıcaklık ve kuraklık stresinin kombine uygulandığı deney grubunda rastlandığı, en yüksek CAT ve APX aktivitesine ise sadece kuraklık stresinin olduğu deney grubunda rastlandığı rapor edilmiştir (Hussain vd., 2019: 6). Literatürde yüksek sıcaklık ve bor uygulamasının kombine etkileri üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Diğer abiyotik stresler gibi düşük sıcaklık stresinde de hücrede ROS birikir, bu sebeple bitki stresle başa çıkabilmek için antioksidan enzimlerden SOD, CAT ve APX'un aktivitesini düzenlemektedir (Bafeel ve Ibrahim, 2008: 175; Radyuk vd., 2009: 593).

Sadece düşük sıcaklık stresinin ayçiçeği üzerindeki etkisini ortaya koymak için 15°C'de yetiştirilen kontrol grubu ile 25°C'deki kontrol grubu örnekleri karşılaştırılmıştır. 5. uygulama 15°C kontrol grubunun toplam kök SOD aktivitesinin 25°C kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), 10. uygulamanın kontrol grubunda ise istatistiksel olarak bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.10; 3.11). 15°C'de yetişen 5. uygulama kontrol grubunun kök toplam CAT aktivitesinde 25°C'de yetişen kontrol grubuna istatistiksel bir değişim yokken, 10. uygulama kontrol grubunun kök toplam CAT aktivitesi 25°C'de yetişen kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalma gözlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.14, 3.15). 15°C'de yetiştirilen 5. uygulama kontrol grubunun kök toplam APX aktivitesi 25°C'deki kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalırken ($p<0,0001$), 10. uygulamada kontrol grubunun kök toplam APX aktivitesinde 25°C'deki kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir (Grafik

3.18, 3.19). 15°C kontrol grubunun 5. ve 10. uygulamada yaprak toplam SOD (sırasıyla $p<0,0001$ ve $p<0,01$) aktivitesinde 25°C'deki kontrol grubuna göre önemli ölçüde artış, CAT ($p<0,0001$) ve APX (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,0001$) aktivitesinde ise önemli ölçüde azalma belirlenmiştir (Grafik 3.12; 3.13, 3.16, 3.17, 3.20, 3.21). Literatürde düşük sıcaklık stresiyle ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Yeşil arpa yapraklarıyla yapılan bir çalışmada, soğuk stresi boyunca SOD, CAT ve APX aktivitesinin arttığı, iyileşme periyodunda ise her üç enzimin de aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (Radyuk vd., 2009: 178). Mısır ve salatalık ile yapılan bir çalışmada, soğuk stresinin mısır bitkisinin yaprak ve kök toplam SOD aktivitesini kontrole göre arttırdığı, salatalık bitkisinde ise aktiviteyi yaprakta artırırken, kökte azalttığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada CAT aktivitesinin mısır bitkisinin yaprak ve kökünde kontrole göre azaldığı, salatalık bitkisinde ise aktiviteyi yaprakta ve kökte artırdığı belirtilmiştir. APX aktivitesinin ise hem mısır hem salatalık bitkisinin yaprak ve kökünde kontrole göre azaldığı bildirilmiştir (Kang ve Saltveit, 2002: 575). Salatalıkla yapılan bir başka çalışmada, soğuk ile muamele boyunca (12 saat) SOD, CAT ve APX aktivitesinin arttığı, iyileşme periyodunda ise SOD aktivitesinin azaldığı, CAT aktivitesinin önce arttığı sonra ise tekrar azaldığı, APX aktivitesinin ise önce azaldığı sonra ise tekrar arttığı belirtilmiştir (Lee ve Lee, 2000: 80). Yonca ile yapılan bir çalışmada soğuk stresi uygulanan bitkilerin SOD, CAT ve APX aktivitesinin stres uygulandığı süre boyunca arttığı, iyileşme periyodunda da artmaya devam ettiği bildirilmiştir (Bafeel ve Ibrahim, 2008: 597). Bir tanesini soğuğa duyarlı bir tanesi ise soğuğu tolere edebilen iki pirinç çeşidiyle yapılan bir çalışmada, bitkiler soğuğa maruz kaldıktan sonra toleranslı tür olan Xiangnuo-1'de SOD, CAT ve APX aktivitesinin kontrole benzer kaldığı, hassas olan IR-50'de ise her üç enzim aktivitesinin de kontrole göre azaldığı bildirilmiştir (Huang ve Guo, 2005: 83). Çilek yapraklarıyla yapılan bir çalışmada; yapraklar 0, 6, 12, 24, 48 ve 72 saat soğuk ile muamele edilmiştir. Soğuk stresine sahip yapraklarda SOD, CAT ve APX aktivitesinin belirli seviyeye kadar arttığı ve stresin devamında o seviyede kaldığı belirtilmiştir (Yong vd., 2008: 288).

Düşük sıcaklıkta borik asit uygulamasının etkileri 15°C'deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan 25°C'deki deney gruplarımızla karşılaştırılarak ortaya konmuştur. 5. uygulama kök toplam SOD aktivitesinin 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının ikisinde de 25°C'deki deney gruplarına göre arttığı ($p<0,0001$), 10. uygulamanın toplam kök SOD aktivitesinin ise sadece 25 mM borik asit deney grubunda önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.10; 3.11). 15°C'deki deney gruplarımızın 5. ve 10. uygulamasında iki borik asit konsantrasyonunda da CAT aktivitesinde 25°C'deki deney gruplarına göre

istatistiksel bir değişim gözlenmemiştir (Grafik 3.14, 3.15). 15°C’de yetişen 5. uygulama deney gruplarımızdan sadece 10 mM borik asit deney grubunun kök toplam APX aktivitesi 25°C’ de yetişen deney grubuna göre azalırken ($p<0,0001$), 10. uygulama deney gruplarından ise sadece 25 mM borik asit deney grubu 25°C’de yetişen deney grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,01$) (Grafik 3.18, 3.19.). Yaprak toplam SOD aktivitesinin ise 5. ve 10. uygulamada hem 10 mM ($p<0,0001$) hem de 25 mM (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,0001$) borik asit deney gruplarında 25°C’deki deney gruplarına göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir (Grafik 3.12; 3.13). 15°C’de yetişen 5. uygulama 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesi 25°C’deki deney grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.16). 15°C’de yetişen 10. uygulama 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesinin 25°C’deki deney grubuna göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,0001$), 25 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesinin ise önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.17). 15°C’de yetişen 5. uygulama 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının ikisinin de yaprak toplam APX aktivitesi 25°C’ de yetişen deney gruplarına göre düzenli bir şekilde önemli ölçüde azalırken ($p<0,0001$), 10. uygulama deney gruplarından sadece 25 mM borik asit deney grubu 25°C’dekine göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.20, 3.21).

İki abiyotik stresin kombine etkilerini karşılaştırdığımızda, kök toplam SOD aktivitesi hem 5. hem 10. uygulamada artan borik asit konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre önemli ölçüde artmıştır (sırasıyla $p<0,0001$ ve $p<0,01$) (Grafik 3.10; 3.11). 15°C’de yetiştirilen 5. ve 10. uygulama deney gruplarının kök toplam CAT aktivitesinde kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir (Grafik 3.14, 3.15). 15°C 5. uygulama deney gruplarından sadece 25 mM borik asit deney grubunun kök toplam APX aktivitesinin kontrole göre arttığı ($p<0,0001$), 10. uygulama deney gruplarında ise kök toplam APX aktivitesinde kontrole göre istatistiksel bir değişim olmadığı gözlenmiştir (Grafik 3.18, 3.19). Yaprak toplam SOD aktivitesinin 5. uygulamada sadece 25 mM borik asit deney grubunda kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,0001$), 10. uygulamada ise istatistiksel olarak herhangi bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Grafik 3.12; 3.13). 15°C’de yetiştirilen 5. uygulama 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının yaprak toplam CAT aktivitesi kontrole göre düzenli bir şekilde önemli ölçüde azalmıştır (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$) (Grafik 3.16). 15°C’de yetiştirilen 10. uygulama 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesi kontrole göre azalırken, 25 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam CAT aktivitesi ise kontrole göre artmıştır ($p<0,0001$) (Grafik 3.17). Yaprak toplam APX aktiviteleri karşılaştırıldığında, 15°C

5. uygulama deney gruplarından sadece 25 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,0001$), 10. uygulama deney gruplarından ise sadece 10 mM borik asit deney grubunun yaprak toplam APX aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.20, 3.21).

Mısır, fasulye ve buğday ile yapılan bir deneyde, düşük sıcaklık ve tuz stresinin kombine etkisinin bitkiyi tek uygulandığı duruma göre daha çok etkilediği bildirilmiştir. SOD, CAT ve APX aktivitelerinin mısırdaki arttığı, fasulyede azaldığı, buğdayda ise CAT ve APX aktivitelerinin arttığı SOD aktivitesinin ise azaldığı rapor edilmiştir (Demir, 2019: 124). Benzer şekilde acı biber ile yapılan bir çalışmada ise, tuz ve borun birlikte uygulandığı durumda stres faktörlerinin tek uygulandığı duruma göre daha etkili olduğu; artan tuz ve bor konsantrasyonlarının bitkinin SOD ve APX aktivitesini arttırdığı, CAT aktivitesini ise azalttığı rapor edilmiştir (Supanjani ve Lee, 2006: 231). Tavalli ve arkadaşlarının (2018) antep fıstığı ile yaptığı bir çalışmada orta düzeydeki bor konsantrasyonlarının (0, 2.5, 5, 10, 20 mg.kg⁻¹) SOD, CAT ve APX aktivitesini önemli ölçüde arttırarak bitkinin tuz stresi ile başa çıkmasında olumlu etkisinin olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, yeterli bor kaynağının, bitki hücrelerinin oksidatif hasarı tolere etme kabiliyetini arttırdığı bildirilmiştir (Tavallali vd., 2018: 59). Literatürde düşük sıcaklık ve bor uygulamasının kombine etkileri üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

3.2.5. Ayçiçeği bitkisinde sıcaklık ve borik asit uygulamasının SOD, CAT ve APX gen ifadeleri üzerine etkisi

Abiyotik stresler, toksik olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine neden olmakta ve üretilen ROS'lar organizmaya hücre boyutunda ciddi zararlar vermektedirler. Bu nedenle bitkiler, enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri kullanan çok verimli ROS temizleme mekanizmalarına sahiptir. SOD, CAT ve APX enzimatik bileşenler olup, abiyotik stres altında gen ifade seviyeleri yeniden düzenlenmektedir (Filiz vd., 2019: 128). Metal kofaktörlerine, protein katlanmalarına ve hücre altı dağılımına bağlı olarak, SOD'lar esas olarak SOD-Cu/Zn, SOD-Fe ve SOD-Mn olarak kategorize edilmektedir. SOD-Cu/Zn prokaryotik ve ökaryotik organizmalarda sitoplazmada, kloroplastlarda ve hücrelerarası boşlukta bulunabilirler. SOD- Fe'ler bitki kloroplastlarında ve sitoplazmada bulunurken, SOD-Mn'lar ise ökaryotik mitokondride gözlenmiştir ve ROS'u temizleyerek mitokondriyi korumaktadır (Fan vd., 2014: 2; Feng vd., 2016: 2). CAT enzimi, oksidatif strese karşı birincil enzimatik savunmalardan birini temsil etmektedir ve çoğunlukla sitozol ve peroksizomlarda

bulunmaktadır (Azpilicueta vd., 2008: 41; Ara vd., 2013: 3). Tüm yağlı tohumlarda önemlidir ve aktivitesinin ayçiçeğindeki çimlenme oranıyla yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (Azpilicueta vd., 2008: 40). APX enzimi de SOD ve CAT'a benzer şekilde bitkinin oksidatif strese karşı savunma sağlamasına yardımcı olan bir bileşen olup sitozol ve mitokondride bulunaktadır (Caverzan vd., 2012: 2).

Yüksek konsantrasyonlarda borik asit uygulaması bitkide oksidatif stresi artıran bir abiyotik stres faktörüdür. Bitki oksidatif stresle başa çıkabilmek için *SOD*, *CAT* ve *APX* gen ifadelerini düzenlemektedir. Çalışmamızda bitki örneklerine uygulanan iki abiyotik stresten sadece borik asidin etkisini ortaya koymak için kontrol sıcaklığı olan 25°C'de yetiştirilen 10 mM ve 25 mM borik asit deney grubunun yaprak ve köklerine ait belirtilen antioksidan enzimlere ait gen ifadeleri karşılaştırılmıştır. 5. uygulama 10 mM ve 25 mM borik asit deney gruplarının kök toplam *SOD-Mn* (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,0001$) ve *APX* (sırasıyla $p<0,0001$; $p<0,01$) gen ifadesinin kontrole göre arttığı belirlenmiştir (Grafik 3.22, Grafik 3.34). Aynı uygulamada *CAT* gen ifadesinde sadece 25 mM borik asit deney grubunda kontrole göre önemli bir artış gözlenmiştir ($p<0,01$) (Grafik 3.30). 10. uygulama deney gruplarından sadece 10 mM borik asit deney grubunun köklerindeki *SOD-Mn* gen ($p<0,01$) ifadesinin azaldığı, *CAT* ($p<0,0001$) ifadesinin ise arttığı, *APX* ifadesinde ise istatistiksel bir değişim olmadığı gözlenmiştir (Grafik 3.23, 3.31, 3.35). 10. uygulama 25°C'de yetiştirilen ve 25 mM borik asit uygulanan deney gruplarından sağlıklı kök örnekleri elde edilemediğinden qRT-PZR'de *SOD-Cu/Zn*, *SOD-Mn*, *CAT* ve *APX* gen ifadesine ait veri bulunmamaktadır. *SOD-Fe* ise çoğunlukla kloroplastlarda bulunduğundan çalışmamızda bitki köklerinde *SOD-Fe* ifadesine yer verilmemiştir.

5. uygulama deney gruplarından sadece 25 mM borik asit deney grubunun yapraklarındaki *SOD-Cu/Zn* gen ifadesi kontrole göre artarken ($p<0,0001$), *SOD-Mn* ($p<0,0001$) ve *CAT* ($p<0,01$) gen ifadesi ise kontrole göre önemli bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Grafik 3.28, 3.24, 3.32). *SOD-Fe* gen ifadesinin 10 mM ve 25 mM deney gruplarının ikisinde de kontrole göre azaldığı ($p<0,0001$), *APX* ifadesinin ise her ikisinde de arttığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.26, 3.36). 10. uygulama deney gruplarından sadece 25mM borik asit deney grubunun yapraklarındaki *SOD-Mn* ($p<0,01$), *CAT* ($p<0,0001$) ve *APX* ($p<0,0001$) gen ifadesinin arttığı, *SOD-Fe* ($p<0,01$) gen ifadesinin ise azaldığı gözlenmiştir (Grafik 3.25, 3.33, 3.35, 3.27). 10. uygulama deney gruplarında *SOD-Cu/Zn* ifadesinin 10 mM ve 25 mM borik asit deney grubunda kontrole göre arttığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.29).

Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde borik asitin gen ifadesi üzerine etkilerini ortaya koyan çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızın sonuçları ile benzerlik gösteren *Arabidopsis thaliana* ile yapılan bir çalışmada, bitkilere 1 mM ve 3 mM borik asit uygulanmış ve artan borik asit konsantrasyonlarının bitkinin *MSD1*, *CSD1*, *CAT1* ve *APX6* gen ifadelerini kontrole göre artırdığı bildirilmiştir (Kayıhan vd., 2016: 5). *Arabidopsis thaliana* ile yapılan bir başka çalışmada ise 3 mM borik asit uygulamasının SOD geninin ifadesini nasıl değiştirdiği incelenmiştir. Bor uygulamasının *CDS1*, *CSD2*, *CSD3*, *FSD1*, *FS2*, *FSD3* ve *MSD1* genlerinin ifadesini yaprakta kontrole göre önemli ölçüde artırdığı, kökte ise kontrole göre önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Sürgün Acar vd., 2018: 149). *Limonium sinense* bitkisi ile yapılan bir çalışmada, tuz stresi uygulanan bitkilerin *CAT* ifadesinin 3. güne kadar arttığı, daha sonra azaldığı, *APX* ifadesinin ise 5. güne kadar arttığı, daha sonra azaldığı ancak iki genin de uygulama süresi boyunca kontrolden yüksek olduğu rapor edilmiştir (Zhang vd., 2014: 4). Bezelye ile yapılan bir çalışmada tuz stresinin bitki köklerine ait *SOD*, *CAT* ve *APX* gen ifadelerini kontrole göre artırdığı bildirilmiştir. Ayrıca meyan kökünün iyileştirici etkisini gözlemlemek amacıyla tuz stresine sahip bitkilere meyan kökü ekstraktı uygulanmış ve bitkilerin *SOD*, *CAT* ve *APX* gen ifadelerinin sadece tuz stresi uygulanan bitkilere göre azaldığını belirtmişlerdir (Desoky vd., 2019: 300). Ayçiçeği ile yapılan bir çalışmada, *CATA1*'den *CATA4*'e kadar olan dört transkriptin de kadmiyum muamelesinden sonra arttığı; *CATA1* ve *CATA2*'nin, sırasıyla kotiledon ve kökte en fazla eksprese edilen transkriptler olduğu bildirilmiştir (pena, 2008). İngiliz çimi ile yapılan bir deneyde kurşun uygulamasının bitkinin *MnSOD*, *ChlCu/ZnSOD*, *CytCu/ZnSOD*, *FeSOD* ve *pAPX* genlerinin ifadesini kontrole göre önemli derecede arttırdığı bildirilmiştir (Li vd., 2012: 83).

Abiyotik stres koşulları altında, antioksidan gen ekspresyonunun düzenlendiği bilinmektedir. Günümüzde küresel ısınma sebebiyle bitkilerin en çok karşılaştığı abiyotik streslerden biri olan yüksek sıcaklık stresinde de *SOD*, *CAT* ve *APX* ifadelerinin düzenlendiği belirtilmiştir (Raja, 2020). Yüksek sıcaklıkta borik asit uygulamasının etkileri, 40°C'deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan 25°C'deki deney gruplarımızla karşılaştırılarak ortaya konmuştur. 5. uygulama deney gruplarından 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarının köklerdeki *SOD-Mn* gen ifadesinin 25°C'deki deney gruplarına göre arttığı (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,01$), köklerdeki *CAT* gen ifadesinin 10 mM deney grubunda azaldığı, 25 mM deney grubunda ise arttığı ($p<0,01$) belirlenmiştir (Grafik 3.22, 3.30). *APX* gen ifadesinde ise 10 mM deney grubunda istatistiksel bir değişim gözlenmezken, 25 mM deney grubunda 25°C'deki deney grubuna göre *APX* gen ifadesinin arttığı ($p<0,0001$) tespit edilmiştir (Grafik 3.34).

10. uygulama 25°C’de yetiştirilen ve 25 mM borik asit uygulanan deney grubu ile 10. uygulama 40°C’de yetiştirilen tüm deney gruplarında sağlıklı kök örnekleri elde edilemediğinden qRT-PZR’de *SOD-Cu/Zn*, *SOD-Mn*, *CAT* ve *APX* gen ifadesine ait veri bulunmamaktadır. *SOD-Fe* ise çoğunlukla kloroplastlarda bulunduğundan çalışmamızda bitki köklerinde *SOD-Fe* ifadesine yer verilmemiştir.

5. uygulama deney gruplarından 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarının yapraklarındaki *SOD-Cu/Zn* (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,0001$), *CAT* ($p<0,0001$) ve *APX* ($p<0,01$) gen ifadesinin 25°C’deki deney gruplarına göre azaldığı belirlenmiştir (Grafik 3.28, 3.32, 3.36). 5. uygulamanın 10 mM deney grubuna ait yapraklarda *SOD-Mn* gen ifadesinde 25°C’deki deney grubuna göre istatistiksel bir değişim gözlenmezken, 25 mM deney grubunda önemli bir artış olduğu gözlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.24). 5. uygulamadaki yaprak örneklerinde *SOD-Fe* gen ifadesinin 10 mM deney grubunda 25°C’deki deney grubuna göre azaldığı, 25 mM deney grubunun *SOD-Fe* gen ifadesinde ise istatistiksel bir değişim olmadığı belirlenmiştir (Grafik 3.26).

10. uygulama deney gruplarından 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarının yapraklarındaki *SOD-Cu/Zn* ($p<0,0001$), *CAT* ($p<0,0001$) ve *APX* ($p<0,01$) gen ifadesinin 10 mM deney grubunda 25°C’deki deney grubuna göre önemli ölçüde arttığı, 25 mM deney grubunda ise önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,0001$) (Grafik 3.29, 3.33, 3.37). 10. uygulamadaki 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarının *SOD-Mn* gen ifadesinin her iki deney grubunda da 25°C’deki deney grubuna göre önemli ölçüde artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,0001$). *SOD-Fe* gen ifadesinin ise 10 mM deney grubunda arttığı ($p<0,0001$), 25 mM deney grubunda istatistiksel bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Grafik 3.25, 3.27).

Gen ifadeleri ile ilgili literatürde yer alan çalışmalar bizim çalışmamızın sonuçlarını destekler niteliktedir. Örneğin pirinç ile yapılan bir çalışmada bitkiler 42°C (yüksek) sıcaklığa maruz bırakılmış ve *APX* mRNA seviyeleri incelenmiş ve *APX* mRNA seviyesinin kontrole göre arttığı rapor edilmiştir (Sato vd., 2001: 5). Kedi otu ile yapılan bir çalışmada bitkiler 38°C sıcaklıkta yetiştirilmiş ve gen ifadeleri incelenmiştir. Yüksek sıcaklığa maruz bırakılan örneklerin *SOD* ve *CAT* gen ifadelerinin kontrole göre önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir (zhao, 2014). Kabak ile yapılan bir çalışmada bitkiler 30°C, 37°C ve 42°C’de yetiştirilmiştir. Yüksek sıcaklık uygulamasında *FeSOD*, *MnSOD*, *APX2*, *CAT1* ve *CAT3* izoformlarının ifadesinin kontrole göre arttığı bildirilmiştir. *SOD*, *APX* ve *CAT*’a ait gen ifadelerinin kök ve gövde arasındaki farklı mRNA düzeyleri, bitki dokularında gen ifadelerinin farklılık gösterebileceğini

ortaya koymaktadır (Ara vd., 2013: 17). Deniz çayırı bitkisi ile yapılan bir çalışmada, bitkiler yüksek sıcaklık (41,5°C) stresine maruz bırakılmıştır. Yüksek sıcaklık stresinin bitkilere ait *SOD*, *CAT* ve *APX* gen ifadesini kontrole göre önemli ölçüde arttırdığı belirtilmiştir (Purnama vd., 2019: 120). Tütün bitkisiyle yapılan bir çalışmada yüksek sıcaklık stresinin *NtSOD1* ve *NtCAT1* ifadelerini kontrole göre önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (Dai vd., 2020: 8). Arpa ile yapılan bir çalışmada ise kuraklık stresinin *SOD*, *CAT* ve *APX* ifadesini kontrole göre önemli ölçüde arttırdığı rapor edilmiştir (Harb vd., 2015: 114). Buğday bitkisiyle yapılan bir çalışmada, kısa süreli ozmotik stres uygulanması sonucunda *CAT* ekspresyonunun 1 saatlik stresten sonra önemli ölçüde arttığı, 3 ve 6 saatlik stresten sonra sabit kaldığı, *APX* ekspresyonunun ise önce arttığı, sonra azaldığı rapor edilmiştir (Dudziak vd., 2019: 5). Kanola bitkisiyle yapılan bir çalışmada bitkiler kuraklık stresine maruz bırakılmıştır. Bitkilerin *APX* ve *CAT* gen ifadesinin hem orta dereceli hem yüksek dereceli streste kontrole göre arttığı bildirilmiştir (Hosseini vd., 2015: 418). İki farklı çeşit salkımotu bitkisiyle yapılan bir başka çalışmada ise kuraklık stresinin hem Midnight hem de Brilliant çeşidinde *Cyt Cu/ZnSOD*, *Chl Cu/ZnSOD* ve *APX* gen ifadelerini kontrole göre önemli ölçüde arttırdığı rapor edilmiştir (Xu vd., 2011: 253).

Çalışmamızda yüksek sıcaklık ve iki farklı borik asit uygulamasının kombine etkileri 40°C'de yetiştirilen bitki örnekleri kendi içinde karşılaştırılarak belirlenmiştir. 5. uygulama deney gruplarından 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarının her ikisinin de köklerdeki *SOD-Mn* (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,0001$) ve *APX* (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,0001$) gen ifadesinin kontrole göre arttığı belirlenmiştir (Grafik 3.22, 3.34). *CAT* gen ifadesinde ise 10 mM borik asit deney grubunda istatistiksel bir değişim olmadığı, 25 mM deney grubunun *CAT* gen ifadesinin ise kontrole göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (Grafik 3.30). 10. uygulama 40°C'de yetiştirilen tüm deney gruplarından sağlıklı kök örnekleri elde edilemediğinden qRT-PZR'de *SOD-Cu/Zn*, *SOD-Mn*, *CAT* ve *APX* gen ifadesine ait veri bulunmamaktadır. *SOD-Fe* ise çoğunlukla kloroplastlarda bulunduğundan çalışmamızda bitki köklerinde *SOD-Fe* ifadesine yer verilmemiştir.

5. uygulama deney gruplarından 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarına ait yaprakların her ikisinde de *SOD-Fe* ($p<0,0001$) ve *CAT* ($p<0,0001$) gen ifadelerinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Grafik 3.26, 3.32). *APX* gen ifadesinde 10 mM deney gruplarının yapraklarında istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı, 25 mM borik asit deney grubunun ifadesinde ise kontrole göre önemli ölçüde bir azalma ($p<0,01$) olduğu gözlenmiştir (Grafik 3.36). 5. uygulama deney gruplarının yapraklarının *SOD-Mn* ve *SOD-*

Cu/Zn gen ifadesinde ise her iki deney grubunda da istatistiksel olarak önemli bir değişim elde edilmemiştir (Grafik 3.24, 3.28).

10. uygulama deney gruplarından 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarına ait yaprakların *SOD-Mn* ($p<0,0001$) ve *APX* (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,05$) gen ifadesi her iki deney grubunda da önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir (Grafik 3.25, 3.37). 10. uygulama yapraklarının *SOD-Fe* ve *CAT* gen ifadesinin 10 mM deney grubunda kontrole göre arttığı ($p<0,0001$), 25 mM deney grubunda ise istatistiksel bir değişim olmadığı gözlenmiştir (Grafik 3.27, 3.33). *SOD-Cu/Zn* gen ifadesinin ise 10 mM borik asit deney grubunda kontrole göre önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), 25 mM borik asit deney grubunda kontrole göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,05$) belirlenmiştir (Grafik 3.29).

Her ne kadar literatürde farklı abiyotik streslerin sinerjistik etkileri çalışılmış olsa da borik asit ve yüksek sıcaklık stresinin kombine etkisini ortaya koyan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bağlamda abiyotik streslerin kombine etkileri üzerine güncel literatürde yer alan çalışmalar ise sonuçlarımızı desteklemektedir. Örneğin domates ile yapılan bir çalışmada yüksek sıcaklık ve kuraklık stresi tek başına ve birlikte uygulanarak *SOD* ve *APX* ifadesine etkisi incelenmiştir. *SOD* ve *APX* ifadesinin yüksek sıcaklık ve kuraklığın birlikte uygulandığı durumda tek uygulandıkları duruma göre önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Raja vd., 2020: 208). Domatesle yapılan bir başka çalışmada, tuz ve kuraklık stresi koşulları altında *SISOD* genlerinin farklı ifade modelleri gözlenmiştir. Tuz uygulaması sırasında dört *SISOD* geninin (*SISOD2*, *SISOD 5*, *SISOD 6* ve *SISOD 8*) ifadesinin azaldığı, kuraklık uygulamasında ise yanıt olarak bu dört gene ait ifadenin arttığı belirtilmiştir. Bu durumda, domateslerdeki farklı *SOD* genlerinin, farklı çevresel streslerin neden olduğu ROS'u ortadan kaldırmada farklı roller oynayabileceğini öne sürülmüştür (Feng vd., 2016: 9). Domatesle yapılan bir çalışmada, bitkilere ayrı ayrı tuz ve ozmatik stres uygulanmış ve *SOD* ekspresyon seviyeleri incelenmiştir. Tuz stresinde, 100 mM NaCl uygulamasının bitkilerin *SOD* gen ifadesinde 24. saate kadar istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı, 24. saatte gen ifadesinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. 150 mM NaCl uygulamasının *SOD* gen ifadesini önce azalttığı sonra arttırdığı daha sonra tekrar azalttığı bildirilmiştir. Ozmatik stres durumunda ise 100 mM PEG uygulamasının *SOD* gen ifadesini arttırdığı, 150 mM PEG uygulamasının ise *SOD* gen ifadesini azalttığı rapor edilmiştir (Aydın vd., 2014: 94).

Son yıllarda, küresel iklim değişikliği sebebiyle, bitkiler ani ve yüksek sıcaklığa olduğu kadar soğuk stresine de maruz kalmaktadırlar. Soğuk stresi hücrelere zarar veren ve bitki

büyümesini sınırlayan ciddi bir çevresel streştir. Bitkiler diğer stres faktörlerinde olduğu gibi düşük sıcaklığın etkilerini bertaraf edebilmek için birçok enzimatik olmayan ve enzimatik savunma sistemi de dahil olmak üzere karmaşık bir antioksidan ROS temizleme sistemi oluşturmuştur (Sato et al., 2001: 148; Zhou et al., 2019: 9; Fan et al., 2014: 5).

Düşük sıcaklıkta borik asit uygulamasının etkileri 15°C'deki deney gruplarımız ile kontrol sıcaklığı olan 25°C'deki deney gruplarımızı karşılaştırılarak ortaya konmuştur. 5. uygulama deney gruplarından her iki borik asit konsantrasyonuna ait köklerde *SOD-Mn* ve *APX* gen ifadesindeki değişimin 10 mM deney grubunda istatistiksel olarak önemli olmadığı, 25 mM deney grubunda ise *SOD-Mn* gen ifadesinin önemli ölçüde azalırken ($p<0,01$), *APX* gen ifadesinin ise önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$) belirlenmiştir (Grafik 3.22, 3.34). 5. uygulama deney gruplarının köklerinde *CAT* gen ifadesinin 10 mM deney grubunda önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$), 25 mM deney grubunda ise önemli ölçüde azaldığı ($p<0,0001$) gözlenmiştir (Grafik 3.30).

10. uygulama deney gruplarından sadece 10 mM borik asit uygulanan kök örneklerinin *SOD-Mn* ve *APX* gen ifadesi 25°C'deki deney grubuna göre önemli ölçüde artmış ($p<0,0001$), *CAT* gen ifadesinde ise 25°C'deki deney grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı belirlenmiştir (Grafik 3.23, 3.31, 3.37). 10. uygulama 25°C'de yetiştirilen ve 25 mM borik asit uygulanan deney grubundan sağlıklı kök örnekleri elde edilemediğinden qRT-PZR'de *SOD-Cu/Zn*, *SOD-Mn*, *CAT* ve *APX* gen ifadesine ait veri bulunmamaktadır. *SOD-Fe* ise çoğunlukla kloroplastlarda bulunduğundan çalışmamızda bitki köklerinde *SOD-Fe* ifadesine yer verilmemiştir.

5. uygulamada 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarına ait yaprakların her iki deney grubunda da *SOD-Mn* ($p<0,0001$), *SOD-Cu/Zn* (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,0001$), *CAT* ($p<0,0001$) ve *APX* ($p<0,0001$) gen ifadelerinin 25°C'deki deney grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir (Grafik 3.24, 3.28, 3.32, 3.36). Yapraklardaki *SOD-Fe* gen ifadesinin ise her iki deney grubunda da 25°C'deki deney grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$) belirlenmiştir (Grafik 3.26).

10. uygulamada 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarına ait yaprakların her iki deney grubunda da *SOD-Mn* (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,0001$) ve *SOD-Cu/Zn* ($p<0,0001$) gen ifadesinin 25°C'deki deney grubuna göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir (Grafik 3.25, 3.29). 10. uygulama yaprak örneklerinin *APX* gen ifadesi 10 mM deney grubunda önemli ölçüde arttığı, 25 mM'da ise önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Grafik 3.37). Aynı deney

gruplarının *SOD-Fe* gen ifadesinde hem 10 mM hem 25 mM borik asit deney grubu *CAT*'da ise sadece 10 mM deney grubunda 25°C'ye göre istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı, ancak 25 mM deney grubu *CAT* gen ifadesinin 25°C'deki deney grubuna göre önemli bir azalmanın olduğu belirlenmiştir (Grafik 3.27, 3.33).

Literatürde çalışmamıza benzer araştırmalar bulunmaktadır. Pirinç ile yapılan bir çalışmada bitkiler 5°C'ye maruz bırakılmış ve bitkilerin *APX* mRNA seviyesinin kontrole göre azaldığı rapor edilmiştir (Sato vd., 2001: 148). Bermuda çimi ile yapılan bir çalışmada, bitkiler 4°C'ye maruz bırakılmışlardır. Düşük sıcaklık stresine sahip bitkilerin *MnSOD*, *Cu/ZnSOD* ve *APX* ifadelerinin uygulama süresi olan 72 saat boyunca önemli ölçüde arttığı, *CAT* ifadesinin ise uygulama süresince azaldığı belirtilmiştir (Fan vd., 2014: 5). Çay bitkisiyle yapılan bir çalışmada düşük sıcaklık stresine sahip bitkilerin *CsSOD* genlerine ait 10 üyenin önemli ölçüde indüklendiği veya baskılandığı bildirilmiştir. *CsFSD2*'nin baskılanarak 48 saatte ifadesinin en düşük seviyeye ulaştığı, diğer 9 *CsSOD* gen ekspresyonunun ise farklı zamanlarda indüklendiği ve ifadesinin en üst seviyeye çıktığı belirtilmiştir (Zhou vd., 2019: 14).

Çalışmamızda düşük sıcaklık ve iki farklı borik asit uygulamasının kombine etkileri 15°C'de yetiştirilen bitki örnekleri kendi içinde karşılaştırılarak belirlenmiştir. 5. uygulamada 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarına ait köklerin *SOD-Mn* gen ifadesinin 10 mM deney grubunda kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı gözlenirken, 25 mM deney grubunun gen ifadesinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,01$) belirlenmiştir (Grafik 3.22). 5. uygulama kök örneklerinin *CAT* ($p<0,0001$) ve *APX* ($p<0,01$) gen ifadesinin 10 mM deney grubunda kontrole göre önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. 25 mM deney grubunda ise *CAT* ($p<0,01$) ifadesinin önemli ölçüde azaldığı, *APX* ($p<0,0001$) ifadesinin ise önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir (Grafik 3.30, 3.36).

10. uygulama deney gruplarından 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarına ait köklerin *SOD-Mn* ve *CAT* gen ifadesinin 10 mM deney grubunda kontrole göre arttığı ($p<0,0001$), 25 mM deney grubunda ise azaldığı ($p<0,0001$) gözlenmiştir (Grafik 3.23, 3.31). 10. uygulama kök *APX* gen ifadesinin ise hem 10 mM hem de 25 mM borik asit deney grubunda önemli ölçüde arttığı ($p<0,0001$) belirlenmiştir (Grafik 3.37). *SOD-Fe* ise çoğunlukla kloroplastlarda bulunduğundan çalışmamızda bitki köklerinde *SOD-Fe* ifadesine yer verilmemiştir.

5. uygulamada 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarına ait yaprakların *SOD-Mn* ($p<0,0001$), *CAT* ($p<0,0001$) ve *APX* (sırasıyla $p<0,05$; $p<0,01$) gen ifadesinin her iki deney

grubunda da kontrole göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Grafik 3.24, 3.32, 3.36). Yaprakların 5. uygulamadaki *SOD-Fe* gen ifadesinin 10 mM deney grubunda kontrole göre arttığı ($p<0,01$), 25 mM deney grubunun ise kontrole göre azaldığı ($p<0,0001$) belirlenmiştir (Grafik 3.26). 5. uygulama yaprak örneklerinin *SOD-Cu/Zn* gen ifadesinde ise 10 mM ve 25 mM deney gruplarında kontrole göre istatistiksel olarak bir değişim olmadığı gözlenmiştir (Grafik 3.28).

10. uygulama deney gruplarından 10 mM ve 25 mM borik asit konsantrasyonlarına ait yaprakların *SOD-Mn* (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,0001$), ve *SOD-Fe* (sırasıyla $p<0,01$; $p<0,05$) gen ifadesinin her iki deney grubunda da kontrole göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir (Grafik 3.25, 3.27). Yaprakların 5. uygulamadaki *SOD-Cu/Zn* gen ifadesinin 10 mM deney grubunda kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı, 25 mM deney grubunun ise kontrole göre önemli ölçüde azaldığı ($p<0,01$) belirlenmiştir (Grafik 3.29). 5. uygulama yaprak örneklerinin *CAT* ve *APX* gen ifadesinde ise 10 mM ve 25 mM deney gruplarında kontrole göre istatistiksel olarak bir değişim olmadığı gözlenmiştir (Grafik 3.33, 3.37).

Bermuda çimi ile yapılan bir çalışmada bitkilere soğuk ve tuz stresi uygulanmış ve hem oksidatif hem de ozmotik strese duyarlı genler araştırılmıştır. Tuz ve soğuk stresi uygulanan bitkilerin *SOD* ifadesinin arttığı, tuz stresi uygulamasında 12. saatte en üst seviyeye ulaştığı, soğuk stresi uygulamasında ise 24. saatte en üst seviyeye ulaştığı bildirilmiştir. *SOD* ifadesinin en üst seviyeye ulaştıktan sonra inhibe olduğu, stres devam ettikçe ifadesinin düştüğü rapor edilmiştir. Her üç uygulamada da (soğuk, tuz ve soğuk-tuz) *CAT* geni ifadesinin arttığı ve transkript seviyesinin, diğer iki uygulamaya kıyasla kombine stres uygulamasında daha düşük bir seviyeye sahip olduğu bildirilmiştir (Liu vd., 2016: 8). Salatalık ile yapılan bir çalışmada, bitkiler 0, 3, 6, 12 ve 24 saat boyunca ayrı ayrı yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, PEG ve NaCl streslerine maruz bırakılmışlardır. Strese maruz kaldıkları süre boyunca genlerin ifade modelleri değişiklik gösterse de genel olarak uygulanan tüm streslerde *CsCSD1*, *CsCSD2*, *CsCSD3*, *CsCSD4*, *CsCSD5*, *CsMSD*, *CsFSD1* ve *CsFSD2* gen ifadelerinin kontrole göre arttığı belirtilmiştir (Zhou vd., 2017: 9).

3.3. Öneriler

Son yıllarda tüm dünyayı etkisi altında bırakan ve önemli bir ekolojik sorun haline gelen küresel ısınma nedeni ile tüm canlılar gibi bitkiler de farklı sıcaklıklara maruz kalmaktadır. Özellikle sıcaklık artışı aynı zamanda kuraklık ve tuzluluk streslerine de yol açmakta; böylece bitkilerin optimum yaşam koşulları olumsuz etkilenerek metabolik olaylarda değişikliklere

sebeptir. Bitki besin elementleri içerisinde bor elementi bitkilerin en fazla tepki gösterdiği metal olmayan tek mikro besin elementidir. Bitkide birçok metabolik olayda rolü olduğu düşünülen ancak henüz bu rolleri tam olarak aydınlatılmamış olan bor elementinin bitkide farklı konsantrasyonlarda farklı etkiler yarattığı bilinmektedir.

Literatürde yapılan diğer çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda birçok bitki türünde sadece sıcaklık stresi veya sadece borun etkisinin belirlendiği araştırmalar mevcuttur. Ancak sıcaklık ve borun birlikte etkisinin ortaya konduğu çalışmalara rastlanmamıştır. Bu bağlamda çalışmamızda literatürden farklı olarak hem farklı sıcaklıkların hem bor uygulamasının hem de sıcaklık ve borun kombine etkisinin ekolojik parametreler, antioksidan enzimler ve bu enzimlerin mRNA seviyesinde meydana getirdiği değişiklikler belirlenmiştir. Çalışmamız kontrol sıcaklığı olan 25°C’de artan borik asit konsantrasyonu ile birlikte kök ve yapraklara ait ekolojik parametrelerde azalma olduğunu gösterirken, antioksidan enzim aktivitelerinde ve bu enzimlerin mRNA seviyelerinde ise artış meydana geldiğini ve dolayısı ile yüksek borik asit uygulamasının oluşturduğu stres ile bitki gelişiminin olumsuz etkilediğini ve bu strese tepki olarak antioksidan enzim aktivitelerinin ve gen ifadelerinin arttığını ortaya koymaktadır. Ayrıca uzun süreli maruziyet olan 10. uygulamada kök örneklerinde antioksidan enzim seviyesi artarken yaprak örneklerinde azalması; mRNA seviyesinin kök örneklerinde azalırken yaprak örneklerinde artması borik asidin önce kökleri, oldukça önemli derecede, daha sonra ise yaprakları etkilediğinin bir göstergesidir. Ayrıca bitkinin bor stresini 10. uygulamada, 5. uygulamaya kıyasla daha fazla tolere edememesi bor uygulaması arttıkça etkisinin de daha fazla arttığını göstermektedir.

Yüksek sıcaklık olan 40°C ile birlikte bor uygulanan bitki örneklerinin ekolojik parametrelerinde önemli bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki bilgiler birden fazla abiyotik strese maruz kalan bitkilerin bu koşullara daha zor adapte olduğunu ve bitki gelişiminin bu durumdan daha fazla etkilendiğini bildirmektedir. Çalışmamız da bu durumu doğrular niteliktedir. Özellikle uzun süreli borik asite maruziyette antioksidan enzim aktiviteleri ve mRNA seviyelerinin hem kök hem de yaprak örneklerinde artmış olması 25°C’ye göre her iki stres faktörünün sinerjistik bir etki yarattığını açık bir şekilde ortaya koymuştur. Böylece bitkinin iki abiyotik stresle başa çıkabilmek için daha fazla efor sarf ettiği, yüksek sıcaklıkta 25°C’ye kıyasla bitki gelişimindeki azalmanın daha fazla olduğu hatta bitki örneklerinin kuruyarak öldüğü tespit edilmiştir.

Çalışmamızın en ilginç sonuçlarına 15°C'deki kök ve yaprak örneklerinde rastlanmıştır. Bu sonuçlar mevcut bilgilerden farklı olduğundan literatüre önemli bir katkı sunmaktadır. Çalışmamızda düşük sıcaklığı temsilen belirlenen 15°C'de bor uygulanan örneklerde literatürde yer alan düşük sıcaklıkla ilgili çalışmaların aksine kök ve gövdeye ait ekolojik parametrelerin olumlu etkilendiği ve artış gösterdiği belirlenmiştir. Antioksidan enzim aktiviteleri ve bu enzimlerin gen ekspresyon seviyeleri kökte artış gösterirken yaprak örneklerinde azalmıştır. Antioksidan enzim seviyesindeki ve bu enzimlerin ekspresyon miktarındaki artış strese bağlı olarak ROS'ların köklerde arttığını ancak bitkinin bununla baş edebildiğini göstermektedir. Çünkü bu stres durumu yapraklarda görülmemiş ve köklerde tolere edilmiştir. Yapraklardaki antioksidan enzim seviyeleri ve ekspresyon miktarlarındaki azalma, uygulanan borik asidin 15°C'deki yaprak örneklerinde ROS miktarlarının etkilenmediğini göstermektedir. Enteresan bir şekilde düşük sıcaklıkta yüksek borik asit uygulamasının büyümeyi olumlu etkilediği yüksek bor konsantrasyonuna rağmen yapraklarda herhangi bir stres oluşturmadığı tespit edilmiştir. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda borun düşük sıcaklıkta bitkiler üzerinde neden olumlu bir etki yarattığı ve borun yüksek sıcaklıkta bitkide oluşturduğu zararın mekanizması araştırılmalıdır.

Bu tez çalışması ile ayçiçeği bitkisinde gelişimin temel parametreleri olan ekolojik özellikler ile önemli antioksidan enzimlerin hem enzim aktiviteleri hem gen ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Sıcaklık ve borun ayrı ayrı ve kombine etkisinin araştırılmış olması bu çalışmayı literatürdeki diğer çalışmalardan farklı kılmaktadır. Tüm sonuçların yanı sıra özellikle düşük sıcaklık ve borun kombine etkisinde elde edilen sonuçlar literatüre önemli katkılar sunmaktadır. Elde edilen tüm sonuçlar gün geçtikçe önem kazanan sıcaklık stresi ile bitki metabolizmasındaki görevleri henüz cevaplanmamış olan borun hem ayrı hem de kombine etkilerinin aydınlatılacağı yeni çalışmalara ışık tutacaktır. Bu bağlamda küresel ısınma ile oluşacak sıcaklık değişimi ile birlikte topraktaki bor dışındaki diğer besin elementlerinin eksikliğinin ya da fazlalığının bitkiler üzerindeki etkisi yeni çalışmaların konusu olmalıdır. Böylece değişen sıcaklıklar söz konusu olduğunda hangi toprak çeşitlerinden nasıl verim alınacağı ve hangi tip toprakların hangi bitki türleri için daha iyi bir yetiştirme ortamı olacağı tespit edilmelidir. Ayrıca bir uzun gün bitkisi olan ayçiçeğinin yıllık ortalama sıcaklığın düşük olduğu bölgelerde yetiştirilebilmesi için toprağa bor ilave edilmesi önerilebilir.

KAYNAKÇA

- Abdel-Motagally, F. M. F., ve El-Zohri, M.** (2018). Improvement of wheat yield grown under drought stress by boron foliar application at different growth stages. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.03.005>
- Adams, S. R., Cockshull, K. E., ve Cave, C. R. J.** (2001). Effect of temperature on the growth and development of tomato fruits. *Annals of Botany*, 88(5), 869–877. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1524>
- Allen, D. J., ve Ort, D. R.** (2001). Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science*, 6(1), 36–42. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01808-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01808-2)
- Almeselmani, M., Deshmukh, P. S., Sairam, R. K., Kushwaha, S. R., ve Singh, T. P.** (2006). Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Science*, 171(3), 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.04.009>
- Amutha, R., Muthulakshmi, S., Rani, W. B., Indira, K., ve Mareeswari, P.** (2007). Studies on Biochemical Basis of Heat Tolerance in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Agriculture*, 3(4), 234–238.
- Ankara Üniversitesi** (2019). *Tohum ve Teknolojisi* [Erişim: 15.12.20, [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/65489/mod_resource/content/1/NB Tohumluk ve Teknolojisi 1. Hafta.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/65489/mod_resource/content/1/NB%20Tohumluk%20ve%20Teknolojisi%201.%20Hafta.pdf)]
- Apel, K., ve Hirt, H.** (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373–399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- Ara, N., Nakkanong, K., Lv, W., Yang, J., Hu, Z., ve Zhang, M.** (2013). Antioxidant enzymatic activities and gene expression associated with heat tolerance in the stems and roots of two cucurbit species (“*Cucurbita maxima*” and “*Cucurbita moschata*”) and their interspecific inbred line “Maxchata.” *International Journal of Molecular Sciences*, 14(12), 24008–24028. <https://doi.org/10.3390/ijms141224008>
- Ardic, M., Sekmen, A. H., Tokur, S., Ozdemir, F., ve Turkan, I.** (2009). Antioxidant responses of chickpea plants subjected to boron toxicity. *Plant Biology*, 11(3), 328–338. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00132.x>
- Arora, A., Byrem, T. M., Nair, M. G., ve Strasburg, G. M.** (2000). Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 373(1), 102–109. <https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1525>
- Asada, K.** (1992). Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*, Vol. 85, pp. 235–241. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb04728.x>
- Atique-ur-Rehman, Farooq, M., Nawaz, A., ve Ahmad, R.** (2014). Influence of boron nutrition on the rice productivity, kernel quality and biofortification in different production systems. *Field Crops Research*, 169, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.09.010>
- Ayala, A., Muñoz, M. F., ve Argüelles, S.** (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>

- Aydin, S., Büyük, I., ve Aras, E. S.** (2014). Expression of SOD gene and evaluating its role in stress tolerance in NaCl and PEG stressed *Lycopersicum esculentum*. *Turkish Journal of Botany*, 38(1), 89–98. <https://doi.org/10.3906/bot-1305-1>
- Ayvaz, M., Guven, A., ve Fagerstedt, K.** (2015). Does excess boron affect hormone levels of potato cultivars? *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 29(5), 887–891. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1053411>
- Azpilicueta, C. E., Pena, L. B., Tomaro, M. L., ve Gallego, S. M.** (2008). Modifications in catalase activity and expression in developing sunflower seedlings under cadmium stress. *Redox Report*, 13(1), 40–46. <https://doi.org/10.1179/135100008X259141>
- Bafana, A., Dutt, S., Kumar, A., Kumar, S., ve Ahuja, P. S.** (2011). The basic and applied aspects of superoxide dismutase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 68(2), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2010.11.007>
- Bafeel, S. O., ve Ibrahim, M. M.** (2008). Antioxidants and accumulation of α -tocopherol induce chilling tolerance in medicago sativa. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10(6), 593–598.
- Baier, M., Kandlbinder, A., Gollack, D., ve Dietz, K. J.** (2005). Oxidative stress and ozone: Perception, signalling and response. *Plant, Cell and Environment*, 28(8), 1012–1020. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01326.x>
- Balla, K., Bedo, Z., ve Veisz, O.** (2007). Heat stress induced changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat. *Cereal Research Communications*, 35(2 PART I), 197–200. <https://doi.org/10.1556/CRC.35.2007.2.8>
- Bannister, J. V., Bannister, W. H., ve Rotilio, G.** (1987). Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 22(2), 111–180. <https://doi.org/10.3109/10409238709083738>
- Bañon, S., Fernandez, J. A., Franco, J. A., Torrecillas, A., Alarcón, J. J., ve Sánchez-Blanco, M. J.** (2004). Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Scientia Horticulturae*, 101(3), 333–342. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2003.11.007>
- Barnes, J., Zheng, Y., ve Lyons, T.** (2002). Plant Resistance to Ozone: the Role of Ascorbate. *Air Pollution and Plant Biotechnology*, 235–252. https://doi.org/10.1007/978-4-431-68388-9_12
- Barut, H., Aykanat, S., Aşikli, S., ve Eker, S.** (2018). Derleme Bitkisel Üretimde Bor *Uluslararası Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1(1), 33–46.
- Bavita, A., Shashi, B., ve Navtej, S. B.** (2012). Nitric oxide alleviates oxidative damage induced by high temperature stress in wheat. *Indian Journal of Experimental Biology*, 50(5), 372–378.
- Bela, K., Bangash, S. A. K., Riyazuddin, ve Csiszár, J.** (2017). Plant glutathione peroxidases: Antioxidant enzymes in plant stress responses and tolerance. *Glutathione in Plant Growth, Development, and Stress Tolerance*, 113–126. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66682-2_5
- Ben-Haj-Salah, H., ve Tardieu, F.** (1995). Temperature affects expansion rate of maize leaves without change in spatial distribution of cell length. Analysis of the coordination between cell division and cell expansion. *Plant Physiology*, 109(3), 861–870. <https://doi.org/10.1104/pp.109.3.861>

- Beulah, K., ve Ramana, T.** (2013). PURIFICATION , PROPERTIES AND KINETIC STUDIES OF CATALASE FROM LEAVES OF PHYLLANTHUS RETICULATUS. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 3(3), 940–948.
- Blamey, F. P. C., Asher, C. J., ve Edwards, D. G.** (1997). Boron toxicity in sunflower. *Boron in Soils and Plants*, 700(1988), 145–149. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5564-9_28
- Blevins, D. G., ve Lukaszewski, K. M.** (1998). Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Biology*, 49, 481–500. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.481>
- Blokhina, O., ve Fagerstedt, K. V.** (2010). Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: Origin and redundant regulatory systems. *Physiologia Plantarum*, 138(4), 447–462. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01340.x>
- Bočová, B., Huttová, J., Liptáková, L., Mistrík, I., Ollé, M., ve Tamás, L.** (2012). Impact of short-term cadmium treatment on catalase and ascorbate peroxidase activities in barley root tips. *Biologia Plantarum*, 56(4), 724–728. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0129-8>
- Bohnert, H. J., Gong, Q., Li, P., ve Ma, S.** (2006). Unraveling abiotic stress tolerance mechanisms - Getting genomics going. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(2), 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.01.003>
- Boo, Y. C., ve Jung, J.** (1999). Water deficit - Induced oxidative stress and antioxidative defenses in rice plants. *Journal of Plant Physiology*, 155(2), 255–261. [https://doi.org/10.1016/s0176-1617\(99\)80016-9](https://doi.org/10.1016/s0176-1617(99)80016-9)
- Bradford, M. M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brdar-Jokanović, M.** (2020). Boron toxicity and deficiency in agricultural plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/ijms21041424>
- Brown, P. H., Bellaloui, N., Wimmer, M. A., Bassil, E. S., Ruiz, J., Hu, H., Römheld, V.** (2002). Boron in plant biology. *Plant Biology*, 4(2), 205–223. <https://doi.org/10.1055/s-2002-25740>
- Campos, P. S., Quartin, V., Ramalho, J. C., ve Nunes, M. A.** (2003). Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *Journal of Plant Physiology*, 160(3), 283–292. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00833>
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., ve Margis-Pinheiro, M.** (2012). Plant responses to stresses: Role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4 SUPPL.), 1011–1019. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012000600016>
- Cervilla, L. M., Blasco, B., Ríos, J. J., Rosales, M. A., Rubio-Wilhelmi, M. M., Sánchez-Rodríguez, E., Ruiz, J. M.** (2009). Response of nitrogen metabolism to boron toxicity in tomato plants. *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, 11(5), 671–677. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00167.x>
- Cervilla, Luis M., Blasco, B., Ríos, J. J., Romero, L., ve Ruiz, J. M.** (2007). Oxidative stress and antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants subjected to boron toxicity. *Annals of Botany*, 100(4), 747–756. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm156>
- Chaitanya, K. V., Sundar, D., Masilamani, S., ve Ramachandra Reddy, A.** (2002). Variation in heat stress-induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars.

Plant Growth Regulation, 36(2), 175–180. <https://doi.org/10.1023/A:1015092628374>

Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89(SPEC. ISS.), 907–916. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf105>

Chen, M., Mishra, S., Heckathorn, S. A., Frantz, J. M., ve Krause, C. (2014). Proteomic analysis of *Arabidopsis thaliana* leaves in response to acute boron deficiency and toxicity reveals effects on photosynthesis, carbohydrate metabolism, and protein synthesis. *Journal of Plant Physiology*, 171(3–4), 235–242. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.07.008>

Chen, Q., Zhang, M., ve Shen, S. (2011). Effect of salt on malondialdehyde and antioxidant enzymes in seedling roots of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(2), 273–278. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0543-5>

Chinnusamy, V., Zhu, J., ve Zhu, J. K. (2007). Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in Plant Science*, 12(10), 444–451. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.07.002>

Colville, L., ve Smirnoff, N. (2008). Antioxidant status, peroxidase activity, and PR protein transcript levels in ascorbate-deficient *Arabidopsis thaliana* vtc mutants. *Journal of Experimental Botany*, 59(14), 3857–3868. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern229>

Couto, N., Wood, J., ve Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine*, 95, 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>

Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., ve Shinozaki, K. (2011). Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology*, 11(163), 1–14.

Cruz, R. P. da, ve Milach, S. C. K. (2004). Cold tolerance at the germination stage of rice: methods of evaluation and characterization of genotypes. *Scientia Agricola*, 61(1), 1–8. <https://doi.org/10.1590/s0103-90162004000100001>

Cutforth, H. W., Shaykewich, C. F., ve Cho, C. M. (1986). L.) Root Growth During Emergence. *Canadian Journal of Soil Science*, 66(1), 51–58.

Dai, X., Wang, Y., Chen, Y., Li, H., Xu, S., Yang, T., Xia, Z. (2020). Overexpression of NtDOG1L-T Improves Heat Stress Tolerance by Modulation of Antioxidant Capability and Defense-, Heat-, and ABA-Related Gene Expression in Tobacco. *Frontiers in Plant Science*, 11(October). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.568489>

De Pinto, M. C., ve De Gara, L. (2004). Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. *Journal of Experimental Botany*, 55(408), 2559–2569. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh253>

Del Río, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M., ve Barroso, J. B. (2006). Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiology*, 141(2), 330–335. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078204>

Demir, Y. (2019). Cross-Stress Tolerance (Cold and Salt) in Plants Have Different Seed Nutrient Content (Maize, Bean and Wheat). *Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi*, 34, 121–127. <https://doi.org/10.28955/alinterizbd.638989>

Desoky, E. S. M., ElSayed, A. I., Merwad, A. R. M. A., ve Rady, M. M. (2019). Stimulating antioxidant defenses, antioxidant gene expression, and salt tolerance in *Pisum sativum* seedling by pretreatment using licorice root extract (LRE) as an organic biostimulant. *Plant Physiology*

and Biochemistry, 142(May), 292–302. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.07.020>

Dietz, K. J., Turkan, I., ve Krieger-Liszak, A. (2016). Redox- and reactive oxygen species-dependent signaling into and out of the photosynthesizing chloroplast. *Plant Physiology*, 171(3), 1541–1550. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00375>

Do, H., Kim, I. S., Jeon, B. W., Lee, C. W., Park, A. K., Wi, A. R., Lee, J. H. (2016). Structural understanding of the recycling of oxidized ascorbate by dehydroascorbate reductase (OsDHAR) from *Oryza sativa* L. japonica. *Scientific Reports*, 6(January), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep19498>

Dudziak, K., Zapalska, M., Börner, A., Szczerba, H., Kowalczyk, K., ve Nowak, M. (2019). Analysis of wheat gene expression related to the oxidative stress response and signal transduction under short-term osmotic stress. *Scientific Reports*, 9(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39154-w>

El-Shintinawy, F., Ebrahim, M. K. H., Sewelam, N., ve El-Shourbagy, M. N. (2004). Activity of photosystem 2, lipid peroxidation, and the enzymatic antioxidant protective system in heat shocked barley seedlings. *Photosynthetica*, 42(1), 15–21. <https://doi.org/10.1023/B:PHOT.0000040564.79874.42>

Elena Maestri, Natalya Klueva, Carla Perrotta, Mariolina Gulli, H. T. N. and N., ve Marmioli. (2002). Molecular genetics of heat tolerance and heat shock proteins in cereals. *Plant Molecular Biology*, 48, 667–668. <https://doi.org/10.1023/A>

Ergin, S., Gülen, H., Kesici, M., Turhan, E., İpek, A., ve Köksal, N. (2016). Effects of high temperature stress on enzymatic and nonenzymatic antioxidants and proteins in strawberry plants. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40(6), 908–917. <https://doi.org/10.3906/tar-1606-144>

Esim, N., Tiryaki, D., Karadagoglu, O., ve Atici, O. (2013). Toxic effects of boron on growth and antioxidant system parameters of maize (*Zea mays* L.) roots. *Toxicology and Industrial Health*, 29(9), 800–805. <https://doi.org/10.1177/0748233712442729>

Fan, J., Ren, J., Zhu, W., Amombo, E., Fu, J., ve Chen, L. (2014). Antioxidant responses and gene expression in bermudagrass under cold stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(6), 699–705. <https://doi.org/10.21273/jashs.139.6.699>

Farooq, M., Aziz, T., Wahid, A., Lee, D. J., ve Siddique, K. H. M. (2009). Chilling tolerance in maize: Agronomic and physiological approaches. *Crop and Pasture Science*, 60(6), 501–516. <https://doi.org/10.1071/CP08427>

Feng, K., Yu, J., Cheng, Y., Ruan, M., Wang, R., Ye, Q., Wan, H. (2016). The SOD gene family in tomato: Identification, phylogenetic relationships, and expression patterns. *Frontiers in Plant Science*, 7(AUG2016), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01279>

Ferguson, I. B., Lurie, S., ve Bowen, J. H. (1994). Protein synthesis and breakdown during heat shock of cultured pear (*Pyrus communis* L.) cells. *Plant Physiology*, 104(4), 1429–1437. <https://doi.org/10.1104/pp.104.4.1429>

Fernandez, P., Di Rienzo, J., Fernandez, L., Hopp, H. E., Paniego, N., ve Heinz, R. A. (2008). Transcriptomic identification of candidate genes involved in sunflower responses to chilling and salt stresses based on cDNA microarray analysis. *BMC Plant Biology*, 8, 1–18. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-11>

Filiz, E., Ozyigit, I. I., Saracoglu, I. A., Uras, M. E., Sen, U., ve Yalcin, B. (2019). Abiotic

stress-induced regulation of antioxidant genes in different Arabidopsis ecotypes: microarray data evaluation. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 33(1), 128–143. <https://doi.org/10.1080/13102818.2018.1556120>

Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F., ve Scott, I. M. (1997). Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiologia Plantarum*, 100(2), 241–254. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1997.1000205.x>

Foyer, C. H., ve Noctor, G. (2003). Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 119(3), 355–364. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00223.x>

Foyer, C. H., Theodoulou, F. L., ve Delrot, S. (2001). The functions of inter- and intracellular glutathione transport systems in plants. *Trends in Plant Science*, 6(10), 486–492. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02086-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02086-6)

Fryer, M. J., Andrews, J. R., Oxborough, K., Blowers, D. A., ve Baker, N. R. (1998). Relationship between CO₂ Assimilation, Photosynthetic Electron Transport, and Active O₂ Metabolism in Leaves of Maize in the Field during Periods of Low Temperature. *Plant Physiology*, 116(2), 571–580. <https://doi.org/10.1104/pp.116.2.571>

Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., ve Shinozaki, K. (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(4), 436–442. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.014>

Gao, Q., ve Zhang, L. (2008). Ultraviolet-B-induced oxidative stress and antioxidant defense system responses in ascorbate-deficient vtc1 mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*, 165(2), 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.04.002>

Ghisla, S., ve Massey, V. (1989). Mechanisms of flavoprotein-catalyzed reactions. *European Journal of Biochemistry*, 181(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1989.tb14688.x>

Gill, S. S., ve Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

Giri, A., Heckathorn, S., Mishra, S., ve Krause, C. (2017). Heat stress decreases levels of nutrient-uptake and -assimilation proteins in tomato roots. *Plants*, 6(1), 443–448. <https://doi.org/10.3390/plants6010006>

Goldbach, H. E., ve Wimmer, M. A. (2007). Boron in plants and animals: Is there a role beyond cell-wall structure? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170(1), 39–48. <https://doi.org/10.1002/jpln.200625161>

Grace, S. G., ve Logan, B. A. (2000). Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355(1402), 1499–1510. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0710>

Gülen, H., ve Eris, A. (2004). Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants. *Plant Science*, 166(3), 739–744. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.11.014>

Güneş, A., Alpaslan, M., Çikili, Y., ve Özcan, H. (2000). The effect of zinc on alleviation of boron toxicity in tomato plants (*Lycopersicon esculentum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 24(4), 505–509. <https://doi.org/10.3906/tar-98212>

- Guo, P., Qi, Y. P., Yang, L. T., Ye, X., Huang, J. H., ve Chen, L. S.** (2016). Long-Term boron-excess-induced alterations of gene profiles in roots of two citrus species differing in boron-tolerance revealed by cDNA-AFLP. *Frontiers in Plant Science*, 7(June), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00898>
- Habtamu, A., Ibrahim, A. H., Urgecha, F., ve Worku, N.** (2014). Influence of boron on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *African Journal of Plant Science*, 8(2), 133–139. <https://doi.org/10.5897/ajps2014.1148>
- Hajiboland, R., ve Bastani, S.** (2012). Tolerance to water stress in boron-deficient tea (*Camellia sinensis*) plants. *Folia Horticulturae*, 24(1), 41–51. <https://doi.org/10.2478/v10245-012-0005-1>
- Han, C., Liu, Q., ve Yang, Y.** (2009). Short-term effects of experimental warming and enhanced ultraviolet-B radiation on photosynthesis and antioxidant defense of *Picea asperata* seedlings. *Plant Growth Regulation*, 58(2), 153–162. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9363-2>
- Han, S., Chen, L. S., Jiang, H. X., Smith, B. R., Yang, L. T., ve Xie, C. Y.** (2008). Boron deficiency decreases growth and photosynthesis, and increases starch and hexoses in leaves of citrus seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 165(13), 1331–1341. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.11.002>
- Han, S., Tang, N., Jiang, H. X., Yang, L. T., Li, Y., ve Chen, L. S.** (2009). CO₂ assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress. *Plant Science*, 176(1), 143–153. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.10.004>
- Harb, A., Awad, D., ve Samarah, N.** (2015). Gene expression and activity of antioxidant enzymes in barley (*Hordeum vulgare* L.) under controlled severe drought. *Journal of Plant Interactions*, 10(1), 109–116. <https://doi.org/10.1080/17429145.2015.1033023>
- Harris, J. I., Auffret, A. D., Northrop, F. D., ve Walker, J. E.** (1980). Structural Comparisons of Superoxide Dismutases. *European Journal of Biochemistry*, 106(1), 297–303. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1980.tb06023.x>
- Harsh, A., Sharma, Y. K., Joshi, U., Rampuria, S., Singh, G., Kumar, S., ve Sharma, R.** (2016). Effect of short-term heat stress on total sugars, proline and some antioxidant enzymes in moth bean (*Vigna aconitifolia*). *Annals of Agricultural Sciences*, 61(1), 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2016.02.001>
- Hashemi, S.** (2020). Effect of Nanoparticles on Lipid Peroxidation in Plants. In *Advances in Lipid Metabolism* (Vol. 19, pp. 0–15). <https://doi.org/10.5772/intechopen.88202>
- He, Y., Liu, X., ve Huang, B.** (2005). Changes in protein content, protease activity, and amino acid content associated with heat injury in creeping bentgrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130(6), 842–847. <https://doi.org/10.21273/jashs.130.6.842>
- Hefny, M., ve Abdel-Kade, D. Z.** (2007). Antioxidant-Enzyme System as Selection Criteria for Salt Tolerance in Forage Sorghum Genotypes (*Sorghum bicolor* L. Moench). *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 1(2), 38–53. <https://doi.org/10.3923/ijpb.2007.38.53>
- Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F., ve Munné-Bosch, S.** (2009). How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in Plant Science*, 14(3), 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.12.003>

- Hernández, J. A., Ferrer, M. A., Jiménez, A., Barceló, A. R., ve Sevilla, F.** (2001). Antioxidant systems and O₂^{·-}/H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiology*, 127(3), 817–831. <https://doi.org/10.1104/pp.010188>
- Büyük, İ., Soydam-Aydin, S., ve Aras, S.** (2012). Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 69(2), 97–110.
- Horst Marschner. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants. *Academic Press*.
- Hosseini, S. M., Hasanloo, T., ve Mohammadi, S.** (2015). Physiological characteristics, antioxidant enzyme activities, and gene expression in 2 spring canola (*Brassica napus* L.) cultivars under drought stress conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(3), 413–420. <https://doi.org/10.3906/tar-1405-102>
- Huang, B., Rachmilevitch, S., ve Xu, J.** (2012). Root carbon and protein metabolism associated with heat tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 63(9), 3455–3465. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers003>
- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, M., ve Zhao, Y.** (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 10(June), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>
- Huang, M., ve Guo, Z.** (2005). Responses of antioxidative system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity. *Biologia Plantarum*, 49(1), 81–84. <https://doi.org/10.1007/s00000-005-1084-3>
- Huang, S., Van Aken, O., Schwarzländer, M., Belt, K., ve Millar, A. H.** (2016). The roles of mitochondrial reactive oxygen species in cellular signaling and stress response in plants. *Plant Physiology*, 171(3), 1551–1559. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00166>
- Hussain, Hafiz A., Hussain, S., Khaliq, A., Ashraf, U., Anjum, S. A., Men, S., ve Wang, L.** (2018). Chilling and drought stresses in crop plants: Implications, cross talk, and potential management opportunities. *Frontiers in Plant Science*, 9(April), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00393>
- Hussain, Hafiz Athar, Men, S., Hussain, S., Chen, Y., Ali, S., Zhang, S., Wang, L.** (2019). Interactive effects of drought and heat stresses on morpho-physiological attributes, yield, nutrient uptake and oxidative status in maize hybrids. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40362-7>
- Hussain, S., Khan, F., Cao, W., Wu, L., ve Geng, M.** (2016). Seed priming alters the production and detoxification of reactive oxygen intermediates in rice seedlings grown under sub-optimal temperature and nutrient supply. *Frontiers in Plant Science*, 7(APR2016), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00439>
- Irfan, M., Abbas, M., Shah, J. A., Depar, N., Memon, M. Y., ve Sial, N. A.** (2019). Interactive effect of phosphorus and boron on plant growth, nutrient accumulation and grain yield of wheat grown on calcareous soil. *Eurasian Journal of Soil Science*, 8(1), 17–26. <https://doi.org/10.18393/ejss.484654>
- Ivanov, B. N., ve Khorobrykh, S.** (2003). Participation of photosynthetic electron transport in production and scavenging of reactive oxygen species. *Antioxidants and Redox Signaling*, 5(1), 43–53. <https://doi.org/10.1089/152308603321223531>
- Jamdhade, A. R., Sunkar, R., ve Hivrale, V. K.** (2017). Zymographic method for

distinguishing different classes of superoxide dismutases in plants. *Methods in Molecular Biology*, 1631, 221–227. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7136-7_13

Janknegt, P. J., Rijstenbil, J. W., van de Poll, W. H., Gechev, T. S., ve Buma, A. G. J. (2007). A comparison of quantitative and qualitative superoxide dismutase assays for application to low temperature microalgae. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 87(3), 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2007.04.002>

Jiménez, A., Hernández, J. A., Pastori, G., Del Rio, L. A., ve Sevilla, F. (1998). Role of the ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves. *Plant Physiology*, 118(4), 1327–1335. <https://doi.org/10.1104/pp.118.4.1327>

Kabay, T., ve Şensoy, S. (2017). Yüksek Sıcaklığın Fasulyede Enzim, Klorofil ve İyon Değişimine Etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(4), 429–437. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.386522>

Kalyar, T., Rauf, S., Teixeira Da Silva, J. A., ve Shahzad, M. (2014). Handling sunflower (*Helianthus annuus* L.) populations under heat stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(5), 655–672. <https://doi.org/10.1080/03650340.2013.799276>

Kang, H., ve Saltveit, M. E. (2002). *Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots*. 571–576.

Karabal, E., Yücel, M., ve Öktem, H. A. (2003). Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Science*, 164(6), 925–933. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00067-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00067-0)

Karim, M. A., Fracheboud, Y., ve Stamp, P. (1997). Heat tolerance of maize with reference of some physiological characteristics. *Ann. Bangladesh Agri*, 7(January 1997), 27–33.

Kato, Y., Miwa, K., Takano, J., Wada, M., ve Fujiwara, T. (2009). Highly boron deficiency-tolerant plants generated by enhanced expression of NIP5;1, a boric acid channel. *Plant and Cell Physiology*, 50(1), 58–66. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn168>

Kayhan, D. S., Kayhan, C., ve Çiftçi, Y. Ö. (2016). Excess boron responsive regulations of antioxidative mechanism at physio-biochemical and molecular levels in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.10.016>

Kobayashi, K., Kumazawa, Y., Miwa, K., ve Yamanaka, S. (1996). ϵ -(γ -Glutamyl)lysine cross-links of spore coat proteins and transglutaminase activity in *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Letters*, 144(2–3), 157–160. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(96\)00353-9](https://doi.org/10.1016/0378-1097(96)00353-9)

Koç, C. (2007). Effects on environment and agriculture of geothermal wastewater and boron pollution in great menderes basin. *Environmental Monitoring and Assessment*, 125(1–3), 377–388. <https://doi.org/10.1007/s10661-006-9378-3>

Koç, E., İşlek, C., ve Üstün, A. S. (2010). Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science*, 23(1), 1–6.

Kong, W., Liu, F., Zhang, C., Zhang, J., ve Feng, H. (2016). Non-destructive determination of Malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. *Scientific Reports*, 6(October), 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep35393>

Konuk, M., Liman, R., ve Ciğerci, İ. H. (2007). Determination of Genotoxic Effect of Boron. *Science*, 39(1), 73–79.

- Korkmaz, A., ve Dufault, R. J.** (2001). Developmental consequences of cold temperature stress at transplanting on seedling and field growth and yield. II. Muskmelon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(4), 410–413. <https://doi.org/10.21273/jashs.126.4.410>
- Korkmaz, H., ve Durmaz, A.** (2017). Bitkilerin Abiyotik Stres Faktörlerine Verdiği Cevaplar Responses of Plants to Abiotic Stress Factors. *Gustij*, 7(2), 192–207.
- Koshiba, T., Kobayashi, M., ve Matoh, T.** (2009). Boron deficiency: How does the defect in cell wall damage the cells? *Plant Signaling and Behavior*, 4(6), 557–558. <https://doi.org/10.4161/psb.4.6.8734>
- Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, I. T., ve Renaut, J.** (2011). Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*, 74(8), 1301–1322. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.02.006>
- Kotak, S., Larkindale, J., Lee, U., von Koskull-Döring, P., Vierling, E., ve Scharf, K. D.** (2007). Complexity of the heat stress response in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(3), 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.011>
- Krishnan, H. B., Kim, W. S., Oehle, N. W., Smith, J. R., ve Gillman, J. D.** (2020). Effect of heat stress on seed protein composition and ultrastructure of protein storage vacuoles in the cotyledonary parenchyma cells of soybean genotypes that are either tolerant or sensitive to elevated temperatures. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms21134775>
- Labudda, M.** (2013). Lipid peroxidation as a biochemical marker for oxidative stress during drought. An effective tool for plant breeding. *E-Wydawnictwo, Polland*, (October), 1–12.
- Landi, M., Margaritopoulou, T., Papadakis, I. E., ve Araniti, F.** (2019). Boron toxicity in higher plants: an update. *Planta*, 250(4), 1011–1032. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03220-4>
- Lee, D. H., ve Lee, C. B.** (2000). Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: In gel enzyme activity assays. *Plant Science*, 159(1), 75–85. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00326-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00326-5)
- Leila Zeindali Yadegari, R. H. and J. C.** (2007). The Influence of Cold Acclimation on Proline, Malondialdehyde (MDA), Total Protein and Pigments Contents in Soybean (Glycine max) Seedlings. *Journal of Biological Sciences*, 7(8), 1436–1441.
- Leterrier, M., Corpas, F. J., Barroso, J. B., Sandalio, L. M., ve Del Río, L. A.** (2005). Peroxisomal monodehydroascorbate reductase. Genomic clone characterization and functional analysis under environmental stress conditions. *Plant Physiology*, 138(4), 2111–2123. <https://doi.org/10.1104/pp.105.066225>
- Li, Faqiang, Vallabhaneni, R., Yu, J., Rocheford, T., ve Wurtzel, E. T.** (2008). The maize phytoene synthase gene family: Overlapping roles for carotenogenesis in endosperm, photomorphogenesis, and thermal stress tolerance. *Plant Physiology*, 147(3), 1334–1346. <https://doi.org/10.1104/pp.108.122119>
- Li, Feifei, Zhan, D., Xu, L., Han, L., ve Zhang, X.** (2014). Antioxidant and hormone responses to heat stress in two kentucky bluegrass cultivars contrasting in heat tolerance. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(5), 587–596. <https://doi.org/10.21273/jashs.139.5.587>

- Li, H., Luo, H., Li, D., Hu, T., ve Fu, J.** (2012). Antioxidant enzyme activity and gene expression in response to lead stress in perennial ryegrass. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 137(2), 80–85. <https://doi.org/10.21273/jashs.137.2.80>
- Lichtenthaler, H. K.** (1996). Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology*, 148(1–2), 4–14. [https://doi.org/10.1016/s0176-1617\(96\)80287-2](https://doi.org/10.1016/s0176-1617(96)80287-2)
- Liu, A., Hu, Z., Bi, A., Fan, J., Gitau, M. M., Amombo, E., Fu, J.** (2016). Photosynthesis, antioxidant system and gene expression of bermudagrass in response to low temperature and salt stress. *Ecotoxicology*, 25(8), 1445–1457. <https://doi.org/10.1007/s10646-016-1696-9>
- Liu, D. L., Jiang, W. J., Zhang, L. Z., ve Li, L. L.** (2000). Effects of boron ions on root growth and cell division of broadbean (*Vicia faba* L.). *Israel Journal of Plant Sciences*, 48(1), 47–51. <https://doi.org/10.1560/C74E-VYKD-FKYK-TQWK>
- Liu, X., ve Huang, B.** (2000). Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. *Crop Science*, 40(2), 503–510. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.402503x>
- Rahman, M. A., Chikushi, J., Yoshida, S. ve Karim A. J. M. S.** (2009). Growth And Yield Components Of Wheat Genotypes Exposed To High Temperature Stress Under Control Environment. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 34(3), 361–372.
- Pinedo, M.L., Hernandez, G. F., Conde, R. D., and Tognetti, A. T.** (2000). Effect of low temperature on the protein metabolism of wheat leaves. *Biologia Plantarum*, 43(3), 363–367.
- Madhusudhan, R., Ishikawa, T., Sawa, Y., Shigeoka, S., ve Shibata, H.** (2003). Characterization of an ascorbate peroxidase in plastids of tobacco BY-2 cells. *Physiologia Plantarum*, 117(4), 550–557. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00066.x>
- Mahboobi, H., Yucel, M., ve Öktem, H. A.** (2000). Changes in total protein profiles of barley cultivars in response to toxic boron concentration. *Journal of Plant Nutrition*, 23(3), 391–399. <https://doi.org/10.1080/01904160009382025>
- Maheshwari, R., ve Dubey, R. S.** (2009). Nickel-induced oxidative stress and the role of antioxidant defence in rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 59(1), 37–49. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9386-8>
- Mashkina, E. V., Markin, N. V., Usatov, A. V., ve Guskov, E. P.** (2001). Response of mutant sunflower lines to heat shock. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48(6), 788–792. <https://doi.org/10.1023/A:1012512725926>
- Rodríguez M., Canales, E. Borrás-Hijaldo O.** (2005). Molecular aspects of abiotic stress in plants. *Biotecnología Aplicada*, 22(1), 1–10.
- Meena, V. K., Kaushik, M. K., Kumar, R., Singh, M., Meena, B. L., Meena, B. P., Kumar, S.** (2016). Influence of growth regulators on nutrient concentrations, nutrient uptake and quality parameters of cluster bean varieties. *Legume Research*, 39(5), 797–801. <https://doi.org/10.18805/lr.v0iOF.3764>
- Meriga, B., Reddy, B. K., Rao, K. R., Reddy, L. A., ve Kishor, P. B. K.** (2004). Aluminium-induced production of oxygen radicals, lipid peroxidation and DNA damage in seedlings of rice (*Oryza sativa*). *Journal of Plant Physiology*, 161(1), 63–68. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-01156>
- Michalak, A.** (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4), 523–530.

- Mika, A., ve Lüthje, S.** (2003). Properties of guaiacol peroxidase activities isolated from corn root plasma membranes. *Plant Physiology*, 132(3), 1489–1498. <https://doi.org/10.1104/pp.103.020396>
- Miller, A. F., Yikilmaz, E., ve Vathyam, S.** (2010). 15N-NMR characterization of His residues in and around the active site of FeSOD. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1804(2), 275–284. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.11.009>
- Mishra, S., Jha, A. B., ve Dubey, R. S.** (2011). Arsenite treatment induces oxidative stress, upregulates antioxidant system, and causes phytochelatin synthesis in rice seedlings. *Protoplasma*, 248(3), 565–577. <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0210-0>
- Mittler, R., ve Zilinskas, B. A.** (1992). Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 267(30), 21802–21807. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)36683-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)36683-9)
- Mittler, R.** (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Mittler, R.** (2017). ROS Are Good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., ve Van Breusegem, F.** (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10), 490–498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>
- Miyake, C., ve Asada, K.** (1994). Ferredoxin-dependent photoreduction of the monodehydroascorbate radical in spinach thylakoids. *Plant and Cell Physiology*, 35(4), 539–549. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078628>
- Mohamed, A. K. S. H., Qayyum, M. F., Shahzad, A. N., Gul, M., ve Wakeel, A.** (2016). Interactive effect of boron and salinity on growth, physiological and biochemical attributes of wheat (*Triticum aestivum*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 18(2), 238–244. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0032>
- Mohan Jain, S., ve Brar, D. S.** (2009). Molecular techniques in crop improvement: 2nd edition. *Molecular Techniques in Crop Improvement: 2nd Edition*, 1–772. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-2967-6>
- Moldovan, L., ve Moldovan, N. I.** (2004). Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry and Cell Biology*, 122(4), 395–412. <https://doi.org/10.1007/s00418-004-0676-y>
- Muller Seeds** (2020), *Helianthus annuus* Sunrich Orange Summer [Erişim: 15.12.2020, <https://www.mullerseeds.com/helianthus-annuus-sunrich-orange-summer.html>]
- Genisel, M., Türk, H., Dumlupınar, R.** (2017). Exogenous aminolevulinic acid protects wheat seedlings against boron-induced oxidative stress. *Romanian Biotechnological Letters*, 22(4), 12741–12750.
- Munné-Bosch, S., Schwarz, K., ve Alegre, L.** (1999). Enhanced formation of α -tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in water-stressed rosemary plants. *Plant Physiology*, 121(3), 1047–1052. <https://doi.org/10.1104/pp.121.3.1047>
- Nable, R. O.** (1988). Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: A preliminary examination of the resistance mechanism. *Plant and Soil*, 112(1), 45–52. <https://doi.org/10.1007/BF02181751>

- Nable, R. O., Ba, G. S., ve Paull, J. G.** (1997). Boron toxicity. *Plant and Soil*, 193, 181–198.
- Naz, N., Durrani, F., Shah, Z., Khan, N. A., ve Ullah, I.** (2018). Influence of heat stress on growth and physiological activities of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Phyton*, 87, 225–230. <https://doi.org/10.32604/phyton.2018.87.225>
- Noctor, G., ve Foyer, C. H.** (1998). Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. *Annual Review of Plant Biology*, 49, 249–279. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249>
- Oliver, S. N., Dennis, E. S., ve Dolferus, R.** (2007). ABA regulates apoplastic sugar transport and is a potential signal for cold-induced pollen sterility in rice. *Plant and Cell Physiology*, 48(9), 1319–1330. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcm100>
- Panero, J. L., ve Funk, V. A.** (2002). Toward a phylogenetic subfamilial classification for the compositae (Asteraceae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 115(4), 909–922.
- Pang, C.-H., ve Wang, B.-S.** (2008). *Oxidative Stress and Salt Tolerance in Plants*. 231–245. https://doi.org/10.1007/978-3-540-72954-9_9
- Park, A. K., Kim, I. S., Do, H., Jeon, B. W., Lee, C. W., Roh, S. J., Kim, H. W.** (2016). Structure and catalytic mechanism of monodehydroascorbate reductase, MDHAR, from *Oryza sativa* L. japonica. *Scientific Reports*, 6(April), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep33903>
- Patterson, W. R., ve Poulos, T. L.** (1995). Crystal Structure of Recombinant Pea Cytosolic Ascorbate Peroxidase. *Biochemistry*, 34(13), 4331–4341. <https://doi.org/10.1021/bi00013a023>
- Perry, J. J. P., Shin, D. S., Getzoff, E. D., ve Tainer, J. A.** (2010). The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1804(2), 245–262. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.11.004>
- Pilon, M., Ravet, K., ve Tapken, W.** (2011). The biogenesis and physiological function of chloroplast superoxide dismutases. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1807(8), 989–998. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.11.002>
- Pourabdollah Najafabadi, F., Shariatpanahi, M. E., Ahmadi, B., Sima, N. K. K., Alizadeh, B., ve Oroojloo, M.** (2015). Effects of heat shock and 2, 4-D treatment on morphological and physiological characteristics of microspores and microspore-derived doubled haploid plants in *Brassica napus* L. *Iranian Journal of Biotechnology*, 13(2), 31–38. <https://doi.org/10.15171/ijb.1148>
- Power, P. P., ve Woods, W. G.** (1997). The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant and Soil*, 193(1–2), 1–13. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5580-9_1
- Princi, M. P., Lupini, A., Araniti, F., Longo, C., Mauceri, A., Sunseri, F., ve Abenavoli, M. R.** (2015). Boron Toxicity and Tolerance in Plants: Recent Advances and Future Perspectives. In *Plant Metal Interaction: Emerging Remediation Techniques*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803158-2.00005-9>
- Purnama, P. R., Hariyanto, S., Manuhara, Y. S. W., ve Purnobasuki, H.** (2019). Gene expression of antioxidant enzymes and heat shock proteins in tropical seagrass *Thalassia hemprichii* under heat Stress. *Taiwania*, 64(2), 117–123. <https://doi.org/10.6165/tai.2019.64.117>
- R. K. Sairam Aruna Tyagi.** (2004). Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*, 86(3).

<https://doi.org/10.1007/1-4020-4225-6>

Radotić, K., Dučić, T., ve Mutavdžić, D. (2000). Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium. *Environmental and Experimental Botany*, 44(2), 105–113. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(00\)00059-9](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(00)00059-9)

Radyuk, M. S., Domanskaya, I. N., Shcherbakov, R. A., ve Shalygo, N. V. (2009). Effect of low above-zero temperature on the content of low-molecular antioxidants and activities of antioxidant enzymes in green barley leaves. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(2), 175–180. <https://doi.org/10.1134/S1021443709020058>

Raja, V., Qadir, S. U., Alyemeni, M. N., ve Ahmad, P. (2020). Impact of drought and heat stress individually and in combination on physio-biochemical parameters, antioxidant responses, and gene expression in *Solanum lycopersicum*. *3 Biotech*, 10(5), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02206-4>

Rani, B., Dhawan, K., Jain, V., Chhabra, M., ve Singh, D. (2013). High temperature induced changes in antioxidative enzymes in *Brassica juncea* (L) Czern ve Coss. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 10(2), 118-125.

Rerkasem, B., Lordkaew, S., Yimyam, N., ve Jamjod, S. (2019). Evaluating boron efficiency in heat tolerant wheat germplasm. *International Journal of Agriculture and Biology*, 21(2), 385–390. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0905>

Rivero, R. M., Ruiz, J. M., ve Romero, L. (2004). Oxidative metabolism in tomato plants subjected to heat stress. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(4), 560–564. <https://doi.org/10.1080/14620316.2004.11511805>

Rolf, D. V., Kathryn, L. C., Jon, N., Marten, S., Stanley, I. D., Stephen, C. M., ve Ulrich, S. (2004). Impacts of multiple stressors on biodiversity and ecosystem functioning: the role of species co-tolerance. *Oikos*, 104(3), 451–457. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.13255.x>

Ruelland, E., Vaultier, M. N., Zachowski, A., ve Hurry, V. (2009). Chapter 2 Cold Signalling and Cold Acclimation in Plants. In *Advances in Botanical Research* (1st ed., Vol. 49). [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)00602-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)00602-2)

Rymen, B., Fiorani, F., Kartal, F., Vandepoele, K., Inzé, D., ve Beemster, G. T. S. (2007). Cold nights impair leaf growth and cell cycle progression in maize through transcriptional changes of cell cycle genes. *Plant Physiology*, 143(3), 1429–1438. <https://doi.org/10.1104/pp.106.093948>

Sairam, R. K., Srivastava, G. C., ve Saxena, D. C. (2000). Increased antioxidant activity under elevated temperatures: A mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes. *Biologia Plantarum*, Vol. 43, pp. 245–251. <https://doi.org/10.1023/A:1002756311146>

Sandalio, L. M., ve Romero-Puertas, M. C. (2015). Peroxisomes sense and respond to environmental cues by regulating ROS and RNS signalling networks. *Annals of Botany*, 116(4), 475–485. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv074>

Sang, W., Huang, Z. R., Qi, Y. P., Yang, L. T., Guo, P., ve Chen, L. S. (2015). An investigation of boron-toxicity in leaves of two citrus species differing in boron-tolerance using comparative proteomics. In *Journal of Proteomics* (Vol. 123). <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.04.007>

- Kumar Baniwal, S., Bharti, K., Yu Chan, K., Arnab Ganguli M. F., Kotak, S., Kumar Mishra, S., Nover, L., Port, M., Scharf, K. D., Tripp, J., Weber, C., Zielinski, D., ve Koskull-Döring P.** (2004). Heat stress response in plants- a complex game with chaperones and more than twenty heat s.pdf. *Journal of Biosciences*, 29(4), 471–487.
- Sarabandi, M., Farokhzad, A., Mandoulakani, B. A., ve Ghasemzadeh, R.** (2019). Biochemical and gene expression responses of two Iranian grape cultivars to foliar application of methyl jasmonate under boron toxicity conditions. *Scientia Horticulturae*, 249(October 2018), 355–363. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.019>
- Sardhara, K., ve Mehta, K.** (2018). Effects of Abiotic and Biotic Stress on the Plant Xournals. *Academic Journal of Botanical Sciences*, 01(01), 5–9.
- Sarwar, M., Saleem, M. F., Ullah, N., Ali, S., Rizwan, M., Shahid, M. R., Ahmad, P.** (2019). Role of mineral nutrition in alleviation of heat stress in cotton plants grown in glasshouse and field conditions. *Scientific Reports*, 9(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49404-6>
- Sato, Y., Murakami, T., Funatsuki, H., Matsuba, S., Saruyama, H., ve Tanida, M.** (2001). Heat shock-mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 52(354), 145–151. <https://doi.org/10.1093/jxb/52.354.145>
- Sattler, S. E., Mène-Saffrané, L., Farmer, E. E., Krischke, M., Mueller, M. J., ve DellaPenna, D.** (2006). Nonenzymatic lipid peroxidation reprograms gene expression and activates defense markers in *Arabidopsis* tocopherol-deficient mutants. *Plant Cell*, 18(12), 3706–3720. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.044065>
- Savchenko, G. E., Klyuchareva, E. A., Abramchik, L. M., ve Serdyuchenko, E. V.** (2002). Effect of periodic heat shock on the inner membrane system of etioplasts. *Russian Journal of Plant Physiology*, 49(3), 349–359. <https://doi.org/10.1023/A:1015592902659>
- Scandalios, J. G.** (1993). Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology*, 101(1), 7–12. <https://doi.org/10.1104/pp.101.1.7>
- Seiler, G. J., Qi, L. L., ve Marek, L. F.** (2017). Utilization of sunflower crop wild relatives for cultivated sunflower improvement. *Crop Science*, 57(3), 1083–1101. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0856>
- Semchuk, N. M., Lushchak, O. V., Falk, J., Krupinska, K., ve Lushchak, V. I.** (2009). Inactivation of genes, encoding tocopherol biosynthetic pathway enzymes, results in oxidative stress in outdoor grown *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(5), 384–390. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.01.009>
- Seth, K., ve Aery, N. C.** (2017). Boron induced changes in biochemical constituents, enzymatic activities, and growth performance of wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(11), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2541-3>
- Shah, K., Kumar, R. G., Verma, S., ve Dubey, R. S.** (2001). Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Science*, 161(6), 1135–1144. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00517-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00517-9)
- Sharma, I., ve Ahmad, P.** (2014). Catalase: A Versatile Antioxidant in Plants. *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling*, (1983), 131–148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00004-6>
- Sharma, P., ve Dubey, R. S.** (2004). Ascorbate peroxidase from rice seedlings: Properties of

enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. *Plant Science*, 167(3), 541–550. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.04.028>

Sharma, P., ve Dubey, R. S. (2005). Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 46(3), 209–221. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-0002-2>

Sharma, P., ve Dubey, R. S. (2007). Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum. *Plant Cell Reports*, 26(11), 2027–2038. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0416-6>

Sharma, P., Jha, A. B., ve Dubey, R. S. (2016). Oxidative stress and antioxidative defense systems in plants growing under abiotic stresses. *Handbook of Plant and Crop Stress, Third Edition*, 89–138. <https://doi.org/10.1201/9781351104609-7>

Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., ve Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1–26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>

Shehzad, M. A., Maqsood, M., Nawaz, F., Abbas, T., ve Yasin, S. (2018). Boron-induced improvement in physiological, biochemical and growth attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) exposed to terminal drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 41(8), 943–955. <https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1431663>

Shim, I., Naruse, Y., Kim, Y., Kobayashi, K., ve Usui, K. (1999). Scavenging Activity of NaCl-induced Activated Oxygen in Two Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars Differing in Salt Tolerance. *Japanese Journal of Tropical Agriculture*, 43(1), 32–41. <https://doi.org/10.11248/jsta1957.43.32>

Shinozaki, K., ve Yamaguchi-Shinozaki, K. (1998). Molecular Responses to Drought Stress. *Stress Responses of Photosynthetic Organisms*, 149–163. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-82884-2.50013-3>

Shorrocks, V. M. (1997). The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and Soil*, 193(1–2), 121–148. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5580-9_9

Smertenko, A., Dráber, P., Viklický, V., ve Opatrný, Z. (1997). Heat stress affects the organization of microtubules and cell division in *Nicotiana tabacum* cells. *Plant, Cell and Environment*, 20(12), 1534–1542. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1997.d01-44.x>

Smirnoff, N., ve Cumbes, Q. J. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28(4), 1057–1060. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80182-7](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80182-7)

Smith, B. D. (2014). The domestication of *Helianthus annuus* L. (sunflower). *Vegetation History and Archaeobotany*, 23(1), 57–74. <https://doi.org/10.1007/s00334-013-0393-3>

Sofia, A., de Almeida, A. M., da Silva, A. B., da Silva, J. M., Paula, A., Santos, D., Sousa Araujo, S. de. (2013). Abiotic Stress Responses in Plants: Unraveling the Complexity of Genes and Networks to Survive. *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture*. <https://doi.org/10.5772/52779>

Sowiński, P., Rudzińska-Langwald, A., Adameczyk, J., Kubica, I., ve Fronk, J. (2005). Recovery of maize seedling growth, development and photosynthetic efficiency after initial growth at low temperature. *Journal of Plant Physiology*, 162(1), 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.03.006>

Srivastava, S., ve Dubey, R. S. (2011). Manganese-excess induces oxidative stress, lowers the

pool of antioxidants and elevates activities of key antioxidative enzymes in rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 64(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9526-1>

Stephenie, S., Chang, Y. P., Gnanasekaran, A., Esa, N. M., ve Gnanaraj, C. (2020). An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. *Journal of Functional Foods*, 68(November 2019), 103917. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103917>

Sulus S., Leblebici, S. (2020). The Effect of Boric Acid Application on Ecophysiological Characteristics of Safflower Varieties (*Carthamus tinctorius* L.). *Fresenius Environmental Bulletin*, 29(09A), 8177–8185.

Supanjani, K. D. L. (2006). Hot pepper response to interactive effects of salinity and boron. *Plant, Soil and Environment*, 52(5), 227–233. <https://doi.org/10.17221/3433-pse>

Surgun Acar, Y., İşkil, R., ve Erden, Y. (2018). Determination of expression profiles of superoxide dismutase genes in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh under boron stress. *Journal of Boron*, 3(3), 145–150. <https://doi.org/10.30728/boron.409349>

Tarım ve Orman Bakanlığı (2020). Tarım Ürünleri Piyasaları AYÇİÇEĞİ (Ocak 2020, Ürün No: BÜ-02). [Erişim: 17.12.2020, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/>].

Tavallali, V., Karimi, S., ve Espargham, O. (2018). Boron enhances antioxidative defense in the leaves of salt-affected *Pistacia vera* seedlings. *Horticulture Journal*, 87(1), 55–62. <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-062>

Tepe, M., ve Aydemir, T. (2011). Antioxidant responses of lentil and barley plants to boron toxicity under different nitrogen sources. *African Journal of Biotechnology*, 10(53), 10882–10891. <https://doi.org/10.5897/ajb10.1076>

Thakur, P., Kumar, S., Malik, J. A., Berger, J. D., ve Nayyar, H. (2010). Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 67(3), 429–443. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.09.004>

Torun, A. A., Yazici, A., Erdem, H., ve Çakmak, I. (2006). Genotypic variation in tolerance to boron toxicity in 70 durum wheat genotypes. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(1), 49–58. <https://doi.org/10.3906/tar-0512-14>

Tsukagoshi, H., Busch, W., ve Benfey, P. N. (2010). Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root. *Cell*, 143(4), 606–616. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.10.020>

Tsukaguchi, T., Kawamitsu, Y., Takeda, H., Suzuki, K., ve Egawa, Y. (2003). Water status of flower buds and leaves as affected by high temperature in heat-tolerant and heat-sensitive cultivars of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Production Science*, 6(1), 24–27. <https://doi.org/10.1626/pps.6.24>

Turan, M. A., Taban, N., ve Taban, S. (2009). Effect of calcium on the alleviation of boron toxicity and localization of boron and calcium in cell wall of wheat. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(2), 99–103. <https://doi.org/10.15835/nbha3723241>

Türkçe Bilgi (2019). *Ayçiçeği*. [Erişim: 15.12.20, <https://www.turkcebilgi.com/aycicegii>]

Verma, S., ve Dubey, R. S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, 164(4), 645–655. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00022-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00022-0)

- Verslues, P. E., ve Zhu, J. K.** (2005). Before and beyond ABA: Upstream sensing and internal signals that determine ABA accumulation and response under abiotic stress. *Biochemical Society Transactions*, 33(2), 375–379. <https://doi.org/10.1042/BST0330375>
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., ve Foolad, M. R.** (2007). Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61(3), 199–223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011>
- Wahid, A.** (2007). Physiological implications of metabolite biosynthesis for net assimilation and heat-stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *Journal of Plant Research*, 120(2), 219–228. <https://doi.org/10.1007/s10265-006-0040-5>
- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., ve Guo, S.** (2013). The critical role of potassium in plant stress response. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 7370–7390. <https://doi.org/10.3390/ijms14047370>
- Wang, Wangxia, Vinocur, B., Shoseyov, O., ve Altman, A.** (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science*, 9(5), 244–252. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006>
- Wang, Weiqin, Chen, Q., Hussain, S., Mei, J., Dong, H., Peng, S., Nie, L.** (2016). Pre-sowing Seed Treatments in Direct-seeded Early Rice: Consequences for Emergence, Seedling Growth and Associated Metabolic Events under Chilling Stress. *Scientific Reports*, 6(January), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep19637>
- Waraich, E. A., Ahmad, R., Halim, A., ve Aziz, T.** (2012). Alleviation of temperature stress by nutrient management in crop plants: A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(2), 221–244. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162012000200003>
- Waraich, E. A. Ahmad, R., Saifullah, Ashraf, M. Y., ve Ehsanullah.** (2011). Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), 764–777.
- Welinder, K. G.** (1992). Superfamily of plant, fungal and bacterial peroxidases. *Current Opinion in Structural Biology*, 2, 388–393. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1988.tb06631.x>
- Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Van Camp, W.** (1997). Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. *EMBO Journal*, 16(16), 4806–4816. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.16.4806>
- Wimmer, M. A., Mühlhng, K. H., Lauchli, A., Brown, P. H., ve Goldbach, H. E.** (2003). The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. *Plant, Cell and Environment*, 26(8), 1267–1274. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2003.01051.x>
- Wise, R. R., Olson, A. J., Schrader, S. M., ve Sharkey, T. D.** (2004). Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. *Plant, Cell and Environment*, 27(6), 717–724. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01171.x>
- Xu, L., Han, L., ve Huang, B.** (2011). Antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves of kentucky bluegrass in response to drought and post-drought recovery. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 136(4), 247–255. <https://doi.org/10.21273/jashs.136.4.247>

- Xu, S., Li, J., Zhang, X., Wei, H., ve Cui, L.** (2006). Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress. *Environmental and Experimental Botany*, 56(3), 274–285. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.03.002>
- Yan, Q., Duan, Z., Mao, J., Li, X., ve Dong, F.** (2012). Effects of root-zone temperature and N, P, and K supplies on nutrient uptake of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings in hydroponics. *Soil Science and Plant Nutrition*, 58(6), 707–717. <https://doi.org/10.1080/00380768.2012.733925>
- Yau, S. K., Nachit, M. M., Ryan, J., ve Hamblin, J.** (1995). Phenotypic variation in boron-toxicity tolerance at seedling stage in durum wheat (*Triticum durum*). *Euphytica*, 83(3), 185–191. <https://doi.org/10.1007/BF01678128>
- Yin, H., Chen, Q., ve Yi, M.** (2008). Effects of short-term heat stress on oxidative damage and responses of antioxidant system in *Lilium longiflorum*. *Plant Growth Regulation*, 54(1), 45–54. <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9227-6>
- Yong, Z., Hao-Ru, T., ve Ya, L.** (2008). Variation in Antioxidant Enzyme Activities of Two Strawberry Cultivars with Short-term Low Temperature Stress. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(4), 458–462.
- Yoshida, S., Tamaoki, M., Shikano, T., Nakajima, N., Ogawa, D., Ioki, M., Saji, H.** (2006). Cytosolic dehydroascorbate reductase is important for ozone tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 47(2), 304–308. <https://doi.org/10.1093/pcp/pci246>
- Young, A. J.** (1991). The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiologia Plantarum*, 83(4), 702–708. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb02490.x>
- Young, L. W., Wilen, R. W., ve Bonham-Smith, P. C.** (2004). High temperature stress of *Brassica napus* during flowering reduces micro- and megagametophyte fertility, induces fruit abortion, and disrupts seed production. *Journal of Experimental Botany*, 55(396), 485–495. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh038>
- Youssef, M. M., ve Azooz, M. M.** (2013). Biochemical Studies on the Effects of Zinc and Lead on Oxidative Stress, Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Okra (*Hibiscus esculentus* cv. Hassawi). *Science International*, Vol. 1, pp. 29–38. <https://doi.org/10.5567/sciintl.2013.29.38>
- Zaefyzadeh, M., Quliyev, R. A., Babayeva, S. M., ve Abbasov, M. A.** (2009). The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces. *Turkish Journal of Biology*, 33(1), 1–7. <https://doi.org/10.3906/biy-0801-12>
- Zafra, A., Rodríguez-García, M. I., ve Alché, J. D. D.** (2010). Cellular localization of ROS and NO in olive reproductive tissues during flower development. *BMC Plant Biology*, 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-36>
- Zaro, G. C., Caramori, P. H., de Oliveira, C. M. G., Nagashima, G. T., Rosisca, J. R., ve Prete, C. E. C.** (2019). Assessment of cold stress in avocado cultivars based on visual, physiological and biochemical criteria. *Australian Journal of Crop Science*, 13(6), 881–888. <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.06.p1593>
- Zeng, J., Dong, Z., Wu, H., Tian, Z., ve Zhao, Z.** (2017). Redox regulation of plant stem cell fate. *The EMBO Journal*, 36(19), 2844–2855. <https://doi.org/10.15252/embj.201695955>

- Zhang, X., Yin, H., Chen, S., He, J., ve Guo, S.** (2014). Changes in antioxidant enzyme activity and transcript levels of related genes in *limonium sinense* kuntze seedlings under NaCl stress. *Journal of Chemistry*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/749047>
- Zhang, Y., Luo, Y., Hou, Y., Jiang, H., Chen, Q., ve Tang, H.** (2008). Chilling acclimation induced changes in the. *Agricultural Journal*, Vol. 3, pp. 286–291.
- Zhao, J. L., Li, X. J., Zhang, H., ve Li, Y.** (2003). Chilling stability of microtubules in root-tip cells of cucumber. *Plant Cell Reports*, 22(1), 32–37. <https://doi.org/10.1007/s00299-003-0656-z>
- Zhou, C., Zhu, C., Fu, H., Li, X., Chen, L., Lin, Y., Guo, Y.** (2019). Genome-wide investigation of superoxide dismutase (SOD) gene family and their regulatory miRNAs reveal the involvement in abiotic stress and hormone response in tea plant (*Camellia sinensis*). *PLoS ONE*, 14(10), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223609>
- Zhou, Y., Hu, L., Wu, H., Jiang, L., ve Liu, S.** (2017). Genome-Wide Identification and Transcriptional Expression Analysis of Cucumber Superoxide Dismutase (SOD) Family in Response to Various Abiotic Stresses. *International Journal of Genomics*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7243973>

EK-1**Ayçiçeği bitkisine ait deney gruplarının ekolojik verileri**

		Kök Uzunluk (cm)	Gövde Uzunluk (cm)	Kök Yaş Ağırlık (g)	Kök Kuru Ağırlık (g)	Gövde Yaş Ağırlık (g)	Gövde Kuru Ağırlık (g)	Kök Biyokütle (g/ha)	Gövde Biyokütle (g/ha)	Borik Asit Tolerans İndeksi (BTI)
25°C	Kontrol	21,25±0,35	26,53±0,32	1,21±0,02	0,08±0,01	1,38±0,001	0,19±0,003	24261±572	59920±336	1
	10 mM	16,25±0,71	22,38±0,18	0,61±0,01	0,03±0,002	0,51±0,001	0,14±0,03	19706±1335	35238±0,0	0,70
	25 mM	10,84±0,23	20,58±0,11	0,49±0,005	0,03±0,002	0,29±0,01	0,09±0,01	10896±662	29396±67	0,60
15°C	Kontrol	16,15±0,42	16,88±0,11	0,95±0,004	0,05±0,04	1,92±0,07	0,13±0,01	8650±112	43095±2357	1
	10 mM	14,50±0,14	18,43±0,32	0,73±0,1	0,04±0,002	2,38±0,02	0,21±0,002	12436±101	76476±538	0,55
	25 mM	14,33±0,04	23,30±0,28	0,46±0,1	0,03±0,001	3,11±0,09	0,29±0,002	12436±1717	86420±1447	0,46
40°C	Kontrol	15,83±0,18	22,68±0,18	0,73±0,04	0,05±0,004	1,60±0,03	0,13±0,002	15293±123	62230±774	1
	10 mM	10,63±0,18	21,26±0,13	0,36±0,01	0,03±0,001	0,29±0,01	0,08±0,006	9555±179	43388±505	0,71
	25 mM	7,98±0,11	16,59±0,41	0,21±0,001	0,01±0,001	0,11±0,004	0,07±0,003	3706±56	25253±336	0,50

EK-2**Kök örneklerine ait antioksidan enzim aktiviteleri**

		Kök antioksidan enzim aktiviteleri (5. uygulama)			Kök antioksidan enzim aktiviteleri (10. uygulama)		
		SOD (% inhibisyon)	CAT (U/mg)	APX (U/mg)	SOD (% inhibisyon)	CAT (U/mg)	APX (U/mg)
25°C	Kontrol	1,24±1,24	0,011±0,001	0,012±0,003	69,69±1,71	0,032±0,001	0,06±0,007
	10 mM	58,46±1,80	0,011±0,001	0,016±0,008	73,84±0,56	0,023±0,001	0,07±0,000
	25 mM	65,61±2,91	0,013±0,001	0,011±0,003	85,80±0,09	0,022±0,002	0,10±0,01
15°C	Kontrol	64,53±0,42	0,008±0,001	0,065±0,000	68,07±0,25	0,018±0,001	0,07±0,007
	10 mM	76,54±0,35	0,009±0,001	0,08±0,002	73,51±1,75	0,019±0,001	0,06±0,000
	25 mM	103,34±0,42	0,010±0,001	0,10±0,01	79,26±1,02	0,021±0,001	0,08±0,007
40°C	Kontrol	97,49±0,74	0,015±0,001	0,073±0,000	54,58±0,62	0,023±0,001	0,03±0,000
	10 mM	91,93±0,18	0,025±0,001	0,10±0,002	67,59±0,092	0,041±0,001	0,03±0,000
	25 mM	97,00±0,97	0,046±0,002	0,12±0,004	70,83±1,20	0,045±0,004	0,05±0,000

EK-3**Yaprak örneklerine ait antioksidan enzim aktiviteleri**

		Yaprak antioksidan enzim aktiviteleri (5. uygulama)			Yaprak antioksidan enzim aktiviteleri (10. uygulama)		
		SOD (% inhibisyon)	CAT (U/mg)	APX (U/mg)	SOD (% inhibisyon)	CAT (U/mg)	APX (U/mg)
25°C	Kontrol	93,89±0,83	0,052±0,002	0,058±0,002	95,98±0,18	0,048±0,002	0,661±0,009
	10 mM	93,37±0,09	0,042±0,001	0,081±0,001	88,90±0,42	0,034±0,001	0,109±0,001
	25 mM	98,11±0,42	0,028±0,001	0,049±0,001	84,42±1,20	0,013±0,003	0,223±0,006
15°C	Kontrol	103,40±0,14	0,031±0,002	0,050±0,001	101,18±0,14	0,025±0,001	0,099±0,004
	10 mM	103,40±0,05	0,027±0,000	0,045±0,001	102,16±0,32	0,016±0,001	0,119±0,000
	25 mM	100,26±0,04	0,025±0,001	0,034±0,002	99,87±0,14	0,035±0,001	0,107±0,000
40°C	Kontrol	102,37±0,25	0,025±0,001	0,069±0,001	101,14±0,09	0,023±0,001	0,180±0,004
	10 mM	100,39±0,14	0,016±0,001	0,026±0,002	97,42±0,18	0,027±0,002	0,047±0,001
	25 mM	99,94±0,13	0,026±0,001	0,036±0,003	93,44±2,49	0,020±0,000	0,040±0,001

EK-4

Kök örneklerine ait antioksidan enzimlerin gen ifade seviyeleri

		Kök antioksidan enzimlerin gen ifade seviyeleri (5. uygulama)			Kök antioksidan enzimlerin gen ifade seviyeleri (10. uygulama)		
		<i>SOD-Mn</i> (kat)	<i>CAT</i> (kat)	<i>APX</i> (kat)	<i>SOD-Mn</i> (kat)	<i>CAT</i> (kat)	<i>APX</i> (kat)
25°C	Kontrol	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	10 mM	1,21±0,08	1,25±0,003	1,62±0,04	0,78±0,08	1,68±0,19	1,06±0,04
	25 mM	1,64±0,11	1,42±0,03	1,30±0,14	-	-	-
15°C	Kontrol	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	10 mM	1,18±0,03	3,91±0,28	1,50±0,12	1,32±0,05	1,82±0,049	2,11±0,28
	25 mM	1,27±0,04	0,45±0,071	2,05±0,07	0,36±0,004	0,18±0,001	4,53±0,33
40°C	Kontrol	1,00	1,00	1,00	-	-	-
	10 mM	1,44±0,11	0,78±0,11	1,41±0,12	-	-	-
	25 mM	2,16±0,11	1,96±0,02	3,94±0,04	-	-	-

EK-5

Yaprak örneklerine ait antioksidan enzimlerin gen ifade seviyeleri

		Yaprak antioksidan enzimlerin gen ifade seviyeleri (5. uygulama)					Yaprak antioksidan enzimlerin gen ifade seviyeleri (10. uygulama)				
		<i>SOD-Mn</i> (kat)	<i>SOD-Fe</i> (kat)	<i>SOD-Cu/Zn</i> (kat)	<i>CAT</i> (kat)	<i>APX</i> (kat)	<i>SOD-Mn</i> (kat)	<i>SOD-Fe</i> (kat)	<i>SOD-Cu/Zn</i> (kat)	<i>CAT</i> (kat)	<i>APX</i> (kat)
25°C	Kontrol	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	10 mM	0,92±0,014	0,24±0,057	2,72±0,184	0,96±0,013	1,67±0,049	1,06±0,085	0,77±0,028	3,25±0,14	0,84±0,033	0,94±0,064
	25 mM	0,61±0,011	0,02±0,001	13,54±2,40	0,79±0,054	1,52±0,020	1,32±0,085	0,22±0,006	14,12±0,02	10,24±1,52	6,35±0,009
15°C	Kontrol	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	10 mM	0,34±0,106	1,13±0,064	0,39±0,007	0,55±0,021	0,89±0,021	0,70±0,028	0,31±0,016	0,30±0,07	0,16±0,028	1,17±0,057
	25 mM	0,21±0,014	0,73±0,000	0,08±0,007	0,15±0,071	0,76±0,057	0,20±0,121	0,37±0,099	0,06±0,01	0,20±0,014	0,89±127
40°C	Kontrol	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	10 mM	0,91±0,007	0,04±0,000	0,06±0,007	0,03±0,002	0,98±0,035	1,68±0,066	7,25±0,530	10,64±0,89	46,85±0,46	1,42±0,071
	25 mM	1,09±0,014	0,08±0,028	0,26±0,008	0,20±0,051	0,76±0,092	2,52±0,085	0,61±0,142	0,19±0,02	1,50±0,03	1,20±0,141

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Fadime DONBALOĞLU BOZCA

Doğum Tarihi: 05.09.1995

Doğum Yeri: Düziçi

Akademik Unvanı: Araştırma Görevlisi

ORCID: 0000-0001-8171-0933

İş Telefonu: 2282141417

Cep Telefonu:

İş Adresi: Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

E-postası: fadime.donbaloglu@bilecik.edu.tr

Bildiği Yabancı Diller (Puan ve Yılı): İngilizce (86,525; 2017-YDS-İlkbahar)



Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Moleküler Biyoloji ve Genetik (%30 İngilizce)	Gebze Teknik Üniversitesi	2013-2017
Y. Lisans	Moleküler Biyoloji	Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi	2019-2020

Yüksek Lisans Tez Başlığı ve Tez Danışmanı:

Ayçiçeği Bitkisinde (*Helianthus annuus* L.) Kombine Uygulanan Borik Asit ve Sıcaklık Stresinin Bazı Ekolojik Parametreler, Antioksidan Enzimler ve Gen İfadeleri Üzerine Etkisi –
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sema LEBLEBİCİ

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

A1. DEMİROĞLU ZERGEROĞLU ASUMAN, Turhal Gulseren, Topal Halime, CEYLAN HÜRMEZ, DONBALOĞLU FADİME, KARADENİZ CERİT KIVILCIM, Odongo Ronald Regan (2020). Anti-carcinogenic effects of Halofuginone on lung derived cancer cells. CELL BIOLOGY INTERNATIONAL (Yayın No: 6253809)

A2. YENİLMEZ ÇİFTÇİ GÖNÜL, TANRIVERDİ EÇİK ESRA, Göler Ömer, YÜKSEL FATMA, Duygulu Ercan, DONBALOĞLU FADİME, TURHAL GÜLSEREN, DEMİROĞLU ZERGEROĞLU ASUMAN (2019). Thiazole substituted dispiromonoansa and monospiro cyclotriphosphazenes: Design, synthesis and biological activity. Inorganica Chimica Acta, 498, 119158, Doi: 10.1016/j.ica.2019.119158 (Yayın No: 5978371)

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

B1. DONBALOĞLU FADİME, LEBLEBİCİ SEMA (2020). Kombine uygulanan borik asit ve sıcaklık stresinin ayçiçeği bitkisindeki (*Helianthus annuus* L.) bazı antioksidan enzim aktivitelerinin etkilerinin belirlenmesi. 3rd International Eurasian Conference On Biological and Chemical Sciences (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:6651030)