



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN  
ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ASPIR GENOTİPLERİNDE GÜMÜŞ  
NANOPARTİKÜLLERİN BOR STRES  
UYGULAMALARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Kader ÇAKIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Temmuz-2025  
KONYA  
Her Hakkı Saklıdır

## TEZ KABUL VE ONAYI

Kader ÇAKIR tarafından hazırlanan “Aspir Genotiplerinde Gümüş Nanopartiküllerin Bor Stres Uygulamaları Üzerine Etkileri” adlı tez çalışması 17/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Başkan

Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY

.....

#### Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

.....

#### Üye

Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY

.....

#### Üye

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Nur ASLAN

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun .../.../20.. gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından 24YL15005 nolu proje ile desteklenmiştir.

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## **DECLARATION PAGE**

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Kader ÇAKIR

Tarih:

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

## ASPIR GENOTİPLERİNDE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN BOR STRES UYGULAMALARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Kader ÇAKIR

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

2025, 95 Sayfa

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Nur ASLAN

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) dünyanın birçok yerinde tarımı yapılan kurak ve yarı kurak bölgelerde de yetişebilen yağlı tohumlu bir bitkidir. Bitkiler için temel besin elementi olan bor (B)'un aşırı alımı bor stresine yol açmaktadır. Bor toksisitesi, aspir bitkisinin gelişimini ve verimini olumsuz etkileyen başlıca abiyotik stres faktörlerinden biridir. Bu çalışmada, çevre dostu ve hızlı bir yöntem olan mikrodalga destekli yeşil sentez yaklaşımı kullanılarak aspir bitkisinden gümüş nanopartikül (Ag NP) sentezlenmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu; UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi, Taramalı Transmisyon Elektron Mikroskobu (STEM), Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR), İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS), Zeta Potansiyeli ve X-ışını Kırınımı (XRD) ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, Dinçer ve Koç42 isimli iki aspir genotipi kullanılarak B stresi ve Ag NP uygulaması sonucu meydana gelen morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yanıtlar değerlendirilmiştir. Bitki genotiplerine 50 ppm Ag NP ve 2, 4 ve 8 mM olmak üzere farklı B konsantrasyonları uygulanarak toplam 16 deney grubu oluşturulmuştur. Deney sonucu elde edilen veriler, Ag NP ve artan B konsantrasyonlarının aspir bitkisinin gelişimi üzerine etkilerini ortaya koymuştur. Artan konsantrasyonlarda B uygulamaları bitki nispi su (RWC) içeriğinin azalmasına, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarlarında kayıplara, fotosentetik aktivitenin düşmesine ve yapraklarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinde artışa neden olarak nekrotik zonların oluşumunu tetiklemiştir. Genotipler stres sırasında açığa çıkan reaktif oksijen türlerini (ROS) detoksifiye edebilmek için antioksidan savunma sistemlerini etkin bir şekilde devreye sokmuştur. Klorofil floresansı ölçümlerinden elde edilen sonuçlarda ise, artan B dozlarında fotosistemler hasar görmüş ve fotosentez kapasitesi azalmışken, NP uygulamalarının, 8mM B uygulamasına kadar bitkinin fotosentetik aparatlarını korumak için katkı sağladığı belirlenmiştir. Elde edilen tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde Koç42 çeşidi B toksisitesine daha toleranslı olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın bulguları; uygulanan NP konsantrasyonu, NP uygulama süresi, bitki genotipi, uygulama yapılan bitki organı ve ayrıca bitkiye NP uygulama şeklinin de tarımsal bitkilerde NP uygulamalarına bağlı oluşacak yanıtları önemli ölçüde değiştirebileceğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), Bor Stresi, Gümüş Nanopartikül, Yeşil Sentez

## ABSTRACT

## MS THESIS

### EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES ON BORON STRESS APPLICATIONS IN SAFFLOWER GENOTYPES

**Kader ÇAKIR**

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
IN MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS**

**Advisor: Asst. Prof. Dr. Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI**

**2025, 95 Pages**

**Jury**

**Asst. Prof. Dr. Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI**

**Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY**

**Asst. Prof. Dr. Tuğba Nur ASLAN**

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is an oilseed plant cultivated in many parts of the world and can grow in arid and semi-arid regions. Excessive uptake of boron (B), which is an essential nutrient element for plants, leads to boron toxicity stress. Boron toxicity is one of the major abiotic stress factors that adversely affect the growth and productivity of safflower. In this study, silver nanoparticles (Ag NP) were synthesized from safflower using a microwave-assisted green synthesis approach, which is an environmentally friendly and rapid method. The synthesized nanoparticles were characterized by UV-Visible Spectrophotometer, Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM), Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX), Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR), Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS), Zeta Potential, and X-ray Diffraction (XRD). In this study, the morphological, physiological, and biochemical responses induced by boron stress and Ag NP application were evaluated using two safflower genotypes, namely Dinçer and Koç42. A total of 16 experimental groups were established by applying 50 ppm Ag NP and boron concentrations of 2, 4, and 8 mM to the plant genotypes. The data obtained from the experiment revealed the effects of Ag NP and increasing boron concentrations on the growth of safflower. The application of B at increasing concentrations led to a reduction in relative water content (RWC), decreases in total chlorophyll and total carotenoid levels, and a decline in photosynthetic activity, while causing an increase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content in the leaves, thereby triggering the formation of necrotic zones. The genotypes effectively activated their antioxidant defense systems to detoxify the reactive oxygen species (ROS) generated under stress conditions. According to the results obtained from chlorophyll fluorescence measurements, increasing boron doses caused damage to the photosystems and reduced photosynthetic capacity, whereas the application of NP contributed to the protection of the photosynthetic apparatus up to the 8 mM B treatment. When all the data were evaluated together, the Koç42 genotype was identified as being more tolerant to boron toxicity. The findings of this study indicate that the applied NP concentration, the duration of NP treatment, the plant genotype, the plant organ to which NP are applied, and the mode of application can all significantly influence the responses of agricultural crops to NP treatments.

**Keywords:** Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), Boron Stress, Silver Nanoparticles, Green Synthesis

## ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle akademik yolumu aydınlatan, her zaman nazik ve sabırlı davranışlar sergileyen, öğrencilerine karşı olan hoşgörölü tavrı ve başarılarıyla ilham kaynağım olan değerli tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Suna BALKAN NALÇAIYI'ne,

Nanopartikül sentezi konusunda bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, laboratuvar imkanlarını kullanmam için her türlü katkıyı sağlayan çok değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Nur ASLAN'a,

Nanopartikül sentez yöntemimin başarıyla tamamlanmasına ve karakterizasyon analizleri konusunda yardımlarını esirgemeyen Bilim ve Teknoloji Araştırma Uygulama Merkezi'nden Sayın Öğr. Gör. Dr. Fuat ASLAN'a

Laboratuvar süreçlerimde bana deneyimleriyle yardımcı olan sevgili Ümran ÜNÜVAR'a

Bitki Fizyolojisi deneylerimin yürütülmesi konusunda laboratuvar imkanlarının sağlanmasında ve analizlerin yürütülmesinde bilgisinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY'a

Laboratuvar çalışmalarımnda destek sağlayan Selçuk Üniversitesi Bitki Fizyolojisi Laboratuvar Ekibine,

Tez çalışmam için maddi imkânı sağlayan Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Bu süreçte varlıklarıyla iyi ki dediğim tüm arkadaşlarıma,

Desteklerini her zaman hissettiğim çok değerli babam Hanifi ÇAKIR'a, canım annem Meryem ÇAKIR'a ve biricik kardeşlerim Sümeyye ÇAKIR, Enes ÇAKIR ve Zeynep ÇAKIR'a

Teşekkürlerimi borç bilirim.

Kader ÇAKIR  
KONYA-2025

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>3</b>
2.1. Aspir ( <i>Carthamus tinctorius</i> L.) Bitkisi.....	3
2.2. Bitki Stres Faktörleri.....	6
2.2.1. Abiyotik stres .....	8
2.2.1.1. Bor stresi .....	8
2.3. Bitkilerdeki Bor Toksisitesi .....	10
2.4. Nanoteknolojinin Tarihçesi, Tanımı ve Uygulama Alanları .....	11
2.5. Nanopartiküller ve Sınıflandırılması .....	12
2.6. Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi ve Karakterizasyonu.....	14
2.7. Gümüş Nanopartiküller.....	15
2.8. Nanopartiküllerin Bitkiye Alımı ve Taşınımı .....	16
2.9. Nanopartiküllerin Bitki Üzerindeki Etkileri .....	17
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>18</b>
3.1. Bitki Materyali .....	18
3.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	18
3.2.1. Bitki yetiştirme koşulları .....	18
3.2.2. Aspir yapraklarının hazırlanması ve ekstraksiyonu.....	18
3.2.3. Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi.....	18
3.2.4. Gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu .....	20
3.2.4.1. Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis) analizi .....	20
3.2.4.2. Taramalı geçirimli elektron mikroskobu (STEM) analizi .....	20
3.2.4.3. Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) ve enerji dağılımlı X-ışını (EDX) analizi .....	20
3.2.4.4. İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) analizi .....	20
3.2.4.5. Zeta potansiyeli analizi .....	21
3.2.4.6. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR) ve X-ışını difraktometresi (XRD) analizi .....	21
3.3. Bor ve Gümüş Nanopartikül Uygulamaları için Bitki Yetiştirme Koşulları .....	21
3.4. Ölçüm ve Analizler.....	22
3.4.1. Morfolojik ölçümler.....	22
3.4.1.1. Bitki boyu ve yaprak sayısı ölçümleri .....	22

3.4.1.2. Taze ve kuru ağırlık (biyokütle) ölçümleri .....	23
3.4.2. Fizyolojik ölçümler .....	23
3.4.2.1. Nispi su içeriğinin belirlenmesi .....	23
3.4.2.2. Klorofil a floresans kinetiklerinin ölçümü .....	23
3.4.2.3. Bitkideki bor birikiminin belirlenmesi .....	23
3.4.3. Biyokimyasal ölçümler .....	24
3.4.3.1. Yapraklardaki fotosentetik pigment içeriklerinin belirlenmesi .....	24
3.4.3.2. Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) miktarının belirlenmesi .....	24
3.4.3.3. Lipid peroksidasyon (TBARS) miktarının belirlenmesi .....	25
3.4.3.4. Prolin içeriğinin belirlenmesi .....	25
3.4.3.5. Antioksidan izoenzim aktivitesi ölçümleri .....	26
3.4.3.5.1. Total protein miktarının belirlenmesi .....	26
3.4.3.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	26
3.4.3.5.3. Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	26
3.4.3.5.4. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	27
3.4.3.5.5. Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	27
3.4.3.5.6. Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	28
3.5. İstatistiksel Analizler .....	29

#### **4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA..... 30**

4.1. Gümüş Nanopartikül Sentezi .....	30
4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu .....	30
4.2.1. Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis) analizi .....	30
4.2.2. Taramalı geçirimli elektron mikroskobu (STEM) analizi .....	31
4.2.3. Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) ve enerji dağılımlı X-ışını (EDX) analizi .....	32
4.2.4. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi .....	34
4.2.5. Zeta potansiyeli analizi .....	36
4.2.6. X-ışını difraktometresi (XRD) analizi .....	36
4.2.7. İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) analizi .....	37
4.3. Bor ve Gümüş Nanopartikül Uygulamaları Ölçüm ve Analizleri .....	37
4.3.1. Morfolojik ölçümler .....	37
4.3.1.1. Bitki boyu ve yaprak sayısı ölçümleri .....	37
4.3.1.2. Taze ve kuru ağırlık (biyokütle) ölçümleri .....	38
4.3.2. Fizyolojik ölçümler .....	39
4.3.2.1. Nispi su içeriğinin belirlenmesi .....	39
4.3.2.2. Klorofil a floresans kinetiklerinin ölçümü .....	40
4.3.2.3. Bitkideki bor birikim analizi .....	45
4.3.3. Biyokimyasal ölçümler .....	46
4.3.3.1. Yapraklardaki fotosentetik pigment içeriklerinin analizi .....	46
4.3.3.2. Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) miktarının analizi .....	49
4.3.3.3. Lipid peroksidasyon (TBARS) miktarının analizi .....	50
4.3.3.4. Prolin içeriğinin analizi .....	51
4.3.3.5. Antioksidan izoenzim aktivitesi ölçümleri .....	52

4.3.3.5.1. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	52
4.5.3.5.2. Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	54
4.5.3.5.3. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini.....	55
4.5.3.5.4. Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	56
4.3.3.5.5. Glutatyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini .....	57
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>60</b>
5.1. Sonuçlar .....	60
5.2. Öneriler .....	61
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>62</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrat
cm	Santimetre
ha	Hektar
g	Gram
m	Metre
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
pH	Potansiyel hidrojen değeri
ppm	Milyonda bir birim
rpm	Dakıkada devir sayısı
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µmol	Mikromol
OD	Optik Dansite

### Kısaltmalar

ABS/RC	Aktif Reaksiyon Merkezinin Verimli Anten Büyüklüğü
Ag	Gümüş
Ag NP	Gümüş Nanopartikül
APX	Askorbat Peroksidaz
B	Bor
BSA	Sığır Serum Albümini
CAT	Katalaz
DI <sub>0</sub> /RC	Fotokimya Dışında Enerji Dağılımı
EDX	Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi
ET <sub>0</sub> /ABS	Elektron Transportunun Maksimum Verimi
ET <sub>0</sub> /RC	Reaksiyon Merkezi Başına Elektron Transportu
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FESEM	Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopi
F <sub>v</sub> /F <sub>M</sub>	PSII'nin Eksitasyon Enerjisini Yakalama Etkinliği
GR	Glutasyon Redüktaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
KA	Kuru Ağırlık
NP	Nanopartikül
NSİ	Nispi Su İçeriği
PIabs	Performans İndeksi
PItot	Toplam Performans İndeksi
POX	Peroksidaz
PSII	Fotosistem II
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
STEM	Taramalı Geçirimli Elektron Mikroskopi

SOD	Süperoksit Dismutaz
TA	Taze Ağırlık
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskopu
UV-VİS	Ultraviyole-Görünür
XRD	X-Işını Kırınımı
YPR	Yüzey Plazmon Rezonansı

## 1. GİRİŞ

Bitkilerin büyüme ve gelişmesi için gerekli olan çevresel koşulların optimal aralığın dışına çıkması durumu stres olarak adlandırılmaktadır. 1980 yılında Levitt, stresi “canlı organizmalarda uyarıcı etki oluşturabilen çevresel faktör” olarak tanımlamıştır (Calanca, 2016; Jalil ve Ansari, 2019; Levitt, 1980). Bitkiler hem biyotik hem de abiyotik stresler olmak üzere iki farklı stres türüne maruz kalırlar. Son yıllarda; küresel ısınma, antropojenik faaliyetler ve iklim değişikliği gibi çevresel faktörlerin artmasıyla birlikte abiyotik stres koşulları da daha sık ve yoğun şekilde gözlemlenmektedir (Tanveer ve ark., 2020).

Bor (B) bitki büyüme ve gelişimi için temel mikro besin elementlerinden biridir. Bitkilerin tüm gelişim evrelerinde ihtiyaç duyulmakla birlikte özellikle üreme organlarının gelişimi, çiçeklenme ve tohum oluşumu sırasında B gereksinimi belirgin şekilde artmaktadır (Rasheed, 2009; Rerkasem, 1996). Hücre çeperinin bütünlüğünün korunması ve yapısal stabilitenin sağlanmasında da önemli rol oynamaktadır (Nejad ve Etesami, 2020). Bitkilerde B’un optimum konsantrasyon aralığı oldukça dardır (0,5-2,0 ppm). Bu sınırların altındaki değerler B eksikliği, üzerindeki değerler ise B toksisitesi olarak tanımlanmaktadır (Arslan ve ark., 2022). Bitkilerde B toksisitesi; yaprak genişlemesinin, fotosentetik verimin ve meyve oluşumunun azalmasına neden olarak ürün verimliliğini ciddi şekilde sınırlandırmaktadır (Arslan ve ark., 2022; Day ve ark., 2017). Ayrıca; hücre çeperinin bütünlüğünün bozulmasına, metabolik bozukluklara ve oksidatif strese neden olarak birçok fizyolojik süreci etkiler. Özellikle kurak veya yarı kurak bölgelerde toprakta aşırı B birikimi görülür. Yüksek B seviyesine sahip toprağı iyileştirmek zor olduğundan dolayı, bu önemli bozuklukla başa çıkmak için uygun stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir (Princi ve ark., 2016).

Günümüzde teknolojik ilerlemelerle birlikte yaygınlaşan nanoteknolojik yaklaşımlar, stres koşullarının bitkiler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltarak sürdürülebilir tarım için önemli katkılar sunmaktadır (Dilnawaz ve ark., 2023). Nanopartiküller (NP); küçük boyutları, yüksek yüzey alanı-hacim oranı ve yüksek reaktiviteleri gibi özellikleri nedeniyle geniş uygulama alanlarına sahiptir (Arruda ve ark., 2015; Wang ve ark., 2016). NP’ler, bitkiler üzerinde kimyasal, fiziksel ve biyolojik değişikliklere neden olabilir ve bu değişiklikler büyüme ve gelişim süreçlerini olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilir. Farklı bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalar, NP etkilerinin; partikül boyutu, uygulama konsantrasyonu, kimyasal bileşimi, stabilitesi ve

morfolojik yapısı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebileceğini ortaya koymuştur (Dilnawaz ve ark., 2023; Rastogi ve ark., 2017).

En yaygın kullanılan nanopartiküllerden biri olan gümüş nanopartiküller (Ag NP); antimikrobiyal, antifungal, proliferatif ve biyoyumluluk özellikleri nedeniyle bitki biyoteknolojisinde yoğun ilgi görmektedir (Pulit-Prociak ve Banach, 2016). Ag NP'leri sentezlemek için kullanılan geleneksel yöntemler hem çevre hem de insan sağlığına zarar verebilen toksik kimyasalları ve pahalı fiziksel süreçleri içermektedir (Hamid ve ark., 2025). Bitkiler, mikroorganizmalar, algler gibi biyolojik kaynakları kullanarak yeşil sentez yöntemi ile NP eldesi zararsız etkileri nedeniyle umut vadeden bir yaklaşımdır (Jha ve ark., 2023; Savvidou ve ark., 2024). Tıp ve gıda endüstrisinin yanı sıra tarımsal üretimde de etkileri giderek artan Ag NP'lerin bitki stresleri üzerindeki etkilerine yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Khalid ve ark., 2022; Iqbal ve ark., 2020). Ag NP'ler, konsantrasyona bağlı olarak bitkileri iyileştirici etkiler gösterebilir ancak yüksek konsantrasyonlarda toksik etkilere neden olabilir. NP'lerin bitkiye alım ve birikim şekli toksisite derecesini kritik düzeyde belirler (Yan ve Chen, 2019; Tripathi ve ark., 2024).

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), çok yönlü kullanım alanlarına sahip önemli bir bitkidir. Tohumlarındaki yüksek yağ içeriğinin yanı sıra flavonoid, fitosteroller, tokoferoller ve fenolik asitler gibi zengin fitokimyasal maddeler de barındırır. Bitkinin çiçeklerinden elde edilen kartamin ve kartamidin pigmentleri doğal boya yapımında kullanılırken neredeyse tüm kısımları tıbbi amaçlar için değerlendirilebilir. Aspir, kuraklık, soğuk ve tuzluluk gibi streslere dayanıklı bir bitkidir (Chang ve ark., 2025; Golkar, 2018; Hussain ve ark., 2016; Manvelian ve ark., 2021).

Bu tez çalışmasında, B stresine maruz kalan aspir bitkisinin (*Carthamus tinctorius* L.) iki farklı genotipi (Dinçer ve Koç42) üzerinde yapılan Ag NP uygulamalarının etkileri incelenmiştir. B stresinin ve Ag NP'lerin aspir çeşitlerinde büyüme parametreleri, pigment, membran peroksidasyonu, prolin ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği, fotosentez parametreleri ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Bitkisi

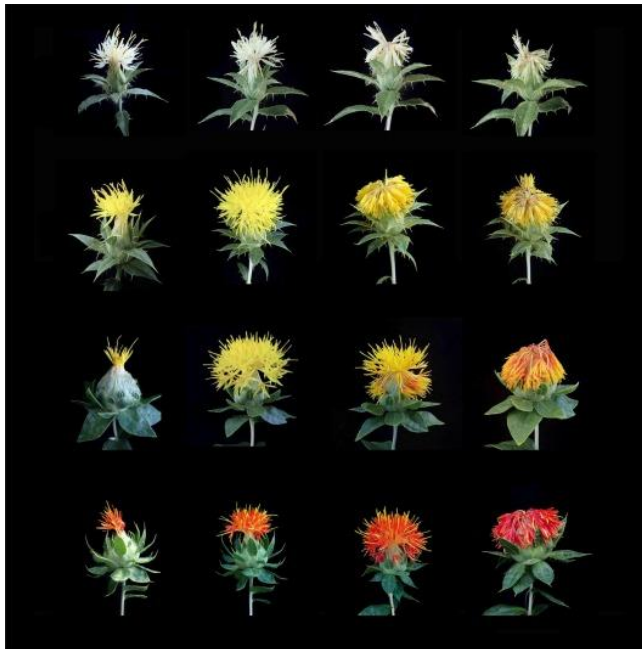
Eski çağlardan beri yetiştirilen aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çiçekli bitkilerin en büyük familyası olan Asteraceae (Papatyagiller) familyasına ait yağlı tohumlu bir bitkidir (Singh ve Nimbkar, 2007). *Carthamus* cinsi 10, 11, 12, 22 ve 32 çift kromozoma sahip yaklaşık 25 tür ve alt tür içermektedir (Çizelge 1.1). Bu türler arasında  $2n = 24$  kromozom sayısına sahip olan *C. tinctorius* ticari olarak yetiştirilen en yaygın türdür (Singh ve Nimbkar, 2016; Yesilyurt ve ark., 2020). Genel olarak aspir ismiyle bilinen bitkinin sahte safran, devedikeni safranı, haspir, kusum, honghua gibi isimleri de bulunmaktadır (Li Dajue ve Mündel, 1996; Gautam ve ark., 2014).

Çizelge 1.1. *Carthamus tinctorius* L. Türünün Sistematığı

Alem	Plantae
Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Takım	Asterales
Familya	Asteraceae
Cins	<i>Carthamus</i> L.
Tür	<i>Carthamus tinctorius</i> L.

Aspir bitkisi, dikenli ve dikensiz olmak üzere iki formu bulunan, tek yıllık bir uzun gün bitkisi olarak sınıflandırılır (Emongor ve Oagile, 2017; Gautam ve ark., 2014). Çimlenme süresi sıcaklığa bağlı olarak 3-8 gün arasında değişir ve bu süreci rozet aşaması takip eder. Rozet aşaması, aspir bitkisinin ana fenolojik aşamalarından biri olarak kabul edilir. Bu aşamada; zemin seviyesine yakın çok sayıda yaprak üretilir, güçlü kökler gelişir ve bitki toprağın derinliklerine nüfuz etmeye başlar (Li Dajue ve Mündel, 1996). Bu aşamadan sonra gövde hızla uzar ve dallanır. Gövde dik, silindirik yapıda yüzeyi pürüzsüz ve tüysüzdür. Köke yakın olan kısmı daha kalın olup yukarıya doğru inceler. Yapraklar koyu yeşil renkte, sapsız, tüysüz, oval veya oval-mızrak şeklindedir. Orta damarı belirgin olan yapraklar, gövde üzerinde alternatlı bir dizilim ve pennat damarlanma yapısı gösterir (Emongor ve Oagile, 2017; Smith, 1996; Zhou ve ark., 2014). Bitki, birincil, ikincil ve üçüncül dallara sahip olup her dal, yeşil oval braktelerden oluşan involukrum ile çevrili sarı, turuncu veya kırmızı renkli kapitulumlarla sonlanır (Şekil 2.1).

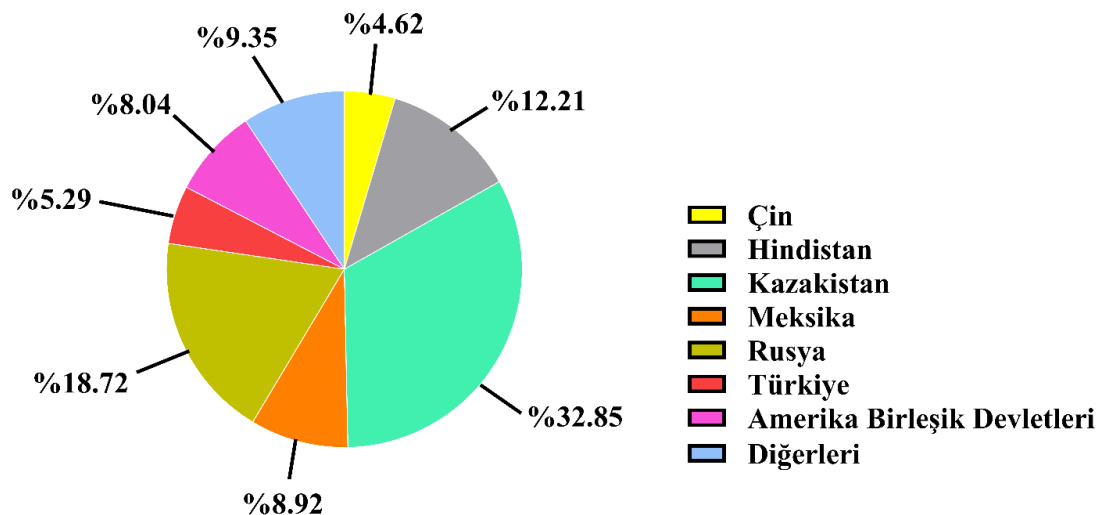
Dış brakteler ayrı, yaprak şeklinde ve bazen dikenlidir. İç brakteler ise birleşik, oval ve genellikle kısa beyaz tüylerle kaplıdır. Konik yapılı involukrumun üst kısmında, çiçek taç tüplerinin çıktığı küçük bir apikal açıklık bulunur. Reseptakül (çiçek tablası), düz ve geniş bir yapı olup yoğun bir şekilde çiçek brakteleri ile kaplıdır. Bu yapı üzerinde düzenli bir dizilim sergileyen çok sayıda çiçek bulunmaktadır. Aspir bitkisinin çiçeklenme dönemi yaklaşık bir ay sürer. İlk olarak birincil kapitulumla bağlı dallar çiçek açar, ardından ikincil ve üçüncül kapitulumların çiçeklenmesi gerçekleşir (Singh ve Nimbkar, 2007; Smith, 1996). Aspir çiçeğinin rengi, çiçeklenme süreci boyunca genellikle geçiş halindedir. En yaygın fenotipte, çiçek tomurcuğunun açılmasının ardından taç yaprakları; erken çiçeklenme evresinde sarı, tam çiçeklenme evresinde turuncu ve son çiçeklenme evresinde kırmızı renge dönüşmektedir (Yan ve ark., 2022). Bitki, her biri 0.01 ile 0.444 g ağırlığında olan, beyaz, parlak ve pürüzsüz yapıya sahip kalın perikarp içeren aken adı verilen meyvelere sahiptir (Emongor ve Oagile, 2017; Gautam ve ark., 2014). 2-3 m derinliğe kadar büyüeyebilen kazık kök sistemi sayesinde toprak derinliklerinde bulunan besin veya neme kolaylıkla ulaşabilmektedir. Ayrıca kazık kök sistemi sayesinde kurak ve yarı-kurak topraklarda da yetişebilmektedir (Işıgigür ve ark., 1995).



**Şekil 2.1.** Aspir bitkisinin çeşitli çiçek morfolojisi görüntüsü (Yan ve ark., 2022)

Aspir farklı çevre koşullarına uyum sağlayabilmesi nedeniyle dünyanın birçok yerinde yetiştirilmektedir (Hussain ve ark., 2016). Aspir tohumu Türkiye, Kazakistan, Rusya, Meksika, Hindistan, Çin ve Amerika Birleşik Devletleri'nde üretilip

tüketilmekte ve dünya çapında dağıtımı yapılmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 2023 verilerine göre; Türkiye'de 32.130 hektar alanda aspir ekimi yapılmakta ve 39.000 ton üretim kapasitesi ile ülkemiz dünyada 6. sırada yer almaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. 2023 FAOSTAT verilerine göre dünya aspir üretim yüzdeleri

Aspir hem gıda sektöründe hem de endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanılan özellikle aspir yağı üretimiyle dikkat çeken önemli bir bitkidir. Aspir tohumlarında yaklaşık %38-48 yağ, %15-22 protein ve %11-22 lif bulunur. Elde edilen aspir yağı, renksiz ve kokusuz bir özelliğe sahiptir. Bu yağ hem doymuş hem de doymamış yağ asitlerini bünyesinde barındırmaktadır (Sarkar ve ark., 2025). Farklı aspir genotiplerinden elde edilen yağlarda, yağ asidi profilleri bakımından çeşitlilik gözlemlenmekte olup bu profiller genellikle tekli doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri olarak iki ana grupta sınıflandırılmaktadır. Aspir yağında en yüksek oranda bulunan yağ asidi, %70 oranında linoleik asittir. Linoleik asidi, %14 oranında bulunan ve doymamış bir yağ asidi olan oleik asit izlemektedir. Bunları doymuş yağ asitleri olan %4,25 oranında palmitik asit ve %3,15 oranında stearik asit takip etmektedir (Khan ve ark., 2024). Aspir yağı özellikle yüksek oranlarda içerdiği oleik ve linoleik asit gibi doymamış yağ asitleri sayesinde kalp sağlığı üzerinde olumlu etkiler göstermekte ve kolesterol seviyelerinin dengelenmesine katkı sağlamaktadır. Bu özellikleri nedeniyle, aspir yağı yemeklik yağ olarak doğrudan tüketime uygun bir bitkisel yağdır. Bunun yanı sıra, aspir yağı hem tek başına hem de diğer yağlarla karıştırılarak biyodizel üretiminde de yaygın biçimde kullanılmakta bu yönüyle hem enerji sektörü hem

de sürdürülebilirlik açısından önemli bir potansiyel taşımaktadır (Khalid ve ark., 2017; Shahid ve ark., 2020; Yeilaghi ve ark., 2012).

Günümüzde aspir bitkisinden linoleik asit ve oleik asit gibi temel yağ asitlerinin yanı sıra flavonoidler, alkaloidler, steroidler, kinokalkonlar, fenolik bileşikler ve glikozitler gibi yaklaşık 200 farklı fitokimyasal izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Adamska ve Biernacka, 2021). Bu bileşikler, bitkinin morfolojik ve fizyolojik özelliklerinin oluşumunda rol oynamanın yanı sıra, böceklere ve patojen mikroorganizmalara karşı koruma sağlamakta ve ayrıca çeşitli farmakolojik etkilere ortaya koymaktadır. Yapılan birçok çalışmada aspir bitkisinde bulunan bileşiklerin antioksidan, anti-inflamatuar, anti-kanser, analjezik, kolesterol düzenleyici ve kardiyovasküler etkileri gösterilmiştir (Chang ve ark., 2025; Chen ve ark., 2022; Yan ve ark., 2022).

Tüm bu kullanım alanlarının yanı sıra, aspir yağının çıkarılmasından sonra geriye kalan küspe, yüksek protein içeriği nedeniyle hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir. Kurutulmuş yaprakları bitkisel çay üretiminde, çiçeklerinden elde edilen doğal pigmentler ise tekstil ve boya endüstrisinde kullanılmaktadır. Ayrıca, zengin bileşen profili sayesinde aspir, yüz ve saç kremleri, şampuanlar ve vücut losyonları gibi çeşitli kozmetik ürünlerin üretiminde de kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak, süs bitkisi olarak da yetiştirilmektedir (Hussain ve ark., 2016; Mani ve ark., 2020; Shahid ve ark., 2020; Yan ve ark., 2022).

## **2.2. Bitki Stres Faktörleri**

Stres, çeşitli uyaranların oluşturduğu tehdit olarak tanımlanır. Başka bir deyişle çevresel etmenler ile homeostaz arasındaki tutarsızlığa “stres” denir (Nick, 2024). Bitkiler yaşamları boyunca ışık, su, karbon ve temel besin maddeleri gibi çeşitli çevresel büyüme faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Bitkilerden verimli ve kaliteli ürünler elde etmek için bu çevresel etmenlerin optimum düzeyde olması gerekmektedir. Bu etmenlerdeki çok küçük artış veya azalışlar bitki fonksiyonlarında değişikliklere neden olmaktadır (Hatfield ve Prueger, 2015; Zhang ve ark., 2020). Hayvanlardan farklı olarak aktif yer değiştirme özelliği gösteremeyen, kökleri ile toprağa bağlı olan bitkiler dış uyaranlarla karşılaştıklarında hareket edemezler. Dolayısıyla bitkilerin hayatta kalabilmesi ve gelişebilmesi için dış uyaranları algılamak ve bu uyaranlara karşı hücrenel, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde savunma mekanizmaları geliştirmeleri gerekmektedir (He ve ark., 2018; Waadt ve ark., 2022; Wang ve ark., 2003).

Bitki stresleri biyotik ve abiyotik olarak iki gruba ayrılmaktadır. Tuzluluk, kuraklık, ağır metaller, aşırı sıcaklık, ultraviyole radyasyon gibi bitki büyümesi ve verimini optimum seviyelerin altına düşüren etmenler “abiyotik stres” faktörleridir (Cramer ve ark., 2011; Kumari ve ark., 2022; Wang ve ark., 2003). Bitkilerin coğrafi dağılımını etkileyen bu çevresel faktörlerin yanı sıra bakteri, mantar, virüs ve böceklerin etkileşimiyle bitkiler “biyotik streslere” de maruz kalırlar. Biyotik ve abiyotik stresler, dünya çapındaki tarımsal ürünlerin verim kaybının en büyük nedenlerindedir (Zhao ve ark., 2020).

Stres faktörleri bitkilerin değişen çevresel koşullarına bağlı olarak çok yönlü ve karmaşık yanıtlar geliştirmesine neden olur. Bitkiler çeşitli çevresel uyaranlara maruz kaldıklarında dış ortamdan hücre içine bilginin iletilmesi ve uygun adaptif yanıtların başlatılmasında sinyal iletim yolları rol oynar. Her bir stres etmeni kendine özgü bir sinyal iletim zinciri aracılığıyla algılanır ve buna bağlı olarak uygun adaptif cevaplar aktive edilir. Bitkinin strese verdiği cevaplar bitkinin gelişimsel durumuna, etkilenen dokuya ya da organa, stresin şiddetine, süresine, geçmiş stres deneyimlerine bağlı olarak değişen dinamik bir süreçtir (Cramer ve ark., 2011; Nick, 2024). Bitkilerin büyüme ve gelişmesine müdahale etmeden strese dayanma kapasitesi ise stres faktörlerinin türüne ve konsantrasyonuna bağlıdır (Nawaz ve ark., 2023). Bu sinyal iletim süreçlerinde, reaktif oksijen türleri (ROS) gibi ikincil haberciler önemli bir rol oynar. ROS, serbest radikal ve radikal olmayan molekülleri kapsar. Bitki hücresinde gerçekleşen fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol alan sinyal iletim ağlarının temel bileşenlerindedir. Bu sinyal iletim süreçlerinde, ROS gibi ikincil haberciler hem sinyalin taşınmasında hem de savunma yanıtlarının başlatılmasında önemli görevler üstlenir. ROS’lar, bitki hücrelerinde mitokondri, kloroplast ve peroksizomlarında gerçekleşen çeşitli metabolik aktivitelerin yan ürünleri olarak oluşur. Bitki stres koşullarına maruz kaldığında, ROS düzeyleri önemli derecede artar ve bu artış lipid peroksidasyonun şiddetlenmesine, membran ve nükleik asitlerde hasara ve protein denatürasyonu gibi oksidatif stresin gelişmesine neden olur (Venzhik ve ark., 2024). Bitkiler, oksidatif stresi dengelemek amacıyla hem enzimatik hem de enzimatik olmayan bileşenleri içeren özgün bir savunma sistemine, yani antioksidan sisteme sahiptir. Enzimatik antioksidan sistem; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POX), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimleri içerirken; enzimatik olmayan sistem ise karotenoidler, askorbik asit (C vitamini),  $\alpha$ -tokoferoller gibi molekülleri kapsar (Khan ve Khan, 2017).

### 2.2.1. Abiyotik stres

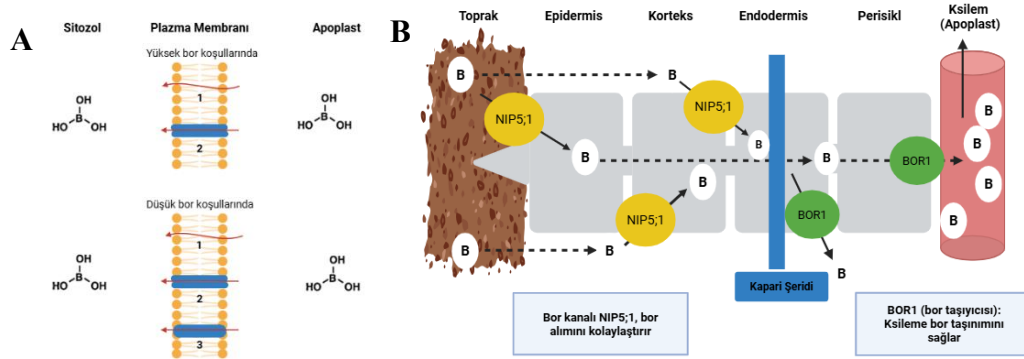
Abiyotik stres faktörleri tarımsal ürünlerin veriminin %50-70 oranında azalmasına neden olmaktadır. Günümüzde iklim değişikliği, insan faaliyetleri ve yetersiz tarım uygulamaları nedeniyle bu sorunlar daha da kötüleşmektedir (Junedi ve ark., 2023). Abiyotik stres; bitkilerde çeşitli değişikliklere yol açar ve bu değişiklikler bitkilerin büyüme, gelişme ve üreme yeteneğini engelleyerek üretkenliklerini olumsuz yönde etkiler. Abiyotik stres koşulları aynı zamanda ROS oluşumunun başlıca nedenlerindedir. Normal fizyolojik koşullarda, ROS'un üretimi ile detoksifikasyonu arasında bir denge bulunur. Ancak stres altında bu denge bozulur ve hücre içi ROS seviyeleri artar. Bu durum, hücre bileşenlerine zarar vererek proteinlerin yapısını ve işlevini bozar ve fitotoksositeye yol açabilir (Jalil ve Ansari, 2019; Zhao ve ark., 2020).

#### 2.2.1.1. Bor stresi

Bor (B), bitki büyüme ve aynı zamanda gelişmesi için gerekli olan temel mikro besin elementlerinden biridir. B'un optimum düzeyde gereksinimi iz miktarlarla sınırlı olduğundan dolayı diğer besin elementlerinden farklı olarak 'mikro' besin elementi olarak değerlendirilmektedir. Periyodik tabloda 13. grupta yer alan B yarı metal (metaloit), küçük atom boyutu ( $4,39 \text{ cm}^3/\text{mol}$ ), üç değerlik elektronu ve yüksek iyonlaşma enerjisine sahiptir. Özellikle hücre çeperi bileşenleri açısından kritik öneme sahip olan B, rhamnogalakturonan II (RG-II) bileşiklerinin çapraz bağlanmasında görev alarak pektin yapısının stabilizasyonunu sağlar. Bu sayede B, hücre çeperi yapısının korunması, hücre bölünmesi, bitki büyüme ve gelişiminin sürdürülmesi, verimliliğin artırılması ve çeşitli metabolik süreçlerin düzenlenmesi gibi pek çok hayati işlevde önemli roller üstlenir (Rodríguez ve ark., 2009; Hua ve ark., 2021; Kohli ve ark., 2023; Miwa ve Fujiwara, 2010; Princi ve ark., 2016; Zhao ve ark., 2024). B'un bitkilerde oynadığı temel rol ilk olarak 1923 yılında Warington *Vicia faba* üzerinde yaptığı çalışmalar ile ortaya konmuştur (Warington, 1923).

Toprakta B, borik asit  $[\text{B}(\text{OH})_3]$  veya borat  $[\text{B}(\text{OH})_4^-]$  olarak bulunur (Brdar ve Jakanovi'c, 2020; Landi ve ark., 2019). Borik asit, zayıf bir asit olup pH 7'nin altında çoğunlukla çözünmemiş formda kalır. Ancak toprak alkali hale geldikçe suyla etkileşime girerek borat anyonunu dönüştürür. Bu dönüşüm, toprak pH'nın B formu üzerindeki etkisini ve dolayısıyla B'un bitki tarafından alınımını doğrudan etkiler (Rodríguez ve ark., 2009).

B bitki kökleri tarafından yüksüz borik asit olarak alınır ve bitkiler tarafından iyonik şekilde alınmayan tek elementtir (Princi ve ark., 2016). B'un topraktan bitki dokularına alınması B seviyesine bağlı olarak üç farklı mekanizma ile gerçekleşir. (i) Kökler, B'u genellikle borik asit formunda plazma membranı boyunca pasif difüzyonla alır. Bu mekanizma toprakta yeterli veya aşırı bor bulunduğunda gerçekleşir. (ii) NIP (Nodulin 26-benzeri içsel proteinler) gibi belirli kanal proteinleri aracılığıyla gerçekleşen kolaylaştırılmış taşınım ve (iii) düşük B koşullarında aktifleşen BOR taşıyıcıları (yüksek afiniteli borat taşıyıcı proteinler) tarafından gerçekleştirilen enerjiye bağımlı aktif taşınım da bu süreçte rol oynar (Şekil 2.3). B alındıktan sonra ksilem hücreleri aracılığıyla transpirasyon akımıyla birlikte sürgünlere taşınır ve genellikle yaşlı yapraklarda birikir. Aynı zamanda floem yoluyla hem üreme hem de vejetatif dokulara da iletilebilmektedir. Ayrıca özellikle şeker alkolü (sorbitol, mannitol) üreten bitkilerde B bu bileşiklerle kompleks oluşturarak floem yoluyla taşınabilir (Brdar-Jokanovic, 2020; Kohli ve ark., 2023; Li ve ark., 2023; Miwa ve Fujiwara, 2010; Princi ve ark., 2016; Rodríguez ve ark., 2009; Srivastava ve ark., 2025).



**Şekil 2.3.** B'un transmembran boyunca taşınmasının moleküler mekanizmaları **1)**  $H_3BO_3$ 'ün lipid çift tabakası boyunca pasif difüzyonu **2)**  $H_3BO_3$ 'ün kanal benzeri majör içsel proteinler aracılığıyla kolaylaştırılmış geçirgenliği **3)** Düşük bor tedariğinde indüklenen, enerjiye bağımlı yüksek afiniteli bir taşıma sistemi aracılığıyla  $H_3BO_3$ 'ün taşınması **(A)**. Bitki köklerinde B taşınmasının şematik modeli **(B)** (Dannel ve ark., 2002).

Toprak çözeltisinde B'un optimum düzeyi bitki türüne göre değişiklik göstermekle birlikte genellikle 0,5–2,0 ppm aralığında kabul edilmektedir. Bu aralığın altındaki değerler B eksikliği, üzerindeki değerler ise B toksisitesi olarak değerlendirilmektedir. Diğer temel besin maddelerine göre B eksikliği ve B toksisite arasındaki konsantrasyon daha dardır. B'un hem eksikliği hem de fazlalığı bitkilerde strese neden olmaktadır (Arslan ve ark., 2022; Zhao ve ark., 2024). Bazı ülkelerde B

eksikliği, bazı ülkelerde ise B toksisitesi önemli bir tarımsal sorundur. Topraktaki B, suda kolayca çözünebilen borik asit formunda bulunduğundan yağışın ve toprak yapısının etkisiyle hareketlidir. Bu nedenle, çok yağış alan ve nemli bölgelerde B topraktan yıkanarak B eksikliğine yol açar. Hindistan'ın kuzeybatısı, Japonya, Bangladeş ve Brezilya bu eksiklikten etkilenen başlıca bölgelerdir. Buna karşılık, kurak ve yarı kurak bölgelerde B toprakta birikerek toksik düzeylere ulaşabilir. Türkiye, Güney Avustralya, Akdeniz ülkeleri, Kaliforniya ve Şili gibi ülkelerde B toksisitesi çeşitli tarım alanlarında bildirilmiştir (Brdar-Jokanovic, 2020; Miwa ve Fujiwara, 2010). Topraklar tarafından alınan B miktarını ve topraklardaki B biyoyararlanımını etkileyen faktörler arasında toprak pH'ı, dokusu, nemi ve sıcaklığı uygulamaları yer alır (García-Sánchez ve ark., 2020).

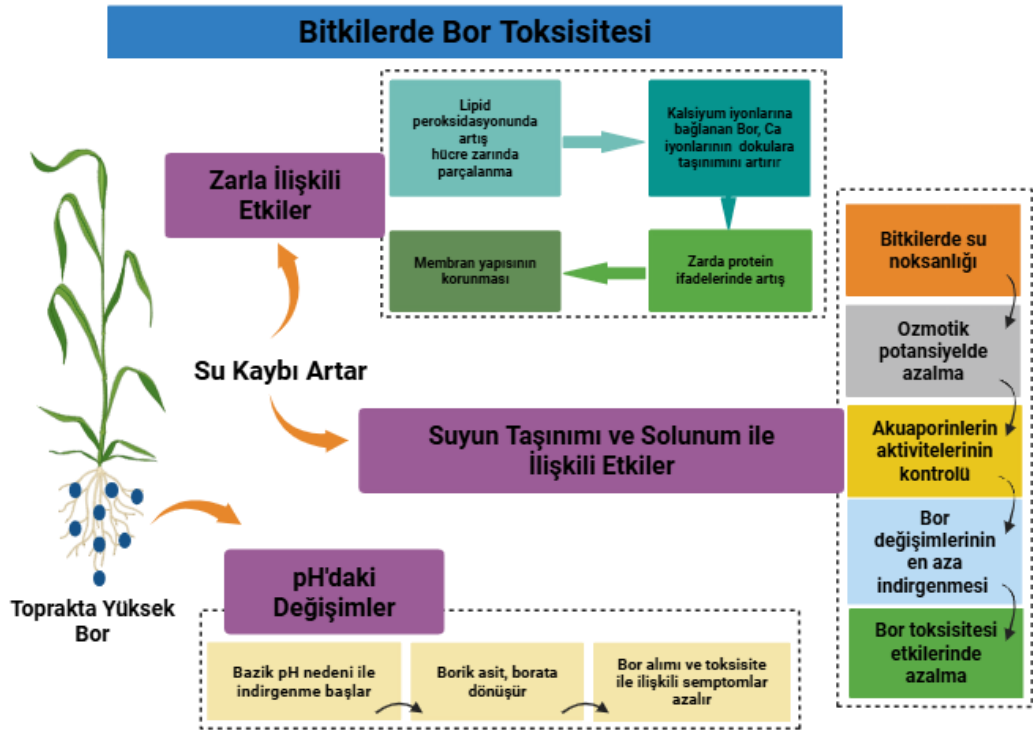
### 2.3. Bitkilerdeki Bor Toksisitesi

Bor toksisitesi, genellikle yüksek B içeren yeraltı sularının buharlaşması sonucu kurak ve yarı kurak bölgelerde B'un üst toprakta aşırı birikmesiyle doğal olarak ortaya çıkar. Ayrıca, B açısından zengin suyla sulanan ve/veya aşırı gübrelenen topraklarda, B genellikle bitkiler için toksik seviyelere birikir. Bu durum, bitkinin metabolik gereksinimlerini aşan düzeyde B alımı ve dokularda birikimiyle birlikte hücrelere zarar verecek konsantrasyonlara ulaşması sonucunda gelişir (Hua ve ark., 2021; Princi ve ark., 2016; Zhao ve ark., 2024).

B toksisitesi, bitkilerde çeşitli fizyolojik ve morfolojik bozulmalara yol açar (Şekil 2.4). Lipid peroksidasyonun artması, sürgün ve kök büyümesinin azalması, fotosentetik aktivitenin düşmesi ve yapraklardaki klorofil içeriğinin azalması, bu toksisitenin karakteristik semptomları arasında yer almaktadır. B toksisitesinin ilk belirtileri yaprak uçlarında görülen klorotik veya nekrotik lezyonlardır. Bu durumun temel nedeni, B'un bitkide taşınım şeklidir. B, bitkide transpirasyon yolu ile taşındığı için terleme akışının sonlandığı yaprak uçlarında birikir (Rodríguez ve ark., 2009). Özellikle aşırı B birikimi bitkilerde, karbondioksit (CO<sub>2</sub>) asimilasyonu, fotosistem II fotokimyası, karbonhidrat metabolizması ve antioksidan savunma sistemleri gibi temel fizyolojik süreçleri olumsuz etkilemektedir. B toksisitesi yalnızca yapısal hasara yol açmakla kalmaz aynı zamanda ROS'un oluşumu yoluyla hücresel hasara neden olur ve oksidatif strese de yol açar. Bu durum, hücre zarlarının büyümesine, membran geçirgenliğinin bozulmasına ve enzim inaktivasyonuna yol açar. Şiddetli toksisite koşullarında özellikle hassas türlerde B'un

ölümcül etkilere neden olabileceği de bildirilmiştir (Hua ve ark., 2021; Rodríguez ve ark., 2009; Sülüs ve Leblebici, 2022; Zhao ve ark., 2024).

Toksisite mekanizmaları hâlâ tam olarak açıklığa kavuşmamış olsa da B'un cis-konfigürasyonunda birden fazla hidroksil grubu içeren bileşiklere bağlanma yeteneği, toksisite açısından önemli görülmektedir (Princi ve ark., 2016).



Şekil 2.4. Bitkilerde B toksisitesine mekanizmasının şematik gösterimi (Zhao ve ark., 2024)

## 2.4. Nanoteknolojinin Tarihçesi, Tanımı ve Uygulama Alanları

Nano-bilimin güçlü bilimsel temeli, nano-ölçek aralığının önemi ve nano-malzemelerin/ cihazların gelecekte sunabileceği fırsatlar ilk kez fizikçi Richard Feynman (1959) ve Nobal Laurette (1965) tarafından fark edilip vurgulanmıştır. Nanoteknoloji terimi 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından ilk defa kullanılmıştır (Rao ve ark., 2020; Shang ve ark., 2019). Nanoteknoloji kelimesi Yunanca “dwarf-cüce” anlamına gelmektedir. Nanoteknoloji, 1-100 nm boyut aralığına sahip nanoparçacıklar ile nano ölçekte araştırmalar yaparak yeni bilimsel yaklaşımlar sunan mevcut teknolojilerden binlerce kat daha küçük cihazlar oluşturmak için, bireysel atomları ve molekülleri kontrol ederek malzeme geliştiren bilim alanıdır (Azim ve ark., 2022; Khanna, 2013; Wang ve ark., 2016). Nanoteknolojik çalışmalar günümüzde oldukça önemli alanlara hizmet

ederek bilimsel çalışmalara katkılar sunmaktadır. İlaç araştırmaları, tıp, kimya, malzeme bilimi ve tarım gibi çeşitli alanlarda nanoteknolojik gelişmelerden yararlanılmakta ve güncel gelişmeler ile birçok çevresel soruna çözümler bulunmaktadır. Nanobiyoteknoloji boyuta bağlı nitelikleri, yüksek yüzey-hacim oranı ve spesifik optik özellikleriyle bitki koruma uygulamalarına ilişkin büyük umutlar vadetmektedir (Duhan ve ark., 2017; Tripathi ve ark., 2015; Tunca, 2015). Modern tarım yöntemlerinin ekosistem üzerindeki zararlı etkileri endişe yaratmaktadır. Bu bağlamda nanoteknolojik çalışmalar tarım ve ziraat sektöründe kullanılan geleneksel uygulamalardan kaynaklı olumsuzlukların ortadan kaldırılmasında da önemli bir rol oynayacaktır. Gün geçtikçe önem kazanan nanoteknoloji alanının; küresel ısınma, artan sanayileşme, dengesiz nüfus artışı ve antropojenik bozulmalarla birlikte hızla artış gösteren çevre kirliliğine karşı çözüm oluşturabileceği düşünölmektedir. Nanoteknolojinin tarımda kullanımının yaygınlaştırılmasıyla besin kaybını en aza indirmek, bitki patojenlerini tanımlamak, pestisit kalıntılarını tespit etmek, stres faktörlerinin etkilerini azaltmak ve verimi artırmak amaçlanmaktadır (Kim ve ark., 2018; Rao ve ark., 2020; Tripathi ve ark., 2017). Nanoteknolojik çalışmalar nanopartiküller, nanokompozitler, nano-kapsüller, nano-gözenekli malzemeler, nanolifler, fullerenler, nanoteller, tek duvarlı ve çok duvarlı (karbon) nanotüpler ve moleküler elektronik gibi nano-yapılı malzemeleri kapsamaktadır (Ayuk ve ark., 2017).

## 2.5. Nanopartiküller ve Sınıflandırılması

Nanoteknoloji biliminden uzun sürelerdir yararlanılmasına rağmen nanopartiküllerin tarım alanında kullanılma fikri yakın zamanda ortaya çıkan yeni teknolojik bir gelişmedir. NP boyutları nedeniyle tarım için oldukça hassas ve sürdürülebilir bir araç olarak kullanılır (Ernst ve ark., 2023; Shang ve ark., 2019). Küçük boyutu ve NP'lerin en önemli özelliklerinden biri olan yüksek yüzey-hacim oranları nedeniyle nanopartiküller biyolojik bileşenlerle kolaylıkla etkileşime girebilir. Bir nanopartikülün kendisinden büyük ve hacimli malzemeden farklı olmasının temel nedeni NP ile ilişkili atomların büyük bir kısmının yüzeyde meydana gelmesidir. Yüzey alanı/hacim oranı arttıkça taneciğin yüzeyindeki atomların davranışı taneciğin içindeki atomlara göre daha güçlü hale gelir. NP'ler, bu nedenle önemli ölçüde artan yüzey alanı/hacim oranından yararlanır. NP'lerin yüzey alanı arttıkça biyolojik etkinlikleri de artabilmektedir. Parçacıklar küçöldükçe kuantum mekaniği davranışı sergilerler ve

boyutları dalga boyundan daha küçük olduğu için NP'ler ışığı engellemez (Begum ve ark., 2022; Khanna, 2013; Kundu ve ark., 2020; Tarafdar, 2020) Tarımsal araştırmalar için nanopartiküllerin yüksek reaksiyon potansiyeli, yüzey alanı genişliği, farklı şekillerde olabilmesi ve maliyeti gibi avantajları nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Dilnawaz ve ark., 2023).

NP'ler kaynağına göre genel olarak üç ana sınıfa ayrılır: Doğal, antropojenik ve tasarlanmış (mühendislik) NP'ler. Doğal NP'ler insandan bağımsız olarak ortaya çıkan antropojenik NP'ler ise insan etkisiyle oluşan nanomalzemelerdir. Doğal NP'ler, dünyada yaşam başlamadan önce var olmuştur ve tüm ekosistemde bulunur. Gelişen ve evrimleşen tüm yaşam formları hem doğal hem de antropojenik kaynaklardan dolayı hep var olan bazı nanopartikül türlerine maruz kalmıştır ve bu nedenle varlıklarını tolere etmek için mekanizmalar geliştirmişlerdir. Doğal NP'ler çok çeşitli ve düzensizdir, tasarlanan NP'ler ise çubuk, tabaka, küresel, dendrimer ve çok duvarlı karbon nanotüpler gibi istenilen özelliklerde olabilmektedir (Kumar ve ark., 2022). Doğal olarak bulunan NP'lerin en yaygın türleri silikat kil mineralleri, fullerenik bileşikler ve siyah karbondan oluşurlar (Khanna, 2013; Kundu ve ark., 2020; Rao ve ark., 2020). İnsan tarafından tasarlanan, üretilen ve büyük ilgi gören diğer bir sınıf ise mühendislik ürünü NP'lerdir. Tasarlanmış NP'ler amaca uygun olarak farklı şekil ve boyutta sentezlenebilirler (Khanna, 2013). Bu NP'lerin bitkiler üzerinde etkisi bitki büyüme aşamalarına, yöntem ve maruz kalma süresine göre değişiklik gösterir (El-Moneim ve ark., 2021). Genel olarak NP'ler metal, alaşım, seramik, metal oksit, nitrür, karbür gibi maddelerden oluşmaktadır (Ayuk ve ark., 2017).

NP'ler yapısal özelliklerine göre üç sınıfa ayrılırlar: organik, karbon bazlı ve inorganik NP'ler (Ealia ve Saravanakumar, 2017). Organik NP'ler protein, karbohidrat, lipid veya polimer gibi organik bileşiklerden oluşur. Bu sınıfa dendrimerler, lipozomlar, miseller ve ferritin gibi protein kompleksleri örnek verilebilir. Karbon bazlı NP'ler, yalnızca karbon atomlarından oluşur; fullerenler, karbon siyahı ve karbon kuantum noktaları bu grupta yer alır. İnorganik NP'ler ise metal, seramik ve yarı iletken yapıdır. Metal NP'ler (örneğin Cu, Ag, Au) geniş bir optoelektronik etkiye sahiptir ve faset, boyut, şekil kontrollü üretimleri sayesinde ileri teknolojide önemli yer tutar. Seramik NP'ler, ısı ve soğutma ile sentezlenen metalik olmayan katılardır; amorf, gözenekli veya içi dolu yapıda olabilirler ve fotokataliz gibi alanlarda kullanılır. Yarı iletken NP'ler, geniş bant aralıkları sayesinde optoelektronik özellikler gösterir ve

fotokatalitik sistemler ile elektronik cihazlarda önemli uygulamalara sahiptir (Joudeh ve Linke, 2022; Khan ve ark., 2017).

## 2.6. Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi ve Karakterizasyonu

Nanopartikül sentezi ve uygulama alanları başlı başına bir çalışma alanı olup fiziksel, biyolojik, kimyasal ve hibrit proseslerle ana başlıkları altında çeşitli yöntemlerle nanopartikül sentezlenebilir. Fiziksel yöntemleri içeren yukarıdan aşağıya (top-down) yaklaşım ve kimyasal ile biyolojik yöntemleri içeren aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşım olmak üzere sentez prosedürü iki temel yaklaşımı içerir (Huston ve ark., 2021; Junedi ve ark., 2023; Khanna, 2013; Namakka ve ark., 2023). Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal yöntemlerinin kullanılması tarım ve sağlık alanlarında sınırlı kalmıştır. Bunun başlıca nedenleri; toksik kimyasalların kullanılması, pahalı ekipman ve cihazların gerekliliği, yüksek sıcaklık, basınç ve enerji gibi zorlu işleme koşulları, harcanan zaman, zararlı yan ürünlerin oluşumu, yüksek maliyet, çevre üzerindeki zararlı etkileri sentezin zorluklarını artırmaktadır. Yeşil sentez fiziksel ve kimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığında zararsız bir yol olarak kabul edilir ve nanopartikül sentezinde birçok avantaj sağlar (Begum ve Jayawardana, 2023).

Yeşil sentez, nanopartikül üretiminde çevreye zarar vermeyen ve sürdürülebilir bir yöntem sunar. Bu sentez yöntemi toksik kimyasalların kullanımını sınırlarken indirgen ajan olarak doğal ve yenilenebilir kaynakları kullanır. Bitkiler, algler, mikroorganizmalar, mayalar ve mantarlar gibi biyolojik ajanlar hem indirgeme ajanı hem de stabilizatör olarak görev yaparak nanopartikül sentezini mümkün kılmaktadır. Bu ajanlar arasında özellikle bitkiler, farklı şekil ve boyutlarda kararlı nanopartiküller üretebilme yetenekleri sayesinde daha sık tercih edilmektedir. Bitkilerin yaprak, meyve, kök, gövde ve tohum gibi farklı organları, içerdikleri zengin fitokimyasal bileşikler nedeniyle yeşil sentez süreçlerinde etkin bir şekilde kullanılabilir (Azameti ve Imoro, 2023; Deka ve ark., 2025; Haji ve ark., 2025).

Mikrodalga destekli sentez nanopartikül üretiminde son yıllarda öne çıkan yenilikçi ve sürdürülebilir bir yöntem olarak dikkat çekmektedir. Bu yöntemde mikrodalga radyasyonu, reaksiyon ortamındaki polar moleküller ve iyonlarla doğrudan etkileşerek hızlı ve hacimsel bir ısıtma sağlar. Bu sayede reaksiyon süreleri günlerden dakikalara veya hatta saniyelere kadar düşerken, enerji tüketimi de önemli ölçüde azalır (Kheradmandfard ve ark., 2025). Mikrodalga ısıtmanın lokalize ve seçici yapısı,

reaksiyon koşulları üzerinde hassas bir kontrol imkânı sunar bu da homojen boyutta, yüksek kristallikte ve saf nanopartiküllerin elde edilmesini kolaylaştırır. Ayrıca bu yöntem, son ısıl işlem gerektirmemesi, ölçeklenebilirliği, tekrarlanabilirliği ve farklı morfolojilerde partiküllerin sentezlenmesine olanak tanınması açısından da geleneksel sentez yöntemlerine göre üstünlük taşımaktadır (Nguyen ve ark., 2023; Nageswara Rao ve ark., 2024). Reaksiyon kinetiğinde gözlenen hızlanma, çekirdeklenme ve büyüme aşamalarının etkin şekilde kontrol edilmesini sağlarken, partikül agregasyonunu da minimuma indirir. Dolayısıyla mikrodalga destekli sentez, sadece verim ve ürün kalitesini artırmakla kalmaz; aynı zamanda düşük maliyetli, çevre dostu ve zaman açısından verimli bir alternatif olarak öne çıkar. Bu bağlamda, özellikle gümüş nanopartikül (Ag NP) sentezinde yaygın olarak tercih edilen bu yöntem, modern nanoteknolojik uygulamalar için umut vadeden bir yaklaşım sunmaktadır (Jahan ve Isildak, 2021; Sreeram ve ark., 2008).

Nanopartiküller nanopartikülün boyutu, morfolojisi, yüzey özellikleri, dağılım ve kompozisyon gibi özelliklerin belirlenmesi amacıyla çeşitli tekniklerle karakterize edilir. Karakterizasyon için kullanılan teknikler; ayırma tekniklerine dayalı karakterizasyon, mikroskop tekniklerine dayalı karakterizasyon ve spektrofotometrik tekniklerine dayalı karakterizasyon olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Ayırma tekniklerine dayalı karakterizasyon temel olarak nanopartiküllerin boyutlarına bağlı olarak yapılan bir karakterizasyon yöntemidir. En çok tercih edilen yöntemlerden biri olan mikroskopi tekniklerine dayalı karakterizasyonda boyut, şekil ve parçacık toplanması değerlendirilir. Spektrofotometrik tekniklerine dayalı karakterizasyon ise parçacık toplanması ve ortalama parçacık boyutu hakkında bilgi verir (Arruda ve ark., 2015). UV-Görünür Spektrofotometri (UV-Vis), Enerji Dağılımlı X-ışını Kırınımı (XRD), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), Zeta Potansiyeli, Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS), Elektron Mikroskopları karakterizasyon işlemleri için yaygın olarak kullanılmaktadır (Jaison ve ark., 2023).

## **2.7. Gümüş Nanopartiküller**

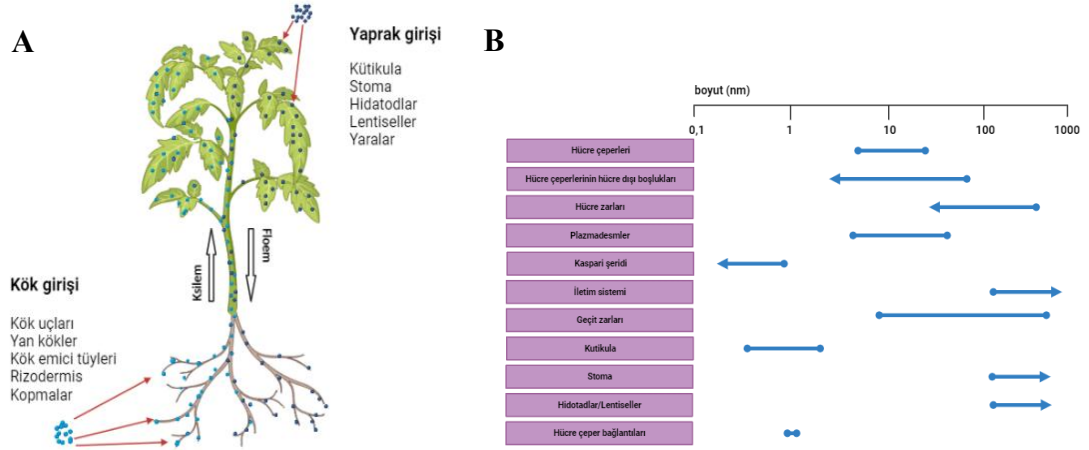
Gümüş, antik çağlardan beri kirlenmeyi önlemek için su depolamada kullanılmış ve günümüzde ticareti en çok yapılan nanomalzemedir (Borase ve ark., 2014). Gümüş nanopartiküller, diğer metal nanopartiküllere kıyasla yüksek kararlılıkları ve düşük

kimyasal reaktiviteleri nedeniyle en çok tercih edilen nanopartiküller arasında yer almaktadır (Deka ve ark., 2025; Kharissova ve ark., 2013).

Ag NP'ler, bakteriler, mantarlar, virüsler ve algler dahil olmak üzere çok çeşitli mikroorganizmalara karşı geniş spektrumlu biyosidal aktivite göstermektedir. Bu özellikleri sayesinde Ag NP'ler tarımda bitki patojenlerinin kontrolünde, güneş kremleri, gıda ambalajları, antibakteriyel kaplamalar ve su arıtma sistemleri gibi çeşitli ticari ve endüstriyel alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Amooaghaie ve ark., 2015; S. Kumar ve ark., 2023). Son yıllarda, Ag NP'ler tarım sektöründe çevre dostu uygulamaları nedeniyle önemli bir ilgi görmektedir (Alabdallah ve Hasan, 2021).

## **2.8. Nanopartiküllerin Bitkiye Alımı ve Taşınımı**

Nanopartiküllerin bitki tarafından etkin bir şekilde alınması bitki içerisindeki işlevselliklerinin sağlanabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. NP'ler bitki dokularına kök dokularından veya toprak üstü dokulardan (örneğin; kütikül, stomalar, hidatodlar ve trikrom) girebildiği gibi yara bölgelerinden de girebilir (Şekil 2.5). Bununla birlikte, benzersiz fizikokimyasal özelliklere sahip belirli nanopartiküller, nanotaşıyıcı olarak hareket etmekten ziyade doğal olarak bitki büyümesini ve stres direncini artırır. Nanopartiküllerin biyolojik işlevi, fizikokimyasal özelliklerine, uygulama yöntemine (toprak, yaprak ve hidroponik) ve kullanılan konsantrasyona bağlıdır. NP'ler bitki kökleriyle etkileşime girdikten sonra hava kısımlarına taşınır ve hücresel veya hücre altı organellerde birikir. Bitki kökleri tarafından topraktan NP'lerin adsorpsiyonu, biyoakümüülasyonun ilk adımı olarak tanımlanabilir (Ali ve ark., 2021). Kök dokularında bulunan ekzodermis ve endodermiste bulunan suberin (su geçirmez madde) nanopartikül alımını kısıtlayan önemli bir fizyolojik bariyer oluşturur. Ancak, yanal köklerin gelişimi sırasında bu bariyerin zayıflaması apoplastik baypas yoluyla nanopartiküllerin ksilem dokusuna ulaşmasını ve böylece bitki içinde etkin bir şekilde taşınmasını kolaylaştırmaktadır (Dilnawaz ve ark., 2023; Tanveer ve ark., 2020).



**Şekil 2.5.** Nanopartiküllerin bitkiye alımı ve taşınması (A) bitkiye girerken karşılaştıkları boyut sınırlandırmaları (B) (Wang ve ark., 2016).

## 2.9. Nanopartiküllerin Bitki Üzerindeki Etkileri

Nanopartiküller; bitki büyümesini, gelişimini ve üretkenliğini artırmada potansiyel taşıyan araçlar olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca, abiyotik ve biyotik stres koşullarının hafifletilmesine katkı sağladıkları için, tarımsal uygulamalarda nanobiyoteknolojik yaklaşımların kullanımı giderek artmaktadır. Bununla birlikte, nanopartiküllerin bitkiler üzerindeki etkileri büyük ölçüde uygulama konsantrasyonuna bağlıdır; optimum düzeylerde büyümeyi teşvik edici etki gösterirken, yüksek konsantrasyonlarda ise büyümeyi olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bu nedenle, nanopartiküller tohum çimlenmesi, kök gelişimi ve biyokütle oluşumu üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etkiler gösterebilmektedir (Azameti ve Imoro, 2023; Krishnaraj ve ark., 2012; Yasmin ve ark., 2021). Ag NP'ler besin eksikliklerinin üstesinden gelerek, enzimatik süreçleri artırarak ve abiyotik stresler altında bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin bitki köklerine yapışmasına yardımcı olarak mahsul stres toleransını artırdığı gösterilmiştir (Alabdallah ve Hasan, 2021). Aksine NP'lerin yüksek konsantrasyonlarda birikimi ve agregasyonu bitkilerin hücresel yapısını, fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerini ve moleküler düzensizlikleri değiştirerek ürün verimliliğini azaltan fitotoksisiteye neden olur (Gowtham ve ark., 2024).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitki Materyali

Bu tez çalışmasında kullanılacak olan aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisine ait tohumlar T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından temin edilmiştir. Bu çalışma kapsamında “Dinçer ve Koç42” isimli iki farklı aspir çeşidi kullanılmıştır.

#### 3.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu

##### 3.2.1. Bitki yetiştirme koşulları

Aspir tohumlarından morfolojik olarak düzgün ve boyutları birbirine yakın olanlar seçilmiş ve iki saat boyunca distile suda bekletilmiştir. Tohumlar seçilerek saksılara ekilmiş ve iki gün aralıklarla sulama işlemi gerçekleştirilmiştir.

##### 3.2.2. Aspir yapraklarının hazırlanması ve ekstraksiyonu

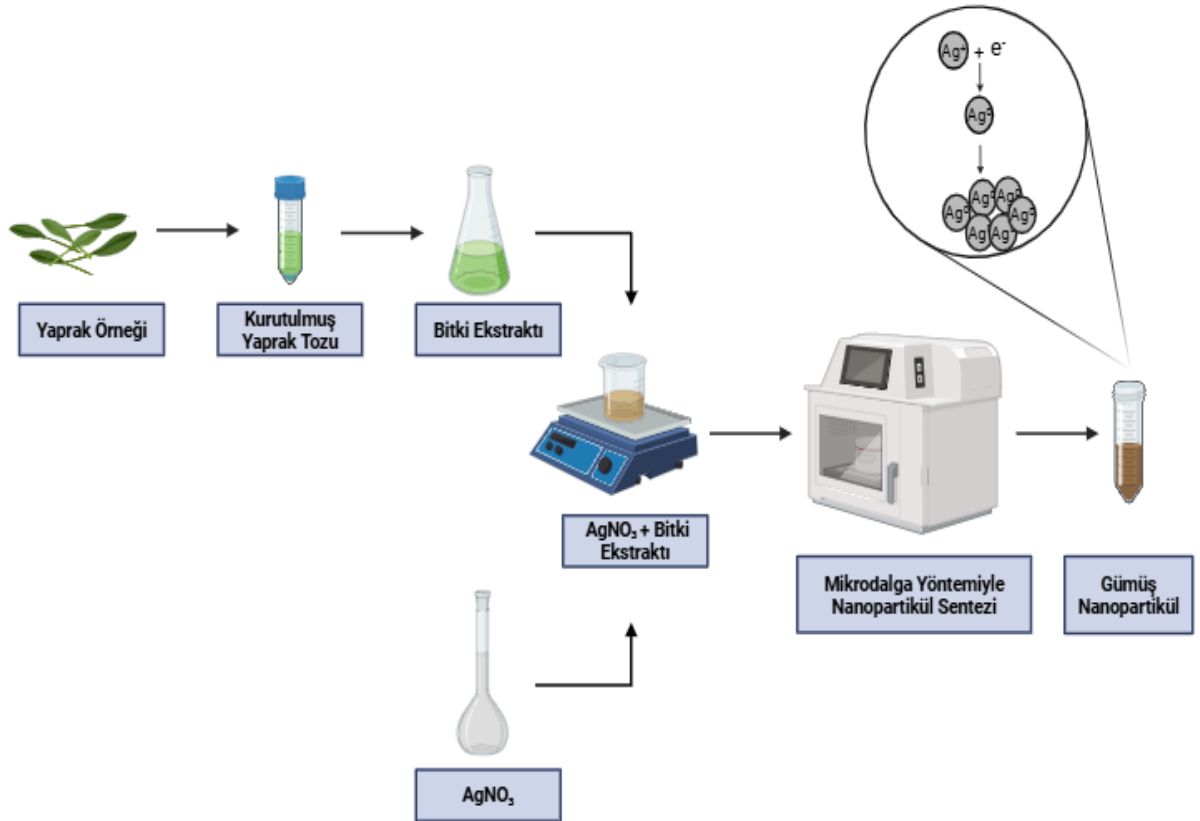
Morfolojik olarak olgunlaşmış bitki yaprakları 30 gün büyütülmüş ve hasat edildikten sonra sterilizasyon amacıyla önce %70 etil alkolle (EtOH) ardından iki kez distile suyla yıkanmıştır. Steril koşullarda gerçekleştirilen yıkama işlemlerinin ardından bitki yaprakları iki gün boyunca etüvde 80°C’de kurutulmuştur ve kurutulan bitki yaprakları havanda öğütülmüştür. 0,8 gram öğütülmüş bitki, 16 mL %80 EtOH içerisinde bir saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon işleminden sonra Whatman kağıdından (no:1) geçirilerek süzme işlemi yapılmıştır. Elde edilen bitki ekstraktı, Ag NP sentezinde indirgen ajan ve stabilizatör olarak kullanılmak üzere +4°C’de saklanmıştır.

##### 3.2.3. Gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezi

Gümüş nanopartiküller yeşil sentezinin optimize edilebilmesi amacıyla; AgNO<sub>3</sub> derişimi, AgNO<sub>3</sub> ve bitki ekstraktı hacimsel oranı, pH, sıcaklık ve reaksiyon süresi gibi parametreler belirlenmiş ve bu doğrultuda sentez işlemi gerçekleştirilmiştir.

Gümüş nanopartikül sentezi için gümüş iyonu ( $\text{Ag}^+$ ) kaynağı olarak %99 saflıkta gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ , Carlo Erba) kullanılmıştır. 5 mM  $\text{AgNO}_3$  çözeltisine, 1 mL bitki ekstraktı damla damla eklenerek manyetik karıştırıcı üzerinde 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra karışımın pH'ı 7 olacak şekilde 0,1 M sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ) ile ayarlanmıştır. NP kararlılığının ve veriminin düşük olması nedeniyle reaksiyon laboratuvar tipi mikrodalga cihazı (Mars 6 One Touch Technology) ile ısı kontrollü olarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan çözeltiler eşit miktarlarda tüplere dağıtılmış ve cihaza yerleştirilmiştir. Jahan ve Isildak'ın çalışmalarında kullandığı 300 Watt gücünde 25 dakika boyunca  $90^\circ\text{C}$ 'ye kadar sıcaklık artışının sağlandığı program uygulanmıştır (Şekil 3.1) (Jahan ve Isildak 2021).

Reaksiyon sonunda aglomere olan nanopartikülleri uzaklaştırmak için 10 dakika boyunca 9000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Aglomerasiyondan ayrılan Ag NP süspansiyonu, sonraki deneylerde kullanılmak üzere  $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır.



Şekil 3.1. Ag NP'lerin mikrodalga destekli yeşil sentezinin şematik gösterimi

### **3.2.4. Gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu**

#### **3.2.4.1. Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis) analizi**

Gümüş nanopartikül oluşumu UV-Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-Vİs, Agilent Technologies Cary 60) kullanılarak 200-800 nm dalga boyu aralığında yüzey plazmon rezonans (YPR) bandının takibi ile belirlenmiştir. UV-Vis, nanopartiküllerin oluşumunu doğrulamak için en basit ve hızlı yöntemdir (Reda ve ark., 2019).

#### **3.2.4.2. Taramalı geçirimli elektron mikroskobu (STEM) analizi**

Ag NP'lerin morfolojik özelliklerini (yüzey, boyut, şekil ve agregasyon gibi) yüksek çözünürlükte incelemek için Taramalı Geçirimli Elektron Mikroskobu (STEM, ZEISS Gemini SEM 500) kullanılmıştır. Nanopartikül süspansiyonundan 10-20 µL örnek alınarak bakır grid tabakaları üzerine damlatılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Ardından, STEM cihazı ile görüntüler elde edilmiştir.

#### **3.2.4.3. Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) ve enerji dağılımlı X-ışını (EDX) analizi**

Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM, ZEISS Gemini SEM 500) kullanılarak Enerji Dağılım X-ışını (EDX) analizi için nanopartikül süspansiyonu karbon bant üzerine damlatılarak 4,4 nm kalınlığında iridyum ile kaplanmıştır. Ardından nanopartikül içeriğindeki elementler ve yüzdesel bileşimleri belirlenmiştir

#### **3.2.4.4. İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) analizi**

Sentezlenen NP'lerde Ag konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS, Aligent Technologies 7900) kullanılmıştır. Analiz öncesinde 100 µL NP örneğine 1 mL derişik hidroklorik asit (HCl) eklenmiş, ardından uygun oranlarda deiyonize su ile seyreltmeler yapılarak ölçüm yapılmıştır.

### 3.2.4.5. Zeta potansiyeli analizi

Gümüş nanopartiküllerin yüzey yükünün belirlenmesi için zeta potansiyeli ölçüm cihazı (MALVERN Nano ZS90) kullanılmıştır. Zeta potansiyeli, nanopartiküllerin koagülasyon eğilimi ve yüzey reaktivitesini değerlendirmek için güvenilir bir parametre olarak kabul edilmektedir (Rastogi ve ark., 2017).

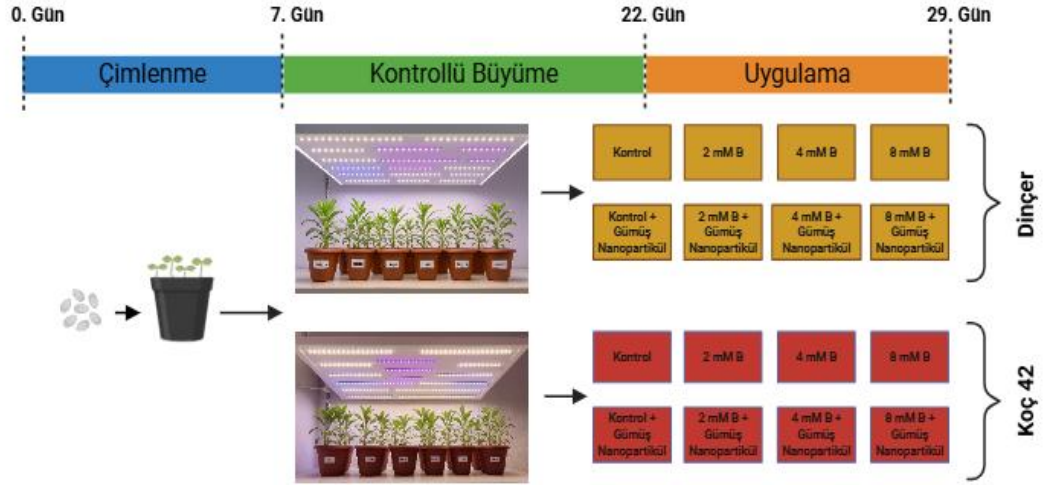
### 3.2.4.6. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR) ve X-ışını difraktometresi (XRD) analizi

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR, Thermo Scientific-Nicolet IS20) ve X-ışını Difraktometresi (XRD, PANalytical EMPYREAN) analizleri için Ag NP'ler ve bitki ekstraktı etüvde 2 gün boyunca kurutulmuştur. Bitki ekstraktındaki ve NP süspansiyonundaki yer alan fonksiyonel grupları aydınlatmak amacıyla FTIR, sentezlenen Ag NP'lerin kristal yapısını ve faz kompozisyonunu belirlemek amacıyla XRD analizi gerçekleştirilmiştir. XRD kırınımı ölçümleri,  $2\theta = 5-90$  derece aralığında yapılmıştır.

## 3.3. Bor ve Gümüş Nanopartikül Uygulamaları için Bitki Yetiştirme Koşulları

Benzer morfolojiye sahip, embriyo ve tohum kabuğu sağlam olan seçilmiş tohumlar %5'lik sodyum hipoklorit (NaClO) ile sterilize edildikten sonra distile su ile 5 kez yıkanmış ve imbibisyon sağlanması amacıyla iki saat boyunca distile suda bekletilmiştir. Aspir genotiplerine ait tohumlar perlit ile doldurulmuş viyollerde 7 gün çimlendirildikten sonra iklim odasında kontrollü koşullar altında hidroponik bir ortam sağlayan  $\frac{1}{2}$  Hoagland solüsyonu içeren saksılara aktarılmıştır. Deney düzeneği, her grup için bir saksıda 4 viyol ve her viyolde 4 bitki olacak şekilde planlanmış olup bu düzende toplam 16 deney grubu oluşturulmuştur (Şekil 3.2). 15 gün kontrollü koşullar altında büyüyen bitkilere, Arslan ve ark.'larının aspir bitkisi üzerinde yaptığı daha önceki çalışmadan hareketle 2 mM, 4 mM, 8 mM konsantrasyonlarında B uygulanmıştır. Ag Np konsantrasyonu ise, ICP-MS sonuçlarına göre 50 ppm olarak belirlenmiş ve bu değer Sharma ve ark.'nın en iyi büyüme profilini rapor ettiği konsantrasyonla da uyumludur (Arslan ve ark., 2022; Sharma ve ark., 2012). Bor kaynağı olarak borik asit ( $H_3BO_3$ , Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Bir hafta boyunca uygulamaya tabi tutulan aspir bitki

yapraklarına iki gün arayla toplam iki kez Ag NP püskürtme yöntemiyle uygulanmıştır. Nanopartiküller, bitkinin yüzeyine püskürtüldükten sonra kolay ve etkili bir şekilde emilir (Ghiyasi ve ark., 2023). Ag NP adhezyon etkinliğini sağlamak amacıyla Tween-20 kullanılmıştır. Ayrıca her iki günde bir bor içeren Hoagland besin çözeltisi yenilenmiştir. 29. günün sonunda tüm gruplar hasat edilmiş ve ölçümler yapılmıştır.



Şekil 3.2. B ve Ag NP uygulamalarına ait deneme düzeneği şeması

### 3.4. Ölçüm ve Analizler

#### 3.4.1. Morfolojik ölçümler

##### 3.4.1.1. Bitki boyu ve yaprak sayısı ölçümleri

Kontrol ve uygulama gruplarındaki aspir bitkilerinin kök hizasından sürgün ucuna kadar olan uzunlukları cetvel yardımıyla ölçülerek bitki boyu (cm. bitki<sup>-1</sup>) 3 tekrarlı (n=3) olacak şekilde belirlenmiştir. Yaprak sayıları (adet. bitki<sup>-1</sup>) her grup için 6 tekrarlı (n=6) olacak şekilde sayılarak not edilmiştir.

### 3.4.1.2. Taze ve kuru ağırlık (biyokütle) ölçümleri

Aspir bitkilerinin yaprakları hasat zamanında dört tekrarlı olacak şekilde (n=4) tartılarak taze ağırlıkları (TA) belirlenmiştir. Daha sonra aynı yapraklar 80°C’de etüvde 24 saat bekletildikten sonra tekrar tartılarak kuru ağırlıkları (KA) tespit edilmiştir.

### 3.4.2. Fizyolojik ölçümler

#### 3.4.2.1. Nispi su içeriğinin belirlenmesi

Kontrol ve uygulama gruplarındaki bitkilerin yapraklarında nispi su içeriğini (NSİ) belirlemek amacıyla hasattan hemen sonra taze ağırlıkları ölçülmüştür. Daha sonra yapraklar su dolu petri kaplarında 24 saat bekletilerek turgor durumundaki ağırlıkları ölçülmüş ve son olarak 80°C’de etüvde kurularak kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Nispi su içeriği aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir (Smart ve Bingham, 1974):

$$\text{NSİ (\%)} = \left[ \frac{\text{Taze ağırlık} - \text{Kuru ağırlık}}{\text{Turgorlu ağırlık} - \text{Kuru ağırlık}} \right] \times 100$$

#### 3.4.2.2. Klorofil a floresans kinetiklerinin ölçümü

Aspir bitkilerindeki fotosentetik sistemlerin enerjisel durumlarında meydana gelen değişiklikleri değerlendirmek amacıyla polifazik klorofil a floresans ölçümleri, HandyPEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech Instruments Ltd.) florimetre cihazı kullanılarak her uygulama grubundan 6 tekrarlı (n=6) olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Hasat edilmeden önce yapraklara özel klipsler kullanılarak 30 dakikalık karanlık adaptasyon süreci uygulanmıştır. Bu süre zarfında Fotosistem II (PSII) reaksiyon merkezlerinin tamamen okside hâle gelmesi sağlanmış ve ardından floresans verileri kaydedilmiştir.

#### 3.4.2.3. Bitkideki bor birikiminin belirlenmesi

Her bir uygulama için hasat edilen yaprak örnekleri deiyonize suda üç kez yıkandıktan sonra 3 tekrarlı (n=3) olacak şekilde ve 80°C’de 48 saat boyunca kurutulmuştur. 0,1 g tartılan örnekler tüplere konulacak ve üzerlerine 10 mL yüksek saflıkta 1 M Nitrik Asit (HNO<sub>3</sub>) eklenmiştir. Mikrodalgada cihazında (Mars 6 One Touch

Technology) 1030-1800 Watt gücünde 20-25 dakika boyunca 200°C'ye kadar sıcaklık artışının sağlandığı program kullanılmıştır. Ardından alınan örnekler ultra saf su ile 25 mL son hacim olacak şekilde seyreltilmiştir. Gözenek büyüklüğü 45 mikron olan filtreler ile süzme işlemi yapılmış ve son olarak ICP-MS cihazı (ICP-MS, Aligent Technologies 7900) ile B ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

### 3.4.3. Biyokimyasal ölçümler

#### 3.4.3.1. Yapraklardaki fotosentetik pigment içeriklerinin belirlenmesi

Aspir yaprak dokularındaki toplam klorofil (Chl a+b) ve karotenoid (ksantofil+βkaroten) miktarları Lichtenthaler'a göre belirlenmiştir (Lichtenthaler, 1987). Kontrol, stres ve nanopartikül uygulaması yapılan her grup için 3 tekrarlı (n=3) olarak yürütülen deneyde bitkilerden yaprak diskler (R=0,6 cm) alınarak 1 ml saf aseton (%100, v/v) içeren 1,5 mL'lik santrifüj tüplerine konulmuştur. Örnekler, pigment ekstraksiyonunun sağlanması amacıyla +4°C'de karanlıkta yaklaşık bir hafta bekletilmiştir. Ekstraksiyon sürecinin ardından tüpler 1400 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek pigmentlerin süpernatanta geçmesi sağlanmıştır. Elde edilen çözeltilerin absorbans değerleri 470, 644,8 ve 661,6 nm dalga boylarında spektrofotometrik (Shimadzu UV 1800) olarak ölçülmüştür.

$$\text{Klorofil a (Chl a)} = (11,24 \times A_{661,6}) - (2,04 \times A_{644,8})$$

$$\text{Klorofil b (Chl b)} = (20,13 \times A_{644,8}) - (4,19 \times A_{661,6})$$

$$\text{Toplam klorofil (Chl a+b)} = (7,05 \times A_{661,6}) - (18,09 \times A_{644,8})$$

$$\text{Karotenoid} = [(1000 \times A_{470}) - (1,9 \times \text{Chl a}) - (63,14 \times \text{Chl b})] / 214$$

#### 3.4.3.2. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) miktarının belirlenmesi

Hidrojen peroksidaz (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) miktarını belirleyebilmek için Liu ve ark.'ın yöntemi kullanılmıştır (Liu ve ark., 2010). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarını belirlemek amacıyla, her grup örnek için 0,1 gram yaprak dokusu sıvı azotla birlikte havanda ezilerek öğütülmüştür. Elde edilen bitki özütü içerisine deney tüpüne alınmadan önce 2 mL deney tüpüne alındıktan sonra 1 mL olacak şekilde toplamda 3 mL homojenizasyon tamponu (180 mL aseton içerisinde 25 mM konsantrasyonda 250 µL sülfürik asit) eklenerek homojenizasyon sağlanmıştır. Tamponla homojenizasyonun ardından örnekler, 5 dakika boyunca 4°C'de

5000 g'de santrifüj edilmiştir. Ardından, elde edilen süpernatanttan 50 µL alınarak, her örneğe 950 µL eFOX reaktifi; (250 µM ferro amonyum sülfat, 100 µM xylenol orange, 100 µM sorbitol ve %1 etanol) eklenmiştir. Örnekler 15 dakika boyunca karanlık ortamda bekletildikten sonra 550 ve 800 nm dalga boylarında absorbans değerleri spektrofotometrik (Shimadzu UV 1800) olarak ölçülmüştür. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonları, bilinen derişimlerde hazırlanmış standart eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır.

#### **3.4.3.3. Lipid peroksidasyon (TBARS) miktarının belirlenmesi**

Aspir bitkisinde lipid peroksidasyon (TBARS) düzeyinin belirlenebilmesi için malondialdehit (MDA) miktarı ölçülmüştür. MDA miktarını belirleyebilmek için Madhava Rao ve Sresty tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır (Madhava Rao ve Sresty, 2000). Her grup için, 0,1 g yaprak dokusu için 500 µL %0,1'lik trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. Homojenat 5 dakika boyunca 4°C'de 10,000 g'de santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatanttan 250 µL alınmıştır. Süpernatant içeren her tüpe %0,5 tiobarbitürik asit (TBA) içeren %20'lik TCA'dan oluşan 1 mL reaksiyon karışımı eklenmiştir. Karışım, 95°C'de 30 dakika su banyosunda inkübe edildikten sonra oda sıcaklığında soğutulmuş. Ardından tekrar 5 dakika boyunca 4°C'de 10,000 g'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantın absorbans değerleri 532 ve 600 nm dalga boylarında spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Absorbans değerleri, MDA konsantrasyonu  $\epsilon=155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  lik ekstinksiyon katsayısı üzerinden hesaplanmıştır ve sonuçlar nmol g<sup>-1</sup> TA cinsinden ifade edilmiştir.

#### **3.4.3.4. Prolin içeriğinin belirlenmesi**

Kontrol, stres ve nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerden alınan 0,1 g yaprak örnekleri 3 mL %3'lük sülfosalisilik asit (SSA) çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat 5 dakika boyunca 4°C'de 5000 g'de santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatantın 1 mL'si deney tüpüne aktarılmıştır. Süpernatanta 1 mL glasiyel asetik asit ve 1 mL ninhidrin reaktifi (1,25 g ninhidrin, 30 mL glasiyel asetik asit, 20 mL 6 M fosfirik asit) eklenmiş ve tüpler iyice karıştırılmıştır. Karışım, 95°C'de 75 dakika boyunca su banyosunda inkübe edildikten sonra oda sıcaklığında soğuması beklenmiş ve ardından 4 mL toluen eklenerek iyice karıştırılmıştır. Bir süre bekledikten sonra üstte oluşan toluenli sıvı fazdan örnekler alınarak 520 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri

gerçekleştirilmiştir. Her bir örnekteki prolin konsantrasyonunu belirlemek için standart eğrileri oluşturulmuş ve sonuçlar  $\mu\text{mol prolin g}^{-1}$  TA cinsinden ifade edilmiştir.

### **3.4.3.5. Antioksidan izoenzim aktivitesi ölçümleri**

#### **3.4.3.5.1. Total protein miktarının belirlenmesi**

Enzim aktivitelerinin belirlenebilmesi için öncelikle toplam protein miktarının saptanması gerekmektedir. Protein konsantrasyonları Bradford'un yöntemi kullanılarak sığır serum albümini (BSA) standardı kullanılarak tespit edilmiştir (Bradford, 1976). Hazırlanan Bradford çözeltisine hazırlandıktan sonra  $\frac{1}{4}$  oranında saf su ile seyreltilmiş örneklerden 50  $\mu\text{L}$  eklenmiştir. Karışımlar, oda sıcaklığında karanlık ortamda 15 dakika inkübe edildikten sonra, 595 nm dalga boyunda iki tekrarlı olacak şekilde ( $n=2$ ) absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

#### **3.4.3.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini**

Yaprak örnekleri (50  $\mu\text{g}$ ), %5'lik toplayıcı jel ve %12'lik ayırıcı jel içeren, 4°C'de ve sabit 120 mA akım altında native poliakrilamid jel elektroforezi (native PAGE) yöntemiyle yürütülmüştür. Elektroforez sonrasında süperoksit dismutaz (SOD) izoenzimlerinin belirlenmesi Beauchamp ve Fridovich'in yöntemine göre riboflavin ve nitroblue tetrazolium (NBT) ile boyama yapılarak gerçekleştirilmiştir (Beauchamp ve Fridovich, 1971). SOD izoenzimleri, potasyum siyanür (KCN) ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  içeren tamponlarda ayrı ayrı inkübe edilmesi ile belirlenmiştir. Potasyum siyanür (KCN), Cu/Zn-SOD'un inhibisyonu için;  $\text{H}_2\text{O}_2$  ise hem Fe-SOD hem de Cu/Zn-SOD'un inhibisyonu amacıyla kullanılmıştır. Mn-SOD aktivitesi ise her iki inhibitöre karşı direnç göstermiş ve inhibitör içeren koşullarda da aktivite göstermeye devam etmiştir.

#### **3.4.3.5.3. Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini**

Katalaz (CAT) enzim aktivitesi 1970 yılı Bergmeyer'in kullandığı yöntemine göre 240 nm dalga boyunda 180 saniye boyunca  $\text{H}_2\text{O}_2$  tükenme hızı takip ederek belirlenmiştir

(Bergmeyer, 1970). Enzim örneği, 0,1 mM EDTA, 50 mM Na-fosfat tamponu (pH 7), deiyonize su ve %0,3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. CAT aktivitesi, dakikada harcanan µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> olarak ifade edilmiştir.

CAT izoenzimlerinin belirlenmesi Woodbury ve ark.'ın yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Woodbury ve ark., 1971). Katalaz aktivitesinin görsel olarak tespiti için Prusya Mavisi temelli renklenme yöntemi kullanılmıştır. Bunun için jel, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve potasyum ferrisiyanür (K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) içeren çözeltiyle inkübe edilmiştir.

#### **3.4.3.5.4. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini**

Peroksidaz (POX) enzim aktivitesi 1973 yılı Herzog ve Fahimi'nin kullandığı yöntemle göre belirlenmiştir (Herzog ve Fahimi, 1973). Bu yöntemde, POX enziminin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında 3'-3'diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) substratını oksitlemesi esas alınmıştır. Reaksiyon karışımı; DAB çözeltisi, enzim ekstraktı ve %0,6'lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içerecek şekilde hazırlanmış ve karışım 465 nm dalga boyunda 180 saniye boyunca absorbans artışı spektrofotometrik olarak takip edilmiştir. Özgün enzim aktivitesi, dakikada tüketilen mikromol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı üzerinden hesaplanarak µmol ml<sup>-1</sup> dk<sup>-1</sup> cinsinden ifade edilmiştir.

Peroksidaz izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı, Seevers ve ark.'ın yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Seevers ve ark., 1971). Aynı miktarda protein içeren örnekler (50 µg), %10'luk native PAGE yüklenmiş ve elektroforez işlemi 4°C'de sabit 120 mA akım altında yürütülmüştür. Elektroforezin ardından jeller, peroksidaz aktivitesine bağlı olarak bantların ortaya çıkmasını sağlamak amacıyla benzidin ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren, pH 5 olacak şekilde ayarlanmış 200 mM sodyum asetat tamponunda 15 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Boyama sonrasında jeller deiyonize su ile yıkanarak analiz için hazır hâle getirilmiştir.

#### **3.4.3.5.5. Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini**

Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi 1981 yılı Nakano ve Asada'nın kullandığı yöntemle göre 290 nm dalga boyunda 180 saniye boyunca izlenen absorbans

azalması esas alınarak hesaplanmıştır (Nakano ve Asada, 1981). Enzim örneği, 50 mM Na-P tamponu (pH 7), 0,5 mM askorbat, 0,1 mM EDTA Na<sub>2</sub> ve 1,2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi, APX 2,8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>'lik ekstinksiyon katsayısı dikkate alınarak planmış ve enzim aktivitesi, dakikada okside olan 1 mmol ml<sup>-1</sup> askorbat olarak ifade edilmiştir.

APX izoenzimlerinin belirlenmesi Mittler ve Zilinskas'ın yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Mittler ve Zilinskas, 1993). Eşit miktarda protein içeren yaprak örneklerini (50 µg) jellere yüklenmiş ve sabit akım altında elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işleminin ardından jeller, 2 mM askorbat içeren 50 mM potasyum fosfat tamponunda (pH 7) yaklaşık 20 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Bu işlemde sonra jeller, 4 mM askorbat ve 2 mM hidrojen peroksit içeren 50 mM potasyum fosfat tamponuna (pH 7,8) aktarılmış ve 20-35 dakika bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda jeller 1 dakika tamponda yıkandıktan sonra, 28 mM TEMED ve 2,5 mM NBT içeren 50 mM potasyum fosfat tamponuna aktarılmış ve ışık altında 10-20 dakika uygulanarak bantların gözle görünür hale gelmesi sağlanmıştır.

#### **3.4.3.5.6. Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini**

Glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi Foyer ve Halliwell'in yöntemine göre 340 nm dalga boyunda 180 saniye boyunca NADPH'in oksidasyonunun izlenmesiyle belirlenmiştir (Foyer ve Halliwell, 1976). Enzim örneği, 0,2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 0,2 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> içeren Na-fosfat tamponu, 0,005 M okside glutasyon (GSSG) ve 5 ml tampon ile tamamlanmış olan 0,0012 M NADPNa<sub>4</sub> içeren reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi, GR ekstinksiyon katsayısı (6,2 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) kullanılarak hesaplanmıştır ve dakikada indirgenen 1 mmol/ml GSSG miktarı olarak ifade edilmiştir.

GR, izoenzimlerinin belirlenmesi Hou ve ark.'ın yöntemine göre %7,5'lik native PAGE kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Hou ve ark., 2004). Eşit miktarda protein içeren yaprak örneklerinin (50 µg) elektroforezi tamamlandıktan sonra jeller, 4 mM GSSG, 1,5 mM NADPH ve 2 mM 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) içeren 10 mM Tris-HCl tamponunda (pH 7,9) 20 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Ardından, jeller 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 7,9) ile kısa süreli olarak durulanmış ve GR izoenzimleri; 1,2 mM MTT (tiazolil mavi tetrazolium bromür), 1 mM 2,6-dikloroindofenol (DCIP) ve 1,6 mM

N-metilfenazonyum metil sülfat (PMS) içeren boyama çözeltisinde 5 dakika inkübe edilerek negatif görüntüleme yöntemiyle görünür hâle getirilmiştir.

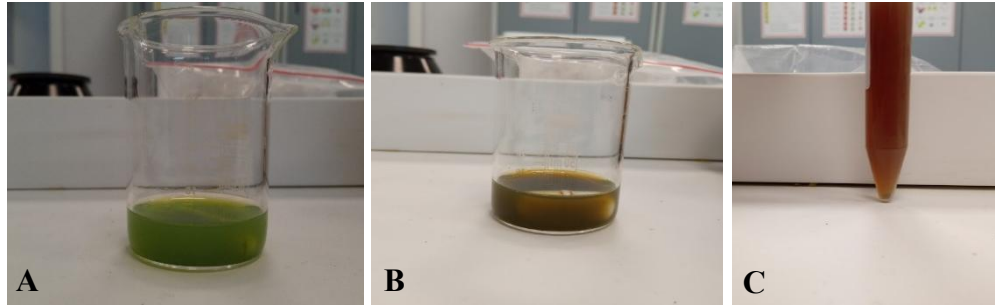
### **3.5. İstatistiksel Analizler**

Tüm deneyler her bir uygulama için en az üç tekrar ( $n=3$ ) olacak şekilde düzenlenmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, GraphPad Prism (sürüm 10.2.3) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler, iki yönlü varyans analizi (Two-way ANOVA) ile analiz edilmiş ve ANOVA sonrasında gruplar arasındaki farklılıkların hangi uygulamalardan kaynaklandığını belirlemek amacıyla Tukey'nin çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Tüm şekillerdeki çubuklar ortalamaların  $\pm$  standart hatalarını temsil etmektedir.

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Gümüş Nanopartikül Sentezi

Aspir bitkisi kullanılarak mikrodalga destekli yeşil sentez yöntemiyle Ag NP sentezlenmiştir. Renksiz 5 mM AgNO<sub>3</sub> çözeltisine bitki ekstraktı damla damla eklendikten sonra karışımın rengi yeşil renkte olup pH ayarlaması ve ardından mikrodalga işleminden sonra kahverengiye dönmüştür (Şekil 4.1). Reaksiyon sonrası renk değişimi Ag NP oluşumunun bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Srikar ve ark., 2016). Mikrodalga ile ısı işlem Ag<sup>+</sup> iyonlarının metalik Ag'e indirgenmesini kolaylaştırmıştır ve reaksiyon daha kısa zamanda gerçekleşmiştir (Sreeram ve ark., 2008). Öncelikli değerlendirme, NP süspansiyonunun stabilitesinin takibi (çökme potansiyeli) ile yapılmıştır. *Biophytum sensitivum* (Joseph ve Mathew, 2015), *Elephantopus scaber* (Francis ve ark., 2018) ve Ananas (Anis ve ark., 2023) gibi çeşitli bitki ekstraktları kullanılarak gerçekleştirilen gümüş nanopartikül sentez çalışmalarında da benzer renkler gözlemlenmiştir.



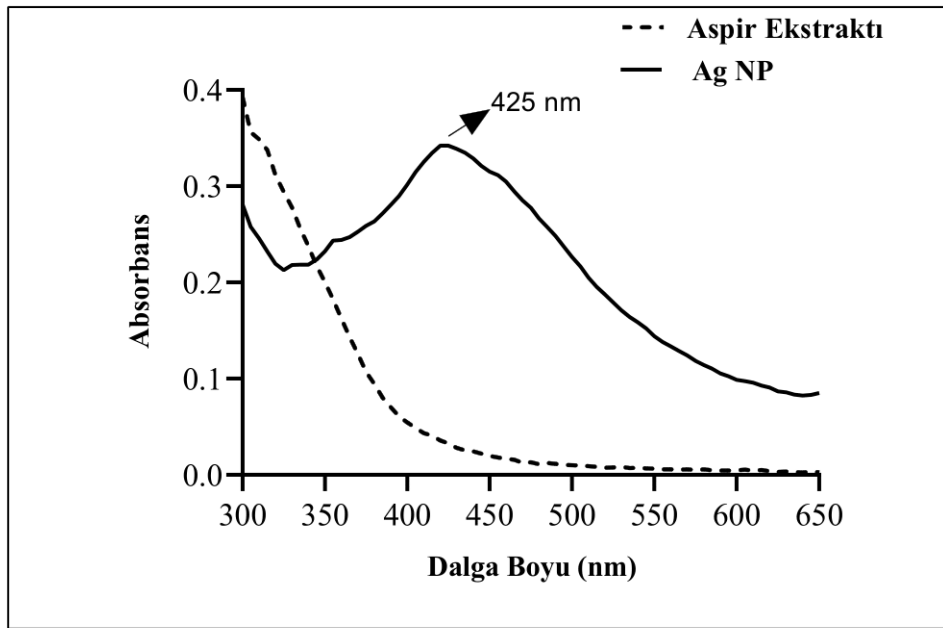
Şekil 4.1. AgNO<sub>3</sub> çözeltisinin bitki ekstraktı ile karıştırılmasından sonraki ilk görünüm (pH ayarı öncesi) (A), pH ayarı yapıldıktan sonraki görünüm (mikrodalga uygulaması öncesi) (B), Mikrodalga ile sentezleme sonrası gümüş nanopartiküllerin görünümü (C)

### 4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

#### 4.2.1. Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi (UV-Vis) analizi

Aspir bitkisi kullanılarak sentezlenen Ag NP'lerin oluşumu UV-Görünür Bölge spektroskopisi ile elde edilen absorpsiyon spektrumlarının izlenmesi yoluyla doğrulanmıştır. UV-Vis spektroskopisi ile yapılan analiz sonuçlarında kesik çizgiyle

gösterilen spektral bant aspir ekstraktına aittir. Siyah renk ile gösterilen spektral bant ise sentezlenen Ag NP'ye ait olup 425 nm'de karakteristik bir absorbans piki sergilemiştir (Şekil 4.2). Bu dalga boyu literatürde gümüş nanopartiküller için tipik yüzey plazmon rezonansı (YPR) sinyali olarak tanımlanmakta olup NP'lerin oluşumunu doğrulamıştır (Amooaghaie ve ark., 2015). Metalik yapıya sahip Ag NP'ler bol miktarda serbest elektrona sahiptir ve elektronlar ışık dalgalarıyla rezonansa girdiklerinde kolektif titreşimler oluşturur. Bu kolektif elektron titreşimleri YPR olarak adlandırılır. YPR, elektromanyetik dalgalara yanıt olarak iletim bandı elektronlarının kolektif salınımlarını yakalar ve bu sayede metal iyonlarının indirgenmesini ile nanopartiküllerin oluşumunu doğrular (Amooaghaie ve ark., 2015; Haji ve ark., 2025). YPR absorbansı oluşan partiküllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine, boyutuna, şekline, parçacıklar arası mesafelerine son derece duyarlıdır (Jagtap ve Bapat, 2013).

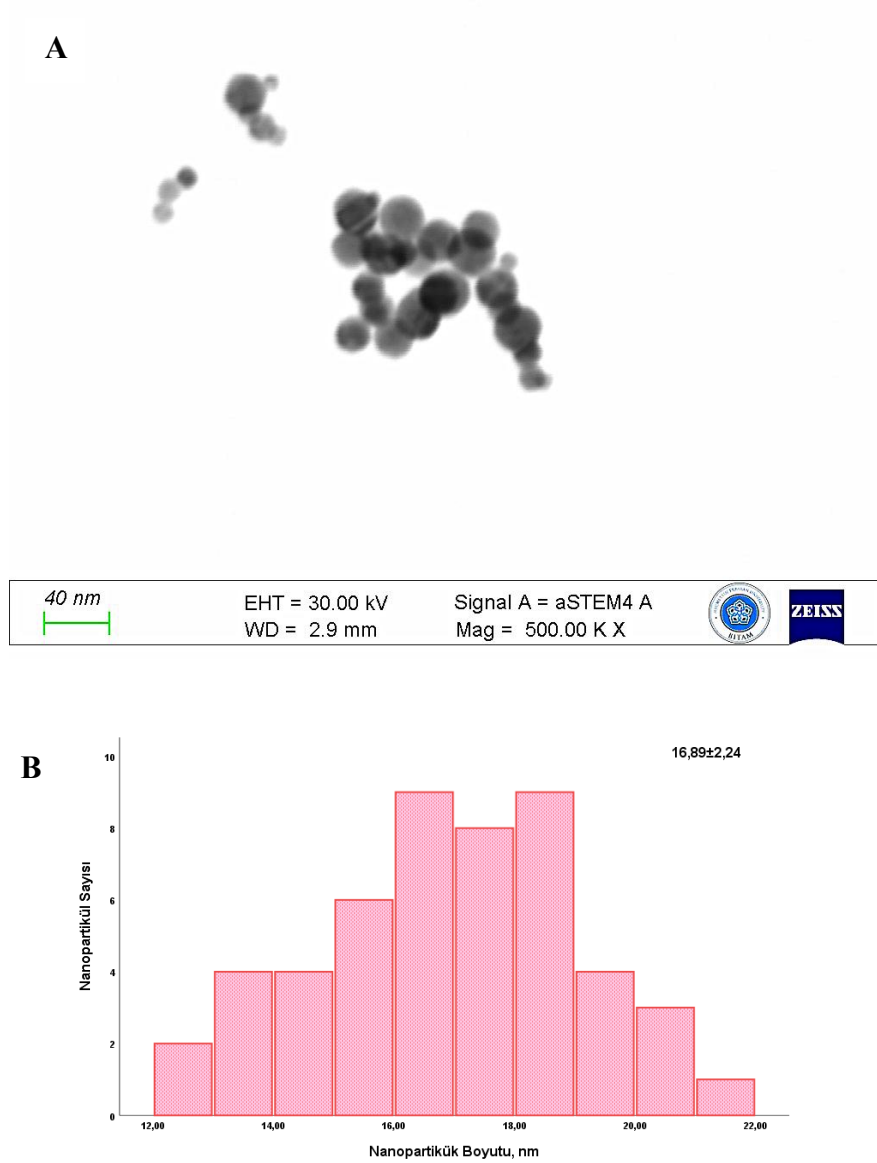


Şekil 4.2. Aspir bitkisi ekstraktı ve Ag NP'e ait UV-Vis absorbans spektrumları

#### 4.2.2. Taramalı geçirimli elektron mikroskobu (STEM) analizi

Ag NP'lerin morfolojik özelliklerini ve boyutlarını yansıtan STEM görüntüsü Şekil 4.3'te verilmiştir. NP'lerin küresel formda olduğu, boyutlarının ortalama 16,89 nm civarında bulunduğu ve aglomerasyon gözlemlenmesine rağmen genel olarak monodisperse dağılım sergiledikleri belirlenmiştir. STEM görüntüleri kullanılarak

ImageJ programı ile 50 nanopartikülün boyutu ölçülmüş ve bu verilerden boyut dağılım grafiği oluşturulmuştur.

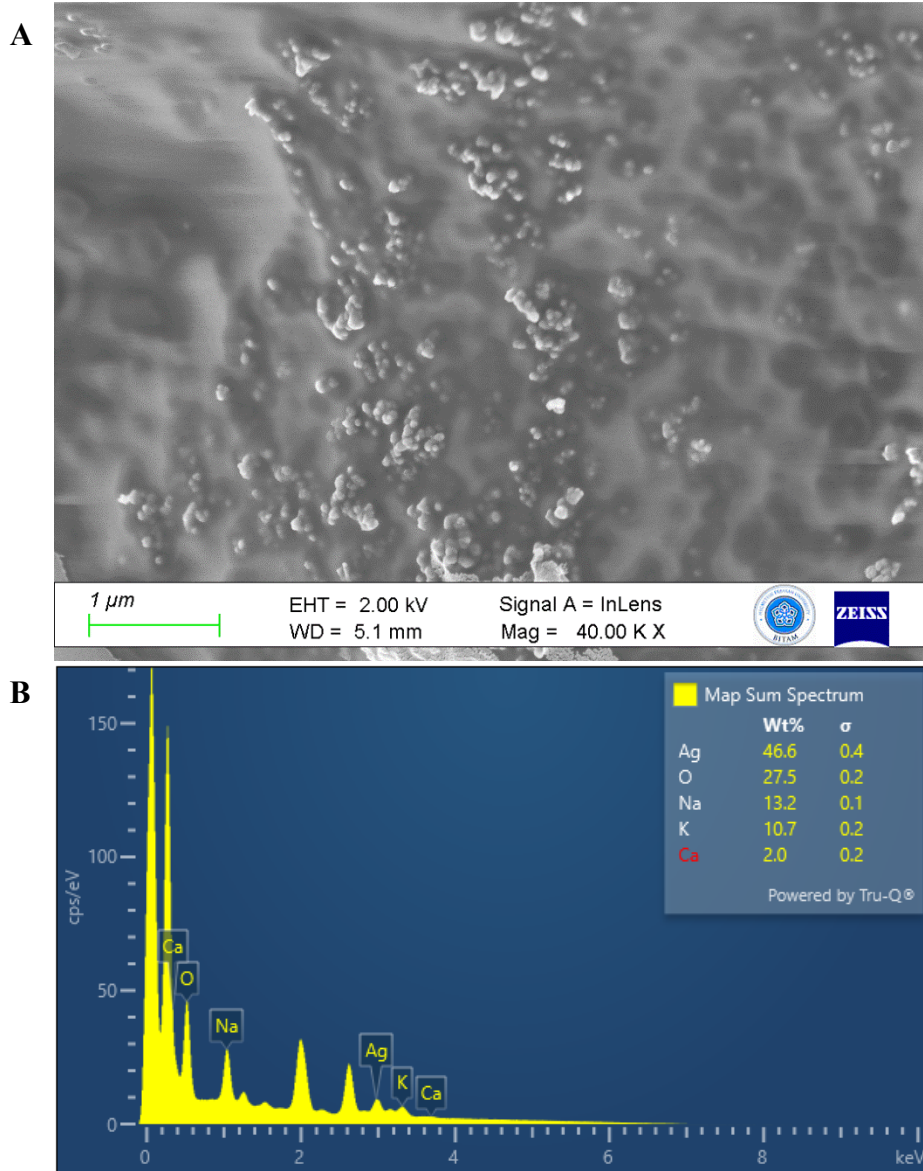


Şekil 4.3. Ag NP'lerin STEM görüntüsü (A) ve boyut dağılım grafiği (B)

#### 4.2.3. Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) ve enerji dağılımlı X-ışını (EDX) analizi

Ag NP'lerin morfolojisinin ve NP süspansiyonunun elementel içeriğinin belirlenmesi amacıyla FE-SEM cihazı kullanılarak NP'lerin görüntüleri elde edilmiş ve EDX analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen görüntülerde NP'lerin yüzey morfolojisinin

genel olarak homojen bir dağılım sergilediği ancak bazı bölgelerde kısmi aglomerasyonların olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.4). Bu bulgular, TEM analiz sonuçlarıyla da uyumlu olup birbirini destekler niteliktedir. Ag NP'lerin varlığını doğrulamak amacıyla gerçekleştirilen EDX analizinde %46,6 Ag tespit edilmiştir. Ayrıca %27,5 oksijen (O), %13,2 sodyum (Na), %10,7 potasyum (K) ve %2 kalsiyum (Ca) elementleri de belirlenmiştir. Ag dışında tespit edilen elementlerin aspir ekstraktında bulunan organik bileşiklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



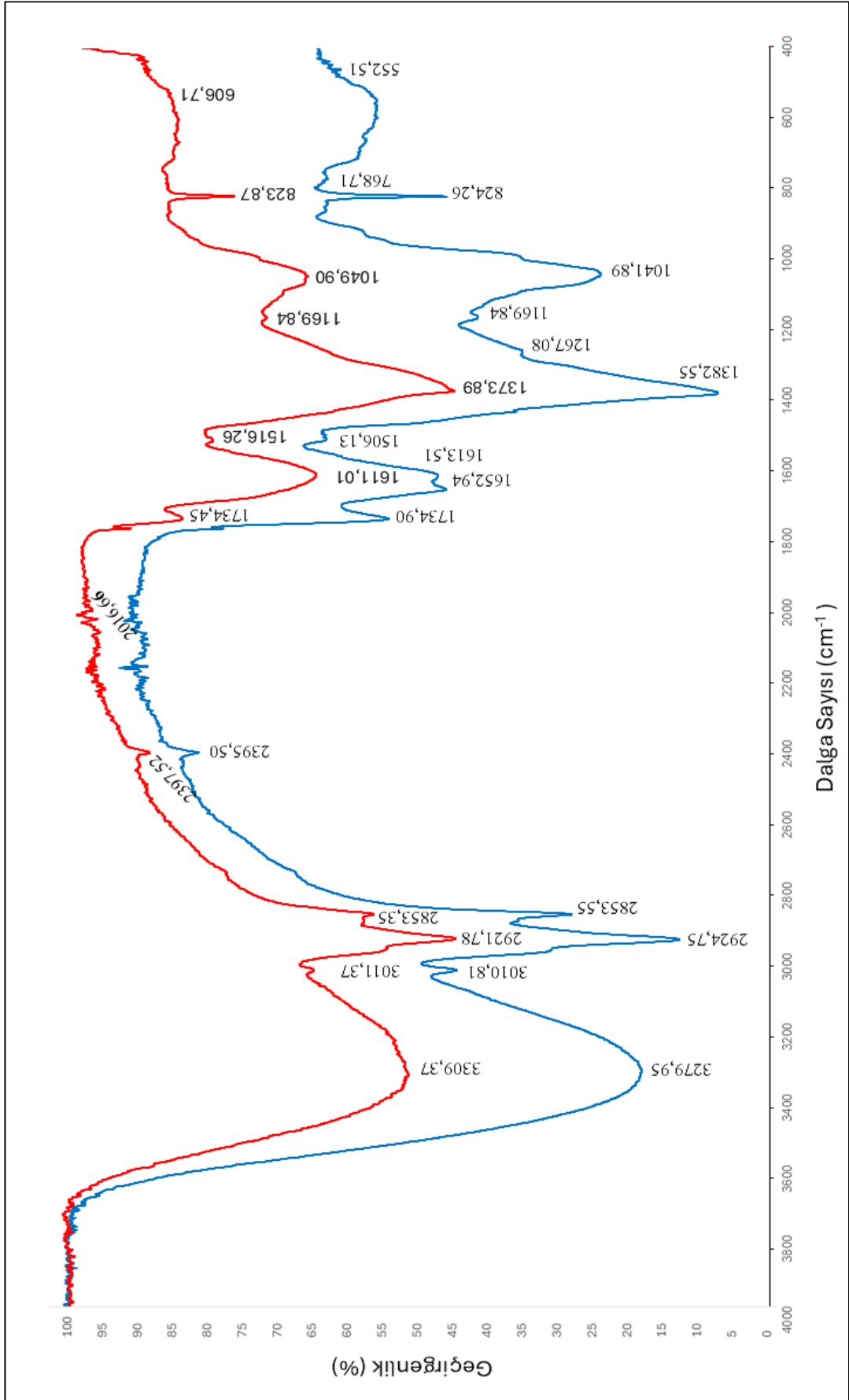
**Şekil 4.4.** Ag NP'lerin FE-SEM görüntüsü (A) ve EDX analizi (B)

#### 4.2.4. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi

FTIR analizi hem sentezlenen Ag NP'lerin hem de bitki ekstraktına ait fonksiyonel grupları tanımlamak için kullanılmıştır (Şekil 4.5). Aspir ekstraktına ait FTIR spektrumu, bitki kökenli bileşiklerde yaygın olarak bulunan çeşitli fonksiyonel gruplara karşılık gelen belirgin absorpsiyon bantları ortaya koymuştur. Aspir ekstraktının FTIR spektrumunda sırasıyla; 3279,95-3010,81-2924,75-2853,55-2395,50-1734,90-1652,94-1613,51-1506,13-1382,55-1267,08-1169,84-1041,89-824,26-768,71-552,51 $\text{cm}^{-1}$  dalga sayılarında pikler elde edilmiştir. 3279,95  $\text{cm}^{-1}$  de gözlemlenen belirgin pik polifenolik bileşikler, alkoller veya karboksilik asitlerde bulunan hidroksil grupları (-OH) ait O-H gerilme titreşimine karşılık gelmektedir. 2924,75  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısındaki pik, alkil zincirlerine ait olan alifatik C-H gerilme titreşimlerini temsil eder. 1041,89  $\text{cm}^{-1}$ 'deki pik ise C-O bağlarının varlığını işaret etmektedir. Bu spektral veriler ekstraktın yapısında flavonoidler, fenolik bileşikler ve polisakkaritler gibi fitokimyasalların bulunduğunu açıkça ortaya koymuştur (Hamid ve ark., 2025; Rodríguez-Félix ve ark., 2021).

Ag NP'lere ait FTIR spektrumunda sırasıyla 3309,37-3011,37-2921,78-2853,35-2397,52-2016,66-1734,45-1611,01-1516,26-1373,89-1169,84-1049,90-823,87 ve 606,71  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayılarında karakteristik pikler gözlemlenmiştir. 3309,37  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısındaki geniş pik -OH gruplarının varlığına işaret etmektedir. 2921,78 ve 2853,35  $\text{cm}^{-1}$ 'deki pikler, biyoaktif bileşikler ile gümüş iyonları arasında olası etkileşimleri göstermektedir. 1734,45  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen belirgin pik ise karbonil gruplarının (C=O) gerilme titreşimlerine karşılık gelmekte ve bu grupların Ag<sup>+</sup> iyonlarının metalik Ag'e indirgeme sürecinde rol oynamış olabileceğini ortaya koymuştur (Hamid ve ark., 2025).

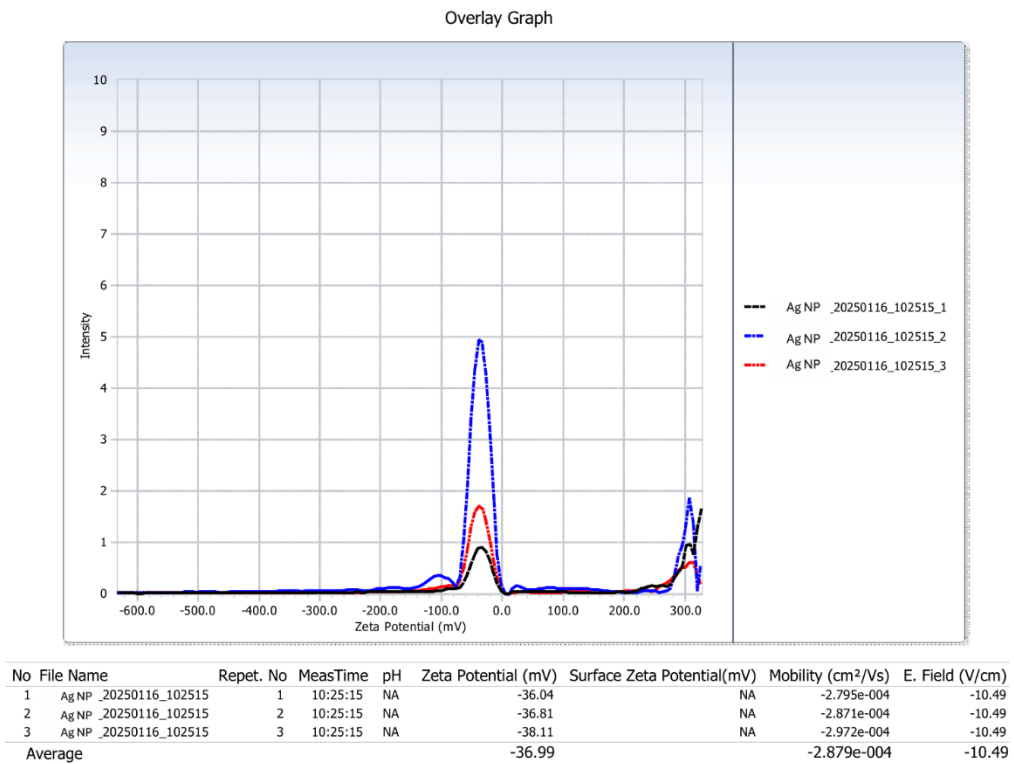
Ekstrakt spektrumundan farklı olarak ortaya çıkan 606,71  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısındaki pik, Ag NP'nin metalik titreşimlerine karşılık gelmektedir (Gharibshahi ve ark., 2017). Ag NP ve aspir bitkisi ekstraktına ait FTIR spektrumları karşılaştırıldığında, fonksiyonel gruplar Ag-organik bileşik etkileşimi nedeni ile beklenen küçük kaymalar ile beraber benzer yerlerde görülmüştür. Bu sonuç, NP içeriğinde, indirgeyici ve stabilize edici moleküller olarak, bitki ekstraktı içeriğinin varlığını göstermektedir.



Şekil 4.5. Aspirin ekstreğine (mavi) ve Ag NP'lere (kırmızı) ait FTIR spektrumları

#### 4.2.5. Zeta potansiyeli analizi

Zeta potansiyeli ölçüm cihazı ile gümüş nanopartiküllerin yüzey yükleri  $-36,99 \pm 1,04$  mV olarak ölçülmüştür (Şekil 4.6). Bu negatif zeta potansiyeli, partiküller arasındaki elektrostatik itmeyi göstermektedir ve bu da kolloidal kararlılıklarına katkıda bulunmaktadır. Literatüre göre,  $+30$  mV'den yüksek veya  $-30$  mV'den düşük zeta potansiyeline sahip nanopartiküller kararlı kabul edilir. Zeta potansiyelinin negatif değerleri, Ag NP'lerin yüzeylerindeki moleküllerin negatif yüklü olduğunu göstermektedir (Savvidou ve ark., 2024).

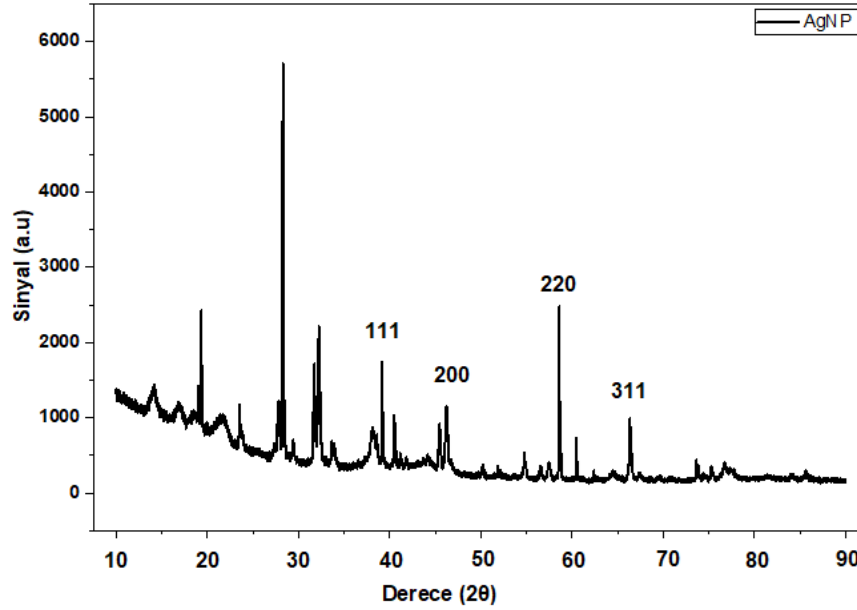


Şekil 4.6. Ag NP zeta potansiyeli grafiği

#### 4.2.6. X-ışını difraktometresi (XRD) analizi

Sentezlenen Ag NP'nin kristal yapısını belirlemek amacıyla XRD analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.7). Elde edilen XRD deseninde, sırasıyla (111), (200), (220) ve (311) kristal düzlemlerine karşılık gelen  $38,43^\circ$ ,  $44,97^\circ$ ,  $64,83^\circ$  ve  $77,56^\circ$  değerlerinde belirgin kırınım tepe noktaları gösterilmiştir (JCPDS No. 89-3722) (Abreu ve ark., 2020; Hermanto ve ark., 2024). Spektrumda gözlenen bu keskin ve yoğun pikler Ag NP'lerin

küçük boyutlu ve yüksek kristallik düzeyine sahip olduğunu açıkça ortaya koymaktadır (AbdulWahid ve ark., 2025). Genellikle 35° altındaki piklerin ekstrakt içeriğindeki organik bileşenlerden kaynaklandığı rapor edilmektedir (Khan ve ark., 2020).



Şekil 4.7. Ag NP'e ait XRD deseni

#### 4.2.7. İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) analizi

Ag NP süspansiyonlarındaki Ag konsantrasyonu ICP-MS analizi sonucunda  $69,847 \pm 8,5$  ppm olarak tespit edilmiştir. Bu değer bitkiye uygulama konsantrasyonunun belirlenmesinde temel alınmıştır.

### 4.3. Bor ve Gümüş Nanopartikül Uygulamaları Ölçüm ve Analizleri

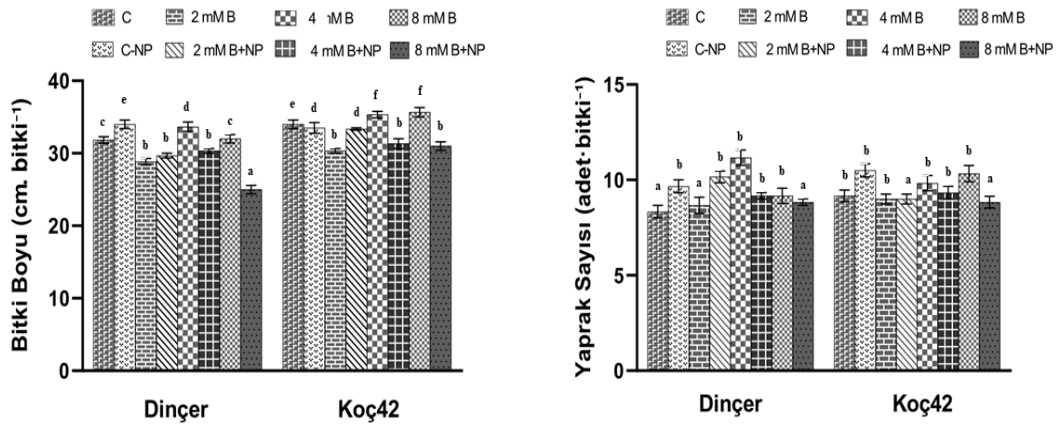
#### 4.3.1. Morfolojik ölçümler

##### 4.3.1.1. Bitki boyu ve yaprak sayısı ölçümleri

Dinçer ve Koç42 çeşitlerine uygulanan farklı bor konsantrasyonlarının ve Ag NP'nin bitki boyu üzerine etkisi incelenmiştir (Şekil 4.8). Her iki genotipte de artan B konsantrasyonuna bağlı olarak bitki boylarında belirgin bir azalma gözlenmemiştir. Aksine Dinçer grubunda 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları 2 mM B uygulamasına kıyasla

sırasıyla %16,8 ve %11,1 oranında artış göstermiştir. Ancak hem Dinçer hem de Koç42 gruplarında Bor ile uygulanan NP uygulamalarında 4 mM B ve 8 mM B konsantrasyonlarına göre anlamlı azalmalar belirlenmiştir. Dinçer ve Koç42 genotipleri karşılaştırıldığında 2 mM B+NP, 8 mM B ve 8 mM B +NP uygulamalarında genotipler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Yaprak sayısı bakımından yapılan karşılaştırmalar sonucunda Dinçer genotipinde kontrol ve 2 mM B uygulamalarıyla birlikte yapılan nanopartikül uygulamalarında anlamlı düzeyde artışlar gözlemlenirken, 8 mM B uygulamasıyla birlikte yapılan nanopartikül uygulamasında (8 mM+NP) ise azalma meydana gelmiştir. Koç42 genotipinde ise hem 2 mM B+NP hem de 8 mM B+NP uygulamaları, nanopartikül uygulanmamış (2 mM B, 8 mM B) gruplarına göre anlamlı düzeyde azalma göstermiştir (Şekil 4.8).



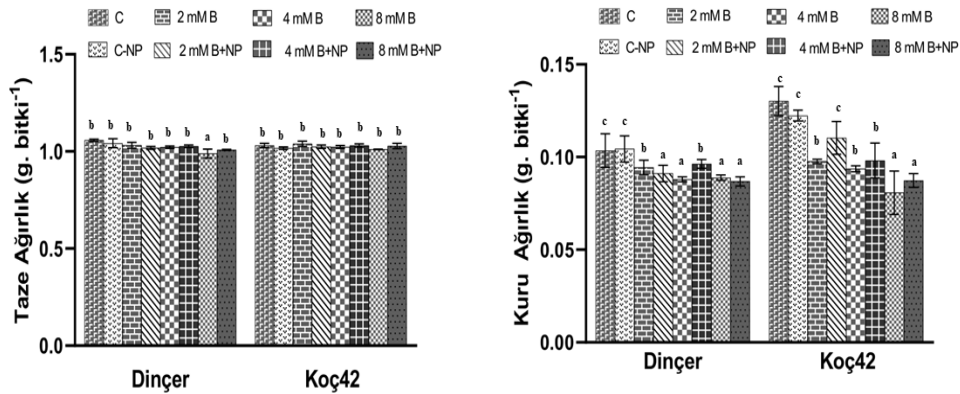
Şekil 4.8. B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde bitki boyu ve yaprak sayısı üzerine etkisi

#### 4.3.1.2. Taze ve kuru ağırlık (biyokütle) ölçümleri

Taze ve kuru ağırlık ölçümleri sonucunda stres ve nanopartikül uygulamalarının kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.9). Taze ağırlık verileri incelendiğinde Dinçer genotipinde kontrol ve 8 mM B uygulaması arasında anlamlı bir farklılık saptanmış olup bunun dışında her iki genotipte de uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Kuru ağırlık verilerine göre hem Dinçer hem de Koç42 genotiplerinde kontrol ve uygulama gruplarındaki bitkilerin yaprak kuru ağırlıkları karşılaştırıldığında; 2 mM B, 4 mM B ve 8 mM B uygulamalarının kontrol grubuna (C) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalışlara neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Koç42 genotipinde, 8 mM B+NP uygulaması kendi kontrol grubuna (C+NP) göre %28,6 oranında anlamlı bir azalma gösterirken Dinçer genotipinde ise %16,7 oranında bir azalma meydana gelmiştir.

Bor toksisitesinin birincil fenotipik etkisi genellikle bitki kuru ağırlığında azalma şeklinde görülmektedir. Buğday üzerinde yapılan çalışmalarda, kontrol grubuna kıyasla bor uygulamaları sonucunda kuru ağırlıkta azalmalar meydana geldiği bildirilmiş olup, bu durum elde ettiğimiz verilerle de uyumludur (Princi ve ark., 2016; Turan ve ark., 2009).



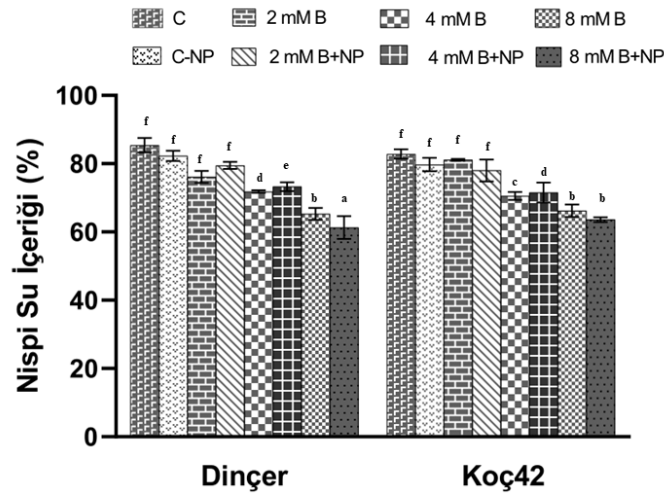
Şekil 4.9. B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde taze ve kuru ağırlık üzerine etkisi

### 4.3.2. Fizyolojik ölçümler

#### 4.3.2.1. Nispi su içeriğinin belirlenmesi

Aspir genotiplerinde kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında hem B hem de Ag NP uygulamalarında yaprak örneklerinde nispi su içeriğinde (RWC-Relative Water Content) kademeli olarak azalmalar gözlemlenmiştir (Şekil 4.10). Hem Dinçer hem de Koç42 genotiplerinin özellikle 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı azalışlar ortaya koymuştur. Ayrıca her iki genotipte de C+NP uygulamasına kıyasla 2 mM B+NP, 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP gruplarında azalmalar meydana gelmiştir. Bu azalışlar içinde özellikle 8 mM B+NP sırasıyla %25,5 (Dinçer) ve

%20,2 (Koç42) oranlarında azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bir yaprağın nispi su içeriği tam turgidite durumunda maksimum su tutma kapasitesine göre bitkinin gerçek su içeriğinin bir ölçüsüdür. Stres koşulları altında nispi su içeriğinin azaldığını gösteren pek çok çalışma olmakla birlikte bu parametre özellikle kuraklık ve sıcaklık stres koşullarında stres derecesini gösterebilir. Stresli ortamlarda yaprakların turgidliğini koruyarak stresi en aza indirmeye yeteneğine sahip bir genotip, fizyolojik avantajlara sahip olacaktır (Mullan ve Pietragalla, 2012).



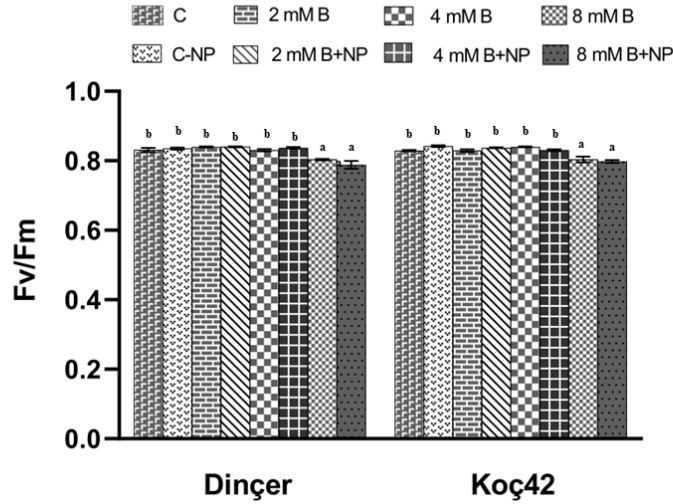
Şekil 4.10. B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde yaprak nispi su içeriği üzerine etkisi

#### 4.3.2.2. Klorofil a floresans kinetiklerinin ölçümü

Klorofil floresansı parametrelerinin analizi, bitkilerin strese karşı tolerans düzeyini belirlemek ve değerlendirmek için hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Aynı zamanda bu yöntem, fotosentetik süreçler sırasında bitkinin fizyolojik durumunu değerlendirmede önemli bir araçtır (Sánchez ve ark., 2008). Yüksek B konsantrasyonlarında yaprak kenarlarında nekroz oluşumuyla birlikte fotosentetik alan, klorofil içeriği ve dolayısıyla fotosentez hızı azalır (Princi ve ark., 2016).

Karanlık koşullara adapte edilen aspir yapraklarında, Fotosistem II'nin (PSII) maksimum kuantum verimliliğini belirlemek amacıyla  $F_v/F_m$  parametresi değerlendirilmiştir (Şekil 4.11). Dinçer ve Koç42 genotipleri arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Ancak her iki genotipte de 8 mM B ve 8 mM B+NP uygulama

grupları, diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir. Her iki genotipte de artan B konsantrasyonlarında PSII verimliliğini olumsuz etkilediği görülmektedir. Fv/Fm sonuçlarımız Landi ve ark.'ın fesleğen ile yaptıkları çalışma ile paralellik göstermektedir (Landi ve ark., 2013).



Şekil 4.11. B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde PSII'nin potansiyel fotokimyasal verimliliği Fv/Fm üzerine etkileri

Elektron taşınımının maksimum verimliliğini yansıtan  $ET_0/ABS$  oranı, absorbe edilen ışık enerjisinin ne kadarının PSII üzerinden elektron taşınımı için kullanıldığını ifade eder.  $ET_0/ABS$  değeri her iki çeşitte de 8 mM B+NP uygulaması altında anlamlı bir azalma göstermiştir (Şekil 4.12A). Dinçer çeşidinde, 2 mM B+NP ve 8 mM B+NP uygulamaları arasında %23,7, 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP uygulamaları arasında ise %25,4 oranında azalma gözlemlenmiştir. Koç42 çeşidinde ise benzer şekilde söz konusu uygulamalar arasında sırasıyla %22,9 ve %18,7 oranında düşüşler kaydedilmiştir.

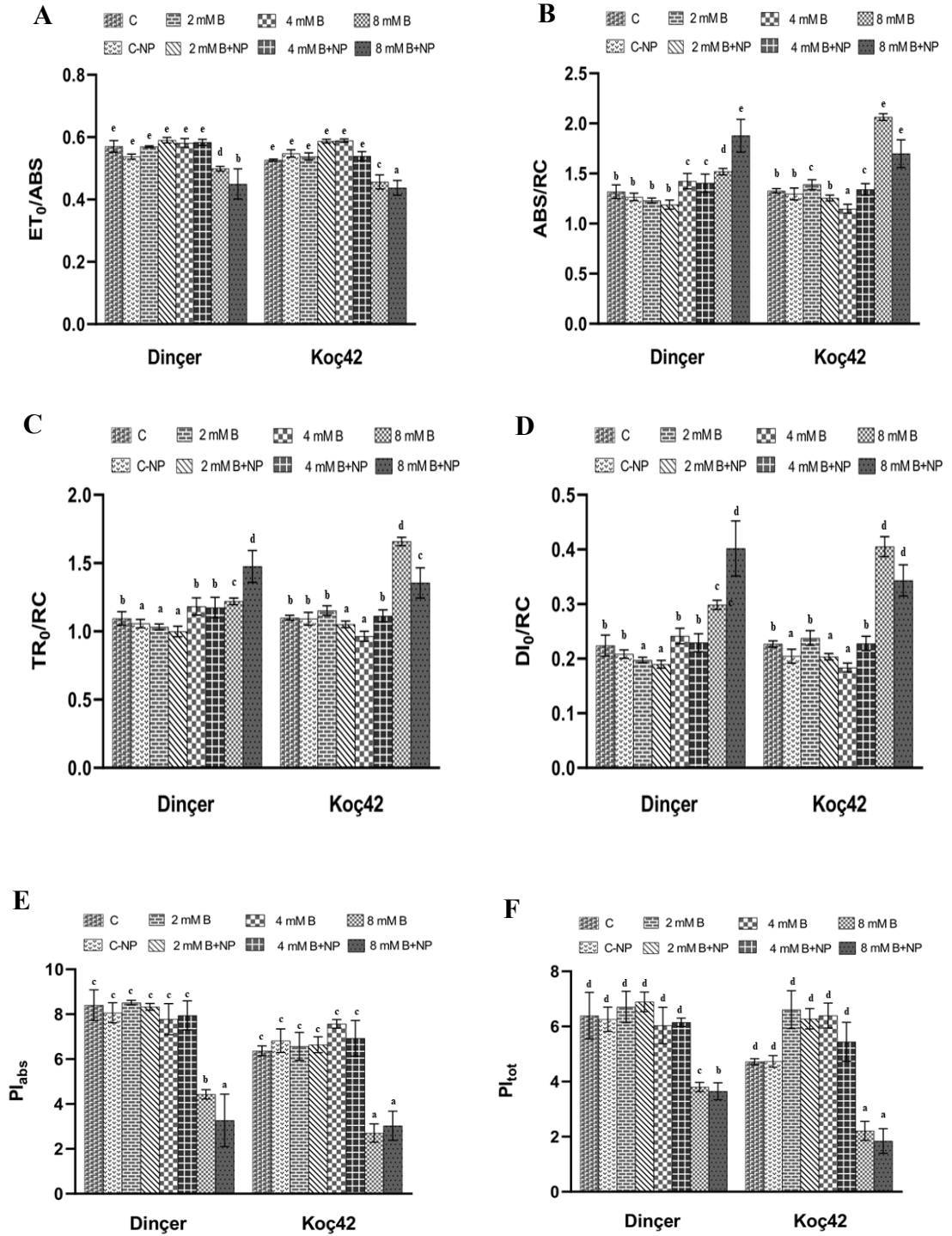
Reaksiyon merkezi başına absorbe edilen enerji miktarını ifade eden  $ABS/RC$  parametresi, her iki çeşidin kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık göstermemiştir (Şekil 4.12B). Ancak Dinçer ve Koç42 çeşitleri arasında 2 mM B, 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları karşılaştırıldığında anlamlı fark gözlemlenmiştir. Dinçer çeşidinde 8 mM B+NP uygulaması, kendi grubu içerisindeki diğer tüm uygulamalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir. Benzer şekilde Koç42 çeşidinde hem 8 mM B hem de 8 mM B+NP uygulamaları diğer Koç42 uygulamalarına göre anlamlı düzeyde artışlar sergilemiştir.

TR<sub>0</sub>/RC parametresi, bir reaksiyon merkezi başına tuzaklanan enerji miktarını ifade eder (Şekil 4.12C). Elde edilen sonuçlara göre, Dinçer genotipinde 2 mM B uygulaması kontrol grubuna (C) göre azalış gösterirken 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları artış göstermiştir. Ayrıca NP uygulamaları kendi grupları ile karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre azalırken 8 mM B uygulamasında artış göstermiş olup, 2 mM B ve 4 mM B uygulamalarında anlamlı farklar göstermemiştir. Koç42 çeşidinde ise 8 mM B uygulaması, 2 mM B ve 4 mM B uygulamalarına göre; 8 mM B+NP uygulaması ise 2 mM+NP B, 4 mM B+NP ve 8 mM B uygulamalarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek TR<sub>0</sub>/RC değerleri ortaya koymuştur.

DI<sub>0</sub>/RC, her bir reaksiyon merkezi başına eksitasyon enerjisinin fotokimyasal olmayan yollarla yayılımını ifade eden bir parametredir. İki genotip karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark 8 mM B ve 8 mM B+NP uygulamalarında belirgin olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.12D). 8 mM B uygulaması Koç42 çeşidinde Dinçer çeşidine kıyasla %26,3 oranında artış göstermiştir. Dinçer çeşidinde 8 mM B+NP uygulaması, 8 mM B uygulamasına göre %34,5 oranında artış kaydedilmiştir. Koç42 çeşidinde ise %15,3 azalış göstermiştir.

Bitkilerin çevresel strese karşı verdiği fotosentetik yanıtı değerlendirmede yaygın olarak kullanılan PI<sub>abs</sub>, fotosentezin ışık reaksiyonlarındaki birçok basamağını bir araya getiren önemli bir parametredir. İki genotip arasında PI<sub>abs</sub> değerleri açısından 8 mM B uygulaması hariç anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Şekil 4.12E). Her iki genotipte de 8 mM B ve 8 mM B+NP uygulamaları hem kontrol grubuna hem de diğer uygulamalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. Bununla birlikte, NP uygulamaları kendi gruplarıyla kıyaslandığında tek anlamlı fark Dinçer çeşidinde 8 mM B uygulaması tespit edilmiştir.

Aspir genotiplerinde stres ve NP uygulamalarının yapraklardaki toplam performans indeksi (PI<sub>tot</sub>) üzerindeki etkileri incelendiğinde, çeşitlerin kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 4.12F). Ancak hem Dinçer hem de Koç42 çeşitlerinde 8 mM B ve 8 mM B+NP uygulamaları kendi kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. Her iki genotipte de 2 mM B+NP ile 8 mM B+NP ve 4 mM B+NP ile 8 mM B+NP uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlenmiştir. Ayrıca Koç42 çeşidinde, 2 mM B ile 8 mM B ve 4 mM B ile 8 mM B uygulamaları arasında da anlamlı farklılıklar kaydedilmiştir. NP uygulamaları kendi gruplarıyla kıyaslandığında tek anlamlı fark Dinçer genotipinde 8 mM ile 8 mM B+NP uygulamaları arasında gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.12.** Bor ve gümüş nanopartikül uygulamalarının aspirin genotiplerinde transportunun maksimum verimi ( $ET_0/ABS$ ) (**A**), aktif reaksiyon merkezinin verimli anten büyüklüğü ( $ABS/RC$ ) (**B**), başlangıçtaki yakalanan enerji akışı ( $TR_0/RC$ ) (**C**), fotokimya dışı enerji kaybı ( $DI_0/RC$ ) (**D**), performans indeksi ( $PI_{abs}$ ) (**E**) ve toplam performans indeksi ( $PI_{tot}$ ) (**F**) parametreleri üzerine etkisi

Farklı çevresel streslerin fotosentez üzerindeki etkileri, fotosentetik aparatlardaki değişikliklerin tespiti ve anlamlandırılabilmesi için noninvaziv bir araç olan klorofil a (Chl a) floresans kinetiği ölçümleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Chl a floresansı ile fotokimyasal süreçlerin ölçülmesi, bitkilerin maruz kaldığı stresin yoğunluğu hakkında bize genel bir fikir vermektedir (Faseela ve ark., 2020) Fotosentez araştırmalarında en çok kullanılan parametre olan Fv/Fm, karanlığa adapte olmuş yapraklarda bitkilerin “stres”ini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır ve birçok çalışmada çok değerli olduğu kanıtlanmıştır (Schansker ve ark., 2014). Bu parametre, PSII'nin çevresel uyaranlara doğrudan veya dolaylı olarak yüksek duyarlılığını yansıtır. Fv/Fm'deki azalma, PSII'nin fotoinhibisyonunu temsil eder. Bu çalışmadan elde edilen bulgular Fv/Fm'de genel olarak değişim olmadığını ancak 8 mM B ve 8 mM B+NP uygulamalarında genotiplerde anlamlı azalışı göstermektedir. Yapılan başka çalışmalarda da ayçiçeği ve *Graptophyllum reticulatum* bitkilerinde farklı stres uygulamalarında Fv/Fm'in değişmediği bildirilmiştir (Ciompi ve ark., 1996; Thach ve ark., 2007). Bu koşullar altında Fv/Fm değerindeki azalma, PS II'nin elektron verici bölgesi ile ilişkili olabilir.

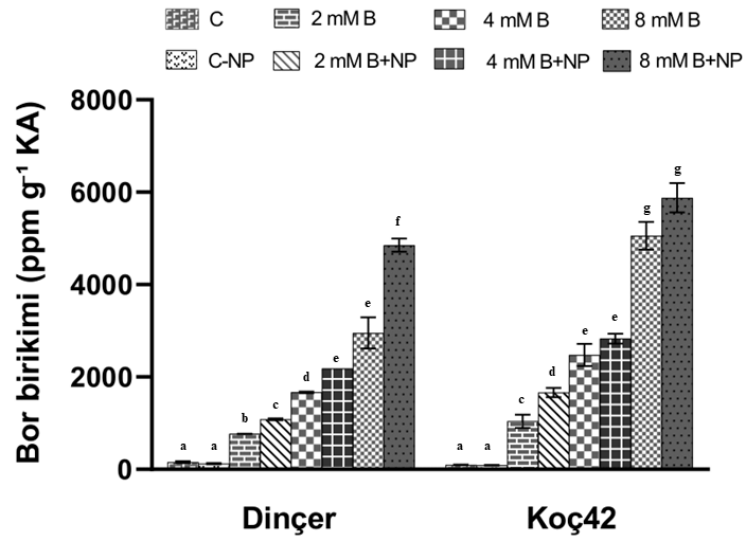
PAR (Fotosentetik aktif radyasyon) enerji emilimini ve elektron taşınımını karakterize eden JIP testi parametreleri dört ana gruba ayrılabilir: (1) temel ölçülen ve hesaplanan değerler (2) kuantum verimleri ve olasılıklar (3) enerji akışları ve (4) canlılık indeksleri (PI) (Kalaji ve ark., 2016). Fotosentezin ışık reaksiyonları ile PSII'den kaynaklanan Chl floresan indüksiyon geçici süreci arasındaki ilişki, JIP yaklaşımı kullanılarak analiz edilebilir. JIP testinde hesaplanan parametrelerin bir kısmı; numunelerin ölçülen alanındaki (CS) reaksiyon merkezi (RC) başına ışık enerjisinin emilimi (ABS), uyarılma enerjisinin tutulması (TR) ve uyarılma enerjisinin elektron taşınmasına (ET) dönüşümü ile ilgilidir (Faseela ve ark., 2020.). Burada ABS enerji akışındaki absorpsiyonu ifade ederken, RC ise aktif reaksiyon merkezlerini belirtmektedir. Bu çalışmada elektron taşınımının maksimum kuantum verimini ifade eden  $ET_0/ABS$  (8 mM B+NP) ile Performans indeksleri (8 mM B ve 8 mM B+NP) anlamlı derecede azalış gösterirken;  $ABS/RC$ ,  $TR_0/RC$  ve  $DI_0/RC$  (8 mM B) önemli oranda artış göstermiştir.  $ABS/RC$  oranındaki artış, muhtemelen bazı PSII reaksiyon merkezlerinin inaktivasyonu, aktif RC'lerdeki azalma veya anten boyutunun artmasından kaynaklanmaktadır.  $DI_0/RC$ 'deki artış ise stres koşullarına bağlı olarak anten klorofilde enerji kaybı artışından kaynaklanabilmektedir. Ayrıca stres koşulları altında  $DI_0/RC$ 'nin artması absorplanan fazla ışık enerjisinin ısı şeklinde yayılması ile fotosentetik aparatların

fotooksidasyondan korunmasına katkı sağlamak için olabilir. ABS/RC ile  $DI_0/RC$  parametrelerinin birlikte artması en yüksek bor uygulamasında bitkilerin kendini aşırı ışıktan koruması adına gerçekleşmiş olabilir. Canlılık indeksleri olarak bilinen performans indeksleri ( $PI_{abs}$  ve  $PI_{total}$ ), yapısal ve işlevsel kriterleri birleştiren birkaç bağımsız parametrenin çarpımını temsil eder. Bu kriterler arasında reaksiyon merkezlerinin yoğunluğu, birincil fotokimyanın kuantum verimliliği ve elektron taşımında uyarılma enerjisinin dönüşümü yer alır (Kalaji ve ark., 2016).  $PI_{abs}$  sadece PQ (plastokinon) havuzuna elektron taşımını ile ilişkili iken,  $PI_{total}$  “bütün” doğrusal elektron taşımını ile ilişkilidir. Yapılan 8 mM B ve 8 mM B+NP uygulamalarında her iki genotipte de  $PI_{abs}$  ve  $PI_{total}$  değerleri anlamlı oranda azalmıştır. Bu azalışlar, solunum ve oksijen salınım oranlarındaki düşüş, klorofil ve karotenoid pigment içeriğindeki azalmalar ile ilişkili olabilir. Ayrıca bitki canlılığı ile ilgili güçlü ve kapsamlı parametreler olan  $PI_{abs}$  ve  $PI_{total}$ ’deki bu azalma reaksiyon merkezlerinin inaktif hale gelmesi ve kinon a’dan elektron transferinin azalması nedeniyle de gerçekleşebilir (Faseela vd., 2020).

#### 4.3.2.3. Bitkideki bor birikim analizi

Bor stresi uygulanan aspir genotiplerinde B konsantrasyonuna bağlı olarak yaprak dokularında anlamlı bir birikim gözlemlenmiştir (Şekil 4.13). En yüksek B birikimi Koç42 genotipinde 8 mM B+NP olan uygulamasında tespit edilmiş olup, 5879,6 ppm miktarındadır. Dinçer genotipinde, 4 mM B ve 8 mM B kontrol grubuna (C) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artışlar göstermektedir. 2 mM B+NP, 4 mM B+NP ve 4 mM B+NP kontrol grubuna (C+NP) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artışlar göstermektedir.

Koç42 genotipinde ise 2 mM B, 4 mM B ve 8 mM B kontrol grubuna (C) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artışlar göstermektedir. 2 mM B+NP, 4 mM B+NP, 4 mM B+NP ve 4 mM B+NP kontrol grubuna (C+NP) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artışlar göstermektedir.



Şekil 4.13. Aspirin genotiplerinde yaprak dokularındaki bor akümülyasyonu

Bu çalışmada B ve NP uygulamalarında her iki genotipte de yaprakta B miktarı artış göstermiştir. Ag NP uygulaması kendi kontrol (C+NP) ve B uygulamaları ile kıyaslandığında B'un kökten alınıp yapraklara taşınmasında kademeli olarak artırıcı bir etki oluşmuştur. Başka çalışmalarda da B'un yapraklarda köklere oranla daha yüksek miktarlar da birikim gösterdiği belirtilmiştir (Arslan ve ark., 2022). Floem akışı ile birlikte genç yapraklara taşınan B NP'ün de artırıcı etkisiyle birlikte yapraklarda gözle görülür nekrotik lekeler oluşturmuştur.

### 4.3.3. Biyokimyasal ölçümler

#### 4.3.3.1. Yapraklardaki fotosentetik pigment içeriklerinin analizi

Stres koşulları ve Ag NP altında yetiştirilen aspirin genotiplerinde toplam klorofil (Chl a+b) ve toplam karotenoid miktarları incelenmiştir (Şekil 4.14). Toplam klorofil verilerine göre her iki genotipin kontrolleri (C, C+NP) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Ayrıca, genotipler arasında diğer uygulamalar arasında da anlamlı farklar belirlenmiştir.

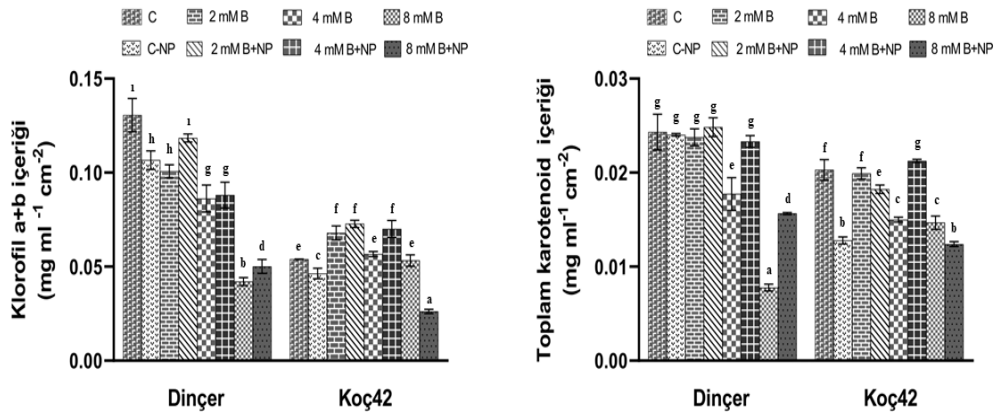
Dinçer genotipinde kontrol grubuna (C) kıyasla B uygulama grupları anlamlı düzeyde azalmıştır. 2 mM B+NP grubu, kontrol grubuna (C+NP) göre istatistiksel olarak

anlamli bir artiş gösterirken; 4 mM+NP ve 8 mM B+NP gruplarında ise anlamli azalmalar tespit edilmiştir. Ayrıca, 2 mM B+NP ile 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP arasında ve 4 mM B+NP ile 8 mM B+NP arasında anlamli düzeyde farklılıklar kaydedilmiştir. Aynı genotipte 2 mM B ile 8 mM B ve 4 mM B ile 8 mM B uygulamaları arasında da istatistiksel açıdan anlamli farklar tespit edilmiştir.

Koç42 genotipinde 2 mM B+NP ve 4 mM B+NP uygulamaları kontrol grubuna (C+NP) göre anlamli düzeyde artiş göstermişken, 8 mM B+NP anlamli düzeyde azalış göstermiştir. NP içermeyen stres uygulamaları incelendiğinde, kontrol grubu (C) ile karşılaştırıldığında anlamli farklılık yalnızca 2 mM B uygulamasında olmuştur. Aynı zamanda 2 mM B+NP ile 8 mM B+NP arasında ve 4 mM B+NP ile 8 mM B+NP arasında anlamli farklılıklar bulunmuştur. Koç42 genotipinde 8 mM B ile 8 mM B+NP uygulamaları arasında da anlamli bir fark gözlenmiş ve nanopartikül uygulamasının toplam klorofil miktarını önemli ölçüde etkilediği bu değerin yaklaşık %50,8 oranında azaldığı tespit edilmiştir.

Toplam karotenoid miktarları incelendiğinde Dinçer ve Koç42 genotipleri arasında anlamli farklar görülmüştür (Şekil 4.14). Dinçer genotipinde, kontrol grubuna (C) kıyasla 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları sırasıyla %27 ve %35,6 oranlarında azalma göstermiştir ve bu düşüşler istatistiksel olarak anlamli bulunmuştur. Benzer şekilde, C+NP ile 8 mM B+NP uygulamaları arasında da %38,8 oranında bir azalma gerçekleşmiş ve anlamli fark oluşmuştur. Stres koşulları ile nanopartikül uygulamaları karşılaştırıldığında, 4 mM B ile 4 mM B+NP uygulamaları arasında, nanopartikül uygulamasıyla birlikte %31,4 oranında bir artiş belirlenmiştir. Aynı şekilde, 8 mM B ile 8 mM B+NP karşılaştırmasında %101 oranında bir artiş ile toplam karotenoid miktarında anlamli bir yükseliş saptanmıştır.

Koç42 genotipinde, kontrol grupları (C ve C+NP) arasında istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamli bir fark gözlenmiştir. 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları, kontrol grubuna (C) kıyasla sırasıyla %26 ve %27,5 oranlarında düşüş göstermiştir. Buna karşılık, 2 mM B+NP ve 4 mM B+NP uygulamaları, kontrol grubuna (C+NP) göre sırasıyla %42,6 ve %39,8 oranlarında artiş sergilemiştir. Aynı genotipte, 2 mM B ile 4 mM B ve 2 mM B ile 8 mM B arasında da anlamli farklar belirlenmiştir. Ayrıca, 2 mM B+NP ile 8 mM B+NP ve 4 mM B+NP ile 8 mM B+NP uygulamaları arasında da anlamli düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4.14. B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde toplam klorofil (Chl a+b) ve karotenoid içeriği üzerine etkisi

Bitkilerde fotosentetik pigmentler, ışığı toplamak ve absorbe ışığı fotosentetik reaksiyon merkezlerine aktarmakla sorumlu olup ve konsantrasyonları fotosentetik verimlilikle ilişkilidir (Zhao ve ark., 2017). Bitkilerde bor stresi uygulamaları dikkate alındığında Dinçer genotipinde toplam klorofil içeriği anlamlı oranda azalmıştır. Pigment içeriğindeki bu azalma, stres uygulamalarını takiben fotosentetik aktivitenin azalmasının nedenlerinden biri olabilir. Bu azalışlar pigment sentezinin azalmasından kaynaklanabileceği gibi, klorofilin parçalanmasından da ileri gelebilir. Koç42 genotipinde ise 2 mM B ve 4 mM B uygulamalarını takiben NP uygulamalarında klorofil a+b içeriğindeki artış, genotipin strese rağmen fotosentez etkinliğini devam ettirmeye çalıştığını göstermektedir. Ayrıca en yüksek B uygulamalarında her iki genotip için de belirgin bir azalış söz konusudur. Stres koşullarında ışığın meydana getirdiği oksidatif hasardan tilakoid membranları korumakla görevli karotenoidlerin miktarı özellikle 4 mM B ve 8 mM B uygulamalarında her iki genotipte de önemli oranda azalırken, bu stresler ile NP uygulamalarındaki karotenoid artışı hem klorofil pigmentlerini hem de fotosistem I ve II'yi fotooksidasyondan korumak ve ayrıca ROS detoksifikasyonuna yardım etmek amacı için gerçekleşmiş olabilir.

Dinçer grubunda, B konsantrasyonunun artmasıyla birlikte toplam klorofil miktarında bir azalma gözlemlenmiştir. Bu durum, literatürde raporlanan verilerle de uyumludur. Toplam klorofil içeriğindeki bu düşüş, muhtemelen B toksisitesinin tetiklediği reaktif oksijen türlerinin neden olduğu lipid peroksidasyonu sonucu, tilakoid zarında meydana gelen yapısal hasarlardan kaynaklanmaktadır. Aynı koşullarda karotenoid içeriğinde de eş zamanlı bir azalma saptanmıştır. Karotenoid düzeylerindeki

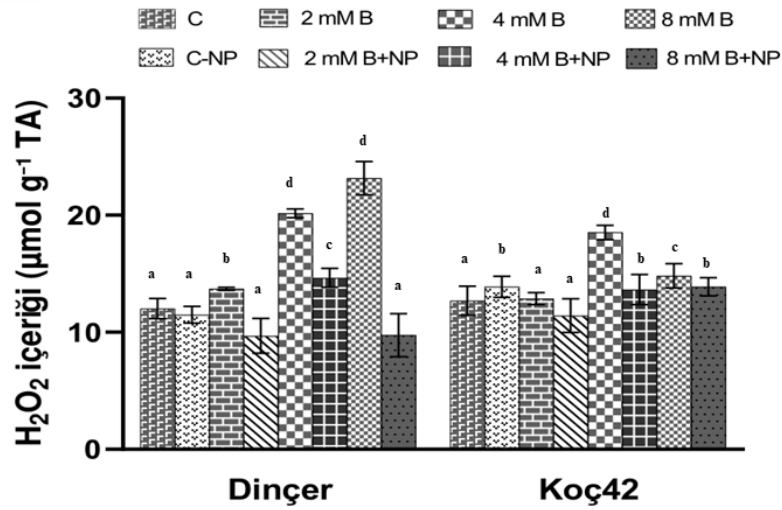
bu azalma, fotosentetik sistemi fotokorumada rol oynayan ve aynı zamanda antioksidan özellik gösteren antosiyaninlerin birikimiyle ilişkili olabilir (Landi ve ark., 2013). 2024 yılında Nassarawa ve ark.,'ın pamukta B toksisitesiyle birlikte Ag NP uygulaması sonucu elde ettikleri toplam klorofil verileri ile uyum göstermiştir (Nassarawa ve ark., 2024).

#### 4.3.3.2. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) miktarının analizi

Bor stresi ve nanopartikül uygulanan aspir bitkilerindeki aktif oksijen türü olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarlarındaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.15). Dinçer çeşidinde kontrol grubuna göre 2 mM B stresinde önemli değişiklikler olmazken 4 mM B ve 8 mM B stresine maruz kalan bitkilerde anlamlı düzeyde artışlar görülmüştür. Fakat 4 mM B ve 8 mM B uygulamalarına NP dahil olduğunda sırasıyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içerikleri %27,3 ve %57,8 oranlarında azalmıştır.

Koç42 çeşidinde kontrol grupları arasında da anlamlı fark gözlemlenmiştir. Ayrıca, 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları kontrol grubuna (C) kıyasla anlamlı değişiklik göstermiştir. Ek olarak, nanopartikül uygulamalarından sadece 2 mM B+NP kontrol grubuna (C+NP) kıyasla anlamlı fark sergilemiştir. Her iki genotipte de kontrol grupları hariç B ile verilen Ag NP H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verilerinde azalışa neden olmuştur.

Bitkiler için önemli bir sinyal molekülü olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yüksek konsantrasyonlara ulaştığında bitki için zararlı etkiler göstermektedir. Bitkilerde hidrojen peroksitin oluşumu genellikle; (i) süperoksit dismutaz enziminin katalizlediği reaksiyon ya da (ii) süperoksit radikali üzerinden kendiliğinden olmak üzere 2 yoldan gerçekleşir. Özellikle 4 mM B ve 8 mM B uygulamalarında her iki genotipte meydana gelen bu artışlar bu artışın SOD aktivitesinden daha öte süperoksit radikali üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir. Bitkinin stres koşulları altında yaşamsal metabolik faaliyetlerini devam ettirebilmesi için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının seviyesinin az olması önemlidir. Bu bağlamda Koç42 genotipi B stresinin üstesinden gelmek adına daha iyi bir performans sergilemiştir.

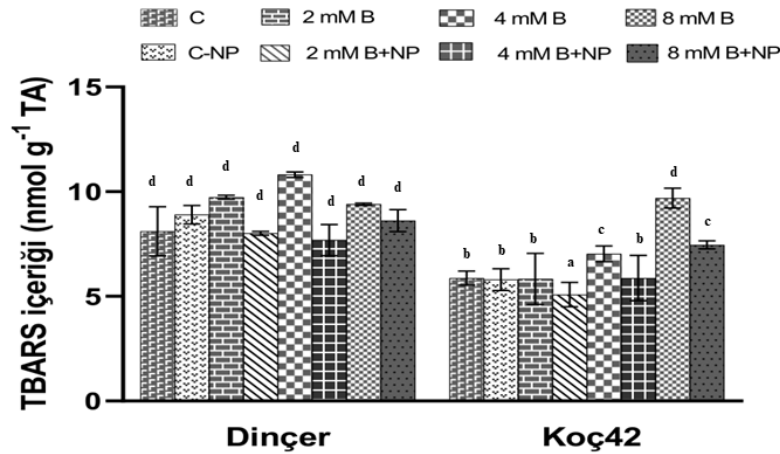


Şekil 4.15. B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği üzerine etkisi

#### 4.3.3.3. Lipid peroksidasyon (TBARS) miktarının analizi

Genotiplerin TBARS düzeylerini değerlendirmek amacıyla MDA ölçümleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler TBARS içeriği olarak sunulmuştur (Şekil 4.16). Dinçer genotipinde uygulama grupları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Koç42 genotipinde 4 mM B uygulaması kontrol grubuna (C) göre %19,8 oranında ve 8 mM B uygulaması ise %65,2 oranda anlamlı bir artış göstermiştir. Ayrıca, 2 mM B ile 4 mM B uygulamaları arasında %20,5 oranında ve 2 mM B ile 8 mM B uygulamaları arasında da %66,4 oranında anlamlı bir artış kaydedilmiştir. Stres koşullarda bitkinin lipid peroksidasyonunun göstergelerinden olan bu moleküller, genel olarak artış gösterse de özellikle Koç42 çeşidindeki 8 mM B uygulamasındaki artış istatistiksel olarak anlamlıdır. Membran hasarının bu oranda az olması, antioksidant savunma sistemlerinin etkin bir şekilde çalıştığını göstermektedir.

Ek olarak Ag NP'ler MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi stres belirteçlerinin ekspresyonunu azalttığı görülmüştür. B toksisitesi altında zar yapısı ve bütünlüğünü bozarak geçirgenliğinin artmasıyla birlikte MDA oranının artışlar görülür. Deney sonuçlarımız Karabal ve ark.'ın *Hordeum vulgare* ile yaptığı çalışmayla benzerlik gösterip, B toksisitesiyle birlikte artan zar geçirgenliği ile MDA verilerimizde pozitif bir korelasyon gözlemlenmiştir (Karabal ve ark., 2023).



Şekil 4.16. B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde TBARS içeriği üzerine etkisi

#### 4.3.3.4. Prolin içeriğinin analizi

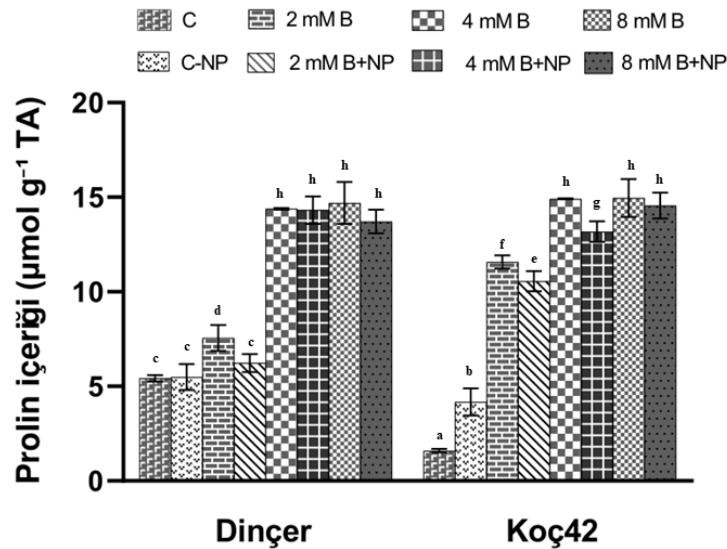
B stresi ve Ag NP uygulamaları yapılan aspir genotiplerinde prolin içeriği incelendiğinde genotiplerin kontrol grupları (C ve C+NP) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir (Şekil 4.17). Ayrıca, 2 mM B, 2 mM B+NP ve 4 mM B+NP uygulamaları açısından da genotipler arasında anlamlı düzeyde farklılıklar gözlemlenmiştir.

Dinçer genotipinde 2 mM B, 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları kontrol grubuna (C) göre anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Benzer şekilde, 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP uygulamaları da kontrol grubuna (C+NP) göre anlamlı farklılık oluşturmuştur. Ayrıca, 2 mM B ile 4 mM B, 2 mM B ile 8 mM B, 2 mM B+NP ile 4 mM B+NP ve 2 mM B+NP ile 8 mM B+NP uygulamaları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir.

Koç42 genotipinde ise 2 mM B, 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları, kontrol grubuna (C) göre anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Bunun yanı sıra, 2 mM B+NP, 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP uygulamaları da kontrol grubuna (C+NP) kıyasla anlamlı bulunmuştur. Ayrıca, 2 mM B ile 4 mM B, 2 mM B ile 8 mM B ve 2 mM B+NP ile 8 mM B+NP uygulamaları arasında da anlamlı düzeyde farklılıklar kaydedilmiştir.

Bitkilerde stres cevabının bir başka göstergesi de prolin gibi küçük moleküller olan ozmolitlerin sentezidir. Bu moleküller, stres koşullarına maruz kalmış bitki hücrelerinin turgorunu koruyarak, ROS'a karşı tampon görevi göreyerek ve redoks

homeostazını sürdürerek bitkilerin strese dayanımını artırmayı sağlar (Szabados and Savouré, 2010). Her iki genotip için de özellikle artan B uygulamalarında prolin miktarındaki artışlar ve bu artışların antioksidan savunma enzimleri ile uyumu, B stresinin üstesinden gelmek için diğer savunma bileşiklerine katkı sağlamak için gerçekleşmiş olabilir. Artan prolin seviyesi ile birlikte yüksek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonları, toksik B uygulamalarına karşı bitkilerin ortak bir tepkisidir (Gunes ve ark., 2006). Özellikle, 4 mM B ve üzeri konsantrasyonlarda B uygulamaları ile birlikte NP etkileşimi prolin artışı ile birlikte değerlendirildiğinde, prolin artışının bitkilerde suyu bünyede tutmasına yardımcı olarak, nispi su içeriğinde dramatik bir azalma yerine kademeli bir azalmayı desteklemiştir.



Şekil 4.17. B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde prolin içeriği üzerine etkisi

#### 4.3.3.5. Antioksidan izoenzim aktivitesi ölçümleri

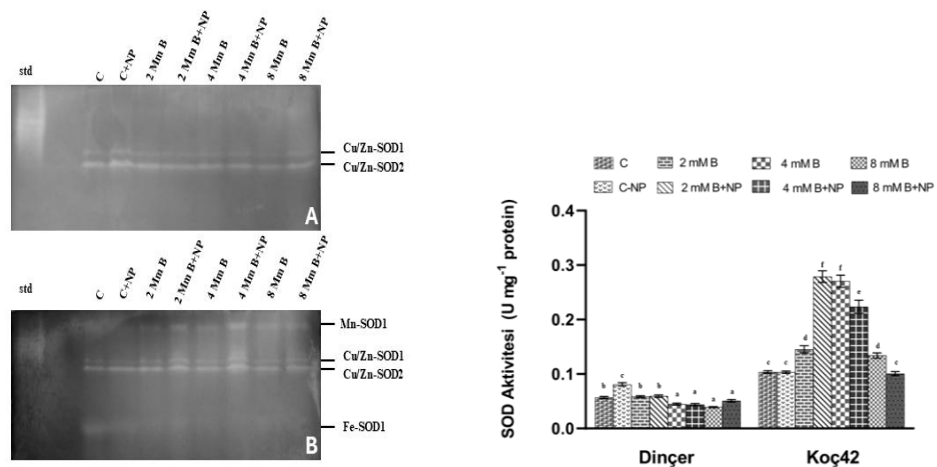
##### 4.3.3.5.1. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini

B ve Ag NP uygulaması yapılan aspir genotiplerinde SOD aktiviteleri incelendiğinde iki genotip arasında anlamlı farklılıklar görülmüştür (Şekil 4.18). Dinçer genotipinde 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları kontrol grubuna (C) kıyasla toplam SOD aktivitesinde azalış gösterirken Koç42'de artış görülmüştür. Dinçer genotipinde NP

uygulamaları bor toksisitesinde anlamlı değişiklikler oluşturmazken Koç42 genotipinde 2 mM B uygulamasında anlamlı düzeyde artışa, 4 mM ve 8 mM B uygulamalarında anlamlı düzeyde azalışa neden olmuştur.

B toksisitesi ve Ag NP uygulamalarının SOD izoenzimleri üzerindeki değişimler şekil 4.18’de gösterilmiştir. Dinçer genotipinde 2 SOD, Koç 42 genotipinde 4 SOD bandı belirlenmiştir. Dinçer genotipinde yaprak dokularında Cu/Zn-SOD (I, II) ve Koç42 genotipinde yaprak dokularında, Mn-SOD, Cu/Zn-SOD (I, II) ve Fe-SOD izoenzim bantları belirlenmiştir. Gelişmiş bitkilerde SOD enziminin üç izoformu bulunur. Bunlar, aktif bölgelerinde taşıdıkları metal iyonlarına göre sınıflandırılır: Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD. Bu izoenzimler hücrenin farklı bölmelerinde yer alır. Fe-SOD genellikle kloroplastlarda; Mn-SOD, mitokondri ve peroksizomlarda; Cu/Zn-SOD ise sitozolde, kloroplastlarda ve peroksizomlarda bulunur (Alscher ve ark., 2002).

Dinçer genotipinde Ag NP’lerin B toksisitesi üzerinde anlamlı değişiklikler oluşturmaması Liu ve ark.’ın Ag NP ile antioksidan enzimlerin etkileşimlerini araştırdıkları çalışma ile tutarlılık göstermiştir (Liu ve ark., 2020). Ayrıca Gupta ve ark.’ın *Oryza sativa* üzerinde Ag NP uygulamasının SOD aktivitesinde herhangi bir değişiklik yapmadığını gözlemlemişlerdir (Gupta ve ark., 2018). Strese karşı ilk savunma hattı olan SOD enziminde B toksisitesine karşı artışın olmaması ve genotipler arasında farklı olması diğer antioksidan enzimlerine kıyasla daha inaktif olduğunun ve bitki çeşitlerine karşı farklılık oluşturduğunu düşündürmüştür (Liu ve ark., 2020). Benzer şekilde *Hordeum vulgare*’nin hem dayanıklı hem hassas çeşidinde yapılan bir çalışmada SOD aktivitesinde önemli ölçüde değişiklikler gözlemlenmemiştir (Karabal ve ark., 2003).



**Şekil 4.18.** B ve Ag NP uygulamalarının aspir genotiplerinde süperoksit dismutaz (SOD) izoenzimlerinin bant yoğunluğu Dinçer (A) Koç42 (B) ve toplam SOD aktivitesi üzerine etkileri

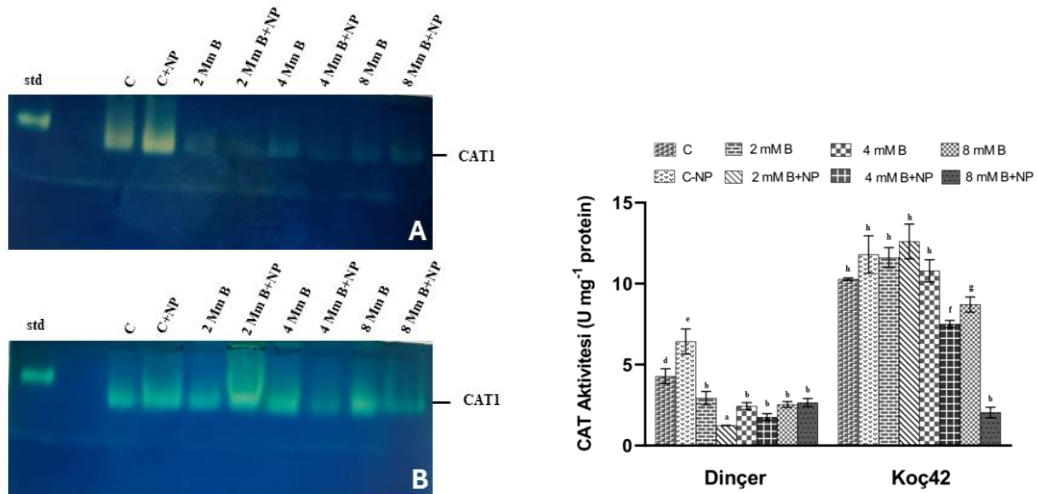
#### 4.5.3.5.2. Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini

Aspir genotiplerinde CAT enzim aktivitesi analiz edildiğinde her bir uygulama grubu kendi içinde genotipler arasında karşılaştırıldığında 8 mM B+NP uygulama grubu hariç diğer tüm uygulama gruplarında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (Şekil 4. 19). Dinçer genotipinde, 2 mM B, 4 mM B ve 8 mM B uygulamaları kontrol grubuna (C) göre anlamlı düzeyde farklılık göstermiştir. Ayrıca, 2 mM B + NP, 4 mM B + NP ve 8 mM B+NP uygulamaları da kontrol grubuna (C + NP) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır. Stres gruplarına NP uygulamalarında ise kontrol grubunda artış gözlemlenirken, 2 mM B ve 4 mM B uygulamalarında azalışlar meydana gelmiştir.

Koç42 genotipinde 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP de kontrol grubuna (C+NP) göre anlamlı düzeyde azalmıştır. 2 mM B+NP ile 4 mM B+NP, 2 mM B+NP ile 8 mM B+NP ve 4 mM B+NP ile 8 mM B+NP uygulamaları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Ayrıca, kontrol ve 2 mM B ile birlikte NP uygulamasıyla birlikte toplam CAT aktivitesinde artış olurken, 4 mM B ve 8 mM B uygulamalarında azalış meydana gelmiştir.

B stresi ve Ag NP uygulamalarına maruz bırakılan aspir bitkisinde CAT izoenzimine ait belirgin bir bant gözlemlenmiştir. CAT enzim aktivitesinde azalış CAT1 izoenzim yoğunluğundaki azalmayla da doğrulanmıştır.

Aspir bitkisinin B maruziyeti özellikle 4 mM B uygulamasından sonra CAT enzim aktivitesinde azalışlara neden olmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlar Molassiotis ve ark.'ın çalışmaları ile uyumludur (Molassiotis ve ark., 2006). Yüksek düzeyde B uygulamasının CAT aktivitesini inhibe ettiğine yönelik bulgularımıza dayanarak, iki olası ardışık mekanizma öne sürülebilir: i) peroksizomlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikiminin oksidatif bir patlamayı tetiklemesi ve bunun sonucunda CAT aktivitesinin baskılanması veya ii) borun doğrudan CAT enzimine bağlanarak enzimatik aktiviteyi engellemesi. Her iki durumda da telafi edilemeyen düzeyde hücrel oksidan üretimi sonucunda ortaya çıkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikimi, büyüme geriliğiyle ilişkilendirilebilecek önemli bir stres faktörü olarak öne çıkmaktadır (Del Rio ve ark., 2003; Molassiotis ve ark., 2006). Katalaz aktivitesindeki azalma, Ag NP'ler tarafından salınan Ag (I) iyonlarının enzimdeki dar kanallarla çevrili aktif merkezde bulunan amino asit kalıntılarıyla etkileşimiyle açıklanabilir. Bu etkileşim, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin aktif merkeze erişimini engelleyerek çözünür CAT aktivitesinin azalmasına neden olabilir (Liu ve ark., 2020).



**Şekil 4.19.** Bor stresi altındaki aspir bitkisine uygulanan nanopartiküllerin katalaz (CAT) izoenzimlerinin bant yoğunluğu Dinçer (A) Koç42 (B) ve toplam CAT aktivitesi üzerine etkileri

#### 4.5.3.5.3. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini

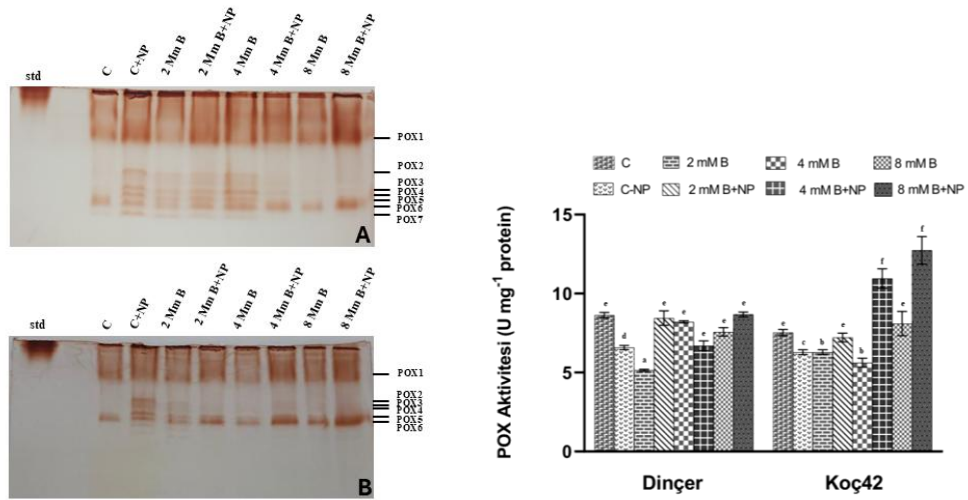
Aspir genotiplerinde POX enzim aktivitesi sonuçlarına göre aynı uygulama düzeylerinde genotipler arasında yapılan karşılaştırmalarda C+NP, 2 mM B, 4 mM B, 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir. (Şekil 4.20). Dinçer genotipinde kontrol grupları arasında (C ve C+NP) nanopartikül uygulamasıyla birlikte %23,8 oranında POX enzim aktivitesinde azalma meydana gelmiştir. Ayrıca kontrol grubu (C) ile kıyaslandığında anlamlı farklılık sadece 2 mM B uygulamasında gözlemlenmiş olup diğer stres uygulamalarında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmemiştir. Ek olarak, 8 mM B+NP uygulamasının kontrol grubuna (C+NP) göre %31,8 oranında arttığı gözlemlenmiştir. 2 mM B nanopartikülün etkisiyle (2mM B+ NP) POX enzim aktivitesini %64,3 oranında artış göstermiştir.

Koç42 genotipinde 2 mM B ve 4 mM B uygulamaları kontrol grubuna (C) göre sırasıyla %25,4 ve %25,3 oranında azalmıştır. Ayrıca, 2 mM B+NP, 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP uygulamaları kontrol grubuna (C+NP) göre sırasıyla %14,8, %74,2 ve yaklaşık %100 oranında artış göstermiştir. Nanopartikül uygulamasının etkisi aynı B konsantrasyonundaki gruplar karşılaştırıldığında 2 mM B+NP uygulaması 2 mM B uygulamasına göre %28,5 oranında, 4 mM B+NP uygulaması 4 mM B uygulamasına göre

%94,8 oranında ve 8 mM B+NP uygulaması ise 8 mM B uygulamasına göre %57,2 oranında POX enzim aktivitesinde artış sağlamıştır.

POX aktivitesi için boyanan native PAGE jelleri, artan B konsantrasyonu ile yetiştirilen aspir bitkisinde belirgin bir POX izoenzimine ait bantlar gözlemlenmiştir. Dinçer genotipinde 7 POX izoenzim bandı Koç42 genotipinde 6 adet POX izoenzim bandı oluşmuştur.

Her iki genotipte de Dinçer 4 mm B uygulaması hariç Ag NP 'lerin POX arttırdığı gözlemlenmektedir. Bu çalışma *Corylus avellana* üzerinde yapılan çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Jamshidi ve ark., 2016).



Şekil 4.20. Bor stresi altındaki aspir bitkisine uygulanan nanopartiküllerin peroksidaz (POX) izoenzimlerinin bant yoğunluğu Dinçer (A) Koç42 (B) ve toplam POX aktivitesi üzerine etkileri

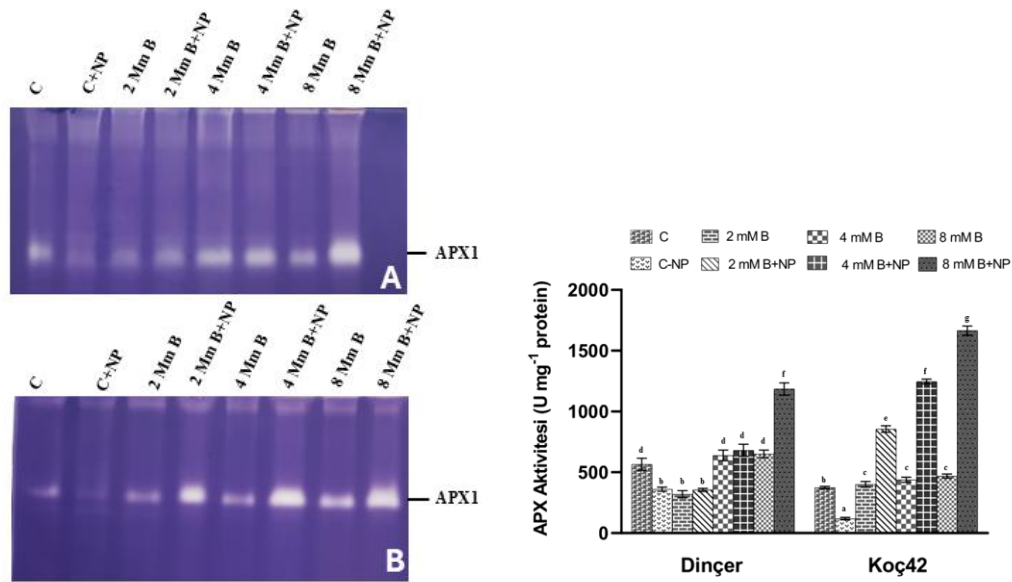
#### 4.5.3.5.4. Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini

Aspir genotiplerinde APX enzim aktivitesi analiz edildiğinde her bir uygulama grubu kendi içinde genotipler arasında karşılaştırıldığında tüm uygulama anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (Şekil 4. 21). Hem Dinçer hem Koç42 genotiplerinde kontrol grupları (C ve C+NP) arasında anlamlı farklar görülmüş olup, NP etkisiyle azalmalar meydana gelmiştir. Dinçer genotipinde 2 mM B uygulamasının kontrol grubuna (C) göre %43,5 oranında azalmaya neden olduğu gözlemlenmiş olup 4 mM B ve 8 mM B uygulamalarında anlamlı farklılıklar tespit edilmemiştir. Ayrıca, 4 mM B+NP ve 8 mM B+NP grupları da kontrol grubuna (C+NP) göre anlamlı düzeyde farklılık oluşturmuştur.

8 mM B+NP uygulaması 8 mM B uygulamasına kıyasla %82,2 oranında arttığı gözlemlenmektedir.

Koç42 genotiplerinde kontrol ve NP'nin kontrol grubu arasında %68 oranında bir azalma gözlemlenmiştir. Aksine, stres gruplarına NP uygulamasıyla birlikte APX aktivite düzeylerinde artışlar meydana gelmiştir. Ag NP uygulamasıyla birlikte APX enzim aktivitesindeki artış Gupta ve ark.'ın çalışmasıyla benzerlik göstermektedir (Gupta ve ark., 2018).

APX izoformlarını görüntülemek için boyanan native PAGE jelleri, artan B konsantrasyonuyla yetiştirilen aspir bitkisinde belirgin bir APX izoenzimine ait bir bant (APX1) gözlemlenmiştir. APX enzim aktivitesinde artış APX1 izoenzim yoğunluğundaki artmayla doğrulanmıştır.



Şekil 4.21. Bor stresi altındaki aspir bitkisine uygulanan nanopartiküllerin askorbat peroksidaz (APX) izoenzimlerinin bant yoğunluğu Dinçer (A) Koç42 (B) ve toplam APX aktivitesi üzerine etkileri

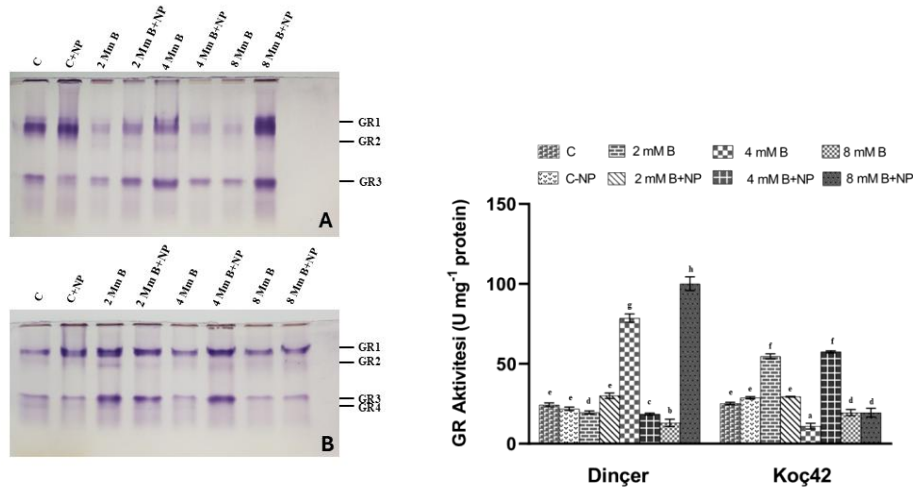
#### 4.3.3.5.5. Glutatyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) izoenzimlerinin elektroforetik ayrımı ve aktivite tayini

Aspir genotiplerinde GR enzim aktivitesi sonuçlarına göre genotipler arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir (Şekil 4.22). Genotipler arasında 4 mM B %86 oranında ve 8 mM B+NP %80,6 oranında Koç42 genotipinde Dinçer genotipine göre azalış gösterirken, 2 mM B uygulaması %178,7 oranında ve 4mM B+NP uygulaması %67,7 oranında Koç42 genotipinde artmıştır. Dinçer genotipinde 4 mM B kontrol

grubuna (C) göre 4 katından fazla artış gösterirken 8 mM B kontrol grubuna göre %46,3 oranında azalış göstermiştir. 8mM B+NP kontrol grubuna (C+NP) göre 3 katından fazla artış sağlamıştır. 2 mM B nanopartikülün etkisiyle (2mM B+NP) GR enzim aktivitesini %34,6 artırmış, 4 mM B nanopartikülün etkisiyle (4mM B+NP) %76,4 azalmıştır.

Koç42 grubunda 2 mM B kontrol grubuna (C) göre 2 katından fazla artış gösterirken 4 mM B kontrol grubuna göre 2 katından fazla azalış gösterilmiştir. 4 mM B+NP ise kontrol grubuna göre (C+NP) %100'lük bir artış göstermiştir. 2 mM B nanopartikülün etkisiyle (2mM B+NP) GR enzim aktivitesini %46,5 azaltırken, 4 mM B nanopartikülün etkisiyle (4mM B+NP) %80,9 artırmıştır. Çalışma sonuçlarımız Karabal ve ark.'ın yapmış oldukları çalışma ile uyumludur (Karabal ve ark., 2003).

GR aktivitesi için boyanan native PAGE jelleri, artan B konsantrasyonu ile yetiştirilen aspir bitkisinde belirgin bir GR izoenzimine ait bantlar gözlemlenmiştir. Dinçer genotipinde 3 GR izoenzim bandı Koç42 genotipinde 4 adet GR izoenzim bandı oluşmuştur.



**Şekil 4.22.** Bor stresi altındaki aspir bitkisine uygulanan nanopartiküllerin glutatyon redüktaz (GR) izoenzimlerinin bant yoğunluğu Dinçer (A) Koç42 (B) ve toplam GR aktivitesi üzerine etkileri

Tuzluluk, kuraklık, ağır metaller, yüksek ışık ve aşırı sıcaklık gibi çeşitli abiyotik faktörleri bitkilerde bir dizi olumsuz etkiye neden olur ve yüksek reaktiviteye sahip reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine yol açar. Normal büyüme koşulları altında, bitkilerdeki antioksidan savunma sistemi bileşenlerinin koordineli etkisiyle ROS üretimi ve ROS'ların temizlenmesi arasında bir denge vardır (Hasanuzzaman ve ark., 2020b). ROS'ların düşük seviyede üretimi, bitki açısından stres adaptasyon mekanizmaları, hücrel proliferasyon ve farklılaşma gibi birçok biyolojik süreçte olumlu bir cevap

oluşturmak için gerek hücre içi gerekse hücreler arası sinyal süreçlerinde rol oynar. Öte yandan, ROS üretimi ile temizleme arasındaki dengesizlik, stres koşulları altında oksidatif hasara yol açarak normal hücre fonksiyonu engeller, karbonhidratlar, lipitler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllere zarar verir ve sonunda hücre ölümüne neden olur. Antioksidanlar, abiyotik streslerde kritik bir rol oynayan ROS'u temizlemek için hayati bileşenler olarak kabul edilir. Bitkiler, farklı abiyotik stresler altında ROS'ların aşırı üretimini azaltmak için çok yönlü bir antioksidan savunma ağı geliştirmiştir. Antioksidan savunma sistemi, düşük moleküler ağırlıklı birkaç antioksidan (AsA, askorbat; GSH, glutatyon; protein olmayan amino asitler; fenolik bileşikler;  $\alpha$ -tokoferol ve bazı alkaloidler) ile antioksidan enzimlerden (SOD, CAT, POX, APX, MDHAR, monodehidroaskorbat redüktaz; DHAR, dehidroaskorbat redüktaz; GR, glutatyon redüktaz; GPX, glutatyon peroksidaz; GSt, glutathione S transferaz) oluşmaktadır. Bu antioksidan enzimler, bitki hücrelerinin farklı bölgelerinde bulunur ve ROS'u detoksifiye etmek için birlikte çalışırlar (You ve Chan, 2015). SOD, süperoksit radikalini  $H_2O_2$ 'ye dönüştürerek ilk savunma hattı görevini üstlenirken; CAT, APX ve GPX daha sonra  $H_2O_2$ 'yi detoksifiye eder. Stres koşullarında özellikle 4 mM B ve 8 mM B uygulamalarında her iki genotipte artan  $H_2O_2$  miktarı ile birlikte Koç42 çeşidine artan SOD aktivitesi ile uyumludur. Yine aynı çeşitte 2mM B ve 4 mM B uygulamalarında katalaz aktivitesindeki artış ile POX enzimleri arasında bu uygulamalardaki denge,  $H_2O_2$  üretimi ve detoksifikasyonu arasındaki birlikte sağlanmasına yardımcı olmak için gerçekleşmiş olabilir. Dinçer çeşidinde ise artan Bor konsantrasyonuna bağlı olarak  $H_2O_2$ 'deki artış SOD'da azalma POX'da enzim miktarındaki çok az değişim ve katalaz aktivitesindeki azalma gibi nedenlerden ötürü anlamlı bir şekilde detoksifikasyon gerçekleşmemiştir. Fotosentez verileri ve antioksidan enzim aktiviteleri birlikte değerlendirildiğinde, strese bağlı olarak protein sentezi kapasitesinde azalmalar meydana gelebilir ve bu durumda fotosistemler arasındaki tüm fotosentetik elektron taşıma süreci değişebilir. Sonuç itibarıyla plastokinon havuzunun azalması ile birlikte PSII'nin fotoinhibisyonu ve ROS oluşumunun tetiklenmesi gerçekleşmiş olabilir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Bu tez çalışmasında, farklı B konsantrasyonlarına maruz bırakılan aspir bitkisine püskürtme yöntemiyle uygulanan Ag NP'lerin bitki büyümesi ve verimi üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Aspir yüksek linoleik ve oleik asit içerikleri ile bitkisel yağ üretimi açısından ülkemizde ve dünyada önemli üretim kapasitesine sahip olan yağlı tohumlu bir bitkidir. Bunun yanı sıra tıp, kozmetik, endüstri, biyodizel, gıda gibi pek çok üretim alanlarına da sahiptir. Soğuk kuraklık, tuzluluk gibi streslere dayanıklı olduğu için kurak ve yarı kurak topraklarda yetişebilen aspir ılıman bölge bitkisi olup alternatif alanlarda yetiştirilebilmektedir.

B, bitkilerde normal büyüme ve gelişme için çok küçük miktarlarda gerekli olan mikro besin elementidir. Günümüzde özellikle kurak bölgelerde yer alan topraklarında borun konsantrasyonu toprağın yüzeye yakın kısımlarında toksik olabilecek düzeylere kadar yükselmektedir. B eksikliği ile toksisitesi arasındaki aralık, diğer elementlere göre çok daha dardır. B açısından kritik seviyeler toprağın türüne, pH değerine, su durumuna, dokuya, hava nemine ve sıcaklığına, bitki türüne ve genotipe bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu bakımdan ele alındığında, bitkiler tüm büyüme aşamalarında yüksek B konsantrasyonlarına eşit derecede duyarlı değildir. Çalışmamızda elde edilen bulgular, yüksek B konsantrasyonlarının aspir yapraklarında oksidatif hasara yol açarak antioksidan enzimlerin yanıtını indüklediğini göstermektedir.

Uygulama alanları oldukça hızlı yayılan NP'lerin tarımsal üretim sistemleri üzerinde de önemli bir yer edinmiştir. NP'ler bitki streslerine karşı direnç artırıcı etkisinin yanı sıra fazla konsantrasyonlarda toksik etki oluşturmaktadır.

Bu çalışma kapsamında artan B konsantrasyonlarına maruz kalan aspir genotiplerinde yeşil sentez yolu ile elde edilmiş Ag NP'lerin etkileri incelenmiştir. Artan konsantrasyonlarda B uygulamaları bitki nispi su içeriğinde azalma, pigment kaybı ve fotosentetik aktivitede azalma ile birlikte yapraklarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinde artışa neden olarak nekrotik zonların oluşumunu tetiklemiştir. Genotipler stres sırasında açığa çıkan reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırmak için antioksidan savunma sistemlerini etkin bir şekilde devreye sokmuştur. Klorofil floresansı ölçümlerinden elde edilen sonuçlarda ise, artan B dozlarında özellikle B uygulamalarında fotosistemler hasar görmüş ve fotosentez kapasitesi azalmışken, NP uygulamaları ile birlikte 8 mM B uygulamasına kadar bitkinin

fotosentetik aparatlarını korumak için katkı sağlamıştır. Ancak en yüksek B uygulamasında artık NP uygulaması bile hasarı telafi etmede yeterli olmamıştır.

Tüm sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde, azalan fotosentetik aktiviteye rağmen stres koşullarında daha iyi fotosentetik performans gösteren, antioksidan enzim kapasitesini diğer genotipe göre daha anlamlı artıran, yaprak su içeriğini daha yüksek tutabilen ve  $H_2O_2$ 'i daha stabil tutabilen Koç42 çeşidi daha toleranslı olarak belirlenmiştir.

Bunun yanı sıra NP uygulamaları için, bitkilerde stres koşullarının iyileştirilmesi ya da NP uygulamalarının stres etkisini daha da arttırması açısından yapılan pek çok değerlendirme mevcuttur. Bu çalışmanın bulguları deneme düzeni, uygulanan NP konsantrasyonu, NP uygulama süresi, bitki genotipi, bitkinin büyüme evresi, uygulama yapılan bitki organı ve ayrıca bitkiye NP uygulama şeklinin de tarımsal bitkilerde NP uygulamalarına bağlı oluşacak yanıtları önemli ölçüde değiştirebileceğini ortaya koymaktadır.

## 5.2. Öneriler

- Ülkemizde B toksisitesine maruz kalan topraklarda aspir bitkisinin fitoremediasyon aracı olarak da kullanılabileceği düşünülmektedir.
- Bitkilerde stresin oluşturduğu etkiler ve nanopartiküllerin bu süreçlerdeki rollerinin anlaşılmasında bu çalışma kapsamında yapılan fizyolojik ve biyokimyasal analizlere destek olarak moleküler analizlerin de yapılması, toksisite ya da stres etkisinin azaltılması bağlamında sürecin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.
- 50 ppm Ag NP konsantrasyonundan daha düşük dozlarda uygulamalar yapılarak stres etkisini indükleyici etkinin yanı sıra stres altındaki bitkiler üzerinde nanopartiküllerin iyileştirici etkilerinin olup olmadığını anlaşılacaktır.
- Bitki verimi üzerindeki etkilerin daha kapsamlı değerlendirilebilmesi için, aynı deney düzenekleri kullanılarak daha uzun süreli yetiştirme çalışmaları yapılarak aspir tohumlarındaki yağ içeriği karşılaştırmalı olarak analiz edilebilir.

## 6. KAYNAKLAR

- AbdulWahid, M. B., Abdullah, O. H., Farhan, O. H., Ahmed, M. I., Mohammed, A. M. and Khalaf, Y. H., 2025, Sustainable synthesis and characterization of silver nanoparticles through *Juncus acutus* flowers and evaluation of their ability to detect NO<sub>2</sub> and NH<sub>3</sub> gases, *Results in Materials*, 26, 100723. <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2025.100723>
- Abreu, L. G., Quintino, M. N., Alves, M. F., Habibe, C. H., Ramos, A. S. and Santos, C., 2020, Influence of the microstructure on the life prediction of hydrothermal degraded 3Y-TZP bioceramics, *Journal of Materials Research and Technology*, 9(5), 10830-10840. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.07.059>
- Adamska, I. and Biernacka, P., 2021, Bioactive substances in safflower flowers and their applicability in medicine and health-promoting foods, *International Journal of Food Science*, 2021 (1), 6657639. <https://doi.org/10.1155/2021/6657639>
- Alabdallah, N. M. and Hasan, M. M., 2021, Plant-based green synthesis of silver nanoparticles and its effective role in abiotic stress tolerance in crop plants, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10), 5631-5639. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.081>
- Ali, S., Mehmood, A. and Khan, N., 2021, Uptake, translocation, and consequences of nanomaterials on plant growth and stress adaptation, *Journal of Nanomaterials*, 1, 6677616. <https://doi.org/10.1155/2021/6677616>
- Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath, L. S., 2002, Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants, *Journal of Experimental Botany*, 53(372), 1331-1341. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1331>
- Amooghaie, R., Saeri, M. R. and Azizi, M., 2015, Synthesis, characterization and biocompatibility of silver nanoparticles synthesized from *Nigella sativa* leaf extract in comparison with chemical silver nanoparticles, *Ecotoxicology and*

*Environmental Safety*, 120, 400-408.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.06.025>

Anis, S. N. S., Liew, W. C., Marsin, A. M., Muhamad, I. I., Teh, S. H. and Khudzari, A. Z. M., 2023, Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using pineapple leaves waste, *Cleaner Engineering and Technology*, 15(1), 100660. <https://doi.org/10.1016/j.clet.2023.100660>

Arruda, S. C. C., Silva, A. L. D., Galazzi, R. M., Azevedo, R. A., and Arruda, M. A. Z., 2015, Nanoparticles applied to plant science: a review, *Talanta*, 131, 693-705. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.08.050>

Arslan, Ö., Çulha Erdal, S., and Ekmekçi, Y., 2022, Salt pretreatment-mediated alleviation of boron toxicity in safflower cultivars: Growth, boron accumulation, photochemical activities, antioxidant defense response. *Plants*, 11(17), 2316. <https://doi.org/10.3390/plants11172316>

Ayuk, E. L., Ugwu, M. O. and Aronimo, S. B., 2017, A review on synthetic methods of nanostructured materials, *Chemistry Research Journal*, 2(5), 97-123.

Azameti, M. K. and Imoro, A.W. M., 2023, Nanotechnology: A promising field in enhancing abiotic stress tolerance in plants, *Crop Design*, 2(2), 100037. <https://doi.org/10.1016/j.crope.2023.100037>

Azim, Z., Singh, N. B., Singh, A., Amist, N., Niharika, Khare, S., Yadav, R. K., Bano, C. and Yadav, V., 2022, A review summarizing uptake, translocation and accumulation of nanoparticles within the plants: current status and future prospectus, *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 32(2), 211-224. <https://doi.org/10.1007/s13562-022-00800-6>

Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1971, Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)

- Begum, S. R. and Jayawardana, N. U., 2023, Green synthesized metal nanoparticles as an ecofriendly measure for plant growth stimulation and disease resistance, *Plant Nano Biology*, 3, 100028. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2023.100028>
- Begum, S. J. P., Pratibha, S., Rawat, J. M., Venugopal, D., Sahu, P., Gowda, A., Qureshi, K. A. and Jaremko, M., 2022, Recent advances in green synthesis, characterization, and applications of bioactive metallic nanoparticles, *Pharmaceuticals*, 15(4), 455. <https://doi.org/10.3390/ph15040455>
- Bergmeyer, H. U., 1970, *Methoden der enzymatischen Analyse. (Band 1)*. Walter de Gruyter GmbH and Co KG.
- Borase, H. P., Salunke, B. K., Salunkhe, R. B., Patil, C. D., Hallsworth, J. E., Kim, B. S. and Patil, S. V., 2014, Plant extract: A promising biomatrix for ecofriendly, controlled synthesis of silver nanoparticles, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173, 1-29. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0831-4>
- Bradford, M. M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brdar-Jokanovic, M., 2020, Boron toxicity and deficiency in agricultural plants, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1424. <https://doi.org/10.3390/ijms21041424>
- Calanca, P. P., 2016, Effects of abiotic stress in crop production, *Quantification of climate variability, adaptation and mitigation for agricultural sustainability*. Cham: Springer International Publishing, 165-180. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-32059-5\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-32059-5_8)
- Chang, Y. L., Hou, N. C., Fei, J. L., Qin, Z., Niu, Y. L., Zhang, Z. F., Wang, R., Qin, Z., and Liu, H. M., 2025, Uncovering phenolic profiles of different forms in

safflower seeds and their antioxidant capacity, and biological activity, *Journal of Food Science*, 90(3), e70025. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.70025>

Chen, Y., Li, M., Wen, J., Pan, X., Deng, Z., Chen, J., Chen, G., Yu, L., Tang, Y., Li, G., Xie, X. and Peng, C., 2022, Pharmacological activities of safflower yellow and its clinical applications, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 2108557. <https://doi.org/10.1155/2022/2108557>

Ciampi, S., Gentili, E., Guidi, L. and Soldatini, G. F., 1996, The effect of nitrogen deficiency on leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in sunflower, *Plant Science*, 118(2), 177-184. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(96\)04442-1](https://doi.org/10.1016/0168-9452(96)04442-1)

Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M. and Shinozaki, K., 2011, Effects of abiotic stress on plants: A systems biology perspective, *BMC Plant Biology*, 11, 1-14. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-163>

Dannel, F., Pfeffer, H. and Römheld, V., 2002, Update on boron in higher plants-uptake, primary translocation and compartmentation, *Plant Biology*, 4(02), 193-204. <https://doi.org/10.1055/s-2002-25730>

Day, S., Çikılı, Y., and Aasim, M., 2017, Screening of three safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under boron stress, *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 16(5), 109-116. <https://doi.org/10.24326/asphc.2017.5.11>

Deka, K., Nongbet, R. D., Das, K., Saikia, P., Kaur, S., Talukder, A. and Thakuria, B., 2025, Understanding the mechanism underlying the green synthesis of metallic nanoparticles using plant extract(s) with special reference to Silver, Gold, Copper and Zinc oxide nanoparticles, *Hybrid Advances*, 9, 100399. <https://doi.org/10.1016/j.hybadv.2025.100399>

Del Rio L. A., Corpas, F. J., Sandalio, L. M. and Palma, J. M., 2003, Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide, *IUBMB life*, 55(2), 71-81. <https://doi.org/10.1080/1521654031000094694>

- Dilnawaz, F., Misra, A. N., and Apostolova, E., 2023, Involvement of nanoparticles in mitigating plant's abiotic stress, *Plant Stress*, 10, 100280. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100280>
- Duhan, J. S., Kumar, R., Kumar, N., Kaur, P., Nehra, K. and Duhan, S., 2017, Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture, *Biotechnology Reports*, 15, 11-23. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.03.002>
- Ealia, S. A. M. and Saravanakumar, M. P., 2017, A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP conference series: materials science and engineering*, 263, 032019. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>
- El-Moneim, D. A., Dawood, M. F. A., Moursi, Y. S., Farghaly, A. A., Afifi, M. and Sallam, A., 2021, Positive and negative effects of nanoparticles on agricultural crops, *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 6(2), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s41204-021-00117-0>
- Emongor, V., Oagile, O., Phuduhudu, D. and Oarabile, P., 2017, Safflower production, Gaborone: Botswana University of Agriculture and Natural ResourcesI.
- Ernst, D., Kolenčík, M., Šebesta, M., Ďurišová, L., Ďúranová, H., Kšiňan, S., Illa, R., Safarik, I., Černý, I., Kratošová, G., Žitniak Čurná, V., Ivanič Porhajašová, J., Babošová, M., Feng, H., Dobročka, E., Bujdoš, M., Pospiskova, K. Z., Afzal, S., Singh, N. K., ... Aydın, E., 2023, Agronomic investigation of spray dispersion of metal-based nanoparticles on sunflowers in real-world environments, *Plants*, 12(9), 1789. <https://doi.org/10.3390/plants12091789>
- Faseela, P., Sinisha, A. K., Brestič, M. and Puthur, J. T., 2020, Chlorophyll a fluorescence parameters as indicators of a particular abiotic stress in rice, *Photosynthetica*, 58. 293-300. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.147>

- Foyer, C. H. and Halliwell, B., 1976, The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbic acid metabolism, *Planta*, 133(1), 21-25. <https://doi.org/10.1007/BF00386001>
- Francis, S., Joseph, S., Koshy, E. P. and Mathew, B., 2018, Microwave assisted green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of elephantopus scaber and its environmental and biological applications, *Artificial Cells Nanomedicine and Biotechnology*, 46(4), 795-804. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1345921>
- García-Sánchez, F., Simón-Grao, S., Martínez-Nicolás, J. J., Alfosea-Simón, M., Liu, C., Chatzissavvidis, C., Pérez-Pérez, J. G. and Cámara-Zapata, J. M., 2020, Multiple stresses occurring with boron toxicity and deficiency in plants, *Journal of Hazardous Materials*, 397, 122713. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122713>
- Gautam, S., Bhagyawant, S. S. and Srivastava, N., 2014, Detailed study on therapeutic properties, uses and pharmacological applications of safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *International Journal of Ayurveda and Pharma Research*, 2(3), 1-12.
- Gharibshahi, L., Saion, E., Gharibshahi, E., Shaari, A. H. and Matori, K. A., 2017, Structural and optical properties of Ag nanoparticles synthesized by thermal treatment method. *Materials*, 10(4), 402. <https://doi.org/10.3390/ma10040402>
- Ghiyasi, M., Rezaee Danesh, Y., Amirnia, R., Najafi, S., Mulet, J. M. and Porcel, R., 2023, Foliar Applications of ZnO and its nanoparticles increase safflower (*Carthamus tinctorius* L.) growth and yield under water stress, *Agronomy*, 13(1), 192. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010192>

- Golkar, P., 2018, Inheritance of carthamin and carthamidin in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Genetics*, 97(1), 331-336. <https://doi.org/10.1007/s12041-018-0909-9>
- Gowtham, H. G., Shilpa, N., Singh, S. B., Aiyaz, M., Abhilash, M. R., Nataraj, K., Amruthesh, K. N., Ansari, M. A., Alomary, M. N. and Murali, M., 2024, Toxicological effects of nanoparticles in plants: Mechanisms involved at morphological, physiological, biochemical and molecular levels, *Plant Physiology and Biochemistry*, 210, 108604. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108604>
- Gunes, A., Soylemezoglu, G., Inal, A., Bagci, E. G., Coban, S. and Sahin, O., 2006, Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity, *Scientia Horticulturae*, 110(3), 279-284. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.07.014>
- Gupta, S. D., Agarwal, A. and Pradhan, S., 2018, Phytostimulatory effect of silver nanoparticles (AgNPs) on rice seedling growth: An insight from antioxidative enzyme activities and gene expression patterns, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 624-633. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.023>
- Haji, B. S., Barzinjy, A. A., Abbas, A. O., Kaygili, O. and Mousa, M. S., 2025, Green synthesis of ZnO nanoparticles using *Citrullus lanatus* fruit extract and their potential for microwave absorption, *Nano-Structures and Nano-Objects*, 43, 101502. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2025.101502>
- Hamid, M. T., Hussein, N. N., Sulaiman, G. M., and Mohammed, H. A., 2025, Antibacterial and antibiofilm properties of silver nanoparticles synthesized using *Carthamus tinctorius* extract against various multidrug-resistant bacterial strains, *Discover Applied Sciences*, 7(6), 1-23. <https://doi.org/10.1007/s42452-025-06986-3>

- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., Hossen, M. S., Zulfiqar, F., Alam, M. M. and Fujita, M., 2020a, Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 1-44. <https://doi.org/10.3390/ijms21228695>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Al Mahmud, J., Fujita, M. and Fotopoulos, V., 2020b, Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator, *Antioxidants*, 9(8), 681. <https://doi.org/10.3390/antiox9080681>
- Hatfield, J. L. and Prueger, J. H., 2015, Temperature extremes: Effect on plant growth and development, *Weather and Climate Extremes*, 10, 4-10. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2015.08.001>
- He, M., He, C. Q. and Ding, N. Z., 2018, Abiotic stresses: General defenses of land plants and chances for engineering multistress tolerance, *Frontiers in Plant Science*, 9, 1771. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01771>
- Hermanto, D., Ismillayli, N., Fatwa, D.H., Zuryati, U.K., Muliasari, H., Wirawan, R. and Prasetyoko, D., 2024, Suprpto, S., Bio-mediated electrochemically synthesis of silver nanoparticles using green tea (*Camellia sinensis*) leaves extract and their antibacterial activity, *South African Journal of Chemical Engineering*, 47(1), 136-141. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2023.11.004>
- Herzog, V. and Fahimi, H. D., 1973, A new sensitive colorimetric assay for peroxidase using 3,3'-diaminobenzidine as hydrogen donor, *Analytical Biochemistry*, 55(2), 554-562. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(73\)90144-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90144-9)
- Hou, W. C., Liang, H. J., Wang, C. C. and Liu, D. Z., 2004, Detection of glutathione reductase after electrophoresis on native or sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gels, *Electrophoresis*, 25(17), 2926-2931. <https://doi.org/10.1002/elps.200406041>

- Hua, T., Zhang, R., Sun, H. and Liu, C., 2021, Alleviation of boron toxicity in plants: Mechanisms and approaches, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 51(24), 2975-3015. <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1807451>
- Hussain, M. I., Lyra, D. A., Farooq, M., Nikoloudakis, N., and Khalid, N., 2016, Salt and drought stresses in safflower: a review, *Agronomy for Sustainable Development*, 36, 1-31. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0344-8>
- Huston, M., Debella, M., Dibella, M. and Gupta, A., 2021, Green Synthesis of Nanomaterials, *Nanomaterials*, 11(8). 2130. <https://doi.org/10.3390/nano11082130>
- Iqbal, M. S., Singh, A. K., Singh, S. P., and Ansari, M. I., 2020, Nanoparticles and plant interaction with respect to stress response. In *Nanomaterials and environmental biotechnology*, Cham: Springer International Publishing, 1-15. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-34544-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-34544-0_1)
- Işigigür, A., Karaosmanoglu, F. and Aksoy, H. A., 1995, Characteristics of safflower seed oils of turkish origin, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72(10), 1223-1225. <https://doi.org/10.1007/BF02540994>
- Jagtap, U. B. and Bapat, V. A., 2013, Green synthesis of silver nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* Lam. seed extract and its antibacterial activity, *Industrial Crops and Products*, 46, 132-137. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.019>
- Jahan, I. and Isildak, I., 2021, Lemon peel extract for synthesizing non-toxic silver nanoparticles through one-step microwave-accelerated scheme. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 24(1), 1-10. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.737063>
- Jaison, J. P., Balasubramanian, B., Gangwar, J., James, N., Pappuswamy, M., Anand, A. V., ... and Sebastian, J. K., 2023, Green synthesis of bioinspired

- nanoparticles mediated from plant extracts of Asteraceae family for potential biological applications, *Antibiotics*, 12(3), 543. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030543>
- Jalil, S. U., and Ansari, M. I., 2019, Nanoparticles and abiotic stress tolerance in plants: Synthesis, action, and signaling mechanisms. *Plant Signaling Molecules*, 549-561. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00034-4>
- Jamshidi, M., Ghanati, F., Rezaei, A. and Bemani, E., 2016, Change of antioxidant enzymes activity of hazel (*Corylus avellana* L.) cells by AgNPs, *Cytotechnology*, 68(3), 525-530. <https://doi.org/10.1007/s10616-014-9808-y>
- Jha, S. K., and Jha, A., 2023, Sustainable utilization of renewable plant-based material for the green synthesis of metal nanoparticles, *In Smart Nanosystems-Advances in Research and Practice*. IntechOpen, 1-33. <https://doi.org/10.5772/intechopen.112672>
- Joseph, S. and Mathew, B., 2015, Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles and the study on catalytic activity in the degradation of dyes, *Journal of Molecular Liquids*, 204, 184-191. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.01.027>
- Joudeh, N. and Linke, D., 2022, Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists, *Journal of nanobiotechnology*, 20(1), 262. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
- Junedi, M. A., Mukhopadhyay, R. and Manjari, K. S., 2023, Alleviating salinity stress in crop plants using new engineered nanoparticles (ENPs), *Plant Stress*, 9, 100184. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100184>
- Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Łukasik, I., Goltsev, V. and Ladle, R. J., 2016, Chlorophyll a

fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions, *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(4), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2113-y>

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

Khalid, N., Khan, R. S., Hussain, M. I., Farooq, M., Ahmad, A. and Ahmed, I., 2017, A comprehensive characterisation of safflower oil for its potential applications as a bioactive food ingredient-A review, *Trends in Food Science and Technology*, 66, 176-186. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.009>

Khalid, M. F., Iqbal Khan, R., Jawaid, M. Z., Shafqat, W., Hussain, S., Ahmed, T., ... and Alina Marc, R., 2022, Nanoparticles: the plant saviour under abiotic stresses, *Nanomaterials*, 12(21), 3915. <https://doi.org/10.3390/nano12213915>

Khan, A., Nadeem, M., Ullah, R., Gulzar, N., Al-Asmari, F., Imran, M., Rahim, M. A., Zongo, E., Hussain, I., Tayyab, M. and Almalki, R. S., 2024, Fatty acid composition, phenolic compounds, phytosterols, and lipid oxidation of single- and double-fractionated olein of safflower oil produced by low-temperature crystallization. *ACS Omega*, 9(6), 6787-6796. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c08099>

Khan, M. I. R. and Khan, N. A., 2017, Reactive oxygen species and antioxidant systems in plants: Role and regulation under abiotic stress. *Singapore: Springer Singapore*. 1-329. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5>

Khan, M. R., Hoque, S. M., Hossain, K. F. B., Siddique, M. A. B., Uddin, M. K. and Rahman, M. M., 2020, Green synthesis of silver nanoparticles using *Ipomoea aquatica* leaf extract and its cytotoxicity and antibacterial activity assay, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13(4), 303-315. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1839573>

- Khanna, A. S., 2013, Synthesis and characterization of nano particles. Tapan Adhikari, S. Kundu, A. and Subba Rao (Ed.), *Nanotechnology in Soil Science and Plant Nutrition*, New India Publishing, 28-35.
- Kharissova, O. V., Dias, H. V. R., Kharisov, B. I., Pérez, B. O. and Pérez, V. M. J., 2013, The greener synthesis of nanoparticles, *Trends in Biotechnology*, 31(4), 240-248. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.003>
- Kheradmandfard, M., Nejatidanesh, F., Savabi, O. and Kim, D.E., 2025, A novel microwave-assisted strategy for facile and rapid synthesis of baghdadite nanoparticles for biomedical applications, *Inorganic Chemistry Communications*, 179, 114749. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2025.114749>
- Kim, D. Y., Kadam, A., Shinde, S., Saratale, R. G., Patra, J. and Ghodake, G., 2018, Recent developments in nanotechnology transforming the agricultural sector: a transition replete with opportunities, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(3), 849-864. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8749>
- Kohli, S. K., Kaur, H., Khanna, K., Handa, N., Bhardwaj, R., Rinklebe, J. and Ahmad, P., 2023, Boron in plants: uptake, deficiency and biological potential. *Plant Growth Regulation*, 100(2), 267-282. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00844-7>
- Krishnaraj, C., Jagan, E. G., Ramachandran, R., Abirami, S. M., Mohan, N. and Kalaichelvan, P. T., 2012, Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism, *Process Biochemistry*, 47(4), 651-658. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.01.006>
- Kumar, A., Choudhary, A., Kaur, H., Guha, S., Mehta, S. and Husen, A., 2022, Potential applications of engineered nanoparticles in plant disease

- management: A critical update, *Chemosphere*, 295, 133798. <https://doi.org/0.1016/j.chemosphere.2022.133798>
- Kumar, S., Masurkar, P., Sravani, B., Bag, D., Sharma, K. R., Singh, P., ... and Minkina, T., 2023, A review on phytotoxicity and defense mechanism of silver nanoparticles (AgNPs) on plants, *Journal of Nanoparticle Research*, 25(4), 54. <https://doi.org/10.1007/s11051-023-05708-3>
- Kumari, S., Khanna, R. R., Nazir, F., Albaqami, M., Chhillar, H., Wahid, I. And Khan, M. I. R., 2022, Bio-Synthesized Nanoparticles in Developing Plant Abiotic Stress Resilience: A New Boon for Sustainable Approach, *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8). <https://doi.org/10.3390/ijms23084452>
- Kundu, S., Adhikari, T. and Biswas, A. K., 2020, Conceptual understanding of nano-science and nano-technology. Tapan Adhikari S. Kundu A. and Subba Rao (Ed.), *Nanotechnology in Soil Science and Plant Nutrition*, New India Publishing, 19-27.
- Landi, M., Margaritopoulou, T., Papadakis, I. E. and Araniti, F., 2019, Boron toxicity in higher plants: An update, *Planta*, 250, 1011-1032. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03220-4>
- Landi, M., Pardossi, A., Remorini, D. and Guidi, L., 2013, Antioxidant and photosynthetic response of a purple-leaved and a green-leaved cultivar of sweet basil (*Ocimum basilicum*) to boron excess, *Environmental and Experimental Botany*, 85, 64-75. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.08.008>
- Levitt, J., 1980, Responses of Plants to Environmental Stress, *Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses*. Academic Press, Cambridge, 347-393. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-445501-6.50016-6>
- Li, S., Yan, L., Venuste, M., Xu, F., Shi, L., White, P. J., Wang, X. and Ding, G., 2023, A critical review of plant adaptation to environmental boron stress:

- Uptake, utilization, and interplay with other abiotic and biotic factors, *Chemosphere*, 338, 139474. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139474>
- Lichtenthaler, H. K., 1987, Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods in Enzymology*, 148, 350-382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Li Dajue, L. and Mündel, H. H., 1996, *Safflower, Carthamus tinctorius L. Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops. 7<sup>th</sup> Edition*, Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic, Rome.
- Liu, W., Worms, I. and Slaveykova, V. I., 2020, Interaction of silver nanoparticles with antioxidant enzymes, *Environmental Science: Nano*, 7(5), 1507-1517. <https://doi.org/10.1039/C9EN01284B>
- Liu, Y., Ye, N., Liu, R., Chen, M. and Zhang, J., 2010, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in Arabidopsis seed dormancy and germination, *Journal of Experimental Botany*, 61(11), 2979. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq125>
- Madhava Rao, K. V. and Sresty, T. V. S., 2000, Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses, *Plant Science*, 157(1), 113-128. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(00\)00273-9](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(00)00273-9)
- Mani, V., Lee, S. K., Yeo, Y. and Hahn, B. S., 2020, A metabolic perspective and opportunities in pharmacologically important safflower, *Metabolites*, 10(6), 253. <https://doi.org/10.3390/metabo10060253>
- Manvelian, J., Weisany, W., Tahir, N. A. razzak, Jabbari, H., and Diyanat, M., 2021, Physiological and biochemical response of safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

- cultivars to zinc application under drought stress. *Industrial Crops and Products*, 172, 114069. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114069>
- Mittler, R. and Zilinskas, B. A., 1993, Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate-dependent reduction of nitroblue tetrazolium, *Analytical Biochemistry*, 212(2), 540-546. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1366>
- Miwa, K. and Fujiwara, T., 2010, Boron transport in plants: co-ordinated regulation of transporters, *Annals of Botany*, 105(7), 1103. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq044>
- Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G. and Therios, I., 2006, Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh), *Environmental and Experimental Botany*, 56(1), 54-62. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.01.002>
- Mullan, D. and Pietragalla, J. J. P. A., 2012, Leaf relative water content, *Physiological breeding II: A field guide to wheat phenotyping*, 25-35.
- Nageswara Rao, B., Pundareekam Goud, J. and Satyanarayana, N., 2024, Microwave assisted synthesis of  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> half-hexagon nanoplates as an anode material for Li ion batteries, *Inorganic Chemistry Communications*, 166, 112688. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2024.112688>
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Namakka, M., Rahman, Md. R., Said, K. A. M. Bin, Abdul Mannan, M. and Patwary, A. M., 2023, A review of nanoparticle synthesis methods, classifications, applications, and characterization, *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 20, 100900. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2023.100900>

- Nassarawa, I. S., Li, Z., Xue, L., Li, H., Muhammad, U., Zhu, S., Chen, J. and Zhao, T., 2024, Zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate alleviate boron toxicity in cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Plants*, 13(9), 1184. <https://doi.org/10.3390/plants13091184>
- Nawaz, M., Sun, J., Shabbir, S., Khattak, W. A., Ren, G., Nie, X., Bo, Y., Javed, Q., Du, D. and Sonne, C., 2023, A review of plants strategies to resist biotic and abiotic environmental stressors, *Science of The Total Environment*, 900, 165832. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165832>
- Nejad, S. A. G., and Etesami, H., 2020, The importance of boron in plant nutrition. *Metalloids in plants: advances and future prospects*, 433-449. <https://doi.org/10.1002/9781119487210.ch20>
- Nguyen, N. P. U., Dang, N. T., Doan, L. and Nguyen, T. T. H., 2023, Synthesis of silver nanoparticles: from conventional to 'modern' methods—a review, *Processes*, 11(9), 2617. <https://doi.org/10.3390/pr11092617>
- Nick, P., 2024, Towards a grammar of plant stress: modular signalling conveys meaning, *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 36(3), 503-521. <https://doi.org/10.1007/s40626-023-00292-2>
- Princi, M. P., Lupini, A., Araniti, F., Longo, C., Mauceri, A., Sunseri, F., and Abenavoli, M. R., 2016, Boron toxicity and tolerance in plants: Recent advances and future perspectives, *Plant Metal Interaction*, 115-147. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803158-2.00005-9>
- Pulit-Prociak, J., and Banach, M., 2016, Silver nanoparticles—a material of the future...?, *Open Chemistry*, 14, 76–91. <https://doi.org/10.1515/chem-2016-0005>

- Rao, A. S., Kundu, S. and Adhikari, T., 2020, Historical development in nano-science and nanotechnology and its scope in natural resource management. *Nanotechnology in Soil Science and Plant Nutrition*, New India Publishing Agency. 15-18.
- Rasheed, M. K., 2009, Role of boron in plant growth: a review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 47(3), 329-338.
- Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H. M., He, X., Mbarki, S., and Brestic, M., 2017, Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: A critical review. *Frontiers in Chemistry*, 5, 78. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00078>
- Reda, M., Ashames, A., Edis, Z., Bloukh, S., Bhandare, R. and Sara, H. A., 2019, Green synthesis of potent antimicrobial silver nanoparticles using different plant extracts and their mixtures, *Processes*, 7(8), 510. <https://doi.org/10.3390/pr7080510>
- Rerkasem, B., 1996, Boron and plant reproductive development. *Sterility in Wheat in Subtropical Asia: extent, causes and solutions*, 72, 32-34.
- Rodríguez, H. M. B., Gonzales-Fontes, A., Rexach, J., Camacho-Cristóbal, J. J., Maldonado, J. M. and Navarro-Gochicoa, M. T., 2009 Role of boron in vascular plants and response mechanisms to boron stresses. *Plant Stress*, 4(2), 115-122.
- Rodríguez-Félix, F., López-Cota, A. G., Moreno-Vásquez, M. J., Graciano-Verdugo, A. Z., Quintero-Reyes, I. E., Del-Toro-Sánchez, C. L. and Tapia-Hernández, J. A., 2021, Sustainable-green synthesis of silver nanoparticles using safflower (*Carthamus tinctorius* L.) waste extract and its antibacterial activity, *Heliyon*, 7(4). e06923. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06923>
- Sánchez, A., Gutierrez, S. J., Kalaji, H. M. and Guo, P., 2008, Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs, *Photochemistry research progress*, 29(12), 439-463.

- Sarkar, M. A. A. S. U., Saha, B. K., Kabir, M. A., Islam, M. T., Khatun, M. M., and Siddik, M. N. A., 2025, Fatty acid profile, antioxidant capabilities and Physico-chemical assessment of functional oils from safflower seeds: A potential source in Bangladesh, *Results in Chemistry*, 15, 102235. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2025.102235>
- Savvidou, M. G., Kontari, E., Kalantzi, S., and Mamma, D., 2024, Green synthesis of silver nanoparticles using the cell-free supernatant of *Haematococcus pluvialis* culture, *Materials*, 17(1), 187. <https://doi.org/10.3390/ma17010187>
- Schansker, G., Tóth, S. Z., Holzwarth, A. R. and Garab, G., 2014, Chlorophyll a fluorescence: Beyond the limits of the QA model, *Photosynthesis Research*, 120(1-2), 43-58. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9806-5>
- SeEVERS, P. M., DALY, J. M. and CATEDRAL, F. F., 1971, The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease, *Plant Physiology*, 48(3), 353. <https://doi.org/10.1104/pp.48.3.353>
- Shahid, M., Jaradat, A. and Rao, N. K., 2020, Safflower: A Multipurpose Crop for the Marginal Lands. In *Emerging Research in Alternative Crops*, Cham: Springer International Publishing. 279-294. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-90472-6\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-90472-6_12)
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K. and Arora, S., 2012, Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(8), 2225-2233. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9759-8>
- Shang, Y., Kamrul Hasan, M., Ahammed, G. J., Li, M., Yin, H. and Zhou, J., 2019, Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: a review, *Molecules*, 24(14), 2558. <https://doi.org/10.3390/molecules24142558>

- Singh, V. and Nimbkar, N., 2007, Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement: Oilseed, J. R. Singh (Ed.), *Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement*, 167-194. <https://doi.org/10.1201/9781420005363>
- Singh, V. and Nimbkar, N., 2016, Safflower, *Breeding Oilseed Crops for Sustainable Production: Opportunities and Constraints*, 149-167.
- Smart, R. E. and Bingham, G. E., 1974, Rapid estimates of relative water content, *Plant Physiology*, 53(2), 258. <https://doi.org/10.1104/pp.53.2.258>
- Smith, J. R., 1996, *Safflower*, AOCS Publishing. <https://doi.org/10.4324/9781003040927>
- Sreeram, K. J., Nidhin, M. and Nair, B. U., 2008, Microwave assisted template synthesis of silver nanoparticles, *Bulletin of Materials Science*, 31(7), 937-942. <https://doi.org/10.1007/s12034-008-0149-3>
- Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K. and Upadhyay, S. N., 2016, Green synthesis of silver nanoparticles: a review, *Green and Sustainable Chemistry*, 6(1), 34-56. <https://doi.org/10.4236/gsc.2016.61004>
- Srivastava, A., Thakur, M., Pandey, S., Kumar, C., Sharma, S., Deshmukh, R., Sharma, A., Singh, V. P. and Tripathi, D. K., 2025, Functions of boron in plant roots: Current insights, *South African Journal of Botany*, 177, 201-210. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.07.041>
- Sülüs, S. and Leblebici, S., 2022, Effect of boric acid application on antioxidant enzymes activity and gene expression in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65, e22200702. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022200702>
- Szabados, L. and Savouré, A., 2010, Proline: a multifunctional amino acid, *Trends in Plant Science*, 15(2), 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>

- Tanveer, M., Shahzad, B., and Ashraf, U., 2020, Nanoparticle application and abiotic-stress tolerance in plants, *Plant Life under Changing Environment*, Academic Press, 627-641. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00027-8>
- Tarafdar, J. C., 2013, Biological nanoparticles for higher crop production, T. Adhikari, S. Kundu, and A. S. Rao (Eds.), *Nanotechnology in soil science and plant nutrition*, New India Publishing Agency.61-67.
- Thach, L. B., Shapcott, A., Schmidt, S. and Critchley, C., 2007, The OJIP fast fluorescence rise characterizes Graptophyllum species and their stress responses, *Photosynthesis Research*, 94(2-3), 423-436. <https://doi.org/10.1007/s11120-007-9207-8>
- Tripathi, D. K., Singh, V. P., Prasad, S. M., Chauhan, D. K. and Dubey, N. K., 2015, Silicon nanoparticles (SiNp) alleviate chromium (VI) phytotoxicity in *Pisum sativum* (L.) seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 96, 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.07.026>
- Tripathi, D. K., Tripathi, A., Shweta, Singh, S., Singh, Y., Vishwakarma, K., Yadav, G., Sharma, S., Singh, V. K., Mishra, R. K., Upadhyay, R. G., Dubey, N. K., Lee, Y. and Chauhan, D. K., 2017, Uptake, accumulation and toxicity of silver nanoparticle in autotrophic plants, and heterotrophic microbes: a concentric review. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00007>
- Tripathi, S., Mahra, S., Sharma, S., Mathew, S., and Sharma, S., 2024, Interaction of silver nanoparticles with plants: A focus on the phytotoxicity, underlying mechanism, and alleviation strategies, *Plant Nano Biology*, 100082. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2024.100082>
- Tunca, E. Ü., 2015, Nanoteknolojinin temeli nanopartiküller ve nanopartiküllerin fitoremediasyonu, *Ordu Üniversitesi Bilim Teknoloji Dergisi*, 5(2), 23-34.

- Turan, M. A., Taban, N. and Taban, S., 2009, Effect of calcium on the alleviation of boron toxicity and localization of boron and calcium in cell wall of wheat, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj*, 37(2), 99-103. <https://doi.org/10.15835/nbha3723241>
- Venzhik, Y., Deryabin, A. and Dykman, L., 2024, Nanomaterials in plant physiology: Main effects in normal and under temperature stress, *Plant Science*, 112148. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112148>
- Waadt, R., Seller, C. A., Hsu, P. K., Takahashi, Y., Munemasa, S. and Schroeder, J. I., 2022, Plant hormone regulation of abiotic stress responses, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(10), 680-694. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00479-6>
- Wang, P., Lombi, E., Zhao, F. J., and Kopittke, P. M., 2016, Nanotechnology: A new opportunity in plant sciences, *Trends in Plant Science*, 21(8), 699-712. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.04.005>
- Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A., 2003, Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance, *Planta*, 218, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1105-5>
- Warington, K., 1923, The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants, *Annals of Botany*, 37(148), 629-672. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a089871>
- Woodbury, W., Spencer, A. K. and Stahmann, M. A., 1971, An improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isozymes, *Analytical Biochemistry*, 44(1), 301-305. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90375-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90375-7)
- Yan, Z., Alimu, R., Wan, J., Liao, X., Lin, S., Dai, S., Chen, F., Zhang, S., Tong, Y., Liu, H., Qin, R. and Liu, J., 2022, Composition of major quinochalcone hydroxysafflor yellow A and anhydrosafflor yellow B is associated with colour

- of safflower (*Carthamus tinctorius*) during colour-transition but not with overall antioxidant capacity: A study on 144 cultivars, *Food Research International*, 162, 112098. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112098>
- Yan, A., and Chen, Z., 2019, Impacts of silver nanoparticles on plants: a focus on the phytotoxicity and underlying mechanism, *International journal of molecular sciences*, 20(5), 1003. <https://doi.org/10.3390/ijms20051003>
- Yasmin, H., Mazher, J., Azmat, A., Nosheen, A., Naz, R., Hassan, M. N., Noureldeen, A. and Ahmad, P., 2021, Combined application of zinc oxide nanoparticles and biofertilizer to induce salt resistance in safflower by regulating ion homeostasis and antioxidant defence responses, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 218, 112262. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112262>
- Yeilaghi, H., Arzani, A., Ghaderian, M., Fotovat, R., Feizi, M. and Pourdard, S. S., 2012, Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Food Chemistry*, 130(3), 618-625. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.085>
- Yesilyurt, M. K., Cesur, C., Aslan, V. and Yilbasi, Z., 2020, The production of biodiesel from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) oil as a potential feedstock and its usage in compression ignition engine: A comprehensive review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 119, 109574. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109574>
- You, J. and Chan, Z., 2015, ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants, *Frontiers in Plant Science*, 6, 1092. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01092>
- Zhang, H., Zhao, Y. and Zhu, J. K., 2020, Thriving under stress: how plants balance growth and the stress response, *Developmental Cell*, 55(5), 529-543. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.10.012>

- Zhao, L., Lu, L., Wang, A., Zhang, H., Huang, M., Wu, H., Xing, B., Wang, Z. and Ji, R., 2020, Nano-biotechnology in agriculture: use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(7), 1935-1947. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06615>
- Zhao, L. S., Li, K., Wang, Q. M., Song, X. Y., Su, H. N., Xie, B. Bin, Zhang, X. Y., Huang, F., Chen, X. L., Zhou, B. C. and Zhang, Y. Z., 2017, Nitrogen starvation impacts the photosynthetic performance of porphyridium cruentum as revealed by chlorophyll a fluorescence. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08428-6>
- Zhao, S., Huq, M. E., Fahad, S., Kamran, M. and Riaz, M., 2024, Boron toxicity in plants: understanding mechanisms and developing coping strategies; a review, *Plant Cell Reports*, 43(10), 238. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03317-5>
- Zhou, X., Tang, L., Xu, Y., Zhou, G. and Wang, Z., 2014, Towards a better understanding of medicinal uses of *Carthamus tinctorius* L. in traditional Chinese medicine: A phytochemical and pharmacological review, *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), 27-43. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.050>