

PAPER DETAILS

TITLE: Fizyolojik stres ve eksojen poliaminlerin *Isatis tinctoria* L. yapraklarındaki indigo miktarı ve fide gelişimi üzerine etkisi

AUTHORS: Nazan ÇÖMLEKCIOĞLU, Semra ARIKAN

PAGES: 261-267

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/373969>

Fizyolojik stres ve eksojen poliaminlerin *Isatis tinctoria* L. yapraklarındaki indigo miktarı ve fide gelişimi üzerine etkisi

Effects of physiological stress and exogenous polyamines on seedling growth and indigo amounts in *Isatis tinctoria* L. leaves

Nazan ÇÖMLEKCİOĞLU, Semra ARIKAN

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

Sorumlu yazar (Corresponding author): N. Çömlekcioğlu, e-posta (e-mail): noktem80@gmail.com

MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi 22 Şubat 2017
Düzeltilme tarihi 19 Ekim 2017
Kabul tarihi 19 Ekim 2017

Anahtar Kelimeler:

Isatis tinctoria
İndigo
Poliaminler
Kuraklık stresi
Tuz stresi

ÖZ

Bu çalışmada kontrollü koşullarda büyütülen *I. tinctoria* (çivitotu) bitkisinin çevresel stres koşullarına toleransı ve dışsal poliaminlere tepkisi araştırılmıştır. İlk aşamada bitkiler dört farklı tuz derişimindeki (0, 50, 100 ve 200 mM) NaCl solüsyonu ile sulanarak tuz stresine maruz bırakılmıştır. Bitkiler genelde artan tuz dozlarını tolere ederken, 200 mM'lık tuz konsantrasyonundan etkilenmiş ve indigo da dahil olmak üzere verim düşmüştür. İkinci aşama olarak fideler kuraklık stresine maruz bırakılmış ve 3., 7. ve 10. günde kuraklığın etkileri incelenmiştir. Kuraklıkta geçen gün sayısı arttıkça indigo ve verimde azalma olmuş, en düşük değerler 10. gündeki verilerden elde edilmiştir. Üçüncü aşama olan poliamin uygulamasında spermin, spermidin ve putresin poliaminleri dört farklı konsantrasyonda (0, 0.1, 1 ve 2 mM) yapraklardan uygulanmıştır. Uygulamada tüm poliaminler indigo ve fide verimini arttırmış, en iyi sonuç putresinden elde edilmiştir. Dördüncü aşama olan poliamin+tuz stresi uygulamalarında indigo miktarını ve yaprak verimini en çok artıran ve etkili olan poliamin putresin olmuştur. Beşinci aşama olan poliamin+kuraklık stresi uygulamasında spermin başta olmak üzere tüm poliaminlerin etkili olduğu görülmüştür.

ARTICLE INFO

Received 22 February 2017
Received in revised form 19 October 2017
Accepted 19 October 2017

Keywords:

Isatis tinctoria
İndigo
Polyamines
Drought stress
Salinity stress

ABSTRACT

In this study, *I. tinctoria* (woad) cultivated under controlled conditions was investigated for its tolerance to environmental stress conditions and its response to external polyamines. The plants were exposed to salinity stress by irrigating the soil with four different concentrations (0, 50, 100 and 200 mM) of NaCl solution. While plants generally tolerated increasing salt doses, they were affected by a salt concentration of 200 mM and the yield, including indigo, decreased. As a second step, seedlings were exposed to drought stress and the effects of drought on the 3rd, 7th and 10th days were examined. While the number of days in the drought increased, the indigo and yield decreased, and the lowest values were obtained at 10th day. In the third step, spermine, spermidine and putresin polyamines were applied at four different concentrations (0, 0.1, 1 and 2 mM) on the leaves of plant. In practice, all polyamines increased the yield of indigo and seedlings, however the best results were obtained from putresin. The fourth stage was polyamine + salt stress application and in this stage, putresin was the most effective polyamine which increased the amount of indigo and leaf yield. Polyamine + drought stress was the fifth stage, and all polyamines, especially spermine, were found to be effective in this stage.

1. Giriş

Sentetik boyalar tekstil sektöründe yoğun bir şekilde kullanılmasına rağmen ekolojik ve zararsız olmasından dolayı doğal boyarmaddelere artan bir ilgi vardır (Gilbert and Cook 2004). Doğal boyarmaddelerin en önemli kaynağını oluşturan bazı boya bitkilerinin tekrar yetiştiriciliğinin yapılması, doğal boyamacılığın yeniden gelişmesine önemli katkıda bulunacaktır (Gönüz ve ark. 2006). Anadolu'da çivitotu olarak da isimlendirilen ve mavi rengin kaynağı olarak bilinen *I. tinctoria*

L. (Brassicaceae), Güneydoğu Asya'ya özgü olup Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika genelinde yaygındır. Tarih öncesi çağlardan beri insanlığın en önemli mavi boya maddesi olan indigo elde etmek için Akdeniz ülkelerinde yüzyıllar boyunca çivitotu yetiştirilmiştir (Verzera ve ark. 2010). İndigo bitkide sekonder metabolizma ürünü olup, *I. tinctoria* bitkisinin ilk yıl oluşan yapraklarından elde edilen boya doğada parçalanma özelliğine

sahiptir ve çevreye zarar vermeden tehlikesizce kullanılabilir (Özel 2007).

Bitki gelişimi uygun çevresel koşullar altında normal seyrinde gerçekleşirken, stres faktörleri bitkinin gelişimini olumsuz yönde değiştirerek bitkilere negatif etki yapmaktadır (Binici 2005). Tuzluluk stresi, bitki çevresinde meydana gelen önemli seviyedeki su azalması ile ortaya çıkarken, düşük yağmur yağışı ile beraber gelen bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Battal ve ark. 2007). Topraklardaki tuzluluk, bitkinin dışında bir ozmotik potansiyel meydana getirerek su almasını engellemekte, ayrıca Na^+ ve Cl^- iyonları toksik etkiye neden olabilmektedir (Khajeh-Hosseini ve ark. 2003). Her iki stres altında da su alımında azalma ve aşırı iyon alımı söz konusudur (Kaya ve ark. 2006). Büyümeyi teşvik eden, hücre bölünmesi, DNA replikasyonu ve hücre farklılaşması gibi düzenleyici işlemlerde geniş rol oynayan poliaminler, çok yıllık bitkilerde tuz stresi de dahil çeşitli abiyotik streslerle karşılaşmalarında artış gösterir (Mutlu ve Bozcuk 2013). Buna bağlı olarak poliaminlerin bitkiye dışarıdan uygulanması sonucunda çeşitli bitkilerin abiyotik streslere karşı toleransının arttığı gözlenmiştir (Kreczmer ve ark. 2013).

Bu çalışmada indigo kaynağı *I. tinctoria* kontrollü şartlar altında yetiştirilmiş ve çeşitli stres faktörlerine tabi tutulmuştur. Bitkiye hormon, stres ve hormon-stres uygulaması yapılarak bitkinin indigo üretim miktarı ölçülmüştür. Çalışmada poliaminlerden putresin, spermin ve spermidinin farklı konsantrasyonları uygulanarak, indigo üretimi için en uygun hormon ve konsantrasyon belirlenmeye çalışılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitki Materyali ve Büyüme Koşulları

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan, *I. tinctoria*'ya ait tohumlar, kültür bitkisi olup, KSÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. *I. tinctoria* tohumları 2:1 oranında torf:perlit karışımı harç bulunan hacmi 2 lt'lik saksılarda, $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 16/8 (55 μmol foton m^{-2} ışık $^{-1}$) ışık/karanlık fotoperiyodunda ve % 65 nem içeren iklimlendirme odası standart koşullarında yetiştirilmiştir. Her uygulama için 10'ar saksı kullanılmıştır. Tohumların çimlenmesinden sonra fideler 8-10 tam gerçek yaprağa sahip olduklarında stres ve hormon uygulamalarına başlanmıştır (Binici 2005).

2.2. Stres Uygulamaları

Tuz stresi: 0, 50, 100 ve 200 mM konsantrasyonlarındaki NaCl solüsyonuyla iki hafta boyunca her gün 10 ml sulanmak suretiyle bitkiler tuz stresine maruz bırakılmışlardır (Hediye 2009; Ayyıldız 2011). Kuraklık stresi: stres grubundaki bitkiler sulanmayarak uygulanmıştır. Kuraklık stresine bağlı olarak yapraklardaki indigo değişiminin belirlenmesi için, uygulamanın 3., 7. ve 10. günlerinde saat 10.00'da bitkiler hasat edilmiştir (Uzunlu 2006; Aksoy 2008). Her iki uygulama da kontrol grubundaki bitkiler saf su ile sulanmıştır.

2.3. Poliamin Uygulaması

0 mM (kontrol), 0.1 mM, 1 mM ve 2 mM konsantrasyonlarında hazırlanan poliamin solüsyonları, bitki yapraklarına spreyleme yöntemiyle bir hafta ara ile 4 kez püskürtülmüştür. Kontrol grubundaki bitki yaprakları ise distile su ile spreyleneştir (Ali ve ark. 2007; Korkmaz 2008).

2.4. Poliamin+Stres Uygulamaları

Poliamin+Tuz stresi uygulaması: Spreyleme yöntemi ile poliamin uygulandıktan sonra bitkiler 2 hafta boyunca her gün 10 ml 200 mM NaCl solüsyonuyla sulanmıştır (Ali ve ark. 2007; Saleethong ve ark. 2013). Poliamin+Kuraklık stresi uygulaması: Poliamin uygulamasından sonra 10 gün su verilmeyerek bitkiler kuraklık stresine maruz bırakılmıştır. Poliamin uygulaması yapılan kontrol bitkileri her iki stres grubunda da saf suyla muamele görmüştür (Ali ve ark. 2007; Farooq ve ark. 2009).

2.5. Morfolojik Ölçümler

Her uygulama grubundaki bitkilerin, yaprak ve kök kısımları birbirinden ayrılmış ve yaş ağırlıkları tartılmıştır. Daha sonra etüvde 48 saat 100°C 'de kurutulduktan sonra tekrar tartılarak kuru ağırlıkları bulunmuştur. $\text{OSİ} = [(\text{YA-KA}) / \text{YA}] \times 100$ formülüne göre hesaplama yapılmıştır (OSİ: Oransal Su İçeriği, YA: Yaş Ağırlık, KA: Kuru Ağırlık) (Korkmaz 2008).

2.6. İndigo miktarının spektrofotometrik analizi

10 farklı bitkinin yapraklarından 1 cm^2 'lik diskler alınmış ve toplamda 1 g taze yaprak cam tüplere bırakılmış ve üzerine 10 ml saf su eklenmiştir. Kaynar haldeki su banyosunda 10 dk bekletildikten sonra buz yardımıyla hızlıca soğutulmuştur. Diskler çıkarıldıktan sonra, konsantre $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ile pH'sı 11'e ayarlanmıştır. 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra, konsantre HCl asit ile pH'sı 1-2'ye ayarlanmıştır. 10 dk bekletildikten sonra 1 ml'lik kısım 5 ml etil asetat ile ekstrakte edilmiştir. Bu ekstrakt spektrofotometrede 600 nm'de okunmuştur (Gilbert ve ark. 2004; Comlekcioglu ve ark. 2015).

2.7. Verilerin İstatistiksel Analizi

Üç tekerrürlü olarak ayrı ayrı kurulan stres, hormon, stres-hormon denemelerinin istatistiksel analizi, tam şansa bağlı (tesadüf parselleri) deneme desenine göre tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Varyans analizinde önemli bulunan özelliklerine ait ortalamaların karşılaştırılmasında Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (Bek ve Efe 1995).

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Tuz Stresi Uygulaması Sonuçları

Yapılan analiz sonucunda çiviotu bitkisine uygulanan tuz konsantrasyonlarının incelenen tüm özellikler üzerine etkisi (yaprak kuru ağırlığı hariç) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 1). Tuz konsantrasyonu arttıkça kök yaş ağırlığı azalmış 200 mM'lık tuz konsantrasyonunda en düşük seviyeye ulaşmıştır ($P < 0.05$). Kök kuru ağırlığında 50 mM konsantrasyondaki değer artışı ile bitki strese karşı tepki göstermiştir. Fakat daha sonra çevreye uyum sağlamıştır. Konsantrasyon arttıkça ağırlık değeri azalmış olsa da kontrol (0 mM), 100 mM ve 200 mM uygulamalar istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır ($P < 0.01$) (Çizelge 1).

Kök oransal su içeriği bakımından en yüksek oran % 81.77 ile kontrol grubu bitkilerinde, en düşük oran ise % 63.55 ile 50 mM konsantrasyona ait stres grubu bitkilerinde tespit edilmiştir ($P < 0.01$). Tuz konsantrasyonu arttıkça yaprak yaş ağırlıklarında azalma meydana gelirken ($P < 0.05$), yaprak kuru ağırlıkları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). Yaprak oransal su içeriği değerleri

kontrol grubuna göre düşük çıkmış, tuz derişimi arttıkça bir artış gözlenmiş olup uygulamalar arasında önemli bir fark oluşmuştur ($P<0.01$). *I. tinctoria* bitkisinin yapraklarından elde edilen en yüksek indigo miktarı kontrol grubu bitkilerinden elde edilmiş, stres grubu bitkilerinin indigo miktarları düşük bulunmuştur ($P<0.01$) (Çizelge 1). *Plantago maritima* ve *Plantago media* bitkileriyle yapılan bir çalışmada kök yaş ve kuru ağırlığı, gövde yaş ve kuru ağırlığının bitkiye uygulanan tuz konsantrasyonundaki artışa ve stres uygulama süresine bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (Hediye 2009). *Tagetes erecta* ve *Petunia hybrida* 40 mM, *Gazania splendens* 60 mM tuza toleranslı bulunmuştur (Ayyıldız 2011). Geren ve ark. (2011), *Lathyrus ochrus* bitkisinde, artan tuz dozlarının kontrol uygulamasına göre incelenen özelliklerin tümünün olumsuz etkilendiğini belirtmiştir.

3.2. Kuraklık Stresi Uygulaması Sonuçları

Kuraklık stresine maruz kalan çiviotu bitkilerinde, stresin incelenen tüm özellikler üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 2). Stres uygulaması sonucunda kök yaş ağırlığı kontrole göre düşük çıkmış olup ($P<0.01$), kuraklıkla geçen gün sayısı arttıkça değerlerde düşüş gözlenmiştir. Stres gruplarında 3. ve 7. günde kontrole göre düşüş olsa da, bitki kuraklığa toleranslı olmuş fakat 10. gün susuzluktan etkilenmiş ve OSİ değerinde önemli bir düşüş meydana gelmiştir ($P<0.01$). Kuraklıkta geçen gün sayısı arttıkça stres grubundaki bitkilerin yaprak yaş ve kuru ağırlıkları da düşmüştür. Bu düşüş 10. günde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Kuraklık stresinin yapraktaki indigo üzerine etkisi incelendiğinde, stres uygulamalarında elde edilen indigonun kontrolden daha düşük olduğu görülmüş olup istatistiksel olarak da farklı gruplarda yer almışlardır ($P<0.01$) (Çizelge 2).

Mısır bitkisinde sulama suyu azaldıkça toprak üstü ve altı kuru madde veriminin azaldığı belirtilmiştir (Güneş ve Aktaş

2008). Piriçle yapılan bir çalışmada, kuraklık stresinde bitki yaş ve kuru ağırlıklarının ciddi bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Farooq ve ark. 2009). Sgheri ve ark. (2000), buğday bitkisinde toleranslı olan çeşidin hassas olanla karşılaştırıldığında, stres periyodu esnasında daha fazla OSİ'ye sahip olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada da bitkinin strese belli bir zamana kadar dayandığı fakat 10. günde incelenen özelliklerde kontrole göre azalma meydana geldiği görülmüştür.

I. tinctoria'nın açık alanda, serada ve kontrollü ortamda yetiştirildiği bir çalışmada, açık alanda yetiştirilmiş bitkilerdeki indigo kazancının 400 mg bitki⁻¹, serada (150 mg bitki⁻¹) ve kontrollü ortamda (100 mg bitki⁻¹) yetiştirilen bitkilerden daha fazla olduğu bildirilmiştir (Stoker ve ark. 1998). Campeol ve ark. (2006) *I. tinctoria* bitkisinin iyi sulanmış bitkilere göre su stresi koşullarında, hem yaprak ağırlığında hem de indigo veriminde düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir. Sales ve ark. (2006) *Isatis* bitkisindeki indigo değişimini iklimsel farklılıklarla açıklamışlardır. Daha kurak ve sıcak mevsimdeki indigo miktarındaki düşüşün, yüksek sıcaklığın bitki gelişimini sınırlandırmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada kuraklıkta kalma süresi arttıkça susuzluğa bağlı olarak indigo miktarında düşüş gözlenmiştir.

3.3. Poliamin Uygulaması Sonuçları

Poliamin uygulamasında en yüksek değerlerin elde edildiği putresinin tüm konsantrasyonları, kök yaş ağırlığını arttırmada en etkili poliamin olmuştur (Çizelge 3). Spermidin kontrole göre daha düşük, spermin ise kontrole aynı grupta olduğundan bu iki poliaminin kök yaş ağırlığı üzerine bir etkisi olmamıştır ($P<0.05$). Kök kuru ağırlığı bakımından kontrol ile uygulamalar arasında önemli bir fark oluşmamıştır ($P>0.05$). Tüm poliamin uygulamaları OSİ üzerine olumlu katkı sağlamış, putresinin 2 mM (OSİ-% 83.23) ve spermidinin 1 mM (OSİ-% 81.55) konsantrasyonları ise en etkili uygulamalar olmuştur ($P<0.01$).

Çizelge 1. Farklı tuz konsantrasyonlarının morfolojik özellikler ve indigo miktarı üzerine etkisi.

Table1. Effect of different salt concentrations on morphological properties and indigo amount.

Tuz Konsantrasyonu (mM)		0 (Kontrol)	50	100	200
Kök	Yaş Ağırlığı (g)*	2.02 ± 0.34 ^a	1.63 ± 0.17 ^a	1.19 ± 0.28 ^{ab}	0.60 ± 0.21 ^b
	Kuru Ağırlığı (g)**	0.37 ± 0.08 ^b	0.70 ± 0.01 ^a	0.32 ± 0.08 ^b	0.19 ± 0.07 ^b
	Oransal Su İçeriği (%)**	81.77 ± 2.33 ^a	63.55 ± 2.17 ^c	72.85 ± 0.26 ^b	67.94 ± 1.66 ^{bc}
Yaprak	Yaş Ağırlığı (g)*	3.92 ± 0.49 ^a	2.61 ± 0.30 ^{ab}	1.69 ± 0.43 ^b	1.72 ± 0.48 ^b
	Kuru Ağırlığı (g)	0.75 ± 0.10	0.72 ± 0.16	0.47 ± 0.11	0.41 ± 0.08
	Oransal Su İçeriği (%)**	80.76 ± 1.26 ^a	68.49 ± 0.49 ^c	71.58 ± 0.82 ^{bc}	74.73 ± 2.52 ^b
	İndigo (mg g ⁻¹)**	0.68 ± 0.07 ^a	0.42 ± 0.04 ^b	0.48 ± 0.06 ^{ab}	0.46 ± 0.05 ^b

*: $P<0.05$; **: $P<0.01$

Çizelge 2. Kuraklık stresinin morfolojik özellikler ve indigo miktarı üzerine etkisi.

Table 2. Effect of drought stress on morphological properties and indigo amount.

Kuraklığa Bırakılan Gün Sayısı		Uygulama	3. gün	7. gün	10. gün
Kök	Yaş Ağırlığı (g)**	Kontrol	4.33 ± 0.93 ^a	3.45 ± 0.80 ^{ab}	1.63 ± 0.30 ^{bc}
		Stres	2.98 ± 0.12 ^{ab}	2.74 ± 0.53 ^{ab}	0.84 ± 0.09 ^c
	Kuru Ağırlığı (g)*	Kontrol	0.58 ± 0.12 ^a	0.50 ± 0.15 ^a	0.19 ± 0.05 ^b
		Stres	0.58 ± 0.01 ^a	0.56 ± 0.12 ^a	0.27 ± 0.03 ^{ab}
	Oransal Su İçeriği (%)**	Kontrol	86.61 ± 0.87 ^{ab}	85.80 ± 0.86 ^b	88.77 ± 0.76 ^a
		Stres	80.49 ± 0.41 ^c	79.34 ± 1.71 ^c	67.35 ± 0.52 ^d
Yaprak	Yaş Ağırlığı (g)**	Kontrol	23.32 ± 3.96 ^a	18.23 ± 4.78 ^{ab}	14.42 ± 2.18 ^{ab}
		Stres	12.38 ± 2.12 ^b	9.06 ± 1.53 ^{bc}	2.22 ± 0.85 ^c
	Kuru Ağırlığı (g)*	Kontrol	2.56 ± 0.45 ^a	1.94 ± 0.43 ^{ab}	1.76 ± 0.35 ^{abc}
		Stres	1.53 ± 0.25 ^{abc}	1.30 ± 0.19 ^{bc}	0.70 ± 0.24 ^c
	Oransal Su İçeriği (%)**	Kontrol	88.97 ± 0.56 ^a	89.14 ± 0.43 ^a	88.02 ± 1.00 ^a
		Stres	87.57 ± 0.22 ^a	85.49 ± 0.55 ^a	67.26 ± 2.68 ^b
	İndigo (mg g ⁻¹)**	Kontrol	2.10 ± 0.23 ^a	1.52 ± 0.11 ^{bc}	1.30 ± 0.12 ^c
		Stres	1.96 ± 0.30 ^{ab}	0.78 ± 0.16 ^d	0.35 ± 0.10 ^d

*: $P<0.05$; **: $P<0.01$

Yaprak yaş ağırlığı bakımından, putresinin tüm ve spermidinin 1 mM'lık konsantrasyonları kontrole ve diğer poliamin uygulamalarına göre daha yüksek çıkarken, yaprak kuru ağırlığı arasındaki farklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Tüm poliamin uygulamalarının bitkinin yaprak oransal su içeriğini arttırdığı gözlenmiştir ($P<0.01$). İndigo verimi bakımından en yüksek değerler spermin ve putresin uygulamalarından elde edilmiş olup, spermidin hormonunun etkili olmadığı görülmektedir ($P<0.01$) (Çizelge 3). Gerek fide ağırlığının gerekse indigo miktarının artışı noktasında putresinin olumlu bir etkisinin olduğu gayet açıktır. Bu da poliamin uygulamalarının indigo miktarını artırmada önemli bir rol oynadığını gösterir. Fide ağırlığının artışı, birim alandan elde edilen yaprak veriminin ve indigo da yapraklardan elde edildiğinden dolayı, buna paralel olarak indigo veriminin artışıyla ilişkilidir.

Ocimum basilicum spermin, spermidin ve putresin uygulamalarının düşük konsantrasyonunda daha verimli sonuç elde edildiği bildirilmiştir (Karaman ve ark. 2008).

3.4. Poliamin+Tuz Stresi Uygulaması Sonuçları

Tuz stresi altındaki *I. tinctoria* bitkisinin kök yaş ve kuru ağırlıkları üzerine poliamin uygulamalarının etkisi önemli bulunmazken ($P>0.05$), OSİ değerlerini arttırdığı görülmüştür ($P<0.01$) (Çizelge 4). Yaprak yaş ağırlığında putresinin tüm uygulamaları ile spermidinin 0.1 ve 1 mM'lık konsantrasyonları kontrol gruplarına göre yüksek çıkmıştır ($P<0.05$), ancak poliaminlerin yaprak kuru ağırlığı üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Tüm poliamin uygulamalarının yaprak oransal su içeriği üzerine etkisi olumlu olmuş ($P<0.05$), poliamin uygulamaları bitkinin tuza toleransını arttırmıştır. Poliamin+tuz stresi uygulamalarında indigo miktarını en çok artıran putresin iken en az etkili olan spermidin olmuştur. Spermin konsantrasyonu arttıkça indigo miktarında da artış olmuştur ($P<0.01$) (Çizelge 4).

Chamomilla recutita ve *Origanum majorana* yapraklarına spreyleme ile uygulanan 0.1 mM konsantrasyonda putresin, spermidin ve sperminin tuzluluğun etkilerini dengelediği bildirilmiştir (Ali ve ark. 2007). Tuzun, *Helianthus annuus* L. var. *santafe* tohumlarının çimlenmesini engellediğini ya da geciktirdiğini fakat putresin+tuz uygulamalarında putresinin tuz stresine toleransı artırarak çimlenme ve büyüme parametreleri üzerinde olumlu etkileri olduğu görülmüştür (Bozcuk ve Tekin 1996). Aynı bitki üzerinde yapılan çalışmada 0.1 mM sperminin 200 mM tuz uygulamasının olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (Mutlu ve Bozcuk 2000). Ayrıca *H. annuus* L. var. *santafe*'nin yaprak alanı üzerine tuzun negatif etkisini putresinin engellediği bildirilmiştir (Mutlu ve Bozcuk 2013). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da putresinin tuz stresine karşı koymada etkili olduğunu göstermektedir.

3.5. Poliamin+Kuraklık Stresi Uygulamaları Sonuçları

Poliamin+kuraklık stresi uygulamalarının *I. tinctoria* bitkilerinde kök kuru ve yaş ağırlığı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunurken ($P>0.05$), tüm poliamin uygulamalarına ait kök oransal su içeriği değerleri kontrol gruplarından önemlilik arzedecek şekilde yüksek çıkmıştır ($P<0.01$) (Çizelge 5). Poliamin+kuraklık uygulamasında yaprak yaş ağırlığı değerlerini, poliamin uygulamalarının kontrole nazaran arttırdığı, sperminin ise daha etkili olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Yaprak kuru ağırlığında tüm poliamin konsantrasyonları kontrol grubundan yüksek çıkmış olsa da, değerler arasındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Yaprak oransal su içeriği verileri kontrol grubu değerlerinden yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). Kuraklık stresine karşı indigo miktarının artırılmasında en etkili poliamin spermin olurken, spermidin ve putresin de kontrole göre daha iyi sonuçlar vermiştir. En etkili konsantrasyon spermin ve spermidinde 1 mM, putresinde 0.1 mM'lık uygulama olmuştur ($P<0.01$) (Çizelge 5).

Çizelge 3. Eksojen poliaminlerin morfolojik özellikler ve indigo miktarı üzerine etkisi.

Table 3. Effect of exogenous polyamines on morphological properties and indigo amount.

	Poliamin	Konsantrasyon	Yaş Ağırlık*	Kuru Ağırlık	Oransal Su İçeriği**	İndigo (mg g ⁻¹)**
Kök	Spermin	0.1 mM	0.35 ± 0.02 ^{ab}	0.10 ± 0.01	73.71 ± 0.01 ^c	-
		1 mM	0.33 ± 0.08 ^{ab}	0.08 ± 0.01	76.67 ± 0.41 ^{bc}	-
		2 mM	0.37 ± 0.03 ^{ab}	0.10 ± 0.01	73.73 ± 0.84 ^c	-
	Spermidin	0.1 mM	0.26 ± 0.07 ^b	0.06 ± 0.01	75.91 ± 1.66 ^{bc}	-
		1 mM	0.45 ± 0.10 ^{ab}	0.08 ± 0.02	81.55 ± 0.01 ^a	-
		2 mM	0.27 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.01	78.26 ± 0.94 ^b	-
	Putresin	0.1 mM	0.56 ± 0.06 ^a	0.13 ± 0.01	75.27 ± 1.23 ^{bc}	-
		1 mM	0.56 ± 0.09 ^a	0.12 ± 0.01	77.91 ± 0.51 ^b	-
		2 mM	0.68 ± 0.34 ^a	0.07 ± 0.01	83.23 ± 0.82 ^a	-
	Kontrol	0 mM	0.32 ± 0.04 ^{ab}	0.09 ± 0.01	70.58 ± 0.95 ^d	-
Yaprak	Spermin	0.1 mM	2.79 ± 0.04 ^{ab}	0.34 ± 0.01	87.82 ± 0.04 ^{bc}	0.63 ± 0.07 ^{ab}
		1 mM	3.17 ± 0.32 ^{ab}	0.30 ± 0.04	90.39 ± 0.35 ^{ab}	0.80 ± 0.08 ^a
		2 mM	2.78 ± 0.28 ^{ab}	0.34 ± 0.02	87.82 ± 0.67 ^{bc}	0.59 ± 0.12 ^{ab}
	Spermidin	0.1 mM	2.08 ± 0.58 ^{ab}	0.21 ± 0.05	89.86 ± 0.27 ^{ab}	0.31 ± 0.04 ^c
		1 mM	4.56 ± 1.27 ^a	0.37 ± 0.11	92.05 ± 0.31 ^a	0.41 ± 0.05 ^{bc}
		2 mM	1.60 ± 0.00 ^b	0.18 ± 0.00	88.87 ± 0.04 ^{bc}	0.39 ± 0.04 ^{bc}
	Putresin	0.1 mM	4.21 ± 0.61 ^a	0.51 ± 0.07	88.03 ± 0.12 ^{bc}	0.58 ± 0.13 ^{ab}
		1 mM	3.84 ± 0.03 ^a	0.46 ± 0.01	88.15 ± 0.29 ^c	0.60 ± 0.10 ^b
		2 mM	3.62 ± 0.78 ^{ab}	0.27 ± 0.13	93.05 ± 2.90 ^a	0.59 ± 0.08 ^{ab}
	Kontrol	0 mM	2.09 ± 0.31 ^{ab}	0.41 ± 0.05	79.83 ± 0.61 ^d	0.30 ± 0.03 ^c

*: $P<0.05$; **: $P<0.01$

Çizelge 4. Poliamin+tuz stresi uygulamasının morfolojik özellikler ve indigo miktarı üzerine etkisi.**Table 4.** Effect of polyamine+salt stress application on morphological properties and indigo amount.

	Poliamin	Konsantrasyon	Yaş Ağırlık	Kuru Ağırlık	Oransal Su İçeriği**	İndigo (mg g ⁻¹)**
Kök	Spermin	0.1 mM	0.10 ± 0.02	0.02 ± 0.01	75.91 ± 1.02 ^{ab}	-
		1 mM	0.14 ± 0.04	0.04 ± 0.01	66.45 ± 2.19 ^{cd}	-
		2 mM	0.18 ± 0.12	0.05 ± 0.04	71.80 ± 1.39 ^{abc}	-
	Spermidin	0.1 mM	0.22 ± 0.07	0.07 ± 0.02	69.10 ± 1.50 ^{abc}	-
		1 mM	0.19 ± 0.06	0.06 ± 0.02	71.42 ± 1.44 ^{abc}	-
		2 mM	0.09 ± 0.02	0.02 ± 0.01	76.31 ± 1.00 ^a	-
	Putresin	0.1 mM	0.27 ± 0.14	0.08 ± 0.04	72.66 ± 1.92 ^{abc}	-
		1 mM	0.12 ± 0.03	0.03 ± 0.01	74.49 ± 2.71 ^{ab}	-
		2 mM	0.15 ± 0.07	0.05 ± 0.03	68.89 ± 2.82 ^{bc}	-
	Kontrol 1	0 mM	0.22 ± 0.08	0.08 ± 0.03	65.71 ± 0.72 ^{cd}	-
	Kontrol 2	0 mM	0.10 ± 0.01	0.04 ± 0.00	60.43 ± 4.43 ^d	-
Yaprak	Spermin	0.1 mM	0.81 ± 0.16 ^{bc}	0.10 ± 0.03	88.00 ± 1.33 ^a	4.18 ± 0.08 ^{cd}
		1 mM	0.71 ± 0.20 ^c	0.11 ± 0.02	86.69 ± 0.23 ^{ab}	4.46 ± 0.07 ^{bc}
		2 mM	0.80 ± 0.10 ^{bc}	0.13 ± 0.02	84.04 ± 0.27 ^{ab}	4.68 ± 0.18 ^{ab}
	Spermidin	0.1 mM	1.90 ± 0.44 ^a	0.27 ± 0.08	86.08 ± 0.97 ^a	3.07 ± 0.22 ^e
		1 mM	1.50 ± 0.20 ^{abc}	0.22 ± 0.03	85.26 ± 0.83 ^{ab}	3.13 ± 0.12 ^e
		2 mM	0.78 ± 0.09 ^{bc}	0.12 ± 0.01	84.89 ± 0.56 ^{ab}	3.20 ± 0.21 ^e
	Putresin	0.1 mM	1.84 ± 0.53 ^{ab}	0.27 ± 0.08	85.34 ± 0.33 ^{ab}	5.03 ± 0.18 ^a
		1 mM	1.53 ± 0.38 ^{abc}	0.23 ± 0.07	84.48 ± 1.07 ^{ab}	4.82 ± 0.16 ^{ab}
		2 mM	1.49 ± 0.57 ^{abc}	0.24 ± 0.10	84.08 ± 1.82 ^{ab}	4.94 ± 0.11 ^{ab}
	Kontrol 1	0 mM	1.20 ± 0.10 ^{abc}	0.22 ± 0.01	81.18 ± 0.59 ^{bc}	3.91 ± 0.17 ^d
	Kontrol 2	0 mM	0.91 ± 0.10 ^{abc}	0.21 ± 0.06	77.86 ± 3.77 ^c	2.45 ± 0.12 ^f

Kontrol 1: Poliamin uygulanmadan saf su ile sulanmış bitkiler.

Kontrol 2: Poliamin uygulanmadan 200 mM tuzlu su ile sulanmış bitkiler.

*: P<0.05; **: P<0.01

Çizelge 5. Poliamin+kuraklık stresi uygulamasının morfolojik özellikler ve indigo miktarı üzerine etkisi.**Table 5.** Effect of application of polyamine+drought stress on morphological properties and indigo amount.

	Poliamin	Konsantrasyon	Yaş Ağırlık *	Kuru Ağırlık	Oransal Su İçeriği*, **	İndigo (mg g ⁻¹)**
Kök	Spermin	0.1 mM	0.22 ± 0.14	0.06 ± 0.04	74.72 ± 3.33 ^a	-
		1 mM	0.19 ± 0.16	0.05 ± 0.05	73.25 ± 2.22 ^{ab}	-
		2 mM	0.22 ± 0.05	0.07 ± 0.02	69.35 ± 2.19 ^{bc}	-
	Spermidin	0.1 mM	0.23 ± 0.03	0.07 ± 0.01	69.66 ± 0.54 ^{abc}	-
		1 mM	0.11 ± 0.01	0.03 ± 0.00	73.54 ± 0.38 ^{ab}	-
		2 mM	0.19 ± 0.14	0.06 ± 0.05	69.07 ± 1.90 ^{bc}	-
	Putresin	0.1 mM	0.16 ± 0.02	0.04 ± 0.01	72.84 ± 0.55 ^b	-
		1 mM	0.14 ± 0.04	0.04 ± 0.01	74.03 ± 1.09 ^{ab}	-
		2 mM	0.19 ± 0.02	0.05 ± 0.01	74.76 ± 0.64 ^a	-
	Kontrol	0mM	0.08 ± 0.01	0.02 ± 0.00	65.59 ± 0.86 ^d	-
Yaprak	Spermin	0.1 mM	2.86 ± 1.06 ^a	0.36 ± 0.18	87.94 ± 1.70 ^{ab}	4.18 ± 0.18 ^b
		1 mM	1.48 ± 0.50 ^{ab}	0.20 ± 0.10	87.23 ± 2.51 ^{ab}	4.84 ± 0.13 ^a
		2 mM	2.58 ± 0.18 ^a	0.39 ± 0.05	85.90 ± 1.15 ^b	4.70 ± 0.15 ^a
	Spermidin	0.1 mM	2.69 ± 0.41 ^a	0.30 ± 0.04	88.91 ± 0.27 ^{ab}	4.09 ± 0.16 ^b
		1 mM	1.71 ± 0.28 ^{ab}	0.18 ± 0.03	89.36 ± 0.10 ^a	4.87 ± 0.17 ^a
		2 mM	1.44 ± 0.56 ^{ab}	0.19 ± 0.10	87.67 ± 2.21 ^{ab}	4.41 ± 0.23 ^{ab}
	Putresin	0.1 mM	1.67 ± 0.12 ^{ab}	0.20 ± 0.02	88.06 ± 0.42 ^{ab}	4.71 ± 0.21 ^a
		1 mM	1.80 ± 0.65 ^{ab}	0.22 ± 0.07	87.69 ± 0.48 ^{ab}	4.46 ± 0.12 ^{ab}
		2 mM	1.97 ± 0.21 ^{ab}	0.22 ± 0.01	88.59 ± 0.41 ^{ab}	4.02 ± 0.16 ^b
	Kontrol	0mM	0.92 ± 0.23 ^b	0.16 ± 0.04	82.14 ± 0.92 ^c	3.54 ± 0.10 ^c

*: P<0.05; **: P<0.01

Buğday bitkilerinin poliamin+yüksek sıcaklık stresine maruz bırakıldığı bir çalışmada kontrol grubundaki (poliamin uygulanmamış) bitkilerin gövde yaş ve kuru ağırlıklarında azalma meydana gelirken, putresin uygulanan bitkilerde gövde

yaş ve kuru ağırlıkları ile oransal su içeriklerinin önemli derecede arttığı bulunmuştur (Hassanein ve ark. 2013). Pirinç bitkisine yapılan kuraklık+poliamin uygulaması sonucunda gövde yaş ağırlığı, oransal su içeriği verilerinde en yüksek değer

spermin hormonundan elde edilmiştir (Farooq ve ark. 2009). Bu çalışmada da poliamin+kuraklık stresi safhasında kök oransal su içeriği, gövde yaş ve kuru ağırlığı, indigo değerleri için en etkili sonuçlar spermin hormonundan elde edilmiştir.

4. Sonuç

Çevresel stres koşullarının ve poliaminlerin bitkilerin sekonder madde içeriğine etkilerinin olduğu bilinmektedir. Giderek kuraklaşan dünyamızda toprağın tuzluluk durumunun artması ve su stresinin olması, karşılaşılması en muhtemel çevresel stres faktörlerindendir. Mavi boya kaynağı *I. tinctoria* ile ilgili bu konuda neredeyse hiç çalışma yoktur. Bu çalışma çiviotunun kuraklığa ve tuzluluğa tolerans derecesi ve adaptasyon kabiliyetinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışmada *I. tinctoria* bitkisinin yapraklarındaki indigonun çevresel şartlardan ne düzeyde etkilendiği araştırılmış ve indigonun miktarını arttırmaya yönelik çalışmalar yapılmıştır. Çiviotu bitkisi, tuz stresi uygulamasında, artan tuz dozlarından kontrole göre olumsuz etkilense de, bitki genelde tuzu tolere edebilmiş fakat 200 mM konsantrasyonda bitkinin negatif olarak etkilendiği ve ağırlık kaybı yaşadığı görülmüştür. Kuraklık stresi uygulamalarında strese bırakılan gün sayısı arttıkça indigo değeri ve diğer verilerde azalma olmuşsa da 10. güne kadar bitki stresle savaşmıştır. Poliamin uygulamasında gerek fide ağırlığının gerekse indigo miktarının verim artışında putresinin olumlu bir etkisinin olduğu görülmüştür. Poliamin+tuz stresi uygulamalarında indigo miktarını en çok artıran ve etkili olan poliamin spermin ve putresin olmuştur. Kuraklık stresine karşı indigo miktarının artırılmasında en etkili poliamin spermin olurken, spermidin ve putresin de kontrole göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu da poliamin uygulamalarının indigo miktarını arttırmada önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Sentetik indigoyla yarışabilmesi için, *I. tinctoria* bitkisinin indigo verimini ve kalitesini arttırmak çok önemlidir. Artan çevre kirliliği ve buna paralel olarak gelişen çevre duyarlılığı doğal materyalleri ön plana çıkarmakta ve doğal olanın sentetikle yarışabilmesi adına bu tarz çalışmaların önemi daha da artmaktadır.

Teşekkür

Yazarlar çalışmaya maddi destek sağlayan KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür eder (Proje No: 2014/2-2YLS).

Kaynaklar

- Aksoy E (2008) Effect of Drought and Salt Stresses on The Gene Expression Levels of Antioxidant Enzymes in Lentil (*Lens culinaris* M.) Seedlings. Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ali RM, Abbas HM, Kamal RK (2007) The Effects of Treatment with Polyamines on Dry Matter, Oil and Flavonoid Contents in Salinity Stressed Chamomile and Sweet Marjoram. Plant Soil Environment 53(12): 529-543.
- Ayyıldız L (2011) Mevsimlik Çiçeklerde Tuzun Bitki Gelişimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Battal P, Erman M, Çelik İ, Berber İ, Türker M, Erez ME, Oğuz F (2007) Kuraklık Stresi Altında Yetiştirilen Bazı Mercimek (*Lens culinaris* Medik.) Çeşitlerinde Moleküler ve Fizyolojik Değişikliklerin Araştırılması. Proje No: TBAG- 2294 (103T070).
- Bek Y, Efe E (1995) Araştırma Metotları. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Yayın No: 71, Adana.

- Binici AS (2005) Tuzlu Koşullarda Yetişen Buğday Bitkisinin Fizyolojik ve Bazı Besin Elementlerinin Alımı Üzerine Gibberellik ve Absisik Asitlerin Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Bozcuk S, Tekin F (1996) *Helianthus annuus* L. Tohumlarının Çimlenmesi ve Fide Gelişimi Üzerine Tuz ve Ekzojen Poliaminlerin Etkisi, Ankara. Proje No: TBAG-1265.
- Campeol E, Angelini LG, Tozzi S, Bertolacci M (2006) Seasonal variation of indigo precursors in *Isatis tinctoria* L. and *Polygonum tinctorium* Ait. as affected by water deficit. Environmental and Experimental Botany 58: 223-233.
- Comlekcioglu N, Efe L, Karaman S (2015) Extraction of Indigo from Some *Isatis* species and Dyeing Standardization Using Low-technology Methods. Brazilian Archives of Biology and Technology 58(1): 96-102.
- Farooq M, Wahid A, Lee D (2009) Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. Acta Physiologiae Plantarum 31: 937-945.
- Geren H, Okkaoglu H, Avcioglu R (2011) Mikorizanın Farklı Tuz (NaCl) Konsantrasyonlarında Kıbrıs Mürdümüğü (*Lathyrus ochrus*)'nün Verim ve Bazı Fizyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 48(1): 31-37.
- Gilbert KG, Maule HG, Rudolph B, Lewis M, Vandenburg H, Sales E, Cooke DT (2004) Quantitative analysis of indigo and indigo precursors in leaves of *Isatis* spp. and *Polygonum tinctorium*. Biotechnology progress 20(4): 1289-1292.
- Gönöz A, Aksoy A, Karabacak E (2006) Çanakkale ve Çevresinde Doğal Yayılış Gösteren Bazı Potansiyel Boya Bitkileri. Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi 16(1): 54-71.
- Güneş M, Aktaş M (2008) Su Stresinde Yetiştirilen Genç Mısır Bitkisinde Potasyum Uygulamasının Gelişim ve Verim Üzerine Etkisi. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 12(2): 33-36.
- Hassanein RA, El-Khawas SA, Ibrahim SK, El-Bassiouny HM, Mostafa HA, Abd El-Monem AA (2013) Improving the thermo tolerance of wheat plant by foliar application of arginine or putrescine. International Journal of Molecular Sciences 45(1): 111-118.
- Hediye ASE (2009) Tuz Stresinin Farklı Tuz Toleransına Sahip İki *Plantago* Türünün Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Kaya MD, Okçu G, Atak M, Çikılı Y, Kolsarıcı Ö (2006) Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy 24(4): 291-295.
- Khajeh-Hosseini M, Powell AA, Bingham IJ (2003) The interaction between salinity stress and seed vigour during germination of soybean seeds. Seed Science and Technology 31: 715-725.
- Karaman S, Kirecci OA, Ilcim A (2008) Influence of polyamines (spermine, spermidine and putrescine) on the essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Journal of Essential Oil Research 20(4): 288-292.
- Korkmaz A (2008) Biberde Çimlenme ve Fide Gelişimi Sırasında Üşime Stresine Karşı Toleransın 5-Aminolevulinik Asit (ALA) Uygulamaları ile Arttırılması, Tübitak Proje No: 107 O 611.
- Kreczmer B, Filek M, Otto I, Chwistek-Rog L, Biesaga-Koscielniak JB (2013) Arguments in Favour of the Involment of Polyamines in Flowering Induction of Winter Rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) During Vernazilation and Grafting. Acta Scientiarum Polonorum Agricultura 12(4): 73-83.
- Mutlu F, Bozcuk S (2000) Tuzlu Koşullarda Ayçiçeği Tohumlarının Çimlenmesi ve Erken Büyüme Üzerine Dışsal Sperminin Etkileri. Turkish Journal of Biology 24: 635-643.

- Mutlu F, Bozcuk S (2013) Tuzluluk Stresi Altında Büyütülen Ayçiçeği Bitkilerine Dışsal Uygulanan Poliaminlerin Yaprak Alanına Etkisi. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry 41(4): 331-339.
- Özel ÇA (2007) Onkogenik *Agrobacterium tumefaciens* A281 Hattı ile Çivit Otu (*Isatis constricta* Davis) Bitkisinde Tümör Oluşumu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi 13(4): 391-394.
- Saleethong P, Sanitchon J, Kong-Ngern K, Theerakulpisut P (2013) Effects of exogenous spermidine (Spd) on yield, yield-related parameters and mineral composition of rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) grains under salt stres. Australian Journal Crop Science 7(9): 1293-1301.
- Sales E, Kanhonou R, Baixauli C, Giner A, Cooke D, Gilbert K, Arrilaga I, Segura J, Ros R (2006) Sowing date, transplanting, plant density and nitrogen fertilization affect indigo production from *Isatis* species in a Mediterranean region of Spain. Industrial Crops and Products 23: 29-39.
- Sgherri CLM, Maffei M, Navari-Izzo F (2000) Antioxidative Enzymes in Wheat Subjected to Increasing Water Deficit and Rewatering. Journal of Plant Physiology 157: 273-279.
- Stoker KG, Cooke DT, Hill DJ (1998) Influence of light on natural indigo production from woad (*Isatis tinctoria*). Plant Growth Regulation 25: 181-185.
- Uzunlu M (2006) Aspirinin Kavun Fidelerinin Değişik Abiyotik Stres Koşullarına Karşı Toleranslarının Artırılması Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Verzera A, Condurso C, Dima G, Ziino M, Ragusa S (2010) Volatile Constituents in Dried Roots of *Isatis tinctoria* L. (Brassicaceae). Journal of Essential Oil Research 22(6): 483-485.