



BOR DERGISİ

JOURNAL OF BORON

<https://dergipark.org.tr/boron>



Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde foliar bor uygulamalarının neden olduğu fizyolojik ve biyokimyasal değişimler

Ali Doğru^{1*}, Şansel Bildiren²

¹Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Esentepe Kampüsü, 54187 Sakarya, Türkiye, ORCID ID orcid.org/0000-0003-0060-4691

²Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Esentepe Kampüsü, 54187 Sakarya, Türkiye, ORCID ID orcid.org/0000-0001-8110-8280

MAKALE BİLGİSİ

Makale geçmişi:

İlk gönderi 03 Aralık 2019
Revize gönderi 23 Mayıs 2020
Kabul 15 Haziran 2020
Online 29 Haziran 2020

Araştırma Makalesi

DOI: [10.30728/boron.654920](https://doi.org/10.30728/boron.654920)

Anahtar kelimeler:

Antioksidant enzimler,
Askorbat-glutasyon döngüsü,
Bor,
Buğday,
Tuz stresi.

ÖZET

Bu çalışmada farklı iki buğday (*Triticum aestivum* L.) genotipinde (Momtchil ve Pamukova-97) tuz stresi (150 mM NaCl) ve foliar bor (H_3BO_3 ; 30 μ M) uygulamalarının etkileşimleri incelenmiştir. Momtchil'de klorofil a ve toplam klorofil miktarı tuz stresi, foliar bor ve tuz+foliar bor uygulamalarından etkilenmemiş, klorofil b miktarı ise, muhtemelen yüksek toplam karotenoid ve serbest prolin miktarından dolayı, ilgili kontrollerle karşılaştırıldığında artış göstermiştir. Pamukova-97'de ise böyle koruyucu bir mekanizmanın bulunmaması nedeniyle foliar bor ve tuz+foliar bor uygulamaları fotosentetik pigment miktarının azalmasına yol açmıştır. Askorbat-glutasyon döngüsünün enzimleri ve süperoksit dismutaz aktivitesi tüm uygulamalar sonucunda indüklenmemiş ve buğday genotiplerinin yapraklarında hem belirgin derecede H_2O_2 birikimi hem de yüksek MDA miktarı ile gösterildiği gibi membran hasarı belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan, tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde foliar bor uygulamalarının beklenen iyileştirici etkisinin gözlenemediği söylenebilir.

Physiological and biochemical changes in wheat cultivars under salt stress as affected by foliar boron application

ARTICLE INFO

Article history:

Received 03 December 2019
Received in revised form 23 May 2020
Accepted 15 June 2020
Available online 29 June 2020

Research Article

DOI: [10.30728/boron.654920](https://doi.org/10.30728/boron.654920)

Keywords:

Antioxidant enzymes,
Ascorbate-glutathione cycle,
Boron,
Salt stress,
Wheat.

ABSTRACT

In this study, interactive effects of salt stress (150 mM NaCl) and foliar boron (H_3BO_3 ; 30 μ M) application was studied in two wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes (Momtchil and Pamukova-97). Chlorophyll a and total chlorophyll content in Momtchil were not affected by salinity, foliar boron and salinity+foliar boron application while chlorophyll b content was increased by foliar boron and salinity+foliar boron application as compared to relative controls, probably due to higher total carotenoid and free proline level. In Pamukova-97, however, foliar boron and salinity+foliar boron application led to the reduced photosynthetic pigment content because of the absence of such a protective mechanism. Antioxidant enzymes of ascorbate-glutathione cycle and superoxide dismutase was not induced by all applications and both remarkable H_2O_2 accumulation and membrane damage was determined in the leaves of wheat cultivars, as demonstrated by higher MDA content in leaves. As a result, it may be concluded that expected ameliorative effect of foliar boron application did not occur in salt-affected wheat cultivars used in this study.

1. Giriş (Introduction)

Toprakların ve sulama sularının tuzlanması yeryüzündeki tarımsal faaliyetler için giderek artan bir problemdir. Dünyadaki toprakların yaklaşık %10'unda, sulanan arazilerin ise yaklaşık %50'sinde tuz stresinden kaynaklanan sorunlar mevcuttur [1]. Bunun sonucunda dünyada tuz stresi nedeniyle ortaya çıkan yıllık tarımsal ürün azalmasının yaklaşık 12 milyar dolarlık bir kayba yol açtığı tahmin edilmektedir [2,3].

Tuz stresi temel olarak bitkilerde fizyolojik kuraklık, iyon toksisitesi, mineral madde eksikliği ve oksidatif strese yol açarak moleküler hasarlara ve bitkinin ölümüne neden olabilir [4,5]. Tuzluluk ayrıca tohum çimlenme oranını, yapraklardaki su miktarını, fotosentetik aktiviteyi, klorofil miktarını, kök ve gövde büyümesini azaltırken; lipid peroksidasyonu ile sodyum ve klor miktarını artırır [6-12]. Tuzlu topraklarda tarımsal üretimi artırmak için uygulanan yaklaşımlardan biri çeşitli ilah ve seleksiyon yöntemleriyle tuza toleranslı bitki

*Sorumlu yazar: adogru@sakarya.edu.tr

genotiplerinin üretilmesidir [13]. Ancak tuz toleransının oldukça karmaşık bir olgu olması, tuz toleransı bakımından aynı türe ait farklı genotipler arasında bile önemli varyasyonların görölmesi ve ıslah çalışmalarının oldukça uzun zaman alması yüzünden bu alanda oldukça sınırlı derecede bir başarı elde edilmektedir [14,15]. Günümüzde bu sebeplerden dolayı tuz stresinin olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla bitkilere askorbik asit ve glutatyon gibi antioksidant bileşiklerin, prolin ve glisinbetain gibi ozmolitlerin, salisilik asit gibi bitki büyüme düzenleyicilerinin ve çeşitli mineral maddelerin kök yoluyla veya foliar olarak uygulanması ön plana çıkmıştır [16,8,9,17].

Bir metaloid olan bor elementi periyodik tablonun 3A grubunda yer alır [18]. Küçük bir atom çapına, üç tane valens elektronuna ve yüksek bir iyonizasyon enerjisine sahip olması nedeniyle kompleks bir kimyasal yapıya sahiptir. Bor yerkabuğunda elementel formda bulunmaz. Doğadaki borun büyük kısmı borat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), kalan kısmı ise borik asit ve florin anyonu formundadır. Bitki hücrelerinde ise borun tamamına yakın kısmı borik asit (H_3BO_3) formundadır [19].

Bor elementinin bitkilerdeki varlığı ilk olarak 1900'li yılların başında rapor edilmiş, daha sonra bazı baklagil türlerinde yapılan araştırmalar sonucunda borun büyüme ve gelişme üzerindeki rolü kesin olarak ortaya çıkarılmıştır [20]. Bor elementi günümüzde bitki büyümesi için gerekli bir mikroelement olarak kabul edilmektedir [21]. Bor elementi gelişmiş bitkilerde birçok önemli olayda etkilidir. Őekerlerin taşınımı ve karbohidrat metabolizması, hücre çeperi sentezi ve lignifikasyon olayı, plazma membranının bütünlüğünün ve fonksiyonunun korunması, nükleik asit metabolizmasının stimölasyonu, indol asetik asit metabolizması, askorbat-glutatyon döngüsünün işlevselliğinin sağlanması, fenolik bileşiklerin metabolizması, polen tüpü oluşumu, azot metabolizması, fotosentez ve birçok enzimin aktivitesinin sağlanması bunlar arasında sayılabilir [22,23]. Bazı çalışmalarda bor uygulamalarının bitkilerde tuz stresi zararlarını giderme konusundaki etkileri araştırılmıştır. Örneğın Torun ve ark. (2008), kök yoluyla yapılan bor uygulamalarının tuz stresi altındaki ayçiçeği bitkilerinde, tuz zararını gidermede belirgin bir rol oynamadığını ve bor uygulamalarına verilen fizyolojik cevapların genotipe bağlı olarak varyasyon gösterdiğini ortaya çıkarmışlardır [17]. Yapılan diğer bir çalışmada ise tuz stresi ile bor uygulamaları arasında antagonistik bir etkileşimin varlığı ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmada, buğday genotiplerinde artan tuz stresi şiddetinin bor toksisitesini azalttığı, artan bor konsantrasyonlarının ise tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığı rapor edilmiştir [24]. Çavuşoğlu ve Tabur (2015), tuzlu koşularda çimlenmeye bırakılan arpa tohumlarında bor uygulamaları sonucunda mitotik indeksin önemli derecede artış gösterdiğini bildirmiştir [25].

Tuz stresinin bitki dokularındaki aktif oksijen türlerinin (AOT) birikimine ve sonuçta oksidatif strese yol

açtığı bilinmektedir [26]. Daha önce yapılan çalışmalar bitkilerde çevresel stres faktörlerine karşı tolerans gelişiminin, oksidatif stres direcindeki artışın bir sonucu olduğunu ortaya çıkarmıştır [25]. Bitkilerde AOT'lerin yol açtığı oksidatif strese karşı savunma sağlayan antioksidant sistem mevcuttur. Süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APOD), glutatyon redüktaz (GR) ve guaiakol peroksidaz (GPOD) bu sistemin enzimatik bileşenleri arasındadır [27].

Literatürde tarımsal bitkilerde tuz stresi ve bor uygulamaları arasındaki etkileşimler konusunda yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır [28-30]. Bu bilgiler ışığında çalışmamızın amacı, iki farklı buğday genotipinde foliar bor uygulamaları ile tuz stresi arasındaki etkileşimleri bazı antioksidant enzimlerin aktiviteleri ve fizyolojik parametreler vasıtasıyla test etmektir.

2. Materyal ve metod (Material and method)

2.1. Bitki materyali ve deneysel plan (Plant material and experimental design)

Araştırmada buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkisinin Momtchil and Pamukova-97 adlı genotipleri kullanılmıştır. Bu genotiplere ait tohumlar Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir. Eşit büyüklükte ve sağlam olan tohumlar seçilerek cam petri kaplarında bidistile su ile ıslatılmış kurutma kağıtları arasına yerleştirilmiştir. Petri kapları 24 °C sıcaklık ve %40-50 oransal neme sahip olan iklim dolabında karanlık ortamda çimlenmeye bırakılmıştır. Üç gün sonra her iki genotipe ait uniform fideler perlit ve ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi içeren saksılara transfer edilerek 18/25 °C sıcaklık (gece/gündüz), 16/8 saat fotoperiyot (gündüz/gece), %50±5 oransal nem ve 200 μmol foton m^{-2} s^{-1} ışık şiddetine sahip iklim dolabına yerleştirilmiştir. On dokuz günlük olan bitkiler dört gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki kontrol bitkileri çalışmanın sonuna kadar ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi ile sulanmıştır. İkinci gruptaki bitkilere besin çözeltisine karıştırılarak kök yoluyla 150 mM tuz (NaCl), üçüncü gruptaki bitkilere foliar olarak borik asit (30 μM , FB) uygulanmıştır. Dördüncü grupta bulunan bitkiler ise hem 150 mM tuz stresine maruz bırakılmış hem de foliar borik asit (30 μM , TFB uygulaması) uygulamasına tabi tutulmuştur. FB uygulaması iki gün ara ile tekrarlanmış ve son uygulamadan iki gün sonra hasat işlemi yapılarak biyokimyasal analizlerde kullanılacak olan yaprak örnekleri -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2. Biyokimyasal analizler (Biochemical analysis)

2.2.1. Fotosentetik pigment analizi (Photosynthetic pigment analysis)

Yapraklardan çıkarılan diskler tartıldıktan sonra 2 ml saf aseton içeren deney tüplerine konulmuş ve diskler homojenize edilmiştir. Elde edilen özüt 10,000 rpm'de

10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatantların absorbanları 661, 644.8 ve 470 nm'de spektrofotometrik (SHIMADZU, UV mini 1240 UV-VIS Spectrophotometer) olarak belirlenmiştir. Klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı Lichtenthaler (1987)'ye göre hesaplanmıştır [31].

2.2.2. Malondialdehit (MDA) analizi (Malondialdehyde analysis)

Yaprak dokularındaki malondialdehit (MDA) miktarı Ohkawa ve arkadaşları (1979)'un metodu kullanılarak saptanmıştır [32]. Yaklaşık 0.3 g taze yaprak örnekleri 6 ml %5 trikloroasetik asit (TCA) ile havanda homojenize edilmiştir. Bu karışım +4°C' de 4100 rpm' de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatanttan 0.5 ml alınarak üzerine içinde %0,5 tiobarbütirik asit (TBA) bulunan %20' lik TCA çözeltisinden 1 ml ve 0,1 M 0,5 ml Tris tamponu (pH 7,6) eklenmiş, daha sonra 95°C' de 60 dakika su banyosunda tutulmuştur. Su banyosundan çıkarılan tüplerdeki reaksiyonları durdurmak için tüpler buz banyosuna konulmuştur. Spektrofotometrede (SHIMADZU UV mini 1240 UV-VIS Spectrophotometer) 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbanları ölçülmüştür.

2.2.3. Hidrojen peroksit (H₂O₂) analizi (Hydrogen peroxide analysis)

Yaprak dokularındaki hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarı Ohkawa ve arkadaşları (1979)'un metodu kullanılarak belirlenmiştir [32]. Yaklaşık 0,3 g'lık yaprak dokuları 6 ml %5 trikloroasetik asit (TCA) ile havanda homojenize edilmiştir. Bu karışım +4°C' de 4100 rpm' de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatanttan 0,5 ml alınarak üzerine 0,1 M 0,5 ml Tris tamponu (pH 7,6) ve 1 M 1ml potasyum iyodür (KI) eklenmiştir. Spektrofotometrede (SHIMADZU UV mini 1240 UV-VIS Spectrophotometer) 390 nm dalga boyunda absorbanları ölçülmüştür.

2.2.4. Antioxidant enzim aktiviteleri (Antioxidant enzyme activities)

Yapraklardaki toplam süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Beyer and Fridovich (1987)' e göre belirlenmiştir [33]. Yaklaşık 0,3 g taze yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 ml, 100 mM K PO₄ (pH 7,0), %2'lik PVP (polivinilpirolidon) ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve +4 °C' de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1030 µl olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,8), 9,9x10⁻³ M metionin, 5,7x10⁻⁵ M NBT (nitroblue tetrazolyum), %1' lik triton X-100 ve enzim karışımından oluşan bir reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon 0,9 µM riboflavin ilavesi ile başlatılmış, bu karışım 15 dakika boyunca 375 µmol m⁻² s⁻¹ şiddetinde ışığa maruz bırakıldıktan sonra 560 nm' de absorban değerleri belirlenmiştir (SHIMADZU, UV mini 1240 UV-VIS Spectrophotometer). Toplam SOD aktivitesi daha önce hazırlanmış olan standart

grafikten faydalanarak hesaplanmıştır (U/mg protein). Farklı SOD izozimlerinin (FeSOD, MnSOD ve Cu/ZnSOD) aktivitesi KCN (2 mM) ve H₂O₂ (5mM) inhibisyonuna duyarlılıklarına göre ölçülmüştür.

Toplam askorbat peroksidaz (APOD) aktivitesi Wang ve ark. (1991)'a göre belirlenmiştir [34]. Yaklaşık 0,3 g yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 ml, 50 mM Tris-HCl (pH 7,2), %2'lik PVP, 1 mM Na₂EDTA ve 2 mM askorbat içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 12.000 rpm ve +4 °C' de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1000 µl olacak şekilde 50 mM K-PO₄ tamponu (pH 6,6), 2.5 mM askorbat, 10 mM H₂O₂ ve 100 µg protein içeren enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, H₂O₂'nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Askorbat konsantrasyonundaki azalma, spektrofotometrede (SHIMADZU, UV mini 1240 UV-VIS Spectrophotometer) 290 nm'de yapılan okumalarla enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmiştir. Enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2,8 mM/cm.290 nm) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol askorbat/dakika/mg protein).

Toplam glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi Sgherri ve ark. (1994)' ye göre belirlenmiştir [35]. Yaklaşık 0,3 g yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 ml, 100 mM K-PO₄ (pH 7,0), %2'lik PVP ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve +4 °C' de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 1000 µl olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,8), 2 mM Na₂EDTA, 0,5 mM okside glutatyon (GSSG), 0,2 mM NADPH ve 100 µg protein içeren enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, NADPH' nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrik (SHIMADZU, UV mini 1240 UV-VIS Spectrophotometer) olarak 340 nm'de yapılan okumalarla ölçülmüştür. Düzeltme, NADPH yokluğunda GSSG oksidasyonu ile yapılmıştır. Enzim aktivitesi, NADPH' nin ekstinksiyon katsayısı (6,2 mM/cm. 340 nm) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol NADPH/dakika/mg protein).

Toplam guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitesi Sanchez-Romero (1993)'e göre belirlenmiştir [36]. Yaklaşık 0,3 g yaprak dokusu, sıvı azotla öğütülmüş ve 1,5 ml, 100 mM K-PO₄ (pH 7,0), %2'lik PVP ve 1 mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 14.000 rpm ve +4 °C' de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Son hacim 3180 µl olacak şekilde 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7,0), 0,316 mM guaiakol, 0,116 mM H₂O₂ ve 100 µl enzim karışımından oluşan reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon, H₂O₂'nin eklenmesiyle başlatılmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrik (SHIMADZU, UV mini 1240 UV-VIS Spectrophotometer) olarak 470 nm'de yapılan okumalarla ölçülmüş ve guaiakolün ekstinksiyon katsayısı (26,6 mM/cm.470 nm) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol H₂O₂/dakika/mg protein).

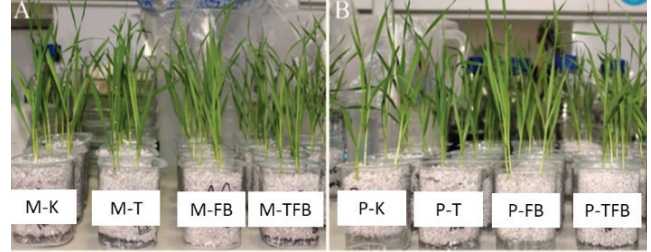
2.3. İstatistiksel analizler (Statistical analysis)

Elde edilen verilerin aritmetik ortalama ve standart hataları hesaplanmış, daha sonra verilere SPSS 20.0 paket programı kullanılarak, istatistiki varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulamaların kontrole göre neden olduğu farkın önem kontrolü Duncan testi ile (Anlamlı Önemli Fark; AÖF) %5 düzeyinde hesaplanmıştır.

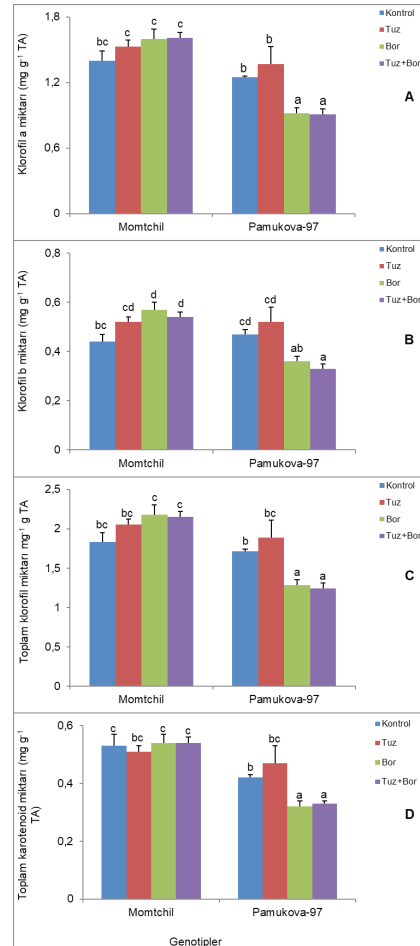
3. Bulgular ve tartışma (Results and discussion)

Bor elementinin bitki büyümesi ve gelişmesi için gerekli bir mikroelement olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Borun bitkiler açısından vazgeçilmez fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlara sahip olmasının yanı sıra, çeşitli abiyotik stres faktörlerine maruz kalan bitkilerde stres toleransını artırıcı etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir [37-39]. Bazı araştırmalarda da bor uygulamalarının bitkilerdeki tuz hasarlarını azaltma konusunda belirgin bir role sahip olmadığı bildirilmiştir [17]. Çalışmamızda gerçekleştirilen tuz uygulaması (150 mM NaCl) Momtchil ve Pamukova-97 genotiplerinde yapraklardaki klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarlarını kontrollerle karşılaştırdığında etkilememiştir (Şekil 1 ve 2). Bu sonuç her iki buğday genotipinde klorofil metabolizmasının tuz stresine karşı dayanıklılık derecesinin benzer seviyede olduğunu göstermektedir. Buğday gibi Poacea familyası üyesi olan türlerin tuz stresine nispeten dayanıklı olduğu da rapor edilmiştir [40]. FB ve TFB uygulamaları ise Momtchil genotipinde klorofil b miktarını kontrol ve tuz uygulanan bitkilere göre artırmıştır (Şekil 2B). Gelişmiş bitkilerde klorofil b molekülleri klorofil a moleküllerinden sentezlenmektedir. FB ve TFB uygulanan bitkilerde klorofil a miktarının değişmemesi, bu bitkilerde klorofil a sentezinin devam ettiğini ve birim zamanda klorofil b'ye dönüşüm reaksiyonunun uygun şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Bu durum tuz stresi altındaki Momtchil genotipinde klorofil a moleküllerinin FB uygulaması ile korunmasını sağlayan bir mekanizma olabilir. Pamukova-97 genotipinde ise FB ve TFB uygulamaları yapraklardaki klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarını kontrollere göre önemli derecede azaltmıştır (Şekil 2A, B ve C). Klorofil miktarında meydana gelen bu azalma bor elementinin toksik etki yapmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim bor toksisitesinin temel etkilerinden birinin pigment miktarının azalması olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir [41,42]. Yapılan araştırmalar bor toksisitesi altında pigment miktarında gözlenen azalmanın, klorofil sentezi prekürsörü olan aminolevülinik asit miktarındaki azalmadan ve kloroplastlardaki tilakoid membran yapısının bozulmasından kaynaklandığını göstermiştir [43,44]. Pamukova-97 genotipinde FB ve TFB uygulamaları sonucunda klorofil pigmentlerinin miktarındaki azalmanın diğer bir nedeni de aynı uygulamaların toplam karotenoid miktarında sebep olduğu azalma olabilir (Şekil 2D). Çünkü karotenoid grubu pigmentler antioksidant sistemin enzimatik olmayan bileşenlerinden biri olarak kabul edilir ve stres altındaki bitki dokularında hem singlet oksijen hem de triplet klorofil

oluşumunu engelleyerek çeşitli hücre yapısının korunmasını sağlar [45]. Buna göre FB ve TFB uygulamalarına maruz bırakılan Momtchil genotipinin yapraklarında klorofil pigmentlerinin karotenoidler yardımıyla fotooksidasyondan korunmasını sağlayan bir mekanizmanın varlığından söz edilebilir. Pamukova-97'de ise bu mekanizmanın eksikliği nedeniyle FB ve TFB uygulamaları sonucunda klorofil miktarının azaldığı söylenebilir (Şekil 2A, B ve C).



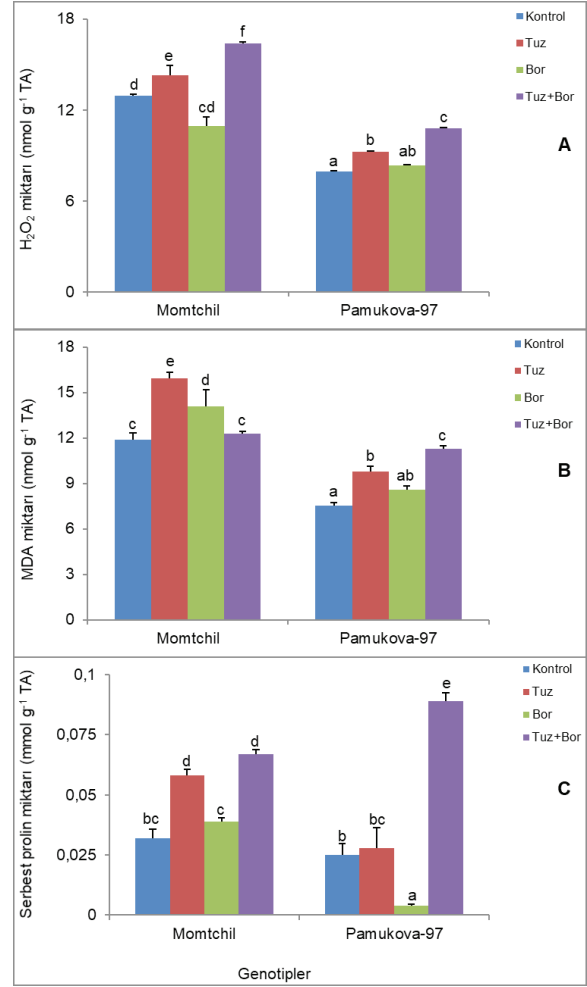
Şekil 1. Araştırmada kullanılan buğday genotiplerinin ((A) Momtchil ve (B) Pamukova-97) uygulama sonrası genel görünüşleri (M: Momtchil, K: kontrol; FB: foliar bor; TFB: tuz foliar bor; P: Pamukova-97), (General view of treated wheat genotypes used in this study).



Şekil 2. Farklı iki buğday genotipinde tuz, FB ve TFB uygulamalarının yapraklardaki (A) klorofil a, (B) klorofil b, (C) toplam klorofil ve (D) toplam karotenoid miktarı üzerindeki etkisi (farklı harfler uygulamaların kontrollere göre P=0.05 seviyesinde farklı olduğunu göstermektedir) (Effect of salt, foliar boron and salt+foliar boron applications on the (A) chlorophyll a, (B) chlorophyll b, (C) total chlorophyll and (D) total carotenoid content in the leaves of two different wheat cultivars (Different letters mean significant differences between the treatments at the level of P=0.05)).

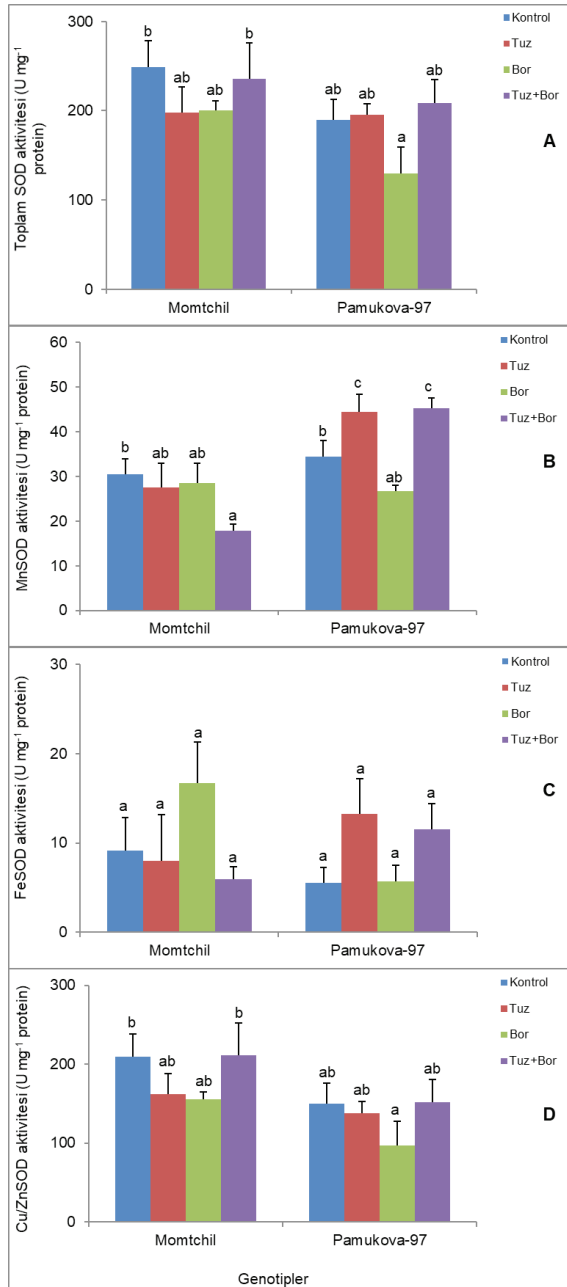
Membran sistemlerinde AOT'lerin yol açtığı lipid peroksidasyonunun, stresin hücresel seviyede neden olduğu hasarı yansıttığı bilinmektedir [46]. Farklı çevresel stres faktörleri altındaki bitkilerde hücre zarının bütünlüğünün ve işlevselliğinin korunması, tolerans mekanizmasının bir parçası olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda tuz stresi ve FB uygulaması Momtchil genotipinde yapraklardaki MDA miktarını kontrole göre önemli derecede artırmıştır (Şekil 3B). Bu sonuç tuz stresi ve bor toksisitesi etkisiyle meydana gelen lipid peroksidasyonunu ve hücre zarındaki yapısal hasarı göstermektedir. TFB uygulaması ise MDA miktarının kontrol seviyesine inmesine neden olmuştur (Şekil 3A). Bu durumda FB uygulamasının tuz stresinin neden olduğu membran hasarını azalttığı söylenebilir. Nitekim yapılan bir araştırmada bor elementinin bitkilerde membran yapısının ve membranla ilişkili reaksiyonların korunmasında önemli bir role sahip olduğu rapor edilmiştir [47]. Pamukova-97 genotipinde ise FB uygulaması tuz stresinin yol açtığı membran hasarını daha da artırmıştır (Şekil 3B). Bu sonuç antep fıstığı ile yapılan bir araştırma ile uyum göstermektedir [48]. Ayrıca yapılan uygulamalara verilen metabolik cevapların genotipe bağlı olarak değişiklik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda buğday genotiplerine uygulanan tuz stresi yapraklardaki H_2O_2 miktarının artmasına neden olmuş, TFB uygulaması ise bu birikimin daha da artmasına yol açmıştır (Şekil 3A). Bu sonuçlar özellikle Pamukova-97 genotipinde gözlenen membran hasarının H_2O_2 birikiminden kaynaklandığını, tuz stresi altındaki Momtchil genotipinde ise FB uygulamasının membran bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Bitkilerde AOT detoksifikasyonundan sorumlu olan birçok antioksidant enzim bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi süperoksit radikalının detoksifikasyonundan sorumlu olan süperoksit dismutazdır (SOD). Bu enzimin farklı hücre kompartmanlarında lokalize olmuş ve farklı metal iyonları ile aktive olan FeDOD, MnSOD ve Cu/ZnSOD gibi izozimleri vardır. Çalışmamızda yapılan uygulamaların hiçbirisi toplam SOD, FeSOD ve Cu/ZnSOD aktivitesini istatistiksel olarak etkilememiştir (Şekil 4A, C ve D). Ancak Momtchil genotipinde TFB uygulaması MnSOD aktivitesini azaltırken; Pamukova-97 genotipinde tuz ve TFB uygulamaları MnSOD aktivitesini artırmıştır (Şekil 4B). Bu sonuçlar Momtchil yapraklarında süperoksit radikali birikimini, Pamukova-97 yapraklarında ise tuz stresi ve TFB uygulaması sonucunda etkili bir süperoksit detoksifikasyonunu göstermektedir. Buna göre Momtchil genotipindeki membran hasarının H_2O_2 'nin yanısıra süperoksit radikali birikiminden kaynaklandığı, Pamukova-97 genotipinde ise daha çok H_2O_2 birikiminden kaynaklandığı söylenebilir. SOD'un katalizlediği reaksiyonun son ürünü olan H_2O_2 potansiyel bir oksitleyici olarak kabul edilir ve hücresel yapıların zarar görmemesi için askorbat-glutasyon döngüsü ile su ve oksijene kadar parçalanması gerekmektedir [49] Askorbat peroksidaz



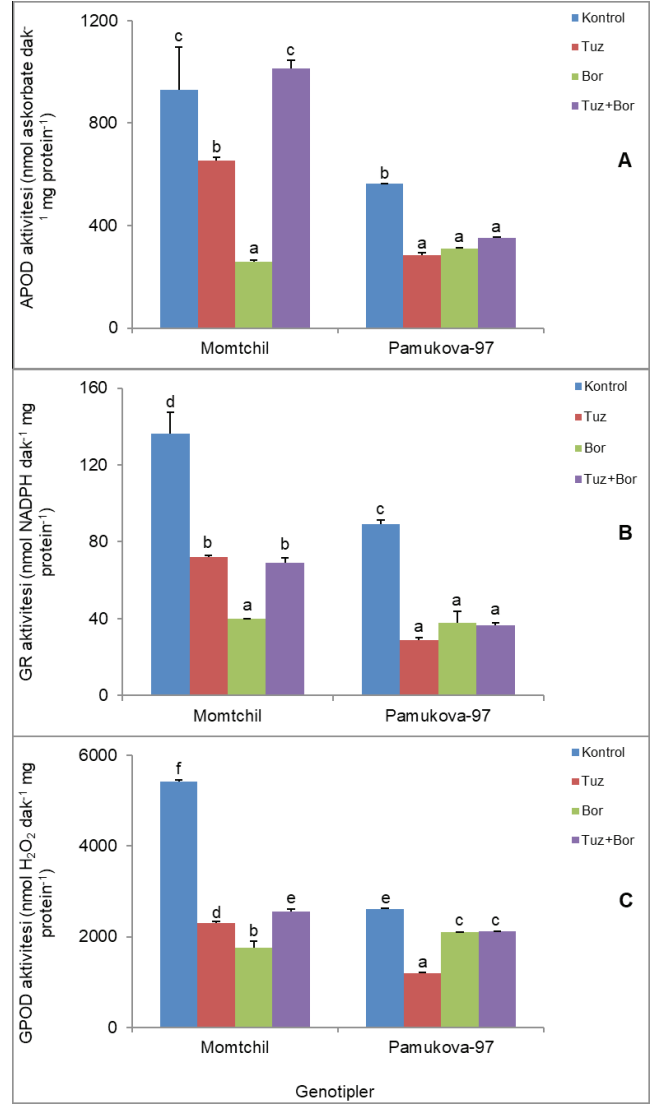
Şekil 3. Farklı iki buğday genotipinde tuz, FB ve TFB uygulamalarının yapraklardaki (A) H_2O_2 , (B) MDA ve (C) serbest prolin miktarı üzerindeki etkisi (farklı harfler uygulamaların kontrollere göre $P=0.05$ seviyesinde farklı olduğunu göstermektedir) (Effect of salt, foliar boron and salt+foliar boron applications on the (A) H_2O_2 , (B) MDA and (C) free proline content in the leaves of two different wheat cultivars (Different letters mean significant differences between the treatments at the level of $P=0.05$)).

(APOD) ve glutasyon redüktaz (GR) bu döngüde yer alan ve H_2O_2 'nin detoksifikasyonundan sorumlu olan iki enzimdir. APOD elektron vericisi olarak askorbik asidi kullanarak H_2O_2 'yi su ve oksijene kadar parçalarlarken, GR de glutasyonun NADPH'ye bağımlı olarak indirgenmesini sağlayan reaksiyonu katalizler [50]. Çalışmamızda tuz ve FB uygulamaları Momtchil genotipinde yapraklardaki APOD aktivitesini kontrole göre önemli derecede azaltırken, TFB uygulaması etkilememiştir (Şekil 5A). Pamukova-97'de ise tüm uygulamalar APOD aktivitesini azaltmıştır (Şekil 5A). GR aktivitesi ise her iki genotipte tüm uygulamalar sonucunda azalma göstermiştir (Şekil 5B). Bu sonuçlar askorbat-glutasyon döngüsünün buğday genotiplerinin yapraklarında yeterince fonksiyonel olmadığını ve H_2O_2 detoksifikasyonunun uygun şekilde sağlanmadığını açıkça göstermektedir. İki buğday genotipinin yapraklarındaki H_2O_2 birikimi de bu bulguları destekler niteliktedir. Elektron vericisi olarak guaiakol molekülünü kullanan



Şekil 4. Farklı iki buğday genotipinde tuz, FB ve TFB uygulamalarının yapraklardaki (A) toplam SOD, (B) MnSOD, (C) FeSOD ve (D) Cu/ZnSOD aktivitesi üzerindeki etkisi (farklı harfler uygulamaların kontrollere göre P=0.05 seviyesinde farklı olduğunu göstermektedir) (Effect of salt, foliar boron and salt+foliar boron applications on the (A) total SOD, (B) MnSOD, (C) FeSOD and (D) Cu/ZnSOD activity in the leaves of two different wheat cultivars (Different letters mean significant differences between the treatments at the level of P=0.05).

peroksidazlara guaiakol peroksidazlar (GPOD) adı verilir. Bu enzim de, askorbat peroksidaz gibi, bitkisel dokularda H₂O₂ detoksifikasyonundan sorumludur. Çalışmamızda her iki buğday genotipine yapılan uygulamalar yapraklardaki GPOD aktivitesinin belirgin derecede azalmasına neden olmuştur (Şekil 5C). Bu sonuç da buğday genotiplerinde H₂O₂ detoksifikasyon kapasitesinin yapılan uygulamalar sonucunda azaldığını ortaya çıkarmıştır. Bitki dokularındaki serbest



Şekil 5. Farklı iki buğday genotipinde tuz, FB ve TFB uygulamalarının yapraklardaki (A) APOD, (B) GR ve (C) GPOD aktivitesi üzerindeki etkisi (farklı harfler uygulamaların kontrollere göre P=0.05 seviyesinde farklı olduğunu göstermektedir) (Effect of salt, foliar boron and salt+foliar boron applications on the (A) APOD, (B) GR and (C) GPOD activity in the leaves of two different wheat cultivars (Different letters mean significant differences between the treatments at the level of P=0.05)).

prolin birikiminin tuz toleransı ile ilgili olabileceği belirtilmiştir [51]. Ancak bazı araştırıcılar da bitkilerdeki serbest prolin birikiminin stres hasarının bir göstergesi olduğunu ileri sürmüşlerdir [52]. Çalışmamızda tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde yapraklardaki serbest prolin miktarı FB uygulamaları sonucunda belirgin oranda artmıştır (Şekil 3D). Momtchil genotipinin yapraklarındaki fotosentetik pigment miktarında meydana gelen değişimler düşünöldüğünde, bu genotipte gözlenen serbest prolin birikiminin pigmentleri oksidatif stresin neden olduğu degradasyondan korumuő olması muhtemeldir. Nitekim prolin molekülünün bitkilerde farklı stres faktörlerinin neden olduğu oksidatif strese karşı savunma sağlayan antioksidant bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [53].

4. Sonular (Conclusions)

Sonu olarak, tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde FB uygulamasının yapraklardaki fotosentetik pigment metabolizmasını farklı şekilde etkilediği belirlenmiştir. Momtchil genotipinde klorofil pigmentleri muhtemelen serbest prolin ve karotenoidlerle fotooksidasyondan korunurken, Pamukova-97'de byle bir mekanizma belirlenememiştir. Her iki genotipte de uygulamalar sonucunda antioksidant enzimler yeterince aktive edilmemiş, bunun sonucunda yapraklarda H₂O₂ ve MDA birikimi meydana gelmiştir. Buna gre FB uygulamalarının alışmada kullanılan buğday genotiplerinde farklı metabolik olayları farklı şekilde etkilediği sonucuna varılabilir.

Kısaltmalar (Abbreviations)

APOD: askorbat peroksidaz,
FB: Foliar bor,
GPOD: Guaiakol peroksidaz,
GR: Glutasyon redktaz,
SOD: Speroksit dismutaz,
TFB: tuz ve foliar bor.

Kaynaklar (References)

- [1] Ruan C. J., da Silva J. A. T., Mopper S., Qin P., Lutts S., Halophyte improvement for a salinized world, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 29, 329-359, 2010.
- [2] Flowers T. J., Galal H. K., Bromham L., Evolution of halophytes: Mutiple origin of salt tolerance in land plants, *Func. Plant Biol.*, 37, 604-612, 2010.
- [3] Qadir M., Tbeileh A., Akhtar J., Larbi A., Minhas P. S., Khan M. A., Productivity enhancement of salt-affected environments through crop diversification, *Land Degrad. Dev.*, 19, 429-453, 2008.
- [4] Orcutt D. M., Nilsen E. T., The physiology of plants under stress: Soil and biotic factors, Wiley, Hoboken, 2000.
- [5] Doğru A., Yılmaz Kaar M., A preliminary study on salt tolerance of some barley genotypes, *Sakarya Uni. J. Sci.*, 23, 755-762, 2019.
- [6] Barassi C. A., Ayrault G., Creus C. M., Sueldo R., Sobrero M. T., Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce, *Sci. Hort.*, 109, 8-14, 2006.
- [7] Eraslan F., İnal A., Savaştrk O., Gneş A., Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity, *Sci. Hort.*, 114, 5-10, 2007.
- [8] Kaya C., Higgs D., Sakara E., Response of two leafy vegetables grown at high salinity to supplementary potassium and phosphorus during different growth stages, *J. Plant Nutr.*, 25, 2663-2676, 2002.
- [9] Mohammadi P., Khoshgoftarmanesh A. H., The effectiveness of synthetic zinc (Zn)-amino chelates in supplying Zn and alleviating salt-induced damages on hydroponically grown lettuce, *Sci. Hort.*, 172, 117-123, 2014.
- [10] Mota-Cadenas C., Alcaraz-Lopez C., Martinez-Ballessa M. C., Carvajal M., How salinity affects CO₂ fixation by horticultural crops, *HortSci.*, 45, 1798-1803, 2010.
- [11] Perez-Lopez U., Miranda-Apodaca J., Munoz-Rueda A., Mena-Petita A., Lettuce production and antioxidant capacity are differentially modified by salt stress and light intensity under ambient and elevated CO₂, *J. Plant Physiol.*, 170, 1517-1525, 2013.
- [12] Doğru A., Bitkilerde antioksidant sistemler ve tuz stresine verdikleri yanıtlar, *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mhendislik ve Tasarım Dergisi*, 1, 164-185, 2019.
- [13] Wei Z., Julkowska M. M., Laloe J. O., Hartman Y., de Boer G. J., Michelmore R. W., van Tienderen P. H., Testerink C., Schranz M. E., A mixed-model QTL analysis for salt tolerance in seedlings of crop-wild hybrids of lettuce, *Mol. Breeding*, 34, 1389-1400, 2014.
- [14] Ashraf M., Salt tolerance of cotton: Some new advances, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 21,1-30, 2002.
- [15] Ashraf M., Athar H. R., Harris P. J. C., Kwon T. R., Some prospective strategies for improving crop salt tolerance, *Adv. Agron.*, 97, 45-110, 2008.
- [16] Khan A., Ahmad M. S. A., Athar R. E., Ashraf M., Interactive effect of foliarly applied ascorbic acid and salt stress on wheat (*Triticum aestivum* L.) at the seedling state, *Pak. J. Bot.*, 38, 1407-1414, 2006.
- [17] Torun A., Dumuş E., Erdem H., Tolay İ., Cenkseven ř., Glt K. Y., Torun B., Ayieğinde tuz zararı zerine bor uygulamalarının etkisinin belirlenmesi, *Trk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6, 1781-1788, 2018.
- [18] Tariq M., Mott C.J.B., The significance of boron in plant nutrition and environment-a review, *J. Agron.*, 6, 1-10, 2007.
- [19] Greenwood N. N., Earnshaw A., Chemistry of elements, John Wiley and Sons, Inc., 1984.
- [20] Warington K., The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants, *Ann. Bot.*, 37, 629-672, 1923.
- [21] Emebiri L., Michael P., Moody D., Enhanced tolerance to boron toxicity in two-rowed barley by marker-assisted introgression of favorable alleles derived from Sahara 3771, *Plant Soil*, 314, 77-85, 2009.
- [22] Rehman S., Park T. I., Kim Y. J., Seo Y. W., Yung S J., Inverse relationship between boron toxicity tolerance and boron contents of barley seed and roots, *J. Plant Nutr.*, 29, 1779-1789, 2006.
- [23] Reid R., Can we really increase yields by making crop plants tolerant to boron toxicity? *Plant Sci.*, 178, 9-11, 2010.
- [24] Naz T., Akhtar J., Haq M. A., Saqib M., Iqbal M. M., Shahid M., Interaction of salinity and boron in wheat affects physiological attributes, growth and activity of antioxidant system, *Pak. J. Agric. Sci.*, 55, 339-347, 2018.
- [25] avuşoğlu D., Tabur S., Tuz stresi altında imlendirilen arpa tohumlarında borik asit uygulamasının sitogenetik etkisi, *SD Fen Bil. Enst. Dergisi*, 19, 142-150, 2015.
- [26] Mittler R., Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends Plant Sci.*, 7, 405-410, 2002.
- [27] Miller G., Shulaev V., Mittler R., Reactive oxygen signaling and abiotic stress, *Physiol. Plant.*, 133, 481-489, 2008.

- [28] Dađlıođlu Y., TűrkıŐ S., *Myriophyllum spicatum*'un sűperoksit dismutaz aktivitesi, lipid peroksidasyonu ve hidrojen peroksit seviyesi űzerine nano ve mikro bor partikűllerinin etkisi, BEű Fen Bilimleri Dergisi, 6, 62-70, 2017.
- [29] Dađlıođlu Y., Yılmaz Őztűrk B., The assessment of biological accumulation on exposure in boron particles of *Desmodium multivariabilis*, Biol. Div. Cons., 9, 204-209, 2016.
- [30] Dađlıođlu Y., Yılmaz Őztűrk B., A comparison of the acute toxicity and bioaccumulation of boron particles (nano and micro) in *Chodatadesmus mucronulatus*, Boron, 3, 157-165, 2018.
- [31] Lichtenthaler H. K., Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes, Meth. Enzymol., 148, 350-382, 1987.
- [32] Ohkawa H., Ohishi N., Yagi Y., Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, Anal. Biochem., 95, 351-358, 1979.
- [33] Beyer W. F., Fridovich I., Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions, Anal. Biochem., 161, 559-566, 1987.
- [34] Wang S. Y., Jiao H., Faust M., Changes in ascorbate, glutathione and related enzyme activity during thidiazuron-induced bud break of apple, Plant Physiol., 82, 231-236, 1991.
- [35] Sgherri C. L. M., Loggini B., Puliga S., Navari-Izzo F., Antioxidant system in *Sporobolus stapfianus*: changes in response to desiccation and rehydration, Phytocem., 35, 561-565, 1994.
- [36] Sanchez-Romero C., Garcia-Gomes M. L., Pliego-Alfaro F., Heredis A., Peroxidase activities and isoenzyme profiles associated with development of avocado (*Persea americana* M.) leaves at different ontogenetic stages, J. Plant Growth Regul., 12, 95-100, 1993.
- [37] Karimi S., Tavallali V., Wirthensohn M., Boron amendments improves water relations and performance of *Pistachia vera* under salt stress, Sci. Hort., 241, 252-259, 2018.
- [38] Abdel-Motagally F. M. F., El-Zohri M., Improvement of wheat yield grown under drought stress by boron foliar application at different growth stage, J. Saudi Soc. Agric. Sci., 17, 178-185, 2018.
- [39] GűneŐ A., Gezgin S., Kalınbacak K., Őzcan H., akmak İ., Bor elementinin bitkiler iin űnemi, Boron, 2, 168-174, 2017.
- [40] Jiang Q., Roche D., Monaco T. A., Durham S. Gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and carbon isotope discrimination of 14 barley genetic lines in response to salinity, Field Crop Res., 96, 269-278, 2006.
- [41] Ghanati F., Mortia A., Yokota H., Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cells, Soil Sci. J. Plant Nutr., 48, 357-364, 2002.
- [42] Reid R., Identification of boron transporter genes likely to be responsible for tolerance to boron toxicity in wheat and barley, Plant Cell Physiol., 48, 1673-1678, 2007.
- [43] Tewari A. K., Tripaty B. C., Acclimation of chlorophyll biosynthetic reactions to temperature stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.), Planta, 208, 431-437, 1999.
- [44] Luna C. M., Gonzalez C. A., Trippi V. S., Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves, Plant Cell Physiol., 35, 11-15, 1994.
- [45] Trebst A., Function of β -carotene and tocopherol in photosystem II, Zeit. Nat., 58, 609-620, 2003.
- [46] Jain M., Mathur G., Koul S., Sarin N. B., Ameliorative effects of proline on salt stressed lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogea* L.). Plant Cell Rep., 20, 463-468, 2001.
- [47] Brown P. H., Bellaloui N., Wimmer M. A., Bassil E. S., Ruiz J., Hu, H., Pfeffer H., Dannel V., Romheld V., Boron in plant biology, Plant Biol., 4, 205-233, 2002.
- [48] Tavallali V., Karimi S., Espargham O., Boron enhances antioxidative defence in the leaves of salt-affected *Pistacia vera* seedlings, The Hort. J., 87, 55-62, 2018.
- [49] Sairam R. K., Srivastava G. C., Aharwal S., Meena R. C., Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes, Biol. Plant., 49, 85-89, 2005.
- [50] Gratao P. L., Polle A., Lea P. J., Azevado R. A., Making the life heavy metal-stressed plants a little easier, Func. Plant Biol., 32, 481-494, 2005.
- [51] Karimi S., Rahemi M., Eshghi S., Maftoun M., Tavallali V., Effects of long-term salinity on growth and performance of two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. Aust. J. Basic Appl. Sci., 3, 1630-1639, 2009.
- [52] Karimi S., Eshghi S., Hasan-Nezhadian S., Inducing salt tolerance in sweet corn by magnetic priming. Acta Agric. Slov., 109, 89-102, 2017.
- [53] Matysik J., Alia Bhalu B., Mohanty P., Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants, Curr. Sci., 82, 525-532, 2002.