



**BOR STRESİNE KARŞI SİSTEİN AMİNO
ASİTİNİNARPADA (*Hordeum vulgare* L.)
DİRENÇ KAZANDIRMAYA ETKİSİ**

Ahsen Merve AKYÜREK

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Bilim Dalı
Prof. Dr. Yavuz DEMİR
2017
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BOR STRESİNE KARŞI SİSTEİN AMİNO ASİTİNİN ARPADA
(*Hordeum vulgare* L.) DİRENÇ KAZANDIRMAYA ETKİSİ**

Ahsen Merve AKYÜREK

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Botanik Bilim Dalı

ERZURUM
2017

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

**BOR STRESİNE KARŞI SİSTEİN AMİNO ASİTİNİN ARPADA (Hordeum
Vulgare L.) DİRENÇ KAZANDIRMAYA ETKİSİ**

Prof. Dr. Yavuz DEMİR danışmanlığında, Ahsen Merve AKYÜREK tarafından hazırlanan bu çalışma, 23/08/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Botanik Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu** (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr. Yavuz DEMİR

Üye : Prof.Dr.Ökkeş ATICI

Üye : Doç.Dr. Nevzat ESİM

İmza :

İmza :

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 07.07./2017 tarih ve 35...../20..... nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

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

Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü 25240 ERZURUM Telefon: +90 (442) 2314742 Faks: +90 (442) 2314741

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BOR STRESİNE KARŞI SİSTEİN AMİNO ASİTİNİN ARPADA (*Hordeum vulgare* L.) DİRENÇ KAZANDIRMAYA ETKİSİ

Ahsen Merve AKYÜREK

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz DEMİR

Bu çalışmada bor toksisitesine maruz kalan arpa bitkisine sistein amino asidinin iyileştirici etkileri araştırılmak istenmiştir. Bunun için arpanın (*Hordeum vulgare* L.) bor stresine hassas türü (Reyhan) seçilmiştir. Bor stres derecesi ve bunu yenmede kullanılacak sisteinin konsantrasyonları ön denemeler sonucunda, bor için 5 mM ve sistein için 200 µM olarak belirlenmiştir. Büyüme parametreleri (kök ve gövde uzunluğu), toplam çözünebilir protein-karbohidrat, prolin, MDA, reaktif oksijen türlerinin (ROT) miktarı ((hidroksil iyonu (OH⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), süperoksit anyonu (O₂⁻)) ve enzimatik antioksidant enzim (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve askorbat peroksidaz (APX) aktiviteleri ayrıca enzimatik olmayan antioksidant (askorbat (AsA), dehidro askorbat (DHA)) miktarları bakımından bor stresinde ve bor+sistein uygulamalarında karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Bor stresinde önemli derecede azalan kök ve gövde uzunlukları sistein uygulamasıyla artmıştır. Bor stresi hem kök hem de gövde de toplam şeker, protein, prolin miktarı, oksidantlar (O₂⁻, H₂O₂ ve OH⁻), MDA, SOD, APX ve POD aktivitesini arttırırken, CA aktivitesinde azalmaya neden olmuştur. Bor+Sistein uygulaması söz konusu parametrelerin genelde tümünde iyileşmelere neden olduğundan, sisteinin arpada bor stresinin yenilmesinde güvenilir bir kimyasal olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür.

2017, 81 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bor, Sistein, Antioksidan, Arpa, Toksisite

ABSTRACT

MS Thesis
**THE EFFECT OF CYSTEINE AMINO ACID TO GAINING RESISTANCE IN
BARLEY (*Hordeum vulgare* L.) AGAINST TO BORON TOXICITY**

Ahsen Merve AKYÜREK

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biyoloji
Department of Botany

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz DEMİR

In this study, it is aimed to investigate the healing effects of cysteine amino acid on the barley plant exposed to boron toxicity.

To this end, sensitive species (Reyhan) of barley (*Hordeum vulgare* L.) to boron stress was chosen. Boron stress level and concentrations of cysteine to be used in this process were determined as 5 mM for boron and 200 µM for cysteine as preliminary trials. Growth parameters (root and stem lengths), dry matter content, total soluble protein and carbohydrate, proline, MDA, the amount of reactive oxygen species (ROT) (hydroxyl ion (OH⁻), hydrogen peroxide (H₂O₂), superoxide (O₂⁻)) and enzymatic antioxidants (superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX) activity and non-enzymatic antioxidants (ascorbate (AsA), dehydro ascorbate (DHA) and glutathione (GSH)) quantities have been examined comparatively in barley plants growing in control, boron stress (B) and boron+ cysteine (B+S) conditions.

Root and stem lengths decreased significantly in the boron stress were increased with the cysteine application. While boron stress was increased total sugar, protein, proline, oxidants (O₂⁻, H₂O₂ ve OH⁻), MDA amounts, SOD, APX and POD activities, decreased CAT activity in both roots and stem. Because of Boron + Cysteine application cause improvements in all of these parameters, it has been suggested that cysteine can be used as a reliable chemical in the recovery of boron stress in the barley.

2017, 81 sayfa

Keywords: Boron, Cysteine, Antioxidant, Barley, Toxicity,

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanan bu araştırma, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitki Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle çalışmalarında her türlü desteği sağlayan saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Yavuz DEMİR'e en içten şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca yol gösteren saygıdeğer hocalarım Sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI'ya, ve bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Ümit İNCEKARA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca bugüne kadarki tüm öğrenim hayatımda her zaman yanımda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili ailemede sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmalarımın her aşamasında bana yardımcı olan arkadaşım Özlem GÜLMEZ'e teşekkür ederim.

Ahsen Merve AKYÜREK

Ağustos, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çalışmanın Amacı	14
2. KAYNAK ÖZETLERİ	15
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER.....	30
3.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar	30
3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları.....	30
3.3. Yöntemler.....	33
3.3.1. Bitkilerin büyütülmesi	33
3.3.2. Bitkilerin kök ve gövde uzunluklarının ölçülmesi	34
3.3.3. Toplam çözünebilir protein miktarının belirlenmesi.....	34
3.3.4. Prolin miktarının belirlenmesi.....	35
3.3.5. Total karbohidrat içeriğinin belirlenmesi	36
3.3.6. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının belirlenmesi	37
3.3.7. Hidroksil iyonu (OH ⁻) içeriğinin belirlenmesi	38
3.3.8. Süperoksit anyonu (O ₂ ⁻) içeriğinin belirlenmesi	38
3.3.9. Lipid peroksidasyon miktarının belirlenmesi.....	39
3.3.10. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi	40
3.3.10.a. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi.....	40
3.3.10.b. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi.....	41
3.3.10.c. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi	42
3.3.10.d. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini	43
3.3.11. Enzimatik olmayan antioksidanların içeriklerinin belirlenmesi.....	43
3.3.11.a. Glutatyon ve askorbik asit ekstraksiyonu	43

3.3.11.b. Askorbik asit (AsA) içeriğinin belirlenmesi	43
3.3.12. İstatistiksel analiz	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	45
4.1. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Kök ve Gövde Uzunluğu Üzerine Etkileri	45
4.2. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Toplam Karbohidrat, Çözünabilir Protein ve Prolin İçeriğine Ait Bulgular	47
4.2.1. Total karbohidrat İçeriği.....	47
4.2.2. Çözünabilir protein içeriği.....	48
4.2.3 Prolin içeriği	49
4.3. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Reaktif Oksijen Türlerine (ROT) Etkileri	50
4.3.1. Süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) içeriği	50
4.3.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2) içeriği	51
4.3.3. Hidroksil ($OH^{\cdot}$) içeriği	52
4.4. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının LPO Göstergesi Olarak MDA İçeriğine Etkisi	53
4.5. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri	54
4.5.1. Antioksidan enzim aktivite bulguları	54
4.5.1.a. SOD aktivitesi sonuçları	54
4.5.1.b. CAT aktivitesi sonuçları.....	55
4.5.1.c. POD aktivitesi sonuçları	56
4.5.1.d. APX aktivitesi sonuçları.....	57
4.5.2. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Enzimatik Olmayan Antioksidanlara Etkileri.....	58
4.5.2.a. Total AsA, AsA ve DHA içerikleri	58
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	64
5.1. Tartışma.....	64
5.2. Sonuç	69
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ	82

SİMGELER DİZİNİ

APX	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
B	: Bor
CAT	: Katalaz
DHA	: Dehidroaskorbik asit
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
gr	: Gram
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GSSG	: Yükseltgenmiş glutasyon
mg	: Miligram
mM	: Milimolar
NBT	: Nitroblue tetrazolium klorür
nmol	: Nano mol
PAGE	: Poliakrilamid jel elektroforezi
POD	: Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirrolidon
ROT	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SOD	: Süperoksid dismutaz
TBA	: Tiobarbutirik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
U	: Enzim ünitesi
xg	: Yerçekimi ivmesinin katı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bitkilerde görülen stres çeşitleri	1
Şekil 1.2. Askorbat-glutasyon çemberi	9
Şekil 3.1. Protein tayini için kullanılan standart grafik	35
Şekil 3.2. Prolin içeriğini belirlemede kullanılan standart grafik	36
Şekil 3.3. Total karbohidrat içeriğinin belirlenmesinde kullanılan standart grafik	37
Şekil 3.4. Hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik ...	38
Şekil 3.5. Süperoksit anyon ($O_2^{\cdot-}$) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik	39
Şekil 3.6. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik	42
Şekil 3.7. Askorbik asit içeriğini belirlemede kullanılan standart grafik	44
Şekil 4.1. Bor stresinde arpada kök ve gövde uzunlukları (cm/bitki) üzerine sistein uygulamasının etkileri	46
Şekil 4.2. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde total şeker içeriği (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri	48
Şekil 4.3. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde çözünebilir protein içeriği (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri	49
Şekil 4.4. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde prolin içeriğine (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri	50
Şekil 4.5. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) ($\mu g.gr^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri.....	51
Şekil 4.6. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ($\mu g.gr^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri.....	52
Şekil 4.7. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde hidroksil ($OH^{\cdot}$) ($\mu g.gr^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri	53
Şekil 4.8. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde MDA (nmol/gr doku) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri	54
Şekil 4.9. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde SOD aktivitesi ($U.mg^{-1}$ protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri.....	55
Şekil 4.10. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde CAT aktivitesi ($U.mg^{-1}$ protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri	56

Şekil 4.11. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde POD aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri	57
Şekil 4.12. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde APX aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri	58
Şekil 4.13. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde Total AsA seviyelerine (ng.gr^{-1} doku) sistein uygulamasının etkileri	59
Şekil 4.14. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde İndirgen AsA seviyelerine (ng.gr^{-1} doku) sistein uygulamasının etkileri	60
Şekil 4.15. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde DHA seviyelerine (ng.gr^{-1} doku) sistein uygulamasının etkileri	61
Şekil 4.16. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde AsA/DHA seviyelerine (ng.gr^{-1} doku) sistein uygulamasının etkileri	62
Şekil 4.17. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde DHA/AsA seviyelerine (ng.gr^{-1} doku) sistein uygulamasının etkileri	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı tarla ve bahçe bitkilerinin nispi bor toleransı	14
Çizelge 4.1. Bor stresinde arpada kök ve gövde uzunlukları (cm/bitki) üzerine sistein uygulamasının etkileri	46
Çizelge 4.2. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde total şeker içeriği (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri.....	47
Çizelge 4.3. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde çözünebilir protein içeriği (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri	48
Çizelge 4.4. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde prolin içeriğine (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri.....	49
Çizelge 4.5. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) ($\mu g.gr^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri	50
Çizelge 4.6. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ($\mu g.gr^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri	51
Çizelge 4.7. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde hidroksil ($OH^{\cdot}$) ($\mu g.gr^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri.....	52
Çizelge 4.8. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde MDA (nmol/gr doku) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri.....	53
Çizelge 4.9. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde SOD aktivitesi ($U.mg^{-1}$ protein) üzerine sistein uygulamasının etkileri.....	55
Çizelge 4.10. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde CAT aktivitesi ($U.mg^{-1}$ protein) üzerine sistein uygulamasının etkileri	56
Çizelge 4.11. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde POD aktivitesi ($U.mg^{-1}$ protein) üzerine sistein uygulamasının etkileri	57
Çizelge 4.12. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde APX aktivitesi ($U.mg^{-1}$ protein) üzerine sistein uygulamasının etkileri	58
Çizelge 4.13. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde Total AsA seviyelerine ($ng.gr^{-1}$ doku) sistein uygulamasının etkileri.....	59
Çizelge 4.14. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde İndirgen AsA seviyelerine ($ng.gr^{-1}$ doku) sistein uygulamasının etkileri	60

Çizelge 4.15. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde DHA seviyelerine (ng.gr-1 doku) sistein uygulamasının etkileri.....	61
Çizelge 4.16. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde AsA/DHA seviyelerine (ng.gr-1 doku) sistein uygulamasının etkileri.....	62
Çizelge 4.17. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde DHA/AsA seviyelerine (ng.gr-1 doku) sistein uygulamasının etkileri.....	63



1. GİRİŞ

Stres, bitkilerde gen/genlerin ifadesini, fizyolojik ve biyokimyasal olayları ve buna bağlı büyüme, gelişme ve ürün miktarlarını olumsuz yönde etkileyen biyotik ve abiyotik faktörlerin ayrı ayrı ya da birlikte bitkide hasar oluşturma kapasitesidir (Levitt 1980; Jones *et al.* 1984; Bray *et al.* 2000). Bitkinin stres faktörlerinden etkilenmesi çevreye genetik adaptasyon derecesine ve strese karşı verilen bir takım içsel ve mekanik cevaplara göre değişmektedir (Edreva 1998; Taiz 2002).

Morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklerin azaltılması veya onarılmasıyla bitkiler stres şartlarından korunurlar. Bitkilerde mevcut stres tolerans mekanizması oldukça karmaşık bir dizi olayları ihtiva eder; doku, organel ve moleküler seviyede basit kimyasal ya da biyokimyasal direkt cevaplar, karışık hormonal veya gelişim cevapları ile genlere bağlı kalıtsal etkilere kadar birçok fizyolojik cevabı kapsayan stres etkisinin azaltılmasını veya tolere edilmesini içerir (Edreva 1988). Bir tür için stres oluşturan durum veya durumlar başka bir bitki türü için stres oluşturmaz. Örneğin, optimum büyüme sıcaklıkları farklı bezelye (20°C) ve soya fasulyesi (30°C) bitkilerinden, sıcaklık artışıyla birlikte soya fasulyesi sıcaklığa daha toleranslı olduğundan daha erken zarar gören bezelye bitkisidir.



Şekil 1.1. Bitkilerde görülen stres çeşitleri

Bitkilerde stres, hücrede anabolik ve katabolik reaksiyonların, büyüme ve gelişmenin yavaşlamasına hatta bir bakıma durmasına sebep olan şartlardır (Babaoğlu vd 2002). Biyotik ve abiyotik streslere bitkilerin verdiği cevapların temel mekanizmasının anlaşılması ve stres şartlarına toleranslı kültür bitkilerinin geliştirilmesi oldukça önemlidir. Strese karşı gösterilen tepkiler; stresin şiddetine, süresine, stresten etkilenmiş olan bitkilerin gelişim aşamasına, doku tipine ve birçok stresin bir arada bulunmasına bağlı olarak değişmektedir (Koca 2002). Strese dayanıklılık mekanizması doku ve organel düzeyinde moleküler seviyede gerçekleşir ve bitkilerde iki şekilde ortaya çıkar. Bitkiler ya mevcut önleyici mekanizmalarla stres faktörlerinin etkinliğini yok eder ya da tolerans mekanizmalarıyla karşı koyarak (stres faktörlerinin azaltılması), hayatlarını devam ettirirler (Edreva 1998). Strese karşı bitkilerde; yaprak ayası kalınlığı, stoma büyüklüğü ve sayısı, kutikula kalınlığı değişmektedir (Acar 1999).

Hücrelerin stres toleransının artmasına neden olan hücresel cevaplar; hücre siklusu, hücre bölünmesi, hücrelerin endomembran sistemi ve vakuolleşmesi ile hücre duvarının yapısındaki değişiklikleri kapsamaktadır. Biyokimyasal seviyede, bitkiler prolin ve glisin betain bileşiklerin üretimini içeren metabolizmada bazı değişiklikler yaparak çevresel streslerin üstesinden gelmektedir. Bir stres sinyalinin algılanması ile ilgili moleküler olaylar ise toleransa neden olan genetiksel tepkilerdir (Taiz and Zeiger 2002).

Yeryüzünün tarım yapılan topraklarının sadece %10'u herhangi bir çevresel stres faktörün olumsuz etkisinde olmadığı tahmin edilmektedir. Geriye kalan alanları çeşitli biyotik ve abiyotik çevresel stres faktörleri (sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, ağır metal, element eksikliği veya fazlalığı) etkisine alarak, bitki gelişim ve büyümesini olumsuz yönde etkiler, ürün ve verim kayıplarına neden olur. Bitkilerin yaşadıkları karasal ortamda, etkili olan abiyotik streslerden biri de mineral besin stresidir. Bitki besin elementlerine bağlı düzensizlikler, iki farklı şekilde ortaya çıkmaktadır (Ashraf ve Foolad 2007). Besin elementi (esas elementler) ihtiyaç duyulan miktarda değilse, bitkide noksanlık belirtileri; ihtiyaç duyulan miktarın üstünde ve bitki gelişimini etkilemesi durumunda ise toksisite (fazlalık) ye neden olmaktadır. Her esas element için optimum değer ve aralık, bitki tür ve çeşidi için farklıdır. Buna bağlı olarakta, farklı

mineral besi elementlerine karşı bitkiler genetiksel olarak duyarlı, toleranslı ya da dayanıklı olabilirler.

Bitkiler, mevcut elementlerden sadece 16 tanesine ihtiyaç duyarlar ve bu elementlerin her birinin miktarı bitki dokularına ve türüne göre değişmektedir. Mutlaka alınması gereken bu mineral elementler, bitkideki nispi konsantrasyonlarına göre 9 tanesi “**Makro Elementler**” (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, S) ve diğer 7 tanesi (Fe, Mn, B, Zn, Cu, Mo, Cl) ise “**Mikro elementler**” olarak sınıflandırılırlar (Sağlam vd. 1993). Makro bitki besin elementlerine mikro besin elementlerinden daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır (Stevens ve ark. 2002) ancak bunlardan hangisi olursa olsun, bitki tarafından yeterince alınamadığı takdirde ürünün miktar ve kalitesi olumsuz yönde etkilenir (minumum yasa).

Mikro element eksikliği veya toksisitesi bitkilerde en önemli stres faktörlerinden birisi olup; metabolizmayı engellemekte ve bitkide hasarlara neden olabilmektedir. Mikro elementlerden bor, eksikliği ve toksisite sınırı birbirine en yakın nadir bir elementtir (Brown *et al.* 2002). Bitkiler de fazla borun zararlı (toksisite) etkisinden biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarla korunmaktadırlar. Biyokimyasal korunma mekanizması; seçici iyon birikimi veya salınması, köklerle alınan iyonların kontrolü ve yapraklara taşınımı, tüm hücre düzeyinde veya hücresel boyutta iyonların dağılımı, uyumlu bileşiklerin sentezi, fotosentetik yolun değişmesi, membran yapısındaki değişimler, antioksidant enzimlerin ve bitki hormonlarının uyarılması sayılabilir (Seçkin 2005) .

Tuzluluk, alkalilik ve bor toksisitesi kurak ve yarı kurak bölgelerde çölleşmenin temel nedenleridir (Cartwright *et al.* 1986) ve bu faktörler tek veya birkaçı bir araya gelerek bitkisel üretimi önemli oranda sınırlandırmakta veya imkânsızlaştırmaktadır. Mineral stresine maruz kalan bitkilerde hücresel seviyede stresin olumsuz etkilerini en aza indirecek birçok koruma mekanizması devreye girer. Stresin tipine ve bitkinin tolerans kapasitesine göre değişse de genel bir cevap olarak hücrelerde çeşitli stres proteinleri ve ROT miktarları artmaktadır (Apel and Hirt 2004; Zinn *et al.* 2010). ROT’ların oluşturduğu zararı önlemek için farklı türlerde ve miktarlarda enzimatik ve enzimatik

olmayan antioksidantlar devreye girer. Aşağıda ROT'lar ve bunları hücrel ortamlarda yok eden antioksidantlar daha ayrıntılı verilmiştir.

Yüksek oranda redoks aktivite gösteren veya yoğun elektron akışının olduğu hücrel organeller olan klorofil, mitokondri ve peroksizomlar ROT'ların olduğu esas merkezlerdir. Buralarda üretilen ROT'ların (Serbest Radikaller veya Reaktif Oksidan Moleküller) içerisinde en yaygınları singlet oksijen ($^1O_2$), süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$) dir (Gill and Tuteja 2010). ROT'lar bir veya daha çok eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok reaktif moleküller olup, kolayca elektron alış-verişine girerek, hücrede moleküllerin (lipid, protein, karbohidrat ve nükleik asitler) yapısını bozar. ROT'lar özellikle doymamış yağ asitlerini (çift bağlara sahip) içeren lipidler ile kolayca okside olabilmektedirler (Blokina *et al.* 2003). ROT'lar membranlardaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış karbonlarıyla kolayca tepkimeye girerek toksik peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Sonuçta meydana gelen çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu (LPO) olarak bilinir ve zincir reaksiyon şeklinde devam ettiğinden hücre için oldukça zararlıdır ve geri dönüşümsüzdür (Heath and Packer 1968; Halliwell and Gutteridge 1999). Biyolojik sistemlerde ROT'lardan $O_2^{\bullet-}$ ile özellikle $\bullet OH$ LPO'yu tetikler.

Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), tüm aerobik canlılarda bulunan ve oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşan oksidatif bir anyondur. Mitokondride enerji üretimi esnasında kullanılan oksijenin yaklaşık %5'i $O_2^{\bullet-}$ dönüştürülür. Yüzlerce enzimin (dehidrogenazlar ve oksidazlar) katalitik aktivitesi esnasında da bir yan ürün olarak $O_2^{\bullet-}$ oluşabilir (Corpas *et al.* 2001). İndirgenmiş nükleotitler de (flavinler, tiyoller gibi) aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olabilirler (Choi *et al.* 2002). Süperoksit radikali H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisidir. Aynı zamanda hücrel şartlarda üretilen $O_2^{\bullet-}$ hem oksitleyici hem de indirgeyici olarak da davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonunu, sitokrom-C'ye veya bir radikale verirse tekrardan oksitlenebilmektedir (Kuzu 2015).

Oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da $O_2^{\cdot-}$ süperoksitlerin enzimatik veya enzimatik olmayan tepkimeler sonucunda meydana gelen hidrojen peroksit (H_2O_2), DNA kırılmalarına ve protein denatürasyonlarına neden olur (Hagar *et al.* 1996). $O_2^{\cdot-}$ enzimatik olmayan yıkımı, nötral ve hafifçe asidik pH'da kendiliğinden olurken $O_2^{\cdot-}$ enzimatik yıkımı SOD katalizli dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 'ye dönüşmesiyle olmaktadır (Slesak *et al.* 2011). H_2O_2 yapısında eşleşmemiş elektron içermediği için radikal değildir, ancak biyolojik membranları geçerek hücreler arasına veya içine kolayca difüze olabilir ve uzun ömürlü bir oksidanttır (Güler 2008). H_2O_2 'nin ortamdan süpürülmesi CAT, POD ve APX gibi enzimlerle olmakta ve toksik olmayan H_2O ve O_2 'e dönüştürülmektedir.

Hidroksil radikali ($\cdot OH$), ROT'ların en güçlüsüdür. Bu radikal, geçiş metalleri varlığında H_2O_2 'in indirgenmesiyle ve suyun yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalması ile oluşabilir (Stahl and Sies 2002). Oluştığı yerde tiyil radikalleri ($RS\cdot$), karbon merkezli organik radikaller ($R\cdot$), organik peroksitler ($RCOO\cdot$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve büyük hasara neden olur. Biyolojik sistemlerde $\cdot OH$, özellikle de nükleik asitlerde hasara neden olur. Bütün bu tepkimeler $\cdot OH$ 'ın paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır (Halliwell 1984). $\cdot OH$ sebep olduğu en önemli diğer bir hasar lipid peroksidasyonudur. $\cdot OH$ 'ın başlıca hedefi yağ asitleri olup zar lipidlerinin peroksidasyonu ile zar yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp hücre ölümüne sebep olabilir (Nishiyama *et al.* 1998; Güler 2008).

Normal şartlar altında ROT'lar büyüme ve gelişme gösteren hücrelerde belirli bir seviyede üretilir, ancak hücrelerin antioksidatif mekanizmaları bu bileşikleri ortamlardan etkili bir şekilde temizleyerek hücreleri korurlar. Stres şartlarında ise üretilen ROT seviyesi, hücrelerdeki antioksidatif sistemin temizleyeceği eşik değerin çok üzerine çıkar. Eğer hücreler buna cevap olarak antioksidan sistem kapasitelerini yükseltmezse, ROT'ların gerçek zararları ortaya çıkar. Bu nedenle, ROT'ların neden olduğu oksidatif strese tolerans sağlamada enzimatik ve enzimatik olmayan

antioksidanların hücrel seviyelerinin düzenlemesi önemlidir (Gechev *et al.* 2002; Minibaeva and Gordon 2003).

Lipid peroksidasyonu (LPO), hücre zarındaki fosfolipitlerdeki doymamış yağ asitlerinde meydana gelen yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olarak zar lipid yapısını değiştiren, hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır (Thomas 1999). Canlılar için çok tehlikeli membran yıkımı, lipid peroksidasyonu ile geri dönüşümsüz zarara sebep olur (Akkuş 1995). LPO lipid peroksidlerinin çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitlere dönüşmesiyle son bulur. Hücre için toksik olan aldehitler ya hücre düzeyinde metabolize edilir ya da ilk oluştukları bölgede hücre içine girerek hücreye ve hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipid peroksidasyonu esnasında, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu lipid peroksidasyon seviyesinin göstergesi olan malondialdehit (MDA) oluşur. Hücrelerde MDA'nın içsel seviyesi ile LPO seviyesi korelasyon halindedir, LPO seviyesinin ölçülmesinde MDA içeriğinin belirlenmesi yaygın kullanılan bir yöntemdir (Kuru 2007).

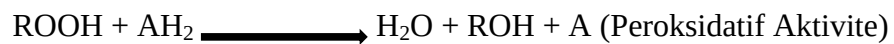
Bitki hücreleri ROT artışını kontrol etmek ve stres koşullarında hücreleri artan LPO'dan korumak için birçok antiokasidanlar içermektedirler. Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) olarak iki gruptur. Antioksidan enzimler ROT'ları kademeli bir şekilde daha az toksik olan bileşiklere parçalayarak etkilerini azaltırlar veya yok ederler. Bu enzimlerin başlıcaları süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidazlar (POD), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktazdır (Halliwell 2006; Ahmad *et al.* 2008).

Süperoksid dismutaz (SOD) (EC 1.15.1.1), serbest radikallere karşı organizmadaki ilk savunmayı gerçekleştiren metalik bir enzimdir. Görevi, $O_2^{\cdot-}$ radikalinin zararlı etkilerine karşı bitkiyi koruyarak, $O_2^{\cdot-}$ daha az toksik hali olan H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizler (Sairam and Srivastava 2000; Eyidogan *et al.* 2003; Minibaeva and Gordon 2003).



SOD'un üç farklı izoenzimi, bakır/çinko (Cu/ZnSOD, sitoplazma ve kloroplastlarda), mangan (MnSOD, mitokondrilerde) ve demir (FeSOD, kloroplast stromasında) olarak farklı hücre kompartımanlarında bulunabilir.

Katalaz (CAT) (EC 1. 11. 1. 6). tüm canlılarda bulunan H_2O_2 'i parçalayan bir enzimdir (Higashi *et al.* 1974). CAT, hidrojen peroksiti substrat olarak, hem elektron alıcısı hem de vericisi olarak kullanılmaktadır (Robertson 2004). Aynı zamanda CAT, düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında alkoller, askorbat ve fenol içeren indirgenmiş substratları kullanarak peroksidatif aktivite de gösterebilir (Chaudiere and Ferrari 1999; Gechev *et al.* 2003). CAT, turnover sayısı çok yüksek olup, genellikle peroksizomlarda ve glioksizomlarda bulunan bir enzimdir. Başlıca görevi; fotorespirasyon ya da glioksizomlarda yağ asitlerinin β -oksidasyonu sırasında oluşan H_2O_2 'i su ve oksijene ayrıştırarak zararsız hale getirmektir (Lazarow and Fujuki 1985). CAT'ın görev aldığı bazı reaksiyonlar;



CAT, moleküler oksijenin kullanıldığı bazı metabolik reaksiyonlar esnasında üretilen H_2O_2 ve ROOH gibi peroksit radikallerini temizleyerek membranlarda geri dönüşümsüz hasarları engeller. CAT kararsız bir enzim olduğu için yüksek ışık yoğunluğu ve strese maruz kaldığında H_2O_2 'den dolayı inhibe edilebildiği belirlenmiştir (Streb *et al.* 1993).

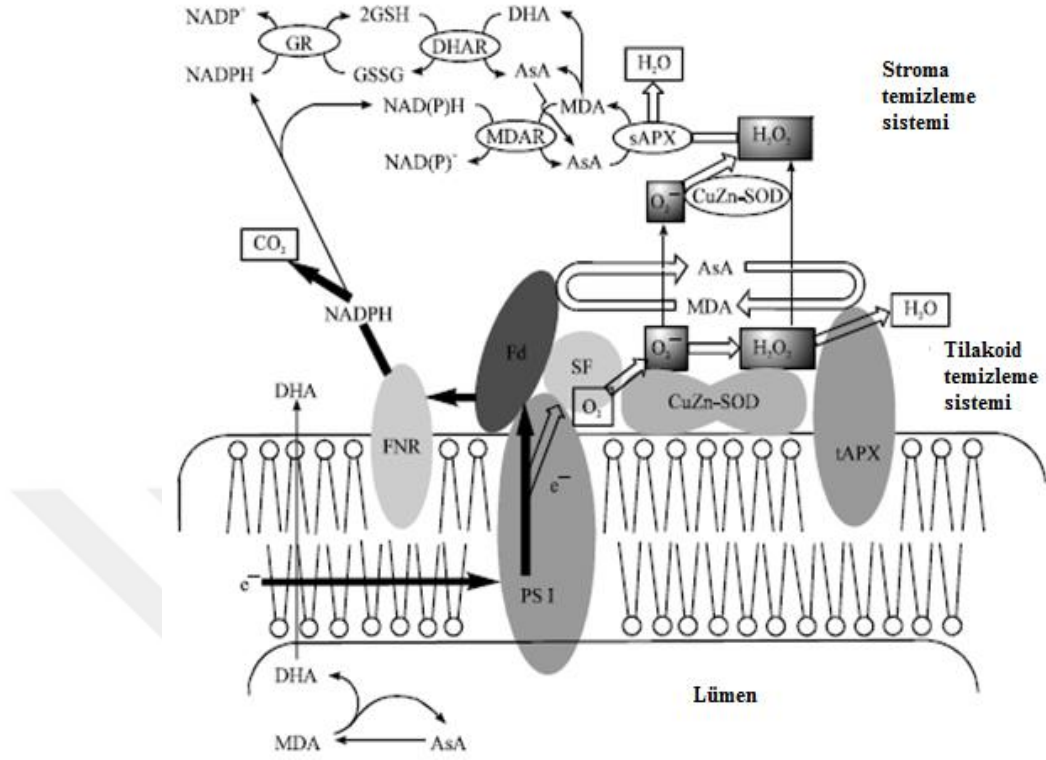
Peroksidaz (POD) (EC 1.11.1.7), bitkilerde savunma mekanizmasında görev alan ve hücreyi oksidatif hasara karşı koruyan bir enzimdir (Türküsay *et al.* 2005). HEM prostetik grubuna sahip olup kloroplastlarda bulunur (Banci 1997; Kim *et al.* 2000). Fizyolojik olaylarla ilişkisi olduğu ve metabolizmada aktif bir rol oynadığı belirlenen peroksidazların çok farklı stres altındaki bitkilerde aktivitesinin arttığı belirlenmiştir

(Durmuş 2003). POD, uygun olmayan çevresel faktörler altında üretilen zararlı oksijen radikallerinin seviyesini düzenler ve canlıları koruyucu görev yapar (Dehon *et al.* 2002). Çeşitli stres faktörlerinden oldukça etkilenen POD aktivitesi, enzimin stres enzimi olarak kabul edilmesine sebep olmuştur (Whetten *et al.* 1998; Rout *et al.* 2000; Jaleel *et al.* 2008).



Askorbat peroksidaz (APX) (EC 1.11.1.11), birçok organizmada (yüksek bitkiler, algler, kamçılılar gibi) ROT'lara karşı gerçekleştirilen savunmada önemli role sahiptir. APX ailesi H_2O_2 'ye karşı CAT'a kıyasla daha yüksek bir affiniteye sahiptir. Bu reaksiyon sonucunda askorbat iki molekül monodehidroaskorbata (MDHA) dönüşür. MDHA monodehidroaskorbat redüktaz tarafından tekrar askorbata çevrilir (Kumar *et al.* 2011). APX, hücreleri H_2O_2 'ye karşı yalnızca normal koşullarda değil, stres koşullarında da korumaktadır. Örneğin düşük sıcaklık koşullarında patates fidelerinde APX aktivitesinde önemli bir değişim görülmezken, salatalık fidelerinde APX aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Lukatkin *et al.* 2001).

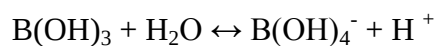
Askorbat (L-askorbik Asit, C vitamini) (AsA); bitkilerde ve hayvanlarda strese karşı savunma da görev yapan enzimatik olmayan güçlü bir antioksidandır (Davey, 2000). Mitokondrilerde sentezlenen AsA, genellikle plazmada ve hemen hemen bütün bitki hücrelerinde organel ya da apoplastik alanlarda bulunur. Bitki için hem karbon kaynağı hem de enzimlerin ko-enzimi olarak görev alır ve kolaylaştırılmış difüzyonla hücrelere dağılır (Hong *et al.* 2007). AsA aynı zamanda $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 ve $\text{O}_2\cdot^-$ lipid hidro peroksidazların detoksifikasyonunda görev alır (Shao *et al.* 2006). Ayrıca kloroplast ya da hücre membranlarındaki elektron taşıma sistemlerinde elektron vericisi-alıcısı olarak ta görev yapar.



Şekil 1.2. Askorbat-glutasyon çemberi (Asada 1999)

Bor

Bor, periyodik tabloda III-A grubunda olup, kimyasal sembolü B, atom numarası 5, atom ağırlığı 10.81 olan, bitki besin elementidir (Boşgelmez ve ark., 2001). 1808 yılında İlk kez saf element olarak elde edilmiş ancak sağlıklı bitki büyüme ve gelişmesi için gerekliliği ilk olarak 1923 te Warington tarafından belirlenmiştir. Bor, element halde iken amorf veya kristal yapıda, suda çözünmeyen, kahverengimsi-siyah renkte ve toz şeklinde olup normal sıcaklıklarda oldukça karardır. Elektronca zengin maddelerle bağlar oluşturup, tabiatta daima oksijene bağlı olarak bulunur. B elementi kararlı kovalent bağlar oluştur, iyonik bağlar oluşturmaz. Bor içeren bileşikler genellikle Lewis asidi gibi davranır. Bor bileşikleri yer kabuğunda yaklaşık %0.001 seviyesinde bulunur. Tabiatta elemental formda değildir. Elemental borun sudaki çözünürlüğü oldukça düşük olmasına rağmen bor bileşikleri suda çözünebilir.



Yüksek konsantrasyonda bor kaynakları, bor' un oksijenle bağlanmış bileşikler olarak daha çok Türkiye (803 milyon ton rezervlerin yaklaşık %72'si Eskişehir, Kütahya, Balıkesir'de Türkiye'nin esas bor rezervlerinin en çok olduğu bölgelerdir (Helvac, 2004; Kar *et al.* 2006)), ABD, Arjantin, Rusya, Kazakistan, Çin, Bolivya, Peru ve Sili'nin kurak, çorak, volkanik ve hidrotermal aktivitesi yoğun olan bazı bölgelerinde yer almaktadır (Ediz ve Özday 2001).

Türkiye'de 3.5 milyon ha tarım arazisine sahip olan Orta-Güney Anadolu bölgesinden alınan örneklerde yapılan analiz sonuçlarına göre toprakların elverişli bor miktarının 0.01-63.9 mg kg⁻¹ arasında değişim gösterdiği, %26.6'sının da bor'ca yetersiz (<0.5 mg kg⁻¹) ve %18'inde ise borca toksik (>3.0 mg kg⁻¹) düzeyde oldukları tespit edilmiştir.

Bor miktarının eksikliği kadar yaygın olmasa da bor toksisitesi dünyanın kurak ve yarı kurak bölgelerinde önemli bir problem teşkil etmektedir. Bitkilerin bor'a olan toksisite sınırı oldukça geniştir (Nable *et al.* 1997).

Borun bitkiler tarafından alınma mekanizması net olarak anlaşılmamış, hem aktif hem de pasif taşınmayı destekleyen bulgular rapor edilmiştir (Dordas *et al.* 2000). Fakat genelde kabul gören, bitki kökleri tarafından B'un pasif absorpsiyon yoluyla ve iyonlaşmamış borik asit [B(OH)³] olarak alındığı (Nable *et al.* 1997), sitoplazmada borat anyonu [B(OH)₄⁻] olarak biriktirildiği (Roessner *et al.* 2006) ve B(OH)₄⁻ iyonları olarak da alınabildiği şeklindedir (Hu and Brown 1997). B'un alınmasını, toprağın yapısı, pH'sı, içerdiği su oranı, sıcaklığı, organik madde ve kil mineralleri içeriği gibi birçok faktör etkilemektedir (Goldberg 1997). En yüksek seviyede B alınımı toprak pH: 6.3-6.5 olduğunda gerçekleşmekte, daha yüksek pH'larda ise bor alınımı keskin bir şekilde düşmektedir (Nable *et al.* 1997).

Bor topraktan bitkiye epiderma→korteks→endoderma→perisikl→ksilem yolunu takip ederek alınır. Kaspari şeridinin görevi ise borla birlikte diğer besin maddelerinin gövdeden içeri ve dışarı kaçışını engellemektedir (Ma and Peterson 2003).

Ksilem aracılığı ile köklerden yaprak dokularına taşınır, yaprak dokusunun ve gövdenin gelişen kısımlarında depolanır. Taşınma sırasında borun bir miktarı şekerlerle ve cis-hidroksil gruplar içeren diğer bileşiklerle kolaylıkla kompleksler oluşturur. Yüksek borun bulunduğu ortamda, daha fazla borun köklerden yaprak dokularına taşınması toksik etki gösterebilir. Bitki hücre duvarlarında kolayca birikebilir, fazlası sitoplazmaya geçebilir ve stres neden olan sitoplazmik aktiviteleri etkileyebilir (Matoh 1997). Bileşiklerle kompleks oluşturmamasından dolayı bor difüzyonu hücrede ve apoplastik bölgelerde etkilenir.

Bor'un kökte pasif yolla alınması ve ksilem vasıtasıyla uç noktalara taşınması transpirasyonuna bağlı olarak değişebilen su alınımla yakından ilişkilidir (Hu and Brown 1997). Transpirasyon esnasında bor'un kökten gövdeye taşınmasında diğer maddelerle yapacağı bileşiklerin çeşitliliği ve membranı oluşturan sterol miktarının fazlalığı zarlardaki B akışını azaltabildiğinden önemlidir (Brown *et al.* 2002). Bor yeterli ve fazla olduğu zamanlarda hücre zarından difüzyonla birlikte aquaporin taşıyıcı proteinleri ve diğer temel zar proteinleri (MIP) tarafından da alınmaktadır (Dordas *et al.* 2000). Az olduğunda ise aktif B alımının yapıldığı da rapor edilmiştir (Dannel *et al.* 1997).

Bitkilerde B'un toksisite oluşturmaya ilişkin temel olarak üç basamak ileri sürülmektedir. Bunlar; hücre duvarı gelişiminin önlenmesi, ATP, NADH veya NADPH gibi ribozlu yapılara bağlanarak önemli metabolik aktivitelerin engellenmesi (Ralston and Hunt 2000) ve serbest şekerlerdeki veya RNA'daki ribozlara bağlanarak hücre bölünmesi ve gelişmesinin engellenmesidir. Aynı zamanda, yapraklarda toksik B'un transpirasyon akım yönündeki ozmatik dengesizliklerin ortaya çıkması da yukarıdakilere ek olarak kabul edilmiştir (Stagoulis and Reid 2002; Reid *et al.* 2004).

Bor sadece bitkiler, algler, siyanobakteriler ve diatomeler için değil aynı zamanda alabalık ve kurbağa gibi hayvanların da gelişmelerinde yeterli konsantrasyonda olmalıdır (Rowe and Eckhert 1999).

Bor bitkilerde; şekerlerin taşınmasında, protein sentezi, hücre duvarı sentezinde (Bor hücre duvar yapısında kalsiyum (Ca)'la birlikte) bulunur. Bor azlığında Ca taşınımı, normal hücre duvarı gelişmesi, hücre bölünmesi, ligninleşmede, çiçeklenme, polen tüplerinin büyümesinde polenlerin gelişme ve çimlenmesinde, meyve ve tohum gelişmesi, kök büyümesi ve gelişimini sınırlar. Bor eksikliğinde bitkilerin kök uzunluğunda gerileme veya durma kökler çalışılmış bir görünüm almıştır. Çünkü kök uzaması, hücre duvar sentezi ve hücre bölünmesi ile doğrudan ilişkilidir. İletken dokuların korunması, dormansi, bitki-su, azot ilişkilerinin düzenlenmesi, karbohidrat, RNA, fenol metabolizmasında, solunumda, hormon hareket ve etkinliğinde, nükleik asit, pektin, ATP sentezlerinde, biyolojik zarların yapısal ve fonksiyonel özellikleri üzerinde önemli işlevlere sahiptir (Parr and Laughman 1983; Lukaszewski and Blevins 1996) Hücre uzama ve bölünmelerinde, oksin hormon (IAA) metabolizmasında, gametlerin oluşumu, döllenmenin arttırılması, çiçek sterilitesinin azaltılmasında ve diğer elementler üzerinde düzenleyici etkilerinin olması gibi rolü vardır (Marchner 1995, Blevins and Lukaszewski 1998; Anonim 2008). Çoğunlukla borun hücre duvar yapısını koruyucu etkisi olabileceği, zar fonksiyonundaki etkisi ve yukarıda bahsedilen bazı metabolik aktiviteleri destekleyici rolü üzerinde durulmaktadır (Dordas and Brown 2000; Brown *et al.* 2002; Dannel *et al.* 2002; Läuchli 2002; Bolaños, *et al.* 2004; Luis *et al.* 2004). Bor generatif gelişme için vejetatif gelişmeye göre daha fazla önem taşımaktadır.

Bor atmosferik kaynaklardan ve tabii olaylardan (volkanik aktivite) çevreye yayılır. Deniz kökenli tortul kayalarda, deniz balçıklarında, göl veya sel alanlarındaki birikintilerde, sıcak su kaynaklarında ve volkanik arazilerden çıkan sularda daha fazla oranda bor bulunmaktadır (Ermiş 2002). Topraktaki B fazlalığının diğer bir nedeni ise kurak ve yarı kurak bölgelerde yüksek miktarda B içeren suların, sulama suyu olarak kullanılmasıdır. Gübrelemenin normalden fazla uygulandığı tarım arazilerinde topraktaki B içeriği artabilmektedir. Kirlenen sular, B maden işletmelerinden çıkan atıklar ve uçucu küller topraktaki B fazlalığına neden olan diğer kaynaklardır (Nable *et al.* 1997). Sularda bulunan borun en büyük etkisi tarım arazileri üzerinde, içme ve kullanma suyunda, su ürünleri üzerinde ve hayvan sulamasında da önemli etkileri

saptanmıştır (Niemi 1991). Bitkilerin büyüme ve gelişmesi için gerekli olan bor, fazla miktarlarda olduğu zaman bitkiler için oldukça zararlıdır.

Toprakların yararlı bor miktarının toprak özelliklerine bağlı olarak değiştiği, toprak tuzluluğu, sodyum ve organik madde miktarı arttıkça elverişli bor miktarının da önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir (Gezgin vd 2002). Borik asit (H_3BO_3), toprakların çoğunda görülen pH sınırları içinde olmadığı için, toprak bileşiklerine bağlanamaz ve hızla yıkanarak toprağın alt horizonlarına doğru iner. Çorak bölge topraklarında ise, bor üst toprak tabakalarında birikir ve toksik konsantrasyon değerlerine çıkar (Boşgelmez vd 2001). Bor toksisitesi kurak yıllarda düşük yağış alan bölgelerde (kurak ve yarı kurak bölgelerinde) meydana gelir (Loomis and Durst 1992). Topraklarda çözülebilir borun hareketliliğinden dolayı bitki kökleriyle kolayca alınabilir ve bor konsantrasyonu yüksek olduğunda da hücreye girişi kolay olmaktadır (Wimmer, *et al.* 2003). Piridin nükleotid koenzimleri (NAD^+), ATP, RNA ve birkaç şeker bor bağlayan moleküllerdir, bu durumda fonksiyonları değişir veya hücrede enzim aktivitesini de değiştirebilirler (Ralston and Hunt 2000).

Bora tolerans ve toksisite fizyolojisi tam açıklanamamıştır. Toksik bor çeşitli enzimlerin aktivitelerinde ve yüksek bitkilerin metabolizmasında önemli değişikliklere neden olur (Shkolnik 1974). Köklerden borun salgılanması, gövdelerde indirgenmiş translokasyon ve yüzeysel kök sisteminden kaçma bor toleransı ve direnç mekanizmalarına örnek verilebilir (Paull *et al.*, 1992, Nable, 1988). Bununla beraber farklı genotiplerin bor toleransı membran yapılarındaki farklılığın bir sonucu olarak boru pasif taşıma kabiliyetleriyle bağlantılıdır (Nable 1988). Tolerant türler boru etkili bir şekilde salgılayarak daha az bor içeriğine sahip olurlar ve ksilemde bor miktarı daha düşük olduğundan gövde de bor birikimi azalır. Borun salgılanması anyon değişim veya anyon kanallarıyla gerçekleşir. Bora hassas genotiplerde borat anyonun salgılama kapasitesindeki eksiklik bor toksisitesine neden olur (Hayes and Reid 2004). Her bitki türü normal büyümeleri için farklı bor ihtiyacına sahiptirler. Bir bitki için toksik olan miktar diğer bitki için normal olabilmektedir (Blevins *et al.* 1998). Aşağıdaki tablo bazı tarla ve bahçe bitkilerinin nispi bor toleransını göstermektedir (Keren and Bingham 1985).

Çizelge 1.1. Bazı tarla ve bahçe bitkilerinin nispi bor toleransı

Toleranslı (2-4 mg B/L)	Kısmen Toleranslı (Yarı- Toleranslı) (1-2 mg B/L)	Kısmen Duyarlı	Duyarlı (0.3 mg B/L den fazla)
Havuç	Arpa	Brokoli	Fasulye
Şekerpancarı	Mısır	havuç	Elma
Yonca	Patates	Salatalık	Avokado
Pamuk	Lahana	Bezelye	Üzüm
Süpürge darısı	Kereviz	Biber	Greyfurt
Yulaf	Kabak	Patates	Limon
Pancar	Sarı yonca	Kırmızı turp	Portakal
Domates	Şalgam		Buğday

1.1. Çalışmanın Amacı

Çalışmada, B stresinde (5 mM) yetiştirilen arpada büyüme (kök-gövde uzunluğu), MDA, prolin, toplam çözünebilir protein, total karbohidrat, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi (hidroksil iyonu ($\text{OH}^\cdot$), superoksit ($\text{O}_2^\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi), önemli antioksidant enzim aktiviteleri (SOD, CAT, POD ve APX) ve enzimatik olmayan antioksidantların (askorbat (AsA)/dehidroaskorbat (DHA)) miktarlarındaki değişimler B stresinin (5 mM) derecesi olarak belirlenecek ve sisteinin (200 μM) stresi yenmedeki etkisi söz konusu parametreler üzerinden karşılaştırmalı olarak araştırılacaktır.

Bu amaç için sisteinin antioksidant özelliği, toksik olmaması ve biyoyumumluluğundan dolayı şu ana kadar strese karşı uygulanan zararlı kimyasallar yerine kullanılması uygun bulunmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bor ve Ca arasındaki ortak özelliklerinin araştırılmış, her ikisinin de hücre duvarında yapısal rollerinin olduğu, sitosolde düşük konsantrasyonlarda bulunduğu ve signal rollerinin olduğu tespit edilmiştir (Gonzalez-Fontes and Rexach 2008).

Borun mutlak gerekli bir besin elementi olduğunu (Lewis 1980), vasküler bitkilerin evrimiyle ve borun lignin biyosentezinde önemli bir rol oynadığı (Ascerbo *et al.* 1973) vurgulanmıştır.

Toprakların toplam bor içeriklerinin birçok faktöre bağlı olarak değişmesinin yanında topraktan bitkilerce alınabilir bor konsantrasyonunun da farklı olduğu yapılan birçok çalışmayla ortaya konmuştur. Bengal’de 26 toprak örneğinde alınabilir borun 0.4 ve 2.0 mg kg⁻¹ arasında değiştiği belirtilmektedir (Ghani and Haque 1945).

Berger (1949), borun şekerlerin taşınmasında önemli rol oynadığını; hücre duvarı normal gelişiminin bor eksikliği durumunda tamamlanamadığını bildirmiştir. Hücre duvarı fonksiyonlarının uygunluğu için sürekli bir bor kaynağına ihtiyaç vardır. Bunun yanında halen bitkilerin hücre duvarlarında borun gerekliliği konusunda bazı tartışmalar da yapılmaktadır. Parr ve Loughman (1983), mantarların hücre duvarlarında borun bulunmadığını ifade etmektedirler. Aynı araştırmacılar borun bitki fizyolojisinde şekerlerin taşınmasında, hücre duvarı sentezinde, ligninleşmede, hücre duvarının yapısında, karbohidrat metabolizmasında ve membran bütünlüğünde rol aldığını saptamışlardır. Bitkideki bu fonksiyonlarının yanında, borun bir enzim komponenti olduğunu gösteren veya herhangi bir enzim aktivitesinde doğrudan yer aldığına dair hiç bir kanıt bulunamamıştır (Birnbaum *et al.* 1977; Çakmak ve Römheld 1997)

Borun birincil ve ikincil etkileri arasındaki farkı belirlemek oldukça zor olmakla beraber; Shelp (1993) ve Marschner (1995), borun birçok bitki çeşidinde yapısal, fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda yer aldığını bildirmişlerdir.

Bor'la kompleks yapan myo-inositol, pinitol, arabitol, xylitol ve quebrachitol'dür. Çevresel faktörler ve fenolojik karakterler bitkilerde polyol oluşumunu etkilemektedirler (Shelp and Brown 1997). B mobil halde iken, kerevizde (*Apium graveolens*) floem öz suyunda mannitol-B-mannitol kompleks yapısında, şeftali (*Prunus persica*) çiçek nektarında sorbitol-bor-sorbitol, fruktoz-bor-fruktoz ya da sorbitol-borfruktoz kompleks yapısında bulunmaktadır (Hu *et al.* 1997). Gen aktarımı yoluyla sorbitol üretmesi (sorbital-6-fosfat dehidrogenaz geni) sağlanan pirinç ve tütün de kontrol grubuna oranla B alınınının kök ve gövde de %200 arttığı gözlenmiş ve B mobilitesi sağlanmıştır (Bellaloui *et al.* 1999; Bellaloui *et al.* 2003).

Yüksek konsantrasyonlardaki bor bitkiler dahil tüm canlı organizmalar için toksiktir. (Nable *et al.* 1997). Bor toksisitesi büyümeyi özellikle gövdede azaltır, yaprak uçlarında sararmaya sebep olur (Nable *et al.* 1997; Reid *et al.* 2004; Reid and Fitzpatrick, 2009). Bor yaşlı yapraklarda birikmeye daha çok eğilimlidir (Marschner 1995). Toksisitesi özellikle Güney Avustralya, Türkiye, Akdeniz ülkeleri, Kaliforniya, Şili 'yi de içine alan yarı kurak alanlarda önemli bir problemdir.

Ölçer ve Kocaçalışkan (2007) yüksek bor varlığının tohum çimlenmesini ve polifenol oksidaz aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Ayrıca yüksek konsantrasyonda borun hücre duvarının genişlemesini, fotosentetik pigment sentezini önlediğini ve lignin, süberin içeriğini azalttığı da belirtilmiştir (Nable *et al.* 1997; Reid 2007).

Farklı azot kaynaklarına sahip olan mercimek ve arpaya 5 ve 10 mM bor stresinin uygulandığı çalışmada büyüme ve total klorofil içeriği azalırken, MDA, H₂O₂, prolin miktarları artmıştır. SOD, GPX ve LOX aktiviteleri kök ve gövdede artarken, CAT ve APX aktiviteleri türlere göre değişiklik göstermiştir. Arpada CAT ve APX aktiviteleri artmıştır. Mercimekteki değişimler arpaya göre daha fazla olmuştur. Sonuç olarak

amonyum (NH_4^+) içeren gübreler bor stresine karşı kullanılması önerilmiştir (Tepe ve Aydemir 2011).

Bor toksisitesinin (0.2 (kontrol), 10 ve 20 mg L^{-1}) kabak (*Cucurbita pepo*) ve salatalık (*Cucumis sativus*) ta oksidatif birikimi uyardığı ve yapraklardaki nekrozlar ile birlikte yaprak büyümesini ve biyomas birikimini her iki türde de azalttığı belirlenmiştir. Klorofil_{a/b} oranı, potansiyeli (F_v/F_m), gerçek PSII (Φ_{PSII}) etkinliğini, fotosentez oranı, stoma iletkenliği, terleme miktarının azaldığı belirlenmiştir. Antioksidant enzimlerden APX, CAT, SOD ve askorbat ve glutatyon her iki türde de önemli ölçüde artış göstermiştir. Kabağın tüm bor konsantrasyonlarında salataya göre daha hassas olduğu görülmüştür (Landi *et al.* 2013).

Perlit kültüründe, soya bitkilerine uygulanan $0,1 \text{ mM}$ bor fazlalığının tohum çimlenmesini olumsuz etkilediğini, 30 günlük sürenin sonunda gövde yüksekliği bor fazlalığına bağlı olarak artarken kök uzunluğu azalmıştır. Bor fazlalığı bitki kök ve gövde taze ve kuru ağırlığını istatistiki bakımdan önemsiz derecede arttırmıştır. Fidelerin yapraklarında bor fazlalığında kontrole kıyasla IAA ve sitokinin hormonlarının arttığı, ABA miktarında ise bir değişiklik olmadığı kaydedilmiştir. Fotosentetik verimliliği çok fazla etkilemezken, yaprak protein içeriğinin düşmesine neden olduğu belirlenmiştir (Akçam Oluk ve Latif 2008).

Meyve sulaması iki farklı kaynakla ilk grup yüksek bor içeren kanal suyu ile sulanırken, ikinci grup bor bakımından normal seviyede olan bir su ile sulanmıştır. Kanal suyu ile sulanan meyve yapraklarında diğerine göre iki kat daha fazla bor olduğu, klorofilin, klorofil/karotenoid oranının, klorofil a/b oranının yaklaşık %50 oranında azaldığı belirlenmiştir. Fazla bor içeren yapraklarda çözünmüş protein miktarı ve karbohidrat içeriğinde artış olurken, prolin miktarının azaldığı belirlenmiştir. Düşük CAT ve GR aktiviteleri ve yüksek SOD aktivitesi ölçülmüştür. Genel olarak klorofil kaybına ve karbohidrat metabolizmasının inhibe olmasına neden olmuştur. Toksik oranlardaki bor serbest radikaller ve α -tokoferol oranını düşürerek hücre zarındaki lipitlere zarar vermiştir. Askorbat oranındaki artışın ise hücre iskeletini bor toksisitesine karşı koruduğu rapor edilmiştir (Keles *et al.* 2004).

Bor toksisitesinin turp üzerinde (0,5-5 mM) iyileştirilmesinde bitki koruma mekanizmasında önemli görevi olan kalsiyum (30 mM Ca^{+2}) uygulanmıştır. 30 mM Ca^{+2} yapraklarda MDA ve H_2O_2 seviyelerini düşürerek, prolin, karbohidrat ve fotosentetik pigmentlerin birikmesine sebep olmuş ve antioksidant enzimlerden SOD, CAT, POD, GR ve APX aktivitelerini arttırarak koruma sağladığı belirlenmiştir (Siddiqui *et al.* 2013).

Buğdayın dayanıklı (Anadolu) ve hassas (Hamidiye) iki çeşidinde bor toksisitesi (5 ve 10 mM borik asit) kök uzunluğunda azalmaya sebep olurken, protein, prolin ve H_2O_2 içeriğinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Kökte önemli etkisi gözlenmezken gövde de MDA ve elektron kaçakları artmıştır. Hassas olan türün yapraklarında doza bağlı olarak zarın yapısı bozulmuştur. Her iki arpa çeşidinde de gövde de 10 mM borik asitte SOD, CAT, GR aktiviteleri değişiklik göstermezken, APX aktivitesinde artış olmuştur. Hassas olan türün kökünde ise total SOD ve CAT artarken, GR aktivitesi azalış göstermiştir. Dirençli türde ise APX azalırken CAT aktivitesi artmıştır. Ancak total SOD ve GR aktivitesinde değişiklik olmamıştır. Bor toksistesinin membran zararına neden olduğunu, ROT ve antioksidant enzim aktivitelerinin bor tolerans mekanizmasında önemli bir faktör olmadığını belirtmişlerdir (Karabal *et al.* 2003).

6.4 mm B uygulaması kuraklığa duyarlı Küsmen çeşidinde gövde uzunluğunu azaltırken, kuraklığa toleranslı Gökçe çeşidinde arttırmıştır. Ancak 1.6 mm B uygulamasında her iki çeşitte de önemli değişiklikler gözlenmemiştir. 6.4 mm B her iki çeşitte de kuru ağırlığı azaltmıştır. Gökçe çeşidinde klorofil floresansı (Fv/Fm) B uygulamaları ile değişmemiştir. Küsmende 1.6 mm B değiştirmezken, 6.4 mm B Fv/Fm oranını Küsmen de azaltmıştır. Artan B uygulamaları ile her iki çeşitte de gövde de B konsantrasyonları artmıştır. Tüm uygulamalarda SOD artmıştır. Gövde de ikisi MnSOD ve Cu/ ZnSOD olarak belirlenen 5 aktif bant gözlenmiştir. 1.6 mm B uygulamasında APX ve SOD hariç diğer tüm enzim (CAT, POD, GR) aktiviteleri azalmıştır. Küsmen de 6.4 mm B uygulaması ile CAT, POD ve APX aktiviteleri değişmezken GR aktivitesi azalmıştır. Gökçede ise B uygulamaları ile CAT, APX ve SOD artmıştır. Küsmen de lipid peroksidasyonu Gökçeden fazla bulunmuştur. B

stresine karşı Gökçe tolerant Küsmenin ise hassas olduğu, Gökçenin dirençli olma kapasitesinin total SOD, CAT ve APX aktivitelerinin artışıyla ilgili olabileceği belirtilmiştir (Ardıç *et al.* 2009).

B toksisitesine maruz bırakılan genç *Schizolobium parahyba* bitkilerinde H_2O_2 , elektrolit sızıntısı, amino asit ve prolin de artışlar olurken glutatyon, klorofil a, klorofil b ve total klorofil oranları azaldığı belirlenmiştir. B toksisitesine tolerans mekanizmasında glutatyonun aktif rol almadığı belirtilmiştir (Silva *et al.* 2016).

Bora dirençli arpaya (Anadolu) 10 mM borik asit uygulanmış ve Anadolu genotipinin proteom haritaları karşılaştırılmıştır. Tanımlanan on tane protein içinde, bora karşı dirençli arpa genotipinin bor toleransını sağladığı düşünülen koful proton-translokasyon ATPaz (V-ATPaz) alt birim E proteini en önemli olanıdır. V-ATPaz alt birim E protein sayesinde hücre içindeki fazla miktardaki borun hücrenin kofulunda biriktirildiği gösterilmiştir (Atik 2007).

Bor içeriği 0.40 mg kg^{-1} olan iki farklı lokasyonda iki değişik mısır varyetesi 0, 1.5 ve 2.5 kg B/ha dozlarında bor uygulayarak yürütülen tarla denemelerinde Suwan White varyetesinin tane veriminde kontrole göre sırasıyla % 15.6 ve 29.7, Lakshmi varyetesinin tane veriminde ise % 17.0 ve % 7.8 oranlarında artış olduğu bildirilmişlerdir (Sakal and Singh 1995).

8 adet mısır varyetesinin bor toksisitesine dayanıklılıkları bakımından yüksekten düşüğe doğru Helix, Riogrande, Furio, Poker, Sele, Missouri, DK 743, Betor şeklinde sıralandırılmış ve yüksek bora duyarlılıkları düşük olan (dayanıklı) çeşitlerin yüksek olan (hassas) çeşitlere göre daha fazla bor içerdikleri belirlenmiştir (Günes vd 2000).

Bor etkisinin buğday çeşitlerine (Fang 60 ve SW 41) etkilerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada, polen canlılığının bor konsantrasyonu arttıkça sürekli azaldığı ve bu azalmanın SW 41 çeşidinde %47'ye kadar ulaştığı tespit edilmiştir. Ancak Fang 60 çeşidi fazla etkilenmemiştir. Bor konsantrasyonu başakta FANG 60 çeşidinde (6.8

mg/kg) SW 41 çeşidine göre (3.8 mg/kg) iki kat daha fazla olmuştur. Bu sonuçlara göre Fang 60 çeşidinin daha toleranslı bir çeşit olduğu tespit edilmiştir (Nachiangmai *et al.* 2004).

Buğday bitkilerine yüksek bor uygulaması kök büyümesini yavaşlatmış aynı bitkilerin yaprakları ise toksisitenin etkisi ile bozunmaya uğramışlardır. Fakat yaprakların osmotik basıncında ise bir değişiklik görülmemiştir. Buna karşın hücre aktiviteleri, protein sentezi ve hücresel prosesler yavaşlamıştır (Raid *et al.* 2004).

Dört farklı bor (0.5, 7.5, 15, 22.5 mg B L⁻¹) konsantrasyonu, sekiz pamuk çeşidine (Barut 2005, Gossipolsüz Nazilli, Gürel Bey, Nazilli 143, Nazilli 342, Nazilli 39, Nazilli-503, STN 8A) uygulanmıştır. Bor uygulama dozlarına paralel olarak, bor toksitesinden zarar görmüş yaprak sayısı, kök, gövde ve yaprak bor içeriklerinin artmasının yanında, bitkilerde taze ağırlık, kuru ağırlık, boy ve yaprak sayıları da azalmıştır. Yapılan regresyon analizi ve mevcut çeşitlerin içinde Gürel Bey ve Gossipolsüz Nazilli bor toksitesine dayanıklı, Nazilli ise hassas çeşit olarak belirlenmiştir (Harite 2008).

6 farklı patates (*Solanum tuberosum* L.) kültür çeşitlerine (V.Gogh, Resy, Sultan, Agria, Agatha, Granola) 6 farklı aşırı bor konsantrasyonu (0.05, 0.5, 2.5, 5, 12.5, 25 ve 50 mM) uygulanmıştır. Uygulanan bor miktarı artışı ile bitkilerin gövde boyunda istatistiksel önemde olmayan; gövde ve kök yaş ağırlıklarında ise anlamlı bir azalmanın olduğu saptanmıştır. Klorofil floresansına ilişkin 12.5, 25 ve 50 mM bor konsantrasyonlarının, patates kültür çeşitlerinde fotosentezi önemli ölçüde ve olumsuz yönde etkilediği bulunmuştur (Van Gogh çeşidi hariç). Total askorbat miktarları ise uygulanan bor miktarı artışı ile negatif korelasyon göstermiştir (Van Gogh'da değişim göstermezken). Çeşitler arasında oksitlenmiş glutatyon miktarı bir değişim göstermezken; Resy, Sultan, Agatha kültür çeşitlerinde 5mM ve yüksek bor konsantrasyonları indirgenmiş glutatyon miktarını arttırmıştır. Total protein içeriği, Van Gogh, Agria ve Granola çeşitlerinde, bor uygulamasıyla önemli bir değişime uğramamış; Resy ve Agatha çeşitlerinde, bor konsantrasyon artışına paralel azalma görülmüş, Sultan çeşitinde ise artmıştır. İncelenen patates çeşitlerinde, SOD ve GR

aktiviteleri, uygulanan aşırı bor konsantrasyonuna ve çeşite bağlı olarak değişik tepkiler vermiştir. CAT aktivitesi, bor konsantrasyonu artışına paralel olarak azalmış, askorbat peroksidaz aktivitesi ise artmıştır. Yapılan bor uygulamaları, tüm çeşitlerde IAA asit miktarında artışa neden olurken, ABA içeriğinin çeşit ve bor konsantrasyonu ile değişim gösterdiği saptanmıştır (Ayvaz 2009).

Kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine 5 ve 10 mM bor stresi uygulanması üzerine değişik azot kaynaklarının ve kalsiyumun etkisi incelenmiştir. Bor stresi uygulanan kırmızı mercimek bitkilerinin azot kaynaklarının değiştirilmesi sonucunda kontrol gruplarına göre APX ve CAT aktivitelerinin düştüğü ($p<0,05$) belirlenmiştir. Arpa bitkilerinin filiz ve köklerinde bor stresinde CAT, APX, SOD, guaiakol peroksidaz, lipoksigenaz aktiviteleri ile MDA, H_2O_2 , prolin de artış olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$). % Relatif büyüme hızında ve fotosentetik pigmentlerde bor stresine bağlı olarak önemli azalmalar belirlenmiştir ($p<0,05$). Kırmızı mercimek bitkisinde ki değişimler arpaya göre yüksek düzeylerde olmuştur. Ayrıca NH_4^+ azot kaynaklı örneklerde ki değişimin diğer gruplara göre daha düşük seviyede olduğu da belirlenmiştir (Tepe 2010).

İki arpa çeşidi ile *Puccinellia distans* (arpaya göre bünyesinde 10–15 kat daha fazla bor biriktirebilen) bitkisine toksik seviyede bor uygulanmıştır. Arpa çeşitlerinde toksik seviyede bor uygulanmasına bağlı olarak kök ve gövde gelişiminin olumsuz yönde etkilendiği ve bitki gelişiminin gerilediği görülmüştür. *Puccinellia distans*' ta ise toksik seviyede bor uygulamasına bağlı olarak bitkide herhangi bir gelişme geriliği ve toksisite belirtisi görülmemiştir. Bitkilerin bor konsantrasyonları bor uygulamasına bağlı olarak artış göstermiş, fakat *Puccinellia distans* bitkisindeki artış oranı arpa çeşitlerindeki kadar yüksek olmamıştır. Prolin miktarları arpa çeşitlerinde artış gösterirken *Puccinellia distans* bitkisinde azalma göstermiştir (Keskin 2010).

Bor toksisitesi *Zea mays* L. (mısır) bitkisine uygulanmış, yaprakta morfolojik bozukluklar, yaş ve kuru ağırlıklarda azalma, kök ve gövde boyunda kısalmalar, terleme miktarında azalma ve çimlenme yüzdesi düşerken, total protein miktarı, yaprak nispi

nem içeriği artmış ve SOD ve APX enzimlerinde önce artış daha sonra azalış, CAT aktivitesinde ise azalma gözlenmiştir (Ozel 2011).

Taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin B toksisitesine toleranslarının araştırıldığı çalışmada yaprak ve köklerin yaş-kuru ağırlıkları, yaprak alanları, yaprak oransal su kapsamı ve toplam klorofil miktarları azalmış, turgor kaybı değerleri ise artmıştır. Ayrıca, APX ve GR aktiviteleri her iki denemede de artan B konsantrasyonuna paralel olarak artmış, CAT aktivitesi ise azalmıştır. Yapraklardaki enzim aktivitesinin köklerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bitki bünyesinde biriken B konsantrasyon değerlerinin artan B konsantrasyonu ile her iki denemede de arttığı, yapraklarda biriken bor miktarının, köklerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Mevcut genotipler arasında Şeker Fasulye genotipinin B toksisitesine tolerant olduğu, Yerel Genotip'in ise nispeten daha hassas olduğu ortaya konmuştur (Akoğlu 2013).

Farklı bor içeriklerine sahip sulama suyu (0.6–1.8–5.4–16.2 mg l⁻¹) ve humik maddenin (0–20–40 kg da⁻¹) pamuk bitkisinin (*Gossypium hirsutum* L.) gelişimi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, artan miktarlarda bor uygulamaları, toprak yarıyışlı bor içeriğinin toksik seviyeye ulaşmasına ve bitkide bor toksisite belirtilerinin oluşmasına neden olduğu belirlenmiştir. Sulama suyunda bor toksisite sınırının pamuk bitkisi için 1.8-5.4 mg B l⁻¹ arasında kaldığı belirtilmiştir. Bitkide bor birikiminin özellikle yaprakta ve generatif organlarda olduğu tespit edilmiştir (Kaptan 2013).

T. spelta genotipinin bor toksisitesine karşı dayanıklılığı test edildiği çalışmada bor uygulamaları ile *T. spelta* genotiplerinin bazılarının veriminde azalmalar olurken, bazılarında ise artışların olduğu ve genotipler arasında ortaya çıkan bu artış ve azalışların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür (P<0.01). Bunun yanında B uygulaması ile kuru madde verimliliğinde artış meydana gelen genotiplerin kuru madde veriminde düşüş olanlara göre yeşil aksamalarına daha az B aldığı görülmüştür. Bitki türleri arasında olduğu gibi, aynı türün çeşitleri arasında da bor toksisitesine duyarlılık ve dayanıklılıkta büyük farkların olduğu rapor edilmiştir (Gence 2015).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda borun toksisitesine karşı birçok iyileştirici madde verilmiştir. Bu maddelerden en dikkati çeken buğday bitkisine silikon uygulamasıdır. Silikonun biyotik ve abiyotik stres şartlarında birkaç tohumda tolerans gücünü arttırdığı yeni fark edilmiştir (Epstein 1999; Ma, 2004). Buğdayda bor toksisitesine karşı uygulanan 5 mM ve 10 mM silikonun MDA içeriğini ve antioksidan enzimlerin aktivitesini azalttığı ve büyüme üzerine olumsuz etkisini yendiği belirlenmiştir (Gunes *et al.* 2007).

Bor toksisitesine toleraslı olan ekmeklik ve duyarlı olan makarnalık buğday fidelerinde bor stresine karşı fosforun olası antagonistik etkinliği incelenmiştir. Ekmeklik ve makarnalık buğday fidelerinin boy uzunluklarında ve oransal su içeriklerinde uygulanan fosfor konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli bir değişikliğin olmadığı, makarnalık buğday fidelerinde kuru madde miktarının azaldığı, ekmeklik buğday fidelerinde ise 80 mg kg⁻¹ P konsantrasyonunda kuru maddenin arttığı tespit edilmiştir. Uygulanan belirli bor konsantrasyonları ile ekmeklik ve makarnalık buğday fidelerindeki glikoz ve fruktoz miktarının arttığı, ancak uygulanan tüm fosfor konsantrasyonları ile azaldığını gösteren sonuçlar bor toksisitesinin fosfor uygulamaları ile giderilebileceğini göstermektedir (Alicı ve Öncel 2008).

Domateste bor ve 3 çinko (Zn) konsantrasyonlarının etkisinin araştırıldığı çalışmada, bor uygulamasının 10 ve 20 mg kg⁻¹ düzeylerinde bor toksisitesi semptomları ortaya çıkmıştır. Uygulanan Zn görülen bu semptomların kısmen azalmasına neden olmuştur. Bor bitkinin yaş ve kuru ağırlığını belirgin bir şekilde azaltmıştır. Borun gelişme üzerindeki bu olumsuz etkisi Zn uygulamasıyla kısmen giderilmiştir. Zn uygulamasının olmadığı şartlarda borun artan düzeylerine bağlı olarak bitki dokularının bor konsantrasyonları artmıştır. Çinko ve bor uygulamaları bitkinin Zn konsantrasyonunun artmasına sebep olmuştur (Gunes *et al.* 1998).

Bor elementi ve niasinin eksikliği ve fazlalığının havuç bitkisinin (*Daucus carota* L. cv. Nantes) büyümesi üzerine ayrı ayrı ve birlikte etkisi araştırılmıştır. Bor eksikliğinin kökte uzamayı sağlamasına karşılık, bitkinin pigment miktarı ve gövde boyunda azalmaya yol açtığı; bor ve niasin fazlalığının ise kök boyunda bir azalma meydana

getirmekle beraber, bitkinin pigment miktarı ve özellikle gövde boyunda bir artış sağladığı belirlenmiştir. Havuç bitkisi bor ve niasini eşit oranda fazla içeren ortamlarda yetiştirildiğinde, kök ve gövde boyunun birbirine eşit olduğu ve IAA, pigment miktarı ve karotenoid miktarının da kontrol bitkisine oranla arttığı saptanmıştır. Niasinin (nikotinik asit) havuç bitkisinin bor toksisitesine karşı kullanılabileceği belirtilmiştir (Demiray ve Dereboylu 2005).

B toksisitesi (250- 600 µg/ml) mung bean de (*Phaseolus aureus* Roxb.) klorozis ve nekroza ilaveten büyüme parametrelerini azaltmıştır. Protein (%25) ve transpirasyon oranı (%50) azalmış ancak MDA (%52), lipoksigenaz aktivitesi (%68) ve prolin (%90) artmıştır. B stresine karşı salisilik asit ve silikon uygulamaları ise protein miktarı, transpirasyon oranı ve lipoksigenaz aktivitesini kontrol seviyesinde korurken, prolin miktarı ve MDA miktarlarını azaltmıştır. Borun yüksek konsantrasyonlarına oldukça dayanıklı olduğu belirtilen mung bean bitkisinde, B toksisitesi nitrat redüktaz (NR) ve karbonik anhidraz (CA) aktivitelerini azaltarak büyümeyi, su alımını ve fotosentetik niteliklerini azaltmıştır. Ancak lipid peroksidasyonunu, elektrolit sızıntısını, prolin kadar H₂O₂ birikimini ve çeşitli antioksidant enzimlerini arttırmıştır. B stresine karşı 28-homobrassinolide uygulaması büyümeyi, su alımı ve fotosentezi iyileştirmiş ve CAT, POD, SOD aktivitelerini ve prolin miktarlarını daha da arttırmıştır. Prolin kadar antioksidant enzimlerin artan seviyeleri iyileşen büyüme, su alımı ve fotosentetik niteliklerle sonuçlanan B stresine bitkilerin toleransı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Yusuf *et al.* 2011).

B toksisitesine toleranslı olan *Triticum aestivum* L. (cv. Kırac 66) ve duyarlı olan *Triticum durum* Desf (cv. Kunderu 1149) fidelerinde, B elementine antagonistik etki gösteren P'un farklı konsantrasyonlarının etkileri incelenmiştir. B toksisitesi altındaki *T.aestivum* ve *T. durum* fidelerinin boy uzunluklarında ve oransal su içeriklerinde uygulanan P konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli bir değişiklik bulunmamıştır. B toksisitesi altındaki *T.durum* fidelerinde azalan kuru madde miktarı uygulanan farklı P konsantrasyonlarına bağlı olarak azalmıştır. *T.aestivum* fidelerinde ise, uygulanan 80 mg/kg P konsantrasyonuna bağlı olarak kuru madde miktarı artmıştır. *T.aestivum* ve *T.durum* çeşitlerinde B miktarındaki artış, farklı P konsantrasyonlarının uygulanması ile

engellenememiştir. Glikoz miktarının *T.durum* fidelerinde 15, 30, 45 ve 60 mg/kg B ve *T. aestivum* fidelerinde de 15, 30 ve 60 mg/kg B konsantrasyonlarında arttığı, ancak her iki buğday türünde de tüm P konsantrasyonlarının uygulanması ile azaldığı tespit edilmiştir. Fruktoz miktarının *T. durum* 15 ve 60 mg/kg B ve *T. aestivum* fidelerinde 15, 30, 45 ve 60 mg/kg B konsantrasyonlarında arttığı ve uygulanan tüm P konsantrasyonlarında ise azaldığı belirlenmiştir. Farklı B konsantrasyonlarına farklı P konsantrasyonlarının uygulanması ile glikoz ve fruktoz miktarında elde edilen sonuçlar, B toksisitesinin P uygulamaları ile giderilebileceğini göstermiştir (Başalp 2005).

Arpa dokularında bor stresinin olumsuz etkilerine çok şiddetli olmamakla beraber doku kuru ve yaş ağırlıkları ile bağıl su içerikleri üzerinde gözlenmiş, stres uygulaması doku uzunluklarını değiştirmemiştir. Silisyum uygulaması doku ağırlıkları üzerinde olumlu etki göstermemiş, Gövde bağıl su içeriklerinin artmasına neden olmuştur. Normal şartlarda gerçekleştirilen silisyum uygulamasının da özellikle kök uzunluklarını artırdığı belirlenmiştir. Bor stresinin başlıca gövde dokularında neden olduğu toksisite, incelenen iyon sızıntısı, MDA ve H_2O_2 seviyeleri aracılığıyla belirgin biçimde gözlenmiştir. Gövde dokularında silisyumun stres düzeylerini azaltıcı etkileri de bir günlük stres altındaki dokularda iyon sızıntısı seviyesi dışında belirgin biçimde gözlenmiştir. Köklerde bor stresi gövde dokularına kıyasla daha düşük düzeyde olup, bu dokularda da silisyum uygulaması normal koşullarda yetişen bitkilerle kıyaslandığında stres seviyelerinin azalmasına neden olmuştur. Buğday dokularında da silisyumun gövde dokularında koruyucu etkileri gözlenmekle beraber kök dokularında bu etkiye rastlanmamıştır. İyon sızıntısı, MDA ve H_2O_2 miktarları incelendiğinde de buğdayda bor stresinin arpa dokularına kıyasla daha az şiddette gerçekleştiği belirlenmiş, bor stresinin arttırdığı iyon sızıntısı seviyeleri silisyum varlığında daha düşük seviyelere çekilmiştir. Bor stresinden önemli derecede etkilenmeyen MDA miktarları da silisyum varlığında ve hem silisyum hem de borun birarada uygulandığı durumlarda kontrol dokulara kıyasla daha düşük seviyelere gerilemiştir (Erkan 2014).

Zea mays L. (mısır) bitkisinde bor stresi ve bor stresine karşı 24-epibrassinolid (24-epiBL) uygulamasının etkisi RAPD tekniği ile araştırılmıştır. Bitki büyüme

parametrelerine göre (bitki boyu, kök boyu, bitki yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı, bitki kuru ağırlığı, kök kuru ağırlığı) kontrol, 30, 60 ve 90 ppm bor uygulamalarında 0.5 ve 1 μ M 24-epiBL uygulamasının iyileştirici etkileri gözlenirken; 120 ppm bor dozunda 24-epiBL uygulamasının iyileştirici etkisi gözlenmemiştir. Yapılan bor analizi sonucunda artan bor dozlarına bağlı olarak bitki yapraklarındaki bor miktarının arttığı belirlenmiştir. Yüksek bor dozunun (120 ve 150 ppm), bitki genomunda bir takım varyasyonlara sebep olabileceği gösterilmiştir. Mısır bitkisinde bor stresine karşı 24-epiBL'nin etkisi ilk kez çalışılmış ve artan bor toksisitesine karşı 24-epiBL'nin olumlu etkisi belirlenmiştir (Aldemir 2015).

Kükürt gübrelemesinin bor toksisitesi üzerine etkisini araştırılan çalışmada pamuk bitkisinin lif ve kalite özellikleriyle, yaprak bitki besin değerlerine olan etkileri incelenmiş olup, 5 ve 15 ppm bor dozları, pamuk üzerinde hem kükürt uygulanan hem de kükürt uygulanmayan parsellerde görülebilir toksik belirtiler oluşturmamıştır. Pamuk lif verimi ve kalite özellikleri açısından, kükürtsüz uygulamalar, kükürtlü uygulamalara tercih edilmelidir. B gübrelemesi yapılırken de 5 ppm B dozunun aşılmasına özen gösterilmesi, özellikle pamuk lif kalite özellikleri açısından önemlidir. Kükürt- bor uygulama interaksiyonu açısından ise kesin bir yargıda bulunmak güçtür. B ve S uygulamaları ve uygulama interaksiyonlarından N, P ve K, kükürt uygulamasından etkilenmemiştir. Kükürt uygulaması pamuk yapraklarının Ca, B, Mo ve Mn içeriklerinin azalmasına neden olmuştur; ancak, belirtilen mikro besin elementlerinin dışındaki mikro besin elementlerinin yapraktaki konsantrasyonları artmıştır. Bu nedenle Ca, B, Mo ve Mn içeriği yetersiz olan topraklarda yetiştirilen pamuta, kükürt uygulaması yapılırken dikkatli olmak gerekmektedir. B gübrelemesi ve kükürt-bor uygulama interaksiyonu açısından ise genel bir yargıya varılamamıştır (Kurt 2015).

Aleminyum (Al) tarafından sebep olunan iyonik stres, tarım arazilerinde phytotoksositeye sebep olan en geniş yayılım gösteren çeşididir. Önemli ölçüde ürün verimini düşürmektedir. Bor GSH metabolizmasını ve bitkilerde bulunan strese karşı temel direnç mekanizmasını uyararak Al'yi detoksifiye etmiştir. Sonuçlar net bir şekilde gösteriyor ki artan B uygulaması ve yüksek Al varlığı GSH biyosentezini uyarır ve

bitkide bulunan AOS formları ile mücadele etmede etkili bir strateji olmuştur. Tüm Al stres şartlarında, B yapraklardaki ve kökteki GSH biyosentezini uyararak fototoksisiteyi azaltır. GSH metabolizmasının aydınlatılması Al detoksifikasyonu için önemli rol oynamaktadır. Sonuç olarak B uygulamasının artışı Al toksisitesine önemli bir direnç oluşturmuştur (Ruiz *et al.* 2004).

Sistein

Sistein, içinde kükürt ihtiva eden bir amino asit olup, bir tiyol (sülfidril) grubu içerir. Tiyol grupları oksitlenme ya da indirgeme reaksiyonlarına da girebilir. Oksitlendiğinde, sistein, bir disülfid bağı ile birleştirilmiş iki sistein tortusundan oluşan sistini oluşturabilirler. Bu geri dönüşümlü reaksiyonla disülfid bağının indirgeme reaksiyonu iki sistein molekülünü yeniden yapılandırır. Sisteinin disülfid bağları pekçok protein yapısının tanımlanması için önemlidir.

L-sisteinin hücreler arasındaki metabolik yolu protein sentezini, GSH, H₂S, sistein sülfat, taurin, piruvat ve inorganik sülfürün üretimini de kapsamaktadır (Cresenzi 2003). L-sistein mineral metabolizmasını, oksidatif stresi, fizyolojik sinyal yollarını, hastalık durumuna bağlı GSH, H₂S ve taurin üretimini düzenler.

Bor toksisitesine (500 mM H₃BO₃) maruz kalan ayçiçeği bitkisinde sistein biyosentezi ve glutatyon konsantrasyonu üzerine etkileri araştırmış, sistein sentezinin, serin asetil transferaz ve O-asetil serin liyaz enzim aktivitelerinin etkilenmediği gözlenmiştir. Aksine bitkilerin yapraklarına düşük dozda uygulandığında fototoksisiteye sebep olan glutatyonun bor toksisitesine maruz kaldığında g-glutamil-sistein sentetaz ve glutatyon sentetaz aktivitelerini inhibe etmiştir. Bu çalışma bor toksisitesinde sisteinin glutatyon dönüşümünü sağlanarak stresi yendiğini gösteren ilk çalışmadır. Ayrıca dıştan uygulanan sistein ve glutatyonun bor toksisitesini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Ruiz *et al.* 2003).

Patateste 50 ve 200 μM Cd uygulaması thiobarbituric asiti, H_2O_2 ve O^{2-} anyonunun üretimini, CAT, GPX, APX, GSHPX, glutatyon redüktaz ve SOD aktivitesini önemli ölçüde arttırmıştır. Cd stresi köklerde 500 μM N-asetil-L-sisteindeki (NAC) uygulaması ile thiobarbituric asiti içeriğini, H_2O_2 ve O^{2-} üretimini azaltmış, sistein ve indirgen GSH, fitokelatinlerin ve GSH-Px'in aktivitesini artırmıştır. Bu sonuçlar gösteriyor ki NAC bitkileri oksidatif stres hasarından korumuş olup, bu korumanın GSH biyosentezinin artmasıyla meydana gelmiştir. NAC uygulaması patates köklerinde bulunan protein tiyol içeriğini artırmıştır. Boyut dışlama kromatografisi kullanılarak Cd bağlı proteinlerin biyosentezinin artması boyunca NAC'ın tutulumu artmıştır (Deng *et al.* 2010).

O-Asetil serin tiyol liyaz (OASTL) sisteini sülfid ve O-asetilserine dönüşümünü katalizleyerek bitki sülfür metabolizmasında anahtar enzimdir. Sistein biyosentezi sülfür miktarının ayarlanmasında, glutatyon üretiminin sınırlandırılmasında, tiyol içeren grupların fonksiyonlarında, sülfür taşınmasında, gen ekspresyonunda, ROSların temizlenmesinde ve biyotik ve abiyotik koşullara direnç sağlamada önemli görevleri vardır. Artan sistein miktarına bağlı olarak hücresel cevapların araştırıldığı transgenik tütün bitkisindeki çalışmada tiyol seviyelerindeki diferansiyel değişimler ve ROS'ların süpürülmesi ile ilgili enzimler buğdaya ekspres edildi (OASTL geni, *sistein1*, SO_2 ROS generator, methyl viologen). Hücre içi Sistein ve GSH içeriği *sistein1* transgeniklerinde normal büyüme şartlarında kontrole kıyasla daha yüksektir. Fakat SO_2 miktarındaki artışın sonrasında bu gelişme meydana gelmiştir. Transgenik bitkilerdeki ROS süpürülme sistemindeki farklılıklarının araştırıldığı çalışmada spesifik Cu/Zn SOD'un biriktiği gözlemlenmiştir. Bu birikmeye sebebin ise Sistein ve GSH'tır. Yoğun SO_2 varlığına cevap olarak hem yaprak hem de fotooksidatif hasar meydana getirmiştir. OASTL'nin oksidatif strese bitkinin cevabını düzenlemekte gerekli olan Sistein ve GSH sentezinde önemli rol oynamıştır (Youssefian *et al.* 2001).

Pamelo tohumlarının bor yokluğunda yapraklarında CO_2 asimilasyonu, klorofil içeriği, fotosentetik enzim aktiviteleri önemli ölçüde azalma göstermiştir. B eksik olan grupta yapraklarda nişasta birikimi gözlenirken, toksik olan grupta gözlenmemiştir. Borun az

olduğu gruplarda fazla olan gruplara kıyasla F_v/F_m , F_v , oksijen içeren kompleksi daha az azalma göstermesine karşı minimum ışıma (F_0) ise bor azlığında daha az artış göstermiştir. Bor eksikliği olan bitki yaprakları ile toksik olanlar benzer antioksidant enzim aktivitesi, yüksek AsA ve indirgen GSH içeriği göstermiştir. Bor toksisitesinin de Tiyoarbitürik asit içeriği bor yokluğuna kıyasla daha fazla artmıştır. Böylece bor yokluğunda ROT'ların süpürülme yeteneği fazla olduğundan yaprakların daha az zarar gördüğü gözlenmiştir. Fotosistem II de yer alan verici (OEC) ve akseptör kısmının ikisi de bor yokluğunda toksisitesine göre daha az fotoinhibisyona uğramıştır. Bor yokluğunda CO_2 asimilasyonunda ve klorofil içeriğindeki büyük azalış yapraklarda nişasta birikmesine sebep olmuştur. Bor toksisitesindeki CO_2 asimilasyonundaki azalışın sebepleri indirgenen fotosentetik enzim aktiviteleri ve elektron taşıma kapasitesindeki bozulmadır (Han *et al.* 2008).

Eksojen uygulanan Sistein'nin Tuz stresi (125 mmol l⁻¹ NaCl) altında bulunan arpa tohumlarında kök uzaması, koleoptil büyümesini, düşen amilaz aktivitesi Sistein uygulaması yenilmiştir. İzozim profili tuz stresinin inhibe ettiği amilaz aktivitesini sisteinin hafiflettiğini göstermiştir. Tuz stresi altında ROT üretimi önemli ölçüde yükselmiştir. Lipit peroksidasyon seviyesindeki değişim ve DNA hasarı yüksek ROT miktarı ile uyumuştur. Sistein tuzdan kaynaklı ROT üretimini önemli ölçüde azaltmış, membranlardaki oksidatif hasarı ve genetik materyale verilen zararı hafifletmiştir. Sistein'nin hafifletici olarak görev yapmasının sebebi kendisinin sahip olduğu antioksidant özellikleridir. Çünkü Sistein enzimatik ve enzimatik olmayan sisteme etkisinden ziyade kendi antioksidant yapısından kaynaklı özelliği ile ROS seviyesini düşürmüştür. Sistein'nin kök ve koleoptildeki stresi azalttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar izoenzim aktiviteleri ile desteklenmiştir. Sistein uygulaması antioksidant sistemi harekete geçirerek ROT'ları süpürme özelliği göstermiştir. Bu çalışma Sistein'nin büyüme inhibisyonunu önlediğini, arpa tohumlarındaki oksidatif hasarı ortadan kaldırmasını hücrenin redoks durumunu kendi antioksidant özelliğini kullanarak hafiflettiği belirtilmiştir (Genisel *et al.* 2014).

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Buzdolabı	: Arçelik
Derin dondurucu (-20°C)	: Arçelik
Derin dondurucu (-80°C)	: NUAIRE
Elektroforez	: BIORAD
Hassas terazi	: Shimadzu AY220
Karıştırıcı	: Fisons Whirlimixer
Manyetik karıştırıcı	: Chiltern HS31
Masa santrifüjü	: Hettich EBA 21
Otomatik pipetler	: Ependhof, Axigen
pH metre	: Seven Compact
Soğuk su banyosu	: Huber Polystat CC1
Kuru blok inkübatör	: Allsheng
Sıcak su banyosu	: WiseBath Fuzzy Control System
Soğutmalı santrifüj	: Hettich Micro 22 R
Spektrofotometre	: Shimadzu UVmini-1240

3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları

Çalışmada kullanılan çözeltilerin kullanıldığı yerler ve hazırlanış şekilleri aşağıda vurgulanmıştır. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Sigma ve Sigma-Aldrich şirketlerinden temin edilmiştir.

1) 0.1 M KH_2PO_4 (pH: 6.75) (Protein tayini için): 3.4 gr KH_2PO_4 200 ml saf suda çözündükten sonra, 1 N NaOH kullanılarak pH 6.5'e ayarlanıp hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

- 2) BCA reaktifi (protein tayini için): 15 ml Bicionchonic asit 0.3 ml CuSO₄ ile homojen bir şekilde karıştırılır.
- 3) 0.1 M KH₂PO₄ (pH: 6.75), %1 PVP, 1 mM EDTA (antioksidan enzimlerin homojenizasyon tamponu): 3.4 gr KH₂PO₄ 200 ml saf suda çözülmüş, 1 N NaOH kullanılarak pH: 6.75'e ayarlanarak hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanmış olup 2.5 gr PVP ve 0.073 gr EDTA eklenmiştir.
- 4) 103.5 mM KH₂PO₄, pH: 7.5 (Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon): 1.41 gr KH₂PO₄, 70 ml saf suda çözülmüş, 1 N NaOH ile pH: 7.5'e ayarlanmış ve hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- 5) 40 mM H₂O₂ çözeltisi (Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi): 346 µl %35'lik H₂O₂ alınıp hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlanıp hazırlanmıştır.
- 6) 5 mM H₂O₂ çözeltisi (Katalaz aktivitesi ölçümünde standart grafik hazırlamak için kullanılan): 43 µl %35'luk H₂O₂ alınıp hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazır hale getirilmiştir.
- 7) 0,1 M Na₂HPO₄, pH: 5.5 (Peroksidazın aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon çözeltisi): 3.55 gr Na₂HPO₄ alınarak 200 ml saf suda çözülmüş ve pH: 5.5'e ayarlandıktan sonra hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.
- 8) Peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi (5 mM guaikol + 5 mM H₂O₂): 54 µl quaikol ve 15 µl H₂O₂'dan (d: 1.13 g/mol) 5 mM olacak şekilde 100 ml 0.1 M fosfat tamponu (pH: 5.5) içinde çözülerek hazırlanmıştır.
- 9) 50 mM KH₂PO₄ (pH: 7.8) (SOD için tampon çözelti): 1.7 gr KH₂PO₄ 200 ml saf suda çözülmüş, pH: 7.8'e ayarlandıktan sonra ve hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.
- 10) 13 mM metionin çözeltisi (SOD reaksiyon karışımı için): 0.586 gr metionin alınır, 10. maddede hazırlanmış olan 250 ml 50 mM KH₂PO₄ tamponu içerisine ilave edilerek çözülür.
- 11) 63 µM NBT-Nitroblue Tetrazolium Klorür (SOD reaksiyon karışımı için): 0.0128 gr NBT alınır, 10. maddede hazırlanmış olan 250 ml 50 mM KH₂PO₄ tamponu içerisine ilave edilerek çözünmüştür.

- 12)** 0.1 mM EDTA-Etilen Diamin Tetra Asetik asit (SOD reaksiyon karışımı için): 0.073 gr EDTA alınır, 10. maddede hazırlanmış olan 250 ml 50 mM KH_2PO_4 tamponu içerisine ilave edilerek çözünmüştür.
- 13)** 13 μM riboflavin (SOD aktivitesi için 2. çözelti): 0.019 gr riboflavin, 500 ml saf suda çözölmüş, 3 ml'lik reaksiyon karışımının 13 μM riboflavin içermesi için 390 μL riboflavin alınmıştır.
- 14)** %0.1 lik TCA-trikloroasetik asit (Lipid peroksidasyon için homojenizasyon çözeltisi) : 100 ml saf su içerisine 0.1 gr TCA ilave edilerek çözünmüştür.
- 15)** %0.5'lik TBA-tiobarbutirik asit (Lipid peroksidasyon için reaksiyon çözeltisi): 100 ml saf su içine 20 gr TCA çözöndürölmüş ve sonra içerisine %0.5 TBA ilave edilerek iyice çözönmesi sağlanır.
- 16)** Monomer (akrilamid/bis) çözeltisi (%30 akrilamid, %2.7 bis): 29.2 gr akrilamid 75 ml saf suda çözöölür, çözeltiye 0.8 gr bis katılıp çözöölür. Son hacim 100 ml'ye tamamlanır.
- 17)** 0.25 mM NADPH çözeltisi hazırlamak için (GR aktivitesi için): 0.0022 gr NADPH 10 ml saf su içersinde çözöölür.
- 18)** 1 mM oksitlenmiş glutatyon (GSSG) (GR aktivitesi için) 0.0061 gr GSSG, 10 ml saf su içersinde çözöölür.
- 19)** 0,5 mM EDTA (GR aktivitesi için) 0.0014 gr EDTA 10 ml saf su içersinde çözöölür.
- 20)** 50 mM Tris-HCl (GR aktivitesi için) 0.06 gr Tris bir miktar saf su içersinde çözöölür, sonra pH:7.8'e ayarlanır ve son hacim 10ml'ye tamamlanır.
- 21)** %5'lik TCA (homojenizasyon için) 1 gr TCA 10 ml saf su içersinde çözöölür.
- 22)** 200 mM Na_2HPO_4 (GSH içeriğı belirlemek için) 0.238 gr Na_2HPO_4 bir miktar saf su içersinde çözöölür ve pH:7.5'e ayarlanır. Son hacim 10 ml ye tamamlanır.
- 23)** 50 mM Na_2 -EDTA (GSH içeriğı belirlemek için) 0.186 gr Na_2 -EDTA 10ml saf su içersinde çözöölür.
- 24)** 2 mM β -NADPH (GSH içeriğı belirlemek için) 0.016 gr 10 ml saf su içersinde çözöölür.
- 25)** 6 mM DTNB (5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)) (GSH içeriğı belirlemek için) 0.023 gr saf su içersinde çözöölür.

- 26)** 60 mM KH_2PO_4 (süperoksit metodu için homojenizasyon çözeltisi) 0.081 gr KH_2PO_4 bir miktar suda çözülür. pH 7.8'e ayarlanır ve son hacim 10 ml'ye tamamlanır.
- 27)** 10 mM hidroksilamin (süperoksit içeriği için) 0.0069 gr hidroksilamin 10 ml saf su içerisinde çözülür.
- 28)** 17 mM sülfamid (süperoksit içeriği için) 0.029 gr sülfamid 10 ml saf suda çözülür.
- 29)** 7 mM naftilamin (süperoksit içeriği için) 0.01 gr naftilamin 10 ml saf su içerisinde çözülür.
- 30)** %3'lük sülfosalisilik asit (prolin metodu için homojenizasyon çözeltisi) 0.3 gr sülfosalisilik asit 10 ml saf su içerisinde çözülür.
- 31)** Asit ninhidrin hazırlanışı (prolin içeriği için) 1.25 gr ninhidrin 30 ml asetik asit ve 20 ml fosforik asit içerisinde çözülür.
- 32)** 2.5 N HCl (total karbohidrat içeriği için homojenizasyon çözeltisi) 35 ml için 7.25 ml HCl alınır üzeri 35 ml'ye tamamlanır.
- 33)** Antron çözeltisi için: 200 mg antron 100 ml soğuk %95'lik sülfirik asit içerisinde çözülür.

3.3. Yöntemler

3.3.1. Bitkilerin büyütülmesi

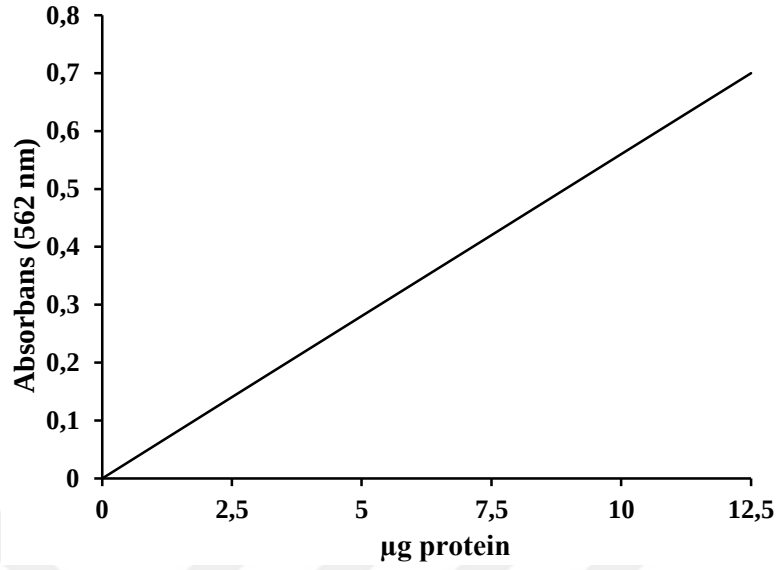
Yapılan çalışmalarda bor stresine hassas olan arpa (*Hordeum vulgare* cv. Reyhan) bitkisi kullanılmıştır. Tohumlar İran Urumiye Tarım ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Tohumlar ekilmeden önce %96'lık alkol ile kısa süre hızlıca yıkanmış ve %5'lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dk yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Daha sonra 3 kez saf su ile yıkanarak, oda şartlarında saf su içerisinde yaklaşık 5 saat şişmeye bırakılmıştır. Her petriye saf su, bor (5 mM), bor+sistein ve sistein (200 μM) ile şişirilmiş tohumlar eşit miktarda (20 tane) ekilmiştir. Bitkiler iklim dolabında kontrol şartlarında (25/20°C sıcaklık) çimlendirilmiştir. Petriler 5. günün sonunda hasat edilerek fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki değişimler belirlenmiştir.

3.3.2. Bitkilerin kök ve gövde uzunluklarının ölçülmesi

Bitkilerin kök ve gövdeleri, birleşme yerlerinden büstürü yardımı ile kesilerek uzunlukları milimetrik cetvel yardımı ile ölçüldü. Kökler ölçülürken ana kökün uzunluğu esas alındı (Bozcuk 1978). Uygulamalara ait kök ve gövdelerin uzunlukları ayrı ayrı toplanıp, bitki sayısına bölünerek ortalama kök ve gövde uzunluğu cm/bitki olarak hesaplandı.

3.3.3. Toplam çözünebilir protein miktarının belirlenmesi

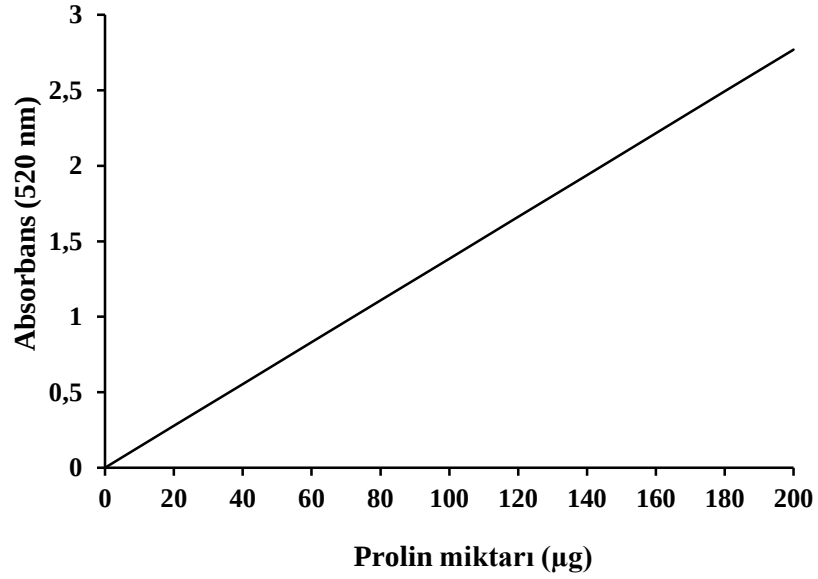
Öncelikle yapraklar (0.5 gr) sıvı azotta iyice ekstrakte edilerek 0.1 M fosfat tamponunda (pH: 6.75) havanda iyice ezilerek homojenizasyon yapıldı. Daha sonra homojenat 15.000 rpm'de 15 dk boyunca santrifüj edildi. Protein tayini için süpernatant kullanıldı. Protein miktarı spektrofotometrik olarak tayin edildi. Bu süpernatantlar ilk önce tamponla seyreltildi ve seyreltilmiş kısımdan, 20 µl alınıp, 200 µl BCA (Bicinchoninic asit+CuSO₄) reaktifiyle karıştırıldı ve karışım bir kuru blok ısıtıcı içinde 60°C'de 15 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası oda ısısına gelen örneklerin absorbansları bir mikropate spektrofotometrede 562 nm'de köre karşı okundu. Körde örnek yerine 20 µl saf su kullanıldı. Daha sonra, gerekli hesaplamalar standart grafik üzerinden yapılarak protein miktarları µg protein/gr doku olarak tayin edildi. Örneklerdeki protein miktarını hesaplamak için gerekli standart grafik şu şekilde hazırlandı; 1 ml'sinde 1 mg saf protein içeren standart sığır albümin (BSA) çözeltisinden 0, 2.5, 5, 7.5, 10 ve 12.5 µg protein içeren hacimler mikropatadaki bölümlere yüklendi ve bütün tüplerin hacimleri saf su ile 20 µl'ye tamamlandı. Bu tüplerin her birine 200 µl BCA reaktifi ilave edilip karıştırıldı. Kör numune yerine 200 µl BCA reaktifi ve 20 µl saf su kullanıldı. Hazırlanan plate 60°C'de 15 dk inkübe edildi ve sonra platteki örneklerin absorbansları 562 nm'de köre karşı okundu. Yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda, 562 nm'deki absorbans değerlerine karşılık gelen protein miktarları kullanılarak bir standart grafik elde edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Protein tayini için kullanılan standart grafik

3.3.4. Prolin miktarının belirlenmesi

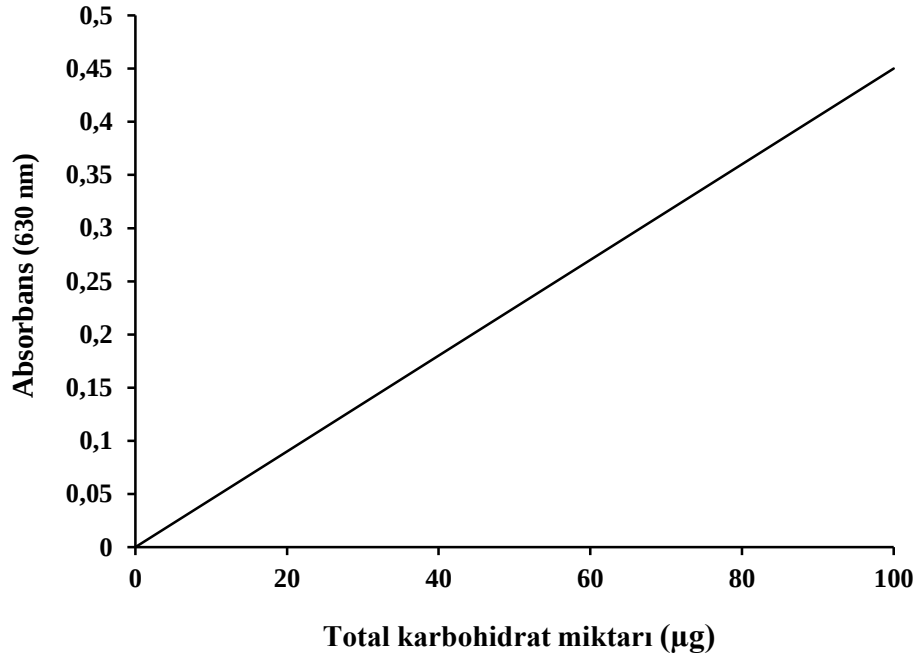
Prolin miktarı Bates vd (1973)'nin yöntemine göre belirlenmiş olup taze yapraklardan alınan 0.5 gr doku örnekleri 7.5 ml %3'lük sülfosalisilik asit içerisinde homojenize edildikten sonra homojenatlar 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Daha sonra süpernatanttan 2 ml alınarak üzerine 1 ml glasiyal asetik asit ve 1 ml asit ninhidrin eklenerek, karışımı iktiva eden tüpler 100°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüpler soğuk su banyosuna alınarak reaksiyon durduruldu. Tüplerin üzerine 4 ml toluen eklenerek vorteksle karıştırılır ve bir müddet beklendikten sonra üst faz alınarak 520 nm'deki absorbansı belirlenir. Kör numune olarak toluen kullanıldı. Prolin miktarı standart grafikten (Şekil 3.2) gram dokudaki µg cinsinden hesaplandı ve sunuldu.



Şekil 3.2. Prolin içeriğini belirlemede kullanılan standart grafik

3.3.5. Total karbohidrat içeriğinin belirlenmesi

Total karbohidrat içeriği Dische (1962) tarafından sunulan metotta küçük modifikasyonlar yapılarak belirlendi. Homojenize edilen buğday bitkisinin yapraklarından alınan 0.1 gr doku örnekleri 5 ml 2.5 N soğuk HCl içerisinde ezme işlemine tabi tutuldu. Homojenatlar 3 saat 100°C sıcak suda bekletildikten sonra soğuk su banyosunda soğutuldu. Üzerlerine reaksiyon duruncaya kadar katı Na_2CO_3 eklendi. Reaksiyon durunca üzerleri 45 ml saf su ile 50 ml'ye tamamlandı ve 15.000 rpm'de 15 dk. santrifüj edildi. Santrifüjden sonra 1 ml süpernatant alınarak üzerine Antron çözeltisi ilave edilerek tekrar soğuk suya konulan örnekler 630 nm'de absorbans değişimleri kaydedildi. Total karbonhidrat içeriği standart grafikten (Şekil 3.3) gram dokudaki μg cinsinden hesaplandı ve sunuldu.

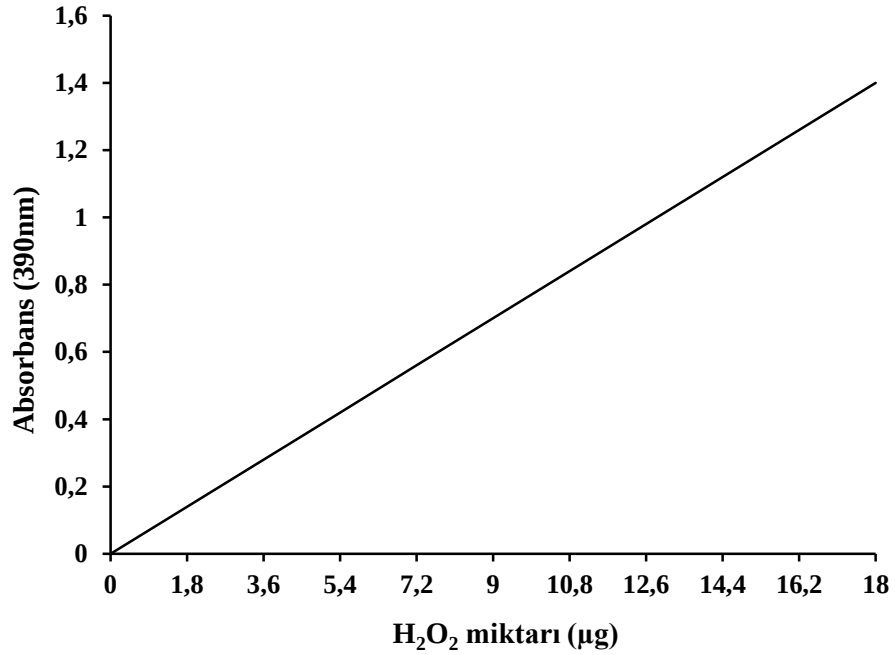


Şekil 3.3. Total karbohidrat içeriğinin belirlenmesinde kullanılan standart grafik

3.3.6. Hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarının belirlenmesi

0,4 gram bitki dokusu alınarak 4 ml soğuk %0.1 TCA içinde homojenize edildikten sonra homojenat 13.800 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Sonra elde edilen süpernatantın 0.5 ml'sine 0.5 ml 10 mM KH_2PO_4 (pH: 7.0) tamponundan ve 1 ml KI çözeltisi eklenerek absorbans değerleri 390 nm'de ölçüm yapıldı. Sonuçlar standart grafiklerle oranlanarak gr doku başına düşen H_2O_2 miktarı ($\mu g \cdot gr^{-1}$ doku) olarak hesaplandı (Velikova *et al.* 2000).

Standart grafiği hazırlamak için, H_2O_2 çözeltisinden ependorf tüplerine sırasıyla; 1.8, 3.6, 5.4, 7.2, 9, 10.8, 12.6, 14.4, 16.2 ve 18 μg H_2O_2 olacak şekilde hesaplanarak eklendi. Tüpün hacmi 1 ml olacak şekilde 10 mM KH_2PO_4 (pH: 7.0) tamponu ile tamamlandı. Daha sonra her tüpe 1 ml KI eklendi. Absorbans değerleri 390 nm'de köre karşı okundu. Absorbans değerlerine karşılık gelen mikrogram H_2O_2 değerleri kullanarak standart grafik elde edildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik

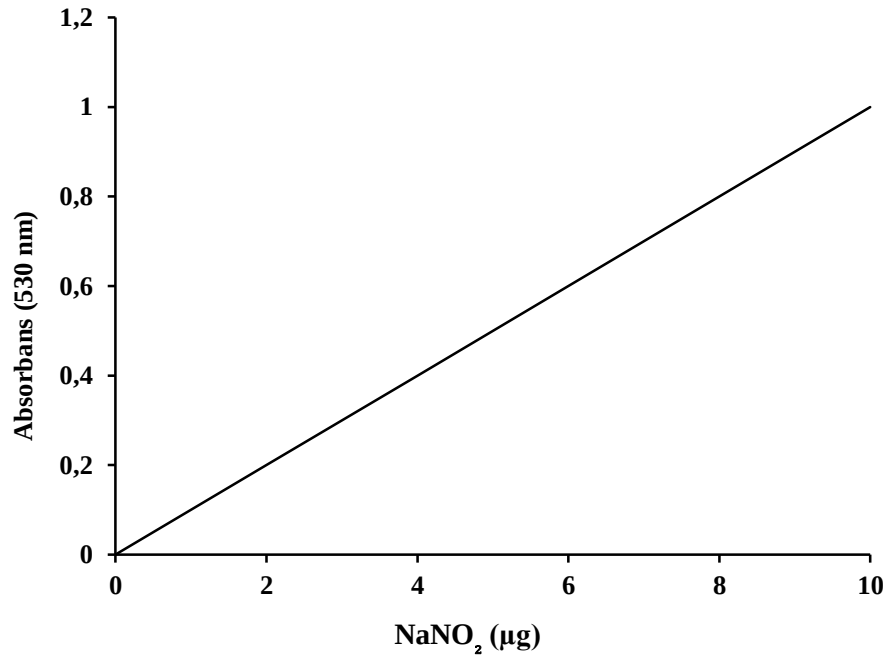
3.3.7. Hidroksil iyonu (OH⁻) içeriğinin belirlenmesi

Hidroksil radikali Scehinella (2002) tarafından önerilen metoda göre belirlenmiştir. 0.4 gr bitki dokuları 60 dakika boyunca 37°C’de 20µM FeCl₃, 1,4 mM H₂O₂, 2,8 mM deoksiriboz, 100µM EDTA, 100 µM askorbat, 10 mM KH₂PO₄-KOH çözeltileriyle son hacim 1 ml olmak şartıyla inkübe edilmiştir. Öncelikle FeCl₃, H₂O₂ ve askorbat hızlı bir şekilde hazırlanır. TBA metodu kullanılarak OH radikali ölçülür. DMSO pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.3.8. Süperoksit anyonu (O₂⁻) içeriğinin belirlenmesi

Elstner ve Heupel (1976) tarafından önerilen metoda göre belirlenmiş olup, bitki yapraklarından 0.4 gr alınarak 2 ml 60 mM potasyum fosfat tamponunda (pH: 7.8) homojenize edildi. Homojenat 12 dakika 12500 rpm’de santrifüj edildikten sonra süpernatanttan 0.5 ml alınarak üzerine 0.5 ml 60 mM potasyum fosfat (pH: 7.8) tamponundan ilave edildi. Daha sonra karışıma 0.1 ml 10 mM hidroksilamin hidroklorid

eklenerek karıştırıldı. Karışım 1 saat 25°C’de inkübe edildikten sonra üzerine 1 ml 17 mM sülfonamid ve 1 ml 7 mM α -naftilamin eklenerek oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Daha sonra 530 nm’de spesifik absorbands değerleri belirlendi. Süperoksit anyonu içeriğini hesaplamak için NaNO_2 kullanılarak standart grafik hazırlandı (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Süperoksit anyon ($\text{O}_2^{\bullet-}$) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik

3.3.9. Lipid peroksidasyon miktarının belirlenmesi

Lipid peroksidasyonun (MDA olarak) belirlenmesi Velikova vd 2000 metoduna göre belirlendi. 0.4 gr öğütülmüş bitki dokuları alınarak 4 ml %0.1’lik TCA içinde homojenize edilerek homojenat 13.800 rpm’de 30 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmından 1 ml alınarak üzerine 1 ml %0.5’lik TBA çözeltisi eklendi. Reaksiyon karışımı kaynar suda 30 dakika inkübe edildi ve reaksiyon, tüplerin buz banyosuna alınmasıyla durduruldu. Numuneler 12.000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı alındı ve 532 nm absorbands değeri ile 600 nm deki non-spesifik absorbsiyon için absorbands değeri okundu.

Lipid peroksidasyonun hesaplanması için; 532 nm’de ölçülen absorbans değerinden 600 nm’de belirlenen değeri çıkarıldı ve 1 ml çözeltideki MDA (nmol/ μ l): $[(A_{532}-A_{600})/155000] \times 10^6$ formülüyle hesaplandı. Sonuçlar MDA (nmol. gr^{-1} doku) şeklinde verildi (Heath and Packer 1968; Jaleel *et al.* 2007).

3.3.10. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Kök ve gövdeden alınan 0.5 gr doku önce bir porselen havan içinde sıvı azotta iyice ekstrakte edildi ve un haline gelen ekstrakt 5 ml 0.1 M KH_2PO_4 (pH: 6.75), %1 PVP, 1 mM EDTA tamponu içinde homojenize edildi. Daha sonra homojenat 15.000 rpm’de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısım dikkatlice alınarak çalışmalarda enzim kaynağı olarak kullanıldı. Bütün işlemler $+4^\circ C$ ’de gerçekleştirildi.

3.3.10.a. Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi

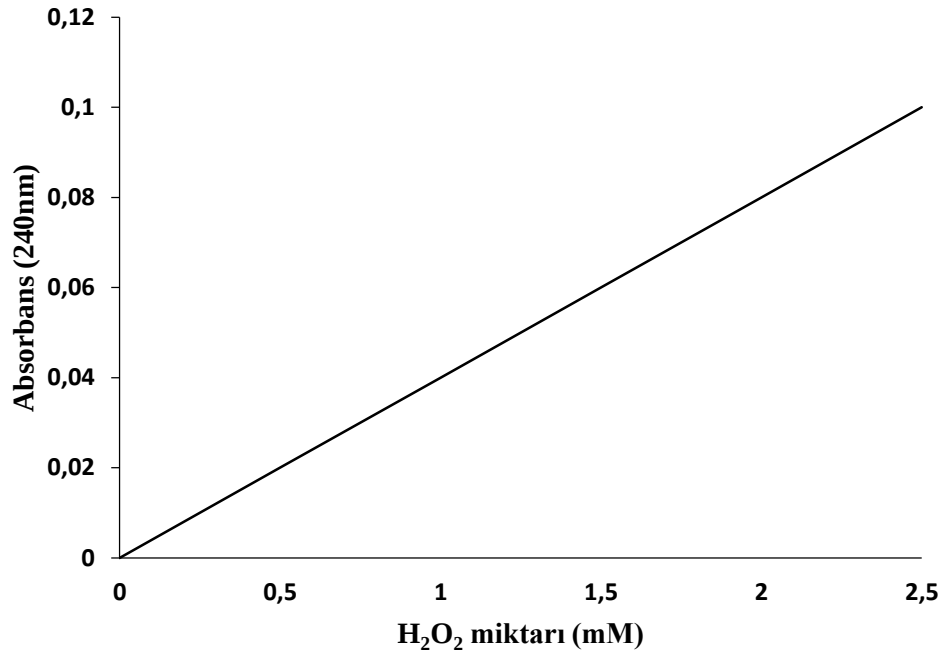
Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi, nitro blue tetrazoliumun (NBT) süperoksit radikalleri ile mavi renkli formazona fotokimyasal indirgenmesi reaksiyonunun SOD enzimi tarafından engellenmesinin spektrofotometrik olarak belirleme temeline dayanır (Agarval and Pandey 2004; Yordanova *et al.* 2004).

Reaksiyon karışımında (3 ml); 50 mM KH_2PO_4 (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 63 μ M NBT, 13 μ M riboflavin ve 0.1 mM EDTA bulunmaktadır.. Aktivite ölçümü için 3 ml spektrofotometre küvetine yukarıdaki riboflavin içermeyen reaksiyon karışımından 2.58 ml alınıp üzerine 30 μ l enzim ekstraktı ilave edildi. Reaksiyon, tüp üzerine 13 μ M’lık riboflavin çözeltisinden 390 μ l pipetlenip karıştırıldıktan sonra, beyaz bir ışık kaynağı önüne yerleştirmek suretiyle başlatıldı. Tüp, ışık kaynağının karşısında 15 dk bırakıldı ve reaksiyon ışık kaynağının kapatılmasıyla durduruldu. 15 dk içerisinde NBT’nin renk açılma yoğunluğu 560 nm’de köre karşı okundu. Kör; aynı işlemin enzimsiz örneğinden oluşturuldu. SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm’de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edildi ve değerler $U.mg^{-1}$ protein olarak sunuldu.

3.3.10.b. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi

Katalazın (CAT) aktivite tayini için Gong vd (2001) tarafından önerilen metot kullanıldı. Bu metot, katalazın ortamdaki H_2O_2 'nin oksijen ve suya dönüşümü esnasında meydana gelen absorbans değişiminin 240 nm'de izlenmesi esasına dayanır.

Öncelikle reaksiyonda düşen H_2O_2 miktarını belirlemek için standart grafik hazırlandı (Şekil 3.4). Standart grafik hazırlamak için, 5 mM H_2O_2 çözeltisinden 3 ml'lik spektrofotometre tüplerine sırasıyla; 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 ve 1.5 ml konuldu ve tüplerin hacimleri saf su ile 1.5 ml'ye tamamlandıktan sonra her tüpe 1.47 ml 103.5 mM KH_2PO_4 ve 30 μ l su ilave edildi. Hazırlanan karışımın absorbansı spektrofotometrede 240 nm'de köre karşı okunup, absorbans değerlerine karşılık gelen μ M H_2O_2 değerleri kullanarak standart grafik elde edildi. Aktivite ölçümü için 3 ml'lik spektrofotometre küvetine, 103 mM KH_2PO_4 tamponundan 1.475 ml ve 40 mM'lık H_2O_2 substrat çözeltisinden 1.5 ml eklendikten sonra, 25 μ l enzim ekstraktı ilave edildi. Spektrofotometrede 240 nm'de 3 dakika boyunca 1 dakika aralıklarla köre karşı absorbansı okundu. Bu ortalama absorbans değerleri, standart grafik (Şekil 3.6) yardımıyla mM cinsinden H_2O_2 miktarına dönüştürüldü. 25°C'de, 1 dakika içinde, absorbansı 1 μ mol azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edildi ve sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi ($U \cdot mg^{-1}$ protein) olarak kabul edildi.



Şekil 3.6. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik

3.3.10.c. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz (POD) aktivite tayini, guaikol ve H₂O₂'nin substrat olduğu reaksiyonun ürünü olan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbans artışının 470 nm'de izlenmesi esasına dayanır.

Aktivite ölçümü için spektrofotometre küvetine; 5 mM guaikol ve 5 mM H₂O₂ içeren 0.1 M'lık NaH₂PO₄ (pH: 5.5) substrat çözeltisinden 3 ml konulduktan sonra, üzerine 10 µl enzim ekstraktı eklendi. 470 nm'de 5 dakika boyunca absorbans artışı 1 dakika lık sürelerle kaydedildi ve absorbansın doğrusal olarak arttığı kısımdaki absorbans artışı 1 dakikaya oranlandı. 25°C'de 1 dakikada absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edildi ve sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi (U.mg⁻¹ protein) olarak sunuldu (Yee *et al.* 2002).

3.3.10.d. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini

Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm’de absorbansdaki azalışa bağı olarak belirlendi (Nakano and Asada 1981). Enzim aktivitesi, 50 mM Potasyum fosfat tamponu (pH: 7.0), 250 μ M askorbik asit (ASA), 5 mM H₂O₂ ve 100 μ l enzim ekstraktı içeren 3.1 ml’lik reaksiyon karışımının ölçülmesiyle belirlendi. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm’de ASA için 2.8 mM⁻¹cm⁻¹ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı. Sonuçlar U.mg⁻¹ protein olarak ifade edildi.

3.3.11. Enzimatik olmayan antioksidanların içeriklerinin belirlenmesi

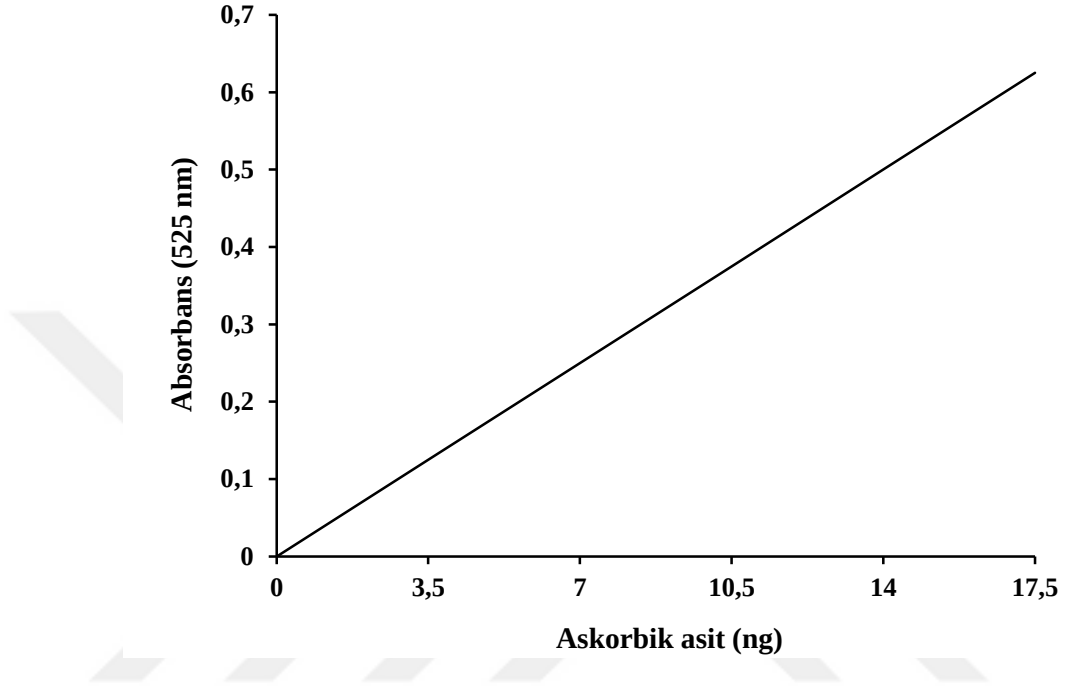
3.3.11.a. Glutasyon ve askorbik asit ekstraksiyonu

Un haline getirilen bitki dokularından alınan 0.2 gr doku 2 ml %5’lik TCA içerisinde homojenize edildi. Ekstrakt 4°C’de 12.000xg’de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant glutasyon ve askorbik asit içeriğinin belirlenmesinde kullanıldı.

3.3.11.b. Askorbik asit (AsA) içeriğinin belirlenmesi

Askorbik asit içeriği Low vd (1983) ve Costa vd (2005) yöntemine göre belirlendi. Bu metoda göre 0.2 gr yaprak dokusu 2 ml %5’lik TCA içerisinde homojenize edildi. Homojenat 12.000xg de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttan 400 μ l alınarak üzerine 10 μ l 5 M NaOH ilave edildi ve 3.500xg’de 2 dk santrifüj işlemine tabi tutuldu. Santrifüjden sonra süpernatant ikiye ayrıldı. Birinci gruba 200 μ l süpernatant, 200 μ l 150 mM NaH₂PO₄ (pH: 7.4), 200 μ l saf su eklenip, ikinci gruba ise 200 μ l süpernatant, 200 μ l 150 mM NaH₂PO₄ (pH: 7.4), 100 μ l 10mM DTT ve 100 μ l %0.5 N-ethylmaleimide eklendi. Her iki tüp iyice karıştırıldıktan sonra 1 dk bekletildi ve üzerlerine sırayla; 400 μ l %10’luk TCA, 400 μ l %44’lük H₃PO₄, 400 μ l %4’lük 2-bipyridyl ve 200 μ l %3’lük FeCl₃ konuldu. Vortekslenen karışım 37°C’de bir saat inkübe edildi. Sonra 525 nm’de absorbans değerleri okunarak, ilk grup indirgen AsA değerini verirken, 2. grup Total AsA’yı verir. Total AsA’dan indirgen AsA’yı çıkartarak

DHA (dehidroaskorbat) hesaplanır. Askorbik asitin konsantrasyonu standart grafikten (Şekil 3.7) gram dokudaki ng cinsinden sunuldu.



Şekil 3.7. Askorbik asit içeriğini belirlemede kullanılan standart grafik

3.3.12. İstatistiksel analiz

Tez içerisinde sunulan sonuçlar, her bir uygulamadan üç örnek (3 paralel) ve her bir örnekten 2 tekerrür yapıldıktan sonra elde edilen 6 değer in ortalamasıdır. Sonuçların karşılaştırılması, SPSS 20 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmış $p < 0.05$ önem seviyesinde Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırmada uygulama yapılacak maddelerin (bor ve sistein) en uygun konsantrasyonlarını bulmak için literatür verilerinden yararlanarak ön çalışmalar yapılmıştır. Bu ön çalışmalarda bor için 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mM konsantrasyonları, sistein için 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 μ M konsantrasyonları arpaya uygulanmış, tohumlar çimlenmeye bırakılmıştır. Her grup için 5 petri çimlendirilmiştir. Bor uygulamalarında 5. gün sonunda 5 mM'lık konsantrasyon kök ve gövde boylarını %50 inhibisyona uğratmıştır. Daha sonra belirlenen bor konsantrasyonuna sistein uygulanmıştır. Ön çalışmalarda en uygun konsantrasyonların 5 mM bor, 200 μ M sistein olduğu saptanmıştır. 200 μ M'lık sistein uygulamasının uygun olduğu konsantrasyon 5. gün sonunda hasat edilen bitkilerde yapılan kök-gövde uzunluk ölçümü, MDA miktarı ve süperoksit miktarlarındaki en düşük değere bakılarak belirlenmiştir. Çalışmaya bu konsantrasyonlardaki uygulamalarla devam edilmesine karar verilmiştir (Kontrol- Bor- Bor+Sistein-Sistein).

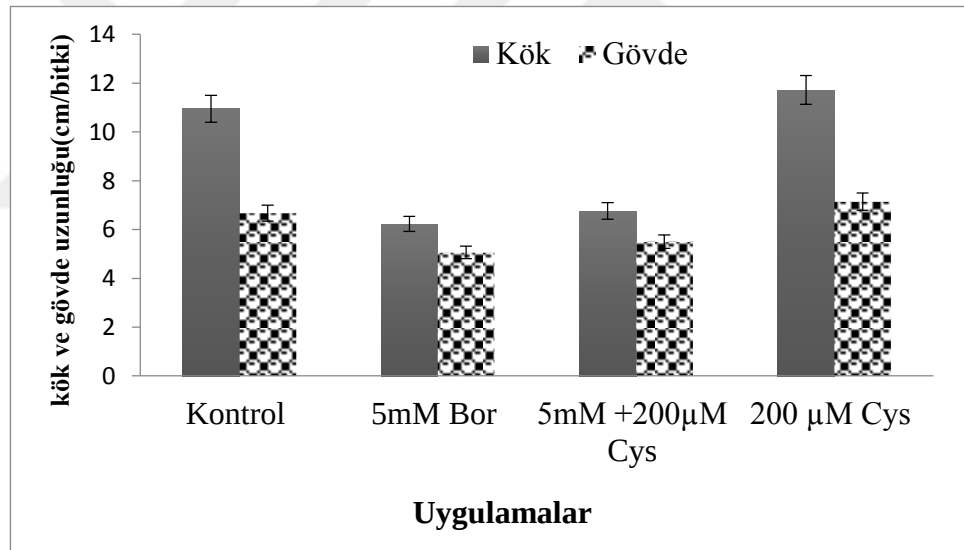
4.1. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Kök ve Gövde Uzunluğu Üzerine Etkileri

Tek başına bor uygulaması hem kök (%42) hem de gövde uzunluklarını (%25) önemli oranda düşürmüştür ($P<0.05$) (Çizelge 0.1). Sistein uygulaması ise bor stresinin engelleyici etkisini kök ve gövde de uzunlukları %10 arttırarak yenmiştir (6.76 cm ve 5.5 cm sırasıyla). Tek başına Sistein hem kök hem de gövde de kontrolden daha iyi sonuç vermiştir. Sistein, bor toksisitesinin kök ve gövde üzerindeki olumsuz etkisini hafifleterek arpa kök ve gövde uzunluklarını arttırmıştır.

Çizelge 4.1. Bor stresinde arpada kök ve gövde uzunlukları (cm/bitki) üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	Kök ve gövde uzunlukları	
	Kök	Gövde
Kontrol	10,95 ± 0,5b	6,67 ± 0,7b
5 mM Bor	6,23 ± 0,6d	5,06 ± 0,37d
5 mM +200 µM S	6,76 ± 1c	5,5 ± 0,5c
200 µM S	11,72 ± 0,4a	7,14 ± 1a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.1. Bor stresinde arpada kök ve gövde uzunlukları (cm/bitki) üzerine sistein uygulamasının etkileri

4.2. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Toplam Karbohidrat, Çözünebilir Protein ve Prolin İçeriğine Ait Bulgular

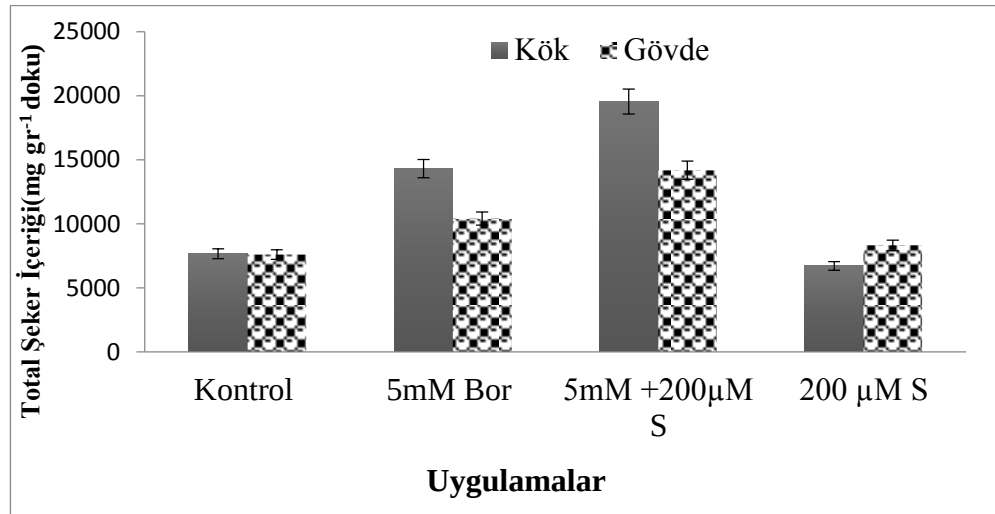
4.2.1. Total karbohidrat İçeriği

Bor uygulaması, total şeker içeriklerinde hem kök hem de gövde de artışa ($P < 0.05$) neden olmuştur. Kökteki artış %88, gövde de ise %40 oranında olmuştur. Sistein ise şeker içeriğini önemli oranda arttırmıştır (Çizelge 4.2). Tek başına uygulanan sistein ise kökte şeker miktarını azaltırken, gövde de arttırmıştır (Şekil 4.2).

Çizelge 4.2. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde total şeker içeriği (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	Şeker İçeriği	
	Kök	Gövde
Kontrol	7659 $\pm$ 4,93 c	7600 $\pm$ 7,8 c
5 mM Bor	14311 $\pm$ 3,6b	10415 $\pm$ 5 b
5 mM +200 μ M S	19555 $\pm$ 1,7a	14185 $\pm$ 5,8 a
200 μ M S	6718 $\pm$ 1,5c	8318 $\pm$ 1,5 c

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.2. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde total şeker içeriği (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri

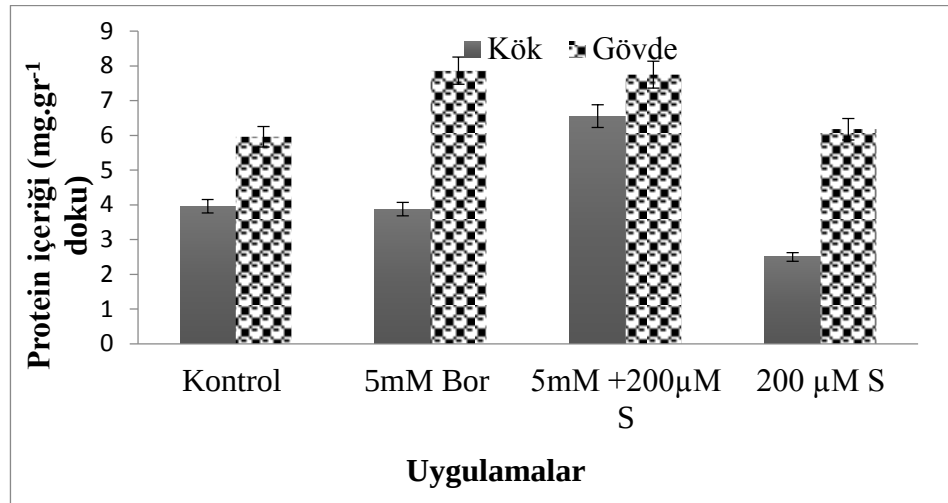
4.2.2. Çözünabilir protein içeriği

Bor stresi kökte çözünabilir protein içeriğine azaltırken, gövde de %31'lik bir artışa sebep olmuştur (Çizelge 4.3). Uygulanan sistein kökte çözünabilir protein içeriğini %66 oranında arttırırken, gövdede istatistiksel olarak önemli olmayan bir düşüşe neden olmuştur. Tek başına sistein uygulaması ise kökte çözünabilir protein içeriğini azaltırken, gövde de arttırmıştır.

Çizelge 4.3. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde çözünabilir protein içeriği (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	Protein İçeriği	
	Kök	Gövde
Kontrol	3,96 ± 0,49 b	5,96 ± 0,57 b
5 mM Bor	3,88 ± 0,64 b	7,86 ± 0,45 a
5 mM+200µM Sistein	6,55 ± 0,2 a	7,75 ± 0,2 a
200 µM Sistein	2,50 ± 0,1c	6,18 ± 0,1 b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.3. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde çözünabilir protein içeriği (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri

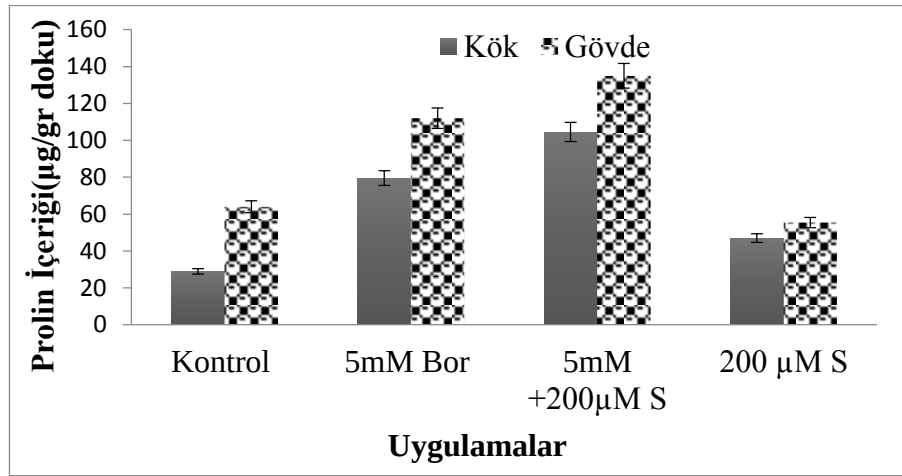
4.2.3 Prolin içeriği

Bor stresi hem kökte hem de gövde de prolin içeriğinde önemli oranda artışa neden olmuştur ($P < 0.05$). Kontrol grubuyla kıyaslandığında prolin içeriği, kökte %150, gövde de ise %75 oranında artışa sebep olmuştur (Çizelge 4.4). Uygulanan sistein (B+S) ise prolin içeriğinde önemli oranda artışa sebep olmuştur. Tek başına sistein uygulaması (S) kökte artışa, gövde de ise azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.4).

Çizelge 4.4. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde prolin içeriğine (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	Prolin İçeriği	
	Kök	Gövde
Kontrol	29 ^d + 2	64 ^b +5
5 mM Bor	79,5 ^b +1,5	112 ^a +1
5 mM +200 µM S	104,5 ^a + 4,5	135 ^a +4
200 µM S	47,05 ^c +5	55,5 ^b +3

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.4. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde prolin içeriğine (mg/gr doku) üzerine sistein uygulamasının etkileri

4.3. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Reaktif Oksijen Türlerine (ROT) Etkileri

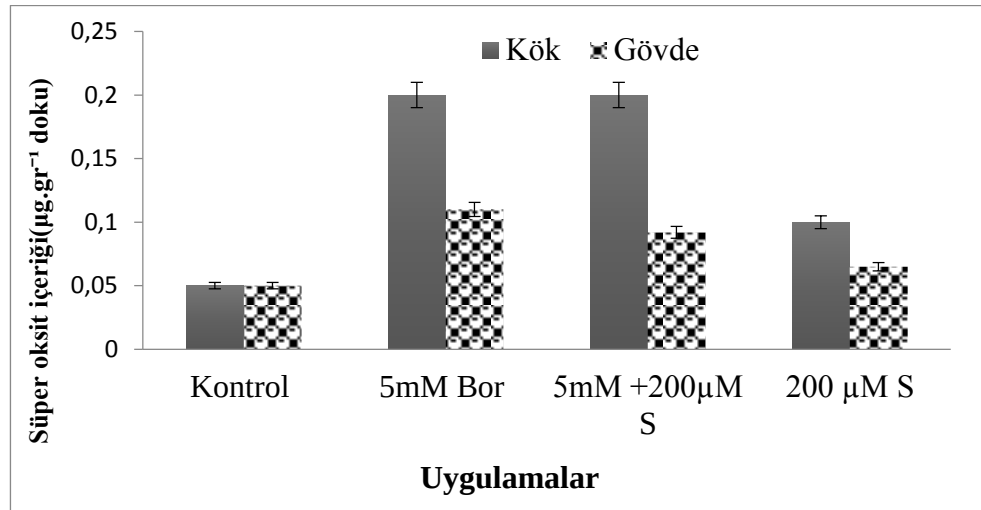
4.3.1. Süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) içeriği

Bor stresi süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) miktarını hem kökte (%200) hem de gövde de (%100) önemli oranda arttırmıştır (Çizelge 4.5). Sistein uygulaması (B+S) ile $O_2^{\cdot-}$ içeriği kökte sabit kalmış, gövde de azaltmıştır (Şekil 4.5). Tek başına uygulanan sistein (S) ise kökte kontrole göre artırırken, gövde de önemli oranda azaltmıştır.

Çizelge 4.5. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) ($\mu\text{g.gr}^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	$O_2^{\cdot-}$ İçeriği	
	Kök	Gövde
Kontrol	$0,05 \pm 0,02c$	$0,05 \pm 0,01d$
5 mM Bor	$0,20 \pm 0,06a$	$0,11 \pm 0,03a$
5 mM +200 µM Cys	$0,20 \pm 0,01a$	$0,092 \pm 0,02b$
200 µM Cys	$0,10 \pm 0b$	$0,065 \pm 0,01c$

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.5. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde süperoksit anyonu (O_2^-) ($\mu\text{g.gr}^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri

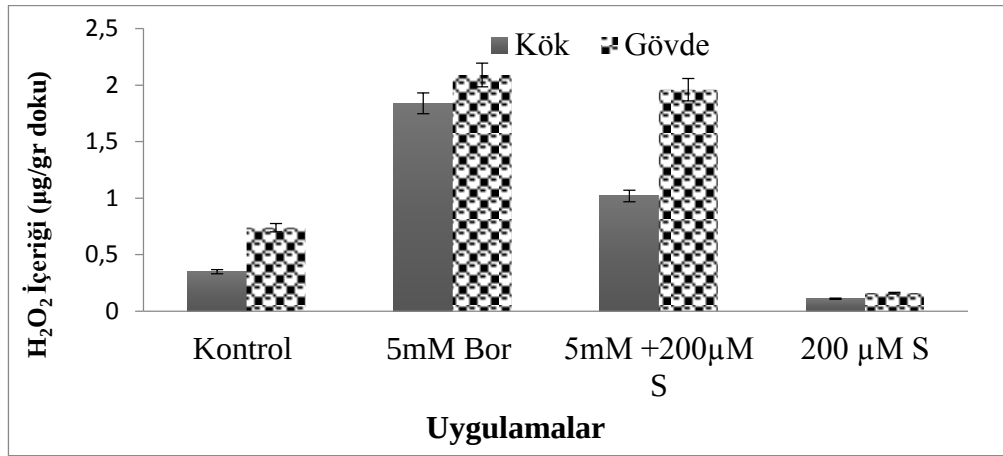
4.3.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2) içeriği

Bor stresi arpa kökte ve gövdesinde H_2O_2 miktarını önemli oranda artırmıştır. Sistein uygulaması (B+S) ise bor stresinin neden olduğu H_2O_2 artışını hem kök hem de gövde de engellemiştir (Çizelge 4.6 Şekil 4.6). Tek başına sistein uygulaması ise (S) H_2O_2 miktarını önemli oranda azaltmıştır.

Çizelge 4.6. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ($\mu\text{g.gr}^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	H_2O_2 İçeriği	
	Kök	Gövde
Kontrol	0,35 ^c +0,1	0,74 ^c + 0,3
5 mM Bor	1,84 ^a +0,1	2,09 ^a + 0,1
5 mM +200 µM S	1,02 ^b +0,9	1,96 ^b + 0,2
200 µM Sistein	0,11 ^d +0,1	0,16 ^d +0,1

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.6. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde hidrojen peroksit (H₂O₂) (µg.gr⁻¹) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri

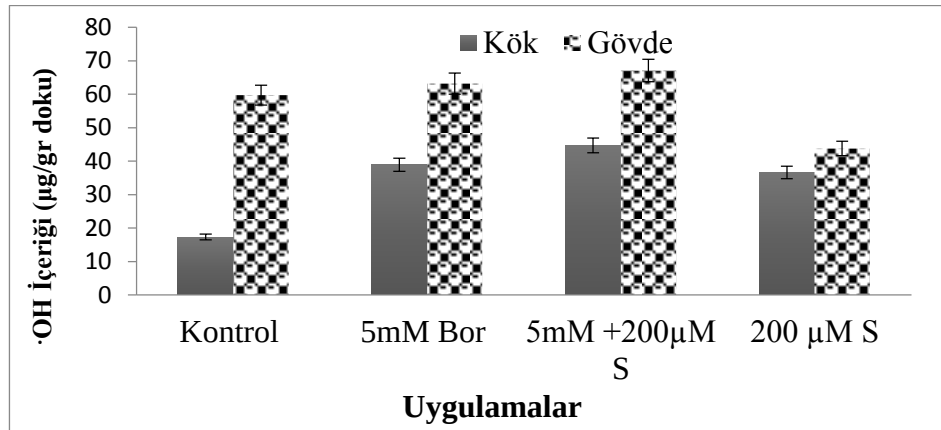
4.3.3. Hidroksil (OH⁻) içeriği

Bor stresi arpada hidroksil iyonu (OH⁻) miktarını hem kök hem de gövde de önemli oranda arttırmıştır (Çizelge 4.7). Kökteki miktarı 17,29'dan 38,91'a (%100 den fazla), gövde de ise 59,75'ten 63,15'e (%9) arttırmıştır. Sistein uygulaması (B+S) hem kök hem de gövde de hidroksil iyonu (OH⁻) miktarını önemli oranda arttırmıştır. Tek başına sistein uygulaması (S) ise yine hidroksil iyonu (OH⁻) miktarını kontrole göre hem kök hem de gövde de arttırmıştır (Şekil 4.7).

Çizelge 4.7. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde hidroksil (OH⁻) (µg.gr⁻¹) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	OH ⁻ İçeriği	
	Kök	Gövde
Kontrol	17,29 ± 0,42d	59,75 ± 0,35 c
5 mM Bor	38,91± 0,12b	63,15 ± 0,7 b
5 mM +200 µM S	44,72 ± 0,4 a	67,15 ± 0,7 b
200 µM Sistein	36,62 ± 0,5 c	43,80 ± 0,3 d

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.7. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde hidroksil ($\text{OH}^\cdot$) ($\mu\text{g.gr}^{-1}$) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri

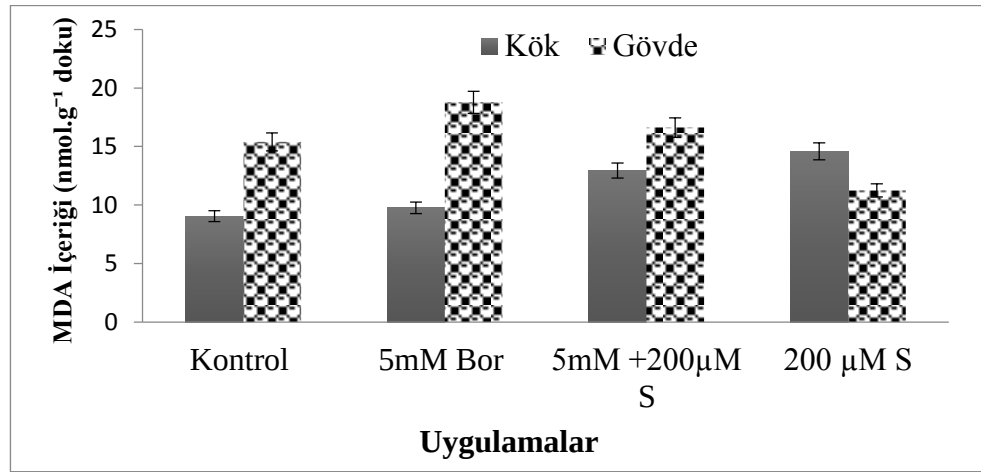
4.4. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının LPO Göstergesi Olarak MDA İçeriğine Etkisi

Bor stresi arpa bitkisinin hem kök (%8) hem de gövdesinde (%22) MDA miktarını arttırmıştır (Çizelge 4.8). Sistein uygulaması (B+S) ise kökte MDA miktarını artırırken, gövde de azaltmıştır. Tek başına uygulanan sistein (S) ise kökte MDA miktarını kontrole göre artırırken, gövde de azaltmıştır (Şekil 4.8).

Çizelge 4.8. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde MDA (nmol/gr doku) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	MDA İçeriği	
	Kök	Gövde
Kontrol	9,05 ^b	15,4 ^{ab} ±0,95
5 mM Bor	9,76 ^b	18,78 ^a ±0
5 mM +200 µM S	12,94 ^a	16,62 ^{ab} ±0
200 µM S	14,59 ^a	11,24 ^b ±2

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.8. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde MDA (nmol/gr doku) miktarı üzerine sistein uygulamasının etkileri

4.5. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri

4.5.1. Antioksidan enzim aktivite bulguları

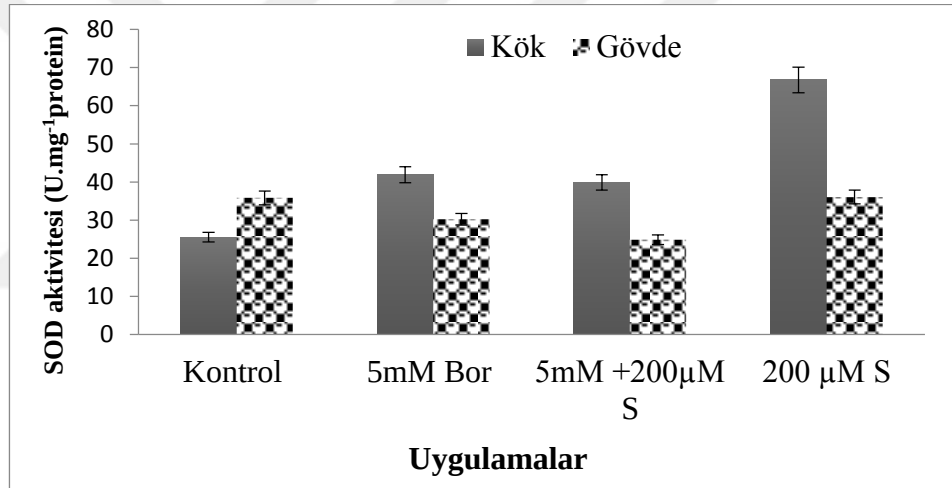
4.5.1.a. SOD aktivitesi sonuçları

Bor stresi arpa bitkisinin köklerinde SOD aktivitesini kontroldeki 25.55 U.mg⁻¹ protein değerinden %60 arttırarak 41.9 U.mg⁻¹ protein değerine yükseltmiştir (Çizelge 4.9). Gövde de ise bor stresi SOD aktivitesini kontroldeki 35.85 U.mg⁻¹ protein değerinden %13 azaltarak 30.25 U.mg⁻¹ protein değerine indirmiştir (Çizelge 4.9). Sistein uygulaması (B+S) ise kök (%2.5) ve gövde de (%20) SOD aktivitesini azaltmıştır (Şekil 4.9). Tek başına sistein uygulaması (S) ise kontrole göre hem kök hem de gövde de SOD aktivitesini arttırmıştır.

Çizelge 4.9. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde SOD aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	SOD aktivitesi (U.mg^{-1} protein)	
	Kök	Gövde
Kontrol	$25,55 \pm 0,22$ c	$35,85 \pm 0,21$ a
5 mM Bor	$41,9 \pm 0,1$ b	$30,25 \pm 0,25$ b
5 mM +200 μM S	$39,9 \pm 0,2$ b	$24,85 \pm 0,25$ c
200 μM S	$66,75 \pm 0,75$ a	$36,05 \pm 0,71$ a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.9. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde SOD aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine sistein uygulamasının etkileri.

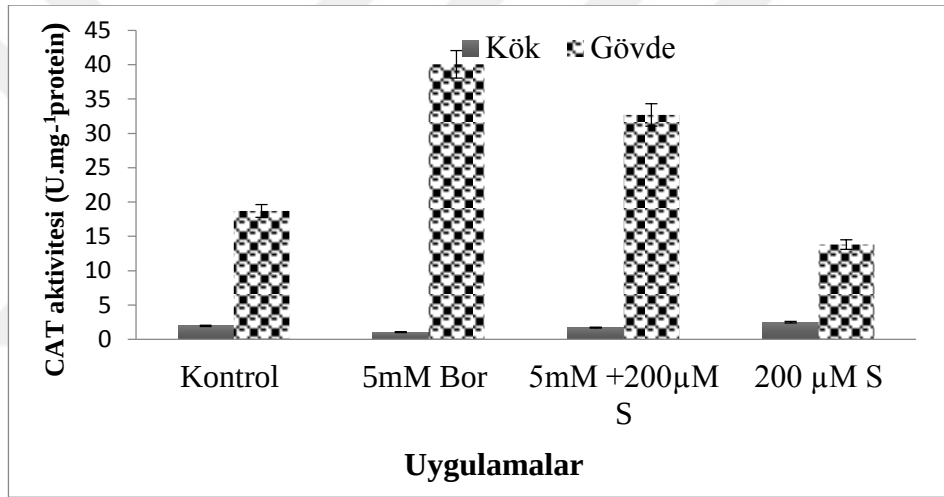
4.5.1.b. CAT aktivitesi sonuçları

Bor stresi arpada kök CAT aktivitesini önemli oranda azaltırken (%50), gövde de %120 gibi istatistiksel olarak önemli oranda arttırmıştır (Çizelge 4.11). Sistein uygulaması (B+S) ise CAT aktivitesini kökte arttırırken, gövde de azaltmıştır (%21) ($p>0.05$). Tek başına sistein (S) uygulaması ise kökte CAT aktivitesini arttırırken, gövde de azaltmıştır (Şekil 4.11).

Çizelge 4.10. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde CAT aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	CAT aktivitesi (U.mg^{-1} protein)	
	Kök	Gövde
Kontrol	$1,95 \pm 0,7$ ab	$18,70 \pm 0,42$ c
5 mM Bor	$1,05 \pm 0,6$ c	$40,05 \pm 0,7$ a
5 mM +200 μM S	$1,7 \pm 0,1$ b	$32,7 \pm 0,5$ b
200 μM S	$2,5 \pm 0,7$ a	$13,8 \pm 0,2$

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.10. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde CAT aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri

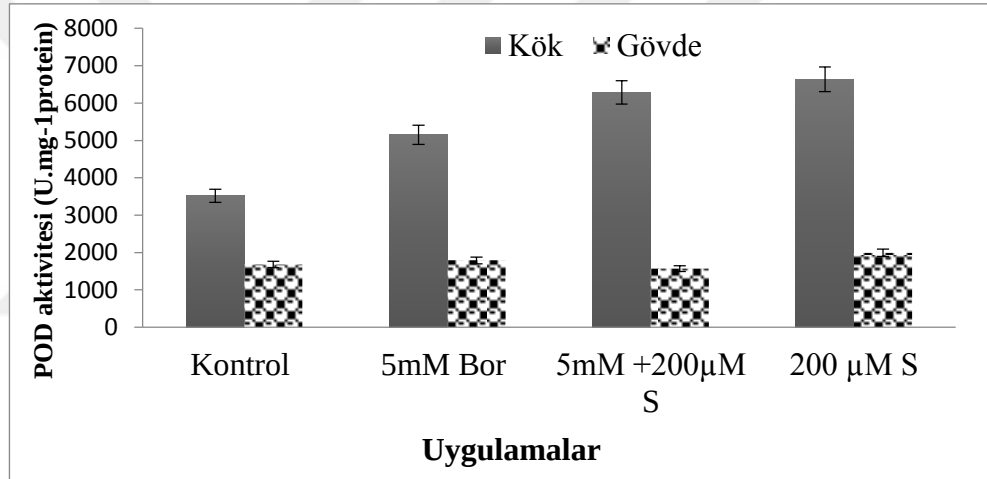
4.5.1.c. POD aktivitesi sonuçları

Arpa bitkisinin köklerinde tüm uygulamalarda kontrol grubuna kıyasla POD aktivitesinde önemli derecede artışlar olmuştur. Kontrol grubu bitkilerin köklerinde POD enzim aktivitesi 3516 U.mg^{-1} protein olarak ölçülmüşken, bor uygulamasında bu değer 5153 U.mg^{-1} protein'e yükselmiştir ($P > 0.05$). Sistein uygulaması (B+S) ise POD aktivitesini kökte arttırmış (%76), gövde de ise azaltmıştır (Çizelge 4.10; Şekil 4.10). Tek başına uygulanan sistein ise (S) kontrole göre her iki dokuda da artışa neden olmuştur.

Çizelge 4.11. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde POD aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	POD aktivitesi (U.mg^{-1} protein)	
	Kök	Gövde
Kontrol	$3516 \pm 3,5$ d	$1678 \pm 1,5$ c
5 mM Bor	5153 ± 3 c	1790 ± 2 b
5 mM +200 μM S	$6285 \pm 1,5$ b	$1568 \pm 1,5$ d
200 μM S	6638 ± 2 a	$1993 \pm 2,25$ a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.11. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde POD aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri.

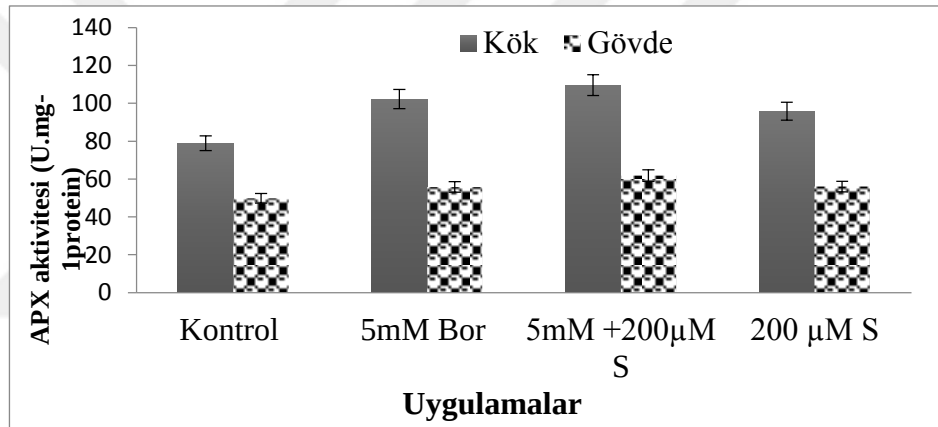
4.5.1.d. APX aktivitesi sonuçları

Arpa bitkisine uygulanan bor stresi APX aktivitesini hem kök (%29.3) hem de gövde de (%12) önemli oranda artırmıştır. Kontrol grubunun köklerinde enzim aktivitesi $78.91 \text{ nmol.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ doku olarak ölçülürken, bor stresinde 102.25 U.mg^{-1} protein olarak ölçülmüştür. Gövde de APX aktivitesi sonuçları kökteki aktivite ile paralellik göstermiştir. Kontrol grubunda APX aktivitesi 49.85 U.mg^{-1} iken, bor stresinde 55.8 U.mg^{-1} 'e yükselmiştir. Sistein (B+S) ve tek başına sistein (S) uygulaması hem kök hem de gövde de APX aktivitesini artırmıştır (Şekil 4.12) (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde APX aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	APX aktivitesi (U.mg^{-1} protein)	
	Kök	Gövde
Kontrol	$78,91 \pm 0,85$ d	$49,85 \pm 0,15$ c
5 mM Bor	$102,25 \pm 0,25$ b	$55,8 \pm 0,2$ b
5 mM +200 μM S	$109,55 \pm 0,55$ a	$61,85 \pm 0,25$ a
200 μM S	$95,8 \pm 0,2$ c	$56 \pm 0,2$ b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.12. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde APX aktivitesi (U.mg^{-1} protein) üzerine üzerine sistein uygulamasının etkileri

4.5.2. Bor Stresinde Sistein Uygulamasının Enzimatik Olmayan Antioksidanlara Etkileri

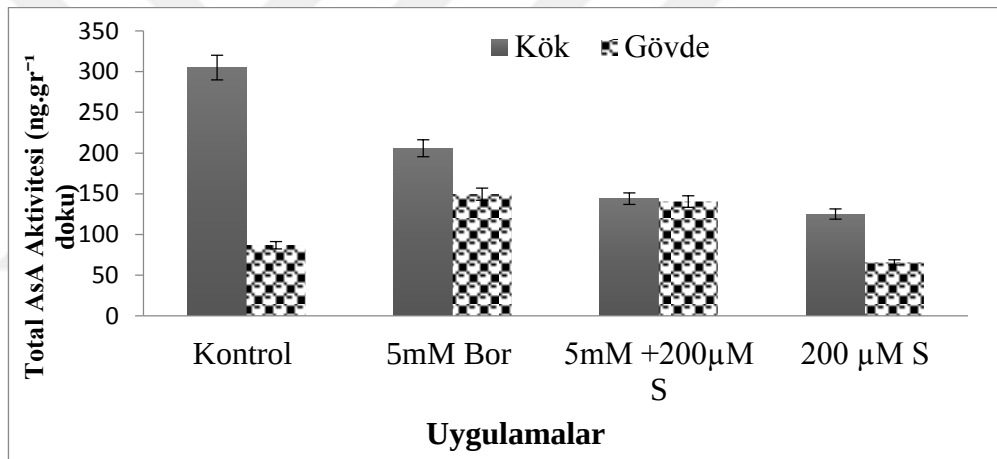
4.5.2.a. Total AsA, AsA ve DHA içerikleri

Bor stresi arpada kökte AsA miktarını düşürürken, gövde de arttırmıştır (%62) (Çizelge 4.13). Sistein (B+S) ve tek başına sistein (S) uygulamaları ise hem kök hem de gövde de kontrollerine göre AsA miktarını azaltmıştır (Şekil 4.13).

Çizelge 4.13. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde Total AsA seviyelerine (ng.gr⁻¹ doku) sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	Total AsA içeriği	
	Kök	Gövde
Kontrol	305 ^a ±1,15	86,85 ^c ±0,15
5 mM Bor	206 ^b ±1	149,6 ^a ±0,4
5 mM +200 µM S	144,8 ^c ±0,2	140,4 ^b ±0,65
200 µM S	125,1 ^d ±0	65,8 ^d ±0,2

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır



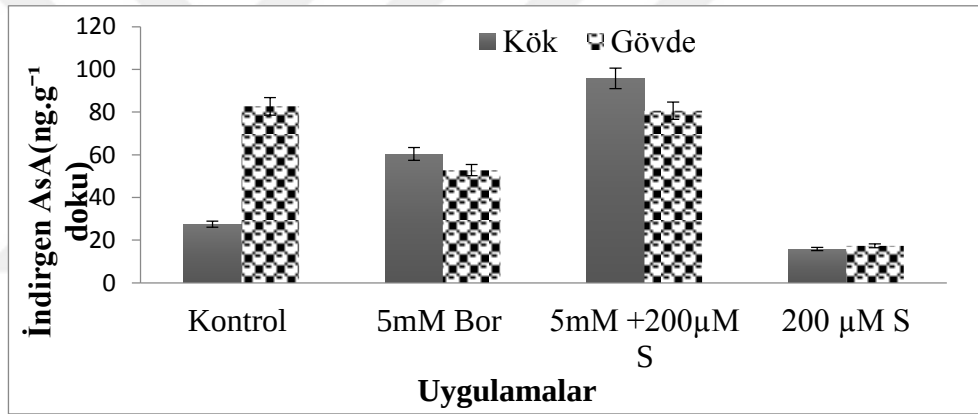
Şekil 4.13. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde Total AsA seviyelerine (ng.gr⁻¹ doku) sistein uygulamasının etkileri

İndirgen AsA miktarı bor stresine mauz bırakılan arpa kökünde artışa (%100 den fazla) neden olurken, gövde de azalmaya (%35) neden olmuştur. Sistein uygulaması (B+S) ise hem kök hem de gövde de indirgen AsA miktarını arttırmıştır. Tek başına uygulanan sistein (S) ise hem kök hem de gövde de indirgen AsA miktarını azaltmıştır. İndirgen AsA miktarı total AsA'dan farklılık gösterip bor uygulamasında kökte artış gövde de azalış göstermiştir (Şekil 4.14) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde İndirgen AsA seviyelerine (ng.gr⁻¹ doku) sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	İNDİRGEN ASA	
	Kök	Gövde
Kontrol	27,5 ^c + 0,65	82,68 ^a + 0,325
5 mM Bor	60,4 ^b + 0,125	52,78 ^c + 0,225
5 mM +200 µM S	95,74 ^a + 0,26	80,7 ^b + 0,1
200 µM S	15,88 ^d + 0,11	17,4 ^d + 0,14

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır



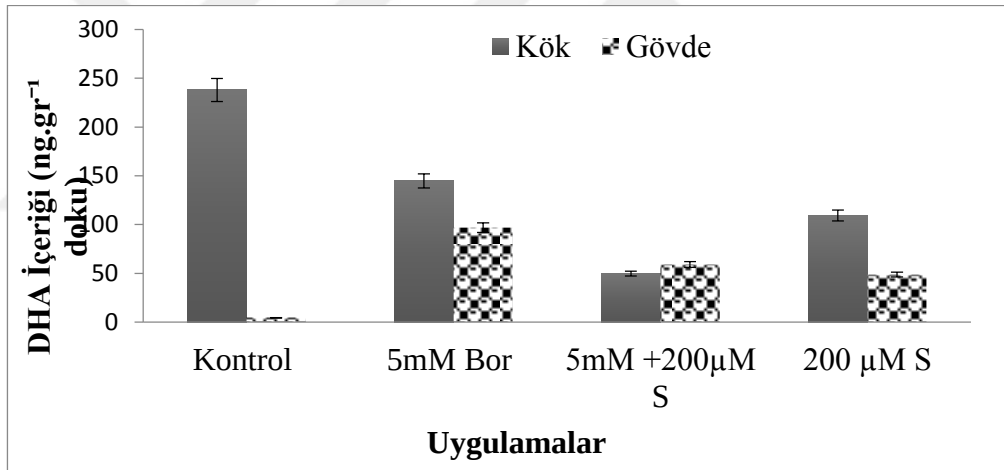
Şekil 4.14. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde İndirgen AsA seviyelerine (ng.gr⁻¹ doku) sistein uygulamasının etkileri

DHA miktarı bor stresine mauz bırakılan arpa kökünde azalmaya neden olurken, gövde de artışa neden olmuştur. Sistein uygulaması (B+S) ise kök ve gövde de DHA miktarını azaltmıştır. Tek başına uygulanan sistein (S) ise kontrole göre kökte DHA miktarını azaltırken, gövde de arttırmıştır (Şekil 4.15) (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde DHA seviyelerine (ng.gr-1 doku) sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	DHA DEĞİŞİMİ	
	Kök	Gövde
Kontrol	237,95 ^a +0,5	4,45 ^d +0,5
5 mM Bor	144,85 ^b +0,15	96,8 ^a +0,2
5 mM +200 μ M S	49,55 ^d + 0,45	58,9 ^b +0,1
200 μ M S	109,3 ^c +0	48,7 ^c +0,3

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



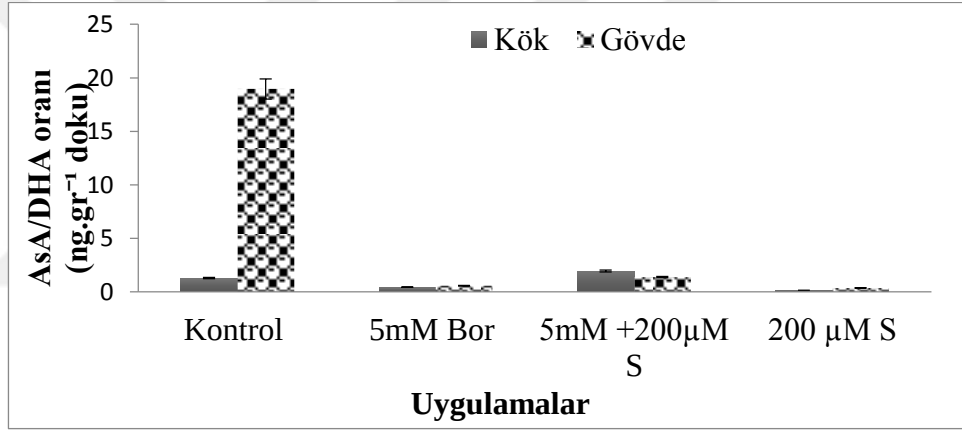
Şekil 4.15. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde DHA seviyelerine (ng.gr⁻¹ doku) sistein uygulamasının etkileri

AsA\DHA oranı bor stresine maruz bırakılan arpa kökünde ve gövdesinde önemli oranda azalma göstermiştir. Gövde de 18,96 ng.gr⁻¹ doku'luk oran 0,58 ng.gr⁻¹ doku'ya düşmüştür. Sistein uygulaması (B+S) ise hem kök hem de gövde de AsA\DHA oranında artışa neden olurken, tek başına sistein uygulaması (S) kökte ve gövdede azalmaya neden olmuştur (Çizelge 4.16 Şekil 4.16).

Çizelge 4.16. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde AsA/DHA seviyelerine (ng.gr⁻¹ doku) sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	ASA /DHA Oranı	
	Kök	Gövde
Kontrol	1,28 ^d + 0,001	18,96 ^a + 0,5
5 mM Bor	0,43 ^b +0,3	0,58 ^c + 0,4
5 mM +200 µM S	1,94 ^a +0,1	1,38 ^b +0,2
200 µM S	0,15 ^c + 0,4	0,36 ^d + 0,1

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır



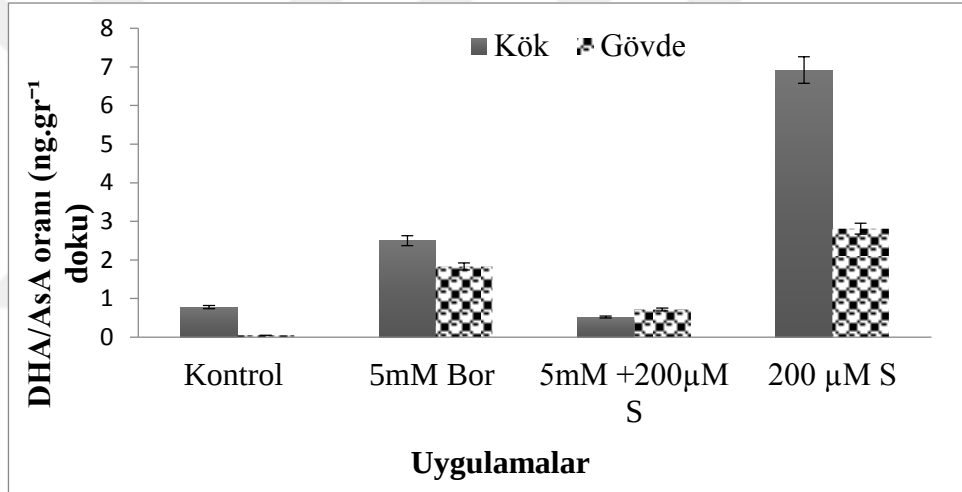
Şekil 4.16. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde AsA/DHA seviyelerine (ng.gr⁻¹ doku) sistein uygulamasının etkileri

DHA/AsA oranı bor stresine maruz bırakılan arpa kökünde gövdesinde artışa neden olmuştur. Sistein uygulaması (B+S) ise hem kök hem de gövde de DHA /AsA oranında azalmaya neden olurken, tek başına sistein uygulaması (S) kökte ve gövde de artışa neden olmuştur (Çizelge 4.17 Şekil 4.17).

Çizelge 4.17. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde DHA/AsA seviyelerine (ng.gr-1 doku) sistein uygulamasının etkileri

Uygulamalar	DHA/ASA ORANI	
	Kök	Gövde
Kontrol	0,78 ^a +0,23	0,05 ^d
5 mM Bor	2,5 ^c + 0,1	1,83 ^b
5 mM +200 µM S	0,52 ^d + 0,1	0,72 ^c
200 µM S	6,92 ^b +0	2,81 ^a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.17. Bor stresinde arpa kök ve gövdesinde DHA/AsA seviyelerine (ng.gr⁻¹ doku) sistein uygulamasının etkileri

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Tartışma

Borun bitkiler için mutlak bir besin elementi olup, lignin biyosentezinde, şekerlerin taşınması ve hücre duvarının oluşması gibi birçok olayda görev yapar. Bor yüksek konsantrasyonda tüm canlılarda olduğu gibi bitkilerde de toksik etki göstermektedir (Nable *et al.* 1997).

Bor toksisitesi arpada kök-gövde büyümesini (özellikle kökte) azaltmış (Çizelge 4.1) ve bu sonuçlar bor stresinin büyümeyi azalttığına dair önceki çalışmaları desteklemektedir (Çizelge 4.1) (Reid *et al.* 2004; Reid and Fitzpatrick 2009). Sistein uygulaması (B+S) ise bor stresinden zarar gören kök-gövde büyümesindeki azalmayı önlemiştir (%10 arttırarak). Tek başına sistein uygulaması (S) ise kontrolüne göre daha iyi bir büyüme göstermiştir.

Arpada literatürde olduğu gibi total karbohidrat miktarı hem kök hem de gövde de bor stresıyla beraber artış göstermiştir (Keleş 2004). Sistein uygulaması ise (B+S) total karbohidrat miktarını bor stresinden de daha fazla arttırmıştır (Çizelge 4.2).

Çözünebilir protein miktarı bitki metabolizmasında dönüşümlü ve dönüşümsüz değişimlerin indikatörü olması bakımından oldukça önemlidir (Dogra and Kaur 1994). Morfolojik farklılaşma genelde içsel dokulardaki protein, karbohidratlar ve prolin değişimleri tarafından belirlenir. Yapılan çalışmada önceki çalışmaları destekleyen çözünebilir protein miktarı gövde de %32'lik bir artış göstermiştir (Çizelge 4.3). Kökte ise uygulanan bor protein içeriğini istatistiksel olarak önemsiz oranda azaltmıştır. Keleş *et al.* (2004) yaptığı çalışmada 2 kat bor içeren su ile suladığı bitkilerde protein miktarında önemli derecede artış gözlemiştir. Toksik B konsantrasyonlarının arpa genotiplerinde kök ve yaprak dokularında total protein sayısında ve miktarında artışlara ve azalmalara neden olduğu belirlenmiştir (Mahboobi *et al.* 2000). Bor toksisitesindeki

2 çeşit buğday üzerinde yapılan bir çalışmada protein miktarı bir bitkide artarken diğerinde azalmıştır (Arıbaykal ve Öncel 2006). Uygulanan sistein (B+S) ise protein miktarını arttırmıştır. Tek başına sistein (S) ise protein miktarını kökte azaltırken, gövde de arttırmıştır.

Birçok bitkide, serbest prolin, geniş bir biyotik ve abiyotik strese cevap olarak birikir (Hare and Cress 1997). Bor toksisitesinde prolin miktarı ise bazı bitkilerde artış gösterirken bazılarında azalma göstermiştir (Karabal *et al.* 2003; Silva *et al.* 2016). Mevcut çalışmada ise kullanılan arpada prolin miktarı bor stresi altında hem kök (%100'den fazla) hem de gövdede (%75) önemli oranda artmıştır (Çizelge 4.4). B toksisitesine toleranslı nohutta (*Cicer arietinum* L. Gökçe) (kontrolle oranla 3 kattan fazla) ve makarnalık buğdayda prolin artışı görülmüştür (Rascio *et al.*, 1994). Bor uygulamalarının havuç ve mısır bitkisinde prolin miktarında artışa neden olduğu bildirilmiştir (Turan and Aydın 2005; Eraslan *et al.* 2007). Sistein uygulaması (B+S) ve tek başına sistein (S) ise prolin miktarını kontrollerine göre önemli oranda arttırmıştır (Şekil 4.4).

Bitkiler sesil olduklarından, stresli şartlar altında kendilerini koruyabilmek ve savunabilmek için güçlü savunma sistemlerine (Enzimatik ve non-enzimatik) sahiptirler. Enzimatik antioksidan mekanizma süperoksit, hidroksil radikali, singlet oksijen, hidrojen peroksit gibi ROT'ları süpüren enzimleri içerir. Bu enzimlerin başlıcaları SOD, POD, CAT, APX, GR gibi enzimlerdir. Normal şartlar altında da aktive göstermelerine karşın, stres şartlarında artan ROT seviyelerine paralel olarak bu enzimlerin aktivitelerinde de önemli ölçüde artışlar meydana gelmektedir. Eğer stres bitkinin baş edebileceğinden fazla ise bu enzimlerin üretimi ve aktiviteleri de bozulur. Tek başına bir enzimin artması veya azalması çok anlam ifade etmeyeceği için, bir mekanizmayı aydınlatabilmek veya yorumlayabilmek için çok sayıda enzimin ve parametrenin bir arada değerlendirilmesi gerekmektedir (Gill and Tuteja 2010; Sharma *et al.* 2012). Arpa bitkilerinin bor stresine maruz kalmasıyla O_2^- içeriği kökte ve gövde de önemli ölçüde artış görülmüştür. Esim *et al.* (2013) bor stresine maruz kalan mısır bitkilerinde ROT oluşumunun önemli derecede arttığını bildirmiştir. Bu çalışmada da

ölçülen yüksek ROT miktarı borun tilakoid membranlardaki tahribatından kaynaklanmış olması muhtemeldir (Kohl HC and Oertli 1961). Sistein (B+S) uygulaması ise gövdedeki O_2^- miktarını azaltmıştır (Şekil 4.5).

Bor uygulanan arpa kök ve gövde dokusunda H_2O_2 miktarı önemli oranda artmıştır (Çizelge 4.6). Arpa, salatalık, asma, domates ve *Schizolobium parahyba* bitkilerinde yapılan çalışmalarda da B toksisitesine bağlı olarak H_2O_2 miktarında önemli derecede bir artış görülmüştür (Karabal *et al.* 2003; Gunes *et al.* 2006; Cervilla *et al.* 2007; Wang *et al.* 2010; Silva *et al.* 2016). Sistein uygulaması (B+S) ve sistein (S) ise hem kök hem de gövde de H_2O_2 miktarını azaltmıştır (Şekil 4.6).

Diğer ağır metal streslerinde olduğu gibi bor stresine maruz kalan bitkilerde de OH^- hem kök hem gövde de artış göstermiştir. Sistein uygulaması (B+S) ve sistein (S) ise hem kök hem de gövde de genelde OH^- miktarını arttırmıştır (Çizelge 4.7).

Stres şartlarına maruz kalan bitkilerde meydana gelen hasarın ve bitkilerin maruz kaldığı stresin büyüklüğünün belirlenebilmesi için genellikle lipid peroksidasyon seviyesi (MDA olarak) ölçümü yapılır. ROT'ların ilk saldırdıkları yer hücre zarlarındaki doymamış yağ asitleri olup, artan stresle birlikte ROT miktarı ve ona paralel olarak zarlardaki hasar oranı da artmaktadır. Çalışmada, arpada MDA miktarı bor stresinden hem kök hem de gövde de arttırılmıştır. Buğday (Karabal vd 2003), arpa (Tepe ve Aydemir 2011), domatesten (Cervilla *et al.* 2007), elma kök sürgünlerinde (Molassiotis *et al.* 2006) ve asmada (Gunes *et al.* 2006) da yapılan çalışmada bor toksisitesinin MDA miktarını arttırdığı rapor edilmiştir. Sistein uygulaması (B+S) ve sistein (S) kökte MDA miktarında artışa, gövde de ise azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.8) (Çizelge 4.8) Bor toksisite stresini yenmede turpta Ca^{+2} (Siddiqui *et al.* 2013) ve buğdayda da silikon (Gunes *et al.* 2007) MDA içeriğini azaltmıştır.

Bor toksisitesinde SOD aktivitesi bitkiden bitkiye değişiklik göstermektedir. Örneğin bor stresinde buğday da SOD aktivitesinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken (Karabal *et al.* 2003), arpa (Tepe ve Aydemir 2011), turp (Yusuf *et al.* 2011), mung

bean bitkilerinde (Siddiqui *et al.* 2013) iki farklı domates çeşitinde (Cerville *et al.* 2007), elma kök sürgünlerinde (Molassiotis *et al.* 2006; Sotiropoulos *et al.* 2006), asma bitkisi yapraklarında (Gunes *et al.* 2006) ve greyfrutta (Han *et al.* 2009) ise SOD aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada ise, yukarıdaki literatürü destekler şekilde, SOD aktivitesi kökte %60 oranında artmış, gövde de ise %2.5 azalmıştır (Çizelge 4.9). Sistein uygulaması (B+S) kök ve gövde de SOD aktivitesini azaltırken, tek başına sistein (S) her iki dokuda da SOD aktivitesini kontrollerine göre arttırmıştır (Şekil 4.9).

Bor stresine maruz bırakılan arpada kök CAT aktivitesi azalırken, gövde de istatistiksel olarak oldukça önemli miktarda artmıştır (Çizelge 4.10). CAT aktivitesi arpada, kabak, salatalık patates bitkilerinde genellikle bor toksisitesinde artış göstermiştir (Ayvaz 2009; Tepe ve Aydemir 2011; Landi *et al.* 2013). Mısır bitkisinde ise CAT enziminde azalma gözlenmiştir (Ozel 2011). Sistein uygulaması (B+S) kökte CAT aktivitesini kontrolüne göre arttırmış, gövde de ise azaltmıştır. Tek başına sistein (S) ise kökte CAT aktivitesini arttırmış, gövde de ise düşürmüştür.

Bor stresi arpa kök ve gövdesinde POD aktivitesini arttırmıştır. Bor stresi altındaki bazı bitkilerde de POD aktivitesinde artışlar gözlenmiştir (Karabal *et al.* 2003; Aaftab *et al.* 2010; Keskin *et al.* 2010; Yusuf *et al.* 2011). Sistein uygulaması (B+S) kökte POD aktivitesini kontrolüne göre arttırmış (%76), gövde de ise azaltmıştır. Tek başına sistein (S) her iki dokuda da POD aktivitesini kontrollerine göre arttırmıştır (Şekil 4.11). Diğer çalışmalarda da Ca^{+2} ve NH_4 'nın POD aktivitesini azalttığı belirlenmiştir (Tepe ve Aydemir 2011; Siddiqui *et al.* 2013).

Çalışmada B toksisitesine maruz kalan mısır bitkisinin hem kök hem de gövdelerinde kontrole göre APX aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu ve bu artışın köklerde daha fazla olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Borun toksik seviyelerine maruz bırakılan domates bitkilerinde (Cerville *et al.* 2007), arpada (Karabal *et al.* 2003), greyfrutta (Han *et al.* 2009), patates bitkisinde (Mondy and Munshi 1993), asma anaçlarında (Ersöz 2009), acı biberde (Lee 2006), portakal bitkisinde (Keles *et al.* 2004)

ve armut yapraklarında da (Wang *et al.* 2011) APX enzim aktivitesinin önemli oranda arttığı rapor edilmiştir.

Diğer yandan enzimatik olmayan antioksidanlar da ROT'ların detoksifikasyonunda doğrudan ve dolaylı olarak çok önemli roller oynamaktadır. Ayrıca bu antioksidan maddelerin hücre içi redoks durumunu düzenleme gibi çok önemli rolleri de vardır. Hücrelerdeki en önemli antioksidan maddelerin başında glutatyon, askorbik asit, prolin, fenolik maddeler ve karotenoidler gelmektedir. Bu maddelerden askorbat ve glutatyon kendi başlarına çok kuvvetli antioksidan olmalarının yansıra, hücrel redoksun devamında ve hidrojen peroksitin detoksifikasyonunu sağlayan askorbat-glutatyon çemberinde önemli rol oynarlar. Patates bitkisinde yapılan çalışmada total askorbat miktarları, uygulanan bor miktarı artışı ile Van Gogh türünde değişim göstermezken, diğer tüm kültür çeşitlerinde, genellikle 2.5 mM bor uygulamasından başlayarak ve artan bor konsantrasyonuna zıt şekilde giderek azalmaktadır (Ayvaz 2009). Keleş (2004) ve Şahin (2009)'in yaptıkları çalışmada artan bor miktarına bağlı olarak askorbik asit seviyesinde artış gözlenmiştir. Yapılan çalışmada da kökte ASA miktarı azalırken, gövde de artış gözlenmiştir (Şekil 4.16). Bor stresi ASA/DHA oranını hem kökte hem gövde de ise düşürmüştür (Çizelge 4.16). İndirgen AsA miktarı bor stresine maruz bırakılan arpa köklerinde artarken, gövde de azalmaya neden olmuştur. DHA/AsA oranı ise bor stresinde kökte ve gövdede artmıştır. Sistein (B+S) uygulaması total AsA ve DHA miktarlarını kök ve gövde de azaltırken, indirgen AsA miktarını her iki dokuda da arttırmıştır. Tek başına sistein (S) ise total AsA ve indirgen AsA miktarlarını azaltırken, DHA miktarını gövde de arttırmıştır. Sistein (B+S) uygulaması AsA/DHA oranını arttırırken, DHA/AsA oranını azaltmıştır. Tek başına sistein ise AsA/DHA oranını kökte ve gövdede azaltmıştır. Tek başına sistein DHA/AsA oranını kökte ve gövde de arttırmıştır.

5.2. Sonuç

Bu çalışmada arpanın bor stresine hassas bir türü olarak *Hordeum vulgare* L. Reyhan seçilmiştir.

Bor stresi bitkilerde büyüme parametrelerini (kök-gövde uzunluğu), total protein ve karbohidrat miktarlarını, prolin, antioksidantlar (OH^- , O_2^- ve H_2O_2), MDA, enzimatik (SOD, POD, CAT ve APX) ve enzimatik olmayan antioksidan (AsA ve DHA) madde miktarlarını etkileyerek stres neden olmaktadır.

Bor stresinin zararlı etkilerini gidermek için sistein amino asiti kullanılarak yukarıdaki parametreler karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve sistein uygulaması bor stresinin neden olduğu hasarları önemli ölçüde engellediği bulunmuştur.

Bu çalışma Sistein 'nin büyüme inhibisyonunu önlediğini, arpa tohumlarındaki oksidatif hasarı ortadan kaldırmada:

- a-) Sisteinin kendisi de antioksidant yapısından kaynaklı özelliği ile ROT seviyesini etkilemiş olabilir.
- b-) Sistein uygulaması antioksidant sistemi harekete geçirerek ROTları süpürme özelliği göstermiş olabilir.

Toksik seviyede bor içeren tarım alanlarında bor miktarının azaltılması için; düşük bor içeren sularla sulama yapılması, kalsiyum, azot, kireç, sülfatça zengin maddelerin ortama ilave edilmesi veya bor toleransı yüksek bitki çeşitlerinin ekilmesi önerilir.

Arpa bitkisine bor stresine maruz kaldığında sistein uygulamaları, büyümeyi tetikleyici bir madde olarak bitkide çalışılan fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ile bitki toleransının artırılmasına önemli bir katkı yaptığı belirlenmiştir.

Bu amaç için kullanılan sisteinin toksik olmaması, biyoyumumluluğu ve antioksidant, özelliklerinden dolayı şu ana kadar strese karşı uygulanan zararlı kimyasallar yerine kullanılması uygun bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- Acar, C. and Ozoguz S., 1999. A new versatile building block: current differencing buffered amplifier suitable for analog signal-processing filters. *Microelectronics Journal*, 2, 157-160.
- Acerbo, S., Kastori, R., Söchtig, H., Harms, H., Haider, K., 1973. Effect of boron on synthesis and transformation of lignin-precursors in *Zea mays*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 4, 306-317
- Aftab, T., Masroor, AM., Idrees, MK., Naeem, M., Hashmi, N. 2010. Boron induced oxidative stress, antioxidant defence response and changes in artemisinin content in *Artemisia annua* L. 196, 6 423–430.
- Agarwal, S., Pandey, V., 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 4, 555-560.
- Ahmed, M., Hassen, F., Qadeer, U., and Aslam, MA. 2008. Silicon application and drought tolerance mechanism of sorghum. *African Journal of Agricultural Research*, 6(3), 594-607.
- Akçam Oluk, E., Latif, N., 2009. Soya Fasulyesi (*Glycine Max* (L) *Merrill Var.* Umut 2002) Büyümesi ve gelişimi üzerine bor fazlalığının etkileri. *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatik etkileri. *Mimosa Yayınları*, Konya.
- Akoğlu, A., 2013. Bazı taze fasulye genotiplerinin bor uygulamalarına tepkileri. Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir.
- Aktas, M., Altay, K., Dumanli, N., 2005. Development of a polymerase chain reaction method for diagnosis of *Babesia ovis* infection in sheep and goats. *Vet. Parasitol*, 133, 277–281.
- Aldemir, G., 2015. Mısırdaki bor ve 24-epibl etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Muğla.
- Alıcı, Y., Öncel, I., 2008. Buğdayda bor toksisitesi ile fosfor arasındaki etkileşimin büyüme ve çözünür karbonhidratlar ile ilişkisinin incelenmesi. *Fen Bilimleri Dergisi*, 1, 18 sayfa.
- Alkan, A., Gültekin, I., Eker S., Kiral A.S., Bağcı S.A., Ekiz, H., 1995. Effects of zinc fertilization and irrigation on grain yield and zinc concentration of various cereals grown in zinc-deficient calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition*, 21, 2245-2256.
- Aono, M., Saji, H., Sakamoto, K., Tanaka, K., Kondo, N., Tanaka, K., 1995. Paraquat tolerance of transgenic *Nicotiana tabacum* with enhanced activities of glutathione reductase and superoxide dismutase. *Plant & Cell Physiology*, 8, 1687-1691.
- Apel, K. and Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review Of Plant Physiology And Plant Molecular Biology*, 55, 373-99.
- Ardıç, M., Sekmen, A.H., Tokur, S., Ozdemir, F., Turkan, İ., 2009. Antioxidant responses of chickpea plants subjected to boron toxicity. *Plant Biology*, 3, 328-338.

- Ari Baykal, S., Oncel, İ. 2006. Changes of soluble phenolic and soluble protein amounts on the tolerance of boron toxicity in wheat seedlings. Çukurova University, Faculty of Sciences Letters, Journal of Natural Sciences, 7(1): 13-25.
- Ashraf, M. And Foolad M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 2, 206-216.
- Atik, A.E., 2007. A proteomic approach for identifying boron-stress tolerant proteins in barley genotypes. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Ayvaz, M., 2009. Aşırı bor uygulamasının patateste (*Solanum Tuberosum L.*) enzimatik aktivite değişimleri ile protein ve oksin içerikleri üzerine etkileri. Doktora tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Babaoğlu, M., Şeker, C., Işık, Y., Gültekin, I., Acar, B., Çiftçi, N., Ceyhan, E., Yorgancılar, M., Akgün, N., Soylu, S., Topal, A., Sade, B., Önder, M., Harmankaya, M., Hamurcu, M., Dursun, N., Gezgin, S., 2002. Boron content of cultivated soils in central-southern anatolia and its relationship with soil properties and irrigation water quality. Boron in Plant and Animal Nutrition, 4, 391-400.
- Bagheri, A., Shemer, T., Wang, C., Palomares, A., Stephan, A., Kunz, H., 2016. Starch biosynthesis in guard cells but not in mesophyll cells is involved in CO₂-induced stomatal closing. Plant Physiology, 4.
- Baldus, M., Basahel, S., Weckhuysen, M., Asiri, A., Houben, K., 2016. Inside back cover: initial carbon-carbon bond formation during the early stages of the methanol-to-olefin process proven by zeolite-trapped acetate and methyl acetate. Angewandte Chemie, 51, 15929.
- Banci, L. 1997. Structural properties of peroxidases. Journal of Biotechnology 53, (2-3), 253-263.
- Başalp, A., 2005. Bugday fidelerinde bor toksisitesine toleransında çözünür karbonhidrat ve serbest prolin değişimlerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bates, L., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39, 205-207.
- Bellaloui, N., Brown, P.H., Hu, H., Dandekar, A., 1999. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to boron deficiency. Plant Physiology, 119.
- Bellaloui, N., Yadav, R.C., Chern, M., Hu, H., Gillen, A., Greve, C., Dandekar, A., Ronald, P., Brown, P., 2003. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem-boron mobility in rice. Physiologia Plantarum, 117, 79-84.
- Berger, K.C., 1949. Boron in soils and crops. Advances in Agronomy, 1, 321-351.
- Birnbaum, E.H., Dugger, W.M., Beasley, B., 1977. Interaction of boron with components of nucleic acid metabolism in cotton ovules cultured in vitro. Plant Physiology, 59.
- Blevins, D.G., Lukaszewski, K.M., 1998. Boron in plant structure and function. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49.
- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of botany, 91(2), 179-194.
- Bolanos, L., Lukaszewski, K., Bonilla, I., Blevins, D., 2004. Why boron? Plant Physiology and Biochemistry, 11, 907-912.

- Boşgelmez, A., Boşgelmez, İ. İ., Savaşçı, S., & Paslı, N. (2001). Ekoloji-II, Toprak. Başkent Klişe Matbaacılık, Ankara
- Bray, E.A., Bailey-Serres, J., Weretilnyk, E. 2000. Responses to abiotic stresses, Biochemistry and Molecular Biology of Plants, W. Gruissem, B. Buchanan, R. Jones (eds), American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, pp. 158-1249.
- Brown, P.H., Bellaloui, N., Wimmer, M.A., Bassil, E.S., Ruiz, J., Hu, H., Pfeffer, H., Dannel, F., Römhelt, V., 2002. Boron in plant biology. Plant Biology, 4, 205-223.
- Büyük, İ., Aydın, S., Aras, 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 69(2): 97-110.
- Cartwright, B., Zarcinas, B.A., Spouncer, L.R., 1986. Boron toxicity in South Australian barley crops. Australian Journal of Agricultural Research 37(4) 351 – 359
- Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Romero, L., Ruiz, J.M., 2007. Oxidative stress and antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants subjected to boron toxicity. Ann Bot, 100: 747-756.
- Chaudiere, J., Ferrari, R., 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. Food and Chemical Toxicology, 37, 949-962.
- Cheng, M., Chao, L.I., Zhou, L., Xie, S.C. 2015. Mo marine geochemistry and reconstruction of ancient ocean redox states Science China 58.
- Choi, W.S., Yan, M., Nusinow, D., Gralla, J.D. 2002. In vitro transcription and start site selection in *Schizosaccharomyces pombe*. Journal Molecular Biology, 319(5), 1005-13
- Cornwell, William K., *et al.* "Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide." Ecology letters 11.10 (2008): 1065-1071.
- Corpas, F.J., Hayashi, M., Mano, S., Nishimura, M., Barroso, J.B. 2001. Peroxisomes are required for in vivo nitric oxide accumulation in the cytosol following salinity stress of Arabidopsis plants. Plant Physiology, 151, 2083–2094.
- Costa, P., Neto, A., Bezerra, M. 2005. Antioxidant enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Braz. Journal of Plant Physiology 17(4), 353-362.
- Creissen, G., Broadbent, P., Stevens, R., Wellburn, A.R. and Mullineaux, P. 1996. Manipulation of glutathione metabolism in transgenic plants. Biochemical Society Transactions, 24, 465-469.
- Çakmak, I., Römhelt, V., 1997. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. Plant and Soil, 193, 71-83.
- Çetin, H., Cınbılgel, I., Yanıkoğlu, A., Gökçeoğlu, M., 2006. Larvicidal activity of some labiatae (*lamiaceae*) plant extracts from Turkey. Phytotherapy Research, 20, 1088-1090.
- Darbouret, D., Kano, I., 2000. Ultrapure water for boron- and silica-sensitive laboratory applications. American Laboratory, 32, 12-16.
- Davey, W. 2000. Katrien kenis, and Johan Keulemans genetic control of fruit vitamin C contents. Plant Physiology, 142(1), 343–351.
- Dehon, L., Macheix, J.J., and Durand, M. 2002. Involvement of peroxidases in the formation of the brown coloration of heartwood in *Juglans nigra*. Journal Experimental of Botany, 53, 303–311.

- Demiray, H., Dereboylu, A., 2005. Effects of excess and deficient boron and niacin on the ultrastructure of root cells in *Daucus carota* cv. Nantes. Turkish Journal of Botany , 37, 160-166.
- Deng, X. H., Liu, J. T., Huang, J. H., Zou, L., & Liu, N. H. (2010). Omnidirectional bandgaps in Fibonacci quasicrystals containing single-negative materials. Journal of Physics: Condensed Matter, 22(5), 055403.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K., Hailiu, R., 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 3010–3014.
- Dische Z., 1962. Color reaktionen of carbohydrates. Methods in carbohydrate chemistry, 1,475-514.
- Dixon, M. 2010. Confining and defining proprietary estoppel: the role of unconscionability. Legal Studies, 30(3), 408–420.
- Dogra, R. and A. Kaur, 1994. Effect of steroids on some growth and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. during germination. Field Crops Research, 8: 611-620.
- Dordas, C., Chrispeels, M., Brown, P., 2000. Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. Plant Physiology ,124.
- Durmuş, N., 2003. Büyüme yi düzenleyici maddelerin oksidatif stres üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Ediz N., Özdağ H., 2001. “Bor Mineralleri ve Ekonomisi” DPÜ, FBE. Dergisi, Kütahya.
- Edreva.A., 1998. Stress physiology ,definitions and concepts of Stress In ‘Symposium of molecular basis of stress physiology in plants. ‘4-32.(22-26 June , EBİLTEM, Bornova-İzmir,Turkey)
- Elstner, EF. and Heupel, A. 1976. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammonium chloride: a simple assay for superoxide dismutase. Analytical Biochemistry, 70, 616-620
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., Alpaslan, M. 2007 b. Boron toxicity alters nitrate reductase activity, proline accumulation, memberane permeability and mineral constituents of tomato and pepper plants. Journal of Plant Nutrition, 30: 981-994.
- Erkan, İ.,2014. Bor stresi altındaki arpa ve buğdayda silikon varlığının bitki fizyolojisi ile hücre zarı bor ve silikon taşıyıcıları üzerindeki etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü ,Isparta.
- Ermiş, İ., 2002. Bazı arpa çeşitlerinin çimlenme yüzdesi ve antioksidant enzim düzeylerine bor stresinin etkisi. Yüksek lisans tezi, Ege üniversitesi. Fen bilimleri enstitüsü, İzmir.
- Ersöz, S., 2009. Asma anaçlarında (*vitis sp.*) bor ve tuz stresine tolerans mekanizmalarının stresle ilgili fizyolojik parametreler ve antioksidan enzimlerle belirlenmesi.Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Esim, N., Tiryaki, D., Karadagoglu, O., Atici O.2012. Toxic effects of boron on growth and antioxidant system parameters of maize (*Zea mays* L.) roots. Toxicol Ind Health DOI 10.1177/0748233712442729.
- Eyidogan, F., Oktem, HA., Yiicel, M.2003. Superoxide dismutase activity in salt stressed wheat seedlings. Acta Physiologiae Plantarum 25 (3), 263-269.

- Foyer, CH. and Noctor G. 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context *Plant, Cell and Environment*, 28, 1056–1071.
- Frova, C. 2006. Glutathione transferases in the genomics era: new insights and perspectives, *Biomolecular Engineering*, 2006 Sep;23(4), 149-69
- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inzé, D., Dukiandjiev, S., Toneva, V., and Minkov, I. 2003. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cellular Molecul Life Science*, 59, 708–714
- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inze', D., Dukiandjiev, S., Toneva, V., Minkov, I. 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 708–714.
- Gence, C., 2015. T. Spelta genotiplerinin bor toksisitesine karşı dayanıklılıklarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Genisel, M., Kizilkaya, M., 2014. The mitigating effect of sisteintine on growth inhibition in salt-stressed barley seeds is related to its own reducing capacity rather than its effects on antioxidant system. *Plant Growth Regulation*, 75, 187-197.
- Gezgin, S., Babaoğlu, M., Hakkı, E., Akgün, N., Topal, A., Sade, B., Soylu, S., 2002. Responses of irrigated durum and bread wheat cultivars to boron application in a low boron calcareous soil. *Academic Journals*.
- Gill, SS., and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemistry*, 48(12), 909-30
- Goldberg, D., Sun Y.F., 1997. Effects of aspect ratio on wave velocities in fractured rocks. *SEG Technical Program Expanded Abstracts*, 925-928.
- Gong, Y., Toivonen, P.M.A., Lau, O.L., Wiersma, P.A., 2001. Antioxidant system level in 'Braeburn' apple in related to its browning disorder. *Botanical bulletin of Academia Sinica*, (42). 259-264
- Gonzalez-Fontes, A., Rexach, J., 2008. Boron in plants: Deficiency and Toxicity. *Journal of Integrative Plant Biology*, 10, 1247-1255
- Gunes, A., Alpaslan, M. 2000. Boron uptake on toxicity in maize genotypes in relation to boron and phosphorus supply. *J. Plant Nutr.*, 23 (4): 541- 550.
- 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, 279-284.
- Gunes, A., Soylemezoglu, G., Inal, A., Bagci, EG., Coban, S., Sahina O., 2006, Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) To boron toxicity, *Scientia Horticulturae* Volume 110, Issue 3, 8 November 2006, Pages 279-284.
- Güneş, 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, 279-284.
- Güler, NS., 2008. *Ctenanthe setosa*'da yaprak kıvrılması sırasında apoplastik ve simplastik alanlarda antioksidan sistemde meydana gelen değişimler. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

- Güneş, A., Alpaslan, M., İnal, S. 2002. Plant nutrition and fertilization. Ankara, Turkey: Ankara Univ Fac of Agric Press No:1526 (in Turkish).
- Hagar, J., Howlinb, S., Ganio, L. 1996. Short-term response of songbirds to experimental thinning of young Douglas-fir forests in the Oregon Cascades. *Forest Ecology and Management*, 199, 333–347
- Halliwell, B. 2006. Reactive Species and Antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141, 312–322.
- Halliwell, B., and Gutteridge J M .1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal* 219(1),1–14.
- Halliwell, B., and Gutteridge., JMC. 1999. Free radicals in biology and medicine: Oxford University Press
- Han, L. L., Wang, E. T., Han, T. X., Liu, J., Sui, X. H., Chen, W. F., & Chen, W. X. (2009). Unique community structure and biogeography of *soybean rhizobia* in the saline-alkaline soils of Xinjiang, China. *Plant and soil*, 324(1-2), 291-305.
- Han, S.W., Seo, J.S., Jung, C., 2008. Overexpression of AtMYB44 enhances stomatal closure to confer abiotic stress tolerance in transgenic Arabidopsis. *Plant Physiology* ,146.
- Haque, A., Ghani, M.O., 1945. Studies on the boron status of some Bengal soils. *Indian J Agric Sci.* 15 : 257-62.
- Hare, PD. And Cress ,WA. 1997. Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 21, 79–102.
- Harite, Ü., 2008. Pamukta bor toksisitesine dayanıklılık. Yüksek Lisans Tezi.Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Hayes, J.E., Reid, R.J., 2004. A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant, Cell&Environment*, 27,1405-1414
- Heath, RL. and Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125(1), 189-198
- Helvacı, Ş.Ş., Peker, S., Özdemir, G., 2004. Effect of electrolytes on the surface behavior of rhamnolipids R1 and R2. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*,34,225-233.
- Higashi, T., Kawamata, F., Sakamoto, T., 1974. Studies on Rat Liver Catalase. VII. Double-Labeling of Catalase by ¹⁴C-Leucine and ³H-d- Aminolevulinic Acid. *Journal Biochemistry*, 76, 703-708,
- Hodges, D.M., Andrews, C.J., Johnson, D.A., Hamilton, R.I., 1996. Antioxidant compound responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines. *Plant Physiology*,98, 685-692
- Hong, CY., Hsu, YT., Tsai, YC., Kao, CH. 2007. Expression of ascorbate peroxidase 8 in roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings in response to NaCl. *Journal of Experimental Botany* , 58,3273-3283.
- Hu G, Richter TE, Hulbert SH, Pryor T. Disease lesion mimicry caused by mutations in the rust resistance gene rp1. *Plant Cell.* 1996 Aug;8(8):1367–1376.
- Hu, H., Brown, P. H. (1994) Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin. *Plant Physiol.* 105, 681-689.
- Hu, H., Brown, P., 1994. Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin (Evidence for a Structural Role of Boron in the Cell Wall). *Plant Physiology* ,105.

- Hu, H., Brown, P., 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil*, 193,49-58.
- Jaleel, CA., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H J., Somasundaram, R., and Panneerselvam R. 2008. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition international journal of agriculture and biology, 11(1),100–105.
- Jaleel, CA., Sankar, B., Murali, PV. Gomathinayagam, M., Lakshmanan, GMA. and Panneerselvam, R. 2007. Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus*; impacts on ajmalicine accumulation. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 62: 105–111
- Jones, H. G. (1984, September). Physiological mechanisms involved in the control of leaf water status: implications for the estimation of tree water status. In *International Symposium on Water Relations in Fruit Crops* 171 (pp. 291-296).
- Kaptan, M.A., 2013. Pamukta (*Gossypium hirsutum* L.) Bor toksisitesi ve humik madde uygulamasının etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın
- Karabal, E., Yücel, M., Öktem, H.A., 2003. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Science* ,164,925-933.
- Keleş, S., Kaygusuz , K., Bilgen, S., Ocak, Z., Ocak, M., 2004. Energy utilization, environmental pollution and renewable energy sources in Turkey. *Energy Conservation and Management*,45, 845-864.
- Keren, R.,Bingham, F.T., 1985. Boron in water, soils, and plants. *Advances in Soil Science*, 1 229-276
- Keskin, H., 2010. Arpa Çeşitleri (*Hordeum vulgare*) ile Çorak Çimi'nde (*Puccinellia distans*) bor toksisitesinin temel fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere etkisinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Kim, J., Bortz, E., Zhong, H., Leeuw, T., Leberer, E., Vershon, AK., and Hirsch, JP. 2000. Localization and signaling of Gb Subunit Ste4p are controlled by a-Factor receptor and the a-specific protein Asg7p molecular and cellular biology. (20)23, 8826–8835
- Kobayashi, M.,Kawaguchi, S., Matoh, T., 1996. Ubiquity of a borate-Rhamnogalacturonan II Complex in the cell walls of higher plants. *Plant and Cell Physiology*, 37,636-640.
- Koca, H. 2002, Tuz stresinin farklı domates (*Lycopersicon*) genotiplerind fizyolojik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir
- Kohl, H C., Oertli, JJ. 1961. Distribution of boron in leaves. *Plant Physiol.* 36, 420–424.
- Kumar, S., Dhankhar, S., Arya, VP., Yadav, S., and Yadav, JP. 2011.Antimicrobial activity of *Salvadora oleoides* Decne against some microorganisms. *Journal of Medicinal Plants Research* , 6(14), 2754-2760.
- Kurt, F., 2015. Kükürt uygulamasının pamukta (*Gossypium hirsutum* L.) bor toksisitesine etkisi. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- Kuru, Hİ., 2007. Arseniğin insan ve bazı canlılarda oksidatif enzimler üzerine etkileri. Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya
- Kuzu, İ., 2015. İki farklı bryofit türünün fotosentetik pigment içeriği ve antioksidan mekanizması üzerine ağır metallerin (bakır ve kurşun) etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

- Landi, L., Santini, M., Feliziani, E., Romanazzi, G., 2013. Pre- and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 78, 133-138.
- Läuchli, A. "Functions of boron in higher plants: recent advances and open questions." *Plant Biology* 4.02 (2002): 190-192.
- Lazarow, P.B, Fuziki, Y., 1985. Biogenesis of peroxisomes. *Annual Review of Cell Biology*. vol 1, 489-530.
- Lee, J. B., Park, K. K., Eum, H. M., & Lee, C. W. (2006). Desalination of a thermal power plant wastewater by membrane capacitive deionization. *Desalination*, 196(1-3), 125-134.
- Lemarchand, P., Woods, A., Foretz, M., Stein, S., Carling, D., 2000. Characterization of the role of AMP-activated protein kinase in the regulation of glucose-activated gene expression using constitutively active and dominant negative forms of the kinase. *Molecular and Cellular Biology*, 20, 6704-6711.
- Lewitt, J., 1980. Responses of plants to environmental stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses
- Loomis, W. David, and R. W. Durst. "Chemistry and biology of boron." *BioFactors* (Oxford, England) 3.4 (1992): 229-239.
- Lukaszewski, K. M., Blevins, D. G., 1996. Root growth inhibition in boron-deficient or aluminum-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism. *Plant Physiology*, 112 (3) 865-869.
- Lukatkin, AS., Brazaitytė, A., Bobinas, Č., Duchovskis, P., 2001. Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review *Žemdirbystė=Agriculture* 99(2), 111–124.
- Ma. Fengshan, Enstone, Daryl E., Carol A. Peterson, "Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment." *Journal of Plant Growth Regulation* 21.4 (2002): 335-351.
- Mahboobi, H., Yücel, M., Öktem, HA. 2000. Changes in total protein profiles of barley cultivars in response to toxic boron concentration, *Journal of Plant Nutrition*, 23(3): 391-399
- Marschner ,H., 1995. Mineral nutrition of higher plants, 2nd edn. San Diego: Academic Pres.
- Matoh, T. (1997) Boron in plant cell walls. *Plant and Soil* 193, 59-70.
- Mcclung ,C.R., 1997. Regulation of catalases in *Arabidopsis*. *Free Radicals in Biology and Medicine* 23, 489-494
- Miçillioğlu, S., 2010. *Lactuca sativa* bitkisi kullanılarak bor konsantrasyonu yüksek suların arıtılabilirliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Minibaeva, F.V. and Gordon L.Kh., 2003a. Superoxide production and the activity of extracellular peroxidase in plant tissues under stress conditions. *Russ. J. Of Plant Physiology*, 50(3), 411-416.
- Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G., & 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.
- Mondy, NI. Munshi, CB. 1993. Effect of boron on enzymatic discoloration and phenolic and ascorbic acid content of potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 41: 554-556.

- Nable, R. O., Banuelos, G. S., Paull, J. G. (1997) Boron toxicity. *Plant and Soil* 193, 181-198.
- Nable, Ross O. "Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: a preliminary examination of the resistance mechanism." *Plant and soil* 112.1 (1988): 45-52.
- Nachiangmai, Duangjai, *et al.* "Enhanced boron transport into the ear of wheat as a mechanism for boron efficiency." *Plant and soil* 264.1 (2004): 141-147.
- Niemi, Richard G., and M. Kent Jennings. "Issues and inheritance in the formation of party identification." *American Journal of Political Science* (1991): 970-988.
- Nishiyama, H., Danno, S., Kaneko, Y., Itoh, K., Yokoi, H., Fukumoto, M., Okuno, H., Millán, J.L., Matsuda, T., Yoshida, O., Fujita, J. 1998. Decreased expression of cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) in male germ cells at elevated temperature. *American Journal of Pathology* 152(1), 289-296.
- O'neil R. J., Ragsdale, David W., David J. Voegtlin, and. "Soybean aphid biology in North America." *Annals of the Entomological Society of America* 97.2 (2004): 204-208.
- Ölçer, H., & Kocaçalışkan, İ. (2007). Excess boron reduces polyphenol oxidase activities in embryo and endosperm of maize seed during germination. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 62(1-2), 111-115.
- Özel, M., 2011. Bor kirliliğinin *zea mays* L. Üzerindeki etkilerinin fizyolojik ve biyokimyasal analizlerle incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Parr, A. J., B. C. Loughman. "Boron and membrane function in plants." *Metals and micronutrients: uptake and utilization by plants*/edited by DA Robb and WS Pierpoint (1983).
- Paull, E., Staswick, S. W., & Howell, S. H. (1992). Methyl jasmonate inhibition of root growth and induction of a leaf protein are decreased in an *Arabidopsis thaliana* mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(15), 6837-6840.
- Ralston, N. V. C., & Hunt, C. D. (2000). Biological boron interactions: charge and structure characteristics required for boron ester formation with biomolecules. *FASEB Journal*, 14, A538
- Ranieri, A., Castagna, A., Scebba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., ... & di Toppi, L. S. (2005). Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(1), 45-54.
- Rascio, A., Plantani, C., Sealfati, G., Tonti, A. Di Fonzo, N. 1994. The accumulation of solutes and water binding strength in durum wheat. *Physiol. Plant.* 90: 554-558.
- Reid, R. (2007). Identification of boron transporter genes likely to be responsible for tolerance to boron toxicity in wheat and barley. *Plant and cell physiology*, 48(12), 1673-1678.
- Reid, R. J., Bayes, J. E., Post, A., Stangoulis, J. C. R., Graham, R. D. (2004) A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant Cell and Environment* 25, 1405-1414.
- Reid, R. J., Fitzpatrick, K. L., (2009). The involvement of aquaglyceroporins in transport of boron in barley roots. *Plant, cell & environment*, 32(10), 1357-1365.

- Robertson, S. (2004). Understanding inverse document frequency: on theoretical arguments for IDF. *Journal of documentation*, 60(5), 503-520.
- Roessner, U., Patterson, J. H., Forbes, M. G., Fincher, G. B., Langridge, P., & Bacic, A. (2006). An investigation of boron toxicity in barley using metabolomics. *Plant physiology*, 142(3), 1087-1101.
- Rout, M. P., Aitchison, J. D., Suprpto, A., Hjertaas, K., Zhao, Y., & Chait, B. T. (2000). The yeast nuclear pore complex. *The Journal of cell biology*, 148(4), 635-652.
- Rowe, R. I., & Eckhert, C. D. (1999). Boron is required for zebrafish embryogenesis. *Journal of experimental biology*, 202(12), 1649-1654.
- Ruiz, J. M., Rivero, R. M., & Romero, L. (2003). Preliminary studies on the involvement of biosynthesis of sisteinteine and glutathione concentration in the resistance to B toxicity in sunflower plants. *Plant Science*, 165(4), 811-817.
- Ruiz-Lozano, J. M. & Porcel, R., (2004). Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1743-1750.
- Sağlam, M. T., Bahtiyar, M., Cangir, C., & Tok, H. A. (1993). Toprak Bilimi. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi, 1, 2-3
- Sairam, R. K., G. C. Srivastava, and D. C. Saxena. "Increased antioxidant activity under elevated temperatures: a mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes." *Biologia Plantarum* 43.2 (2000): 245-251
- Sakal, R., and A. P. Singh. "Boron research and agricultural production. "Micronutrient research and agricultural production (1995): 1-31.
- Seckin, Z. E., & Volkan, M. (2005). Flow injection fluorescence determination of dopamine using a photo induced electron transfer (PET) boronic acid derivative. *Analytica chimica acta*, 547(1), 104-108.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Shao, M. A., Jaleel, C. A., & Hong-mei, M. (2006). Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Comptes rendus biologies*, 331(6), 433-441.
- Sharma, P., Jha, AB., Dubey, RS. and Pessarakli, M. 2012.Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany ID 217037*, 26 pages
- Shelp, B. J. & Brown, P. H., 1997. Boron mobility in plants. *Plant and soil*, 193(1), 85-101.
- Shelp, B. J., 1993. Physiology and biochemistry of boron in plants. In boron and its role in crop protection. Ed. U C Gupta. pp 53-85. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Shkolnik, M.J., 1974. Microelements in plant life. Izd. Nauka, Leningrad, 1974 323–354.
- Silva, P. F. N., Lobato, E. M. S. G., Souza, P. R., dos Santos, H. J. M., Braga, R. O., dos Santos Moura, A., & da Silva Lobato, A. K. (2016). Proline but not Glutathione Actively Participates in the Tolerance Mechanism of Young. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1), 215.
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Sakran, A. M., Ali, H. M., Basalah, M. O., Faisal, M., ... & Al-Amri, A. A. (2013). Calcium-induced amelioration of boron toxicity in radish. *Journal of plant growth regulation*, 32(1), 61-71.
- Slesak, R. A., Schoenholtz, S. H., & Harrington, T. B. (2011). Soil carbon and nutrient pools in Douglas-fir plantations 5 years after manipulating biomass and

- competing vegetation in the Pacific Northwest. Forest ecology and management, 262(9), 1722-1728.
- Sotiropoulos, T. E., Therios, I. N., Almaliotis, D., Papadakis, I., & Dimassi, K. N. (2006). Response of cherry rootstocks to boron and salinity. Journal of plant nutrition, 29(9), 1691-1698.
- Stahl, W., & Sies, H. (2002). Carotenoids and protection against solar UV radiation. Skin Pharmacology and Physiology, 15(5), 291-296.
- Stangoulis, J.C.R., Reid, R.J 2002. Boron toxicity in plants and animals. In: Goldbach HE et al (eds) Boron in plant and animal nutrition. Kluwer Academic Press, New York, pp 227-240
- Stevens, M. H. H., & Carson, W. P. (2002). Resource quantity, not resource heterogeneity, maintains plant diversity. Ecology Letters, 5(3), 420-426.
- Streb, P., Michael-Knauf, A., & Feierabend, J. (1993). Preferential photoinactivation of catalase and photoinhibition of photosystem II are common early symptoms under various osmotic and chemical stress conditions. Physiologia Plantarum, 88(4), 590-598.
- Şahin, Ö., 2009. Farklı asma anaçları üzerine aşılı sultani çekirdeksiz (*vitis vinifera* L) üzüm çeşidinin bor ve tuz stresine tolerans mekanizmalarının stresle ilgili fizyolojik parametreler ve antioksidan enzimlerle belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Taiz, L. Zeiger. 2002. Plant physiology, 3.
- Tepe, M., & Aydemir, T. (2011). Antioxidant responses of lentil and barley plants to boron toxicity under different nitrogen sources. African Journal of Biotechnology, 10(53), 10882-10891.
- Tepe, M., 2010 Bor stresi uygulanmış bitkilerde (kırmızı mercimek ve arpa) farklı azot kaynaklarının ve bazı nutrient ilavelerinin büyüme ve stres parametreleri üzerine etkisinin incelenmesi ve karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Thomas, M., & Waage, J. (1996). Integration of biological control and host plant resistance breeding: a scientific and literature review. CTA.
- Turan, M., & Aydın, A. (2005). Effects of different salt sources on growth, inorganic ions and proline accumulation in corn (*Zea mays* L.). European Journal of Horticultural Science, 149-155.
- Türküsay, H., Tosun, N., ve Saygılı, H., 2005. Hidrojen peroksit uygulamalarında domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı (*Clavibacter michiganensis ssp.michiganensis* (Smith) Davis et al)'na etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, Cilt:42, No:2. 1018-8851, 45-56s.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151, 59-66.
- Wang, G., Romheld, V., Li, C., Bangerth, F. 2006. Involvement of auxin and CKs in boron deficiency induced changes in apical dominance of pea plants (*Pisum sativum* L.). J. Plant Physiol. 163, 591-600.
- Wang, JZ., Tao, ST., Qi, KJ., J. Wu, HQ., Wu, Zhang, SL. 2011, Changes in photosynthetic properties and antioxidative system of pear leaves to boron toxicity, African Journal of Biotechnology, Vol 10, No 85; 19693-19700.

- Whetten, R. W., MacKay, J. J., & Sederoff, R. R. (1998). Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annual review of plant biology*, 49(1), 585-609.
- Wimmer, M. A., Mühling, K. H., Läuchli, A., Brown, P. H., & Goldbach, H. E. (2003). The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. *Plant, Cell & Environment*, 26(8), 1267-1274.
- Woods, D. R. (1994). Problem-based learning: How to gain the most from PBL. DR Woods.
- Wu, Z., Irizarry, R. A., Gentleman, R., Martinez-Murillo, F., & Spencer, F. (2004). A model-based background adjustment for oligonucleotide expression arrays. *Journal of the American statistical Association*, 99(468), 909-917.
- Yee, Y., Tam, NFY., Wong, YS., Lu, CY., 2002. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguira gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany*, 1-13
- Yılmaz, C. 2017 . Ağır Metallerin *Pinus brutia* Ten. iğne yapraklarında, glutatyon S-transferaz enzimleri üzerindeki tekil ve bazı bütünlük inhibisyonları. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi
- Yordanova, R.Y., Christov, K.N., Popova L.P., 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 51, 93-101
- Yoshida, S., Mandel, T., & Kuhlemeier, C. (2011). Stem cell activation by light guides plant organogenesis. *Genes & Development*, 25(13), 1439-1450.
- Youssefian, S., Nakamura, M., Orudjev, E., & Kondo, N. (2001). Increased sisteintine biosynthesis capacity of transgenic tobacco overexpressing an O-acetylserine (thiol) lyase modifies plant responses to oxidative stress. *Plant Physiology*, 126(3), 1001-1011.
- Yusuf, N. A., Annuar, M. S., & Khalid, N. (2011). Rapid micropropagation of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. Kulturpfl.(a valuable medicinal plant) from shoot bud explants. *African Journal of Biotechnology*, 10(7), 1194-1199.
- Zinn, KE., Tunc-Ozdemir, M., Harper JF., 2010. Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links, *Journal of Experimental Botany*, 61(7), 1959–1968.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Erzurum’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum’da tamamladı. 2008 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden 2012 yılında mezun oldu. 2012 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı ve halen öğrenimine devam etmektedir.

