



**HERBİSİT UYGULANAN ASPİRDE (*Carthamus tinctorius* L.)
YAĞ ASİDİ İÇERİĞİ VE YAĞ ASİDİ GENLERİNDEKİ
DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ**

Gizem NARDEMİR

**Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı
Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR**

2019

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HERBİSİT UYGULANAN ASPİRDE (*Carthamus tinctorius*) YAĞ
ASİDİ İÇERİĞİ VE YAĞ ASİDİ GENLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN
BELİRLENMESİ

Gizem NARDEMİR

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2019

Her hakkı saklıdır



TEZ ONAY FORMU

HERBİSİT UYGULANAN ASPİRDE (*Carthamus tinctorius*) YAĞ ASİDİ İÇERİĞİ VE YAĞ ASİDİ GENLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ

Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR danışmanlığında, Gizem NARDEMİR tarafından hazırlanan bu çalışma 4/12/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı – Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu (.../...)~~ ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR

İmza :

Üye : Doç. Dr. Murat AYDIN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Emre İLHAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 12/12/2019 tarih ve ...48/...34... nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2019-7076

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan alıntıların, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HERBİSİT UYGULANAN ASPİRDE (*Carthamus tinctorius*) YAĞ ASİDİ İÇERİĞİ VE YAĞ ASİDİ GENLERİNDEKİ DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ

Gizem NARDEMİR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR

Artan dünya nüfusu ile önem kazanan yağ bitkilerinden biri olan aspirin (*Carthamus tinctorius*), besin içeriği ve özellikle linoleik asit bakımından diğer yağ bitkilerine kıyasla her geçen gün popüleritesi artmaktadır. Yaz ve kış yetiştiriciliğine uygun olan bu bitki, birçok abiyotik stres koşullarına dayanıklı olmasına karşın, yabancı otların istilası bu kültür bitkisinin çıkış döneminde gelişimini etkilemektedir. Yapılan bu çalışmada aspride yaygın olarak kullanılan S-metolaklor herbisitinin 3 farklı dozunda (1, 2 ve 4 g. aktif madde/L) Dinçer ve Remzibey-05 genotiplerinde erken dönemde yağ asidi oranları ve yağ asidi dönüşümünde etkili olan yağ asidi desaturaz genlerinin (FAD2-1, FAD3, FAD6 ve FAD7) etkileri incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre Remzibey-05 çeşidinin iki önemli yağ asidinden biri olan oleik içeriği kontrole göre bir düşüş gerçekleşirken, Dinçer çeşidinin oleik içeriği ise 1 g. aktif madde/L dozu dışında düşme söz konusu olmuştur. Linoleik asit içeriğinde ise kontrole kıyasla hem Dinçer genotipinde hem de Remzibey-05 genotipinde artış söz konusu olmuştur. Her iki genotipte de genotiplerinde palmitik asit, gondoik asit, kaprilik asit türlerinde genel bir düşüş yaşanırken, kontrolde tespit edilen miristik asit uygulanan dozlarda kaybolmuş, nervolik asit ise kontrolde olmayıp uygulama dozlarında oluşmuştur. Bu bakımdan S-metolaklorun her iki çeşitte de farklı dozlara bağlı olarak karbon yapısını bozarak yağ asidi içeriğini değiştirdiği tespit edilmiştir. Oleik asidin linoleik aside dönüşümünden sorumlu olan FAD2-1 ve FAD6 gen ifadelerinde ise genel bir aşağı regülasyon söz konusu olup, bu duruma karşı linoleik asit sentezinin FAD2-2 geninden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca linoleik asidin linolenik aside dönüşümünden sorumlu olan FAD3 ve FAD7 genlerinde ise aşağı regülasyon olup yağ asidi sentezi gerçekleşmemiştir. Araştırma S-metolaklorun aspir genotiplerinde yağ asidi ve yağ asidi dönüşümünden sorumlu genler üzerine etkisini ortaya koymuştur.

2019, 63 sayfa

Anahtar Kelimeler: Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), S-metolaklor, yağ asiti, FAMES, Q-PCR

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF HERBICIDE-APPLIED SAFFLOWER (*Carthamus tinctorius*) FATTY ACID CONTENT AND CHANGES IN FATTY ACID GENES

Gizem NARDEMİR

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Agricultural Biotechnology
Department of Plant Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), which is one of the oil plants gaining importance with increasing world population, is getting more popular by nutritional content and especially linoleic acid than other fatty plants. Although this plant is suitable for summer and winter cultivation, also resistant to many abiotic stress conditions, infestation of weeds affects the plants at emergence period. In this study, 3 different doses (1, 2 and 4 g. active substance / L) of S-metolachlor which is common safflower herbicides and 2 genotypes (Dinçer and Remzibey-05) was used to investigate of fatty acid desaturase genes (FAD2 -1, FAD3, FAD6 and FAD7) on early period fatty acid ratios and fatty acid conversion. According study results, with comparison of control group, the oleic content one of the two important fatty acids decreased at Remzibey-05 variety, and also Dinçer variety (except 1 g. active substance / L dose). The linoleic acid content increased in both two varieties compare to control group. Palmitic acid, gondoic acid and caprylic acid contents decreased, myristic acid which was detected in the control disappeared in all doses, nervolic acid was not seen in the control doses but formed in the application doses. From this point of view, it was found that S-metolachlor changes the fatty acid content by disrupting the carbon structure by adhering to different doses in both varieties. FAD2-1 and FAD6 gene expressions, which are responsible for the conversion of oleic acid to linoleic acid, have a general downregulation against which linoleic acid synthesis is thought to result from the FAD2-2 gene. In addition, FAD3 and FAD7 genes, which are responsible for the conversion of linoleic acid to linolenic acid, are downregulated and fatty acid synthesis has not been realized. All in all, the research demonstrated the effect of S-metolachlor on the genes responsible for fatty acid and fatty acid transformation in safflower genotypes.

2019, 63 pages

Keywords: Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), methaloclor, fatty acide, FAMEs, Q-PCR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Bitkisel Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Yüksek lisans tez çalışmamı hazırlarken değerli yardım ve katkılarından dolayı başta saygıdeğer tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR olmak üzere hiçbir zaman desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Murat AYDIN'a teşekkür ederim.

Tezimi hazırlarken gece gündüz demeden beni yalnız bırakmayan ve bildiği herşeyi bana hiç çekinmeden öğreten değerli arkadaşlarım Sayın Dr. Öğr. Furkan UZUNDUMLU, Sayın Dr. Öğr. Esmâ YİĞİDER, Sayın Yük. Lis. Öğr. Sümeyra UÇAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda yardımlarından dolayı Sayın Araş. Gör. Esra ARSLAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamı destekleyen üniversitemiz BAP birimine ve analizlerimde yardımlarını esirgemeyen DAYTAM'a teşekkür ederim.

Bana yaşamım boyunca güvenip desteklerini bir an bile esirgemeyen maddi manevi her zaman destekçim olan başta babam Mustafa Taner NARDEMİR'e, annem Mihriban NARDEMİR'e, ablam ve eşi Öğretim Üyeleri Gökçe-Mehmet KARADAYI'ya sonsuz teşekkürler.

Gizem NARDEMİR

Aralık, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM	25
3.1. Materyal	25
3.1.1. Bitki materyali	25
3.1.2.a. Sterilizasyonda kullanılan kimyasal ve çözeltiler	25
3.1.2.b. S-metolaklor uygulanan kültür ortamında kullanılan kimyasallar	26
3.1.2.c. Çalışmada kullanılan S-metolaklor dozları	27
3.1.2.d. FAMEs analizinde kullanılan kimyasallar	27
3.1.2.e. mRNA ifade seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal ve çözeltiler	28
3.2. Yöntem	29
3.2.1. Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	29
3.2.2. Sterilizasyon yöntemleri	30
3.2.2.a. Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu	30
3.2.2.b. Tohumların yüzey sterilizasyonu	30
3.2.2.c. Besi ortamının ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu	31
3.2.3. Bitki Büyütme ortamlarının hazırlanması	31
3.2.3.a. Temel besi ortamı için stok solüsyonların hazırlanışı	31
3.2.3.b. Kültür ortamının hazırlanması	33
3.2.4. İn vitro'da aspir tohumları ekimi ve S-metolaklor kimyasalı uygulaması	34
3.2.5. FAMEs Analizi	34

3.2.6. mRNA seviyelerinin belirlenmesi	35
3.2.6.a. RNA İzolasyonu	35
3.2.6.b. cDNA Analizi	36
3.2.6.c. Q-PCR Analizi	36
3.2.6.d. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi	38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	39
4.1. Yağ asidi analizi	39
4.2. mRNA ifade analizi	45
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	49
5.1. Sonuç ve Öneriler	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	64

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
g	Gram
°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
cm	Santimetre
L	Litre
mg	Miligram
mg/lt	Miligram/Litre
M	Molar
mL	mililitre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
pH	Asitlik derecesi

Kısaltmalar

ACCCase	Asetil-CoA karboksilaz
ALA	α-linolenik acide (α-linolenik asit)
APX	Askorbat peroksidaz
ATPaz	Adenin Trifosfataz
BSA	Bovin serum albümin
CAT	Katalaz
DAS	Dienoik yağ asitleri
DGDG	Digalaktosildiaçilgliserol
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfat

EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
ER	Endoplazmik retikulum
EtOH	Etil alkol
FAD	Fatty Acide Desaturase (Yağ asiti desatürasyonu)
FAMEs	Fatty Acide Methly Esters (Yağ asiti metil esterleri)
FAO	Food and Agriculture Organisation
FAS	Yağ asidi sentezi
FDA	U.S. Food and Drug Administration (Amerikan gıda ve ilaç dairesi)
FRET	Fluorescens Resonance Energy Transfer (Floresan Rezonans Enerji Transferi)
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon-Stransferaz
HgCl ₂	Civa klorür
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Uluslararası temel ve uygulamalı kimya birliği)
MAC	Maximum acceptable concentration (Maksimum kabuledilir konsantrasyon)
MGDG	Monogalaktosildiaçilgliserol
NaCl	Tuz
NaOCl	Sodyum hipoklorit
PCR	Polimerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
POD	Peroksidaz
PUFA	Polyunsaturated fatty acid (Çoklu doymamış yağ asitleri)
Q-PCR	Quantitative Polimerase Chain Reaction (Kantitatif polimeraz zincir reaksiyon)
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TA	Trienoik yağ asitleri
TE	Tris EDTA tamponu
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Aspir tohumunun kıtalara göre üretim payı (Anonymous 2018a).....	3
Şekil 1.2. Aspir tohumu üretiminde en yüksek paya sahip ilk 10 ülke (Anonymous 2018b).....	3
Şekil 1.3. Bitkilerin yağ asidi biyosentezinin basitleştirilmiş anlatımı (Ahmad 2017).....	9
Şekil 1.4. Bitkilerde yağ asidi sentezinin akış şeması (Baydar 2017)	10
Şekil 1.5. Oleik asit açık kimyasal formülü (Novak <i>et al.</i> 2015).....	11
Şekil 1.6. Linoleik asit açık kimyasal formülü (Bin <i>et al.</i> 2013).....	11
Şekil 1.7. Palmitik asit açık kimyasal formülü (Ayan vd 2014).....	12
Şekil 1.8. Gondoik asit açık kimyasal formülü (Bu <i>et al.</i> 2006).	12
Şekil 1.9. Kaprilik asit açık kimyasal formülü (Wishart <i>et al.</i> 2008)	12
Şekil 1.10. Miristik asit açık kimyasal formülü (Laasonen <i>et al.</i> 2006).....	13
Şekil 1.11. Nervonik asit açık kimyasal formülü (Lattka <i>et al.</i> 2011).....	13
Şekil 4.1 Aspir genotiplerinin farklı S-metolaklor dozlarındaki gelişimleri	40
Şekil 4.2. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin oleik asit içeriği	41
Şekil 4.3. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin linoleik asit içeriği	43
Şekil 4.4. Dinçer ve Remzibey-05 FAD2-1 geni mRNA kat ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).....	46
Şekil 4.5. Dinçer ve Remzibey-05 FAD3 geni mRNA kat ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).....	47
Şekil 4.6 Dinçer ve Remzibey-05 FAD6 geni mRNA kat ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).....	48
Şekil 4.7. Dinçer ve Remzibey-05 FAD7 geni mRNA kat ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).....	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Aspir 2010-2018 yılları Ekim Alanı (dekar), Üretim (ton) ve Verim (Kg/Dekar) (Anonim 2019b).....	4
Çizelge 1.2. Türkiye’de 2012-2016 yılları arasında bitkisel ham yağ üretimi (1000 ton) (Onat 2018).....	4
Çizelge 1.3. Aspir bitkisi dünya çeşit merkezleri (Knowles 1969)	5
Çizelge 1.4. Aspir’de rastlanan bazı yağ asitleri (Ayan vd 2014)	10
Çizelge 3.1 Aspir çeşit ve özellikleri	25
Çizelge 3.2 Aspir tohumunun ve ortam sterilizasyonunda kullanılan kimyasallar	25
Çizelge 3.3. MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarlar.....	26
Çizelge 3.4. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasal	27
Çizelge 3.5. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan S-metolaklor.....	27
Çizelge 3.6. FAMES kullanılan çözelti	27
Çizelge 3.7. mRNA ifade seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal ve çözeltiler	28
Çizelge 3.8 Q-PCR analizinde kullanılan kimyasallar	36
Çizelge 3.9. Hedef genler ile referans genlere ait ileri ve geri primer dizilimleri	37
Çizelge 4.1. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin oleik asit içerikleri (%) ^{1,2}	41
Çizelge 4.2. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin linoleik asit içerikleri (%) ^{1,2}	42
Çizelge 4.3. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin palmitik asit içerikleri (%).....	43
Çizelge 4.4. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin gondoik asit içerikleri (%).....	44
Çizelge 4.5. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin kaprilik asit içerikleri (%).....	44
Çizelge 4.6. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin miristik asit ve nervonik asit içerikleri (%).....	45

1. GİRİŞ

Tarımın iki ana unsurundan biri olan bitkisel üretim, gıda, tekstil, yakıt, yapı malzemesi, kozmetik ve sağlık sektöründe canlı materyal üretmek için kullanılır.

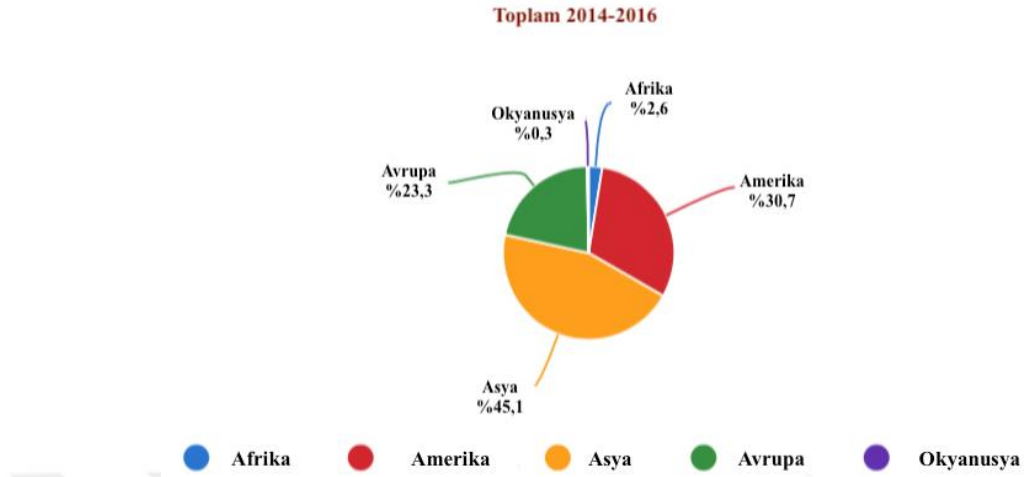
Dünyada yabani ve kültür bitkisi olarak yetiştirilen tek ve çok yıllık bitkilerin tohumlarında ve meyve kısımlarında değişik oranlarda yağ bulunmaktadır. Temel besin maddelerinden olan ve insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan yağlar, insanların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesi için gerekli olan ana besin maddelerinden biridir. Ülkemizde tarımı yapılan yağlı tohumlar grubuna giren ürünler ayçiçeği, çigit, soya, yerfıstığı, haşhaş, susam, kolza ve aspir olarak sıralanabilir (Kolsarıcı vd. 2005). Tek yıllık bitkilerin başında; aspir, susam, kolza, haşhaş, ayçiçeği, soya, pamuk, çok yıllık bitkilerde ise; hurma (palm), hindistan cevizi ve zeytin gelmektedir. Bu bitkilerin yağlı tohumları içerdikleri mineral maddeler, karbonhidratlar, yağlar, vitaminler ve proteinler nedeniyle birçok sanayi sektöründe hammadde kaynağı olarak kullanılmaktadır (Arıoğlu 2016). Yağlı tohumların yapısındaki yağ asitleri, karboksil grubu (-COOH) taşıyan düz bir hidrokarbon zinciri olup yağın en önemli ögesidir. Karbon-karbon bağları tek ise yağ asidi doymuş; bağlardan herhangi biri çift veya üçlü ise, yağ asidi doymamış ve daha reaktiftir. Yağ asitleri doğa da serbest halde bulunmayıp genellikle trigliserit formunda gliserol (alkol) ile birlikte bulunurlar (Karaca ve Aytaç 2007; Kachroo and Kachroo 2009).

Yağlı tohum türlerinden biri olan aspir, diğer yağlı tohumlara oranla dünyada daha az üretim payına sahiptir (Tu *et al.* 2010). Aspir, tek yıllık olup yazlık ve kışlık ekilebilmektedir. Açık renge sahip olan aspir yağı besin değeri açısından ayçiçeği ile benzerlik göstermekle birlikte son geliştirilen çeşitlerinde yağ oranı %25-27'den %46-47'ye çıkarılmıştır. Bu oranın %78'ini linoleik asitlerin oluşturması sebebiyle yağ bitkileri arasında önemli bir yere sahiptir (Chavan *et al.* 2011; Eryılmaz vd. 2014).

İnsanlar ve hayvanlar linoleik asidi (bir omega-6 yağ asidi) ve alfa-linolenik asidi (bir omega-3 yağ asidi) sentezleyemezler. Bununla birlikte, bu yağ asitleri, hücrel işlemler ve diğer gerekli omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin üretimi için ihtiyaç duyulur. Bu nedenle, diyet yoluyla alınmaları gerektiği için esansiyel yağ asitleri olarak adlandırılırlar. Böylece linoleik asit ve alfa-linolenik asitten türetilen omega-3 ve omega-6 yağ asitleri, çoğu memelinin diyetinde gerekli olmaktadır (Kachroo and Kachroo 2009).

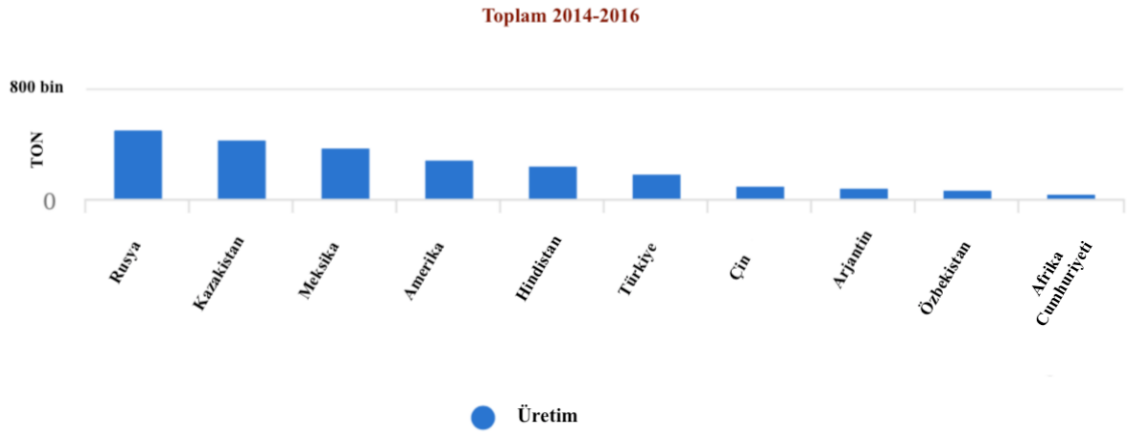
Yetişkin bir insan günlük 2000-2400 kalori besine ihtiyaç duymaktadır ve bu kalorinin 650-750'si yağlardan oluşmalıdır (Kolsarıcı vd 2005). Türkiye için yağ bitkisi denildiğinde akla ilk gelen ayçiçeği bitkisidir. Ülkemizde yıllık ayçiçeği yağı tüketimi yaklaşık 900 bin ton iken; yerli üretimden elde edilen ayçiçeği yağı ise sadece 400-450 bin ton civarındadır (Anonim 2019a). Bu açık, ithalat ile kapatılmaya çalışıldığından, alternatif yağ bitkilerinin yetiştiriciliği önemli hale gelmiştir (Kachroo and Kachroo 2009). Ayrıca son yıllarda yağ bitkilerinin beslenme dışında biyodizel yakıt kaynağı olarak da kullanılması önemli hale gelmiştir. Yağlı tohumu sahip bitkilerin bu özellikleri göz önüne alındığında, yağ bitkisi olarak aspir, akla gelen alternatif bitkilerin başında gelmektedir. Aspir soğuk, kuraklık gibi ekstrem şartlara dayanıklı olan bir bitki türüdür (Paşa 2008; Omidi *et al.* 2012). Aspir bitkisinin tarımındaki en önemli avantaj, buğday ve arpa tarımında, toprak hazırlığından ürünün depoya alınmasına kadar geçen sürede kullanılan bütün alet ve ekipmanların aspir tarımında da kullanılabilir olmasıdır (Coşkun 2014).

Yakınoğu kökenli bir bitki olan aspir, Çin, Hindistan ve Kuzey Afrika'da yüzyıllardır yetiştirilmektedir. Ayrıca ABD, Hindistan ve Meksika gibi 20'den fazla ülkede dünya üretiminin yaklaşık %70'ini gerçekleştirmektedir (Tu *et al.* 2010). Aspir tohumunun kıtalardaki üretim payı Şekil 1.1'de gösterilmiştir (Anonymous 2018a).



Şekil 1.1. Aspirin tohumunun kıtalara göre üretim payı (Anonymous 2018a)

Aspirin günümüzde daha çok Meksika, Hindistan, Rusya, Kazakistan, ABD, Arjantin ve Çin gibi ülkelerde üretimi yapılırken, Türkiye ise bu üretimde 6. sırada yer almaktadır (Şekil 1.2) (Anonymous 2018b).



Şekil 1.2. Aspirin tohumu üretiminde en yüksek paya sahip ilk 10 ülke (Anonymous 2018b)

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre son 5 yılda ülkemizdeki aspirin ekim alanı, üretim ve verimi incelendiğinde 2014 yılında 443 050 da olan ekim alanının yaklaşık %50 oranında azalarak 2018 yılında 246 932 da düştüğü Çizelge 1.1'de görülmektedir. Yine üretim ise ekim alanındaki azalışa paralel olarak 62 000 tondan 35 000 tona kadar gerilemiştir.

Çizelge 1.1. Aspir 2010-2018 yılları Ekim Alanı, Üretim ve Verim (Anonim 2019b).

Yıllar	Ekim Alanı (Dekar)	Üretim (Ton)	Verim (Kg/Dekar)
2014	443 050	62 000	140
2015	431 071	70 000	162
2016	395 710	58 000	147
2017	273 762	50 000	183
2018	246 932	35 000	142

2012-2016 yılları arasındaki veriler dikkate alındığında ülkemizin ham yağ üretiminde dışa bağımlılığı açıkça görülmektedir (Çizelge 1.2). Bu ithalat açığını azaltmak ve ayrıca kaliteli yağ üretimini arttırmak için aspir tarımı önemli bir alternatif olarak görülmektedir.

Çizelge 1.2. Türkiye’de 2012-2016 yılları arasında bitkisel ham yağ üretimi (Onat 2018)

Yıllar	Yerli Tohumdan Yağ Üretimi (1000 Ton)	Oransal Değer (%)	İthal Ham Yağ Üretimi (1000 Ton)			Oransal Değer (%)	Toplam Yağ Üretimi (Yerli + İthal)
			İthal Tohumdan Yağ Üretimi	Doğrudan Ham Yağ İthalatı	Toplam İthal Yağ Üretimi		
2012	680	27.4	483	1.323	1.806	72.6	2.486
2013	811	30.3	474	1.388	1.862	69.7	2.673
2014	771	25.4	700	1.562	2.262	74.6	3.033
2015	753	26.4	559	1.543	2.102	73.6	2.855
2016	786	27.2	620	1.482	2.102	72.8	2.888
Ortalama	760	27.3	567	1.460	2.027	72.7	2.787

Aspir, *Compositae* familyasına ait, kendine tozlaşan ve haploid genom büyüklüğü yaklaşık 1.4 GB olan ve $2n = 24$ kromozomlu bir yağ bitkisidir. Aspir germplazması arasındaki geniş genetik ve fenotipik çeşitlilik, genetik temelli aspir çeşitlerinin genişletilmesine ve seçkin katılımların belirlenmesine yardımcı olabilir (Ali *et al.*

2019). Aspir kloroplast DNA'sı (ct-DNA) 1.700 g /cc yoğunluğa ve yaklaşık 10^8 dalton kinetik komplekse sahiptir (Ma and Smith 1985). Aspir ıslahında moleküler yaklaşımlar henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır (Hamdan *et al.* 2011).

Evriminin başlarında aspir, farklı tipleriyle birlikte geliştiği Mısır'dan, Etiyopya, Güney Avrupa, Güney Asya ve Uzak Doğu'ya yayılmıştır (Röbbelen *et al.* 1989). Knowles (1969), aspirin dünya üzerinde bulunan çeşitlerini coğrafi farklılıklara göre 7 merkeze bölmüştür (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Aspir bitkisi dünya çeşit merkezleri (Knowles 1969)

Uzak Doğu	Çin, Japonya ve Kore
Hindistan-Pakistan	Hindistan, Pakistan ve Bangladeş
Orta Doğu	Afganistan'dan Türkiye'ye, eski ABD'nin güney cumhuriyetlerinden Hint Okyanusu'na
Mısır	Aswan'ın kuzeyinde Nil sınırına
Sudan	Sudan'ın kuzeyindeki ve Nil'in güneyindeki Nil sınırını çevreleyen
Etiyopya	Etiyopya
Avrupa	Cezayir, Fransa, İtalya, Fas, Portekiz, Romanya ve İspanya

Aspirin insan beslenmesinde yağ kaynağı olarak ilgi görmeye başlaması, aspir yağının, doymamış esansiyel yağ asidi linoleik asidi (%70-87) ve mono-doymamış yağ asidi olan oleik asidi (%11-80) içerdiğinin belirlenmesi ile ivmelenmiştir. Besin kaynağı olmasının yanı sıra linoleik asidin koroner kalp hastalığının, arteriyoskleroz, yüksek tansiyon ve hiper lipeminin önlenmesi gibi besleyici ve terapötik faydalar sağladığı da bilinmektedir. Ayrıca aspir tohumları zengin bir mineral kaynağı (Zn, Cu, Mn ve Fe) olup bünyesinde vitaminler (tiamin 3 ve β -karoten) ve α , β ve γ tokoferolleri içermektedir (Emongor *et al.* 2017). Bitkinin α -tokoferol miktarı, içerdiği toplam tokoferollerin (α , β , γ ve δ) %95'ine tekabül etmektedir. Ayrıca, aspir tohumlarından elde edilen yağın tüketildiğinde kolesterolü düşürdüğü ve içeriğindeki α -tokoferolun

serbest oksijen türevlerine karşı koruyucu özelliğinden dolayı birinci sınıf gıda olarak nitelendirildiği bilinmektedir. Bunun yanı sıra, aspir suda çözünmeyen kırmızı ve suda çözünen sarı pigmentler yönünden de zengin olduğundan yiyeceklerin ve kumaşların renklendirilmesinde kullanılmaktadır. Bu iki tip pigmentin bitkisel kaynaklı ilaç, gıda boyası, kozmetik, tekstil ve doğal boyaların üretimi için kıymetli olduğu ve ayrıca geleneksel kullanımda çiçeklerinden elde edilen preparatların dolaşım sistemine fayda sağladığı bilinmektedir (Wachsmann *et al.* 2010; Chavan *et al.* 2011).

Aspir yetiştiriciliğinde karşılaşılan en önemli sorun yabancı ot kontrolüdür. Yabancı otlar, kültür bitkilerinden çok daha güçlü ve istilacı olduklarından mücadele edilmesi gerekmektedir. Tarımsal üretimde yabancı ot kontrolü amacıyla birçok yöntem geliştirilmiş olup, bunlar değişik biçimlerde ve bazen tek başına bazen de kombine halde kullanılabilir. Bu yöntemler temel olarak; kültürel yabancı ot kontrol yöntemleri (mekanik mücadele, ürün nöbeti, dar sıralı üretim, uygun bitki yoğunluğu, uygun tohum yatağı hazırlığı, yeterli gübreleme, malç uygulama, biçme) ve kimyasal yöntemler (herbisit) olmak üzere iki temel bölümden oluşmaktadır (Akbolat vd 2006).

Ondokuzuncu yüzyılın sonlarında tahıllar arasında geniş yapraklı yabancı otların meydana geldiği ve tahıllara zarar verdiği görülmüş bu nedenle de deniz tuzu, kimyasal endüstrinin yan ürünleri ve çeşitli yağlar herbisit olarak kullanılmıştır. Modern herbisitler seçici (spesifik bitki türlerini etkileyen) ve seçici olmayanlar (tüm bitkileri etkileyen) olarak iki kategoriye ayrılmaktadır: Herbisitler (sülfürik asit, diquat, parakuat vs.) sadece temas halinde oldukları bitki organlarını öldürmektedir. Ayrıca ekim öncesi, çıkış öncesi veya çıkış sonrası ot öldürücüleri olarak sınıflandırılmaktadır (Böger *et al.* 2012).

Aspirde rozet döneminde selektif herbisit olarak S-metolaklor kullanılmaktadır. S-metolaklor [2-kloro-N-(2-etil-6-metilfenil)-N-(2-metoksi-1-metiletil)asetamid] konsantre olarak temin edilebilen, renksiz, kokusuz ve sıvı olan kloroasetanilid üyesi bir herbisittir. Bu herbisit klorofil, proteinler, yağ asitleri ve lipitlerin, izoprenoidlerin (gibberellinler dahil) ve flavonoidlerin (antosiyantinler dahil) sentezini baskılayıp bir

büyüme inhibitörü gibi görev alarak yabancı otları yok ettiği bilinmektedir. S-metolaklor, bazı geniş yapraklı yabancı ot türlerinden; ahır otu (*Echinochloa crusgalli*), yengeç (*Digitaria spp.*), sonbahar panicum (*Panicum dichotomiflorum*) gibi yabancı otları kontrol etmek için kullanılmaktadır. S-metolaklor başlıca mısır, soya fasulyesi, yer fıstığı, sorgum, patates, pamuk, aspir ve odunsu süs bitkilerinin yetiştiriciliğinde de kullanılmaktadır (Rivard 2003; Hu 2014). Amerika Birleşik Devletleri'nde S-metolaklor uygulaması için yıllık yagosaklaşık 76 milyon dolar harcanmaktadır (Anonymous 2018b). ABD çevre koruma ajansı yaygın olarak kullanılan S-metolaklorun, toprakta birikerek yeraltı sularına sızması nedeniyle 'Grup C Kanserojen' madde grubuna dahil etmiştir (Silver *et al.* 2015).

S-metolaklor, Asetil-CoA sentezinin başlangıcını ve lipit biyosentezini inhibe etmektedir. S-metolaklor uygulamasından sonra bitki bünyesindeki amino asitlerin (lösin veya lisin) ve şekerlerin alımı etkilemekle birlikte, güçlü bir oleik asit birikimi ve lipitlerin linoleik ve linolenik yağ asidi türlerinde kuvvetli bir düşüşe neden olmaktadır. Yağ asitleri, alkoller, karbon sayısı dahil olmak üzere uzun zincirli bileşenlerde değişikliğe neden olup, yaprakta balmumu biyosentezini inhibe etmektedir. Herbisitlerin yarattığı biyokimyasal etkilerin yanı sıra kültür bitkisinde metabolik direnç genlerinin ifadesinde artışına neden olarak, bitkinin herbisite toleranslı hale gelmesine neden olmaktadır (Böger *et al.* 2012).

Yabancı ot mücadelesinde kullanılacak olan herbisit seçiminde yabancı otun dar veya geniş yapraklı olması önemlidir. Dar yapraklı yabancı otlara karşı genellikle ACCase olarak adlandırılan ve yağ biyosentezinde rol oynayan Asetil-CoA karboksilaz'ı etkileyerek yağ biyosentezini engelleyen herbisitler kullanılmaktadır. Yağ biyosentezi inhibe edilmesi durumunda oksin aktivitesinde değişiklik, zayıf hücre duvarı oluşumu ve hücre bozulmasına neden olarak, birkaç gün veya hafta sonrasında bitkilerin ölümüne yol açmaktadır (Bükün 2012).

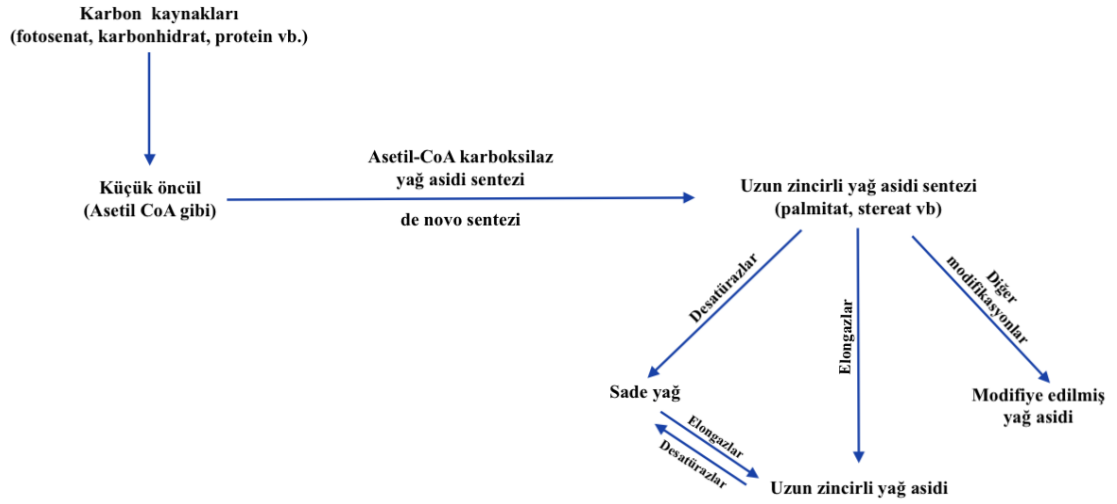
Zara bağlı yağ asitleri desatürasyonu (FAD), yağ biyosentezinde kontrol basamakları için büyük ölçüde katalizördür (Grau *et al.* 1999). Yağ asitleri sadece enerji rezervi

olmayıp aynı zamanda bitki metabolizmasında, membran yapısal bileşenlerinde ve strese cevap olarak rol oynarlar. Membran fosfolipitlerinin desatürasyonu kloroplastta ve endoplazmik retikulumda (ER) gerçekleşir ve ER’da FAD2 ve FAD3 desatürazları görev alır (Dar *et al.* 2017).

Bitkiler, abiyotik ve biyotik strese, membran akışkanlığını yeniden düzenleyerek ve linolenik (18:3) membran lipitlerinden serbest bırakarak yanıt verir. Membran akışkanlığının modifikasyonu, FAD’ların düzenlenmiş aktivitesi ile sağlanır ve buna doymamış yağ asidi seviyelerindeki değişiklikler aracılık eder. Membran akışkanlığının ayarlanması, stres sırasında kritik integral proteinlerin işlevine uygun bir ortam sağlar. Düzenlenmiş lipaz aktivitesi ile membran lipidinden salınan linolenik asit, fito-oksipin biyosentezi için öncü moleküldür. Kloroplastlarda oleik asit (18:1) seviyelerinin modülasyonu, bitkilerde strese karşı verilen savunma tepkilerinin merkezini oluşturmaktadır. Oleik ve linoleik (18:2) asit seviyeleri, kısmen tohum gelişimi, kolonizasyonunu ve mikotoksin üretimini düzenler (Upchurch 2008).

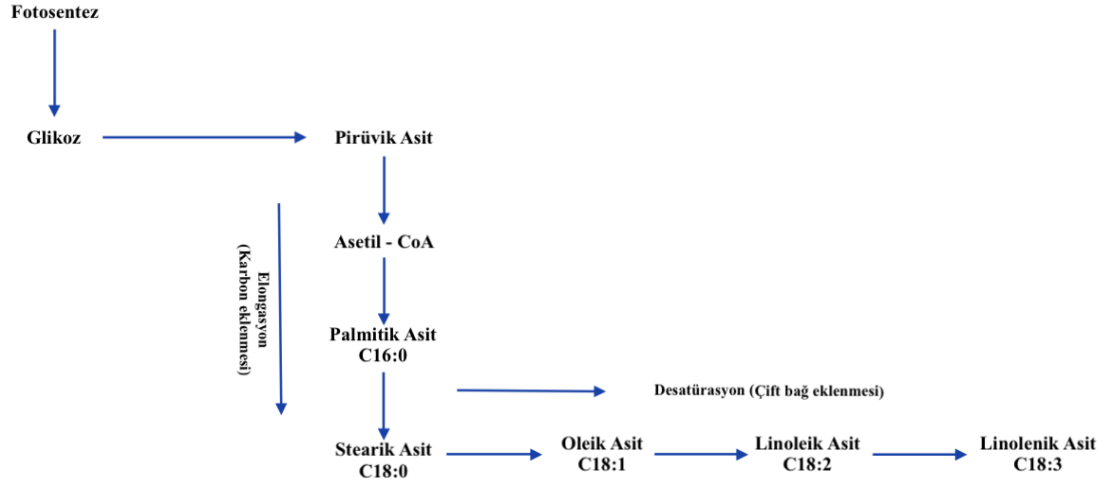
Bitkisel yağların biyosentezi oldukça karmaşıktır. Genel olarak yağ asidi sentezi ve lipit dzeneneği şeklinde ikiye ayrılabilir. Bu biyokimyasal yollar, bitki hücresinin farklı bölümlerinde bulunmaktadır. De novo yağ asidi biyosentezi, plastidlere (yeşil dokudaki kloroplastlar) lokalize olurken, Kennedy yolu boyunca lipit dzeneneği ile ilgili reaksiyonlar endoplazmik retikulumda (ER) gerçekleşmektedir (Ahmad 2017).

De novo yağ asidi oluşumu temel Asetil-CoA karboksilaz ve yağ asidi sentezi (FAS) olarak iki aşamayı içermektedir (Şekil 1.3). ACCase, Asetil-CoA’nın malonil-CoA’ya dönüşümünü katalize eder, malonil-CoA daha sonra yağ asidi sentezi için iki karbonu yapı taşları olarak kullanılmaktadır. ACCases, bitkilerde iki farklı formda bulunur ve ayrıca iki izoforma sahiptir. İlk izoform, plastidlerde bulunur ve yağ asitlerinin de novo sentezi için bir anahtar rolü oynamaktadır. İkinci izoform ise sitozolik olduğu varsayılmaktadır. ER’de lokalize olan yağ asitlerinin uzamasında malonil-CoA’ya ihtiyaç vardır (Ahmad 2017).



Şekil 1.3. Bitkilerin yağ asidi biyosentezinin basitleştirilmiş anlatımı (Ahmad 2017).

Bitkilerde yağ asitlerinin sentezi, fotosentezin temel ürünü olan glikozun pruvik aside ve onun da Asetil-CoA'ya dönüştürüldükten sonra elongasyon ve desaturasyon proseslerinden sorumlu genlerin (FAE/FAD) ve enzimlerin kontrolü altında gerçekleştirilir. Yağ asidi sentezi için gerekli olan Asetil-CoA mitokondride üretilir ve sentezin gerçekleşmesi için sitoplazmaya taşınır. Palmitik aside (C16:0) 2 karbon eklenerek (elongasyon) 18 karbonlu doymuş bir yağ asidi olan stearik asit (C18:0) sentezlenir (Şekil 1.4). Stearik asit ise stearoil-ACP $\Delta 9$ desaturaz enzimi ile oleik aside (C18:1) dönüştürülür (Şekil 1.4). Eğer oleoil-ACP desaturaz enzimi ile oleik aside bir çift bağ eklenirse linoleik asit (C18:2) ve linoleoil-ACP $\Delta 6$ -desaturaz enzimi ile linoleik aside bir çift bağ daha eklenirse α -linolenik asit (C18:3) sentezlenmiş olur (Baydar 2017). Bazı yağ asitleri ve moleküler formülleri Çizelge 1.4'de verilmiştir.

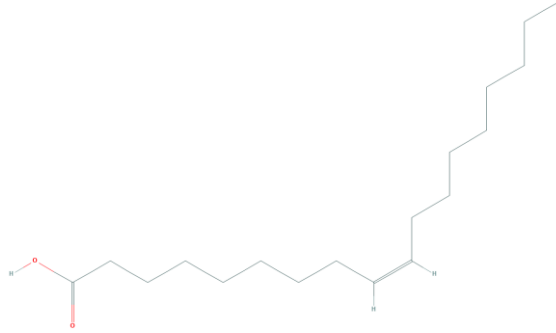


Şekil 1.4. Bitkilerde yağ asidi sentezinin akış şeması (Baydar 2017)

Çizelge 1.4. Aspir’de rastlanan bazı yağ asitleri (Ayan vd 2014)

Yağ Asidi	Yaygın İsmi	Moleküler Formül
8:0	Kaprilik (Oktanoik) Asit	$C_8H_{16}O_2$
14:0	Miristik Asit	$C_{14}H_{28}O_2$
16:0	Palmitik Asit	$C_{16}H_{32}O_2$
18:1	Oleik Asit	$C_{18}H_{34}O_2$
18:2	Linoleik Asit	$C_{18}H_{32}O_2$
20:1	Cis-11-Eikosenoik (Gondoik) Asit	$C_{20}H_{38}O_2$
24:1 9n	Nervonik Asit	$C_{24}H_{46}O_2$

Oleik Asit; çeşitli hayvansal ve bitkisel kaynaklarda bulunan bir mono-doymamış omega-9 yağ asididir. $CH_3 (CH_2)_7CH = CH (CH_2)_7COOH$ formülüne sahiptir. Oleik asidin trans-izomeri elaidik asit olarak adlandırılmaktadır (Ayan vd. 2014). Oleik asidin açık kimyasal formülü Şekil 1.5’de verilmiştir.



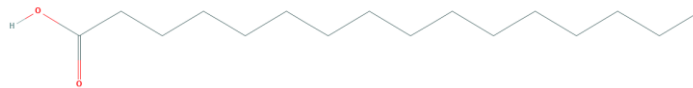
Şekil 1.5. Oleik asit açık kimyasal formülü (Novak *et al.* 2015).

Linoleik asit, iki çift bağın 9. ve 12. pozisyonlarda olduğu ve Z (cis) stereokimyasına sahip olduğu bir oktadekadienoik asittir. Bitki metaboliti, *Daphnia galeata* metaboliti ve algal metaboliti olarak rolleri vardır. Omega-6 yağ asidi ve oktadekadienoik asittir. Bir linoleatin eşlenik asididir (Newbold 2014). Linoleik asidin açık kimyasal formülü Şekil 1.6'da verilmiştir.



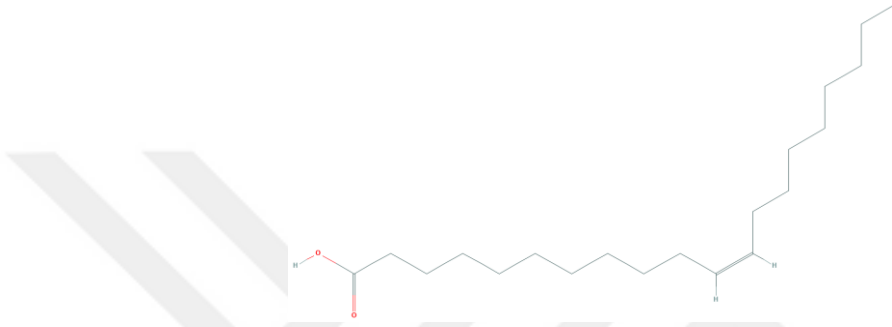
Şekil 1.6. Linoleik asit açık kimyasal formülü (Bin *et al.* 2013).

Palmitik asit, IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) isimlendirmesinde $CH_3 (CH_2)_{14}COOH$ veya heksadekanoik asit, hayvanlarda ve bitkilerde bulunan en yaygın doymuş yağ asitlerinden biridir. Tereyağı, peynir, süt, zeytinyağı ve ette palmitik yağ asidi önemli bir içeriktir (Ayan vd. 2014). Palmitik asidin açık kimyasal formülü Şekil 1.7'de verilmiştir.



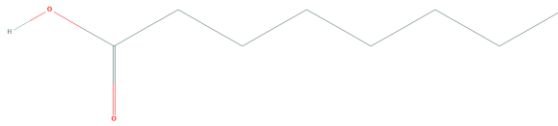
Şekil 1.7. Palmitik asit açık kimyasal formülü (Ayan vd 2014).

Gondoik asit, aynı zamanda 11-Eicosenoik asit olarakta adlandırılmaktadır. Çeşitli bitki yağlarında ve fındıkta önemli oranda bulunan tekli doymamış omega-9 yağ asididir (Enros 2008). Gondoik asidin açık kimyasal formülü Şekil 1.8’de verilmiştir.



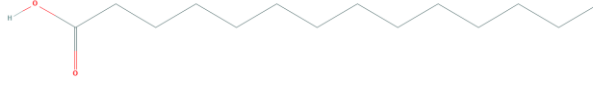
Şekil 1.8. Gondoik asit açık kimyasal formülü (Bu *et al.* 2006).

Kaprilik Asit (oktanoik asit), anne sütünde, sığır sütünde ve hindistan cevizi gibi bazı yağ bitkilerinde doğal olarak bulunan, sekiz karbonlu orta zincirli bir yağ asidi olmakla birlikte FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanan, gıda sınıfı kimyasaldır (Kollanoor 2011). Kaprilik asidin açık kimyasal formülü Şekil 1.9’ de verilmiştir.



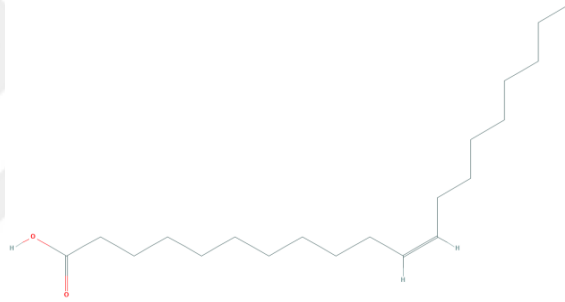
Şekil 1.9. Kaprilik asit açık kimyasal formülü (Wishart *et al.* 2008)

Miristik Asit, memeli hücrelerinde genellikle yağ asitlerinin %1’inden daha az bir kısmını oluşturmaktadır. Özellikle süt yağında ortalama %7-14 oranında bulunur (Rioux *et al.* 2007). Miristik asidin açık kimyasal formülü Şekil 1.10’da verilmiştir.



Şekil 1.10. Miristik asit açık kimyasal formülü (Laasonen *et al.* 2006)

Nervonik asit, çoğunlukla bir amid bağıyla sfingomiyelin veya diğer sfingolipidlere bağlanmış bulunan çok uzun zincirli bir tekli doymamış yağ asididir. İnsanlarda yeni doğan gelişimi için gereklidir, çünkü çoğu sinir lifini koruyan ve elektriksel olarak izole eden miyelin ve yağ kılıflarını oluşturmaktadır (Grant 1984). Gondoik asidin açık kimyasal formülü Şekil 1.11’de verilmiştir.



Şekil 1.11. Nervonik asit açık kimyasal formülü (Lattka *et al.* 2011).

Yağ asitlerinde bulunan hidrokarbon zincirindeki çift bağların oluşumunda genel olarak FAD genleri görev almakla birlikte, FAD2 ve FAD3 ise desatürasyon enzim aktivitesinden sorumludurlar (Shanklin and Cahoon 1998; Los and Murata 1998).

Bitkisel yağların kullanımı ve besin değeri, büyük ölçüde yağ asitinin kompozisyonuna bağlıdır. Özellikle oleik asit ve linoleik asidin nisbi oranı, bitkisel besin değerini ve bitkisel yağların kullanımını etkilemektedir. Mikrozomal yağ, fosfatidil kolin desatüraz, FAD2 genleri tarafından kodlanır ve fosfatidilkolinin oleik asitinin $\Delta 12$ pozisyonunda bir çift bağ yaparak onu linoleik aside çevirilmesinde rol oynamaktadır (Hasanbaglou 2015).

Aspir'de FAD2 enzimleri, 1-4 üyeden oluşan küçük bir gen ailesi tarafından kodlanırlar. FAD2, klasik oleat $\Delta 12$ desatürazın aktivitesinin yanında sınırlı sayıda FAD2'nin fonksiyonel varyasyonlarına alternatif olarak açıl modifikasyonlarda da görevli oldukları bilinmektedir (Cao *et al.* 2013).

Bitki hücre zarının yüksek düzeyde doymamış yağ asidi içermesi yaygın olarak görülen bir özelliktir. Endoplazmik retikulumda FAD2 geni ve plastidlerde FAD6 geni, iki ω -6 desatürazların kodlanmasından sorumludurlar. Bunlar ω -6 pozisyonunda çift bağ yaparak oleik asit (18:1) linoleik aside (18:2) dönüştürmede görev alırlar. Ayrıca endoplazmik retikulumda bulunan FAD3 geni ve plastidlerde bulunan FAD7 ve FAD8 geni, üç tane ω -3 desatürazın kodlanmasından sorumludurlar. FAD3 ve FAD6, linoleik asidin ω -3 pozisyonunda çift bağ meydana getirerek, linolenik asite dönüştürürler. FAD2 geni, tohum gelişiminde doymamış yağ asidi sentezinden sorumlu olduğu için temel bir enzimdir (Cao *et al.* 2013). FAD2 geninde meydana gelen mutasyon sonucunda oluşan ve fonksiyonlarını kaybetmiş olan mutant formlarında tuz stresine karşı gösterilen aşırı duyarlılık, vaküolar/plazma Na^+/H^+ antiporter aktivitesinde azalmaya sebep olmaktadır (Zhang *et al.* 2012).

Aspir yetiştiriciliğinde yağ verimin artırılması ve yağ asidi profilinin optimize edilmesi gün geçtikçe büyük önem kazanmaktadır ve yeni geliştirilen çeşitlerin %80 oranında tek-doymamış oleik asit ile yağ üretmesi arzu edilmektedir. Bu özellik aspirden elde edilen yağın yüksek sıcaklıkta stabil kalmasına, dolayısıyla kızartma ve biyodizel kullanımına uygunluğunu artırmaktadır. Aspir yağının çoklu doymamışlık düzeyi; soya fasulyesi, kolza, ayçiçeği, pamuk, bamya gibi diğer bitkisel yağlardan daha yüksektir. Ekstraksiyon türü sadece yağ yüzdesini değil, aynı zamanda oksidasyon kararlılığı, asit değeri gibi parametreleri de etkilemektedir (Bruckner 2007).

Bitki doku kültürü, yapay bitki besleme ortamında ana bitkiden izole edilen büyüeyebilen bitki hücreleri, dokuları veya organları bilimidir (Husain 1990). Bitki doku kültürü, bitki biyoteknolojisinin temel bir bileşenidir ve bitki hücrelerinin, dokularının ve organlarının büyümesi için aseptik şartlarda bitki eldesine olanak sağlayan *in vitro*

tekniktir. Bitki doku kültürü; hastaliksız bitkilerin üretimi, nadir bitki genotiplerinin hızlı çoğalması, bitki genom transformasyonu ve önemli ticari değeri olan bitki kaynaklı metabolit üretimi gibi amaçlarla sıkça kullanılmaktadır (Sharma *et al.* 2015; Espinosa-Leal *et al.* 2018). Bu amaçlarının yanı sıra tek hücre seviyesinde; tuz, herbisitler, patojenler vb. faktörlere karşı dayanıklılığa göre yapılan seleksiyonlar sonucu, bu hücrelerden elde edilen bitkilerde ilgili faktörlere, dayanıklı veya toleranslı bitkiler ortaya çıkması büyük bir avantaj olarak görülmektedir (Rai *et al.* 2011).

Aspirin rozet döneminde yabancı otlarla mücadele edemediğinden herbisit kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda hem ekim öncesi hemde ekim sonrası uygulanan S-metolaklor herbisiti öne çıkmaktadır. Önemli bir yağ bitkisi olan aspirin Dinçer ve Remzibey-05 çeşitlerinde yağ asitleri (FAMEs) ve yağ asidi desatürasyon genleri (CtFAD2-1, CtFAD3, CtFAD6 ve CtFAD7) üzerine S-metolaklorun etkisi incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Aspirin yağ bitkisi olarak öneminin artması, dünya genelinde üretimin artmasına neden olmuştur. Aspir çeşitli stres koşullarına dayanıklı olmasına rağmen, rozet döneminde yabancı otlar ile mücadeleye girememesi verim ve kalitede azalmaya sebep olmaktadır (Anonim 2019a). Bu azalma, tarladaki yabancı ot yoğunluğuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Yabancı otlar, yoğunluğunun çok yüksek olduğu tarlalarda ürünün tamamen yok olmasına ve hasadın güçleşmesine neden olmaktadır. Blackshaw (1993), farklı sıra aralığında (11-22 cm) ve bitki yoğunluğunda (10-192 bitki/m²) yabancı otları (yeşil tilki kuyruğu (*Setaria viridis* L.)) ve yabancı ottan arındırılmış toprak şartlarında aspir verimini değerlendirdiği çalışmada; sıra aralığı 22 cm'den 11 cm'ye düşürüldüğünde yabancı otla rekabetin düşük de olsa iyileştiği, aspir yoğunluğu arttırıldığında ise daha yüksek oranda iyileşme meydana geldiğini bildirmiştir. Ancak yeşil tilki kuyruğunun, aspir yoğunluğunu %72 oranında düşürdüğü, aspir yetiştiriciliğinde herbisit kullanımının önemli olduğunu bildirmiştir. Diğer taraftan Naghavi (2012) 5 aspir çeşidinde (Goldaş, Mahali Asfahan, Zende Rood ve Meksika) ekim sıklığının yabancı ot varlığında tohum ve yağ verimine olan etkilerini incelediği çalışmada, yabancı ot varlığında tüm ekim sıklıklarında (30, 50 ve 75 adet tohum/m²) önemli derecede tohum ve yağ veriminde azalmaların olduğunu bildirmiştir. Diğer taraftan, yabancı otlar verim ve kalitenin azalması yanında tohumlarının ürün içine karışarak ürünün satış değerini düşürürler, birçok hastalık etmeni ve zararlı böcekler için konakçı, üreme ve beslenme yeri olarak ortam oluştururlar.

S-metolaklor, trifluralin, EPTC, barban, profluralin aspir ekiminden hemen önce toprağa karıştırılarak kullanılan herbisitlerdir (Smith 1996). Bu herbisitlerin çeşitli kullanımlarının yağ bitkilerinin verim ve kalitesine olan etkilerini araştıran çalışmalar mevcuttur.

Simmons (2000) tarafından yapılan bir çalışmada B73 ve Mo17 mısır (*Zea mays* L.) hibrit çeşitlerinde asetamid herbisitlerinin (S-metolaklor ve asetoklor) neden olduğu zararı azaltmak için antidotlar (benoxacor, MON-13900, diklormit) ile muamele edilip

edilemeyeceğini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada hibrit mısır üretiminde yaygın olarak kullanılan herbisitlerin birçoğunun bitkilerde güvenle kullanılamadığını ileri sürmüştür.

Erasmio *et al.* (2010) ayçiçeğinde bazı herbisitleri tek başına veya kombinasyon [oksadiazon (250 g/ha⁻¹), oksiflorfen (240 g/ha⁻¹), S-metolaklor (1.440 g/ha⁻¹), flumetsulam (120 g/ha⁻¹), pendimethalin (1.000 g/ha⁻¹), oksiflorfen + S-metolaklor (192 + 960 g/ha⁻¹), flumetsulam + S-metolaklor (72 + 960 g/ha⁻¹), pendimethalin + S-metolachlor (1.000 + 1.440 g/ha⁻¹), pendimethalin + flumetsulam (1.000 + 72 g/ha⁻¹), elle mücadele ve mücadele edilmeyen] halinde uyguladıkları çalışmalarında, tek başına uygulanan herbisitlerin, kombinasyon halinde uygulanan herbisitlere oranla yabancı otlar mücadelesinde daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

Janak *et al.* (2016), Orta ve Güney Teksas'ta, mısır bitkisinin çeşitli çıkış öncesi herbisitlerin yabancı otlara olan etkilerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda tek başlarına asetoklor ve pendimethalin; S-metolaklor + mesotrion ve S-metolaklor + atrazin + mesotrion kombinasyonlarının *Panicum fasciculatum* L., *Urochloa texana* L., *Echinochloa crusgalli* L. ve *Brachiaria reptans* L. kontrolünde başarılı olduğunu bildirmişlerdir. *Amaranthus palmeri* kontrolünde ise alaklor, dimetenamid-P, S-metolaklor, fluthiaset-metil + piroksasülfon, atrazin + asetoklor, S-metolaklor + mesotrion, safluakamid-dimetil + S-metolaklor + mesotrion, safluakamid-dimetil + selitoklor kombinasyonlarının %90 oranında başarı gösterdiğini bildirmişlerdir.

Soltani *et al.* (2018), mısır bitkisinde yaygın olarak görülen ve glifosata dirençli kanarya otunun (*Senecio ovatus*) mücadelesinde çıkış öncesi bazı herbisitlerin [dicamba, dicamba + atrazin, mezotriyon + atrazin, izoksaf lutol + atrazin, saflufenasil + dimetenamid-P ve S-metolaklor, mesotrion, bisiklopiron, atrazin] başarılı bir şekilde kullanabileceğini, S-metolaklor, mesotriyon ve atrazin etkili herbisitlerin mısırdaki çıkış öncesi uygulanabileceğini bildirmişlerdir.

Beker-Akbulut (2019), pendimethalin herbisitini, çimlenmeden sonra 0.004-0.01 M konsantrasyon aralığında aspirin Dinçer ve Remzibey-05 çeşitlerine uygulamışlardır. Pendimetalinin; peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon-Stransferaz (GST) ve toplam fenolik içeriği üzerinde olan etkileri araştırılmıştır. Uygulamadan sonraki 24. 48. ve 72. saatlerde yapılan ölçümlerde herbisit Dinçer’de tüm saatlerde APX, SOD, CAT ve GST aktivitelerinde artış gözlemlenirken, Remzibey-05’de 72. saatte azalmaya neden olmuştur. Yine Dinçer ve Remzibey-05 de 72. Saatte GSH ve GR oranlarında azalmalar belirlenmiştir.

Soltani *et al.* (2019), tarla şartlarında mısır (5 çeşit) ve soya (5 çeşit) bitkilerinde yaptıkları bir çalışmada yabancı ot kontrolündeki etkilerini saptamak amacıyla çıkış öncesi dönemde aktif madde olarak dimetenamid-P, petoksamid, piroksasülfan ve S-metolaklor’u hektar başına sırayla 544 gr, 840 gr, 100 gr ve 1050 gr olarak kullanmışlardır. Elle mücadelede elde edilen mısır veriminin piroksasülfan ve dimetamid-P ile elde edilenlere benzer olduğu, ancak petoksamid ve S-metolaklor’de elde edilen mısır verimlerinin sırasıyla elle mücadeleye göre %28 ve %33 daha düşük olduğu bildirilmişlerdir. Yine aynı çalışmada piroksasülfon uygulanan soyada elde edilen verimin elle mücadelede elde edilen verime benzer olduğu; petoksamid, dimetenamid-P ve S-metolaklor’dan elde edilen verimin sırasıyla %27, %27 ve %30 oranında daha az olduğu belirlenmiştir.

Böger *et al.* (2012), yaptıkları çalışmada sorgumda S-metolaklor uyguladıktan birkaç saat sonrasında Asetil-CoA ve lipit sentezinin inhibe olduğunu, amino asitlerin (lösin ve lizin) ve şekerin alınmasında herhangi bir değişiklik göstermediğini bildirmişlerdir. S-metolaklor uygulanmış olan sorgumun birincil yapraklarından alınan örneklerde S-metolaklorun yağ asitleri, alkol ve uzun zincirli bileşiklerin karbon sayılarında dahil olmak üzere yapısal değişikliklere sebep olduğu, ayrıca balmumu biyosentezini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir.

Shah *et al.* (2016) allelopati, çevre kirliliği ve herbisit direncine neden olan sentetik herbisitlerin kullanımını azaltarak yabancı otların kontrolünde çevre dostu bir yöntem olarak önerilmektedir. Shah *et al.* (2016) yaptıkları çalışmada ayçiçeğinde çıkış sonrası olarak yabancı otlarla mücadelede sorgum ekstraktı ve S-metolaklor kullanılmıştır. Yabancı ot yoğunluğunda en fazla azalma sorgum ekstratından elde edilmiştir.

Bazı çalışmalarda ana materyal olan toprağın ve hatta yeraltı sularının herbisitten etkilenip etkilenmediği yapılan çalışmalarla belirlenmeye çalışılmıştır. Anhalt *et al.* (2000), yaptıkları çalışmada atrazin, S-metolaklor ve pendimethalin herbisitlerinin toprak mikrobiyal aktiviteye olan etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada atrazinin mikrobiyal aktiviteyi azalttığı; S-metolaklor ve pendimethalin ise mikrobiyal aktiviteyi etkilemediğini bildirmişlerdir. Gvozdenac *et al.* (2016), yaptıkları çalışmada ayçiçeği, lahana, mısır, salatalık ve arpada dahil olmak üzere 10 bitkide sulama amacıyla Stara Tisa (Sırbistan) menderesinden gelen suyun, metaller, uçucu bileşikler, ilaç, böcek ilacı ve patojenik bakteri bakımından kirlilik seviyelerini değerlendirmişlerdir. Pestisitler, S-metolaklor, tebukonazol, propikanozol, imidacloprid ve thiametozam maksimum kabul edilebilir konsantrasyonları (MAC) ile yapılan çalışma bitkilerde çimlenme oranı, çimlenme hızı, kök ve sürgün uzunlukları, taze – kuru ağırlıkları değerlendirilmiştir. Su numuneleri ayçiçeği hariç tüm bitkilerde çimlenme oranını ve çimlenme gücünü etkilemediğini, ayçiçeği, salatalık, mısır ve arpada kök uzunluklarını, mısır ve beyaz hardal hariç tüm türlerin uyarılmış sürgün uzunluklarını inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Stara Tisa menderesinden gelen suyun arıtılmadan tarım alanlarında sulama amacıyla kullanılmaması gerektiği sonucuna varmışlardır.

Dores *et al.* (2009), ekim öncesi dönemde toprak yüzeyine S-metolaklor uygulaması yaparak tarla dağılımında yarılanma ömrünün 15-18 gün olduğunu, uygulama sonrasında ise sızarak yeraltı sularına karışan S-metolaklorun $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ ile $2,84 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında değişen konsantrasyonlara sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bu durum sonucunda toprak yüzeyinin 50 cm altında ki yer altı suyunun %0,02 kontaminasyona

ulaştığını bildirmiş ve yüzey suyu kirlenmesini önleme uygulamalarının önemli hale geldiğini vurgulamışlardır.

Jursik *et al.* (2013), uygulamalarında üç klorasetamid herbisitini (asetoklor, S-metolaklor ve piroksamid) ayçiçeği üzerinde etkinliğini, seçiciliğini ve dağılımını karşılaştırmışlardır. Sulanan arazilerde S-metolaklor ve piroksamidin daha derin toprak tabakasına sızdığı kaydedilmiştir. Asetoklor'da ise sızma gözlemlenmemiştir. En yüksek sızma, S-metolaklarda (5-10 cm toprak tabakasında %9,2-25,5) saptanmış ve en yüksek fitotoksosite, asetoklor (%9,8) > peroksamid (%4,6) > S-metolaklor (%1,8) olarak bulunmuştur.

Silver *et al.* (2015) S-metolaklorun erkek ratlarda hepatik CYP2B1/2 aktivitesini uyardığını göstermişlerdir. Bu veri ışığında araştırmacılar rat karaciğer mikrozomları S-metolaklor tarafından uyarıldıklarında öncü molekül olan acetamide isimli maddeyi sentezlediklerini, buna karşın molekülün sentezine henüz insan karaciğer mikrozomlarında rastlanamamış olması bu aktivasyon hipotezinin insanlara uygulanabilmesini engellemiştir. Bununla birlikte yapılan güncel çalışmalar S-metolaklorun sitotoksik etkisine karşı insan karaciğer hücrelerinin rat karaciğer hücrelerinden çok daha hassas olduğunu göstermiştir. Bu veri de S-metolaklorun zararlarından insanların da bir şekilde etkilenebileceklerine işaret etmiştir.

Yağ asitleri ve bunların türevleri bitki tohumlarında enerji kaynağı olmaları yanı sıra strese cevapta rol almaktadırlar. Hasanbaglou (2015), yaptığı çalışmada aspir bitkisinde tuz ve kuraklık stresinde FAD2-8 genin ifade seviyesini araştırmıştır. 15 günlük aspir fidelerini 3 ila 27 saat boyunca 100 mM tuz (NaCl) ve kuraklık stresine maruz bırakmıştır. Araştırma sonucunda FAD2-8 geninin aspir bitkisinde hem tuz hem de kuraklık stresine karşı savunma mekanizmasında rol oynadığını, FAD2-8 gen ifadesinin stres çalışmalarında dirençli genotiplerin beirlenmesinde moleküler bir belirteç olarak kullanılabileceğini belirtmiştir.

Trienoik yağ asitleri (TA), heksadekatrienoik asit (16:3) ve linolenik asit, membran lipidlerinde başlıca çoklu doymamış yağ asidi türleridir. Tütünde çalışılan düşük sıcaklık stresinin; kloroplast membranlarda TA'ların artmasına, erken büyüme aşamasında ise bitkilerde düşük sıcaklık toleransının artmasına neden olduğu gözlemlenmiştir (Iba 2002). Tütün kloroplastında düşük sıcaklık stresinin ω -3 desatüraz genlerinden FAD7 veya FAD8'in aşırı ifadesine neden olması, yaprak dokusunda TA'ları artışına; dienoik yağ asitlerini (DAS), heksadekadienoik asidi (16:2) ve linoleik asidi azalttığı gözlemlenmiştir (Nishiuchi and Ida 1998).

Ayçiçeği (*Helianthus annuus*) ω -6 desatürazın (FAD2-1, FAD2-3) sadece tekli doymamış yağ asitlerini sentezleyebilmektedir. Uygulanan tuz stresinin; dienoik yağ asitlerinin üretilmesine, artan tekli doymamışlık indeksinin ve akışkanlığının artmasına yol açtığı gibi donmaya karşı toleransın artmasına da neden olduğu görülmüştür (Rodríguez-Vargas *et al.* 2007).

Kuraklık stresi, lipid biyosentezinin inhibisyonu ve azalmış membran lipid içeriği ile ilişkili lipolitik ve peroksidatif aktivitelerin uyarılması gibi bozucu işlemlere neden olabilmektedir (Dakhma *et al.* 1995).

Kuraklık stressine maruz bırakılan kolza (*Brassica napus*) yapraklarının lipidlerinin kompozisyonunun analizinde, kloroplast monogalaktosildidilgliserolde (MGDG) linolenik asit azalırken, fosfolipid fraksiyon kaynaklı linoleik asitte ise azalma gözlemlenmiştir (Dakhma *et al.* 1995).

Bir diğer çalışmada *Brassica* türü olan *Arabidopsis thaliana*, kuraklık stresine tolerans göstermiştir. Bitkinin kuraklığa cevabı yaprak lipid içeriklerinde kademeli bir azalma gözlemlenmiştir. Yoğun kuraklığa maruz bırakılmış yaprakların lipid içeriği rehidrasyondan sonra hızla artar. Yaprak lipid içeriğindeki düşüşün süresi, yaprak ekstraktlarının lipolitik aktivitelerindeki artışla ve lipid bozulmasında rol oynayan genlerin ekspresyonu ile ilgili olduğu anlaşılmıştır. Toplam lipid içeriğindeki azalmaya

rağmen, lipid sınıf dağılımı, stres çok şiddetleninceye kadar nispeten sabit kalmıştır (Rodríguez-Vargas *et al.* 2007).

Bitkiler ağır metallere maruz kaldığında ortaya çıkan hücrel tepkilerin, çeşitli lipidlerin ve yağ asidi bileşiminin miktarlarındaki değişikliklere neden olduğu bildirmişlerdir. Kadmiyum çözeltisi içinde biber (*Capsicum annuum*) fideleri düşük MGDG (monogalaktoşil diaçil gliserol)'ye, DGDG (digalaktoşil diaçil gliserol) oranına ve yapraklarda artmış fosfolipid içeriğine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Yaprakların yağ asidi bileşimi ağır metale maruz kaldıkça değişmiş fakat köklerde büyük bir bileşim değişikliği tespit edilememiştir (Jemal *et al.* 2000).

Nishiuchi *et al.* (1997), *Arabidopsis* FAD7 geni, membran lipidlerinde dienoik yağ asitlerinin desatürasyonunu katalize eden bir plastid-3 yağ asidi desatürasyonu kodlamaktadır. *Arabidopsis*'in rozet yapraklarındaki FAD7 geninin mRNA seviyesindeki artışın bitki hasarının azaltılmasında etkili olduğu, FAD7 geninin bölgesel yaralanma yapıldığında köklerde ifadesinin arttığı ayrıca metil jasmonat geninin aktivitesini arttırmada etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Mikkilineni and Rocheford (2003), bitkilerdeki delta-12 desatürasyonu, Δ -12 pozisyonunda bir çift bağ ekleyerek oleik asidi linoleik aside dönüştürdüğünü, FAD2'nin endoplazmik retikulumda işlev gören delta-12 desatürasyonu kodladığını ve FAD6'nın ise plastidlerde görev yapan delta-12 desatürasyonu kodladığını bildirmişlerdir. FAD2 ve FAD6 için varsayılan mısır homologlarından cDNA klonları elde edilmiş ve tüm klonlar sekanslanmıştır. *Arabidopsis* ve *Brassica* türlerinden FAD2 elde edilen mısırın FAD2'sine %67-77 oranında bir amino asit aynılığına sahip olduğu göstermiştir. Mısır FAD6 cDNA'sı, *Arabidopsis* FAD6 ile %81 amino asit uyumluluğu göstermiştir. Bu uyumlar neticesinde mısırın amino asit sentezi geliştirilmiş ve türde iyileştirilmeye gidilmiştir.

Cao *et al.* (2013) yaptıkları çalışmada, CtFAD2 geni *Nicotiana benthamiana*'ya aktararak ifade seviyesi tespit edilmiştir. Bu çalışmada daha az oleik asit üretildiğini ve

bu genin oleik asit sentezinde sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. Mikrozoal gen tarafından kodlanan CtFAD2 geni, oleoil fosfatidilkolin desaturazın, bir oleik asidin fosfatidilkolin üzerinde $\Delta 12$ pozisyonunda bir çift bağ oluşturduğu ve bunu linoleik aside dönüştürdüğü bilinmektedir. FAD2 enziminin varyantlarının aynı zamanda yağ asidi modifikasyonunda, epoksikasyonda, Asetilendik bağlarda ve konuğa çift bağların oluşumunda çeşitlilik gösteren fonksiyonlara sahip olduğu rapor edilmiştir. FAD2 enzimi çoklu doymamış yağ asitlerinin birikiminde temel adım olduğundan, hücre zarının biyofiziksel özelliklerinde önemli bir rol oynadığı ve çoğunlukla yüksek sıcaklık, yüksek tuz ve patojen saldırısı gibi çeşitli çevresel streslere yanıt olarak uyarıldığı bilinmektedir.

Zhang *et al.* (2018), erken çiçeklenme döneminde, kamelina yabani türünde (*cv. Licalla*), *Agrobacterium tumefaciens* aracılığı ile gen aktarım yöntemi uygulanarak başarılı transgenik bitkiler elde etmişlerdir. FAD3 ve FAE1 genlerinin ekspresyonu, Real-Time PCR (Q-PCR) kullanılarak analiz edilmiştir. FAD3 ve FAE1 genlerinin RNAi gen susturma ile transgenik olmayan bitki tohumlarına kıyasla linolenik asit (18:3) ve eikosinik asitin (20:1) sırasıyla %11 ve %4 indirgenmesine neden olmuştur. Buna karşılık, linoleik asit (18:2) yaklaşık %25'ten %42'ye yükselmiş ancak oleik asit (18:1) sadece %4-5 oranında artmıştır. Elde edilen sonuçlar, FAD3 ve FAE1 de dahil olmak üzere temel yağ asidi modifikasyon genlerinin tohumlara spesifik olarak baskılanmasının, kamelina yağındaki yağ asidi kompozisyonunu etkili bir şekilde değiştirdiğini rapor etmişlerdir.

Önemli ve Tetik (2016), yaptıkları çalışmada uygulanan 5 herbisit türünün, ayçiçeğindeki oleik ve linoleik çeşitleri üzerinde bitki verim ve kalitesindeki değişiklikler incelenmiştir. Herbisitlerin yağ asitleri üzerindeki etkisi; tanedeki yağ içeriği sadece çeşitlere göre farklılık göstermiştir. Bunun dışında yağ içeriği; yıl, çeşit, yıl x çeşit, yıl x çeşit x uygulama da istatistiksel olarak %1 etkisi olmuştur. Her iki çeşitte incelendiğinde palmitik asit içeriği yıl x çeşit interaksyonunda istatistiksel olarak %5 düzeyinde düşüş meydana gelmiştir. Sonuç olarak uygulanan 5 herbisit; 2

oleik ve 2 linoleik ayçiçeği çeşidinde, yağ asidi içeriği bakımından değişikliğe neden olmuştur.

Yapılan diğer bir çalışmada ise, FAD3 mutanlığı olan transgenik susam hatlarında linolenik asit içeriğinin yabancı hat ile karşılaştırıldığında %1.30'dan %6.21'e kadar arttırmıştır (Bhunia et al. 2014).

Tütünün soğuk stresi uygulandıktan sonra (1°C, 7 gün) yabancı tipin genç yapraklarında belirgin olan büyüme inhibisyonu ve klorotik hasarlar meydana gelmiştir. Yaprak ve kök dokularının ekstraplastid lipitlerinde yüksek miktarda treonik yağ asidi biriktiren tütün FAD3 ortolojisine (NtFAD3) yüksek ekspresyon seviyesi meydana gelmiştir (Matsuda and Iba 2005).

Tohum gelişimi sırasında oleik asidin depolama lipidleri içindeki linoleik aside dönüşümünün kontrolünde ana rol oynayan FAD6 geni, soya fasulyesinde tohumlara uygulanan soğuk stresi uygulama sonucunda toplam yağ asidi içeriğinin sıcaklık arttıkça azaldığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte plastidial ω -6 desaturaz geni (FAD6) için transkript seviyeleri düşük sıcaklıkta artış sağlanmamıştır. Bu sonuçlar, düşük sıcaklıkta yetişen soya fasulyesinin gelişiminde yükselmiş çoklu doymamış yağ asidi seviyelerinde FAD6 geninin ekspresyonu ile ilişkili olmadığını göstermektedir (Heppard et al. 1996).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Araştırmada bitki materyali olarak Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü stoklarından temin edilen Dinçer ve Remzibey-05 aspir çeşitleri (Çizelge 3.1) S-metolaklor tek yıllık buğdaygil ve geniş yapraklı yabancı otların kontrolünde kullanılmaktadır. Bu nedenle, yukarıda belirtilen S-metolaklor aktif madde dozların yabancı otlarda etkili olup olmadığını belirlemek için bir belirteç bitkisi olarak *Lolium multiflorum*'un (Ritter and Menbere 2002) Abudabe çeşidi aynı şartlarda kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.1 Aspir çeşit ve özellikleri (Anonim 2019a ve Anonim 2019b)

	Remzibey-05 (2005)	Dinçer (1977)
Çiçek Rengi	Sarı Çiçek	Turuncu
Çiçek Yapısı	Dikenli	Dikenli
Bitki Boyu (cm)	60-80	90-110
Kabuk Oranı (%)	40	46
Protein Oranı (%)	14	14
Yağ Oranı (%)	32-35	28-32

3.1.2 Araştırmada kullanılan kimyasal ve çözeltiler

3.1.2.a. Sterilizasyonda kullanılan kimyasal ve çözeltiler

Aspir tohumunun ve ortam sterilizasyonunda kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Aspir tohumunun ve ortam sterilizasyonunda kullanılan kimyasallar

Sterilizasyonunda kullanılan çözeltiler

- %70'lik Etil alkol çözeltisi
 - %0,1'lik HgCl₂
-

3.1.2.b. S-metolaklor uygulanan kültür ortamında kullanılan kimyasallar
-Temel besi ortamı

In vitro herbisit uygulamaları için çalışmada temel besin ortamı olarak Murashige and Skoog (1962) tuzları kullanılmıştır. MS ortamının içerdiği kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarlar

KİMYASAL BİLEŞİMİ	Miktarı (mg/l)
İnorganikler	
Makro elementler	
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂	332,2
MgSO ₄	180,7
KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler	
Na ₂ EDTA	37,26
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
MnSO ₄ .H ₂ O	16,9
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025

CoCl₂.6H₂O

0,025

- Temel MS ortamına ilave olarak kullanılan kimyasallar

MS tuzlarına ve vitaminlerine ilave olarak çalışmada kullanılan kimyasallar Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasal

Kullanılan Kimyasallar	Miktarı
MES hidrat	1,95 g/l
Pythagel	2 g/l

3.1.2.c. Çalışmada kullanılan S-metolaklor dozları

MS tuzlarına, vitaminlerine ve bazı kimyasallara ek çalışmada stres ajanı olarak kullanılan S-metolaklor dozları Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan S-metolaklor

S-metolaklor (g. aktif madde/L)	Miktarı (µl/L)
1,0	1040
2,0	2018
4,0	4160

3.1.2.d. FAMEs analizinde kullanılan kimyasallar

FAMEs analizi için kullanılan çözeltilerde yararlanılan kimyasallar Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6. FAMEs kullanılan çözelti

FAMEs analizinde kullanılan kimyasallar
• Metil alkol

- Sodyum hidroksit
 - %37'lik Hidroklorik asit
-

3.1.2.e. mRNA ifade seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal ve çözeltiler

mRNA seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal ve çözeltiler Çizelge 3.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. mRNA ifade seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal ve çözeltiler

RNA izolasyonunda kullanılan kimyasal ve çözeltiler

- Sodyum hipoklorit
 - DEPC
 - Trizol reagent
 - Kloroform
 - Isopropanol
 - Etil alkol
 - RNase free water
-

cDNA sentezi için kullanılan kimyasal ve çözeltiler

- Sodyum hipoklorit
 - Etil alkol
 - DEPC
 - Revertaid first strand cDNA synthetase kit
 - Oligo (dT)
 - 5x reaksiyon buffer
 - Ribolock RNase inhibitör
 - dNTP mix
 - Revertaid M-MuLYRT
 - Nükleaz free water
-

RT-PCR için kullanılan kimyasal ve çözeltiler

- Sodyum hipoklorit
 - Etil alkol
 - DEPC
 - Forward-reverse primer
 - CYBR master mix
-

3.2. Yöntem

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında aşağıda belirtilen işlemler uygulanmıştır.

3.2.1. Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

-Sterilizasyonda kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

%70'lik EtOH hazırlanışı: %96'lık etil alkolden 700 ml alınarak hacim saf su ile 960 ml'ye tamamlanmıştır.

%0,1'lik HgCl₂ hazırlanışı: 100 ml'lik saf su içerisine 0,01 gr HgCl₂ ilave edilerek hazırlanmıştır.

%1'lik Sodyum hipoklorit solüsyonunun hazırlanışı: %5 NaOCl (sodyum hipoklorit) içeren ticari ACE® marka çamaşır suyundan 200 ml alınarak hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış, amber renkli şişeye doldurulmuş ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

-Yağ asidi metil esterler çözeltilerin hazırlanışı

Çözelti I Hazırlanması

Manyetik karıştırıcı üzerindeki beher içerisine; 270 gr NaOH, 40 ml Metil Alkol ve 450 ml saf su eklenip homojen bir karışım elde edilerek hazırlanmıştır.

Çözelti II Hazırlanması

Manyetik karıştırıcı üzerindeki bir beher içerisine; 477 ml saf su, 498 ml HCl (%37) ve 450 ml Metil Alkol (HPLC) eklenip homojen bir karışım elde edilerek hazırlanmıştır.

Çözelti III Hazırlanması

Manyetik karıştırıcı üzerindeki bir beher içerisine; 400 ml Hekzan ve 400 ml Metil Tert Bütül Eter eklenip homojen bir karışım elde edilerek hazırlanmıştır.

Çözelti IV Hazırlanması

Manyetik karıştırıcı üzerindeki bir beher içerisine; 10,8 gr NaOH ve 900 ml saf su eklenip homojen bir karışım elde edilerek hazırlanmıştır.

3.2.2. Sterilizasyon yöntemleri

3.2.2.a. Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu

Steril çalışma alanında kullanılan yüzeyler (steril kabin içi) kullanımdan en az 10–15 dakika önce %70'lik etil alkolle silinmiş ve UV lambası açılmıştır. Kültüre alma işlemi başlamadan önce UV lambası kapatılmıştır. Kullanılan aletler (bistüri, pens vb.) kullanımdan önce etil alkol içine batırıldıktan sonra alev lambasında alevle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Eksplantların kesimi alüminyum folyo içine sarılarak otoklav edilmiş 10 x 15 cm boyutlarındaki kurutma kâğıtları üzerinde yapılmıştır.

3.2.2.b. Tohumların yüzey sterilizasyonu

Aspir tohumları musluk suyunda 5 dakika boyunca yıkanmıştır. Yıkanan tohumlar %70 etil alkolde 2 dakika karıştırılıp ardından saf su ile 5'er dakika 3 kez yıkama yapılmıştır. Yıkamanın ardından %0.1 HgCl₂ ile 7 dakika karıştırılarak ve yine ardından 3 kez 5'er dakika durulama yapılmıştır (Sujatha and Kumar 2007).

Lolium multiflorum'un sterilizasyonunda ise; tohumlar akan musluk suyunda 5 dakika yıkanmıştır. Yıkanan tohumlar 1 dakika %70 etil alkol sonra 3 kez steril saf su da

yıkamış ve ardından %1 sodyum hipokloritte 30 dakika sterilizasyon sağlanıp, 5 dakikalık 3 yıkama ile son verilmiştir (Dale 1980).

3.2.2.c. Besi ortamının ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu

Besi ortamları 105 kPa basınçta 121°C'de 20 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası sıcakta bozulan S-metolakloru sterilize etmek için 0,22 µM poroziteli selüloz nitrat filtreler (Milipor®) kullanılmıştır.

3.2.3. Bitki Büyütme ortamlarının hazırlanması

3.2.3.a. Temel besi ortamı için stok solüsyonların hazırlanışı

MS makro (20X), mikro (100X) elementler ile demir şelat (100X) için stok solüsyonlar hazırlanmıştır.

- MS makro elementler için stok solüsyonunun hazırlanışı

MS makro elementler (20X) için stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

a) Çizelge 3.3'de verilen, bir litrede bulunması gereken makro element miktarlarının 20'şer katı hassas bir terazi ile tartılmıştır.

b) 2 litrelik bir erlenmayere yaklaşık olarak 700 ml saf su konulmuş içerisine manyetik balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine konulmuştur. Tartılan makro elementler tek tek eridikçe ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen erimesi sağlanmıştır. İlave edilen makro elementler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi saf su ile bir litreye tamamlanmış ve amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine stoğun adı,

konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı, hazırlanma tarihi ve bir litre standart MS için alınması gereken hacmi yazılmış ve buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

- MS mikro elementler için stok solüsyonunun hazırlanışı

MS mikro elementler (100X) için stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

a) Çizelge 3.3'de mikro elementler başlığında belirtilen $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ haricindeki diğer bileşiklerin 100'er katı hassas bir terazi ile tartılmıştır.

b) 2 litrelik bir erlenmayer kabına yaklaşık olarak 700 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine konulmuştur. Tartılan mikro elementler tek tek eridikçe ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen erimesi sağlanmıştır. İlave edilen mikro elementler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi saf su ile bir litreye tamamlanmış ve amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine stoğun adı, konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı, hazırlanma tarihi ve bir litre standart MS için alınması gereken hacmi yazılmış ve buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

- MS demir şelat stok solüsyonunun hazırlanışı

MS demir şelat (100X) stok solüsyonunun hazırlanışında aşağıdaki işlemler sırasıyla izlenmiştir.

a) Çizelge 3.3'de mikro elementler başlığında belirtilen $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ miktarlarının 100 katı hassas terazide tartılmıştır.

b) Yarım litrelik cam erlenmayer içerisine 300 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine oturtulmuş, ısıtıcı ve karıştırıcı açılmıştır. Tartılan 3,726 gram $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ilave edilmiş ve tamamen erimesi sağlanmıştır. Erime işlemi

tamamlanır tamamlanmaz ısıtıcı kapatılmış karıştırma işlemi devam ederken hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 400 ml'ye tamamlanmıştır.

c) Farklı cam bir erlenmayere 300 ml saf su konulmuş içerisine balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine oturtulmuş, ısıtıcı ve karıştırıcı açılmıştır. Tartılan 2,78 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ilave edilmiş ve tamamen erimesi sağlanmıştır. Erime işlemi tamamlanır tamamlanmaz ısıtıcı kapatılmış karıştırma işlemi devam ederken hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 400 ml'ye tamamlanmıştır.

d) Bu iki ayrı çözelti birleştirilerek toplam hacim oda sıcaklığındaki saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Bu birleştirme işleminden sonra açık sarı rengi alan stok amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine stoğun adı, konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı, hazırlanma tarihi ve bir litre standart MS için alınması gereken hacmi yazılmış ve buzdolabında (4°C) muhafaza edilmiştir.

3.2.3.b. Kültür ortamının hazırlanması

Araştırmada S-metolaklor stres ajanı içeren $\frac{1}{2}$ MS ortamı hazırlamak için aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulanmıştır.

1. 1 litrelik behere 600 ml bidistile su konulmuş ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılmaya başlanmıştır.
2. MS makro element stok solüsyonundan (20X) 25 ml, mikro element stok solüsyonundan ve demir şelattan (100X) 5'er ml eklenmiştir.
3. Bunun üzerine 1,95 g MES tartılıp eklenmiş ve eriyinceye kadar karıştırılmıştır. Hacim 950 ml tamamlanmış ve 1N NaOH gerektiğinde de 0,1 N HCl çözeltisinden faydalanılarak $\text{pH}=5,8$ 'e ayarlanmıştır.
4. Son hacim saf su ile 985 ml'ye tamamlanmıştır.
5. İçerisinde 2 g jel yapıcı madde (Phytigel) bulunan otoklav şişesi içerisine aktarılmış ve ağzı kapatıldıktan sonra sterilizasyon işlemi için otoklavda 20 dakika boyunca 105 kPa basınçta 121°C 'de tabi tutulmuştur.

6. Otoklav sonra uygun dozda S-metolaklor (0, 1, 2 ve 4 g. aktif madde/L) içeren ve hacmi saf su ile 15 ml'ye tamamlanan solüsyon filtre sterilizasyonundan sonra 50-55°C sıcaklığa sahip otoklavlanmış ortama eklenmiştir.
7. Hazırlanan besiyeri Magenta GA-7 Vessel kutularına dökülerek yarım saat steril kabin içerisinde katılaşıncaya kadar beklenmiştir.

3.2.4. İn vitro'da aspir tohumları ekimi ve S-metolaklor kimyasalı uygulaması

Yüzey sterilizasyonu yapılmış tohumlar S-metolaklor (Sigma- 36163) herbisitinin 3 farklı aktif madde dozunu içeren (1, 2 ve 4 g.aktif madde/L) (Çizelge 3.5) (Grisolla and Ferrari, 1997) besi ortamında [1/2MS tuzları (Murashige and Skoog) ve %1 (w/v) phytigel] $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de, fotoperyotta büyütme odasında 6 gün süreyle kültüre alınmıştır. Çalışma tam şansa bağlı deneme planına göre 3 tekerrürlü olarak yürütülmüş olup, her Magenta GA-7 Vessel kutusuna 10 adet tohum bırakılmış ve her Magenta GA-7 Vessel bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. 6 gün sonunda elde edilen bitkilerden kotiledon kısımlarından analizler için örnekler -80°C 'de saklanmıştır.

3.2.5. FAMEs Analizi

Ön hazırlıklar sonrası -80°C 'de olan bitki materyalleri sıvı azotta toz haline getirilerek 40 mg steril kapaklı cam tüplere alınır. Örneklerin üzerine 1 ml Çözelti I ilave edilmiştir. Daha sonra 100°C 'de 5 dakika su banyosunda inkübasyon sonunda, 5-10 saniye vortekslenip tekrar 100°C 'de 25 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 2 ml Çözelti II eklenmiş ve 5-10 saniye vortekslenmiştir. Su banyosunda 80°C 'de 10 dakika inkübasyonda bırakılmıştır. 2 dakika buz uygulaması sonrasında 1,25 ml Çözelti III eklenmiş ve örnekler 10 dakika rotasyon uygulanmıştır. Rotasyon sonrası 10 dakika oda sıcaklığında eğer çökme olmaz ise 5 dakika -20°C 'de tutularak üst faz yeni steril cam tüplere alınmıştır. Yeni tüpler içerisine 3 ml Çözelti IV eklenip 5 dakika rotasyon uygulanmıştır. Sonrasında 10 dakika oda sıcaklığında, faz ayrımı olmaz ise 5 dakika -20°C 'de bekletilip üst faz GC vialine GC-MS (Gaz Kromatografisi Kütle

Spektrometresi - Gas chromatography–mass spectrometry) (Shimadzu QP2010 ULTRA) cihazında okunmuştur.

Oleik ve linoleik aside ait veriler deneme planına uygun olarak SAS 9.3 istatistik programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklar %5 önem seviyesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

3.2.6. mRNA seviyelerinin belirlenmesi

3.2.6.a. RNA İzolasyonu

Aspirden RNA izolasyonu için Trizol reagent (Invitrogene, USA) kullanılmıştır. 100 mg bitki örnekleri sıvı azot yardımıyla toz haline gelinceye kadar ezilip steril ependorf tüplere alınarak sıvı azot içerisine bırakılmıştır. Sıvı azottan alınan tüpler üzerine 1 ml Trizol reaktifi (Invitrogene, USA) eklenmiştir. Örnekler 5 dk oda sıcaklığında bekletilerek nükleoprotein komplekslerinin tamamen ayrışması sağlanmış sonrasında 30 saniye vortekslenmiştir. Her bitki örneğine 0.2 ml kloroform eklenmiştir. Kapaklar iyice kapatılarak 15 saniye elle hızlıca çalkalanmış ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonrasında 4°C’de 10 dakika 15000 rpm’de santrifüj edilecektir.

Üstteki sıvı faz yeni bir steril ependorf tüpe aktarılıp üzerine isopropanolle eklenerek RNA’nın çökmesi sağlanmıştır. Örnekler -20°C’de 20 dakika bekletilmiş ve sonrasında 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. 15000 rpm’de 4°C’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz dökülür. RNA çökeltisinin yıkama işlemi için %75’lik EtOH’dan 1 ml kullanılmıştır. Örnekler vorteks ile karıştırılarak 5 dakika 1000 rpm’de 4°C’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst faz dökülür ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. İşlemler sonunda RNA peleti oda sıcaklığında kurumaya bırakılmış ve 30 µl RNase Free Water ile çözülüp 10 dakika 55-60°C’de bekletilip kullanılmaya kadar -80°C’de saklanmıştır.

Elde edilen RNA'ların miktarlarını belirlemek için Qiagen Nanodrop'da A260/280 O.D. değerindeki ölçümler alınmıştır. RNA miktarları okunduktan sonra tüm örneklerin miktarları 0,5 µg olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2.6.b. cDNA Analizi

cDNA sentezi için üretici firma Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Sentez Kiti protokolüne göre şu işlemler uygulanmıştır. Steril tüplere hacimleri 0,1 ng⁻⁵ µg olacak şekilde toplam RNA konulmuştur. Ardından 1 µl oligo (dT) primer eklenerek toplam hacim 12 µl' ye tamamlanmıştır. Karışım çok kısa santrifüj edildikten sonra 65°C'de 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda her tüpe, 4 µl 5X Reaksiyon Buffer, 1 µl RevertAid M-MuLV RT, 2 µl 10 mM dNTP Mix ve 1 µl RiboLock RNase Inhibitor eklenerek son hacim 20 µl'ye tamamlanacaktır. Örnekler çok kısa santrifüj edildikten sonra PCR cihazına yerleştirilmiştir. 25 °C'de, 5 dakika, 42 °C'de, 60 dakika ve 70 °C'de 5 dakika tutulmuştur. PCR ürünleri uygulamada kullanılmak üzere - 80°C'de saklanmıştır.

3.2.6.c. Q-PCR Analizi

qRT-PCR işlemi gerçekleştirmek için SYBRGreen/Hi-ROX qPCR Kiti kullanılmıştır. Protokol üretici firmanın talimatları doğrultusunda aşağıdaki gibi yapılmıştır (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8 Q-PCR analizinde kullanılan kimyasallar

Kullanılacak Malzemeler	Miktarlar
SYBR Green/Hi-ROX QPCR Master Mix (2X)	12,5 µl
İleri Primer (0,3 µM)	1,2 µl
Geri Primer (0,3 µM)	1,2 µl
cDNA	5 µl
Steril Su	4,5 µl
Son Hacim	25 µl

Karışım PCR tüplerine aktarılıp ve Qiagen Rotor Gene cihazına yerleştirilmiştir. 95°C’de 10 dakika, 40 döngü olacak şekilde 95°C’ de 15 saniye, primer bağlanma sıcaklığına göre 30 saniye, 72°C’de 30 saniye tutulmuştur.

Analiz için kullanılacak olan hedef genler ile housekeeping gen olarak adlandırılan referans gen olarak seçilen genlere uygun olarak tasarlanmış primer dizilimleri yapılan literatür araştırmaları sonucu belirlenmiştir. Hedef genler ile referans genlere ait ileri ve geri primer dizilimleri aşağıda belirtilmiştir (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9. Hedef genler ile referans genlere ait ileri ve geri primer dizilimleri

Genler	Dizisi	Primer Bağlanma Sıcakları	Kaynaklar
	İleri 5' 3' / Geri 3' 5'		
CtFAD2-1	GAGCAACGGAGAGAAGTAACC	54°C	Guan <i>et al.</i> (2014)
	GAGGGATGATAGAAAGAGGTCC	56°C	
CtFAD3	AAACACTTCATGGGTTTGGC	56°C	Guan <i>et al.</i> (2014)
	TCTGAGCAACTTGGTGGGAG	54°C	
CtFAD6	CCGAATGAAATTGGAAGAGT	53°C	Guan <i>et al.</i> (2014)
	TGAAAGGTATGTGAGGTGCT	54°C	
CtFAD7	CTCACTTTCACCCGAATAGC	56°C	Guan <i>et al.</i> (2014)
	AGGATAAACCCACAAGCAGA	55°C	
Ubiquitin	GATGGAAGGACTTTGGCTGAC	45°C	Liu <i>et al.</i> (2016)
	GAACACCACCACCGATACCC	45°C	
Ct60S	CATCCATTATCCAACAATC	45°C	Liu <i>et al.</i> (2016)
	AAGAGTAATCAGTCTCCA	46°C	

3.2.6.d. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi

Gen ifadesi analizi sonucunda örneklerin eşik (threshold) değerleri belirlenmiştir. qPCR analiz sonuçlarına göre örneklerin Ct değerlerine ait standart sapmalar Microsoft Excel programı yardımıyla hesaplanmıştır. Standart sapması düşük olan örnekler 3 tekerrür üzerinden değerlendirilmiştir. Aspir çeşitlerine ait genlerin ifade oranları Livak and Schmittgen (2001)'e göre $2^{-\Delta\Delta Ct}$ oransal hesaplama algoritması ile belirlenmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Aspirin iki genotipine (Dinçer ve Remzibey-05) 3 farklı S-metolaklor dozu (1, 2 ve 4 g. aktif madde/L) uygulanarak yağ asidi oranlarına ve gen ifadesine olan etkisi incelenmiştir. Yağ asidi ve gen ifadesinde kullanılan bitki materyallerine ait görüntüler Şekil 4.1’de verilmiştir.

4.1. Yağ asidi analizi

Aspir genotiplerinin S-metolaklor dozlarına göre FAMES analizi ile elde edilmiş yağ asitleri kompozisyonları GC-MS (Shimadzu QP2010 ULTRA) cihazında okunmuş olup genotiplere ait veriler aşağıda sırasıyla açıklanmıştır.

Oleik asit içeriğine genotipin ve S-metolaklor konsantrasyonlarının ana etkisi çok önemli ($P < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.1). Uygulamaların ortalamasına göre Remzibey-05 (%24,51) genotipinin oleik asit içeriği Dinçer (%10,23) genotipine göre daha yüksek olmuş ve aralarındaki fark önemli bulunmuştur. Diğer taraftan uygulamaların ana etkisi incelendiğinde en yüksek oleik asit içeriği %23,25 ile kontrolde belirlenirken bunu sırasıyla; %17,86 ile 1 g. aktif madde/L dozu, %15,17 ile 4 g. aktif madde/L dozu ve son olarak %13,21 ile 2 g. aktif madde/L dozu izlemiştir (Çizelge 4.1). Genotiplerin oleik asit içeriği, uygulamalara göre farklılık göstermiş ve genotip x uygulama interaksyonunun önemli olmasına neden olmuştur (Çizelge 4.1). Genotiplerin oleik asit içeriğine S-metolaklor dozlarının etkisi incelendiğinde, Remzibey-05 genotipinde S-metolaklorun tüm dozlarının, kontrole kıyasla oleik asit içeriğini azalttığı gözlemlenmiştir. Dinçer genotipinde ise 1 g. aktif madde/L’de dozunda kontrole göre bir artış görülürken, diğer dozlarda azalış görülmüştür (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2).



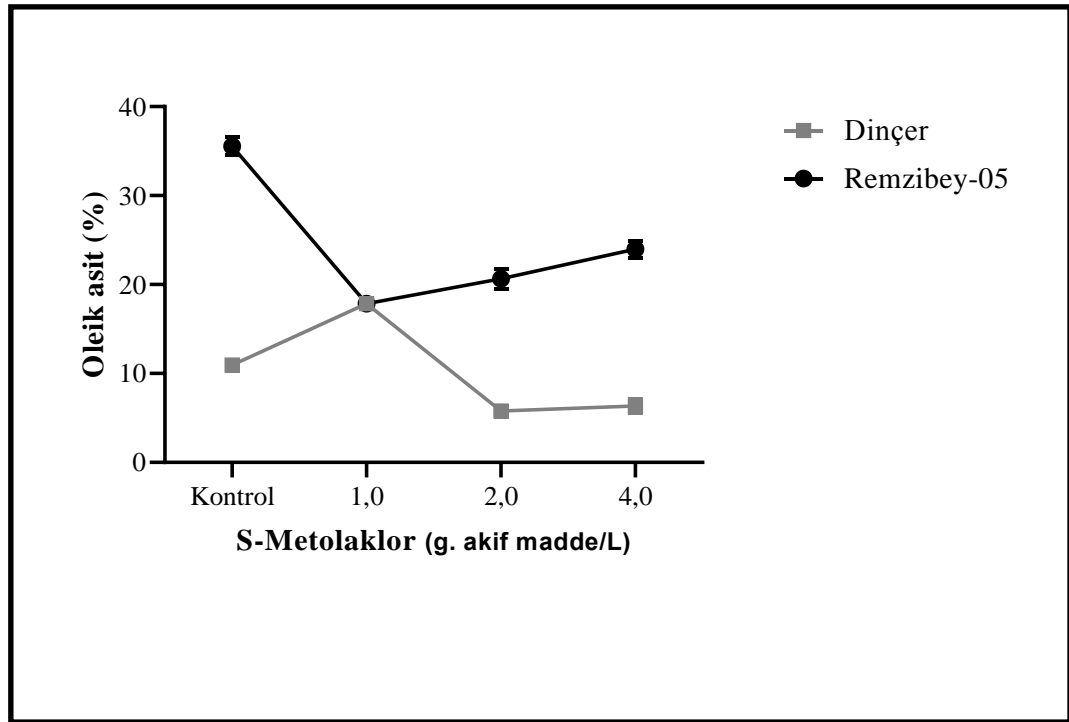
Şekil 4.1 Aspir genotiplerinin farklı S-metolaklor dozlarındaki gelişimleri

Çizelge 4.1. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin oleik asit içerikleri (%)^{1,2}

S-metolaklor (g. Aktif madde/L)	Dinçer	Remzibey-05	Ortalama
Kontrol	10,94 ^b	35,56 ^a	23,25^a
1,0	17,86 ^a	17,86 ^d	17,86^b
2,0	5,77 ^c	20,64 ^c	13,21^d
4,0	6,36 ^c	23,97 ^b	15,17^c
Ortalama	10,23^B	24,51^A	
F Değeri (Genotip) (G)	-	-	2029,48**
F Değeri (Uygulama) (U)	247,68**	219,43**	189,14**
F Değeri (GxU)	-	-	267,44**
Varyasyon Katsayısı (%)	6,01	3,71	4,46

¹: Aynı sütunda ve satırda aynı harf ile işaretli ortalamalar birbirinden farklıdır. ** ile işaretli F değerleri 0,01 ihtimal düzeyinde önemlidir.

²: Retention Time: 27,50

**Şekil 4.2.** S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin oleik asit içeriği

Linoleik asit içeriğine genotipin ve S-metolaklor konsantrasyonlarının ana etkisi çok önemli ($P < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.2). Uygulamaların ortalamasına göre Dinçer (%70,97) genotipinin linoleik asit içeriği Remzibey-05 (%61,23) genotipine göre daha

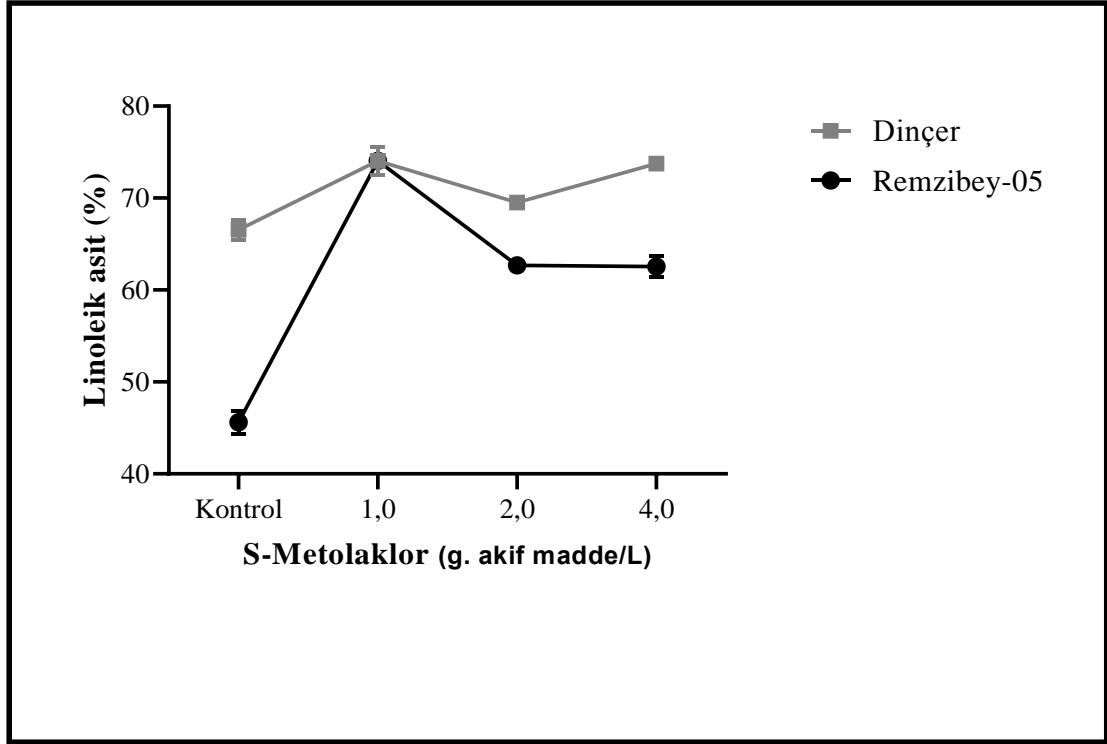
yüksek olmuş ve aralarındaki fark önemli bulunmuştur. Diğer taraftan uygulamaların ana etkisi incelendiğinde en yüksek linoleik asit içeriği %74,06 ile 1 g. aktif madde/L dozunda belirlenirken bunu sırasıyla; %68,16 ile 4 g. aktif madde/L dozu, %66,10 ile 2 g. aktif madde/L dozu ve son olarak %56,08 ile kontrol grubu izlemektedir (Çizelge 4.3). Genotiplerin linoleik asit içeriği, uygulamalara göre farklılık göstermiş ve genotip x uygulama interaksiyonunun önemli olmasına neden olmuştur (Çizelge 4.2). Genotiplerin linoleik asit içeriğine S-metolaklor dozlarının etkisi incelendiğinde, Remzibey-05 genotipte S-metolaklorun tüm dozlarının kontrole kıyasla linoleik asit içeriğini arttırdığı gözlemlenmiştir. Dinçer genotipinde ise kontrole göre tüm dozlarda S-metolaklorun artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin linoleik asit içerikleri (%)^{1,2}

S-metolaklor (g. Aktif madde/L)	Dinçer	Remzibey-05	Ortalama
Kontrol	66,56 ^c	45,61 ^c	56,08^d
1,0	74,06 ^a	74,06 ^a	74,06^a
2,0	69,51 ^b	62,70 ^b	66,10^c
4,0	73,76 ^a	62,56 ^b	68,16^b
Ortalama	70,97^A	61,23^B	
F Değeri (Genotip) (G)	-	-	473,31**
F Değeri (Uygulama) (U)	37,79**	300,14**	279,27**
F Değeri (GxU)	-	-	96,13**
Varyasyon Katsayısı (%)	1,43	1,91	1,66

¹: Aynı sütunda ve satırda aynı harf ile işaretli ortalamalar birbirinden farklıdır. ** ile işaretli F değerleri 0,01 ihtimal düzeyinde önemlidir.

²: Retention Time: 29,30



Şekil 4.3. S-metolactor dozlarına göre genotiplerin linoleik asit içeriği

Palmitik asit içeriği uygulamalara göre Dinçer genotipinde %5,65 ile %10,05 arasında değişmiş ve S-metolactora bağlı olarak palmitik asit içeriğinde kontrole göre bir azalma belirlenmiştir. Remzibey-05 genotipinin uygulamalara göre palmitik asit içeriği %3,53 ile %8,22 arasında değişim göstermiş ve 1 g. aktif madde/L dozu hariç diğer dozlarda kontrole kıyasla bir artış tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. S-metolactor dozlarına göre genotiplerin palmitik asit içerikleri (%)

S-metolactor (g. Aktif madde/L)	Dinçer	Remzibey-05
Kontrol	10,05	5,04
1,0	5,65	3,53
2,0	7,95	8,22
4,0	7,95	7,18

Gondoik asit içeriği uygulamalara göre Dinçer genotipinde %0,61 ile %5,75 arasında değişmiş ve S-metolaklara bağlı olarak gondoik asit içeriğinde kontrole göre bir azalma belirlenmiştir. Remzibey-05 genotipinin uygulamalara göre gondoik asit içeriği %1,01 ile %4,69 arasında değişim göstermiş ve tüm dozlarda kontrole kıyasla azalma tespit edilmiştir. Bu asitte en yüksek azalma 1 g. aktif madde/L'de tespit edilmiştir (izelge 4.4).

Çizelge 4.4. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin gondoik asit içerikleri (%)

S-metolaklor (g. Aktif madde/L)	Dinçer	Remzibey-05
Kontrol	5,75	4,69
1,0	0,61	1,01
2,0	5,23	4,32
4,0	4,25	2,39

Kaprılık asit içeriği uygulamalara göre Dinçer genotipinde %1,16 ile %7,13 arasında değişmiş ve S-metolaklara bağlı olarak kaprılık asit içeriğinde 2 g.aktif madde/L içeriği dışında bir azalma gerçekleşmiş ve en fazla azalma 1g. aktif madde/L'de tespit edilmiştir. Remzibey-05 genotipinin uygulamalara göre kaprılık asit içeriği %0,78 ile %5,75 arasında değişim göstermiş ve tüm dozlarda kontrole kıyasla azalma tespit edilmiştir (izelge 4.5).

Çizelge 4.5. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin kaprılık asit içerikleri (%)

S-metolaklor (g. Aktif madde/L)	Dinçer	Remzibey-05
Kontrol	5,04	5,75
1,0	1,16	2,31
2,0	7,13	2,84
4,0	4,83	0,78

Genotiplerin S-metolaklor dozlarına göre miristik asit ve nervonik asit içerikleri Çizelge 4.6’da verilmiştir. Her iki genotipte de miristik asit kontrol uygulamasında tespit edilirken S-metolaklor uygulamalarında bulunmadığı belirlenmiştir. Diğer taraftan nervonik asit bakımından her iki genotip değerlendirildiğinde kontrol uygulamasında nervonik asitin bulunmadığı ancak S-metolaklorun 1, 2 ve 4 g. aktif madde/L’de meydana geldiği gözlemlenmiştir.

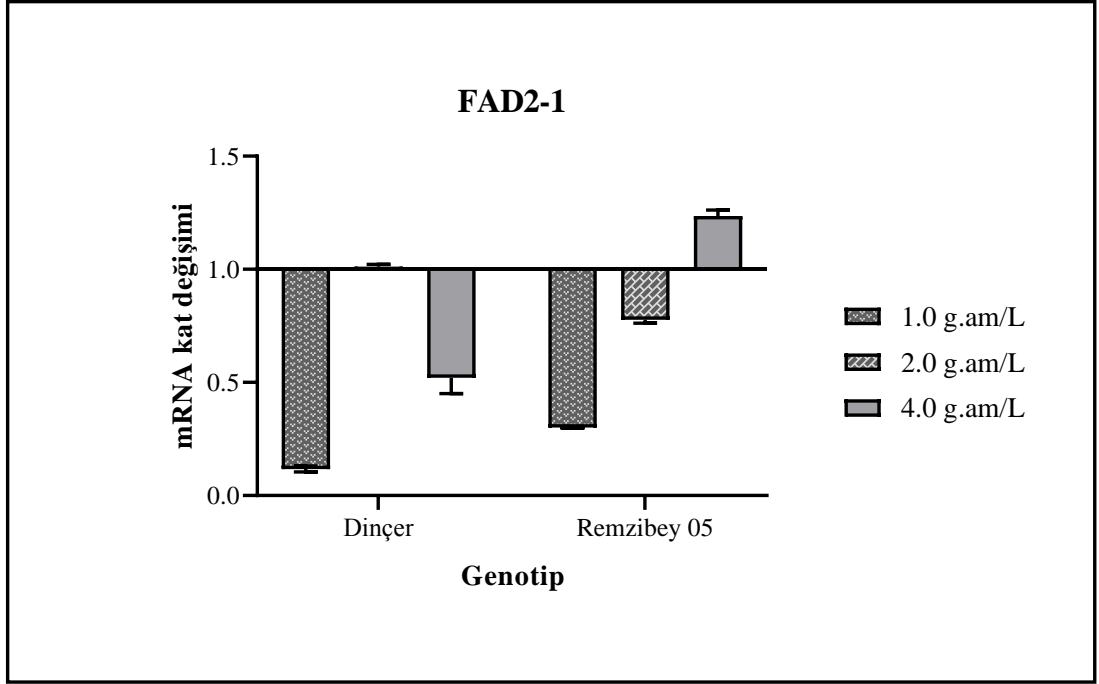
Çizelge 4.6. S-metolaklor dozlarına göre genotiplerin miristik asit ve nervonik asit içerikleri (%)

S-metolaklor (g. Aktif madde/L)	Dinçer		Remzibey-05	
	Miristik asit	Nervonik asit	Miristik asit	Nervonik asit
Kontrol	0,58	-	0,48	-
1,0	-	0,58	-	0,14
2,0	-	5,16	-	1,59
4,0	-	3,43	-	2,32

4.2. mRNA ifade analizi

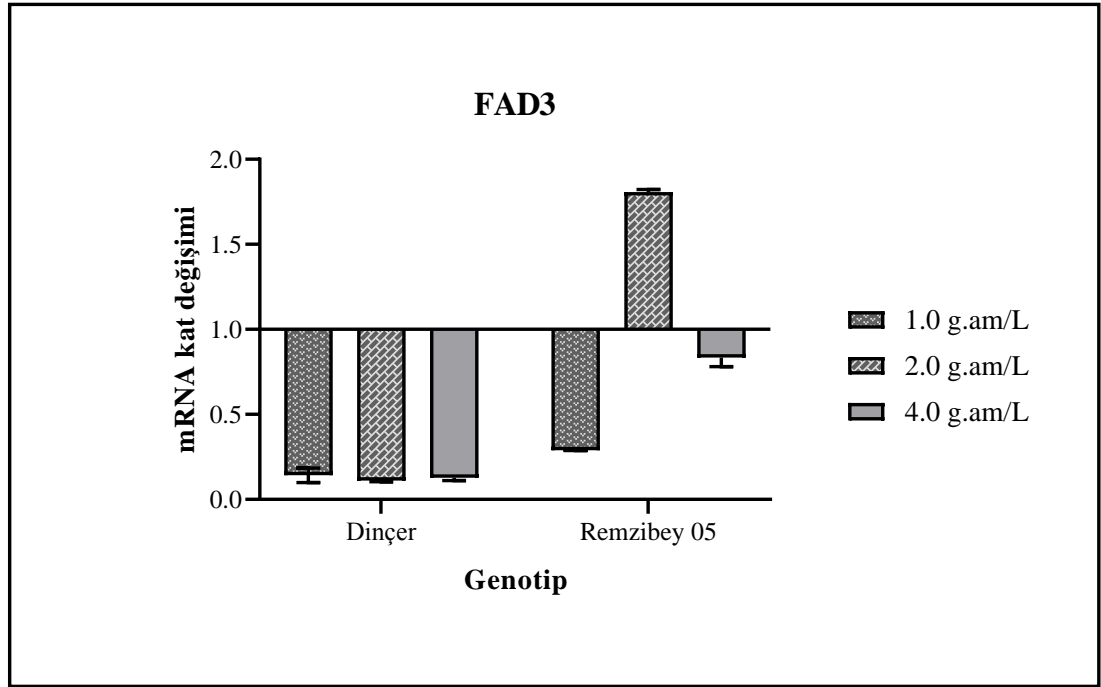
Aspirin Remzibey-05 ve Dinçer çeşitlerinde S-metolaklorun 0 g. aktif madde/L (kontrol) karşı 1, 2 ve 4 g. aktif madde/L dozlarının FAD2-1, FAD3, FAD6 ve FAD7 genlerinin mRNA ifade kat değişimine olan etkileri yukarı ya da aşağı regülasyonu şeklinde değerlendirilmiştir.

Aspir genotipinin S-metolaklorun farklı dozlarındaki FAD2-1 geninin ifade seviyeleri Şekil 4.4’de verilmiştir. Dinçer genotipinde kontrole göre; S-metolaklor dozlarından 1 ve 4 g. aktif madde/L FAD2-1 geninin aşağı regüle olmasına neden olurken; 2 g. aktif madde/L dozda ise kontrole yakın bir yukarı regüle gerçekleşmiştir. Remzibey-05 çeşidinde kontrole kıyaslanan sonuçlara göre; S-metolaklor dozlarından 1 ve 2 g. aktif madde/L FAD2-1 geninin aşağı regüle; 4 g. aktif madde/L’de yukarı regüle olduğu tespit edilmiştir. Her iki genotipte de FAD2-1 geninde en büyük değişim S-metolaklorun 1 g. aktif madde/L dozunda meydana gelmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Dinçer ve Remzibey-05 FAD2-1 geni mRNA kat ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)

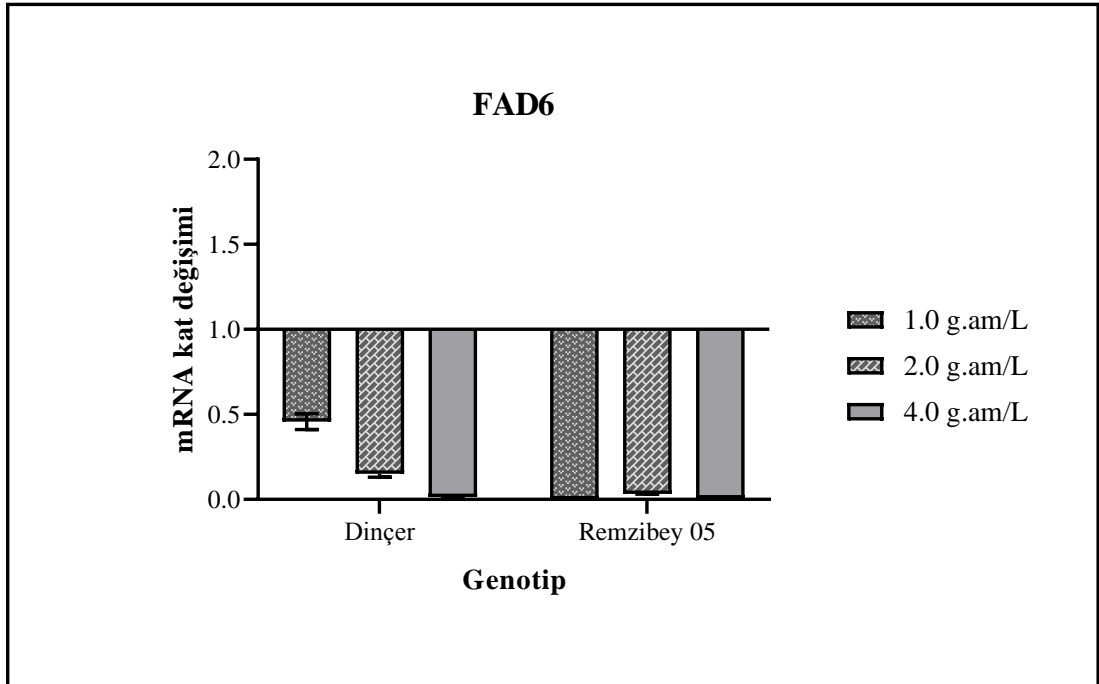
FAD3 mRNA gen ifadesi bakımından genotipler incelendiğinde Dinçer genotipinde kontrole kıyaslanan sonuçlara göre S-metolaklorun tüm dozlarında aşağı regüle olduğu kaydedilmiş olup, bu regülasyonların birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Remzibey-05 genotipinde ise S-metolaklor dozlarının 1 ve 4 g. aktif madde/L’de FAD3 geninin aşağı regüle; 2 g. aktif madde/L’de yukarı regüle olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5).



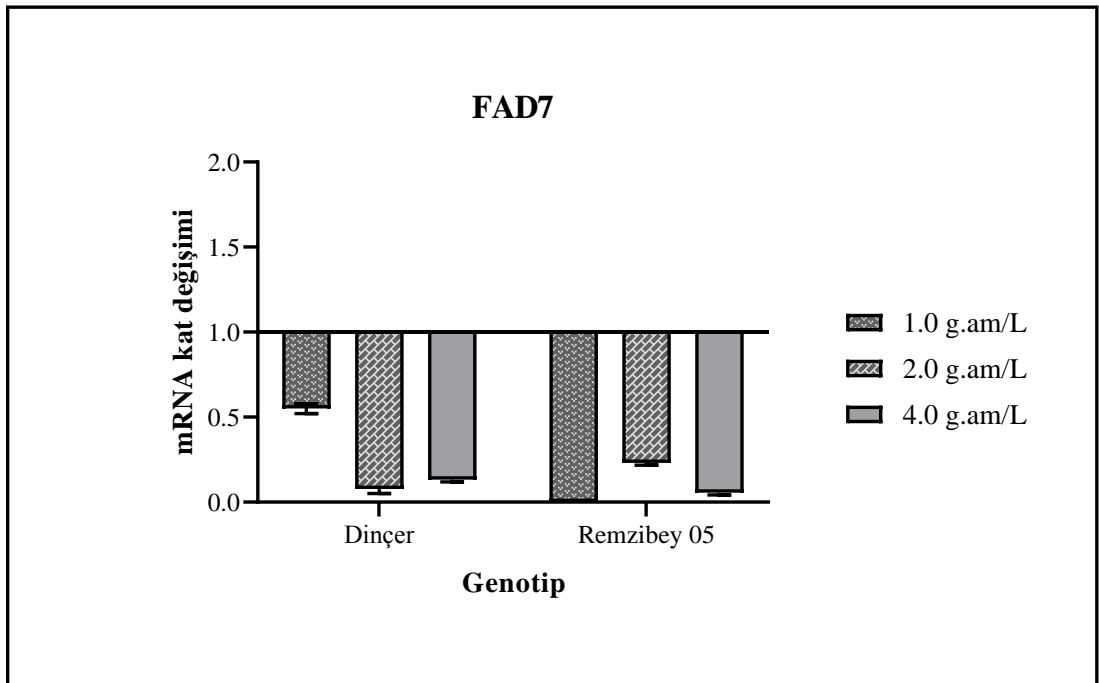
Şekil 4.5. Dinçer ve Remzibey-05 FAD3 geni mRNA kat ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

Her iki genotipe uygulanan 1, 2 ve 4 g. aktif madde/L S-metolaklor dozlarının FAD6 geninde mRNA kat ifade değişimleri Şekil 4.6'da verilmiştir. Her iki çeşitte kontrole kıyasla aşağı regülasyon gözlemlenmekle birlikte, Dinçer genotipinde dozların artış oranına paralel olarak gen ifadelerinde bir azalma tespit edilmiştir. Bununla birlikte en büyük aşağı regülasyon 4 g. aktif madde/L'de meydana gelmiştir. Remzibey-05 genotipinde ise dozların tamamında aşağı regülasyon belirlenmiş ve bu regülasyon birbirine yakın olmuştur.

FAD7 mRNA ifadesi bakımından genotiplerin S-metolaklor dozlarındaki değerleri incelendiğinde; her iki genotipte de bu genin mRNA ifadesinin aşağı yönde regüle olduğu tespit edilmiştir. Dinçer genotipinde en yüksek aşağı regülasyon 2 g. aktif madde/L'de tespit edilirken, Remzibey-05 genotipinde ise 1 g.aktif madde/L'de görülmüştür (Şekil 4.7).



Şekil 4.6 Dinçer ve Remzibey-05 FAD6 geni mRNA kat ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)



Şekil 4.7. Dinçer ve Remzibey-05 FAD7 geni mRNA kat ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünyada yabancı veya kültür bitkisi olarak yetiştirilen tek ve çok yıllık bitkilerin tohumlarında ve meyve kısımlarında değişik oranlarda yağ bulunmaktadır. Temel besin maddelerinden olan insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan yağlar, yaşamsal faaliyetlerin sürdürebilmesi için gerekli olan ana besin maddelerinden biridir (Kolsarıcı vd. 2005). Yağlı tohum çeşitlerinden biri olan aspir, diğer yağlı tohumlara oranla dünyada daha az üretim payına sahip olmasına rağmen (Tu *et al.* 2010), aspir yağı besin değeri açısından ayçiçeği ile benzerlik göstermekle birlikte son geliştirilen çeşitlerinde yağ oranı %25-27'den %46-47'ye çıkarılmıştır. Bu oranın %78'ini linolenik asitlerin oluşturması sebebiyle son zamanlarda aspire olan ilgi artmıştır (Chavan *et al.* 2011; Eryılmaz vd. 2014). Aspir yetiştiriciliğinde en önemli sorun yabancı ot kontrolüdür. Yabancı otlar, kültür bitkilerinden çok daha güçlü ve istilacı olduklarından mücadele edilmesi gerekmektedir. Bu mücadele, yaygın olarak herbisit adı verilen kimyasallar yoluyla yapılmaktadır.

Yabancı otlar, doğrudan ve dolaylı yollarla kültür bitkilerinde önemli miktarda zarara yol açarlar. Tarım alanlarında yabancı otlar, kültür bitkileri ile yer, besin, ışık ve su gibi faktörler için rekabete girmesinden dolayı bitkiye zarar vermekle beraber böcek ve patojenlere de konukçuluk ederler (Uygur ve ark. 1984). Herbisit olarak kullanılan S-metolaklor; glutatyon ve sistein gibi nükleofillere *in vitro* olarak bağlanır (Leavitt and Penner 1979). Bu herbisit hem homojenatlarda hem de sağlam bitkide tanımlanamayan birçok proteine bağlandığı bulunmuştur (McFarland and Hess 1984; LeBaron *et al.* 1988). S-metolaklor enzimlerin tümünü etkileyemediğinden genel inhibitör olarak kabul edilmez (Wilmesmeier *et al.* 1993). S-metolaklor, Asetil-CoA'nın başlangıcını ve lipit biyosentezini inhibe etmektedir. S-metolaklor uygulamasından sonra bitki bünyesindeki amino asitlerin (lösin veya lisin) ve şekerlerin alımı etkilenmekle birlikte, güçlü bir oleik asit birikimi ve lipitlerin linoleik ve linolenik yağ asidi türlerinde kuvvetli bir düşüşe neden olmaktadır. Yağ asitleri, alkoller, karbon sayısı dahil olmak üzere uzun zincirli bileşenlerde değişikliğe neden olup, yaprakta balmumu biyosentezini inhibe etmektedirler. Herbisitlerin yarattıkları biyokimyasal

etkilerin yanı sıra uygulandıkları kültür bitkisinde gen ifadesi artışına neden olarak, bitkinin herbisite toleranslı hale gelmesine de neden olmaktadır (Böger *et al.* 2012).

Araştırmamızda başta Rusya olmak üzere, aspir yetiştiriciliğinin en fazla yapıldığı ülkelerde aspir tarımında yaygın olarak kullanılan, S-metolaklor herbisitinin çıkış öncesi dönemdeki uygulamasının aspirin erken gelişme dönemindeki başta linoleik ve oleik olmak üzere yağ asidi içeriğine ve yağ asidi desatürasyonunda görev alan bazı enzimleri kodlayan genlerin (FAD2-1, FAD-3, FAD-6 ve FAD-7) ifade seviyesine olan etkileri incelenmiştir.

Bitki yağ asidi desatürasyon yolunda ilk olarak steraik asidi oleik aside dönüştürmede stearoil-ACP desatüraz ile katalizlenir. Daha sonra sırasıyla mikrozomal (FAD2) ve plastidsel ω -6 (FAD6) sırasıyla ökaryotik ve prokaryotik yoldan oleik asidin linoleik aside dönüşümünden sorumlu olan iki enzimdir (Jin *et al.* 2001; Herández *et al.* 2009). Yaptığımız yağ analizleri sonucunda her iki çeşitte de S-metolaklor dozlarının (1, 2 ve 4 g. aktif madde/L) kontrole kıyasla oleik asidi azalttığı; linoleik asidi ise arttığı tespit edilmiştir. Oleik asit desatürasyonunda görev alan ve linoleik asit dönüşümünde rol oynayan desatüraz enzimlerini kodlayan FAD2-1 ve FAD6 genlerinin her iki genotipteki mRNA ifadesi incelendiğinde; FAD2-1 Dinçer genotipinde 2 g. aktif madde/L S-metolaklor ve Remzibey-05 genotipinde 4 g. aktif madde/L S-metolaklor dışındaki diğer tüm S-metolaklor dozlarında aşağı regüle olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan oleik asit desatürasyonunda görev alan FAD6 geni her iki genotipte de aşağı regüle olmuştur. Bu gen ifade sonuçlarıyla oleik ve linoleik yağ asidi içeriği arasında bir uyum görülmemesine rağmen; yapılan araştırmalarda FAD2-1 geninden ziyade FAD2-2 geninin; aktif rol alarak oleik asidi linoleik aside dönüştürdüğü düşünülebilir. FAD2 geninin FAD2-1, FAD2-2, FAD2-3 ve FAD2-4 olmak üzere 4 tipi mevcuttur. FAD2-1 genç tohumlardaki çoklu doymamış yağ asitlerini sentezlerken, FAD2-2 oleik asidin linoleik aside dönüşümünden sorumlu ana gen tipi olduğu bildirilmiştir. FAD2-3 ve FAD2-4 ise bitkinin neredeyse tüm dokularında çoklu doymamış yağ asidini sentezlemekte görevlidirler (Dar *et al.* 2017).

Araştırmamızda elde edilen bulgulardan farklı olarak FAD2 geninin soğuk stresi altındaki avakado meyvelerinde ve pamuk kotiledonlarında ekspresyonunun yukarı yönde olduğu bildirilmiştir (Wang et al. 2004; Kargiotidou *et al.* 2008; Teixeira *et al.* 2009). Buna karşın *Arabidopsis* ve soya fasülyesinde düşük sıcaklıkta FAD2 ve FAD6 genlerinde önemli bir değişikliğin olmadığı bildirilmiştir (Okuley *et al.* 1994; Heppard *et al.* 1996). Diğer taraftan, *Arabidopsis*'in FAD6 mutantlarının tekli doymamış yağ asitleri bakımından yüksek, çoklu doymamış yağ asitleri bakımından düşük olduğu bildirilmiştir (Zhang *et al.* 2012). Bu bilgiler ve elde ettiğimiz bulgulara göre FAD2 geninin ifade seviyesinin bitki türüne göre değişiklik gösterdiği düşünülmüştür.

Botella *et al.* (2016) FAD2 ve FAD3 geni ile etkileşime giren ve *Arabidopsis* yapraklarında FAD2 genini aşağı doğru regüle ederek yağ desütürasyonunu etkileyen bir P4 tipi ATPaz olan ALA10'u belirlemişler, ALA10 ekspresyonundaki modifikasyonların FAD2 ve FAD3 arasındaki dengeyi bozarak fosfatidilkolin yağ açıl desütürasyonunu etkilediğini bildirmişlerdir. Yağ asidi bakımından elde ettiğimiz bulguların temel nedenlerinden biri de bu proteindeki modifikasyonlardan kaynaklanmış olabilir.

Diğer taraftan, stres koşulları altında bitkilerde reaktif oksijen türevlerinin (ROT) üretimi meydana gelmektedir (Akram *et al.* 2017). Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) yaygın olarak lipit bileşenleridir ve dengesiz ROT ile kolayca okside edilirler. PUFA'ların ROT ile reaksiyonu, bir lipit radikal oluşumu alilik hidrojen atomunun PUFA'lardan çıkarılmasıyla başlayan lipit peroksidasyon reaksiyonlarını tetiklemektedir. Bu lipit radikali, her ikisi de komşu lipit molekülleri ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna radikal zincir oksidasyonuna neden olan lipit peroksil ve lipit alkoksil radikallerini oluşturmak için moleküler oksijen ile reaksiyona girer ve zincir modifikasyonları ortaya çıkmaktadır (Alché Ramírez 2019). Bu durum araştırmamızda gen ifadesi dışında yağ asitlerinin oluşumuna neden olarak gösterilebilir.

Çevresel stresler, canlı organizmaların fizyolojik faaliyetlerini etkiler. Ortamdaki değişiklikler belirli bir eşik seviyesini aştığında, bazı enzimlerin aktiviteleri inhibe edilebilir, ortadan kaldırılabilir ya da aktiviteleri artıp azalabilir (Pareek *et al.* 2009). Araştırmamızda kullanılan FAD3 ve FAD7 genleri omega-3 desaturazı kodladığı ve bu iki genin ortak bir atadan gelen genler olduğu bildirilmiştir. Bu genlerin yağ asitleri üzerindeki aktif rolü ise linoleik asidi linolenik aside dönüştürmek olduğu bilinmektedir (Iba *et al.* 1993). Araştırma bulgularında yağ analizi sonucu linolenik asit oluşumunun gerçekleşmemesi, FAD7 geninin her iki genotipte ve tüm dozlarda; FAD3 geninin ise Dinçer genotipinin tüm dozlarında ve Remzibey-05 genotipinin 1 ve 4 g. aktif madde/L'de aşağı regüle olmasıyla açıklanabilir. FAD3 gen ailesine ait olan FAD3a, FAD3b ve FAD3c genlerinden, FAD3a ve FAD3b'nin çift kopya genler olduğu bildirilmiştir. Ayrıca FAD3a'nın FAD3 N-terminalinde ekstra amino asit eklemeleri yaptığı tespit edilmiştir (You *et al.* 2014). Bu durum Remzibey-05 genotipinde 2 g. aktif madde/L'de meydana gelen yukarı regülasyonu açıklayabilir. Ayrıca FAD3 geninin sadece abiyotik stres ile ilişkili olmadığı, aynı zamanda büyüme ve gelişime dönemlerinde linolenik asit miktarını da arttırarak olumlu etki gösterdiği ifade edilmiştir (Arondel *et al.* 1992). Araştırmamızda stres şartlarında kontrole göre gelişimin az olması bu durumu doğrulamaktadır.

Yağ asidi analizi sonucunda Remzibey-05'de kontrolde %7.14 olan palmitik asit oranı 1, 2 ve 4 g. aktif madde/L'de sırasıyla %3.53, %8.22 ve %7.18 olarak tespit edilmiş olup, stres ajanı olan S-metolaklor etkisiyle 1 g. aktif madde/L hariç diğer dozlarda artış tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda sıcaklık ve tuz stresinin etkisiyle palmitik asit oranının da artış olduğu bildirilmiştir (Barclay and McKersie 1994; Noreen and Ashraf 2010). Dinçer genotipi ise palmitik yağ asidi oranları kontrole (%10.05) göre azalma (%5.65, %7.95 ve %7.95) göstermiş olup, Fehr *et al.* (1991) de yaptıkları çalışmada palmitik asit sentezinde rol alan genlerin susturulmasıyla toplam yağ içeriğinin de azaldığını bildirmişlerdir.

Zhukov (2015), henüz bilinmeyen bir nedenden miristik asitin palmitik asit için fonksiyonel bir yapı olarak rol oynadığını bildirmiştir. Remzibey-05 ve Dinçer

genotiplerinin miristik asit içerikleri kontrol grubunda sırasıyla %0,48 ve %0,58 tespit edilmiş olup, S-metolaklorun diğer dozlarında (1, 2 ve 4 g. aktif madde/L) bu yağ asidi analiz sonucu rastlanmamıştır. Bu durum kontrolde var olan miristik asidin, S-metolaklorun neden olduğu karbon sayısında yaptığı bozulmalarla, diğer dozlarda yok olmasına neden olduğu bildirilmiştir (Böger *et al.* 2012).

Nervonik asit, nörolojik kaynaklı semptomları kontrol altına almada yardımcı olduğu bazı kaynak taramalarında bildirilmiştir. Bitkilerde bu yağ asidini arttırmaya yönelik çalışmaların bir kısmı başarısızlıkla sonuçlanmıştır (Napier and Graham 2010). Bizim çalışmamızda aspirin her iki genotipinin kontrol uygulamasında nervonik asit görülmezken, Dinçerde artan dozlara paralel şekilde nervonik asidin arttığı tespit edilmiştir. Yine Remzibey-05 genotipinde nervonik asidi 1 (%0,58), 2 (%5,16) ve 4 (%3,43) g. aktif madde/L'de var olurken en yüksek içerik 2 g. aktif madde/L'de tespit edilmiştir. Yağ asidi zincirindeki bu uzama genelde literatürde gen aktarımı yoluyla sağlanırken (Fan *et al.* 2018), çalışmamızda kullanılan stres ajanı S-metolaklor, bu zincir uzamasının nedeni olarak gösterilebilir. Bu durum bu yağ asidinin bir sekonder metabolit olarak oluştuğu şeklinde yorumlanabilir.

5.1. Sonuç ve Öneriler

Bu araştırmada elde edilen sonuçlar ve daha sonra yapılacak çalışmalara yönelik öneriler şu şekilde sıralanabilir.

1. Aspirin her iki genotipine de uygulanan S-metolaklorun tüm dozlarında oleik asit miktarını düşürdüğü görülmüştür.
2. Yine tüm dozlarında ise linoleik asit miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.
3. Yağ asit analizlerinin yanı sıra yapılan gen ifadesinde ise, oleik asidi linoleik aside dönüştürmede rol aldığı bilinen FAD2-1 geninin S-metolaklor uygulamalarında Dinçer genotipinde 1 ve 4 g. aktif madde/L'de ifadesinin azaldığı 2 g. aktif madde/L'de ise ifadenin nötre yakın bir şekilde yukarı regüle olduğu belirlenmiştir.

Remzibey-05 çeşidinde ise 4 g. aktif madde/L ifade olunurken diğer dozlarda ifade azalmıştır.

4. Linoleik asidin linolenik aside dönüşümünden sorumlu olan FAD3 geninde ise Dinçer genotipinde tüm dozlarda ifade aşağı regüle olurken, Remzibey-05 genotipinde ise sadece 2 g. aktif madde/L'de yukarı regülasyon meydana gelmiştir. Yağ asidi analizinde de linolenik asit oluşumuna rastlanmadığından sonuçlar birbirini desteklenmektedir.
5. Oleik asidin linoleik aside dönüşümünde rol oynayan bir diğer gen ise FAD6 geni olup, gen ifadesi analizinde her iki genotipin tüm dozlarında aşağı regüle olmuştur.
6. Linoleik asidin linolenik aside dönüşümünde rol alan bir diğer gen FAD7 geni olup her iki genotipin tüm dozlarında aşağı regüle olmuştur. Yağ asidi analizlerinde linolenik asit oluşumu gözlemlenmediğinden, gen ifadesi sonuçları ile uyumluluk göstermektedir.
7. Ayrıca Dinçer ve Remzibey-05 erken dönemlerinde eser miktarda bulunan miristik yağ asidi ise S-metolaklor etkisiyle kaybolmuştur.
8. S-metolaklor karbon sayısında değişikliğe neden olarak kontrol grubunda olmayan nervonik asidin, tüm dozlarda ve her iki genotipte oluşumuna neden olmuştur.
9. S-metolaklorun aspir genotiplerinde yarattığı yağ asidi değişimlerini olumlu yönde etkileyecek yeni yöntemler üzerinde çalışılması önerilebilir.
10. Yine S-metolaklorun gen ifadesi üzerinde yarattığı dalgalanmaya neden olan mekanizmaların açıklanması üzerinde çalışma yapılması önerilebilir.
11. Aspir gelişiminde S-metolaklorun kök gelişimini olumsuz yönde etkilediği görülmüş olup, bu sorunu ortadan kaldıracak yeni anlayışlar üzerine çalışılabilmesi önerilebilir.
12. Aspirin her iki genotipinde de gerçekleşen ve S-metolaklorun neden olduğu düşünülen nervolik asit oluşumunun araştırılması önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Agostinetto, D., Benemann, D. P., Cechin, J., Nohatto, M. A., Langaro, A. C., Piasecki, C., and Vargas, L., 2019. Gene Expression Related to Oxidative Stress Induced by Herbicides in Rice. *Agronomy Journal*.
- Ahmad, M. U. (Ed.), 2017. Fatty acids: Chemistry, synthesis, and applications. Elsevier.
- Akbolat, D., Algın, B., Ekinci, K., ve Yılmaz, Ş., 2006. Isparta İlindeki Elma Bahçelerinde Mekanik Yabancı Ot Savaş Yönteminin Kullanılma Durumunun Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(1), 33-39.
- Akram, N. A., Shafiq, F., and Ashraf, M., 2017. Ascorbic acid-a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. *Frontiers in plant science*, 8, 613.
- Alché Ramírez, J. D. D., 2019. A concise appraisal of lipid oxidation and lipoxidation in higher plants.
- Ali, F., Yılmaz, A., Nadeem, M. A., Habyarimana, E., Subaşı, I., Nawaz, M. A., ... and Chung, G., 2019. Mobile genomic element diversity in world collection of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) panel using iPBS-retrotransposon markers. *PloS one*, 14(2), e0211985.
- Andreu, V., Collados, R., Testillano, P. S., del Carmen Risueño, M., Picorel, R., and Alfonso, M., 2007. In situ molecular identification of the plastid ω 3 fatty acid desaturase FAD7 from soybean: evidence of thylakoid membrane localization. *Plant physiology*, 145(4), 1336-1344.
- Anhalt, J. C., Arthur, E. L., Anderson, T. A., and Coats, J. R., 2000. Degradation of atrazine, metolachlor, and pendimethalin in pesticide-contaminated soils: Effects of aged residues on soil respiration and plant survival. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 35(4), 417-438.
- Anonim 2019a. Tarım ve Orman Bakanlığı. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/gktaem/Belgeler/Tescilli%20%C3%87e%C5%9Fitlerimiz/Aspir/remzibey-05.pdf> . Erişim Tarihi: 22.01.2019.
- Anonim 2019b. Tarım ve Orman Bakanlığı. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/gktaem/Belgeler/Tescilli%20%C3%87e%C5%9Fitlerimiz/Aspir/din%C3%A7er.pdf> . Erişim Tarihi: 22.01.2019.
- Anonymous 2018a. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Erişim Tarihi: 18.10.2018.
- Anonymous 2018b. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Erişim Tarihi: 18.10.2018
- Arioğlu, H., 2016. Türkiye’de Yağlı Tohum ve Ham Yağ Üretimi, Sorunlar ve Çözüm Önerileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(ÖZEL SAYI-2), 357-368.
- Aronel, V., Lemieux, B., Hwang, I., Gibson, S., Goodman, H. M., and Somerville, C. R., 1992. Map-based cloning of a gene controlling omega-3 fatty acid desaturation in *Arabidopsis*. *Science*, 258(5086), 1353-1355.

- Ayan, E. D., Sert, E., and Atalay, F. S., 2014. An Investigation of the Production and Lubricity Characteristics of Fatty Acid Esters. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 36(1), 64-72.
- Barclay, K. D., and McKersie, B. D., 1994. Peroxidation reactions in plant membranes: effects of free fatty acids. *Lipids*, 29(12), 877-882.
- Baydar, H., 2017. Yağ bitkilerinde oleik asitçe zengin çeşitlerin ıslahında yaşanan gelişmeler. *TÜRKTOP Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 20(1), 34-39.
- Beker-Akbulut, G., 2019. The Effect Of Pendimethalin Herbicide On Antioxidant System In Safflower. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(2 A), 1140-1148.
- Bhunja, R. K., Chakraborty, A., Kaur, R., Gayatri, T., Bhattacharyya, J., Basu, A., ... and Sen, S. K., 2014. Seed-specific increased expression of 2S albumin promoter of sesame qualifies it as a useful genetic tool for fatty acid metabolic engineering and related transgenic intervention in sesame and other oil seed crops. *Plant molecular biology*, 86(4-5), 351-365.
- Bin, Q., Rao, H., Hu, J. N., Liu, R., Fan, Y. W., Li, J., ... and Du, F. L., 2013. The caspase pathway of linoelaidic acid (9t, 12t-c18: 2) induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells. *Lipids*, 48(2), 115-126.
- Blackshaw, R. E., 1993. Safflower (*Carthamus tinctorius*) density and row spacing effects on competition with green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Science*, 41(3), 403-408.
- Botella, C., Sautron, E., Boudiere, L., Michaud, M., Dubots, E., Yamaryo-Botté, Y., ... and Jouhet, J., 2016. ALA10, a phospholipid flippase, controls FAD2/FAD3 desaturation of phosphatidylcholine in the ER and affects chloroplast lipid composition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant physiology*, 170(3), 1300-1314.
- Böger, P., Wakabayashi, K., and Hirai, K. (Eds.), 2012. *Herbicide Classes in development: Mode of action, targets, genetic engineering, chemistry*. Springer Science and Business Media.
- Bruckner, G., 2007. Fatty Acids, Lipids, and Cellular Signaling. In *Fatty acids in foods and their health implications* (pp. 737-751). CRC Press.
- Bu, B., Ashwood, P., Harvey, D., King, I. B., Van de Water, J., and Jin, L. W., 2006. Fatty acid compositions of red blood cell phospholipids in children with autism. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 74(4), 215-221.
- Buyuk, I., Bolukbasi, E., and Aras, S., 2016. Expression of ctFAD2 gene for early selection in safflower oleic/linoleic oil content. *J. Anim. Plant Sci.*, 26, 1383-1388.
- Bükün, B. (2012). Enerji Bitkilerinde Yabancı Ot Sorunları ve Neden Oldukları Kayıplar. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 8(3), 279-285.
- Cao, S., Zhou, X. R., Wood, C. C., Green, A. G., Singh, S. P., Liu, L., and Liu, Q., 2013. A large and functionally diverse family of Fad2 genes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *BMC plant biology*, 13(1), 5.
- Chavan, S. P., Lokhande, V. H., Nitaware, K. M., and Nikam, T. D., 2011. Influence of growth regulators and elicitors on cell growth and α -tocopherol and pigment productions in cell cultures of *Carthamus tinctorius* L. *Applied microbiology and biotechnology*, 89(6), 1701-1707.
- Collados, R., Andreu, V., Picorel, R., and Alfonso, M., 2006. A light-sensitive mechanism differently regulates transcription and transcript stability of ω 3

- fatty-acid desaturases (FAD3, FAD7 and FAD8) in soybean photosynthetic cell suspensions. *FEBS letters*, 580(20), 4934-4940.
- Coşkun, Y., 2014. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.)'in kışlık ve yazlık ekim olanakları.
- Dakhma, W. S., Zarrouk, M., and Cherif, A., 1995. Effects of drought-stress on lipids in rape leaves. *Phytochemistry*, 40(5), 1383-1386.
- Dale, P. J., 1980. A method for in vitro storage of *Lolium multiflorum* Lam. *Annals of Botany*, 45(5), 497-502.
- Dar, A. A., Choudhury, A. R., Kancharla, P. K., and Arumugam, N., 2017. The FAD2 gene in plants: Occurrence, regulation, and role. *Frontiers in plant science*, 8, 1789.
- Dores, E. F., Spadotto, C. A., Weber, O. L., Carbo, L., Vecchiato, A. B., and Pinto, A. A., 2009. Environmental behaviour of metolachlor and diuron in a tropical soil in the central region of Brazil. *Water, air, and soil pollution*, 197(1-4), 175-183.
- Dyer, J. M., and Mullen, R. T., 2001. Immunocytological localization of two plant fatty acid desaturases in the endoplasmic reticulum. *FEBS letters*, 494(1-2), 44-47.
- Emongor, V., Oagile, O., Phuduhudu, D., Oarabile, P., 2017. Safflower production. In Botswana: The Regional Universities Forum for Capacity Building in Agriculture–RUFORUM.
- Enros, E., 2008. Amniotic Fluid Fatty Acids and Cholesterol and Their Association with Pregnancy Outcomes. ProQuest.
- Erasmio, E. A. L., Costa, N. V., Peruzzo, A. S., and Barberato Junior, J. E., 2010. Effect of herbicides applied on sunflower crop in wetland soil. *Planta Daninha*, 28(4), 843-852.
- Eryılmaz, T., Cesur, C., Yesilyurt, M. K., and Aydın, E., 2014. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), Remzibey-05 tohum yağı metil esteri: potansiyel dizel motor uygulamaları için yakıt özellikleri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(1), 85-90.
- Espinosa-Leal, C. A., Puente-Garza, C. A., and García-Lara, S., 2018. In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds. *Planta*, 248(1), 1-18.
- Fan, Y., Yuan, C., Jin, Y., Hu, G. R., and Li, F. L., 2018. Characterization of 3-ketoacyl-coA synthase in a nervonic acid producing oleaginous microalgae *Mychonastes* afer. *Algal research*, 31, 225-231.
- Fehr, W. R., Welke, G. A., Cianzio, S. R., Duvick, D. N., and Hammond, E. G., 1991. Inheritance of reduced palmitic acid content in seed oil of soybean. *Crop Science*, 31(1), 88-89.
- Grant, C. E., 1984. Effect of dietary nervonic acid on erythrocyte and platelet membrane function in the rat.
- Grau, L. P., Kinney, A. J., Pierce Jr, J. W., Wierzbicki, A. M., and Yadav, N. S., 1999. U.S. Patent No. 5,952,544. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Grisolia, C. K., and Ferrari, I., 1997. In vitro and in vivo studies demonstrate non-mutagenicity of the herbicide metolachlor. *Brazilian Journal of Genetics*, 20(3).
- Guan, L. L., Wu, W., Hu, B., Li, D., Chen, J. W., Hou, K., and Wang, L., 2014. Developmental and growth temperature regulation of omega-3 fatty acid desaturase genes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Genet Mol Res*, 13(3), 6623-6637.

- Gvozdenac, S., Bursic, V., Vukovic, G., Duric, S., Gonçalves, C., Jovicic, D., and Tanaskovic, S., 2016. Phytotoxic effects of irrigation water depending on the presence of organic and inorganic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(18), 18596-18608.
- Hamdan, Y. A. S., García-Moreno, M. J., Redondo-Nevado, J., Velasco, L., and Pérez-Vich, B., 2011. Development and characterization of genomic microsatellite markers in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Plant breeding*, 130(2), 237-241.
- Hasanbaglou, M., 2015. Tuz Ve Kuraklık Stresi Altında Gelisirilmiş Farklı Aspir (*Carthamus Tinctorious*) Fad2 Geni mRNA İfade Seviyelerinin Qrt-Pcr Yöntemiyle Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Heppard, E. P., Kinney, A. J., Stecca, K. L., and Miao, G. H., 1996. Developmental and growth temperature regulation of two different microsomal [omega]-6 desaturase genes in soybeans. *Plant Physiology*, 110(1), 311-319.
- Hernández, M. L., Mancha, M., and Martínez-Rivas, J. M., 2005. Molecular cloning and characterization of genes encoding two microsomal oleate desaturases (FAD2) from olive. *Phytochemistry*, 66(12), 1417-1426.
- Herández, M. L., Padilla, M. N., Mancha, M., and Martinez-Rivas, J. M., 2009. Expression analysis identifies FAD2-2 as the olive oleate desaturase gene mainly responsible for the linoleic acid content in virgin olive oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(14), 6199-6206.
- Herández, M. L., Padilla, M. N., Mancha, M., and Martinez-Rivas, J. M., 2009. Expression analysis identifies FAD2-2 as the olive oleate desaturase gene mainly responsible for the linoleic acid content in virgin olive oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(14), 6199-6206.
- Hu, T., 2014. A glutathione S-transferase confers herbicide tolerance in rice. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* (online), 14(2).
- Husain, T., 1990. In Vitro Studies in Some Economically Important Plants Doctoral dissertation, Aligarh Muslim University.
- Iba, K., 2002. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 53(1), 225-245.
- Iba, K., Gibson, S., Nishiuchi, T., Fuse, T., Nishimura, M., Arondel, V., ... and Somerville, C., 1993. A gene encoding a chloroplast omega-3 fatty acid desaturase complements alterations in fatty acid desaturation and chloroplast copy number of the fad7 mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 268(32), 24099-24105.
- Janak, T. W., and Grichar, W. J., 2016. Weed control in corn (*Zea mays* L.) as influenced by preemergence herbicides. *International journal of agronomy*, 2016.
- Jemal, F., Zarrouk, M., and Ghorbal, M. H., 2000. Effect of cadmium on lipid composition of pepper.
- Jin, U. H., Lee, J. W., Chung, Y. S., Lee, J. H., Yi, Y. B., Kim, Y. K., ... and Chung, C. H., 2001. Characterization and temporal expression of a ω -6 fatty acid desaturase cDNA from sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. *Plant science*, 161(5), 935-941.

- Jursik, M., Kočárek, M., Hamouzová, K., Soukup, J., and Venclová, V., 2013. Effect of precipitation on the dissipation, efficacy and selectivity of three chloroacetamide herbicides in sunflower. *Plant, Soil and Environment*, 59(4), 175-182.
- Kachroo, A., and Kachroo, P., 2009. Fatty acid–derived signals in plant defense. *Annual review of phytopathology*, 47, 153-176.
- Kachroo, A., Lapchyk, L., Fukushige, H., Hildebrand, D., Klessig, D., and Kachroo, P., 2003. Plastidial fatty acid signaling modulates salicylic acid–and jasmonic acid–mediated defense pathways in the *Arabidopsis ssi2* mutant. *The Plant Cell*, 15(12), 2952-2965.
- Karaca, E., and Aytaç, S., 2007. Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(1), 123-131.
- Kargiotidou, A., Deli, D., Galanopoulou, D., Tsaftaris, A., and Farmaki, T., 2008. Low temperature and light regulate delta 12 fatty acid desaturases (FAD2) at a transcriptional level in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Journal of experimental botany*, 59(8), 2043-2056.
- Knowles, P. F., 1969. Centers of plant diversity and conservation of crop germ plasm: Safflower. *Economic Botany*, 23(4), 324-329.
- Kollanoor Johny, A., 2011. Investigating the Potential of Natural Antimicrobial Molecules for Reducing *Salmonella enterica* serovar Enteritidis Colonization in Chickens.
- Kolsarıcı, Ö., Gür, A., Başalma, D., Kaya, M. D., and İşler, N., 2005. Yağlı Tohumlu Bitkiler Üretimi.
- Laasonen, M., Erkkilä, A. T., Isotalo, E., Mäenpää, P. K., Pulkkinen, J. J., Virsu, V., and Haapanen, M. L., 2006. Serum lipid fatty acids and temporal processing acuity in children with oral clefts. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 74(4), 263-270.
- Lattka, E., Koletzko, B., Zeilinger, S., Hibbeln, J., Klopp, N., Ring, S., and Steer, C., 2011. Genetic variants in the fads gene cluster determine umbilical cord plasma polyunsaturated fatty acid amounts: 27/183. *Nutrition Research and Education in Europe. Annals of Nutrition and Metabolism*, 58.
- Leavitt, J. R. C., and Penner, D., 1979. In vitro conjugation of glutathione and other thiols with acetanilide herbicides and EPTC sulfoxide and the action of the herbicide antidote R-25788. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(3), 533-536.
- LeBaron, H. M., McFarland, J. E., Simoneaux, B. J., and Ebert, E., 1988. Metolachlor. in "Herbicides: Chemistry, Degradation, and Mode of Action"(PC Kearney and D. D. Kaufman, Eds.).
- Liu, F., Guo, D. D., Tu, Y. H., Xue, Y. R., Gao, Y., and Guo, M. L., 2016. Identification of reference genes for gene expression normalization in safflower (*Carthamus tinctorius*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(5), 564-570.
- Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. *methods*, 25(4), 402-408.
- Los, D.A. and Murata, N. 1998. Structure and expression of fatty acid desaturases. *Biochimica Biophysica Acta* 1394:3–15.
- Ma, C., and Smith, M. A., 1985. Physical and genetic mapping of safflower chloroplast DNA. *Plant molecular biology*, 4(6), 385-388.

- Matsuda, O., and Iba, K., 2005. Trienoic fatty acids and stress responses in higher plants. *Plant biotechnology*, 22(5), 423-430.
- McFarland, J. E., and Hess, F. D., 1984. Chloroacetamide herbicides alkylate plant proteins. In *Plant Physiology* (Vol. 75, pp. 49-49). 15501 Monona Drive, Rockville, Md 20855 Usa: Amer Soc Plant Biologists.
- Mikkilineni, V., and Rocheford, T., 2003. Sequence variation and genomic organization of fatty acid desaturase-2 (*fad2*) and fatty acid desaturase-6 (*fad6*) cDNAs in maize. *Theoretical and applied genetics*, 106(7), 1326-1332.
- Möllers, C., and Albrecht, S., 1994. Screening herbicide effects on lipid metabolism of storage lipids by in vitro culture of microspore-derived embryoids of *Brassica napus*. *Journal of plant physiology*, 144(3), 376-384.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Naghavi, M. R., 2012. Effects of planting populations on yield and yield components of safflower in different weed competition treatments. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 10(1 part 1), 481-483.
- Napier, J. A., and Graham, I. A., 2010. Tailoring plant lipid composition: designer oilseeds come of age. *Current opinion in plant biology*, 13(3), 329-336.
- Newbold, E. A., 2014. Exploring the associations of maternal red blood cell fatty acids, infant body composition, and quality of infant growth. Doctoral dissertation, University of Kansas.
- Nishiuchi, T., and Iba, K., 1998. Roles of plastid ω -3 fatty acid desaturases in defense response of higher plants. *Journal of Plant Research*, 111(4), 481-486.
- Nishiuchi, T., Hamada, T., Kodama, H., and Iba, K., 1997. Wounding changes the spatial expression pattern of the arabidopsis plastid omega-3 fatty acid desaturase gene (*FAD7*) through different signal transduction pathways. *The Plant Cell*, 9(10), 1701-1712.
- Noreen, S., and Ashraf, M., 2010. Modulation of salt (NaCl)-induced effects on oil composition and fatty acid profile of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of salicylic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2608-2616.
- Novak, M., Lah, L., Šala, M., Stojan, J., Bohlmann, J., and Komel, R., 2015. Oleic acid metabolism via a conserved cytochrome p450 system-mediated ω -hydroxylation in the bark beetle-associated fungus *Grosmannia clavigera*. *PLoS One*, 10(3), e0120119.
- Ohlrogge, J., and Browse, J., 1995. Lipid biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7), 957.
- Okuley, J., Lightner, J., Feldmann, K., Yadav, N., and Lark, E., 1994. *Arabidopsis* *FAD2* gene encodes the enzyme that is essential for polyunsaturated lipid synthesis. *The Plant Cell*, 6(1), 147-158.
- Omidi, A. H., Khazaei, H., Monneveux, P., and Stoddard, F., 2012. Effect of cultivar and water regime on yield and yield components in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 17(1), 10-15.
- Onat, B., 2018. Evaluation Some Agronomic And Quality Traits Of Some Soybean Varieties Grown As A Double Crop In Mediterranean Environment In Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(4), 2590-2597.

- Onat, B., Arıoğlu, H., Güllüoğlu, L., Cemal, K. U. R. T., and Bakal, H., 2017. Dünya Ve Türkiye’de Yağlı Tohum Ve Ham Yağ Üretimine Bir Bakış. Ksü Doğa Bilimleri Dergisi, 20, 149-153.
- Önemli, F., and Tetik, Ü., 2016. Ayçiçeği Üretiminde Kullanılan Herbisitlerin Verim İle Kalite Unsurlarına Etkisi Ve Tanedeki Kalıntı Durumlarının Belirlenmesi.
- Pareek, A., Sopory, S. K., and Bohnert, H. J., 2009. Abiotic stress adaptation in plants. Springer.
- Paşa, C., 2008. Kışlık ve yazlık ekimin aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisinin verimi ve bitkisel özelliklerine etkisi. Master’s thesis, Namık Kemal Üniversitesi.
- Rai, MK, Kalia, RK, Singh, R., Gangola, MP., ve Dhawan, AK., 2011. Strese dayanıklı bitkilerin in vitro seçim yoluyla geliştirilmesi son gelişmelere genel bakış. Çevresel ve Deneysel Botanik, 71 (1), 89-98.
- Reiser, L., Sánchez-Baracaldo, P., and Hake, S., 2000. Knots in the family tree: evolutionary relationships and functions of knox homeobox genes. In Plant Molecular Evolution (pp. 151-166). Springer, Dordrecht.
- Rioux, V., Catheline, D., and Legrand, P., 2007. In rat hepatocytes, myristic acid occurs through lipogenesis, palmitic acid shortening and lauric acid elongation. Animal, 1(6), 820-826.
- Ritter, R. L., and Menbere, H., 2002. Preemergence control of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in wheat (*Triticum aestivum*). Weed technology, 16(1), 55-59.
- Rivard, L., 2003. Environmental fate of metolachlor. Chemistry, 51218(45), 42.
- Rodríguez-Vargas, S., Sánchez-García, A., Martínez-Rivas, J. M., Prieto, J. A., and Rande-Gil, F., 2007. Fluidization of membrane lipids enhances the tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* to freezing and salt stress. Appl. Environ. Microbiol., 73(1), 110-116.
- Röbbelen, G., Downey, R. K., and Ashri, A. (Eds.), 1989. Oil crops of the world: Their breeding and utilization.
- Shah, S. H., Khan, E. A., Shah, H., Ahmad, N., Khan, J., and Sadozai, G. U., 2016. Allelopathic sorghum water extract helps to improve yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Pak. J. Bot, 48(3), 1197-1202.
- Shanklin, J. and Cahoon, EB. 1998. Desaturation and related modifications of fatty acids. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 49:611–641.
- Sharma, G. K., Jagetiya, S., and Dashora, R., 2015. General Techniques of Plant Tissue Culture.
- Silver, S. R., Bertke, S. J., Hines, C. J., Alavanja, M. C., Hoppin, J. A., Lubin, J. H., and Beane Freeman, L. E., 2015. Cancer incidence and metolachlor use in the Agricultural Health Study: An update. International journal of cancer, 137(11), 2630-2643.
- Simmons, J. T., 2000. Corn (*Zea mays* L.) inbred response to herbicides.
- Smith, J. R., 1996. Safflower. AOCS Publishing.
- Soltani, N., Brown, L. R., and Sikkema, P. H., 2019. Weed Control in Corn and Soybean with Group 15 (VLCFA Inhibitor) Herbicides Applied Preemergence. International Journal of Agronomy, 2019.
- Soltani, N., Brown, L., and Sikkema, P. H., 2018. Control of glyphosate-resistant common ragweed in corn with preemergence herbicides. Canadian Journal of Plant Science, 98(4), 959-962.

- Sujatha, M., & Kumar, V. D. (2007). In vitro bud regeneration of *Carthamus tinctorius* and wild *Carthamus* species from leaf explants and axillary buds. *Biologia Plantarum*, 51(4), 782-786.
- Teixeira, M. C., Coelho, N., Olsson, M. E., Brodelius, P. E., Carvalho, I. S. D., and Brodelius, M., 2009. Molecular cloning and expression analysis of three omega-6 desaturase genes from purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Biotechnology letters*, 31(7), 1089-1101.
- Tu, W. C., Cook-Johnson, R. J., James, M. J., Mühlhäusler, B. S., and Gibson, R. A., 2010. Omega-3 long chain fatty acid synthesis is regulated more by substrate levels than gene expression. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 83(2), 61-68.
- TÜİK 2019. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 . Erişim Tarihi: 28.06.2019.
- Upchurch, R. G., 2008. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress. *Biotechnology letters*, 30(6), 967-977.
- Uygur, F. N., Koch, W., and Walter, H., 1984. Yabancı ot bilimine giriş: kurs notu. Margraf.
- Wachsmann, N., Potter, T., Byrne, R., and Knights, S., 2010. Raising the bar with better safflower agronomy. *Agronomic information and safflower case studies*. GRDC.
- Wang, X., Beno-Moualem, Delila., Kobiler, I., Leikin-Frenkel, Alicia., Lichter, A., and Prusky, D. (2004). Expression of $\Delta 12$ fatty acid desaturase during the induced accumulation of the antifungal diene in avocado fruits. *Molecular plant pathology*, 5(6), 575-585.
- Weiss, E. A., 1971. Castor, sesame and safflower. Barnes and Noble. New York.
- Wilmesmeier, S., Steuernagel, S., and Wiermann, R., 1993. Comparative FTIR and ^{13}C CP/MAS NMR spectroscopic investigations on sporopollenin of different systematic origins. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 48(9-10), 697-701.
- Wishart, D. S., Knox, C., Guo, A. C., Eisner, R., Young, N., Gautam, B., ... and Mandal, R., 2008. HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. *Nucleic acids research*, 37(suppl_1), D603-D610.
- Wu, J., Hwang, I. T., and Hatzios, K. K., 2000. Effects of chloroacetanilide herbicides on membrane fatty acid desaturation and lipid composition in rice, maize, and sorghum. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 66(3), 161-169
- Yang, L., Ye, J., Guo, W. D., Wang, C. C., and Hu, H. T., 2012. Differences in cold tolerance and expression of two fatty acid desaturase genes in the leaves between fingered citron and its dwarf mutant. *Trees*, 26(4), 1193-1201.
- Yang, M., and Xu, Y., 2007. Oleate accumulation, induced by silencing of microsomal omega-6 desaturase, declines with leaf expansion in transgenic tobacco. *Journal of plant physiology*, 164(1), 23-30.
- You, F. M., Li, P., Kumar, S., Ragupathy, R., Li, Z., Fu, Y. B., & Cloutier, S., 2014. Genome-wide identification and characterization of the gene families controlling fatty acid biosynthesis in flax (*Linum usitatissimum* L.). *J Proteomics Bioinform*, 7, 310-326.
- Zhang, D., Pirtle, I. L., Park, S. J., Nampaisansuk, M., Neogi, P., Wanjie, S. W., ... and Chapman, K. D., 2009. Identification and expression of a new delta-12 fatty acid desaturase (FAD2-4) gene in upland cotton and its functional expression in yeast

- and *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(6), 462-471.
- Zhang, J. Liu, H. Sun, J. Li, B. Zhu, Q. Chen., Zhang, H., 2012. *Arabidopsis Fatty Acid Desaturase FAD2 Is Required for Salt Tolerance during Seed Germination and Early Seedling Growth*. *PLoS ONE* 7(1):e30355.
- Zhang, Q. Y., Yu, R., Xie, L. H., Rahman, M. M., Kilaru, A., Niu, L. X., and Zhang, Y. L., 2018. *Fatty Acid and Associated Gene Expression Analyses of Three Tree Peony Species Reveal Key synthesis in Seeds*. *Frontiers in plant science*, 9, 106.
- Zhukov, A. V., 2015. *Palmitic acid and its role in the structure and functions of plant cell membranes*. *Russian journal of plant physiology*, 62(5), 706-713.



ÖZGEÇMİŞ

18.03.1992 tarihinde ERZURUM/Yakutiye ilçesinde doğdu. İlkokula Tatbikat ilköğretim okulunda başlayıp Kayakyolu Ç.M.İ.S. ilk ve orta okulunda devam etti. Lise öğrenimini Erzurum Anadolu Kız Meslek Lisesinde tamamladıktan sonra 2011 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji bölümünde lisans eğitimine başladı. 2015 yılında 2,82 agno ile bu bölümden mezun olarak aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Bitkisel Biyoteknoloji bilim dalında yüksek lisansa başladı ve halen aynı bilim dalında eğitimine devam etmektedir.