



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Yüksek Lisans Tezi

***Azolla caroliniana* DA YÜKSEK IŞIK VE AÇLIK STRESİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Başak Defne PORSUK

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Taylan KÖSESAKAL**

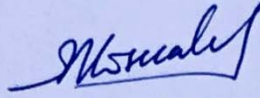
**II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Özer ÇALIŞ**

Aralık, 2019

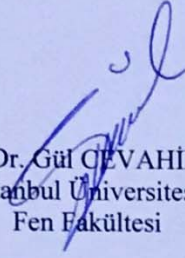
İSTANBUL

Bu çalışma, 24.12.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

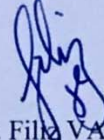
Tez Jürisi



Doç. Dr. Taylan KÖSESAKAL (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Filiz VARDAR
Marmara Üniversitesi
Fen Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2019-35130 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bitkinin büyüme ve gelişiminde önemli rol alan abiyotik streslerden açlık ve yüksek ışık stresinin bitki üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla bu tez konusu hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın seçiminde, hazırlanışında ve tüm tez sürecimde tez danışmanlığımı üstlenerek bana yol gösteren, hoşgörüsü tüm bilgisini, tecrübesini her adımında benimle paylaşan Doç. Dr. Taylan KÖSESAKAL'a teşekkür ederim.

Lisans ve Yüksek Lisans hayatım boyunca gerek eğitim gerek özel hayatımda ailem kadar içten, desteğini esirgemeyen, her anımda yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Mine SARSAĞ GÜMÜŞ'e emeklerinin karşılığını asla ödeyemem ama sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca her zaman bilgi birikimi ve tecrübesiyle bana ışık tutan Botanik Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ'e ve desteklerini esirgemeyen deneylerin yapımında yardımcı olan tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi manevi desteklerini sabır ve özveriyle farklı şehirlerden bana hissettiren anneannem, annem, babam, kardeşim, teyzeme ve kuzenime saygı ve sevgilerimi sunarım.

Son olarak lisans hayatımdaki yakın dostlarıma Cemre Özkanca'ya, Yeşim Ergül Yağcı'ya, Nergiz Sargın'a İlknur Yıldız'a Tülin Sütürmak'a ve bana sabırla katlanarak aile fertlerim kadar bana yakın olan Aslıhan Çetin'e, Cansu Berberoğlu'na, Gizem İşçi'ye, Zülal Yeşilyurt'a, Oğuzhan Kurtkaya'ya teşekkür ederim.

Aralık 2019

Başak Defne PORSUK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	ix
ÖZET	x
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. BİTKİ YAŞAMI VE IŞIK	3
2.1.1. Yaşam ve Işık: Fotosentezin Temel Özelliği.....	3
2.2. BİTKİLERDE BESİN YETERSİZLİĞİ ETKİLERİ.....	5
2.3. STRES KOŞULLARININ BİTKİLER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ.....	6
2.4. TATLI SU EĞRELTİSİ <i>AZOLLA</i>	8
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	10
3.1. BİTKİ MATERYALİ VE BÜYÜME ORTAMI	10
3.2. IŞIK STRESİNİN UYGULANMASI.....	10
3.3. AÇLIK STRESİNİN UYGULANMASI	11
3.4. BİTKİ BÜYÜMESİNİN ÖLÇÜLMESİ	11
3.5. KLOOROFİL VE KAROTENOİD İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ.....	11
3.6. TOTAL FENOLİK VE FLAVONOİD MİKTARININ SAPTANMASI	11
3.7. ANTOSİYANİN İÇERİĞİNİN TAYİNİ.....	12
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	12
4. BULGULAR.....	13
4.1. IŞIK STRESİNİN BAĞIL BÜYÜME ORANI (RGR) ÜZERİNDEKİ ETKİSİ.....	13
4.2. IŞIK STRESİNİN KLOOROFİL VE KAROTENOİD İÇERİĞİNE ETKİSİ.....	13
4.3. IŞIK STRESİNİN TOTAL FENOLİK, FLAVONOİD VE ANTOSİYANİN İÇERİĞİNE ETKİSİ	16
4.4. AÇLIK STRESİNİN KLOOROFİL VE KAROTENOİD İÇERİĞİNE ETKİSİ	18

4.4. AÇLIK STRESİNİN TOTAL FENOLİK, FLAVONOİD VE ANTOSİYANİN İÇERİĞİNE ETKİSİ	21
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	25
5.1. YÜKSEK IŞIK STRESİNİN <i>AZOLLA</i> ÜZERİNDEKİ ETKİSİ.....	25
5.2. AÇLIK STRESİNİN <i>AZOLLA</i> ÜZERİNDEKİ ETKİSİ.....	28
KAYNAKLAR.....	31
EKLER	46
ÖZGEÇMİŞ	47



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 4. 1: Işık stresi uygulamasının 7. günde <i>A. caroliniana</i> bitkisinin bağıl büyüme oranı üzerine etkisi.	13
Şekil 4. 2: Işık stresi uygulamasının 7. günde <i>A. caroliniana</i> bitkisinin total klorofil miktarı üzerine etkisi.	14
Şekil 4. 3: Işık stresi uygulamasının 7. günde <i>A. caroliniana</i> bitkisinin karotenoid miktarı üzerine etkisi.	15
Şekil 4. 4: Işık stresi uygulaması sonucunda 7. günde <i>A. caroliniana</i> bitkisinden elde edilen fotosentetik pigment miktarları.....	15
Şekil 4. 5: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış <i>A. caroliniana</i> bitkisinin 7. gündeki total fenolik miktarları.	16
Şekil 4. 6: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış <i>A. caroliniana</i> bitkisinin 7. gündeki total flavonoid miktarları.	17
Şekil 4. 7: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış <i>A. caroliniana</i> bitkisinin 7. gündeki antosiyanin miktarları.....	17
Şekil 4. 8: Açlık stresinin <i>A. caroliniana</i> bitkisinin total klorofil miktarı üzerine etkisi.....	19
Şekil 4. 9: Açlık stresinin <i>A. caroliniana</i> bitkisinin karotenoid miktarı üzerine etkisi.....	20
Şekil 4. 10: Açlık stresi uygulaması sonucunda <i>A. caroliniana</i> bitkisinden elde edilen fotosentetik pigment miktarları.	21
Şekil 4. 11: Açlık stresi uygulaması sonucunda <i>A. caroliniana</i> bitkisinden elde edilen total fenolik miktarları.....	22
Şekil 4. 12: Açlık stresi uygulaması sonucunda <i>A. caroliniana</i> bitkisinden elde edilen total flavonoid miktarları.....	22
Şekil 4. 13: Açlık stresi uygulaması sonucunda <i>A. caroliniana</i> bitkisinden elde edilen antosiyanin miktarları.....	23

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4. 1: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış <i>A. caroliniana</i> bitkisinin 7. gündeki fotosentetik pigment miktarları.	14
Tablo 4. 2: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış <i>A. caroliniana</i> bitkisinin 7. gündeki total fenolik, total flavonoid ve antosiyanin miktarları.	18
Tablo 4. 3: Kontrol ve açlık stresi uygulanmış <i>A. caroliniana</i> bitkisinden elde edilen fotosentetik pigment miktarları.	19
Tablo 4. 4: Kontrol ve açlık stresi uygulanmış <i>A. caroliniana</i> bitkisinden elde edilen total fenolik, total flavonoid ve antosiyanin miktarları.	23

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
μg	: Mikrogram
g	: Gram
ml	: Mililitre
nm	: Nanometre
g	: Yerçekimi Sabiti
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat (Celcius) Derece

Kısaltmalar	Açıklama
CO₂	: Karbondioksit
PS II	: Fotosistem II
PS I	: Fotosistem I
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
NH₃	: Amonyak
PPFD	: Fotosentetik Foton Akısı Yoğunluğu
RGR	: Bağlı Büyüme Oranı

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AZOLLA CAROLINIANA DA YÜKSEK IŞIK ve AÇLIK STRESİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Başak Defne PORSUK

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Taylan KÖSESAKAL

II. Danışman : Doç. Dr. Özer ÇALIŞ

Bu çalışmada yüksek ışık şiddeti ve açlık stresinin *Azolla caroliniana* üzerindeki etkileri araştırıldı. Bitkiler serada azot içermeyen Hoagland besiyerinde yetiştirildi. Bitkilere ışık stresi ($450 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) 7 gün süresince uygulandı. Açlık stresi için bitki besiyerleri kademeli olarak seyreltildi ve iki ay sonra deney sonlandırıldı. Abiyotik stresin bitkiler üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla bitki büyümesi, fotosentetik pigment içeriği, antosiyanin, total fenolik ve flavonoid miktarları ölçüldü.

Yüksek ışık stresi bağıl büyüme oranını arttırsa da anlamlı bir fark ($P>0,05$) yaratmadı. Total klorofil ve karotenoid içeriği kontrol seviyesinde kalırken klorofil a/b oranını önemli derecede arttırdı. Işık stresi koşullarında antosiyanin içeriği kontrole oranla 8,2 kat, total fenolik ve flavonoid miktarı ise sırasıyla %38 ve %45 arttı. Açlık stresi total klorofil ($P<0,01$) ve karotenoid ($P<0,05$) miktarını arttırdı. Açlık stresi koşulları antosiyanin, total fenolik ve flavonoid üretimini teşvik etti. Sonuç olarak abiyotik stres koşullarına karşı *A. caroliniana*

yapraklarındaki antosiyanin birikimi başta olmak üzere, karotenoid, total fenolik ve flavonoid miktarlarındaki artışın bitkinin yüksek ışık şiddetinin ve açlık stresinin zararlı etkilerinden korunmasını sağladığı söylenebilir.

Aralık 2019, 60 sayfa.

Anahtar kelimeler: *Azolla*, abiyotik stres, klorofil, antosiyanin, flavonoid, total fenolik



SUMMARY

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF HIGH LIGHT AND STARVATION STRESS IN *AZOLLA CAROLINIANA*

Başak Defne PORSUK

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Taylan KÖSESAKAL

Co-Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Özer ÇALIŞ

In this study, the effects of high light intensity and starvation stress in *Azolla caroliniana* were investigated. The plants were grown in nitrogen-free Hoagland medium under greenhouse. Light stress ($450 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) was applied to the plants for 7 days. For starvation stress, plant nutrient solutions were diluted gradually and the experiment was terminated after two months. Plant growth, photosynthetic pigment contents, anthocyanin, total phenolic and flavonoid amounts were measured in order to investigate the effects of abiotic stress on plants.

Although high light stress increased the relative growth rate, did not differ significantly ($P > 0.05$). Total chlorophyll and carotenoid content remained at the control level, while chlorophyll a / b ratio increased significantly. According to control in light stress conditions, anthocyanin content increased 8.2 fold, the amount of total phenolic and flavonoid increased 38% and 45%, respectively. Starvation stress increased the amount of total chlorophyll ($P < 0.01$) and

carotenoid ($P < 0.05$). Starvation stress conditions induced the production of anthocyanin, total phenolic and flavonoids. As a result, it can be said that the increase in carotenoid, total phenolic and flavonoid amounts, especially the anthocyanin accumulation in *A. caroliniana* leaves against to abiotic stress conditions, protects the plant from the harmful effects of high light intensity and starvation stress.

December 2019, 60 pages.

Keywords: *Azolla*, abiotic stress, chlorophyll, anthocyanin, flavonoid, total phenolic

1. GİRİŞ

Abiyotik stres bitki büyümesini ve verimliliğini optimum seviyenin altında azaltan çevre koşulları olarak tanımlanmaktadır. Organik ve inorganik kirlilik, düşük sıcaklık, kuraklık, besin yetersizliği, yüksek ışık ve yüksek tuzluluk gibi abiyotik stres koşulları bitki büyümesini ve verimliliğini etkilemektedir. Artan çevre kirliliği ve bozulan doğal denge nedeniyle ekin ve yem bitkileri verimliliği azalırken, dünyamız artan nüfusla birlikte hızla artan bir gıda gereksinimi ile karşı karşıya kalmaktadır (Miao ve diğ., 2015). Bu nedenle abiyotik streslere karşı verilen yanıtların altında yatan bitkisel mekanizmaların anlaşılması, strese toleranslı bitkilerin yetiştirilmesinin yanısıra tarım sektörünün sürdürülmesi için de oldukça önemlidir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Bitkiler abiyotik streslerle başa çıkmak için çeşitli stratejiler geliştirmişlerdir. Bunlar morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tepkileri içermektedir (Naya ve diğ., 2007; Song ve diğ., 2012). Tüm bitkilerin büyüme ve gelişmeleri, genomları ve yetiştirme ortamları arasındaki etkileşimler ile belirlenmektedir. Bitkiler abiyotik streslere maruz kaldığında, fizyolojik ve biyokimyasal cevapların verilmesinde stres toleransı, transkripsiyon düzenlenmesi veya sinyal iletiminde rol alan çok sayıda stres kaynaklı gen aktive edilmekte ve birçok protein üretilmektedir (Zhuang ve diğ., 2014).

Bitki büyümesi genetik olarak kontrol altında olmasına rağmen bitkiler yaşadıkları ortamlardaki çevresel etkilere bağlı olarak da farklı cevaplar verebilmektedir. Sağlıklı bitki büyümesi için en önemli faktörler yeterli güneş ışığı ve yeterli besin maddeleridir. Işık, dünyadaki yaşam için nihai enerji kaynağı olmasının yanısıra bitki büyümesini ve gelişimini fotosenteze olan doğrudan etkisi ve bitki üzerindeki dolaylı etkisi ile de düzenler. Diğer taraftan bitki büyüme ve gelişmelerinin sağlanması ve bitki yaşam döngüsünün sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi için bitki büyüme ortamlarında yeterli miktarda mineral besin maddelerinin olması da gerekmektedir.

Bu tez çalışmasının “Genel Kısımlar” bölümünde ışık ve bitki büyümesi için mutlak gerekli olan mineral maddelerin bitki büyüme ve gelişimi üzerindeki etkileri anlatılmıştır. Yüksek ışık stresi ve besin yetersizliği koşullarının bitkiler üzerine olan etkisi hakkında bilgiler verildikten sonra bitkilerin bu stres koşullarına verdiği cevaplar açıklanmıştır. Fotosentetik pigmentler, klorofil ve karotenoidler ile bitki sekonder metabolitleri hakkında bilgiler verilerek bu tezde

kullanılacak *Azolla* bitkisi ve önemi vurgulanmıştır. “Malzeme ve Yöntem” kısmında *Azolla* bitkisinin yetiştirme ortamı ile yüksek ışık ve açlık stresi koşullarının uygulanması anlatılarak stres koşullarının araştırılmasında kullanılacak yöntemler hakkında bilgiler verilmiştir. “Bulgular” bölümünde ise yapılan deneyler sonucunda elde edilen veriler belirtilerek, tablo ve grafiklerle sunulmuştur. “Tartışma ve Sonuç” kısmında bu tez çalışması ile elde edilen veriler ilgili alanda yapılmış, mevcut ve güncel literatür ile karşılaştırılarak yorumlanmış, tartışılmış ve çalışmanın önemi vurgulanarak daha sonra yapılacak olan araştırmalar için öneriler sunulmuştur.

Bu tez çalışmasında yüksek ışık stresi ve açlık stresi koşullarının *Azolla caroliniana* Willd. bitkisi üzerindeki etkileri araştırılacaktır. Olumsuz çevresel koşullar altında *Azolla* bitkisinde renk değişimi görülmekte ve yeşil olan yaprakları kırmızıya dönmektedir. Bu amaçla bitki büyümesine stres koşullarının etkisi incelenmek üzere *A. caroliniana* bitkisinin bağıl büyüme oranı ve pigment içeriği saptanacaktır. Yüksek ışık stresi ve açlık stresi koşullarının bitki de pigment kompozisyonu üzerine etkisinin araştırılmasında bitkide klorofil ve karotenoidler olmak üzere fotosentetik pigmentler ve antosiyanin, total fenolik ve flavonoid içeriği gibi parametreler incelenecektir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. BİTKİ YAŞAMI VE IŞIK

Yaşam ortamlarında bitkiler farklı çevresel streslere maruz kalmaktadır ve bu koşullar hem büyüme hem de metabolizmanın azalmasına yol açmaktadır (Abraham, 2010). Bitkilerde fotosentez için gerekli bir kaynak olarak ışık, tüm fotoototrofik organizmalarda önemli bir rol oynar ve yeterli olduğunda onların büyümesini kolaylaştırır (Wersal ve Madsen, 2013). Işık, bitki büyümesinin ve gelişiminin düzenlenmesini etkileyen önemli bir çevresel faktördür (Li ve Kubota, 2009). Bu nedenle, ışık kalitesinin tespiti ve ölçümü, bitki büyümesi ve gelişmesi için esastır (Carvalho ve diğ., 2011). Işık kalitesi değişiklikleri birçok morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler varyasyonu tetikleyebilir (Ali ve Abbasi, 2014).

Gezegemizdeki yaşamın ortaya çıkışı ve evrimi güneşin biyosferimize sağladığı enerji ile mümkün olmuştur. Aslında, tüm yaşam formları, mekan ve zamanda varlığın sürdürülmesi ve çoğalması için enerjiye ihtiyaç duyar. Işık-enerji dönüşümü, çeşitli büyüklük derecelerinde yayılan ışık yoğunluğu aralığına sahip çeşitli ortamlarda gelişen fotosentetik organizmalarda gerçekleşir. Bu özellik, anten pigmentlerinin ve pigment-protein komplekslerinin gelişimini ve ayrıca hassas fotosentetik aparat üzerinde yüksek ışık yoğunluğunun zararlı etkilerini önlemek için organizma, hücresel ve moleküler seviyelerde çeşitli stratejilerin ortaya çıkmasını içeren etkili enerji yakalama mekanizmalarının evrimi ile başarılıdır. Darwin, bitkilerin ışığa karşı davranışını tanımlayan ilk kişilerden biriydi. Bazı bitkilerin gün ışığından kaçınmaya çalıştıklarını fark etti, ancak, bilim insanlarının fotosentetik makinelerin yapısını ve moleküler mekanizmalarını keşfetmeye başladıkları, 20. yüzyılın ikinci yarısında, bu yönelimlerin nedenleri açıklığa kavuştu (Ruban, 2015).

2.1.1. Yaşam ve Işık: Fotosentezin Temel Özelliği

Işık enerjisi, gezegenimizdeki yaşamın evriminin başlangıcında ve biyosferin oluşumunda kilit unsurdu (Blankenship, 2002). Tüm yaşam formları, polimerler, proteinler, karbonhidratlar, lipitler ve nükleik asitlerden oluşan otonomik sistemler olduğundan, bütünlüklerini korumak ve gelişmek, büyümek, uyum sağlamak ve çoğalabilmek için çevre ile enerji ve madde alışverişine ihtiyaç duyarlar (Ruban, 2012). Dolayısıyla, yaşamın temel ön koşulu, sınırsız miktarda aktarılabilir ışık enerjisinin görülme sıklığıdır. Bu enerji, içinde buldukları ortama kıyasla

daha yüksek organizasyona sahip yaşam düzeni formlarını sürdürmek için sürekli olarak gereklidir. Bu nedenle, primer ışık enerjisini kullanan organizmaların (ototroflar), ışık enerjisi girişini sistemlerinde algılayan, dönüştüren ve düzenleyen, zaman ve mekanda hayatta kalma ve çoğalmaya olanak sağlayan avantajları için, yaşamın tanımlayıcı özellikleri olarak adlandırabileceğimiz, sistemlerine çeşitli fonksiyonlar getirmesi beklenir. Tırmanıcı bitkilerin hareketlerine dair Darwin in yaptığı gözlemler, bitkilerin, yaprakların optimum ışık enerjisi absorpsiyonu sağlayan çevreye ulaşma yönündeki hareketlerini yönlendirmek için ışığı kullanabileceğini açıkça göstermiştir. Işık absorpsiyonu, ışığın enerjisini organik bileşiklerin kimyasal enerjisine dönüştüren bir işlem olan fotosentezi oluşturan bir dizi ışık-enerji-dönüşüm olayını başlatır. Günümüzde oksijenik fotosentez, biyosferimizdeki en yaygın ışık-enerji dönüşüm sürecidir. Foton enerjisini, suyun oksijeninden alan elektronları kullanarak CO₂ nin karbonunu indirgeyerek glikozun enerjisine dönüştürür. Basit bir kimyasal reaksiyon gibi görünse de, fotosentetik organizmalar bu reaksiyonu gerçekten mümkün kılan son derece karmaşık bir enerji dönüşüm olayları dizisi geliştirmiştir (Ruban, 2012).

Primer enerji kaynağı olarak ışık, bitki büyümesi için en önemli çevresel faktörlerden biridir (Fukuda ve diğ., 2008). Işığın şiddeti ve kalitesi bitkilerin büyümesi, morfogenezi ve diğer fizyolojik tepkileri için önemlidir (Li ve Kubota, 2009). Işık yoğunluğu aynı zamanda bitki büyümesi için önemli bir faktördür. Düşük ışıkta yetişen bitkilerin sık sık, yüksek ışık yoğunluğunda yetişen bitkilere göre fotoinhibisyona daha duyarlı oldukları gösterilmiştir (Long ve diğ., 1994). Genellikle, net fotosentez oranındaki artışlar ışık yoğunluğundaki artışlarla ilişkilidir. Bununla birlikte, yüksek ışık yoğunluğu net fotosentez oranının düşmesine neden olmuştur (Al-Khatib ve Paulsen, 1989). Çeşitli ışık ortamlarını ayarlamak için, bitkiler, yaprak seviyelerinde morfolojik ve fizyolojik değişiklikler dahil olmak üzere birçok mekanizma geliştirmiştir (Zhang ve diğ., 2003). Düşük ışık seviyeleri belirli yaprak alanlarında ve bitki yüksekliğinde artışa neden olabilir. Bu uyarlamalar, fotosentez için mevcut ışığın yakalanmasını maksimuma çıkarır (Steinger ve diğ., 2003). Oysa yüksek ışık, bitkiyi yüksek ışığa karşı korumak için spesifik yaprak alanındaki azalma; yaprak kalınlığı veya palizat doku büyümesi nedeniyle yaprak kalınlığındaki artış; sünger parenkimasının derin gelişimi gibi birçok morfo-fizyolojik karakteristik yapı oluşumu ile ilişkilidir. Bu önlemler fotosentezin ilerlemesini sağlayarak aşırı ışık enerjisinin neden olduğu ışık hasarını engeller veya azaltır (Matos ve diğ., 2009; Wentworth ve diğ., 2006).

Işık, primer ve sekonder metabolitlerin biyosentezi de dahil olmak üzere bitki morfogenezi ve biyokimyasal yolları etkileyen önemli bir faktördür (Ali ve Abbasi, 2014). Aşırı ışık enerjisinin absorpsiyonu, fotosentetik makineyi, öncelikle fotosistem II'yi (PSII) etkisiz hale getirerek bozar ve sonuçta fotoinhibisyon olarak adlandırılan işlemle fotosentetik kapasiteyi indirger (Takahashi ve Badger, 2011). Fotoinhibisyonun altında yatan önerilen mekanizma, PSII'nin reaksiyon merkezini inaktive eden aşırı direkt ışıkla oksijen oluşturan komplekslerin bozulmasıdır. Ayrıca, aşırı ışık aracılı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, ışıkla hasar görmüş PSII'nin (Gururani ve diğ., 2015; Murata ve diğ., 2007; Takahashi ve Badger, 2011) onarımını inhibe eder. Fotoinhibisyonu en aza indirmek için, tüm fotosentetik organizmalar evrimsel olarak ışık koruma ve PSII onarım mekanizmaları geliştirmişlerdir (Takahashi ve Badger, 2011). Bitkiler ani yüksek ışığa maruz kalmaya karşı etkili ve nispeten hızlı bir cevap olan fotokimyasal olmayan söndürme olarak adlandırılan aşırı enerjiyi ısı olarak dağıtabilir (Müller ve diğ., 2001). Bitkiler ayrıca yaprak ve kloroplast hareketi ile ışık toplama kapasitesini ayarlayabilir (Ruban, 2015). Ayrıca, ROS'un detoksifikasyonu, antioksidanlar ve ROS tutucu enzimler kullanan anahtar bir foto-koruyucu cevaptır (Rossel ve diğ., 2002). Işığın indüklediği fotoinhibisyonun, PSII ışık hasarı oranının onarım oranından daha yüksek olduğu durumlarda meydana geldiği düşünülmektedir (Takahashi ve Badger, 2011). PSII onarım döngüsü, art arda fosforilasyon, defosforilasyon, PSII bileşenlerinin parçalara ayrılması, proteoliz, PSII proteinlerinin *de novo* sentezi (özellikle D1 proteini) ve PSII kompleksinin yeniden yapılandırılmasını içerir (Nath ve diğ., 2013; Samol ve diğ., 2012).

2.2. BİTKİLERDE BESİN YETERSİZLİĞİ ETKİLERİ

Bitki büyüme hızı, hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenen birçok karmaşık işlemin etkileşimine bağlıdır. Güneş ışığı ve sıcaklık, bir bitkinin yaşamında önemli faktörlerdir. Işık, neredeyse dünyadaki tüm yaşam için nihai enerji kaynağıdır. Bitki büyümesini ve gelişimini fotosentez üzerindeki doğrudan etkisinin dışında düzenler. Bitkilerde metabolik düzenleme, yeni dokuların üretilmesi ve gelişmesi için yeterli miktarda mineral maddeler gereklidir. Bu mineral maddeler metabolik işlemlerde gerekli ve hücrel yapıların önemli bileşenleridir (Adelusi ve Aileme, 2006).

Besin yetersizliğinden kaynaklanan ürün verim kaybını en aza indirmek için mineral besin eksikliğinin metabolizmayı, büyümeyi, gelişmeyi ve ürün bileşenleri nasıl etkilediğini anlamak önemlidir. Bu etkileşimleri anlamak mineral madde yetersizliğinin daha iyi teşhisine ve

gelişmiş mineral madde yönetimine olanak sağlayacaktır. Mineral elementler, bitkilerde yük dengesinin korunması, elektron taşınımı, yapısal bileşenler, enzim aktivasyonu, turgor ve büyüme için osmozun ayarlanması gibi sayısız fonksiyona sahiptir. Mineral besin eksiklikleri, kök büyümesinin hemen durdurulmasından veya zarların, hücre duvarlarının büyük ölçüde bozulmasından, sitosolün pH'ındaki küçük değişikliklere ve karbohidratların taşınımının azaltılması gibi birçok etkiye sahip olabilir. Hatta bunların her biri oksidatif strese (fotoinhibisyon ve fotooksidasyon), kloroplastların bozulmasına, klorozis ve nekrozis olarak bilinen semptomlara neden olabilir (Hodges ve Constable, 2010). Besin yetersizliği bitki verimliliğini sınırlayan en önemli abiyotik streslerden bir tanesidir (Simancas ve diğ., 2016). Makro ve mikro elementler bitkiler için önemli olmakla birlikte, bu elementlerin eksikliklerinde bitki yaşam döngüsü ve fizyolojik fonksiyonlar başarı ile tamamlanamamaktadır. Besin yetersizliği koşullarında bitki büyümesi ve ürün verimi de indirgenmektedir (Kalaji ve diğ., 2014). Besin kullanılabilirliği bitkilerde fitokimyasal yanıt ile ilişkilendirilebilir (Galieni ve diğ., 2015). *Azolla* bitkisi yüksek konsantrasyonlarda mineral içeren zengin besiyerlerinde yetiştirildiklerinde yüksek miktarlarda besin biriktirebilmektedir. Diğer taraftan yetersiz besiyeri ortamında yetiştirilen *Azolla* bitkileri farklı fizyolojik cevaplar vermektedir (Oren Benaroya ve diğ., 2004).

2.3. STRES KOŞULLARININ BİTKİLER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Bitki fenolojisi içsel ya da çevresel faktörler tarafından etkilenmektedir (Lee ve diğ., 2009). Stres koşulları bitkinin farklı büyüme dönemlerinde farklı fizyolojik cevaplar vermesine sebep olabilir (Gratani ve diğ., 1998). Elektron transfer zinciri normal koşullar ve stres koşulları altında reaktif oksijen türlerinin (ROS; $O_2^{\circ-}$, H_2O_2 , $\cdot OH$, 1O_2) üretildiği önemli alanlardır. Ancak abiyotik stres koşulları altında ROS oluşumu aynı elektron transfer sistemini kullanır ve bu da biyomoleküller üzerinde hasar yaratır (Prasad ve diğ., 2016). Böylece aşırı ROS üretiminin yaratmış olduğu hasardan hücresel sistemi korumak için bitkiler antioksidan sistemi geliştirmişlerdir (Kirchsteiger ve diğ., 2009). Enzimler ROS düzeyini düşürerek oksidatif stres etkisinin azaltılmasında oldukça önemli bir rol oynarlar. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimler oksidatif stres ile mücadelede hayati öneme sahiptirler (Elavarthi ve Martin, 2010). Kuraklık, besin yetersizliği, ışık, düşük ve yüksek sıcaklık, tuzluluk, organik ve inorganik kirleticiler gibi olumsuz büyüme koşullarına karşı bitki savunma mekanizması,

antioksidan/oksidan türleri arasındaki dengenin sürdürülebilmesi için geniş bir aralıktaki antioksidanların birikimi ile sonuçlanan sekonder metabolizmanın aktivasyonuna dayanmaktadır (Herms ve Mattson, 1992). Antioksidan bileşikler enzimatik ve enzimatik olmayan yapıda olabilen askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler ve bazı fenolik bileşiklerle temsil edilirler ve bu bileşikler bitkilerin kimyasal bileşimi ve sağlığı üzerinde doğrudan etkiye sahiptirler (Berger, 2005; McKersie ve Leshem, 1994). Klorofil, karotenoid ve antosiyaninler gibi yaygın bitki pigmentlerinin içeriği ve dağılımları bitkinin hem renk ve hem de görünüşünü belirler (Abbott, 1999). Bitkilerde pigment sentezi biyotik ya da abiyotik stres koşulları, senesens veya değişen çevre koşullarına ekolojik uyumun bir sonucu olabilir (Gould ve diğ., 1995). Bu nedenle, klorofiller, karotenoidler ve flavonoidler bitki dokularında dengeli bir fizyolojik durumu korumak için katkıda bulunabilir (Stintzing ve Carle, 2004). Antosiyaninler bitki dokusunun renginden kısmen sorumludurlar ve sitoplazmada üretildikten sonra vakuole taşınırlar (Shirley, 1996). Antosiyanin sentezi UV-B, besin yetersizliği, düşük sıcaklıklar, ve ağır metal stresleri tarafından teşvik edilir (Dai ve diğ., 2006; Kösesakal, 2014; Pinto ve diğ., 1999; Rabino ve Mancinelli, 2008; Warren ve diğ., 2003). Yeşil *Azolla* yaprakları yüksek ışık, düşük sıcaklık ve olumsuz çevresel koşullarda antosiyanin sentezinin teşvik edilmesiyle kırmızıya dönmektedir (Pabby ve diğ., 2003).

Klorofil ve karotenoid, kloroplastta bulunan yaşamsal bileşenlerdir. Fonksiyonları arasında ışık absorpsiyonu, enerji transferi, fotokimyasal redoks reaksiyonu ve ayrıca ışıktan koruma (fotokoruma) bulunur. Bu pigmentler, pigment-protein süper-kompleksi yapmak üzere kovalent olmayan bir şekilde proteine bağlanır. Bu pigmentlerin daha yüksek bitkilerdeki kesin sayısı ve sitokiyometrisi çeşitlilik gösterir, ancak bileşimleri klorofil (Chl) a, Chl b, lutein, neoksantin, violaksantin, zeaksantin ve β -karoten'dir. Klorofil ve karotenoid, farklı gelişim aşamalarında bitki performansını gözlemlemek için temel optik moleküler problemler olarak kullanılan önemli pigmentlerdir (Porra, 1997). Bitki karotenoidleri özellikle plastidlerde, en önemlisi kloroplast ve kromoplastta sentezlenir ve biriktirilir (Lopez-Juez ve Pyke, 2005). İki tür bitki karotenoidi vardır, siklik ve siklik olmayan hidrokarbonlar olan karoten ve karotenlerin oksijenli türevleri olan ksantofiller. Fotosentetik sistemlerde, karotenoid temel fonksiyonlara sahiptir. İlk olarak, karotenoid spektral bölgede klorofilin absorbe etmediği ışık enerjisinin toplanmasında ve enerjiyi klorofil pigmentine aktarmada yardımcı bir pigmenttir (Croce ve diğ., 2001; Holt ve diğ., 2003). İkincisi, karotenoid, singlet oksijen türleri (ROS) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girmeden önce klorofilin üçlü (triplet) durumunu söndürerek foto

koruma adı verilen bir süreçte işlev görür (Ramel ve diğ., 2012b, 2012a). Üçüncüsü, karotenoid, fazla enerjiyi güvenli bir şekilde dağıtarak fotosentetik sistemin aşırı uyarılmasını önlemek için, ksantofil döngüsü adı verilen bir işlemle ışık-hasatı yapan anten sisteminde enerji transferini düzenler (García-Plazaola ve diğ., 2012).

Flavonoidler, tüm doku ve organlarda bulunan geniş bir bitki sekonder metabolit ailesidir (Hernández ve diğ., 2009). Briyofitler ve eğreltiler ile birlikte, yüksek bitkiler, çoğu nutrasötikler olarak kabul edilen tek doğal flavonoid kaynağıdır (Rausher, 2006). Bitkilerde, flavonoidler, bitki-patojen etkileşimleri, tozlaşma, ışık taraması, tohum gelişimi ve allelopatiyi içeren bir dizi sürece katılırlar (Winkel-Shirley, 2001). Birçok flavonoid biyosentetik gen, stres koşulları altında indüklenir ve buna bağlı olarak, flavonoid seviyeleri, yaralanma, kuraklık, metal toksisitesi ve besin yoksunluğu gibi biyotik ve abiyotik streslere maruz kalma sırasında artar (Dixon ve Paiva, 1995; Winkel-Shirley, 2001). Antosiyaninler, çoğu yaygın olarak tüketilen meyvelere, çiçeklere ve yapraklara kırmızı, mor, menekşe ve mavi tonları veren bir polifenol türü olan flavonoidler olarak bilinen çeşitli sekonder metabolitler grubuna aittir. Antosiyaninlerin çiçek ve meyvelerdeki ana işlevi tozlaştırıcı ve tohum dağıtıcılarını çekimlemektir (Grotewold, 2006). Ancak yaprak pigmentasyonundaki fonksiyonel rolleri açıkça anlaşılmamıştır ve önemli bir araştırmanın odağı olmuştur. Antosiyaninler tüm bitki pigmentleri arasında, serbest radikallerin süpürülmesi, yapraklardaki stres tepkilerinin iyileştirilmesi, ve fotosentetik aparatın korunması gibi çok yönlü işlevi olan bileşiklerdir (Gould, 2004). Bitkilerin yüksek ışığa maruz kalmasına bir cevap olarak, bitkisel dokularda antosiyaninlerin birikmesi indüklenir, bu da aşırı ışığın fotosentetik aparat üzerinde fotoinhibisyonuna yol açabilecek zararlı etkilerini önler (Steyn ve diğ., 2002). Antosiyaninlerin vakuollerde biriktiği ve ışık etkisini zayıflatma ve/veya antioksidan aktivite ile ışık taramasına, pigmentasyona ve fotokorumaya katkıda bulunduğu bilinmektedir (Gould, 2004; Hernández ve diğ., 2009; Landi ve diğ., 2015). *In vitro* antosiyaninler güçlü bir antioksidan aktivite gösterir ve ROS'u süpürme kapasiteleri askorbik asit ve E vitamini olanlardan birkaç kat daha yüksektir (Landi ve diğ., 2015).

2.4. TATLI SU EĞRELTİSİ *AZOLLA*

Azolla, tropikal ve ılıman bölgelerde dünya çapında dağılım gösteren, durgun sularda yetişen ve çevresel koşullar uygun olduğunda geniş alanları kaplayabilen sucul bir eğreltidir. Dorsal yaprak loblarındaki oval boşlukta heterosistli azot fikse eden bir siyanobakteri olan *Anabaena*

azollae ile simbiyoz oluşturur (Van Hove ve Lejeune, 2002). Tatlı su alanlarında yaşayan bir eğrelti olan *Azolla* bitkisi dünya genelinde tarım uygulamaları için oldukça değer taşımaktadır. *Azolla* – *A. azollae* arasındaki simbiyotik ilişki ökaryotik ortak *Azolla* ve prokaryotik endosimbiyant *A. azollae* arasındaki bilinen tek simbiyozdur. Bu simbiyozisin tarımsal anlamda önemi *Azolla* nın azotça fakir tarım alanlarında oldukça verimli bir şekilde büyümesinden kaynaklanmaktadır (Carrapiço, 2010). Dorsal yaprak loblarında azot fiksasyonu yapan simbiyotik partnerinden kaynaklı, genellikle çeltik tarımında biyogübre olarak kullanımı yapılmaktadır. *Azolla* – *A. azollae* simbiyotik ilişkisinden hektar başına yıllık elde edilen azot (N) miktarı yaklaşık 30-100 kg arasında olabilmektedir (Yao ve diğ., 2018). Dünyada genel olarak çeltik tarımında biyogübre şeklinde kullanımı olan *Azolla* bitkisi, ilaç ve gıda sektöründe ve ayrıca yüksek oranda protein ve karotenoid içeriği ve iyi aminoasit profiline sahip olması sebebiyle de, balık, kanatlı ve diğer hayvanların beslenmesinde oldukça yaygın bir kullanım alanına sahiptir (Carrapiço ve diğ., 2000; Pabby ve diğ., 2003). *Azolla* bitkisinin kullanılması ile çevre yönetiminde, yabancı ot ve sivrisinek kontrolü ve tatlı sulardaki organik ve inorganik kirliliklerin giderilmesi için yapılan çalışmalardan başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Ayrıca bu ortamlarda elde edilen yüksek büyüme oranları ve fitoremediasyon potansiyellerinden dolayı son dönemde *Azolla* türleri ile yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (Akinbile ve diğ., 2016; Forni ve diğ., 2012; Ghorbanzadeh Mashkani ve Tajer Mohammad Ghazvini, 2009; Kösesakal, 2018; Kösesakal ve diğ., 2016; Kösesakal ve Yıldız, 2019). Diğer taraftan *Azolla* nın antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin son dönemlerde farklı çalışmalarla araştırıldığı ve *Azolla* türlerinin tamamlayıcı ve alternatif tıpta kullanılabileceği de belirtilmiştir (Nayak ve diğ., 2015; Pereira ve diğ., 2015).

Bu tez çalışmasında, ışık stresi ve besin yetersizliği koşullarının *Azolla* bitkisinin pigment içeriği üzerine olan etkisi araştırılacaktır. Yüksek ışık stresi ve açlık stresi koşullarının bitki de pigment kompozisyonu üzerine etkisinin araştırılmasında bitkinin klorofil, karotenoid, antosiyanin, total fenolik ve flavonoid içeriği gibi parametreleri incelenecektir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. BİTKİ MATERYALİ VE BÜYÜME ORTAMI

Yüksek lisans tezi kapsamında deney materyali olarak kullanılan bitki, *Azolla caroliniana* Willd. dir. Azollaceae familyasına ait bir tatlı su eğreltisi olan *Azolla*, simbiyotik ortağı azot (N₂) fiksasyonu yapan siyanobakteri *Anabaena azollae* ile birlikte yaşamaktadır. *A. azollae* tarafından fikse edilen amonyak (NH₃) *Azolla* tarafından alınırken *Azolla* da siyanobakteriye sakkarozu sağlar. *Azolla* türleri yaprak kavitesi ve yaprak yüzeyinde çeşitli bakteriler de ihtiva etmektedir (Van Hove ve Lejeune, 2002; Cohen vd. 2004; Pereira ve Carrapiço, 2007). *Azolla* – *A. azollae* simbiyotik ilişkisinin havanın serbest azotunu amonyak olarak indirgeme yeteneğinden dolayı *Azolla* türlerinin büyümeleri azot bileşiklerini içermeyen bitki büyüme ortamlarında sağlanabilmektedir. Bu yüzden bitki büyümesi için hazırlanan Hoagland besin solüsyonlarında nitrat yerine klorlu bileşikler kullanılmaktadır. Hoagland büyüme ortamlarında kullanılan maddelerin miktarı aşağıda belirtilmiştir;

mg L⁻¹ de: KH₂PO₄, 136,08; MgSO₄.7H₂O, 246,08; CaCl₂.2H₂O, 147,02; KCl, 74,55; ZnSO₄.7H₂O, 0,22; CuSO₄.5H₂O, 0,09; Na₂MoO₄.2H₂O, 0,09; H₃BO₃, 2,86; FeCl₃.6H₂O, 4,84; MnCl₂.4H₂O, 1,82; ve Na₂EDTA, 15.

Bitkiler sera koşullarında, pH:6 olarak ayarlanan yukarıda belirtilen miktarlarda bileşikleri içeren Hoagland besin solüsyonunda yetiştirildi. Gündüz 28-30°C, gece 21-23°C sıcaklık, %60-%70 nem koşullarında yetiştirilen bitkilere yüksek ışık stresi ve besin yetersizliği stresi uygulamaları yapıldı. Diğer taraftan stok bitki büyüme ortamlarında büyüyen bitkilerin besiyeri solüsyonları haftalık olarak değiştirilerek deneye alınacak bitkilerinin sağlıklı bir şekilde büyümeleri sağlandı.

3.2. IŞIK STRESİNİN UYGULANMASI

Kontrol bitkileri serada normal gün ışığında yetiştirilirken yüksek ışık şiddeti için bitkilere 450 µmol m⁻²s⁻¹ PPF ışık yoğunluğu uygulandı. 7 günlük uygulama süresinden sonra bitki büyümesi ve pigment analizleri yapıldı.

3.3. AÇLIK STRESİNİN UYGULANMASI

Besin yetersizliği stresi için aynı yetiştirme koşullarında bitki besiyeri ilk ay kademeli olarak 1/16, 1/32 ve 1/64 oranlarında olacak şekilde on günde bir değiştirildi. İkinci ay ise en son büyüme ortamında (1/64) bir ay daha bırakılarak ikinci ayın sonunda açlık stresinin etkisi araştırıldı.

3.4. BİTKİ BÜYÜMESİNİN ÖLÇÜLMESİ

Deney ortamlarına taze ağırlıkları alınarak konulan bitkilerin uygulama süresi bitiminde taze ağırlıkları tekrar alınarak yüksek ışık şiddetinin bitki büyüme yüzdesi üzerine olan etkisi saptandı. Bitkinin bağıl büyüme oranı (RGR) aşağıda belirtildiği şekilde hesaplandı:

$$RGR = (\ln W2 - \ln W1)/t \text{ (gg}^{-1}\text{day}^{-1}\text{)}$$

W2, en son taze bitki ağırlığını, W1, ilk ağırlığı, t ise uygulama süresini belirtmektedir (Jampeetong ve Brix, 2009).

3.5. KLOROFİL VE KAROTENOİD İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ

Taze ağırlıkları alınan bitki örneklerinin % 80 aseton kullanılarak ekstraksiyonları yapıldı. Bitki ekstratları + 4°C de buzdolabında yaklaşık olarak 24 saat bekletildi. Daha sonra 10 dakika boyunca 3000 g de santrifüj (Heraeus Labofuge 400R, Almanya) edildi. Santrifüj sonrası örneklerin çeşitli dalga boylarındaki absorpsiyon değerleri spektrofotometre (Shimadzu UV1601, Japonya) kullanılarak belirlendi. Elde edilen absorpsiyon değerleri ile birim taze ağırlıktaki klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotenoid miktarları hesaplandı (Lichtenthaler ve Wellburn, 1983).

3.6. TOTAL FENOLİK VE FLAVONOİD MİKTARININ SAPTANMASI

Taze ağırlıkları (TA) alınan bitki örneklerinin (yaklaşık 1 g TA) %1 HCl-Metanol de ekstraksiyonları yapılarak, ekstraktlar filtreden geçirildi ve süzülen çözelti 1% HCl-Metanol kullanılarak 10 ml ye dilüe edildi. Total fenolik miktarının hesaplanmasında spektrofotometrede 280 nm ve flavonoid miktarı için ise 325 nm de ölçülen absorbans değerleri kullanıldı. Elde edilen absorbans değerlerine göre birim taze ağırlıktaki total fenolik ve flavonoid miktarları saptandı (Pirie ve Mullins, 1976).

3.7. ANTOSİYANİN İÇERİĞİNİN TAYİNİ

Antosiyanın içeriği tayin edilecek bitki örnekleri %1 HCl - Metanolde ekstre edildi. Ekstreler belli aralıklarla çalkanarak 2 gün süresince +4°C de buzdolabında bekletildi. Daha sonra filtre kağıdından süzüldü ve çözeltideki antosiyanın içeriği spektrofotometrede 530 ve 657 nm dalga boyunda optik yoğunluk olarak ölçüldü ve değerler ($A_{530} - 0,33 \times A_{657}$) formülünde hesaplanarak örneklerin birim taze ağırlıktaki antosiyanın içeriği tayin edildi (Mancinelli, 1990).

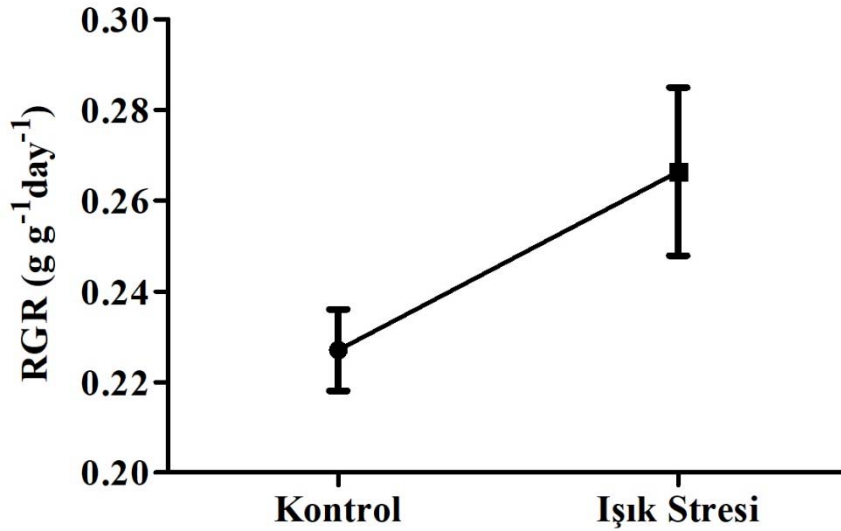
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Deney verileri üç tekrarlı olacak şekilde elde edildi ve sonuçlar üç ölçümün ortalaması \pm standart sapma olarak ifade edildi. Elde edilen verilere Windows için GraphPad Prism version 5.2 (GraphPad Yazılım, San Diego, CA) adlı istatistik programı kullanılarak, Anova ve Student T-testi uygulandı. Veriler istatistiksel olarak değerlendirilerek, gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldı. 0,05'ten küçük olan farklılıklar ($P<0,05$; $P<0,01$; $P<0,001$; $P<0,0001$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. IŞIK STRESİNİN BAĞIL BÜYÜME ORANI (RGR) ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Bitkilere yüksek ışık şiddeti 7 gün süresince uygulandı ve deney sonunda bağıl büyüme oranları hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.1 de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre *Azolla caroliniana* bitkisinin kontrol büyüme ortamında ve ışık stresi uygulamasında bağıl büyüme oranları (RGR) sırasıyla $0,23 \text{ gg}^{-1}\text{day}^{-1}$ ve $0,27 \text{ gg}^{-1}\text{day}^{-1}$ olarak saptandı. Yüksek ışık stresi uygulaması kontrol ortamına göre bitki RGR sinde %17,34 oranında artış sağlamasına rağmen anlamlı bir fark ($P>0,05$) yaratmadı.



Şekil 4. 1: Işık stresi uygulamasının 7. günde *A. caroliniana* bitkisinin bağıl büyüme oranı üzerine etkisi.

4.2. IŞIK STRESİNİN KLOROFİL VE KAROTENOİD İÇERİĞİNE ETKİSİ

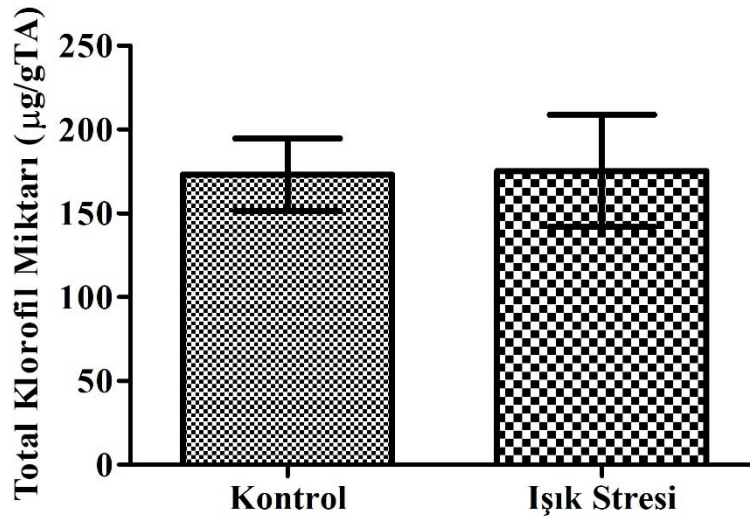
Yüksek ışık stresinin *A. caroliniana* bitkisinde fotosentetik pigment içeriği üzerine olan etkisi **Tablo 4.1** ve **Şekil 4.2-4** te verilmiştir. Buna göre ışık stresi klorofil (chl) a miktarında artış sağlarken, klorofil b miktarının düşmesine sebep oldu. Ancak bu artış ve azalışların kontrole göre istatistik anlamda bir fark yaratmadığı ($P>0,05$) saptandı (**Tablo 4.1**). Diğer taraftan chl a / chl b oranı ışık stresinde önemli oranda artarken ($P<0,05$) total chl / karotenoid oranı ise kontrole benzer değerler verdi ($P>0,05$).

Tablo 4. 1: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış *A. caroliniana* bitkisinin 7. gündeki fotosentetik pigment miktarları.

	Kontrol	Işık Stresi
Chl a ($\mu\text{g/gTA}$)	142,16 \pm 17,93	146,39 \pm 28,30
Chl b ($\mu\text{g/gTA}$)	30,92 \pm 3,80	28,96 \pm 5,19
Total Chl ($\mu\text{g/gTA}$)	173,08 \pm 21,65	175,35 \pm 33,44
Karotenoid ($\mu\text{g/gTA}$)	96,37 \pm 9,35	98,30 \pm 16,40
Chl a / Chl b	4,60 \pm 0,13	5,04 \pm 0,15 *
Total Chl/ Karotenoid	1,79 \pm 0,67	1,78 \pm 0,08

*P<0,05

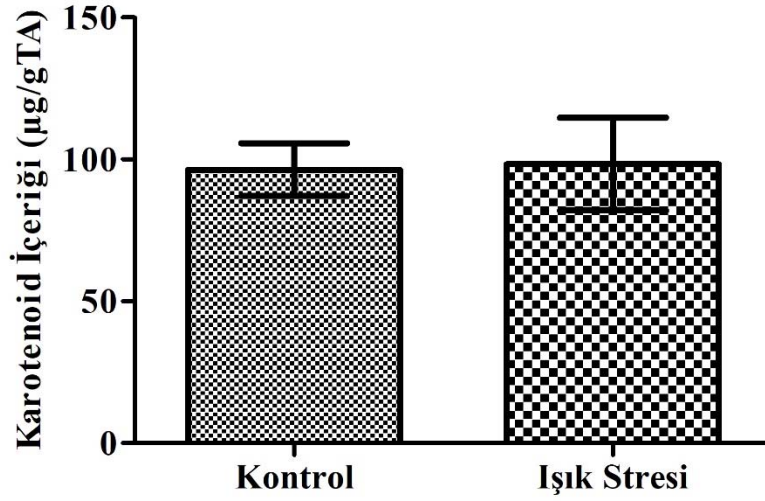
7 gün süresince yüksek ışık stresi uygulaması total klorofil miktarında artış sağlamasına rağmen anlamlı bir fark yaratmadı (Şekil 4.2). Buna göre elde edilen total klorofil miktarları kontrol ve ışık stresi uygulamaları için sırasıyla 173,08 $\mu\text{g/gTA}$ ve 175,35 $\mu\text{g/gTA}$ olarak saptandı.



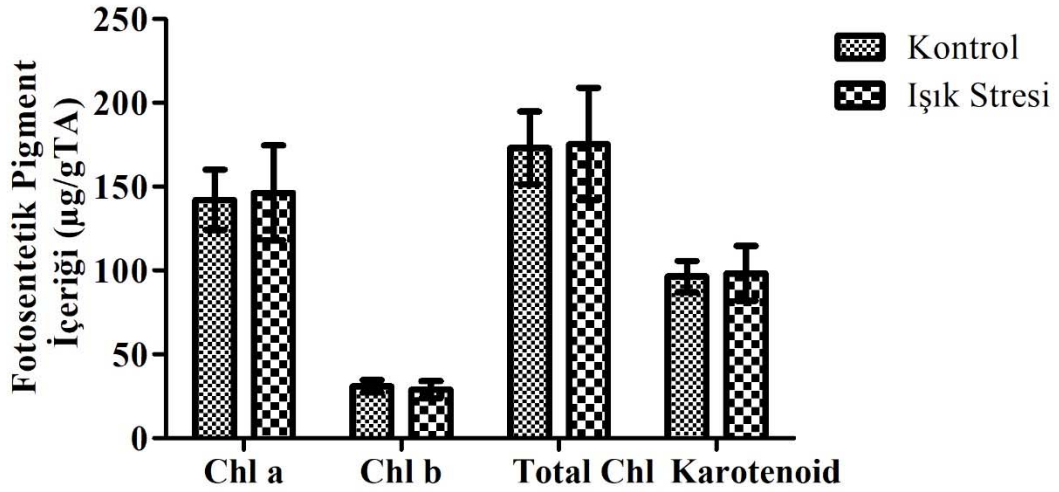
Şekil 4. 2: Işık stresi uygulamasının 7. günde *A. caroliniana* bitkisinin total klorofil miktarı üzerine etkisi.

Yüksek ışık stresi uygulamasının karotenoid miktarı üzerindeki etkisi Şekil 4.3 de verilmiştir. Buna göre karotenoid miktarı kontrole oranla artış göstermesine rağmen anlamlı bir fark

yaratmadı ($P>0,05$). Işık stresi uygulamasında elde edilen karotenoid miktarı $98,30 \mu\text{g/gTA}$ iken kontrol bitkisinde $96,37 \mu\text{g/gTA}$ idi.



Şekil 4. 3: Işık stresi uygulamasının 7. günde *A. caroliniana* bitkisinin karotenoid miktarı üzerine etkisi.



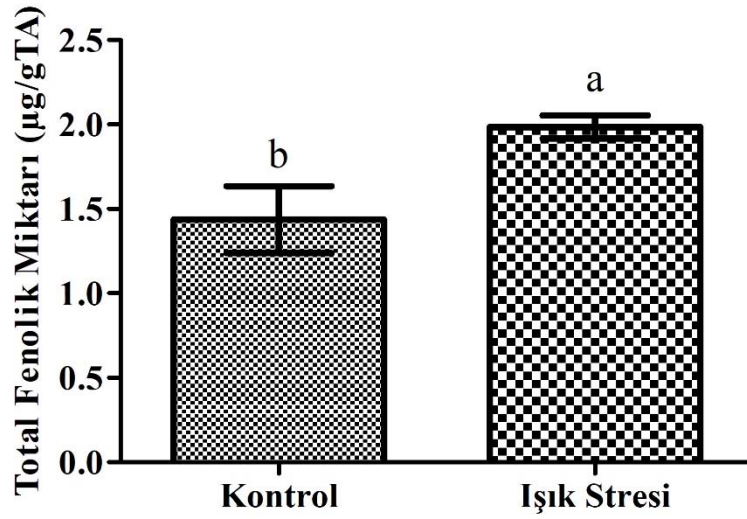
Şekil 4. 4: Işık stresi uygulaması sonucunda 7. günde *A. caroliniana* bitkisinden elde edilen fotosentetik pigment miktarları.

Yüksek ışık stresinin fotosentetik pigment içeriği üzerindeki karşılaştırmalı etkisi Şekil 4.4 te verilmiştir. Buna göre ışık stresi uygulaması klorofil a, total klorofil ve karotenoid miktarlarının

kontrole göre artmasını sağlarken klorofil b miktarında düşüşe sebep oldu. Ancak ışık stresi uygulaması sonucunda kontrol bitkisine oranla elde edilen bu artış ve azalışların anlamlı bir fark yaratmadığı saptandı ($P>0,05$).

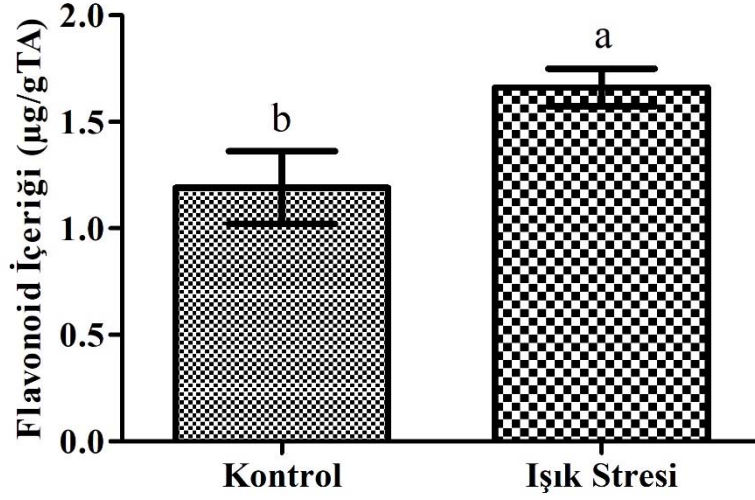
4.3. IŞIK STRESİNİN TOTAL FENOLİK, FLAVONOİD VE ANTOSİYANİN İÇERİĞİNE ETKİSİ

Yüksek ışık stresi uygulamasının *A. caroliniana* bitkisinin total fenolik miktarı üzerindeki etkisi Şekil 4.5 ve Tablo 4.2 de verilmiştir. 7 günlük uygulama sonucunda kontrol bitkisinde total fenolik içeriği $1,44 \mu\text{g/gTA}$ olarak saptanırken ışık stresi uygulanan *A. caroliniana* bitkisinde $1,98 \mu\text{g/gTA}$ olarak saptandı ($P<0,05$).



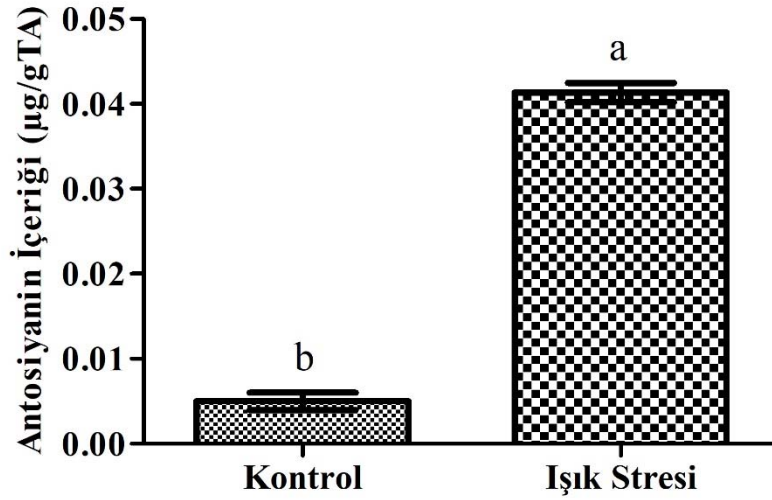
Şekil 4. 5: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış *A. caroliniana* bitkisinin 7. gündeki total fenolik miktarları.

Yüksek ışık stresi flavonoid miktarlarında artış sağlarken (Şekil 4.6 ve Tablo 4.2) bu değerler kontrol ve ışık stresi uygulamalarında sırasıyla $1,19 \mu\text{g/gTA}$ ve $1,66 \mu\text{g/gTA}$ olarak saptandı ($P<0,05$).



Şekil 4. 6: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış *A. caroliniana* bitkisinin 7. gündeki total flavonoid miktarları.

Yüksek ışık stresi sonucunda elde edilen antosiyanin miktarları Şekil 4.7 de verilmiştir. Işık stresi 7 günlük uygulama süresince antosiyanin miktarında anlamlı bir artış sağladı ($P < 0,0001$). Kontrol ortamında antosiyanin miktarı $0,005 \mu\text{g/gTA}$ olarak saptanırken yüksek ışık stresi uygulaması ile birlikte önemli oranda artarak $0,041 \mu\text{g/gTA}$ olarak saptandı.



Şekil 4. 7: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış *A. caroliniana* bitkisinin 7. gündeki antosiyanin miktarları.

Yüksek ışık stresinin total fenolik, flavonoid ve antosiyanin miktarı üzerindeki karşılaştırmalı etkisi **Tablo 4.2** de verilmiştir. Buna göre ışık stresi uygulaması sonucunda total fenolik ve flavonoid miktarları kontrole göre sırasıyla %38 ve %45 ($P<0,05$) oranlarında artış gösterdi (**Şekil 4.4 – Şekil 4.5** ve **Tablo 4.2**). Diğer taraftan yüksek ışık stresi uygulaması sonucunda elde edilen antosiyanin miktarı kontrole oranla 8,2 kat ($P<0,0001$) arttı (**Şekil 4.6 – Tablo 4.2**).

Tablo 4. 2: Kontrol ve ışık stresi uygulanmış *A. caroliniana* bitkisinin 7. gündeki total fenolik, total flavonoid ve antosiyanin miktarları.

	Kontrol	Işık Stresi
Total Fenolik Miktarı ($\mu\text{g/gTA}$)	1,44 \pm 0,20	1,98 \pm 0,07*
Total Flavonoid Miktarı ($\mu\text{g/gTA}$)	1,14 \pm 0,17	1,66 \pm 0,09*
Antosiyanin İçeriği ($\mu\text{g/gTA}$)	0,005 \pm 0,001	0,041 \pm 0,001***

* $P<0,05$, *** $P<0,0001$

4.4. AÇLIK STRESİNİN KLOROFİL VE KAROTENOİD İÇERİĞİNE ETKİSİ

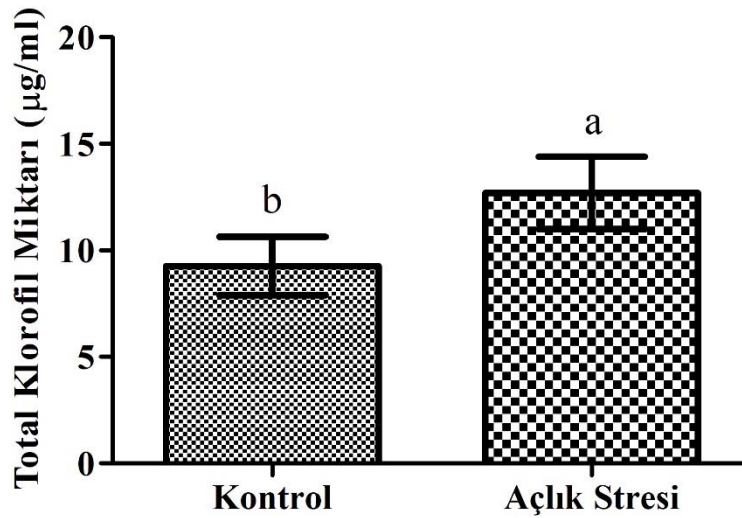
Açlık stresinin *A. caroliniana* bitkisinde fotosentetik pigment içeriği üzerine olan etkisi **Tablo 4.3** ve **Şekil 4.8-10** da verilmiştir. Buna göre açlık stresi klorofil (chl) a miktarında anlamlı bir artış ($P<0,05$) sağlarken, klorofil b miktarındaki artışın istatistik anlamda fark yaratmadığı belirlendi ($P>0,05$). Açlık stresi uygulaması ile chl a / chl b oranında kontrole benzer değerler elde edilirken, total chl / karotenoid oranının kontrole göre belirgin şekilde düştüğü ($P<0,01$) saptandı (**Tablo 4.3**).

Tablo 4. 3: Kontrol ve açlık stresi uygulanmış *A. caroliniana* bitkisinden elde edilen fotosentetik pigment miktarları.

	Kontrol	Açlık Stresi
Chl a ($\mu\text{g/ml}$)	7,07 \pm 1,08	9,47 \pm 1,34 *
Chl b($\mu\text{g/ml}$)	2,19 \pm 0,30	3,22 \pm 0,36
Total Chl ($\mu\text{g/ml}$)	9,27 \pm 1,37	12,70 \pm 1,70 **
Karotenoid ($\mu\text{g/ml}$)	2,87 \pm 0,33	5,66 \pm 0,70 *
Chl a / Chl b	3,21 \pm 0,03	2,94 \pm 0,11
Total Chl/ Karotenoid	3,23 \pm 0,11	2,24 \pm 0,05 **

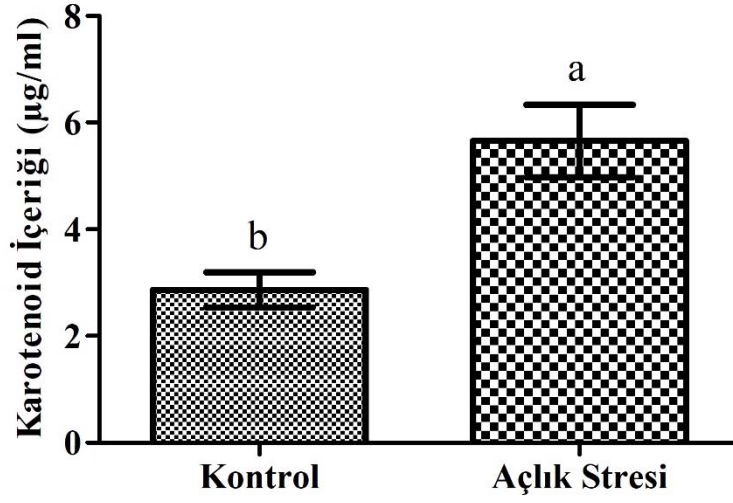
* P<0,05, ** P<0,01

Açlık stresi uygulaması total klorofil miktarında kontrole göre önemli miktarda (P<0,05) artış sağladı (Şekil 4.8). Kontrol ve açlık stresi uygulaması ile elde edilen total klorofil miktarları sırasıyla 9,27 $\mu\text{g/ml}$ ve 12,70 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptandı.



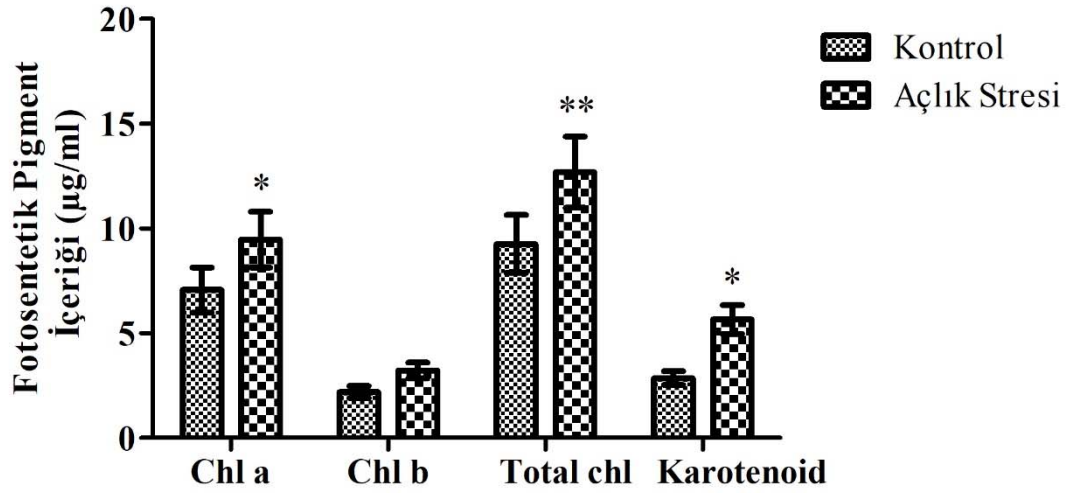
Şekil 4. 8: Açlık stresinin *A. caroliniana* bitkisinin total klorofil miktarı üzerine etkisi.

Açlık stresi uygulamasının karotenoid miktarı üzerindeki etkisi **Şekil 4.9** da verilmiştir. Buna göre açlık stresi uygulaması ile elde edilen karotenoid miktarı kontrole oranla önemli miktarda arttı ($P<0,05$). Açlık stresi uygulamasında elde edilen karotenoid miktarı $5,70 \mu\text{g/ml}$ iken kontrol bitkisinde $2,90 \mu\text{g/ml}$ olarak saptandı (**Şekil 4.9**).



Şekil 4. 9: Açlık stresinin *A. caroliniana* bitkisinin karotenoid miktarı üzerine etkisi.

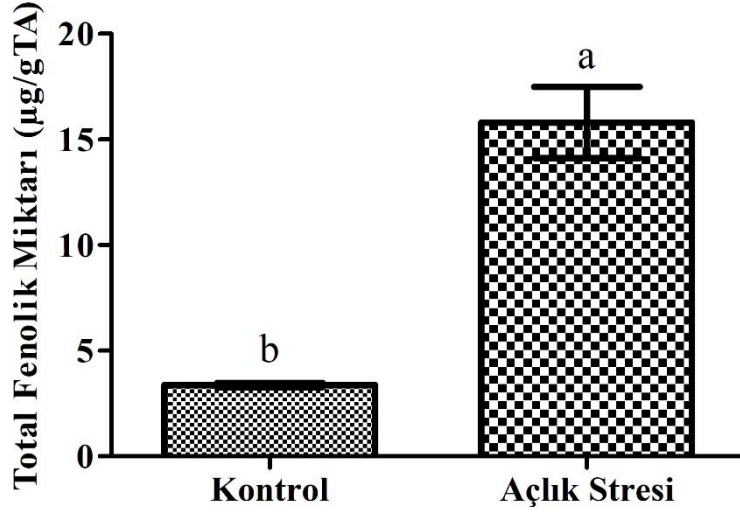
Açlık stresinin fotosentetik pigment içeriği üzerindeki karşılaştırmalı etkisi **Şekil 4.10** da verilmiştir. Buna göre açlık stresi uygulaması klorofil a ($P<0,05$), total klorofil ($P<0,01$) ve karotenoid ($P<0,05$) miktarlarının kontrole göre artmasını sağladı. Diğer taraftan açlık stresi ile klorofil b miktarı da artış göstermesine rağmen kontrole göre bu artışın anlamlı bir fark yaratmadığı saptandı ($P>0,05$).



Şekil 4. 10: Açlık stresi uygulaması sonucunda *A. caroliniana* bitkisinden elde edilen fotosentetik pigment miktarları.

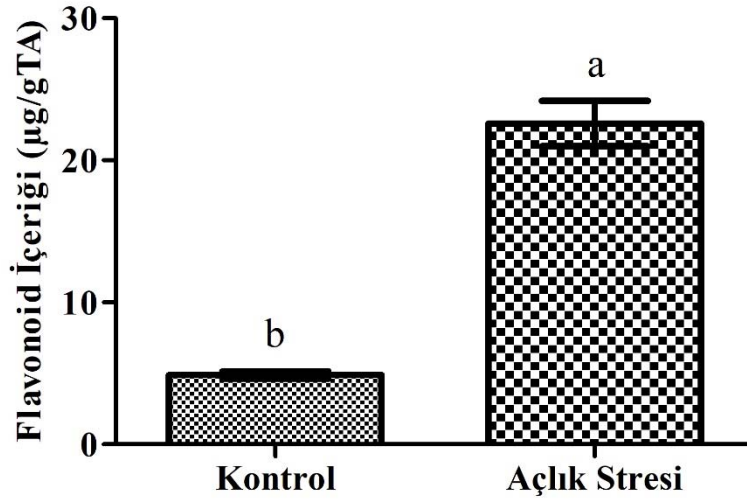
4.4. AÇLIK STRESİNİN TOTAL FENOLİK, FLAVONOİD VE ANTOSİYANİN İÇERİĞİNE ETKİSİ

Açlık stresi uygulamasının *A. caroliniana* bitkisinin total fenolik miktarı üzerindeki etkisi Şekil 4.11 ve Tablo 4.4 de verilmiştir. Açlık stresi uygulaması sonucunda kontrol bitkisinde total fenolik madde içeriği 3,37 µg/gTA olarak saptanırken açlık stresi uygulanan *A. caroliniana* bitkisinde 15,81 µg/gTA olarak saptandı ($P < 0,05$).



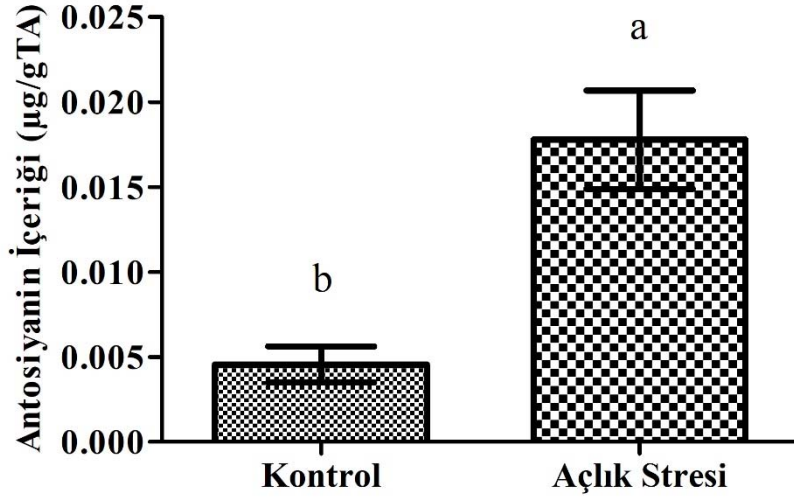
Şekil 4. 11: Açlık stresi uygulaması sonucunda *A. caroliniana* bitkisinden elde edilen total fenolik miktarları.

Açlık stresi flavonoid içeriğinde önemli oranda artış sağlarken (Şekil 4.12 ve Tablo 4.4) bu değerler kontrol ve açlık stresi uygulamalarında sırasıyla 4,88 µg/gTA ve 22,59 µg/gTA olarak saptandı ($P<0,05$).



Şekil 4. 12: Açlık stresi uygulaması sonucunda *A. caroliniana* bitkisinden elde edilen total flavonoid miktarları.

Açlık stresi sonucunda elde edilen antosiyanin miktarları **Şekil 4.13** te verilmiştir. Açlık stresi uygulaması antosiyanin miktarında anlamlı bir artış sağladı ($P<0,05$). Kontrol ortamında antosiyanin miktarı $0,005 \mu\text{g/gTA}$ olarak saptanırken açlık stresi uygulaması ile birlikte bu değer önemli oranda artarak $0,018 \mu\text{g/gTA}$ olarak saptandı.



Şekil 4. 13: Açlık stresi uygulaması sonucunda *A. caroliniana* bitkisinden elde edilen antosiyanin miktarları.

Tablo 4. 4: Kontrol ve açlık stresi uygulanmış *A. caroliniana* bitkisinden elde edilen total fenolik, total flavonoid ve antosiyanin miktarları.

	Kontrol	Açlık Stresi
Total Fenolik Miktarı (µg/gTA)	3,37 ± 0,10	15,81 ± 1,68*
Total Flavonoid Miktarı (µg/gTA)	4,88 ± 0,26	22,57 ± 1,60*
Antosiyanin İçeriği (µg/gTA)	0,005 ± 0,001	0,018 ± 0,003*

* $P<0,05$

Açlık stresinin total fenolik, flavonoid ve antosiyanin miktarı üzerindeki karşılaştırmalı etkisi Tablo 4.4 te verilmiştir. Buna göre açlık stresi uygulaması sonucunda total fenolik ve flavonoid miktarları kontrole göre sırasıyla %369 ve %363 ($P<0,05$) oranlarında artış gösterdi (**Şekil 4.11**

– **Şekil 4.12** ve **Tablo 4.4**). Diğer taraftan açlık stresi uygulaması sonucunda elde edilen antosiyanin miktarı kontrole oranla %291 ($P<0,05$) oranında arttı (**Şekil 4.13** – **Tablo 4.4**).



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. YÜKSEK IŞIK STRESİNİN *AZOLLA* ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Bitkilerin yapısı, kısmen, çevreden gelen ışık sinyalleriyle düzenlenir (Franklin ve diğ., 2005; Kim ve diğ., 2004). Işık, fotosentetik organizmalar için enerji kaynağıdır ve ışık yoğunluğu bitki büyümesinde önemli bir rol oynar. Düşük ışık koşulları gaz değişimini etkileyerek bitkinin büyümesini ve verimliliğini engellerken (Zavala ve Ravetta, 2001), aşırı ışık yoğunluğunun fotosentetik aparat üzerinde zararlı etkileri vardır (Lichtenthaler ve diğ., 2007). Sonuç olarak, bitkiler yapılarını ve fizyolojilerini hakim ışık ortamına uyarlamak için karmaşık mekanizmalar geliştirmiştir (Fan ve diğ., 2013). Zimmerman (1985) 450 - 510 $\mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$ yüksek ışık şiddeti uygulamasında 26/22 °C ılıman koşullarda *A. filiculoides* ve *A. caroliniana* türlerinde bitki büyümesinin teşvik edildiğini belirtmiştir. Talley ve Rains (1980) *Azolla filiculoides* te büyüme oranının artan ışık şiddeti (500-1000 $\mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) ve sıcaklık (25/15 – 35/25 °C) koşullarıyla birlikte arttığını rapor etmiştir. Diğer bir çalışmada ise *A. pinnata* bitkisi %65 doğal ışık yoğunluğunda maksimum büyüme gösterirken, üç *A. filiculoides* ırkı (4, 6 ve 10), daha geniş bir ışık yoğunluğu (%50-100) aralığında maksimum büyüme değerleri göstermiştir (Moretti ve Siniscalco Gigliano, 1988). Pereira ve diğ. (2015) kontrol *A. microphylla* ve *A. caroliniana* bitkileri için RGR'nin sırasıyla 0.085 ve 0.087 $\text{gg}^{-1}\text{day}^{-1}$ olduğunu belirtmiştir. Bu tez çalışmasında hem kontrol (0,23 $\text{gg}^{-1}\text{day}^{-1}$) hem de ışık stresi uygulamasından (0,27 $\text{gg}^{-1}\text{day}^{-1}$) elde edilen büyüme oranları diğer çalışmalarda (Abraham, 2010; Kannaiyan, 1992; Kösesakal ve Yıldız, 2019) elde edilen değerlerden oldukça yüksekti (**Şekil 4.1**). Bu çalışmada 450 $\mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$ olarak 7 gün süreyle uygulanan yüksek ışık stresi koşulları *A. caroliniana* bitkisinin bağıl büyüme oranını kontrole göre artırmış olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı bir fark yaratmadı (**Şekil 4.1**). Elde edilen bağıl büyüme oranları değerlendirildiğinde yüksek ışık stresi koşullarının bitki büyümesini kontrolün üzerinde teşvik ettiği görülse de *Azolla caroliniana* bitkisi için optimum ışık şiddeti değerinin 450 $\mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$ den çok daha az olması gerektiği söylenebilir.

Bitkiler, ışık enerjisinin absorpsiyon, kullanım ve dağıtım kapasitelerini dengelemek için klorofil konsantrasyonunu düzenlerler. Bu düzenlemenin çevresel stres altında mevsimsel dalgalanmalara karşı bitkilerin bir adaptasyonu olduğu düşünülmektedir (Rai ve Rai, 2003). Gerganova ve diğ. (2016) yüksek ışık yoğunluğunun (800 $\mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) domates bitkilerinde 2.

ve 6. günde chl a / chl b oranını artırdığını belirtmiştir. Aynı çalışmada 6. günde total klorofil miktarı (chl a+b) kontrolün çok az altında olmasına rağmen kontrole benzer değerler vermiştir. Diğer taraftan yüksek ışık yoğunluğunda karotenoid miktarları kontrole benzer değerler verirken, total klorofil / karotenoid oranı belirgin şekilde düşmüştür. Zimmerman (1985) farklı *A. caroliniana* ırkları (RAR ve M-3) ve *A. filiculoides* (LA) ile yaptığı çalışmada 450-510 $\mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$ yüksek ışık yoğunluğunun klorofil miktarının iki katına çıkma süresini M-3 ırkında oldukça uzattığını belirtmiştir. Barczak-Brzyzek ve diğ. (2017) kısa süreli yüksek ışık yoğunluğu uygulamasının *Arabidopsis thaliana* bitkisinde klorofil a miktarında herhangi bir etki yaratmadığını, ancak klorofil b miktarını önemli oranda artırdığını bildirmiştir. Aynı çalışmada yüksek ışık yoğunluğunun karotenoid miktarı üzerinde herhangi bir değişiklik yaratmadığı da saptanmıştır. Bu tez çalışmasında yüksek ışık yoğunluğu klorofil a miktarında artış sağlarken klorofil b miktarının düşmesine sebep oldu. Diğer taraftan total klorofil ve karotenoid miktarları ise kontrolün üzerinde artarken kontrole benzer değerler verdi. Klorofil a/ klorofil b oranı ise kontrole oranla belirgin bir azalma ($P<0,05$) gösterdi (**Tablo 4.1, Şekil 4.2-4**). Eğer fotosentetik aparat tarafından absorbe edilen aşırı ışık enerjisi hızla tüketilemiyorsa, bu fotosentetik etkinliği azaltabilir ve fotoinhibisyona neden olabilir ve hatta fotosentetik reaksiyon merkezine zarar verebilir. Örneğin, fotosistem I (PS I), yüksek ışık stresi ile kolayca fotoinhibe edilebilir ve yüksek ışık, fotosistem II'nin onarımını da engelleyebilir (Takahashi ve Murata, 2008). Fotosistem II (PSII) 'nin ışık koruması, aşırı ışık altında reaktif oksijen türlerinin (fotooksidatif stres) oluşumundan dolayı fotosentetik cihazın ışığa bağlı hasarını önlemek için gereklidir. Karotenoidlerin, üçlü (triplet) klorofil ($^3\text{Chl}^*$) ve singlet oksijeni ($^1\text{O}_2^*$) devre dışı bırakma özelliklerine dayanarak bu işlemlerde çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Jahns ve Holzwarth, 2012). Karotenoidler fotosentetik sistemde ışık absorpsiyonuna katkıda buldukları gibi, fotosentetik makinayı yüksek ışık yoğunluğundan korumak için bitkinin aşırı enerjiyi ısı olarak dağıtmasına da yardımcı olur (Bayat ve diğ., 2018). Bu şekilde kontrolün biraz üzerinde artan klorofil miktarına karşılık olarak artan karotenoid miktarı ve azalan chl a / chl b oranı aşırı ışık yoğunluğunun *A. caroliniana* bitkisinin fotosentez etkinliği üzerinde olumsuz etki yaratmaya başladığı şeklinde açıklanabilir.

Hem ışık yoğunluğunun hem de UV ışığın, çeşitli bitkilerde fenolik ve flavonoidler olmak üzere sekonder metabolitlerin konsantrasyonunu değiştirdiği bildirilmiştir (Izaguirre ve diğ., 2007; Thines ve diğ., 2007). Antosiyanin birikimi ışık miktarı ve/veya niteliğindeki değişiklikler ile meydana gelir ve bu durum *Azolla*, domates, marul ve *Arabidopsis* de dahil olmak üzere çeşitli

bitkilerde belgelenmiştir (Gerganova ve diğ., 2016; Jayakumar ve diğ., 1999; Li ve Kubota, 2009; Oh ve diğ., 2014). Işık antosiyanin sentezi için bir gerekliliktir ve antosiyanin üretimi ışıkla düzenlenir (Vyas ve diğ., 2014). Petrella ve diğ. (2016) çalışmalarında salkım otu (*Poa trivialis* L.) bitkilerinde yüksek yoğunluklu metal halojen aydınlatmasının ($1000 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) antosiyanin içeriğini önemli ölçüde arttırdığını ve ayrıca LED kullanan dalga boyuna özel ışık işlemlerinin de antosiyanin sentezinin etkinliğini artırabileceğini göstermiştir. Jayakumar ve diğ. (1999) ultraviyole-C (UV-C) uygulamasının *Azolla microphylla* bitkisinde antosiyanin ve flavonoid içeriğini kontrole göre sırasıyla %18,5 ve %3,7 arttırdığını belirtmiştir. Zimmerman (1985) yüksek ışık seviyelerinin *A. caroliniana* ve *A. filiculoides* te antosiyanin üretimini teşvik ettiğini saptamıştır. Li ve Kubota (2009) marul bitkisinde UV-A ve mavi ışık uygulamasında antosiyanin konsantrasyonunun sırasıyla %11 ve %31 artarken, kırmızı ışık uygulamasının ise fenolik konsantrasyonunu %6 arttırdığını bildirmiştir. *Artemisia absinthium* L. kallus kültürlerine farklı ışık spektrumlarının uygulandığı bir çalışmada yeşil spektrumun total fenolik, total flavonoid ve antioksidan aktivite için daha destekleyici olduğu bulunmuştur (Tariq ve diğ., 2014). Bu tez çalışmasında yüksek ışık yoğunluğuna ($450 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) maruz bırakıldıklarında, *A. caroliniana* bitkileri, kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında total fenolik, flavonoid ve antosiyanin konsantrasyonlarını önemli ölçüde arttırdı (**Tablo 4.2, Şekil 4.5-7**). Antosiyaninler de dahil olmak üzere fenolik maddeler, bitkilerde abiyotik strese toleransta çok işlev gören en önemli sekonder metabolit sınıfıdır (Landi ve diğ., 2015; Wahid ve diğ., 2007). Fenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin biyolojik aktiviteleri antioksidan potansiyelleriyle ilişkilidir (Ghasemzadeh ve diğ., 2010). Antioksidan sistemin koruyucu etkisi, ışık, soğuk stresi ve ağır yaralanmalara karşı savunma mekanizmaları gibi zor koşullar altında devreye girer. Antioksidan aktivite, strese karşı tür direnci ile doğrudan ilişkilidir (Smirnoff, 1998). Sekonder metabolitlerin konsantrasyonları, güneş ışığının miktarı ve dalga boyu dahil olmak üzere çok sayıda biyotik ve abiyotik faktörden etkilenir (Estell ve diğ., 2016). Antosiyaninler fotosentetik cihazın yüksek ışık yoğunluğundan kaynaklanan hasarlardan korunmasında da rol oynar (Petrella ve diğ., 2016). Yüksek miktarda antosiyanin içeren yaprakların fotoinhibisyonun daha az etkilendikleri ve aşırı ışık etkisinden daha hızlı toparlandıkları gösterilmiştir (Pietrini ve diğ., 2002; Steyn ve diğ., 2002). Yüksek ışık uygulamasında antosiyanin, total fenolik ve flavonoid miktarlarındaki bu artış, fotosentetik olmayan bu pigmentlerin, diğer vasküler bitkilerde olduğu gibi, *Azolla*'da da yaprağın aşırı ultraviyole radyasyonuna karşı koruyucu etkisi şeklinde açıklanabilir.

5.2. AÇLIK STRESİNİN *AZOLLA* ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Su bitkilerinin büyümesi, genellikle gelişimsel süreçlerini etkileyebilecek anahtar çevresel faktörlerle sınırlıdır (Bornette ve Puijalon, 2011). Işık yoğunluğu ve besin bulunabilirliği, akuatik makrofitlerin gelişimini önemli derecede etkiler ve yetersiz çevresel koşullar altında sınırlı bir büyüme meydana gelebilir. Bitki büyüme ortamlarındaki besin yetersizliği bitkisel üretim için önemli bir sınırlayıcı faktördür. Bu tez çalışmasında açlık stresi uygulaması klorofil a ($P<0,05$), total klorofil ($P<0,01$) ve karotenoid ($P<0,05$) miktarında kontrole göre artış sağlarken, total klorofil/karotenoid ($P<0,01$) oranının önemli derecede azalmasına sebep oldu (Tablo 4.3, Şekil 4.8-10). Giorgi ve diğ. (2009) azot açlığı koşullarında civanperçemi (*Achillea collina* Becker ex Rchb.) bitkisinde klorofil a, klorofil b, klorofil (a+b) ve karotenoid miktarının indirildiğini bildirmiştir. Kösesakal ve Ünal (2009) çinko eksikliğinin domates fidelerinin hipokotillerinde total klorofil ve karotenoid miktarlarını arttırmasına rağmen kotiledonlarında kontrole benzer sonuçlar verdiğini belirtmiştir. Diğer taraftan Hajiboland ve Amirazad (2010) çinko eksikliğinin klorofil a miktarı ve klorofil a/b oranını indirmediğini rapor etmiştir. Farklı nutrient seviyelerinde yetiştirilen akuatik makrofit *Myriophyllum aquaticum* bitkisinde ortalama ve yüksek besin seviyeleri yüklemesinden elde edilen ortalama klorofil a miktarı besin yüklemesi yapılmayan bitkilere göre sırasıyla %56,2 ve %50,5 artmıştır (Tan ve diğ., 2019). Azot eksikliği ıspanak bitkisinde klorofil a ve b miktarlarını önemli ölçüde indirirken, fosfor (P) ve potasyum (K) eksikliği ise klorofil a ve total klorofil içeriğini ve klorofil a/b oranını arttırmıştır (Xu ve Mou, 2016). Ismail ve Mohamed (2010) fosfor eksikliğinin, *A. caroliniana* bitkisinin büyümesi üzerinde önemli bir engelleyici etkiye sahip olduğunu rapor etmiştir. Bu etkinin ise, fotosentetik pigmentlerin içeriğinde ve fotosistem II (PSII) aktivitesinde belirgin bir düşüşle birlikte olduğu belirtilmiştir. Bitki pigmentlerinin fotosentetik süreçte ve genel bitki fizyolojisi koşullarında oynadığı hayati rol göz önüne alındığında, miktarlarının saptanması, bitki sağlığını izlemek ve dolaylı olarak stres tepkisini belirlemek için önemli bir araç sağlayacaktır (Shah ve diğ., 2017). Yaprak klorofil içeriği fotosentetik kapasite için önemli bir gösterge sağlarken (Cannella ve diğ., 2016), karotenoidler fotosentezde ışık enerjisinin absorpsiyonundaki rollerine ilaveten (Zakar ve diğ., 2016) oksidatif strese karşı savunma mekanizmasında da etkilidirler (Wurtzel, 2019). Bu çalışmada besin yetersizliği sonucunda artan total klorofil miktarına karşılık kontrolün üzerinde artan karotenoid miktarı açlık stresinin yarattığı olumsuz etkinin giderilmesinde karotenoidlerin aktif işlem gördüğünü ve stresin olumsuz etkilerinin azaltılmasında etkili olduklarını düşündürmektedir.

Giorgi ve diğ. (2009), hidroponik kültürde azot yetersizliği uygulanmış civanperçemi bitkisinin kök ve yapraklarında total fenolik içeriğinin önemli miktarda arttığını belirtmiştir. Çinko eksikliğinde *Brassica oleracea* yapraklarında antosiyanin ve çözünebilir fenolikler kontrole göre sırasıyla %58 ve %29 oranında birikmiştir (Hajiboland ve Amirazad, 2010). Xu ve Mou (2016) ıspanak bitkisinde azot eksikliğinde antosiyanin ve total fenolik içeriğinin artarken, flavonoid içeriği ve karotenoid miktarının azaldığını rapor etmiştir. Aynı çalışmada P ve K eksikliğinde total fenolik ve flavonoid içeriği artarken antosiyanin miktarı kontrole benzer değerler vermiştir. Başka bir çalışmada ise azot ve fosfor yokluğu, *Arabidopsis thaliana* ve *Lycopersicon esculentum* fidelerinde flavonollerde artışa neden olmuştur (Stewart ve diğ., 2001). *A. filiculoides* ve *A. pinnata* yapraklarında soğuk ve açlık gibi abiyotik streslere karşı kırmızı renk oluşumu bildirilmiştir (Miranda ve diğ., 2018). Fosfor eksikliği *A. caroliniana* bitkisinde antosiyanin miktarını önemli oranda arttırmıştır (Ismail ve Mohamed, 2010). Bu çalışmada açlık stresi uygulaması ile birlikte total fenolik, flavonoid ve antosiyanin miktarları kontrole göre sırasıyla %369, %363 ve %291 ($P < 0,05$) oranlarında arttı (**Tablo 4.4, Şekil 4.11-13**). Fenolik bileşikler, çeşitli yapısal sınıfları (örneğin, ligninin öncüsü olarak) ve biyolojik fonksiyonları içeren en büyük bitki sekonder metabolit grubunu temsil eder. Bunlar, fenilpropanoid yolunun temel enzimi olan fenilalanin amonyak-liyaz (PAL; EC 4.3.1.5) etkisiyle üretilen trans-sinamik asitten kökenlenirler. Biyotik ve abiyotik streslere reaksiyon olarak bitki dokularında sıklıkla fenolik bileşik biyosentezinde ve birikiminde artış ortaya çıkar (Dixon ve Paiva, 1995). Abiyotik stresler arasında, mineral besin yetersizliğinin fenilpropanoid metabolizmasını etkilediği bildirilmiştir. Özellikle, mineral besin eksikliği koşullarında, flavonoller (Stewart ve diğ., 2001), antosiyaninler (Landi ve diğ., 2015) ve fenolik bileşiklerin birikimi rapor edilmiştir (Kováčik ve diğ., 2007). Bu çalışmada elde edilen sonuçlarla açlık stresi koşullarında kontrolün çok üzerinde artan total fenolik, flavonoid ve antosiyanin miktarlarının besin yetersizliği koşullarının yarattığı olumsuz etkilerin giderilmesinde *A. caroliniana* bitkisinin sekonder metabolit metabolizmasının aktif olarak çalışmasını sürdürdüğü sonucuna varılabilir.

Sonuç olarak bu çalışmada, yüksek ışık şiddeti ($450 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) bitkilerin daha yüksek taze ağırlık ve büyüme indeksini desteklese de (**Şekil 4.1**), kontrol seviyesinde kalan klorofil miktarına karşılık artan karotenoid, antosiyanin, total fenolik ve flavonoid miktarları bitkinin yüksek ışık şiddetinin vermiş olduğu hasardan kendini korumaya çalıştığını göstermektedir. Yine aynı şekilde açlık stresinin *Azolla caroliniana* bitkisinde karotenoid, total fenolik,

flavonoid ve antosiyanin birikimini önemli ölçüde arttırdığı saptandı. *Azolla* yapraklarındaki antosiyanin birikimi başta olmak üzere, karotenoid, total fenolik ve flavonoid miktarlarındaki artışın, fotosentetik cihazı tarayarak fotosentezi sınırlamadan, öncelikle fotosentetik cihazın yüksek ışığın (Pietrini ve diğ., 2002) ve açlık stresinin zararlı etkilerinden korunmasını sağladığını göstermektedir.

Bu çalışmadan elde edilen verilerin literatüre katkı sağlanmasının yanında;

- Abiyotik stres koşullarına cevap olarak pigment içeriğinde meydana gelen değişimlerin antioksidan kapasitelerinin araştırılması,
- Abiyotik stres koşullarının pigment içeriği ve birikimine neden olan etkisinin, *de novo* transkriptom analizi ile yürütülmesi,
- Pigment değişimine neden olan abiyotik koşulların, *Azolla* nın transkriptom profili ve dinamiği üzerindeki etkisinin belirlenmesi,
- Belirli bir biyosentetik yolağı aşırı ifade eden (overeksprese) enzimlerle, örneğin yapısal olarak yüksek metabolit düzeyi mühendislik ürünü bitkiler dışında, beslenme ve çevresel faktörlerin uygun manipülasyonu ile, tatlı su bitkilerinde bu önemli metabolitlerin birikimini ve verimini en üst düzeye çıkarmak için alternatif bir yol olarak kullanılarak büyük ölçekli üretimler de kullanılabilirliği,

Şeklinde belirlenen farklı çalışmaların uygulanması ve araştırılmasına olanak sağlayacağı belirtilebilir.

KAYNAKLAR

- Abbott, J.A., 1999, Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest biology and technology* 15, 207–225. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00086-6).
- Abraham, G., 2010, Antioxidant enzyme status in *Azolla microphylla* in relation to salinity and possibilities of environmental monitoring. *Thin solid films* 519, 1240–1243. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.08.076>.
- Adelusi, A. and Aileme, J.D., 2006, Effects of light and nutrient stress on some growth parameters of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Research journal of botany*. <https://doi.org/10.3923/rjb.2006.95.103>.
- Akinbile, C.O., Ogunrinde, T.A., Che bt Man, H. and Aziz, H.A., 2016, Phytoremediation of domestic wastewaters in free water surface constructed wetlands using *Azolla pinnata*. *International journal of phytoremediation* 18, 54–61. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1058330>.
- Al-Khatib, K. and Paulsen, G.M., 1989, Enhancement of thermal injury to photosynthesis in wheat plants and thylakoids by high light intensity. *Plant physiology* 90, 1041–1048. <https://doi.org/10.1104/pp.90.3.1041>.
- Ali, M. and Abbasi, B.H., 2014, Light-induced fluctuations in biomass accumulation, secondary metabolites production and antioxidant activity in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L. *Journal of photochemistry and photobiology b: biology* 140, 223–227. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.08.008>.
- Barczak-Brzyżek, A.K., Kielkiewicz, M., Gawroński, P., Kot, K., Filipecki, M. and Karpińska, B., 2017, Cross-talk between high light stress and plant defence to the two-spotted spider mite in *Arabidopsis thaliana*. *Experimental and applied acarology* 73, 177–189. <https://doi.org/10.1007/s10493-017-0187-x>.
- Bayat, L., Arab, M., Aliniaiefard, S., Seif, M., Lastochkina, O. and Li, T., 2018, Effects of growth under different light spectra on the subsequent high light tolerance in rose plants. *AoB PLANTS* 10, 1–17. <https://doi.org/10.1093/aobpla/ply052>.

- Berger, M.M., 2005, Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical nutrition* 24, 172–183. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.10.003>.
- Blankenship, R.E., 2002, *Origin and evolution of photosynthesis, In: Molecular mechanisms of photosynthesis.* John Wiley & Sons, Ltd, ss. 220–257. <https://doi.org/10.1002/9780470758472.ch11>.
- Bornette, G. and Puijalon, S., 2011, Response of aquatic plants to abiotic factors: A review. *Aquatic sciences* 73, 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00027-010-0162-7>.
- Cannella, D., Möllers, K.B., Frigaard, N.U., Jensen, P.E., Bjerrum, M.J., Johansen, K.S. and Felby, C., 2016, Light-driven oxidation of polysaccharides by photosynthetic pigments and a metalloenzyme. *Nature communications* 7, 1–8. <https://doi.org/10.1038/ncomms11134>.
- Carrapiço, F., 2010, How symbiogenic is evolution? *Theory in biosciences* 129, 135–139. <https://doi.org/10.1007/s12064-010-0100-1>.
- Carrapiço, F., Teixeira, G. and Diniz, M.A., 2000, *Azolla* as a biofertiliser in Africa. A challenge for the future. *Revista de ciencias agrarias* 23, 120–138.
- Carvalho, F., Campos, M.L. and Azevedo, R.A., 2011, The role of phytochrome in stress tolerance. *Journal of integrative plant biology* 53, 920–929. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2011.01081.x>.
- Cohen, M.F., Meziane, T. and Yamasaki, H., 2004, A photocarotenogenic *Rhodococcus* sp. isolated from the symbiotic fern *Azolla*. *Technology* 350–355.
- Croce, R., Müller, M.G., Bassi, R. and Holzwarth, A.R., 2001, Carotenoid-to-chlorophyll energy transfer in recombinant major light-harvesting complex (LHCII) of higher plants. I. Femtosecond transient absorption measurements. *Biophysical journal* 80, 901–915. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)76069-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)76069-9).
- Dai, L.-P., Xiong, Z.-T., Huang, Y. and Li, M.-J., 2006, Cadmium-induced changes in pigments, total phenolics, and phenylalanine ammonia-lyase activity in fronds of *Azolla imbricata*. *Environmental toxicology* 21, 505–512. <https://doi.org/10.1002/tox.20212>.

- Dixon, R.A. and Paiva, N.L., 1995, Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant cell* 7, 1085–1097. <https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1085>.
- Elavarthi, S. and Martin, B., 2010, *Spectrophotometric Assays for Antioxidant Enzymes in Plants*, In: Sunkar, R. (Ed.), *Plant Stress Tolerance: Methods and Protocols*. Humana Press, Totowa, NJ, ss. 273–280. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-702-0_16.
- Estell, R.E., Fredrickson, E.L. and James, D.K., 2016, Effect of light intensity and wavelength on concentration of plant secondary metabolites in the leaves of *Flourensia cernua*. *Biochemical systematics and ecology* 65, 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.02.019>.
- Fan, X.X., Xu, Z.G., Liu, X.Y., Tang, C.M., Wang, L.W. and Han, X-L., 2013, Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. *Scientia horticulturae* 153, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.017>.
- Forni, C., Braglia, R., Harren, F.J.M. and Cristescu, S.M., 2012, Stress responses of duckweed (*Lemna minor* L.) and water velvet (*Azolla filiculoides* Lam.) to anionic surfactant sodium-dodecyl-sulphate (SDS). *Aquatic toxicology* 110–111, 107–113. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.12.017>.
- Franklin, K.A., Lerner, V.S. and Whitlam, C.C., 2005, The signal transducing photoreceptors of plants. *International journal of developmental biology* 49, 653–664. <https://doi.org/10.1387/ijdb.051989kf>.
- Fukuda, N., Fujita, M., Ohta, Y., Sase, S., Nishimura, S. and Ezura, H., 2008, Directional blue light irradiation triggers epidermal cell elongation of abaxial side resulting in inhibition of leaf epinasty in geranium under red light condition. *Scientia horticulturae*. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.08.006>.
- Galieni, A., Di Mattia, C., De Gregorio, M., Specca, S., Mastrocola, D., Pisante, M. and Stagnari, F., 2015, Effects of nutrient deficiency and abiotic environmental stresses on yield, phenolic compounds and antiradical activity in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Scientia horticulturae* 187, 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.036>.

- García-Plazaola, J.I., Esteban, R., Fernández-Marín, B., Kranner, I. and Porcar-Castell, A., 2012, Thermal energy dissipation and xanthophyll cycles beyond the *Arabidopsis* model. *Photosynthesis research* 113, 89–103. <https://doi.org/10.1007/s11120-012-9760-7>.
- Gerganova, M., Popova, A. V., Stanoeva, D. and Velitchkova, M., 2016, Tomato plants acclimate better to elevated temperature and high light than to treatment with each factor separately. *Plant physiology and biochemistry* 104, 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.03.030>.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E. and Rahmat, A., 2010, Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules* 15, 4324–4333. <https://doi.org/10.3390/molecules15064324>.
- Ghorbanzadeh Mashkani, S. and Tajer Mohammad Ghazvini, P., 2009, Biotechnological potential of *Azolla filiculoides* for biosorption of Cs and Sr: Application of micro-PIXE for measurement of biosorption. *Bioresource technology* 100, 1915–1921. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.019>.
- Giorgi, A., Mingozi, M., Madeo, M., Speranza, G. and Cocucci, M., 2009, Effect of nitrogen starvation on the phenolic metabolism and antioxidant properties of yarrow (*Achillea collina* Becker ex Rechb.). *Food chemistry* 114, 204–211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.039>.
- Gould, K.S., 2004, Nature's Swiss army knife: The diverse protective roles of anthocyanins in leaves. *Journal of biomedicine and biotechnology* 2004, 314–320. <https://doi.org/10.1155/S1110724304406147>.
- Gould, K.S., Kuhn, D.N., Lee, D.W. and Oberbauer, S.F., 1995, Why leaves are sometimes red. *Nature* 378, 241–242. <https://doi.org/10.1038/378241b0>.
- Gratani, L., Crescente, M.F. and Rossi, G., 1998, Photosynthetic performance and water use efficiency of the fern *Cheilanthes persica*. *Photosynthetica*. <https://doi.org/10.1023/A:1006970705546>.
- Grotewold, E., 2006, Genetics and biochemistry of floral pigments. *Annual review of plant biology* 57, 761–780.

- Gururani, M.A., Venkatesh, J. and Tran, L.S.P., 2015, Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Molecular plant* 8, 1304–1320. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.05.005>.
- Hajiboland, R. and Amirazad, F., 2010, Growth, photosynthesis and antioxidant defense system in Zn-deficient red cabbage plants. *Plant, soil and environment* 56, 209–217. <https://doi.org/10.17221/207/2009-pse>.
- Herns, D.A. and Mattson, W.J., 1992, The dilemma of plants: To grow or defend. *The quarterly review of biology* 67, 283–335. <https://doi.org/10.1086/417659>.
- Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F. and Munné-Bosch, S., 2009, How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in plant science* 14, 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.12.003>.
- Hodges, S.C. and Constable, G., 2010, *Plant responses to mineral deficiencies and toxicities BT - physiology of cotton*, In: Stewart, J.M., Oosterhuis, D.M., Heitholt, J.J., Mauney, J.R. (Ed.). Springer Netherlands, Dordrecht, ss. 142–161. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3195-2_14.
- Holt, N.E., Kennis, J.T.M., Dall'Osto, L., Bassi, R. and Fleming, G.R., 2003,. Carotenoid to chlorophyll energy transfer in light harvesting complex II from *Arabidopsis thaliana* probed by femtosecond fluorescence upconversion. *Chemical physics letters* 379, 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2003.08.039>.
- Ismail, G.S.M. and Mohamed, H.E., 2010, Alteration in growth and thylakoid membrane lipid composition of *Azolla caroliniana* under phosphate deficiency. *Biologia plantarum* 54, 671–676. <https://doi.org/10.1007/s10535-010-0119-7>.
- Izaguirre, M.M., Mazza, C.A., Svatoš, A., Baldwin, I.T. and Ballaré, C.L., 2007, Solar ultraviolet-B radiation and insect herbivory trigger partially overlapping phenolic responses in *Nicotiana attenuata* and *Nicotiana longiflora*. *Annals of botany* 99, 103–109. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl226>.
- Jahns, P. and Holzwarth, A.R., 2012, The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et biophysica acta - bioenergetics* 1817,

- 182–193. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2011.04.012>.
- Jampeetong, A. and Brix, H., 2009, Effects of NH₄⁺ concentration on growth, morphology and NH₄⁺ uptake kinetics of *Salvinia natans*. *Ecological engineering* 35, 695–702. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.11.006>.
- Jayakumar, M., Eyini, M., Selvinthangadurai, P., Lingakumar, K., Premkumar, A. and Kulandaivelu, G., 1999, Changes in pigment composition and photosynthetic activity of aquatic fern (*Azolla microphylla* Kaulf.) exposed to low doses of UV-C (254 nm) radiation. *Photosynthetica* 37, 33–38. <https://doi.org/10.1023/A:1007010727978>.
- Kalaji, H.M., Oukarroum, A., Alexandrov, V., Kouzmanova, M., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I.A., Cetner, M.D., Allakhverdiev, S.I. and Goltsev, V., 2014, Identification of nutrient deficiency in maize and tomato plants by invivo chlorophyll a fluorescence measurements. *Plant physiology and biochemistry* 81, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.029>.
- Kannaiyan, S., 1992, Effect of Benlate and Rhizoctonia interactions on the growth, chlorophyll contents and nitrogen fixation in three species of *Azolla*. *South african journal of botany* 58, 292–295. [https://doi.org/10.1016/s0254-6299\(16\)30850-x](https://doi.org/10.1016/s0254-6299(16)30850-x).
- Kim, H.H., Goins, G.D., Wheeler, R.M. and Sager, J.C., 2004, Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red-and blue-light-emitting diodes. *HortScience* 39, 1617–1622. <https://doi.org/10.21273/hortsci.39.7.1617>.
- Kirchsteiger, K., Pulido, P., González, M. and Cejudo, F.J., 2009, NADPH Thioredoxin reductase C controls the redox status of chloroplast 2-Cys peroxiredoxins in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular plant* 2, 298–307. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn082>.
- Kösesakal, T., 2018, Assessment of the biodegradation capacity of *Azolla* on polycyclic aromatic hydrocarbons in crude oil. *Global nest journal* 20, 465–470. <https://doi.org/10.30955/gnj.002544>.
- Kösesakal, T., 2014, Effects of seasonal changes on pigment composition of *Azolla filiculoides* Lam.. *American fern journal* 104, 58–66. <https://doi.org/10.1640/0002-8444-104.2.58>.

- Kösesakal, T. and Unal, M., 2009, Role of zinc deficiency in photosynthetic pigments and peroxidase activity of tomato seedlings. *European journal of biology* 68, 113–120.
- Kösesakal, T., Ünal, M., Kulen, O., Memon, A. and Yüksel, B., 2016, Phytoremediation of petroleum hydrocarbons by using a freshwater fern species *Azolla filiculoides* Lam. *International journal of phytoremediation* 18, 467–476. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.11115958>.
- Kösesakal, T. and Yıldız, M., 2019, Growth performance and biochemical profile of *Azolla pinnata* and *Azolla caroliniana* grown under greenhouse conditions. *Archives of biological sciences* 71, 475–482. <https://doi.org/10.2298/abs190131030k>.
- Kováčik, J., Klejdus, B., Bačkor, M. and Repčák, M., 2007, Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant science* 172, 393–399. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.10.001>.
- Landi, M., Tattini, M. and Gould, K.S., 2015, Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and experimental botany* 119, 4–17. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.012>.
- Lee, P.H., Lin, T.T. and Chiou, W.L., 2009, Phenology of 16 species of ferns in a subtropical forest of northeastern Taiwan. *Journal of plant research* 122, 61–67. <https://doi.org/10.1007/s10265-008-0191-7>.
- Li, Q. and Kubota, C., 2009, Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and experimental botany* 67, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.011>.
- Lichtenthaler, H.K., Ač, A., Marek, M. V., Kalina, J. and Urban, O., 2007, Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant physiology and biochemistry* 45, 577–588. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.04.006>.
- Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R., 1983, Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical society transactions*

- 11, 591–592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
- Long, S.P., Humphries, S. and Falkowski, P.G., 1994, Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* 45, 633–662. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.45.060194.003221>.
- Lopez-Juez, E. and Pyke, K.A., 2005, Plastids unleashed: Their development and their integration in plant development. *International journal of developmental biology* 49, 557–577. <https://doi.org/10.1387/ijdb.051997el>.
- Mahajan, S. and Tuteja, N., 2005, Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics* 444, 139–58. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>.
- Mancinelli, A.L., 1990, Interaction between light quality and light quantity in the photoregulation of anthocyanin production. *Plant physiology* 92, 1191–1195. <https://doi.org/10.1104/pp.92.4.1191>.
- Matos, F.S., Wolfgramm, R., Gonçalves, F. V., Cavatte, P.C., Ventrella, M.C. and DaMatta, F.M., 2009, Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environmental and experimental botany* 67, 421–427. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.06.018>.
- McKersie, B.D. and Leshem, Y.Y., 1994, *Stress and stress coping in cultivated plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Miao, Z., Xu, W., Li, D., Hu, X., Liu, J., Zhang, R., Tong, Z., Dong, J., Su, Z., Zhang, L., Sun, M., Li, W., Du, Z., Hu, S. and Wang, T., 2015, *De novo* transcriptome analysis of *Medicago falcata* reveals novel insights about the mechanisms underlying abiotic stress-responsive pathway. *BMC genomics* 16, 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2019-x>.
- Miranda, A.F., Liu, Z., Rochfort, S. and Mouradov, A., 2018, Lipid production in aquatic plant *Azolla* at vegetative and reproductive stages and in response to abiotic stress. *Plant physiology and biochemistry* 124, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.01.012>.
- Moretti, A. and Siniscalco Gigliano, G., 1988, Influence of light and pH on growth and nitrogenase activity on temperate-grown *Azolla*. *Biology and fertility of soils* 6, 131–136.

<https://doi.org/10.1007/BF00257662>.

- Müller, P., Li, X.P. and Niyogi, K.K., 2001, Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant physiology* 125, 1558–1566. <https://doi.org/10.1104/pp.125.4.1558>.
- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y. and Allakhverdiev, S.I., 2007, Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et biophysica acta - bioenergetics* 1767, 414–421. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.11.019>.
- Nath, K., Jajoo, A., Poudyal, R.S., Timilsina, R., Park, Y.S., Aro, E.M., Nam, H.G. and Lee, C.H., 2013, Towards a critical understanding of the photosystem II repair mechanism and its regulation during stress conditions. *FEBS letters* 587, 3372–3381. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.09.015>.
- Naya, L., Ladrera, R., Ramos, J., Gonzalez, E.M., Arrese-Igor, C., Minchin, F.R. and Becana, M., 2007, The response of carbon metabolism and antioxidant defenses of alfalfa nodules to drought stress and to the subsequent recovery of plants. *Plant physiology* 144, 1104–1114. <https://doi.org/10.1104/pp.107.099648>.
- Nayak, N., Padhy, R.N. and Singh, P.K., 2015, Evaluation of antibacterial and antioxidant efficacy of the fern *Azolla caroliniana* symbiotic with the cyanobacterium *Anabaena azollae*. *Proceedings of the national academy of sciences india section b - biological sciences* 85, 555–569. <https://doi.org/10.1007/s40011-014-0370-3>.
- Oh, S., Warnasooriya, S.N. and Montgomery, B.L., 2014, Mesophyll-localized phytochromes gate stress- and light-inducible anthocyanin accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant signaling and behavior* 9. <https://doi.org/10.4161/psb.28013>.
- Oren Benaroya, R., Tzin, V., Tel-Or, E. and Zamski, E., 2004, Lead accumulation in the aquatic fern *Azolla filiculoides*. *Plant physiology and biochemistry* 42, 639–645. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.03.010>.
- Pabby, A., Prasanna, R. and Singh, P.K., 2003, *Azolla-Anabaena* symbiosis - From traditional agriculture to biotechnology. *Indian journal of biotechnology* 2, 26–37.

- Pereira, A.L. and Carrapiço, F., 2007, Histochemistry of simple hairs from the foliar cavities of *Azolla filiculoides*. *Plant biosystems* 141, 323–328. <https://doi.org/10.1080/11263500701627588>.
- Pereira, A.L., Monteiro, B., Azevedo, J., Campos, A., Osório, H. and Vasconcelos, V., 2015, Effects of the naturally-occurring contaminant microcystins on the *Azolla filiculoides*-*Anabaena azollae* symbiosis. *Ecotoxicology and environmental safety* 118, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.008>.
- Petrella, D.P., Metzger, J.D., Blakeslee, J.J., Nangle, E.J. and Gardner, D.S., 2016, Anthocyanin production using rough bluegrass treated with high-intensity light. *HortScience* 51, 1111–1120. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI110878-16>.
- Pietrini, F., Iannelli, M.A. and Massacci, A., 2002, Anthocyanin accumulation in the illuminated surface of maize leaves enhances protection from photo-inhibitory risks at low temperature, without further limitation to photosynthesis. *Plant, cell and environment*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00917.x>.
- Pinto, M.E., Casati, P., Hsu, T.P., Ku, M.S.B. and Edwards, G.E., 1999, Effects of UV-B radiation on growth, photosynthesis, UV-B-absorbing compounds and NADP-malic enzyme in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different nitrogen conditions. *Journal of photochemistry and photobiology b: biology* 48, 200–209. [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(99\)00031-7](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(99)00031-7).
- Pirie, A. and Mullins, M.G., 1976, Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid. *Plant physiology* 58, 468–472. <https://doi.org/10.1104/pp.58.4.468>.
- Porra, R.J., 1997, Recent progress in porphyrin and chlorophyll biosynthesis. *Photochemistry and photobiology* 65, 492–516. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1997.tb08596.x>.
- Prasad, S.M., Kumar, S., Parihar, P. and Singh, R., 2016, Interactive effects of herbicide and enhanced UV-B on growth, oxidative damage and the ascorbate-glutathione cycle in two *Azolla* species. *Ecotoxicology and environmental safety* 133, 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.07.036>.

- Rabino, I. and Mancinelli, A.L., 2008, Light, temperature, and anthocyanin production. *Plant physiology* 81, 922–924. <https://doi.org/10.1104/pp.81.3.922>.
- Rai, A.K. and Rai, V., 2003, Effect of NaCl on growth, nitrate uptake and reduction and nitrogenase activity of *Azolla pinnata*-*Anabaena azollae*. *Plant science* 164, 61–69. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00335-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00335-7).
- Ramel, F., Birtic, S., Cui n , S., Triantaphylid s, C., Ravanat, J.L. and Havaux, M., 2012a, Chemical quenching of singlet oxygen by carotenoids in plants. *Plant physiology* 158, 1267–1278. <https://doi.org/10.1104/pp.111.182394>.
- Ramel, F., Birtic, S., Ginies, C., Soubigou-Taconnat, L., Triantaphylid s, C. and Havaux, M., 2012b, Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america* 109, 5535–5540. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115982109>.
- Rausher, M.D., 2006, *The Evolution of Flavonoids and Their Genes BT - The Science of Flavonoids*, In: Grotewold, E. (Ed.). Springer New York, New York, NY, ss. 175–211. https://doi.org/10.1007/978-0-387-28822-2_7.
- Rossel, J.B., Wilson, I.W. and Pogson, B.J., 2002, Global changes in gene expression in response to high. *Society* 130, 1109–1120. <https://doi.org/10.1104/pp.005595>.Under.
- Ruban, A., 2012, *Life, energy and light*, In: The photosynthetic membrane. John Wiley & Sons, Ltd, ss. 1–6. <https://doi.org/10.1002/9781118447628.ch1>.
- Ruban, A. V., 2015, Evolution under the sun: Optimizing light harvesting in photosynthesis. *Journal of experimental botany* 66, 7–23. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru400>.
- Samol, I., Shapiguzov, A., Ingelsson, B., Fucile, G., Cr vecoeur, M., Vener, A. V., Rochaix, J.D. and Goldschmidt-Clermont, M., 2012, Identification of a photosystem II phosphatase involved in light acclimation in *Arabidopsis*. *Plant cell* 24, 2596–2609. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.095703>.
- Shah, S.H., Houborg, R. and McCabe, M.F., 2017, Response of chlorophyll, carotenoid and SPAD-502 measurement to salinity and nutrient stress in wheat (*Triticum aestivum* L.).

- Agronomy* 7, 1–21. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030061>.
- Shirley, B.W., 1996. Flavonoid biosynthesis: “New” functions for an “old” pathway. *Trends in plant science* 1, 377–382. [https://doi.org/10.1016/1360-1385\(96\)10040-6](https://doi.org/10.1016/1360-1385(96)10040-6).
- Simancas, B., Juvany, M., Cotado, A. and Munné-bosch, S., 2016, Sex-related differences in photoinhibition , photo-oxidative stress and photoprotection in stinging nettle (*Urtica dioica* L.) exposed to drought and nutrient deficiency. *Journal of photochemistry & photobiology b : biology* 156, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.01.005>.
- Smirnov, N., 1998, Plant resistance to environmental stress. *Current opinion in biotechnology* 9, 214–219.
- Song, S., Chen, Y., Zhao, M. and Zhang, W.H., 2012, A novel *Medicago truncatula* HD-Zip gene, MtHB2, is involved in abiotic stress responses. *Environmental and experimental botany* 80, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.02.001>.
- Steinger, T., Roy, B.A. and Stanton, M.L., 2003, Evolution in stressful environments II: Adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis*. *Journal of evolutionary biology* 16, 313–323. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2003.00518.x>.
- Stewart, A.J., Chapman, W., Jenkins, G.I., Graham, I., Martin, T. and Crozier, A., 2001, The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissues. *Plant, cell and environment* 24, 1189–1197. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00768.x>.
- Steyn, W.J., Wand, S.J.E., Holcroft, D.M. and Jacobs, G., 2002, Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New phytologist*, 155(3), 349-361.
- Stintzing, F.C. and Carle, R., 2004, Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in food science and technology* 15, 19–38. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.004>.
- Takahashi, S. and Badger, M.R., 2011, Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. *Trends in plant science* 16, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.10.001>.

- Takahashi, S. and Murata, N., 2008, How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends in plant science* 13, 178–182. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.01.005>.
- Talley, S.N. and Rains, D.W., 1980, *Azolla filiculoides* Lam. as a fallow-season green manure for rice in a temperate climate. *Agronomy journal* 72, 11–18.
- Tan, B.C., He, H., Gu, J. and Li, K.Y., 2019, Effects of nutrient levels and light intensity on aquatic macrophyte (*Myriophyllum aquaticum*) grown in floating-bed platform. *Ecological engineering* 128, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.12.011>.
- Tariq, U., Ali, M. and Abbasi, B.H., 2014, Morphogenic and biochemical variations under different spectral lights in callus cultures of *Artemisia absinthium* L. *Journal of photochemistry and photobiology b: biology* 130, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.11.026>.
- Thines, N.J., Shipley, L.A., Bassman, J.H., Fellman, J.K., Mattison, D.S., Slusser, J.R. and Gao, W., 2007, Effects of enhanced UV-B radiation on plant chemistry: Nutritional consequences for a specialist and generalist lagomorph. *Journal of chemical ecology* 33, 1025–1039. <https://doi.org/10.1007/s10886-007-9280-7>.
- Van Hove, C. and Lejeune, A., 2002, The *Azolla – Anabaena* symbiosis. Biology and environment. *Proceedings of the royal irish academy* 102B, 23–26.
- Vyas, P., Haque, I., Kumar, M. and Mukhopadhyay, K., 2014, Photocontrol of differential gene expression and alterations in foliar anthocyanin accumulation: A comparative study using red and green forma *Ocimum tenuiflorum*. *Acta physiologiae plantarum* 36, 2091–2102. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1586-9>.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M. and Foolad, M.R., 2007, Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and experimental botany* 61, 199–223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011>.
- Warren, J.M., Bassman, J.H., Fellman, J.K., Mattinson, D.S. and Eigenbrode, S., 2003, Ultraviolet-B radiation alters phenolic salicylate and flavonoid composition of *Populus trichocarpa* leaves. *Tree physiology* 23, 527–535. <https://doi.org/10.1093/treephys/23.8.527>.

- Wentworth, M., Murchie, E.H., Gray, J.E., Villegas, D., Pastenes, C., Pinto, M. and Horton, P., 2006, Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress II. acclimation of photosynthesis. *Journal of experimental botany* 57, 699–709. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj061>.
- Wersal, R.M. and Madsen, J.D., 2013, Influences of light intensity variations on growth characteristics of *Myriophyllum aquaticum*. *Journal of freshwater ecology* 28, 147–164. <https://doi.org/10.1080/02705060.2012.722067>.
- Winkel-Shirley, B., 2001, It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism. *Plant physiology* 127, 1399–1404. <https://doi.org/10.1104/pp.010675>.
- Wurtzel, E.T., 2019, Changing form and function through carotenoids and synthetic biology. *Plant physiology* 179, 830–843. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01122>.
- Xu, C. and Mou, B., 2016, Responses of spinach to salinity and nutrient deficiency in growth, physiology, and nutritional value. *Journal of the american society for horticultural science* 141, 12–21.
- Yao, Y., Zhang, M., Tian, Y., Miao, Z., Zeng, K., Zhang, B., Zhao, M. and Yin, B., 2018, *Azolla* biofertilizer for improving low nitrogen use efficiency in an intensive rice cropping system. *Field crops research* 216, 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.11.020>.
- Zakar, T., Laczko-Dobos, H., Toth, T.N. and Gombos, Z., 2016, Carotenoids assist in cyanobacterial photosystem II assembly and function. *Frontiers in plant science* 7, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00295>.
- Zavala, J.A. and Ravetta, D.A., 2001, Allocation of photoassimilates to biomass, resin and carbohydrates in *Grindelia chiloensis* as affected by light intensity. *Field crops research* 69, 143–149. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00136-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00136-2).
- Zengin, F.K. and Munzuroglu, O., 2006, Effects of heavy metals (Pb⁺⁺, Cu⁺⁺, Cd⁺⁺, Hg⁺⁺) on total protein and abscisic acid content of bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) seedlings. *Fresenius environmental bulletin* 15, 277–282.

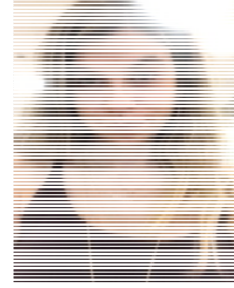
- Zhang, S., Ma, K. and Chen, L., 2003, Response of photosynthetic plasticity of *Paeonia suffruticosa* to changed light environments. *Environmental and experimental botany* 49, 121–133. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(02\)00063-1](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00063-1).
- Zhuang, J., Zhang, J., Hou, X.L., Wang, F. and Xiong, A.S., 2014, Transcriptomic, proteomic, metabolomic and functional genomic approaches for the study of abiotic stress in vegetable crops. *Critical reviews in plant sciences* 33, 225–237. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.870420>.
- Zimmerman, W.J., 1985, Biomass and pigment production in three isolates of *Azolla* II . response to light and temperature stress. *Annals of botany* 56, 701–709.

EKLER



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Başak Defne PORSUK
Doğum Yeri	Antalya
Doğum Tarihi	04.01.1993
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	+905373770947
E-Posta Adresi	b.defne@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	22.01.2016

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Botanik Programı