

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BOR STRESİ UYGULANMIŞ BİTKİLERDE (KIRMIZI MERCİMEK
VE ARPA) FARKLI AZOT KAYNAKLARININ VE BAZI
NUTRIENT İLAVELERİNİN BÜYÜME VE STRES
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUAMMER TEPE

Anabilim Dalı : KİMYA

Programı : BİYOKİMYA

MANİSA 2010

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BOR STRESİ ALTINDAKİ KIRMIZI MERCİMEK VE ARPA
BİTKİLERİNE FARKLI AZOT KAYNAKLARININ
UYGULANMASININ BAZI FİZYOLOJİK VE ENZİMATİK
PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ VE
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MUAMMER TEPE

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 11/06/2010

Tezin Savunulduğu Tarih : 17/06/2010

Tez Danışmanı : Prof. Dr. TÜLİN AYDEMİR

Diğer Jüri Üyeleri : Doç. Dr. FUNDA KOSOVA

Doç. Dr. NERİMAN BAĞDATLIOĞLU

MANİSA 2010

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER	I
SEMBOL LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
TABLO LİSTESİ	VI
TEŞEKKÜR	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
1.GİRİŞ	1
1.1. Bitkide Azot	2
1.2. Stres Terminolojisi ve Strese Tepki	3
1.3. Bitkide Bor	4
1.3.1. Bor Alımı	4
1.3.2. Bor Taşınımı	6
1.3.3. Borun metabolik işlevleri	8
1.3.4. Bor-Azot Etkileşimi	11
1.4. Oksidatif Stres ve Oksijenin Aktifleşmesi	11
1.4.1 Hücrelerde Reaktif Oksijen Üretimi	13
2. MATERYAL ve METOD	21
2.1. Materyal	21
2.1.1. Bitki Büyütme Koşulları	21
2.1.2. Ham Ekstraktın Hazırlanması	22
2.2. Metod	22
2.2.1. Büyüme Parametreleri	22
2.2.2. Metal Analizi Tayini	22
2.2.3. Hidrojen Peroksit İçeriğinin Belirlenmesi	22
2.2.4. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi	23
2.2.5. Lipid Peroksidasyonu	23
2.2.6. Antioksidan Enzim Aktivite Ölçümleri	23
2.2.6.1. Süperoksit Dismutaz	23
2.2.6.2. Askorbat Peroksidaz	24
2.2.6.3. Guasikol Peroksidaz	25
2.2.6.4. Lipoksigenaz	25
2.2.6.5. Katalaz	25
2.2.7. Fotosentetik Pigment Tayini	26
2.2.8. İstatistiksel Analiz	26
3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	26
3.1: Bor Stresine Maruz Bırakılmış Kırmızı Mercimek ve Arpa Bitkilerinin Büyüme Ortamındaki Azot kaynağının Değiştirilmesinin Etkileri	26
3.1.1. Büyüme Parametreleri	26
3.1.2. Metal İçerikleri	28
3.1.3: MDA, Hidrojen Peroksit ve Prolin Değişimleri	32
3.1.4: Süperoksit Dismutaz, Askorbat Peroksidaz, Guasikol Peroksidaz ve Katalaz Aktivitelerinin Değişimleri	36
3.1.5: Toplam Klorofil Değişimi	41
3.2: Bor Stresine Maruz Bırakılmış Kırmızı Mercimek ve Arpa Bitkilerinin Büyüme Ortamındaki Azot kaynağının Değiştirilmesi Büyüme Ortamına Kalsiyum İlavesinin Etkileri	42
3.2.1: Büyüme Parametreleri	42
3.2.2: Metal İçerikleri	44
3.2.3: MDA, Hidrojen Peroksit ve Prolin Değişimleri	49
3.2.4: Süperoksit Dismutaz, Askorbat Peroksidaz, Guasikol Peroksidaz, Katalaz Glutasyon Peroksidaz, Lipoksigenaz Aktivitelerinin Değişimleri	54

3.2.5: Toplam Klorofil Değişimi	62
3.3: İstatiksel Analiz Verileri, Değerlendirilmesi ve Yorum	64
4. KAYNAKLAR	66
5. ÖZGEÇMİŞ	76

SEMBOL LİSTESİ

cm	santimetre
ml	mililitre
nm	nanometre
A_{240}	240 nm deki absorbans değeri
$^{\circ}\text{C}$	santigrat derece
μl	mikrolitre
μmol	mikromol
μM	mikromolar
ε	molar sönüm katsayısı
mM	milimolar

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.4.1: Oksijenin aktivasyon durumları (Mc Kersie ve Leshem, 1994).

Şekil 1.4.2: Enzim Aktivitesi

Şekil 3.1.1: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının filizlerdeki 7.gün % relatif büyüme hızı üzerine etkisi.

Şekil 3.1.2: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının köklerdeki 7.gün % relatif büyüme hızı üzerine etkisi.

Şekil 3.1.3: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün MDA miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.1.4: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün prolin miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.1.5: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün H_2O_2 miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.1.6: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.1.7: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün askorbat peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.1.8: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün guasikol peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.1.9: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün lipoksigenaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.1.10: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün katalaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.1.11: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.1: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin filizlerdeki 7.gün % relatif büyüme hızı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.2: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin filizlerdeki 7.gün % relatif büyüme hızı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.3: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün MDA miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.4: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün MDA miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.5: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün prolin miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.6: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün prolin miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.7: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün H₂O₂ miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.8: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün H₂O₂ miktarı üzerine etkisi.

Şekil 3.2.9: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.10: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.11: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün askorbat aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.12: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün askorbat peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.13: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün guasikol peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.14: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün guasikol peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.15: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün lipoksigenaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.16: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün lipoksigenaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.17: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün katalaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.18: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün katalaz aktivitesi üzerine etkisi.

Şekil 3.2.19: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.

TABLO LİSTESİ

Tablo:1.4.1.1: Bitkilerde ROS oluşumu, lokalizasyonu ve uzaklaştırılması (Mitler, 2002).

Tablo:3.1.1: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün metal içerikleri üzerine etkisi.

Tablo:3.2.1: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün metal içerikleri üzerine etkisi.

Tablo:3.2.2: Bor stresi altındaki kırmızı arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün metal içerikleri üzerine etkisi.

Tablo:3.3.1: Mercimek filiz ve kök parametrelerinin korelasyon testi

Tablo:3.3.2: Arpa filiz ve kök parametrelerinin korelasyon testi

Tablo: 3.3.3: Azot kaynağı değişiminin parametreler için korelasyon testi

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince büyük özveri ile bana yardımcı olan danışman hocam Prof. Dr. Tülin AYDEMİR' e, tez çalışmam boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen en sevdiğim insana ve aileme teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

Bu çalışmada, kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine 5 ve 10 mM bor stresi uygulanması üzerine değişik azot kaynaklarının ve kalsiyumun etkisini inceledik. On gün çimlendirilmiş kırmızı mercimek(yerli) ve arpa(tokak) bitkileri 16 saat ışık-8 saat karanlık büyüme çemberinde 7 gün boyunca bor stresi ile farklı azot kaynaklarına(10 mM azot içeren NH_4Cl , KNO_3 , Üre) ve değişik konsantrasyonlarda (8 ve 10 mM) kalsiyuma maruz bırakıldı.

Bor stresi uygulanan kırmızı mercimek bitkilerinin azot kaynaklarının değiştirilmesi sonucunda filizlerinde(yaprak+gövde) ve köklerinde kontrol gruplarına göre askorbat peroksidaz ve katalaz aktivitelerinin düştüğü ($p<0,05$) belirlendi. Arpa bitkilerinin filiz ve köklerinde ise katalaz ve askorbat peroksidaz aktivitelerin artış olduğu tespit edildi, süperoksit dismutaz, guasikol peroksidaz, lipoksigenaz aktivitelerinin ise her iki bitkinin filiz ve köklerinde bor stresi ile arttığı belirlendi ($p<0,01$). MDA, H_2O_2 , prolin miktarlarında da artış ($p<0,05$) gözlenmiştir. % Relatif büyüme hızında da bor stresine bağlı olarak azalmalar ($p<0,05$) belirlendi. Fotosentetik pigmentlerde ise bor stresine bağlı olarak azalmalar($p<0,01$) belirlendi. Kırmızı mercimek bitkisinde ki değişimler arpa bitkisine göre daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Ayrıca NH_4^+ azot kaynaklı örneklerde ki değişimin diğer gruplara göre daha düşük seviyede olduğu tayin edilmiştir.

Bor stresi uygulanan kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin azot kaynaklarının değiştirilmesi üzerine kalsiyum ilavesinin incelenmesinde ise filizlerinde ve köklerinde kontrol gruplarına göre askorbat peroksidaz ve katalazda aktivitelerinde artışlar($p<0,05$), süperoksit dismutaz ve guasikol peroksidaz aktivitelerinde azalmalar gözlemlendi. MDA, H_2O_2 , prolin miktarlarında da azalmalar ($p<0,05$) belirlendi. % Relatif büyüme hızında ve toplam klorofil miktarında kalsiyum konsantrasyonuna bağlı olarak artışlar ($p<0,05$) belirlendi. İki bitkiyi kıyaslayacak olursak mercimek bitkisindeki değişimler arpa bitkisine göre daha yüksek düzeyde belirlendi. Ayrıca azot kaynakları açısından değerlendirecek olursak KNO_3 kullanılan örneklerde ki değişimin diğerlerine oranla daha yüksek düzeyde ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Bor toksisitesinin yüksek olduğu topraklarda NH_4^+ azot kaynaklı gübrelerin kullanılması ya da kalsiyum ilaveli KNO_3 azot kaynaklı gübrelerin kullanılması, yapılan denemeler sonucunda daha uygun bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan enzimler, amonyum, nitrat, üre, bor toksisitesi, Ca etkisi, mercimek (*Lens culinaris*), arpa (*Hordeum Vulgare*)

Abstract

In this study, the effects of different nitrogen sources on lentil and barley plants, which were exposed to 5 and 10 mM boron stress previously, were studied. After ten-day germination, the lentil (Native) and arpa (Tokak157/37,) were incubated 16-hour lighted and 8-hour darkened per day for 7-day growth cycle under the conditions of boron stress via different nitrogen sources (10 mM nitrogen in NH_4Cl , KNO_3 , Urea). As consequence of changes in nitrogen sources of the plants, The effect of boron toxicity on the activities of SOD, GPX and LOX was the similar in the two species but the levels of CAT and APX activities were different in both species under 5 and 10 mM boron stress ($p<0,01$). SOD, GPX and LOX activities increased in the roots and shoots of boron treated plants as compared with the controls ($p<0,01$). The concentrations of MDA, H_2O_2 , and proline showed increases ($p<0,05$). There were determined decreases in the relative growth rate (%), and photosynthetic pigments related to boron stress, ($p<0,05$) and ($p<0,01$) respectively. The changes in the lentil were obtained much more than those in the barley. In addition, the changes in the groups in which NH_4^+ was used as nitrogen source were obtained at lowest levels. The effects of Ca addition on the certain parameters were examined via changing the nitrogen sources of the lentil and barley plants,. Addition of Ca led to changes in ascorbat peroxidase and catalase activities in shoots and roots of the boron-stressed lentil and barley plants, were obtained higher than the control groups ($p<0,05$), while superoxide dismutase and guasikol peroxidase showed lower activities. The concentrations of MDA, H_2O_2 , and proline showed decreases ($p<0,05$). There were determined increases in the relative growth rate (%), and photosynthetic pigments related to calcium concentrations, ($p<0,05$) for both of them. The changes in the lentil were obtained much more than those in the barley. In aspect of nitrogen sources the highest changes were obtained at the groups in which NO_3^- was used as a nitrogen source.

As a conclusion, the fertilizers which contain NH_4^+ , or Ca added NO_3^- as a nitrogen source should be used in the boron stressed farmlands.

Key word: Boron toxicity, antioxidant enzymes, nitrate, ammonium, urea, barley (*Hordeum Vulgare*), lentil (*Lens culinaris*)

1. GİRİŞ

Stres (baskı) faktörleri, bitkileri yaşamlarının herhangi bir döneminde ortaya çıkarak etkileyen ancak değişik tepkilerin alınmasına yol açabilen diğer bir deyişle özellikleri birbirine benzemeyen bitkileri değişik olarak etkileyen çevresel etmenlerdir. Doğadaki çok çeşitli biyotik ve abiyotik çevre etmenleri bitkilerde strese neden olurlar. Biyotik ve abiyotik stres etmenlerinin etkisi altında bitkilerde ortaya çıkan değişimler de stres olarak tanımlanır. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, üründe nitelik ve nicelik kaybına (ürün kalitesinin ve miktarının azalmasına), bitkinin ve ya organlarının ölümüne yol açabilmektedir (Levitt, 1980). Stres etmenlerinin oluşturduğu zarar bitkinin çevreye genetik adaptasyon derecesine bağlı olarak değişir. Bu olgu değişik bitkilerin değişik bölgelerde en iyi şekilde yetişmelerini belirleyen temel faktördür. Strese dayanıklılık mekanizması bitkilerde iki şekilde etkili olmaktadır. Bitkiler ya geliştirdikleri önleyici mekanizmalarla stres faktörlerinin etkinliğini önlemekte ya da tolerans mekanizmalarıyla karşı koymakta ve yaşamlarını sürdürmektedirler.

Mikro elementler arasında ametal olan tek bitki besin maddesi B'un yüksek bitkiler için bitki besin maddesi olarak mutlak gerekliliği yaklaşık 87 yıl önce Warington (1923) tarafından belirlenmiş olmasına karşın bitki bünyesindeki fonksiyonları hâlâ tam olarak anlaşılmış değildir. Günümüzdeki bilgilere göre bor bitki bünyesinde, karbonhidrat ve protein metabolizmasında, doku farklılaşmasında, oksin ve fenol metabolizmasında, membran geçirgenliğinde, polen çimlenmesinde ve polen tüpü büyümesinde önemli roller üstlenmektedir (Marschner, 1995). Bitki bünyesindeki bu önemli işlevleri nedeniyle buğday tarımı yapılan alanlarda B'un topraktaki noksanlığı ya da fazlalığı büyük önem kazanmaktadır. Bitkilerin ihtiyaç duydukları bor miktarı oldukça azdır. Genellikle tek çenekli (monokotiledon) bitkilerin bor ihtiyacı çift çenekli (dikotiledon) bitkilerinkinden daha azdır (Rerkasem ve ark., 1991). Gerek duyulan borun çok az da olsa fazlası, bor noksanlığında olduğu gibi bitkilerin gelişmesi üzerine olumsuz etki yapmaktadır.

Türkiye'de Orta Güney Anadolu Bölgesinde daha önce yapılmış araştırmalarda arpa ve buğday üretim alanlarında ciddi boyutta bor toksisitesi bulunmasına karşılık bunun yanında önemli miktarda bor noksanlığı bulunan alanların da olduğu görülmüştür. Gezgin ve ark.(2002)'nin Konya ili tarım alanlarından topladıkları 667 adet toprak örneğinin analiz sonuçlarına göre, toprakların bitkiye elverişli bor kapsamı 0.01-63,9 ppm (ort. 2.48 ppm) olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada şeker pancarı için elverişli bor kapsamının ise toprak örneklerinin % 26,5'inde yetersiz (<0,5 ppm), % 64,3'ünde yeterli (0,5-5 ppm) ve % 9,2'sinde toksik (> 5 ppm) düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Gezgin ve ark.(1998) şeker pancarı yetiştirilen pancar tarlalarından 15 Temmuz – 15 Ağustos arasında alınan yaprak örneklerinin analiz sonuçlarına göre bitki bünyesinde B ile Ca arasındaki dengenin yaklaşık olarak tarlaların % 67'sinde bor aleyhine, bozuk olduğunu tespit etmişlerdir. Bunun yanında

Çakmak ve ark. (1996) Orta Anadolu Bölgesinde yaptıkları çalışmalarında Zn ve B arasındaki antagonistik etkileşim nedeniyle bor içeriği yüksek olan topraklarda yetiştirilen farklı buğday çeşitlerinde çinko noksanlığının arttığını bildirmişlerdir. Bu nedenle bitki beslenmesinde önemli bir yer alan borun diğer besin elementleri ile interaksyonu önemli olmaktadır.

1.1. Bitkide Azot

Bitkilerin azot ihtiyacını karşılamak amacıyla, uzun yıllar çeşitli hayvan dışkıları gübre olarak kullanılmıştır. Ticari azotun ilk kaynakları arasında okyanuslarda ticaret yolları üzerinde bulunan kurak adalardaki deniz kuşları, deniz hayvanları ve yarasaların dışkı ve iskeletlerinden oluşan guanolar önemli bir yer tutar (Gümüş, 1974). %3 kadar azot içerebilen guanolar % 9'lara varan oranlarda fosfor içermeleriyle de aynı zamanda bir fosfor kaynağı olmuşlardır. Bu tür adalarda, göçmen kuşların konakladıkları sürelerde biriken dışkı ve iskeletler kalınlığı 3 ile 7 metre arasında değişen bir örtü oluşturmuştur. Gemilerle Avrupa'ya nakledilmiş olan guanolar, diğer tür hayvan dışkıları ile birlikte tarımsal toprakların gübrenenmesinde kullanılmış, sonuçta bazı sahalarda 1 m. kalınlığa kadar ulaşan insan yapımı bir yüzey tabakası ortaya çıkmıştır. Taze halde fosfat, nitrat, karbonat ve amonyak içeren guanolar zamanla kimyasal ve fiziksel değişimlere uğrayarak sulu fosfatlar, nitratlar ve oksalatlardan oluşan minerallere dönüşürler. Bir zamanlar başlıca gübre kaynakları oldukları aşikâr olan guanoların önemleri, günümüzde oldukça azalmıştır.

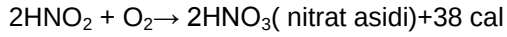
Günümüzde ticari olan azot kaynakları organik veya inorganik formda olup, orijinal kaynağa bakmaksızın, bitkiler tarafından absorbe edilmelerini sağlayabilmek amacı ile nitrat veya amonyumlu bileşikler haline dönüştürülmüşlerdir. Başlıca temel kaynağı ise atmosferin % 78'ini oluşturan azot'a dayanmaktadır. Bu nedenle azot klasik anlamda madenciliği yapılabilen bir element değildir. Pek çok türdeki gübrelerin yapısal bileşenlerinin yarısından fazlasını azot oluşturur. Topraktan bitkilerce büyük çoğunlukla Nitrat (NO_3^-) halinde alınır. Ancak amonyum (NH_4^+) formunda da bitkilerin yapısına girebilir. Bitki yapısında kompleks bileşikler oluşturduktan sonra proteinlerin yapısına girerek işlevini tamamlar. Tarımsal alanlara, toprak işlenmeden önce, işlenme sırasında veya daha sonra ilave edilmesinde herhangi bir problem doğurmaz. Zira sıcak ve nemli topraklarda azotlu gübreler, kolay bir şekilde nitrat formuna dönüşerek hızlı şekilde liç olurlar. Bununla birlikte toprak, ürün ve hava koşulları uygulama türü üzerinde etkili olmaktadır. Azotun belli başlı kaynaklarını katı (% 33-34 N) ve sıvı (% 19-21 N) amonyum nitrat, amonyum sülfat [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, % 21 N], kalsiyum nitrat [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, %15 N], potasyum nitrat (KNO_3 , % 13-15 N), üre (NH_2CONH_2 , % 45-46 N), susuz amonyak (NH_3 , % 82 N) ve azotlu solüsyonlar (% 28-32 N) oluşturmaktadır. Günümüzde kullanılan başlıca organik kökenli azot kaynağı ise üre (NH_2CONH_2) ve üre formaldehid ($\text{NH}_2\text{CONHCH}_2\text{OH}$)'dir (Kincheloe, 1983).

Azot bitkiler için çok önemli bir elementtir. Bitkiler azotu ancak topraktaki nitrit ve nitrat tuzlarından alabilir. Topraktaki azot ise, bitkisel ve hayvansal organik atıkların çürümesinden

meydana gelmiştir ve amonyak halinde bulunmaktadır. Bu haldeki azottan bitkiler faydalanamaz. Azotun faydalanabilir hale gelmesi için amonyağın nitrit ve nitrat tuzları haline gelmesi gerekir. Bu olay, toprakta yaşayan nitrit ve nitrat bakterileri tarafından yapılır. Önce, nitrit bakterileri amonyağı okside ederek nitrit asit haline getirir.



Görüldüğü gibi nitrit bakterileri bu olay sonucunda enerji kazanırlar. Bu enerjiyi de kendilerine lazım olan madde yapımında kullanırlar. Nitrit asit haline gelen bileşikler daha sonra nitrat bakterileri tarafından tekrar okside edilir, nitrat asidi haline gelir.



Bu olayda meydana gelen enerji nitrat bakterileri tarafından organik madde sentezinde kullanılır. Bu olayla hava azotu kullanılabilir hale gelir. Bitkiler bu bileşikten faydalanırlar. Azot bakterileri kendileri için enerji üretmiş olur.

1.2. STRES TERMİNOLOJİSİ VE STRESE TEPKİ

Stres, biyotik ve abiyotik faktörlerin ayrı ayrı ya da birlikte fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda belli değişimleri meydana getirmesi veya organizmada hasar oluşturma kapasitesi olarak tanımlanabilir (Levitt, 1980). Başka bir deyişle, büyüme, gelişme ve üretim için genetik potansiyelin ifadesini olumsuz şekilde etkileyen herhangi bir çevresel faktörü veya bunların etkileşimlerini içermektedir (Jones ve ark. 1984). Bitkilerin strese verdikleri cevaplar farklı şekillerde tanımlanmaktadır (Taiz, 2002).

Kaçış (escape): Sadece koşulların uygun olduğu dönemde büyümedir. Örneğin, kuraklıktan önce yağışlı mevsimde yaşam döngülerini tamamlayan bitkilerin davranışlarıdır.

Sakınım (avoidance): Bitkilerin stres faktörlerinin olumsuz etkilerini azaltması veya engellemesidir. Dış çevrede stres oluşturabilecek koşullar olmasına rağmen bitki hücrelerinin stresten uzak bir iç ortam oluşturmalarıdır.

Tolerans (tolerance) veya direnç (resistance): Literatürde “stres toleransı” terimi sıklıkla “stres direnci” ile birlikte kullanılmasına rağmen, “tolerans” terimi tercih edilmektedir. Tolerans, karmaşık bir fizyolojik olay olup, organizmaya ilk olarak öldürücü olmayan yüksek derecede stresin (subletal) uygulanmasını takiben uygulanan öldürücü strese (letal) organizmanın dayanma yeteneğidir. Diğer taraftan, stres faktörlerinin etkisinin elimine edilmesi, azaltılması veya onarılmasıdır. Bitkilerin çevresel streslere karşı reaksiyonları oldukça karmaşık olup, basit kimyasal ya da biyokimyasal direkt cevaplar, karışık hormonal veya gelişim cevapları ile genetiksel olarak ortaya çıkan kalıtsal etkilere kadar birçok fizyolojik cevapla ilgilidir. Bununla

birlikte, bir tür için stres oluşturan koşul veya koşullar başka bir bitki türü için stres oluşturmaz. Örneğin, sırasıyla 20°C ve 30°C'de optimum büyüme gösteren bezelye ve soya fasulyesi bitkilerinden, sıcaklığın artması ile birlikte daha erken zarar gören bezelye bitkisidir. Yani, soya fasulyesi daha fazla termal toleransa sahiptir.

Uyum (acclimation) ve adaptasyon (adaptation): Sırasıyla kalıtılamayan (genetik olarak nesilden nesile aktarılamayan) ve kalıtılabilir (genetik olarak bir sonraki nesillere aktarılabilen) stres cevaplarını ifade etmektedir. Öncül bir strese maruz kalmanın sonucu olarak tolerans artmışsa, bitki uyumlanmış (veya hardened) olarak kabul edilir. Uyum genellikle nesiller boyunca seleksiyon işlevleriyle kazanılan direncin genetik olarak belirlenmiş seviyesi olarak ifade edilen adaptasyondan ayrılmaktadır. Bununla birlikte, adaptasyon terimi bazen uyum kavramı yerine kullanılmıştır. Diğer taraftan, gen ifadesi uyumda önemli bir rol oynamaktadır. Çevresel streslere adaptasyon ve uyum, anatomik ve morfolojik seviyeden hücresel, biyokimyasal ve moleküler seviyeye kadar aralanan organizasyonun tüm seviyelerinde meydana gelen birbirleriyle ilişkili olaylarla sağlanmaktadır.

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 gibi ozmodüzenleyici bileşiklerin üretimini içeren metabolizmada bazı değişiklikler yaparak çevresel streslerin üstesinden gelmektedir. Bir stres sinyalinin algılanması ile ilgili moleküler olaylar ise toleransa neden olan genomik tepkilerdir (Taiz, 2002).

Dünya üzerindeki kullanılabilir alanlar stres faktörlerine göre sınıflandırıldığında doğal bir stres faktörü olan kuraklık stresi % 26'lık payıyla en büyük dilimi içermektedir. Bunu % 20 ile mineral stresi ve % 15 ile soğuk ve don stresi takip etmektedir. Bunların dışında kalan diğer tüm stresler % 29'luk bir pay alırken, yalnızca % 10'luk bir alan herhangi bir stres faktörüne maruz kalmamaktadır (Blum, 1986).

1.3. Bitkide Bor

1.3.1. Bor alımı

Bitkilerin topraktan B alımını etkileyen en önemli etmenleri; toprağın bitkiye yarayışlı B kapsamı, toprak pH'sı, topraktaki değişebilir iyonların tipi, topraktaki minerallerin miktarı ve tipi, toprağın organik madde kapsamı, toprağın ıslanması ve kuruması, toprak / su oranı olarak sıralamak mümkündür (Goldberg, 1997), Keren ve ark. (1985). Tek çenekli, çift çenekli ve iğne yapraklı bitkiler, eğrelti otu, çoğu diatom (deniz algi) türleri ve azot fikse eden siyanobakterlerin gelişimi için B'un temel bir besin elementi olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Shelp 1993, Loomis ve Durst, 1992). Genellikle yulaf, buğday gibi tek çenekli bitkilerin bazı türleri, çift çenekli bitkiler ve mısır, zambak gibi diğer tek çenekli bitkilere göre B'a gereksinimi daha azdır (Marschner, 1995). Bor, yüksek bitkiler için mutlak gerekli bir mikroelementtir ve B

noksanlığında bitki gelişimi hızlı bir şekilde engellenir. Bitki gelişiminin hızlı olarak engellenmesi; bitki türlerinin çoğunda B'un hareketliliğinin sınırlı olması (Brown ve Shelp, 1997, Oertli ve Richardson, 1970) ve hücre duvarında oynadığı özel yapısal rolü (Matoh, 1997, Hu ve Brown, 1994, Loomis ve Durst, 1992) gibi B fizyolojisinin iki önemli özelliğinin bir sonucu olarak meydana gelir.

Bitkiler tarafından B'un alımı konusunda araştırmacılar arasında fikir birliği olmamasına karşın, temelde pasif absorpsiyon yoluyla dissosiyeye olmamış borik asit $[B(OH)_3]$ şeklinde alındığına inanılmaktadır. Bitkiler tarafından B alımının, borik asidin $[B(OH)_3]$ ve sonradan oluşan cis-diol komplekslerinin kolaylıkla geçişini sağlayan kök plazma membranlarında meydana gelen pasif bir işlem olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. (Brown ve Hu, 1994, Shelp, 1993, Seresinhe ve Oertli, 1991). Hu ve Brown (1997), bitkilerin B alımının, borik asit (H_3BO_3) formunda pasif absorpsiyon yoluyla olduğunu ve bitkiler tarafından alınan B'un, hücre duvarlarında ve sitoplazma içerisinde çok hızlı bir şekilde B kompleksi oluşturduğunun tahmin edildiğini; bununla birlikte bitkide B komplekslerinin oluşumunun, hücre duvarlarındaki borik asit konsantrasyonunu azaltmasının bitkinin çözültiden B alımını artırdığını ve çözültiden alınan serbest borik asidin konsantrasyonundan dolayı bitki dokularındaki B konsantrasyonunun aşırı miktarda artabildiğini belirtmişlerdir. Bitkilerin B alımına, öncelikli olarak B'un alındığı ortamın B konsantrasyonu ve bunun yanı sıra bitkilerin transpirasyon kapasiteleri de etkili olmaktadır (Marschner 1995). Bitkilerin B alım kapasiteleri aynı toprakta yetişen bitki türlerine göre farklılık göstermekte ve genellikle bitkilerin B gereksinimleri türlerinin tipik farklılıklarını da yansıtabilmektedir. Hu ve Brown (1997), bitki türlerinin B alımındaki ayrımlılıkların; membran geçirgenliğindeki farklılıklardan, kök içinde ve kök dışında B kompleksinin oluşum miktarı ve B kompleksi oluşumunu belirleyen organik bileşiklerin miktarından ve şu an tanımlanamayan bazı mekanizmalardan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar tarafından yapılan deneysel ve arazi çalışmaları sonucunda, benzer çevresel koşullar altında yetiştirilen bitkilerde bile B alımının bitki türlerine göre büyük farklılıklar gösterdiği saptanmıştır (Hu ve Brown, 1997). Bitki türleri hatta aynı türün çeşitleri arasında bile B alımında büyük farklılıklar olduğuna örnek olacak bir çalışmada; Nable (1988), B toksisitesine dayanıklılıklarını belirlemek amacıyla 5 arpa ve 6 buğday çeşidini su kültüründe yetiştirmiş; arpa ve buğday çeşitlerinin bütün organlarındaki B konsantrasyonu ve toplam B kapsamının birbirlerinden oldukça farklı olduğunu ve B toksisitesine dayanıklı çeşitlerin duyarlı çeşitlerden her zaman daha az B biriktirdiğini bildirmiştir.

1.3.2. Bor taşınımı

Suyun, bitki bünyesinde taşıyıcı olarak işlev gördüğü ve besin elementlerinin bitki içerisindeki uzun mesafe taşınımının ksilem ve floem iletim demetleri içerisinde meydana geldiği bilinmektedir. Borun bitki bünyesinde hareketliliği konusunda da araştırmacılar arasında fikir birliği olmamasına karşın, bitkideki taşınımının ksilem iletim demetlerinde olduğuna dair görüşler yoğunluk kazanmaktadır. Bitki köklerinden yeşil aksam olan yukarı doğru taşınma ksilemin canlı olmayan hücrelerinde olur ve gün boyunca yeşil aksamdan oluşan su kayıplarının sonucu olarak su potansiyeli gradientinden dolayı bitki içerisinde B Taşınımı meydana gelir. Ksilemdeki ilk B taşınımı genel olarak fazla besin maddesi ihtiyacı olmayan yaşlı yapraklara (yüksek transpirasyon yerlerine) doğru olmaktadır (Pate, 1975). Buna karşın, bitki bünyesinde floemdeki taşınım transpirasyona bağlı olmayıp, hem aşağı hem de yukarı doğru meydana gelmekle birlikte genç yapraklar, meyveler ve tohum gibi sürekli su kaybı olmayan bitki organlarında besin ihtiyacının büyük çoğunluğu floem taşınmasıyla karşılanmaktadır. Bazı araştırmacılar bitkilerin yaşlanmasına bağlı olarak yukarı doğru (acropetal) konsantrasyon gradientinin azalmasının nedenini ksilemde B taşınımına bağlamışlar ve bunun da yeşil aksamdaki su kaybıyla orantılı olduğunu bildirmişlerdir Shelp ve ark. (1987, 1992). Tek bir yaprakta dahi B konsantrasyonunda ani bir gradient farkı oluşmasının aşırı miktarda B birikimine neden olabildiği (Oertli ve Roth, 1969, Oertli, 1994), gradient farkı oluşması durumunda yapraklardaki B konsantrasyonunun floem öz suyundan daha yüksek olduğu da belirlenmiştir (Shelp ve ark, 1996, Marentes ve ark, 1997). Yeşil aksamdaki B noksanlığı tipik olarak meristematik dokularda (uç tomurcuklar ve genç yapraklar vb) görülürken, B fazlalığı belirtilerinin genellikle transpirasyon sonucu suyun yaprağı terk ettiği yerlerde yani çoğunlukla yaşlı yaprakların kenarlarında görülmesi (Oertli 1994, Marschner 1995) B'un bitki içinde ksilemde taşındığının bir göstergesi olarak ortaya konulmaktadır. Yukarıda bahsi geçen araştırmalardan elde olunan sonuçlar, B'un bitki bünyesinde hareketsiz (immobil) bir element olarak sınıflandırılması için zemin oluştururken, bazı araştırma sonuçları ise B'un floemde hareketliliği olasılığını da ortaya çıkarmaktadır. Borun floemde hareketli olduğunu gösteren bir çalışmada Shelp, (1987) tarafından rapor edildi. Araştırmacı yeterli B koşullarında yetiştirilen brokolinin floeminden bitkinin büyüme organlarına taşınan B miktarını belirlemeye çalışmış ve bunun için tüm elementlerin ağırlık esasına göre nispi yüzdelerinin karşılaştırmıştır. Sonuç olarak floemde hareketli olarak sınıflandırılan N, P, K gibi elementlere eşit veya daha büyük miktarlarda B'un bitkinin büyüme yerlerine taşındığını saptamış ve bitkinin büyüme organlarında B gereksinimini karşılamada floemin ksilemden daha baskın olduğunu ileri sürmüştür. Liu ve ark. (1993), B'lu ve B'suz uygulamalarla iki brokoli çeşidini farklı alınabilir B kapsamına sahip topraklarda ve sulu koşullarda yetiştirerek tarla şartlarında brokoli bitkisinde B dağılımı ve taşınımını araştırdıkları çalışmalarında; yeşil aksamdaki B konsantrasyon gradientindeki azalmanın yalnızca B uygulamasının yapıldığı koşullarda görüldüğünü ve buna karşın, çiçekteki

B konsantrasyonu ve içeriğinin B uygulamalarından çok az etkilendiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, transpirasyonun gerçekleştiği organlarda B birikimi görülmekle birlikte düşük B içeren organlara B taşınımının koşullara bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirtilmiştir. Brown ve Hu (1996) tarafından, ilk fotosentez ürünlerinden biri olan sorbitole sahip bitki türlerinde önemli miktarda floem hareketliliğinin olduğunu, bir bitki türünde polyol olarak adlandırılan ve B bağlama (kompleksleme) yeteneğine sahip oldukları bildirilen sorbitol, mannitol ve dulcitol bileşikleri bulunuyorsa B'un floemde hareketli olabileceği ileri sürülmüştür. Hu ve ark. (1997) tarafından, kereviz (*Apium graveolens*) ve şeftali (*Prunus persica*)'de B-polyol komplekslerinin izolasyonu ve karakterizasyonu yapılarak polyol olarak adlandırılan ve B bağlama yeteneğine sahip olan bu bileşiklerin varlığı ortaya konulmuştur. Aynı tarla koşullarında yetiştirilen badem (*Prunus amygdalus*), elma (*Malus domestica*), fıstık (*Pistachio vera*) ve ceviz (*Juglans regia*) ağaçlarının çeşitli organlarındaki B dağılımının farklı olduğu, fıstık ve cevizde en yüksek B konsantrasyonunun yaprakta (130 ve 295 mg kg^{-1}), en düşük ise meyve ve tohumda (1 ve 4 mg kg^{-1}) olduğu; buna karşın, bademde en yüksek B konsantrasyonunun meyve kabuğunda (170 mg kg^{-1}), elmada ise meyve çekirdeğinde (54 mg kg^{-1}) bulunduğunu, badem ve elmanın yaprak B konsantrasyonlarının (41 ve 42 mg kg^{-1}) ise daha düşük olduğu saptanmıştır (Brown ve Hu, 1996). Bununla birlikte, Brown ve Shelp (1997) tarafından, B'un bitki türlerinin farklı organlarında dağılımının B hareketliliğinin bir kanıtı olabileceği ifade edilmiştir. Bellaloui ve ark. (1999), sorbitol üretimi için gen aktarımı yapılmış, yapılmamış ve yabani tütün çeşitlerinin yaşlı yaprakları, meristematik dokuları, gövde ve köklerinde en yüksek B konsantrasyonu ve B alımına gen aktarılmış tütün çeşidinin sahip olduğunu, bitkinin toplam B içeriği ile sorbitol üretimi arasında pozitif bir ilişkinin var olduğunu, bitkide sorbitol varlığının hem B alımı hem de B taşınımını artırdığını belirtmişlerdir. Floemdeki B taşınımının, sorbitol, mannitol ve dulcitol gibi polyol bileşikleri ile arasında ilişki olmadığına dair çalışmalar da yapılmıştır. Letho ve ark. (2000), İskoç çamı ve Norveç ladini fidelerinde B'un hareketliliğini inceledikleri çalışmalarında; bazı bitki türlerinde B'un şeker alkollerle kompleks oluşturarak taşınmasının aksine floeminde bu bileşikleri içermeyen çam ve ladin fidelerinin gövdelerine 10B ile etiketlenmiş 50 mM borik asit uygulamasından bir gün sonra kök sistemlerinde 10B'un oran ve miktar olarak arttığını ve sonuçta bu iki kozalaklı türün gövdelerinden köklerine B taşınımı yaptıklarını bildirmişlerdir. Letho ve ark. (2004), yaprağını döken 12 adet orman ağacının polyol içerikleri ve B hareketliliği arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarında, B hareketliliği ile bitkilerdeki polyol varlığının yakından ilişkili olmadığını ve birçok bitki türünün bünyesinde B taşınımının farklı miktarlarda meydana geldiğini belirtmişlerdir.

1.3.3. Borun metabolik işlevleri

Birçok bitki çeşidinde B'un fizyolojik, biyokimyasal ve yapısal faaliyetlerde yer alması (Shelp 1993, Marschner 1995), borun bitkideki direkt ve dolaylı etkileri arasındaki farkı ayırt etmeyi zorlaştırmaktadır. Bitkilerde bor; şeker taşınmasında, hücre duvarı sentezinde, ligninleşmede, hücre duvarı yapısının oluşumunda, ribonükleik asit (RNA), indol asetik asit (İAA), karbonhidrat ve fenol metabolizmasında, solunumda, biyolojik membranların yapısal ve fonksiyonel özellikleri üzerine (Parr ve Loughman 1983), oksijen aktivasyonunun indüklenmesinde (Marschner 1995) ve askorbat metabolizmasında (Lukaszevski ve Blevins 1996) önemli ve belirgin işlevlere sahiptir. Bitkideki tüm bu işlevlerine karşın, B'un enzimlerin yapılarında yer aldığını ya da bir enzimin bileşeni olduğunu gösteren veya herhangi bir enzim aktivitesinde doğrudan rolü olduğuna ilişkin hiçbir bulguya rastlanmamıştır (Birnbau ve ark. 1977, Çakmak ve Römhald, 1997).

Borun, bitkilerde B-şeker kompleksi oluşturarak şekerlerin kısa ve uzun mesafe taşınımında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Berger (1949)'e göre B, şekerlerin taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Bor noksanlığında yetişen bitkilerde B, şeker taşınım ve alımını hızlandırmaktadır (Gauch and Dugger 1953). Gauch ve Dugger (1954) tarafından, borik asidin alkoller ve şekerler dahil polihidroksi bileşiklerle kompleks oluşturma özelliğine dayandırılarak B'un şeker taşınımını kolaylaştırdığı şeklindeki görüş ortaya konmuştur. Ancak, floem içerisine taşınan şeker bileşiği olan sakkarozun B ile zayıf kompleks oluşturmaması ve sakkarozun floeme aktarılmasında B'un rolünün az olması bu görüşün doğruluğun tartışılmasına neden olmaktadır (Güneş vd. 2000). Bununla birlikte, B'un bitki köklerinin karbonhidrat içeriklerinin artmasına ve dolayısıyla daha fazla karbonhidrat salgılayarak kök bölgesinde VA-mikoriza veya ekto- (EC) mikoriza kolonilerinin oluşup çoğalmasına neden olduğu belirlenmiştir (Atalay vd. 1988, Dixon *et al.* 1989).

Nitrat indirgenmesi ile bitkilerin değişik organlarında bulunan amino asit ve protein miktarları üzerine B'un doğrudan etki yaptığını ilişkin somut deliller bulunmamaktadır. Noksanlığın şiddetine, bitkinin yaşına ve organına bağlı olarak amino asit ve protein miktarı ile bitkilerde NO₃ indirgenmesi düşük ya da yüksek olabilmektedir. Borun, anılan konulardaki etkinliğinin dolaylı olduğuna günümüzde yaygın olarak inanılmaktadır. İnal ve Tarakçıoğlu (2001), besin çözeltilisine uygulanan 3, 30 ve 300 mmol m⁻³ B miktarlarının soğan bitkisinin azot kullanım etkinliği, membran geçirgenliği ve nitrat birikimi üzerine azot formlarının etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; 300 mmol m⁻³ B uygulamasının bitkinin NO₃-N ve azot miktarını artırdığını belirlemişlerdir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, B-pektin kompleksleri oluşturarak hücre duvarının sentezi ve bütünlüğünün sağlanması (Matoh 1997, Hu ve ark. 1996, Loomis and Durst 1992) ile membranların yapısal ve işlevsel özellikleri üzerine (Çakmak and Römhald 1997, Marschner 1995, Çakmak ve ark. 1995, Shelp 1993) B'un rolü açıkça ortaya konulmuştur. Araştırmacılar tarafından, bitkide B noksanlığının neden olduğu morfolojik ve

fizyolojik değişmelerin, B ile hücre duvarlarındaki pektik maddeler, membranlardaki glikoproteinler, glikolipidler ve o difenoller gibi bileşikler arasında oluşan kompleksler ile yakından ilişkili olduğu kabul edilmektedir (Marschner 1995, Shelp 1993, Römheld ve Marschner 1991, Dugger 1983).

Gövde çürüklüğü, gövde çatlaklığı ve boş gövde içi gibi görsel ve mikroskobik bulgular da göstermektedir ki, B noksanlığında hücre duvarlarında çok önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bor, hücre duvarı bileşenleriyle tepkimeye girerek polihidroksil gruplar oluşturmak suretiyle hücre duvarlarının ince yapılı olmasında ve güçlü bir şekilde sentezlenmesinde rol almaktadır. Yeterli B ile beslenen kereviz bitkisinin parankima hücrelerinin hücre duvarı kalınlığı 1 µm iken, B noksanlığı olan bitkilerde 4 µm'ye yükseldiğı bildirilmiştir (Spurs 1957). Yeterli miktarda B içermeyen bitkilerin hücre duvarlarında belirgin şekil bozuklukları ortaya çıkmakta, çatlak gövde (cracked stem) ve mantarlaşmış gövde (stem corkiness) bu nedenle oluşmaktadır (Shelp 1988). Bor noksanlığının başlıca etkisi, membran fonksiyonlarının zayıflaması olarak nitelenmekte (Parr ve Loughman 1983) ve bor, membranlardan fosforun taşınımında önemli rol oynamakta (Loughman 1977) olup, B noksanlığında fasulye (*Vicia faba*) köklerinden fosfor ve rubidyum absorpsiyonunun azaldığı bildirilmektedir (Robertson ve Loughman 1974). Ayrıca, geçici borat komplekslerinin, membranlardan şekerin taşınımını kolaylaştırdığı bildirmiştir (Gauch ve Dugger 1953). Bor noksanlığında, bitki besin maddelerinden çoğunun membranlardan alınımı engellenmektedir. Çakmak ve ark. (1995), ayçiçeğı (*Helianthus annuus*) bitkisinin yaşlı yapraklarından yıkanan (çıkan) K⁺ miktarının, yeterli B ile beslenen bitkilere göre B noksanlığı olan bitkilerde 35 kere daha fazla olduğunu bildirmiştir. Bor noksanlığı glikoz, fosfor, indol asetik asit (İAA) ile proteinin bitki membranlarından geçişini değiştirmekte ve bunlara ilave olarak peroksidaz aktivitesini etkilemektedir (Goldbach, 1985, Goldbach ve Amberger 1986). Ayçiçeğı gibi yüksek miktarda B'a ihtiyaç duyan bitki türlerinde B noksanlığında fenoliklerin konsantrasyonunda artışların olduğı bilinmektedir (Marschner 1995, Shkol'nik 1984). Bor noksanlığında, çeşitli hücre fonksiyonların bozulmaya başlamasında kritik aşama dokularda fenol birikimi olmakta (Çakmak and Römheld 1997) ve bu durum B'un şeker ve fenollerle cis-diol kompleksi oluşumundaki önemli rolü nedeniyle ortaya çıkmaktadır (Marschner 1995). Çoğı fenoliklerin, kök ve gövdede 1 µM gibi düşük konsantrasyonlarda bile fitotoksik olduğı bilinmektedir (Vaughan ve Ord 1990). Bazı fenollerle borat kompleksi oluşumu, muhtemelen serbest fenol birikimi ve lignin biyosentezinin temel maddesi olan fenol alkollerin sentezlenme oranının düzenlenmesi işlemlerini de içerdığı için B'un fenol alkollerin sentezlenme oranının düzenlenmesindeki rolü nedeniyle B noksanlığında fenol birikimi yanında polifenol oksidaz aktivitesinin de arttığı bildirilmiştir (Marschner 1995). Bitki türlerinin B noksanlığına olan farklı duyarlılıkları, B noksanlığı durumunda polifenol oksidaz aktivitesi seviyesini farklılaştırmakta (Çakmak and Römheld 1997), bor noksanlığına duyarlı olan bitki türlerinde (ayçiçeğı), B noksanlığına dayanıklı olan bitki türlerine (buğday) göre daha fazla polifenol

oksidaz aktivesi ve fenol birikimi olmaktadır (Shkol'nik 1984, Shkol'nik ve ark. 1981). Işık yoğunluğunun artışı ile birlikte fenol biyosentezinin artması bilinen bir olgudur (Chattopadhyay ve ark. 1994, Mole ve ark. 1988). Bor noksanlığı olan bitkilerde, kafeik asit, klorojenik asit, ferulik asit, vanilik asit ve bazı kumarinler birikebilir (Rajaratnam and Lowry 1974, Watanabe *et al.* 1964, Perkins ve Aronoff 1956) ve ışık yoğunluğunun artması ile bahsedilen bileşiklerin miktarı artmaktadır (Marschner 1995).

Yeterli B ile beslenen bitkilere göre B noksanlığı olan bitkilerde, fenollerde olduğu gibi, oksin konsantrasyonu da daha yüksektir (Çakmak ve Römheld 1997). Bor noksanlığı olan bitkilerde, İAA(indol asetik asit) seviyesinin yüksek olması, İAA oksidaz engelleyiciler olan kafeik asit ve klorojenik asit gibi (Pilbeam ve Kirkby 1983, Shkol'nik 1984) fenolik bileşiklerin birikmesiyle İAA oksidazın sentezlenmesinin engellenmesine dayandırılmaktadır (Coke ve Whittington 1968, Rajaratnam ve Lowry 1974). Bitkilerde B noksanlığında, doku farklılaşmasında değişiklikler ve morfolojik bozukluklar gibi meydana gelen birçok değişiklikler, olması gerekenden az veya fazla indol asetik asit (İAA) düzeyinin yarattığı etkilere benzer şekilde olmaktadır (Güneş vd. 2000). Bitkilerde B noksanlığından kaynaklanan değişiklikler, B'un noksan olduğu dokularda İAA'nın aşırı miktarda birikmesinin bir yansımasıdır (Pilbeam ve Kirkby 1983). Buna karşın, yeterli B ile beslenen ve B noksanlığı olan bitkilerin İAA konsantrasyonları arasında fark olmayabilir (Fackler ve ark. 1985, Hirsch ve ark. 1982) ve bu durumda da B noksanlığı morfolojik belirtilere neden olabilir, ancak, bu İAA'nın aşırı birikmesinin neden olduğu morfolojik değişimlerden tamamen farklıdır (Hirsch ve Torrey 1980). Borun bitkilerde ligninleşme ve ksilem farklılaşmasında çok önemli olması ve aynı zamanda bu reaksiyonların B gerektirmesi nedeniyle B'un indol asetik asit metabolizması, lignin biyosentezinin düzenlenmesi ve ksilem farklılaşmasında önemli rolü bulunmaktadır (Lovatt 1985, Lewis 1980). Gövde kambiyum dokusunda hücre bölünmesinin artışı ve dengesiz ksilem farklılaşması gibi morfolojik değişiklikler doğrudan B noksanlığından kaynaklanmayabilir ve mekanik zararlanmalar sonucunda yeterli B ile beslenen bitkilerde de benzer morfolojik değişiklikler oluşabilir. Bor noksanlığının ilk belirtileri ksilem farklılaşması değil, primer hücre duvarlarının yapısında meydana gelen değişiklikler olmaktadır (Güneş vd. 2000).

Bitkide büyüme sürecinin devam etmesi ve meristem aktivitelerinin düzenlenmesi askorbik asit gerektirmektedir (Cordoba-Pedregosa ve ark. 1996, Liso ve ark. 1984). Lukaszewski ve Blevins (1996), B noksanlığına karşılık olarak kabak bitkisinin kök uçlarında askorbik asit konsantrasyonunun büyük ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Bor noksanlığında gövde ve kök uçlarındaki gelişmenin engellenmesi, kısmen de olsa askorbik asit biyosentezinin sınırlandırılması ve tüketiminin teşvik edilmesiyle açıklanabilmektedir (Çakmak and Römheld 1997). Bu görüşe paralel olarak Monday ve Munshi (1993) tarafından yapılan çalışmada, B gübrelemesiyle patates (*Solanum tuberosum*)'in yumrularındaki askorbik asit konsantrasyonunun arttığı ve yumrularda oluşan renk bozulmalarının azaldığı bildirilmiştir.

Askorbik asit ve protein olmayan SH bileşikleri (glutation vb.) hücrelerdeki başlıca antioksidanlardır ve toksik oksijen radikallerinin detoksifikasyonunda ve kloroplastlardaki aşırı ışık enerjisinin dağıtılmasında gereklidir (Çakmak 1994, Foyer ve ark. 1994). Bor noksanlığı, toksik O₂ radikallerinin neden olduğu oksidatif stresin bir yansıması olabilmekle birlikte B noksanlığında, konsantrasyonları azalmaktadır (Çakmak and Römheld 1997). Bor noksanlığında, askorbik asit ve protein olmayan SH bileşiklerinin miktarları azalırken, aynı zamanda glutation redüktaz aktivitesi de dikkate değer şekilde azalmaktadır. Bor noksanlığında yetiştirilen bitkilerde glutation redüktaz aktivitesi yeterli B ile beslenen bitkiler göre yaklaşık 3.5 kat azalmakta ve ayrıca, polifenol oksidaz aktivitesi ise 5.5 kat artmaktadır (Çakmak and Römheld 1997). Bor noksanlığında, glutation redüktaz aktivitesine benzer şekilde nitrogenaz aktivitesi de azalmaktadır. Soya fasulyesi ve bezelye (*Pisum sativum*) bitkilerinde olduğu gibi B noksanlığı koşullarında yetiştirilen baklagillerin N₂ fiksasyon kapasiteleri ve nodül ağırlıkları azalmaktadır (Bolañosve ark. 1994, Yamagishi ve Yamamoto 1994).

1.3.4. Bor-Azot Etkileşimi

(Sakal, 1987), bor ve azot arasındaki ilişkinin birbirine ters yani antagonistik olduğunu belirlemiştir. Aggarwal ve Yadav (1984), 8.1 pH'lı, 0.40 ppm bor içeren bir toprakta yaptıkları saksı denemesinde, toprağa önemli derecede bor uygulamasının 45 günlük buğdayların kuru madde verimini 14.21 g/saksı'dan 6.6 g/saksıya azalttığı ve buğday yaprağındaki bor konsantrasyonunun 35.6 ppm'den 145.5 ppm'e çıktığını belirlemişlerdir. Aynı toprakta azot uygulamasının kuru madde verimini 9.8 g/saksıdan 13.6 g/saksıya arttırdığını ve bor konsantrasyonunu ise 109.5 ppm'den 49.2 ppm'e azalttığını belirlemişlerdir. Benzer çalışmada bor yetersiz bir toprakta yapılan sera çalışmasında yoncaya N uygulamasının bitkide bor konsantrasyonunu ve bor alımını azalttığını, bor uygulamaksızın azot uygulamasının bitkileri öldürdüğü bu durumun da muhtemelen bor yetersizliğinden kaynaklandığını belirlemişlerdir (Willett, 1985). Bir başka denemede bor uygulamasının nohut, buğday ve mercimekte azot konsantrasyonunu artırdığı, yer fıstığında 2 ppm bor ilavesinin azot alımını kayda değer ölçüde yükselttiğini, bu durumun aynı zamanda nodul miktarını % 37'ye kadar arttırdığını ve borun nodul oluşumu üzerine olumlu etkisi bulunduğunu belirlemişlerdir (Yadav ve Manchanda, 1979; Singh ve Singh, 1983; Patel ve Golakia, 1986). Bor uygulaması bitkilere azot uygulamasını kolaylaştırır. Bor bitkilerin verimini artırmak için uygulanan azot bileşiklerinin bitkiye geçişini sağlar.

1.4. Oksidatif Stres ve Oksijenin Aktifleşmesi

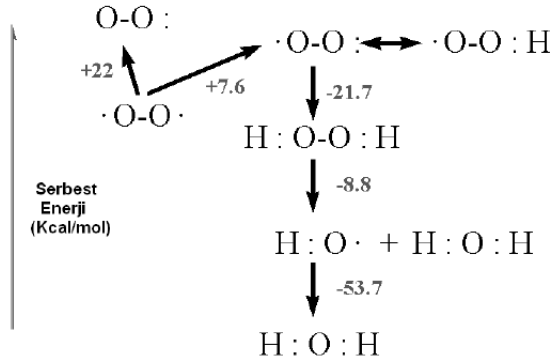
Atomik oksijen; yer kabuğunda çok fazla bulunan elementtir. Su ve atmosferde bulunan oksijen aerobik hayatın bütün formlarının devamı için zorunludur. Mevcut oksijen rezervi, fotosentezin bir sonucu olarak sudaki oksijenin serbest bırakılmasıyla meydana gelir ve

solunumda en son elektron alıcısı olarak kullanılmasıyla devamlılığı sağlanır. Ayrıca çeşitli enzimik ve enzimik olmayan prosesler ile oksijen atomları çeşitli organik moleküller içinde de tutulmaktadır (Elstner, 1982).

Aerobik hayat için gerekli olan oksijen molekülü solunum ve enerji metabolizması için zorunlu olmasının yanında birçok olumsuz sonuçlar da meydana getirmektedir. Aerobik organizmalar oksijenin bu olumsuz etkileriyle de savaşmak zorundadırlar. Atmosferik derişim çok fazla olduğunda, moleküler oksijen bazı enzimleri inhibe edebilir veya aktifliğini engelleyebilir. Fakat oksijenin esas toksik etkisi reaktif türevlerini kullanmasıyla oluşmaktadır. Oysaki bazal düzeyindeki moleküler oksijen reaktif değildir ve organik moleküllerle rahatlıkla birlikte bulunabilir. Bu özelliği, moleküler oksijenin eşleşmemiş iki elektronunun paralel dönmesiyle açıklanır ve bu dönme sınırlaması radikal olmayan bileşiklerle onun reaksiyona girmesine etkili bir engel oluşturur. Bunun için moleküler oksijen fiziksel ve kimyasal olarak aktifleştirilmelidir (Perl-Treves ve Perl, 2002).

Fiziksel aktifleşme, uyarılmış bir klorofil molekülü gibi aktifleşmiş bir pigmentten uyarma enerjisinin moleküler oksijene transferi ile meydana gelir ve yeterli enerjiyi absorblayan oksijenin elektronlarından birisinin dönmesi tersine çevrilir. Bu durumda iki elektron birbirine karşıt dönmelere sahip olur. İlk oluşan etkili ve reaktif bir tür olan oksijenin singlet ($^1O_2$) durumudur. $^1O_2$ oldukça yüksek düzeyde dağılma özelliğine sahiptir ve organik moleküllerle tepkimeye girebilir. Organik moleküllerde eşleşmiş elektronlar yaygın olduğu için $^1O_2$ organik moleküllere karşı triplet durumundan daha fazla reaktiftir.

Kimyasal aktifleşme, dönme sınırlamasının olmadığı bir mekanizmadır. Moleküler oksijenin birer elektronlarının indirgenmesi ile meydana gelir. Moleküler oksijenin tümüyle suya indirgenmesi için 4 elektron (ve 4 proton) gereklidir. Tek değerli indirgenmenin üç ara ürünü; sırasıyla süperoksit ($O_2^{\cdot -}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikal ($OH^{\cdot}$) kimyasal olarak reaktif ve biyolojik olarak toksiktirler. Oksijenin redüksiyonunda birinci basamakta oluşan $O_2^{\cdot -}$ endotermiktir, sonraki redüksiyonlar ekzotermiktir. (Mc Kersie ve Leshem, 1994). Bir organik moleküle çarpan reaktif oksijen türleri, ondan bir elektron çıkararak peroksil ($ROO^{\cdot}$) ve alkoksil ($RO^{\cdot}$) radikal gibi zincir reaksiyonlar oluşturabilen bir radikale geri verir (Perl-Treves ve Perl, 2002).



Şekil 1.4.1. Oksijenin aktivasyon durumları (Mc Kersie ve Leshem, 1994).

Farklı stres faktörlerinin yaygın özelliği bitki dokularında reaktif oksijen türlerinin üretilmesini arttırma potansiyelinde olmalarıdır. Reaktif oksijen türleri aynı zamanda normal metabolik prosesler süresince de bitki hücrelerinde meydana getirilirler (Fridovich, 1995; Alscher ve ark., 1997). Fotosentetik elektron taşıma sistemi bitki dokularında $^1\text{O}_2$ ve $\text{O}_2^{\cdot -}$ meydana getirme potansiyeline sahip aktif oksijenin esas kaynaklarıdır. Aktif oksijen üretimi, oksijen atmosferinde fotosentetik elektron taşıma zincirinin işleminin bir sonucudur (Asada, 1994).

1.4.1. Hücrelerde Reaktif Oksijen Üretimi

Bitkilerdeki reaktif oksijen türlerinin birçok olası nedeni vardır. Normal metabolizmanın kapsamı içinde olan reaksiyonlardan birkaçı fotosentez ve solunumdur. Reaktif oksijen ara ürünlerinin diğer kaynakları abiyotik stresler süresince fotorespirasyon (ışıklı ortamdaki solunum) ve peroksizomlardaki glikolat oksidaz gibi yollara aittir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda da reaktif oksijen ara ürünlerinin nedenleri belirlenmiştir. Bunlar NADPH oksidazlar, amino oksidazlar ve hücre duvarına bağlı peroksidazlardır. Bunlar programlanan hücre ölümleri ve patojen savunması gibi işleyişler süresince reaktif oksijen ara ürünleri oluşumuna katılırlar (Dat ve ark., 2000; Hommond ve Jones, 1996; Grant ve Leake 2000).

Oysaki normal büyüme koşulları altında hücrelerdeki reaktif oksijen ara ürünlerinin üretimi düşüktür ($240 \mu\text{M s}^{-1} \text{O}_2^{\cdot -}$ ve $0.5 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$ değerleri kloroplastlardaki değişmez düzeylerdir). Birçok stres faktörü reaktif oksijen ara ürünlerini arttırarak hücrelerin homeostasisini hasara uğrattır ($\text{O}_2^{\cdot -}$ için $240-720 \mu\text{M s}^{-1}$, H_2O_2 için $5-15 \mu\text{M}$) (Polle, 2001). Bu stres faktörleri kuraklık, su eksikliği, tuz stresi, donma, sıcaklık şoku, ağır metal stresi, ultraviyole yayılımı, ozon ve SO_2 gibi hava kirleticileri, besin eksikliği, patojen saldırılar ve yüksek ışık stresi gibi mekanik streslerdir (Bowler ve ark., 1992; Allen, 1995; Dat ve ark., 2000). Bu stresler mitokondrial solunumda, kloroplastlarda ve fotorespirasyonda reaktif oksijen ara ürünlerini meydana getirir.

Serbest radikaller (Hidroksil radikali, süperoksit radikalleri vs.) oksidatif fosforilasyon sonucu meydana gelirler ve oksidatif hasarlara neden olmaktadır. Serbest radikaller yaşam

için gereklidir. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olmaktadır. Normal koşullar altında bu serbest radikallerin yıkımı ve üretimi bitki hücresi içinde düzenlenmektedir. Buna rağmen çevresel stresler (yüksek ışık yoğunluğu, herbisitler, patojen saldırılar, kuraklık, tuzluluk, hava kirliliği vs.) sonucunda serbest radikaller ile antioksidan sistemin aktivitesi arasında denge bozulmakta ve protein denatürasyonu, lipid peroksidasyonu, DNA mutasyonlarını içine alan oksidatif hasarlar meydana gelmektedir (Poontariga ve ark. 2003)

Serbest radikal, atomik yada moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROS)'de denilmektedir (Çavdar ve ark.1997).

Bu yüksek aktiviteye sahip bileşikler (serbest radikaller) kirli havalarda, radyasyonda (ışınım), bitki koruma ilaçlarında, bozulmuş gıdalarda ve normal metabolik süreçte bulunurlar. Serbest radikaller hücrelere saldırıp tahrip etmektedirler. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşmakta ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlamaktadır. Reaktif oksijen türleri redüksiyon ve oksidasyon olayları sırasında kloroplast, mitokondri gibi hücre organellerinde elektron taşınımı sonucu bitki hücrelerinde düşük düzeylerde meydana gelmektedirler (Mehdy, 1994).

ROS aslında patojen ve herbivor saldırılarına karşı bitkinin savunma cevabında önemli bir yere sahip olan bileşiklerdir. Oksidatif yaralanma, aktif programlanmış hücre ölümü ve PR (patojen ile bağlantılı proteinler) proteinleri gibi antimikrobial savunma süresince meydana gelmektedirler. Son yıllarda patojen-bitki interaksyonu üzerinde yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerini ortadan kaldıran Askorbat peroksidaz, Katalaz gibi enzimlerin etkili olduğu ortaya konmuştur. Bitki dokularının patojenle inokulasyonu veya hücre kültürlerine mikrobiyal uyarıcıların uygulanması Hidrojen Peroksit (H_2O_2)'in hızlı bir şekilde oluşturulması ile karakterize edilen oksidatif yaralanmaya neden olmaktadır H_2O_2 hipersensitif hücre ölümü için bölgesel sinyal olarak görev yapmaktadır. Herbivorlar sonucu meydana gelen yaralanma sonucunda oluşan H_2O_2 sistemin plazma membranında bulunan reseptörlere bağlanarak hücre içine sinyal göndermektedir. Sinyal sonucu JA (Jasmonik asit) sentezlediği, JA ve H_2O_2 'de domates yapraklarındaki mezofil hücrelerindeki savunma genlerini uyardığı tespit edilmiştir (Low ve ark. 1994, Lamb ve ark. 1997, Bolwell, 1999)

Reaktif oksijen türlerinin etkileri uzun süreli olarak kabul edilmekte ve canlılarda hastalıklara, yaşlanmaya neden olmaktadır. ROS geçici olarak meydana geldikleri gibi enzimatik olarak da meydana gelmektedirler. ROS'nin enzimatik kaynakları hem ekstraselüler hem de intraselülerdir (Bolwell, 1999). Büyük ROS kaynakları hücre duvarlarında bulunan peroksidazlar ve aminoksidazlar, plazma membranında bulunan NADP oksidaz, mitokondri,

kloroplast, peroksizomlarda bulunan intraselüler oksidaz ve peroksidazlardır (Tablo:1.4.1.1) (Mitler, 2002) .

Bitkilerde hastalık etmeninin oluşturduğu sinyalin algılanması bitkinin savunma mekanizmasını aktif hale getirmektedir. Bitki savunmasında aktif oksijen olarak adlandırılan ürünler bitki hücresi tarafından üreilmeye başlanır. Reaktif oksijen ürünleri arasında H_2O_2 ve süperoksit anyonları sayılabilir. Aktif oksijen türevleri bitkide en az dört değişik role sahiptir (Özcan ve ark. 2001): Reaktif oksijen türleri ilk olarak hipersensitif hücre ölümüne neden olmaktadır. Hipersensitif, bitkinin sadece patojenin enfekte ettiği bölgedeki hücrelerini öldürmesi olayıdır. Hücre ölümü patojenin sadece enfeksiyonun olduğu bölgede lokalize olmasına neden olmakta ve bu şekilde hastalığın yayılması önlenmektedir.

Reaktif oksijen türevlerinin ikinci bir fonksiyonu hastalık etmenine karşı doğrudan öldürücü etkide bulunmasıdır. Bilindiği gibi H_2O_2 yaraların enfekte olmasını önlemek ve çevreyi mikroplardan arındırmak için kullanılmaktadır (Özcan ve ark. 2001).

Reaktif oksijenin bir başka fonksiyonuda lignifikasyonda rol oynamasıdır. Lignin oluşumu bitkilerde enfeksiyondan sonra hücre duvarının sağlamlaştırılması bakımından önemlidir. Bitkide lignin yapılması da hidrojen peroksit yapımını gerektirir. Gereksinim duyulan hidrojen peroksit bitki hücresinde enfeksiyona tepki olarak üretilen H_2O_2 'dir (Özcan ve ark. 2001).

Tablo:1.4.1.1 Bitkilerde ROS oluşumu, lokalizasyonu ve uzaklaştırılması (Mitler, 2002).

Mekanizma	Lokalizasyon	Başlıca Reaktif oksijen türleri
Oluşum (ürün)		
Fotosen. ET ve PSI-II	Kloroplast	O_2^-
Solunum ET	Mitokondri	O_2^-
Glikolat Oksidaz	Peroksizom	H_2O_2
NADPH oksidaz	Plazma Membranı	O_2^-
Yag asidi β - oksidasyonu	Peroksizom	H_2O_2
Oksalat Oksidaz	Apoplast	H_2O_2
Ksantin Oksidaz	Peroksizom	O_2^-
Peroksidaz ,Mn ve NADH	Hücre Duvarı	H_2O_2 , O_2^-
Amino oksidaz	Apoplast	H_2O_2
Parçalama		
Süperoksit dismutaz	Kloroplast,Sitozol,mitokondri, Apoplast	O_2^-
Askorbat peroksidaz	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2
Katalaz	Peroksizom	H_2O_2
Glutatyon Peroksidaz	Sitozol	H_2O_2 , ROOH
Peroksidaz	Hücre duvarı, Sitozol, Vakuol	H_2O_2
Askorbik Asit	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2 , O_2^-
Glutatyon	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2
α -Tokoferol	Membranlar	ROOH, O_2^-
Karetenoidler	Kloroplast	O_2

Reaktif oksijen türlerinin diğer bir rolü de bitkide sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır. Hastalık etmeninin enfeksiyonu sonucunda bitki hücresinde üretilen H_2O_2 veya öteki aktif oksijen bileşikleri bitkinin dayanıklılık sistemini uyarıcı etkide bulunmaktadır. Reaktif oksijen sadece enfekte olmuş bölgelerdeki genleri uyarmakla kalmaz, aynı zamanda sistemik doku olarak bilinen ve bitkinin hastalık tarafından henüz etkilenmediği bölgelere giderek oradaki

genlerin de aktif hale gelmesini sağlamaktadır. Bu olay SAR olarak bilinir. SAR sistemi uyarılmış bitkide, bundan sonraki enfeksiyonlara karşı dayanıklılık son derece artar. Bu olay bir yerde bitkinin aşılınması ile eşdeğerdir (Chen ve ark. 1994, Neuenschwander ve ark. 1995). Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir (Çavdar ve ark.1997).

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar vitamin A, C, E, KoenzimQ10, Selenyum, Çinko gibi mineraller, Melatonin hormonu, Kareteneoidler; Likopen, α -Karoten, β -Karoten, Lutein, Zeaksantin, Astaksantin, Flavonoller; Quercetin, Rutin, Tanninlerdir. Enzimatik antioksidan grubunda ise Katalaz (CAT) [H_2O_2 'nin moleküler oksijene dönüşümünü katalizler], Askorbat peroksidaz (APX) [H_2O_2 'nin su ve monodehidroaskorbata dönüşümünü katalizler], Glutasyon redüktaz (GR) [okside glutasyonu (GSSH) indirgenmiş Glutatyona (GSH) katalizler] ve Glutasyon peroksidaz [hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzim], Glutasyon S-transferaz [başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı antioksidan savunma mekanizması oluştururlar] gibi enzimler bulunmaktadır.

Patojenle enfeksiyon sırasında elisitör ve reseptör arasındaki interaksiyon sonucunda hızlı iyon akışları ve oksidatif stres meydana gelmektedir. Erken cevap oluşması için dolaylı yoldan heterotrimerik G proteine ihtiyaç vardır. G proteinleri plazma membranında lokalize olmuştur ve bitkide patojene karşı savunma sırasında hem Ca kanallarının aktivasyonunu hem de membrana bağlı NADPH oksidaz'ın aktivasyonunu uyarmaktadır (Xing ve ark. 1997).

Bitkilerde ve diğer aerobik organizmalarda enerji üretimi sırasında oksijen gereklidir. O_2 'nin H_2O 'ya indirgenmesi süresince ROS meydana gelmektedir. ROS birçok hücrel kompartımanda meydana gelebilirler. Stres koşullarında kuraklık, tuz stresi, ozon, yüksek ve düşük sıcaklıklar, ayrıca kalvin döngüsünde NADP'nin indirgenmesi, elektron transferi, lipid katabolizması, fotosolunum olaylarında oluşmaktadır (Uranova ve ark. 2002)

Bitki hücrelerinde ROS kloroplast, mitokondri, plazma membranı, apoplastik alanlarda meydana gelmektedir. Peroksizomlarda da normal metabolizma süresince süperoksit radikalleri meydana gelmektedir. Meydana gelen ROS Süperoksit dismutaz (SOD) ve GR gibi antioksidan savunma sistemi tarafından etkisiz hale getirilmektedir (Palma, 2002).

Yüksek sitotoksik özelliğe sahip olan ROS'ların oluşumu ve birikimi bitki hücresinde sıkı kontrol altındadır. Bitkiler hücreleri oksidatif hasardan savunma mekanizmaları ile korumaktadırlar. Bitki savunmasında ROS 'lar sinyal olarak da görev yapmaktadırlar: Örneğin H_2O_2 SA'i uyararak savunmada görev yapan PR-1 proteinlerinin sentezinden sorumlu olan PR-1 genlerini uyarmaktadırlar. Ayrıca H_2O_2 bitki savunmasında önemli bir yere sahip olan Glutasyon peroksidaz, GR gibi antioksidanların sentezinden sorumlu olan genler için de bir uyarıcı olarak görev yapmaktadır (Levine ve ark.1994). Yani ROS türleri hücrel hasarlara

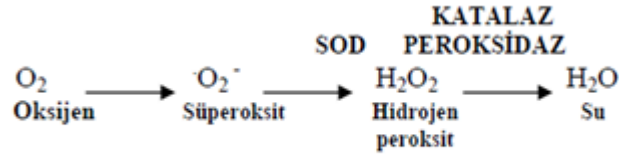
neden olmalarına karşın bitkilerde sinyal molekülü olarak da görev yapmaktadırlar. Düşük konsantrasyonlarda savunma ile ilgili genlerin uyarılmasında, savunma cevaplarının oluşmasında görev yapmasına karşın yüksek konsantrasyonlarda hücre hasarlarına, hücre ölümüne neden olmaktadır.

Patojenle enfeksiyon sonucunda bitki hücresinde oksidatif strese neden olan Nitrik oksid (NO) ve ROS meydana gelmektedir. Bu ROS patojenin hücre içine girişini engellediği gibi Hipersensitif cevap (HR)'in oluşumunda görev yapan savunma sistemlerindeki enzimlerin (SOD, APX vs.) aktifleşmesi ve dolayısıyla ROS'lerinin etkisiz hale getirilmesi, GSSG oluşumu, ligninleşmenin meydana gelmesi, patojenlerin enfeksiyonu sonucunda NO meydana gelmesi ki NO programlanmış hücre ölümü süresince askorbat peroksidazın ifade edilmesinde dolayısıyla askorbat ve glutatyonun azalması gibi olaylarda anahtar olarak görev yapmaktadır (Gara ve ark. 2003).

Stres koşulları altında hücreleri korumak ve ROS düzeylerini kontrol altında tutabilmek için bitki dokuları ROS'ni ortadan kaldıran SOD, CAT, Peroksidaz, Askorbat Peroksidaz vs. çeşitli enzimler ve düşük moleküler ağırlığa sahip antioksidanları (Askorbat, Glutatyon, Fenolik Bileşikler, Tokoferoller vs.) içermektedirler (Blokhina, 2000).

O_2^- ve H_2O_2 'in verimli bir şekilde yıkımı için çeşitli antioksidan enzimlerin aktivasyonu gerekmektedir. Bitki hücrelerinin farklı kompartımanlarında meydana gelen süperoksit SOD tarafından H_2O_2 'e dönüştürülmektedir. Kloroplast gibi organellerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan askorbat hızlı bir şekilde O_2^- 'e indirgenmektedir. H_2O_2 thiol gruplarını hızlı bir şekilde okside eden güçlü bir oksidanttır. Fotosentez thiol-düzenleyici enzimlerle bağlantılı olduğu için H_2O_2 'in kloroplastlarda birikimine izin verilmemesi gerekmektedir (Noctor, 1998).

CAT H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene dönüştürmektedir. Bu enzimin substrata ilgisi düşük olmasına karşın yüksek katalitik aktiviteye sahiptir. Bunun için de H_2O_2 'i bağlayan iki aktif bölgeye sahiptir. Ayrıca katalazın yokluğu kloroplastlarda kalvin döngüsünde thiol-düzenleyici enzimlerin korunmasının engellenmesine neden olmaktadır. H_2O_2 'in yıkılmasında alternatif diğer bir yol ise hücrelerin tümünde bulunan peroksidazların aktivasyonu ile gerçekleştirilebilmekte ve H_2O_2 'in suya indirgenmesini sağlamaktadır (Şekil 1.4.2) (Beyer, 1994). Hayvanlarda peroksidazlar glutatyon (GSH)'un oluşumunda ve H_2O_2 'in detoksifikasyonunda önemlidir. Yani CAT ve Peroksidaz ROS 'ların detoksifiye edilmesinde görev yapmaktadırlar. H_2O_2 'i elemine ederler ve hücrelerde H_2O_2 konsantrasyonunun düzenlenmesinde görev yaparlar. Patojenin enfeksiyonu sonucu meydana gelen H_2O_2 'in birçok etkisi bulunmaktadır (Noctor, 1998). Birincisi peroksidaz aktivitesinin uyarılması ile patojenin penetrasyonu engellenmektedir. İkincisi konukçu üzerinde oksidatif stres meydana getirdiği gibi patojen üzerinde de stres oluşturmaktadır. Üçüncüsü ise sistemik direncin oluşumunu sağlayan bir sinyal olarak görev yapmaktadır.



Şekil 1.4.2. Enzim Aktivitesi

Bitki hücrelerinde H_2O_2 'in detoksifikasyonunda en önemli indirgen substrat askorbattır. APX askorbatı H_2O_2 ve suya parçalamaktadır. Askorbik asit, Süperoksit anyonu, singlet oksijen ve H_2O_2 gibi ROS'ların geniş bir bölümünü elemine etmekte ve zincir kırıcı olark görev yapmaktadırlar (Beyer, 1994). Primatlar hariç bütün hayvanlarda askorbik asit sentezlenmektedir. Bitkilerde Askorbat hem fotosentetik hemde fotosentetik olmayan dokularda milimolar konsantrasyonlarda birikebilir. Yapraklar klorofilden daha fazla askorbat içermektedir. Askorbat en önemli antioksidanlardan biridir ve doğrudan hidroksil radikalleri, süperoksit ve singlet oksijen ile reaksiyona girmektedir. Fotosentezin düzenlenmesinde, ışığa karşı korumada önemli olmasının yanısıra prostetik grup olarak metal iyonu bulunduran enzimlerin aktivitelerinin korunmasında da önemli bir role sahiptir.

APX enzimi yüksek bitkilerde keşfedilmiştir. Vakuol, hücre duvarı, sitozol de bulunan Guaiacol peroksidaz gibi birçok enzimden farklı olarak organellerde lokalize olmuştur. APX izoenzimleri dört farklı hücresel kompartımanda lokalize olmuştur. Kloroplastlarda stromatal APX (sAPX) ve tilakoid membrana bağlı APX (tAPX), peroksizom (mikrobody) membranına bağlı APX (mAPX) ve sitozolik APX (cAPX). Beşinci bir APX izoenzimi mitokondri membranına bağlı olarak (mitAPX) bulunmuştur (Shigeoka ve ark. 2002).

GSH ise güçlü bir hücresel reaktantdır ve peroksitleri ortadan kaldırmaktadır (Meister, 1988). Hayvan dokularında, bitkilerde ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan bir antioksidandır. Canlılarda yüksek düzeylerde (0.1mM- 10 mM) bulunurlar ve düşük molekül ağırlığına sahip peptid ve tiol bulundurlar.

GSH hücreleri toksik ROS'lere karşı korumanın yanısıra katalitik - metabolik olaylarda ve taşımada da fonksiyonları bulunmaktadır. Protein ve nükleik asit sentezi sırasında meydana gelen reaksiyonlara katılmakta, serbest radikalleri ve peroksitleri detoksifiye etmektedirler. Bazı enzimler için kofaktör olarak, sisteinin transportunda ve depolanmasında görev yapmaktadır. İntraselüler alanlarda sentezlenir ve hücre dışında hücre membranındaki belirli enzimler tarafından yıkımı başlatılır. GSH'ın oksidatif hasara, toksik bileşiklere ve radyasyona karşı hücreleri korumak için hücresel düzeylerinde artış olduğu metodlarla tespit edilmiştir. GSH peroksidazlar tarafından glutatyon disülfid (GSSG)'e dönüştürülmektedir.

GSH peroksidazlar da oksidasyona karşı hücre membranlarını ve hücre proteinlerini korumaktadırlar. GSH peroksidaz dört altüniteden meydana gelmektedir ve her biri selenyum

atomu içermektedir. Diğer bir peroksidaz GSH-S-transferazdır. Bu enzimde organik peroksitlerin indirgenmesinde görev yapmaktadır (Meister, 1988).

H₂O₂'i uzaklaştırmak için meydana gelen bir dizi reaksiyon Askorbat- Glutasyon döngüsü olarak bilinmektedir. Yapraklarda ve dokularda askorbat okside olduğunda daima Monodehidroaskorbat'dan (MDHA) Dehidroaskorbat (DHA) meydana gelmektedir. DHA GSH'ı substrat olarak kullanan DHA Redüktaz'ın aktivasyonu ile askorbata indirgenmektedir. Bu reaksiyon sonucunda GSSG meydana gelmektedir. GSSG NADPH tarafından tekrar GSH'a dönüştürülmektedir. Bu sırada NADPH'dan kopan elektronlar kullanılarak H₂O₂ suya indirgenmektedir (Noctor, 1998).

Hidroksil radikali (OH⁻) yüksek reaktif bir özelliğe sahip olduğundan (oksidatif stres altında hücrel hasarların ana sebebi) enzimatik bir şekilde kontrol edilmesi oldukça zor bir serbest radikaldir. Yaşayan organizmalar bu radikalden SOD ile kaçınmaya çalışmaktadırlar. Bu enzim aerobik olan tüm organizmalarda bulunmaktadır. Enzimin metal kofaktörlerine göre üç tipi bulunmuştur. Bunlardan FeSOD (prokaryotik organizmalarda, kloroplast stromasında) ve MnSOD (prokaryotik organizmalarda ve ökaryotların mitokondrisinde) yapısal olarak benzerlik göstermesine karşın Cu/ZnSOD (sitozolde ve kloroplastlarda) diğer ikisinden farklı bir yapıya sahiptir. Bu enzimler H₂O₂ 'e olan farklı duyarlılıklarına göre lokalize olmaktadır (Bannister ve ark. 1989). SOD, süperoksidin H₂O₂'e dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir. Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ile Glutasyon peroksidaz (GPx) ve CAT enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir. Normal koşullarda hücrede oluşan H₂O₂'in detoksifikasyonunda esas olarak bir selenoenzim olan GPx fonksiyona sahiptir. CAT'ın H₂O₂ oluşumunun arttığı durumlarda önemli etkinliğinin olduğu kabul edilmektedir. SOD, GPx ve CAT enzimlerinden ayrı olarak E ve C vitamini de hücre içi antioksidan özelliğe sahiptir. Her ikisi de hücre membranlarındaki lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlardır (Çavdar ve ark.1997).

Polifenoller serbest radikalleri ortadan kaldırmada etkisiz hale getirmede güçlü ve ideal bir kimyaya sahiptirler, *invitro* ortamda tokoferol ve askorbatdan daha etkili antioksidanlar olarak gösterilmektedirler. Polifenollerin antioksidan özellikleri hidrojen ve elektron donörleri olarak ve zincir kırıcı olarak görev yapmalarıdır. Yapılan araştırmalar fenoliklerin bitki hücrelerinde H₂O₂ 'i etkisiz hale getirmekte etkili olduğunu göstermiştir (Takahama ve ark. 1997).

Yapılan çalışmada bor stresine maruz kalmış toleranslı(arpa) ve toleranssız(kırmızı mercimek) iki bitkinin strese verdikleri cevaplar stres parametreleri ölçülerek belirlendi. Ayrıca bitkilerin azot kaynaklarının değiştirilmesinin de bor stresine cevabı değiştirdiği belirlendi. Kalsiyum ilavesinin de bor stresini belli oranlarda azalttığını belirledik.

2. MATERYAL ve METOD

2.1. Materyal

Çalışmamızda kullandığımız kırmızı mercimek (Yerli) tohumlarını Güneydoğu Tarım Araştırmaları Enstitüsünden tedarik ettik. Arpa (Tokak 157/37) tohumlarında ise Ankara Tarım Araştırmaları Enstitüsünün tescilli tohumlarını kullandık. Deneysel çalışmalarda Optik ölçümler, spektrofotometre (UV-Vis 530, Jasko, Japon) ile alındı. Ayrıca sabit sıcaklık sirkülatörü (Polyscience), pH metre (Orion, 720 A), homojenizatör (IKA, Almanya), soğutmalı santrifüj (Hettich Universal 16R), deneysel çalışmalarda kullanıldı. Kullanılan kimyasallar ise hidrojen peroksit, potasyum dihidrojen fosfat, dipotasyum hidrojen fosfat, nitroblue tetrazolyum, b-merkaptoetanol, askorbik asit, dimetilsülfoksit, etanol, trikloroasetik asit, tiyobarbütirik asit, hidroklorik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), fosforik asit (Merck, Darmstadt, Almanya), glisin, trizma bazı, guasikol, sığır serum albümin, amonyum persülfat, brom fenol blue (Sigma St. Louis, USA)'dır.

2.1.1. Bitki Büyütme Koşulları

Mercimek ve arpa tohumları, % 10'luk hipoklorit çözeltisi ile 20 dakika dezenfekte edilip distile su ile yıkandı, daha sonra 10 gün 25°C de nemli iki kurutma kağıdı arasında saf pamuk kullanılarak çimlendirildi. 10 günlük fideler Hougland çözeltisi olarak adlandırılan ve içeriğinde; 0.492 g/L CaCl_2 , 0.23 g/L KH_2PO_4 , 0.49 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2.86 mg/L H_3BO_3 , 1.81 mg/L $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.22 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.09 mg/L $\text{NaMoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ bulunduran ayrıca $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 %) ile tartarik asit (0,4 %) içeren çözeltiden 0.6 ml/L olacak şekilde Arnon ve Hougland (1945) tarafından önerilen büyütücü solüsyona konuldu. Büyütücü solüsyonda ayrı ayrı 10 mM azot içeren KNO_3 , NH_4Cl ve $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ [Üre] üç çözelti hazırladık. Bu üç çözeltiden de ayrı ayrı 5 ve 10 mM bor içeren ikişer tane solüsyon hazırladık. Daha sonraki aşamalarda ise hazırlanan solüsyonlara 8 ne 12 mM kalsiyum ilave ettik. Bu solüsyonlarda büyütülen bitkilerde 7. gün sonundaki değişimler incelendi yani bu solüsyonlara bitki örnekleri toplam 7 gün maruz bırakıldı. Büyütücü solüsyon, pH değişimini engellemek ve besin takviyesi yapabilmek için haftada dört kez değiştirildi ve sürekli havalandırıldı. Mercimek ve arpa fideleri 25°C 16 saat ışık / 8 saat karanlık büyüme çemberinde bor stresine maruz bırakılarak izlendi. Bu süreçte filizler ve kökler, enzim analizleri için ekstraktların hazırlanmasında, büyüme parametrelerinin incelenmesinde ve metal analizleri için kullanıldı.

2.1.2. Ham Ekstraktın Hazırlanması

Mercimek ve arpa bitkilerinin ham ekstraktları enzim analizleri için hazırlandı. 1'er g filiz ve kök materyalleri 20 mM β -merkaptotanol içeren 4 ml 20 mM (pH 7.0) potasyum fosfat tamponu ile homojenize edildi. Homojenat filtre edildi ve 12 500 rpm'de 40 dakika santrifüjlendi elde edilen süpernatant enzim analizleri için kullanıldı. Ekstraksiyon süresince tüm işlemler 4°C de gerçekleştirildi.

2.2. Metod

2.2.1. Büyüme Parametreleri

% relatif büyüme hızının belirlenmesi için, stres uygulamalarının 0. ve 7. günde mercimek ve arpa filizleri önce musluk suyunda daha sonra non-iyonik deterjan içeren distile su ile son olarak üç kez distile su ile yıkandı yaş ağırlık tayinleri köklerin ve filizlerin ayrı ayrı alındı. % Relatif büyüme hızı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{RelatifBüyümeHızı} = \frac{\ln \text{Yaş ağırlık (7.gün)} - \ln \text{Yaş Ağırlık (0.gün)}}{t (7.\text{gün}) - t (0.\text{gün})} \times 100$$

2.2.2. Metal Analizi Tayini

Bor stresi uygulanmış 0,5'er gr kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin filiz ve kökleri kurutulup 10'ar ml HNO_3 : HClO_4 (3:1) (V/V) karışımında 50 °C'de örnekler tamamen sıvılaşıncaya kadar yaş yakma işlemi gerçekleştirilerek saf suyla 10 ml ye tamamlandı. Örneklerdeki Na ve K miktarları alev fotometresiyle (Jenway PFP 7), Ca, Fe miktarları atomik absorpsiyon spektroskopisiyle (Varian FS 2000) ölçüldü.

2.2.3. Hidrojen Peroksit İçeriğinin Belirlenmesi

Hidrojen peroksit içeriği Jana ve Choudhuri (1981) tarafından önerilen metoda göre belirlendi. Mercimek ve arpa bitkilerinin filiz ve kökleri 0,05 g yaş olarak tartılıp 50 mM potasyum fosfat tamponunda (pH 6.8) homojenize edildi ve 10000 g de 25 dakika santrifüjlendi. Çözelti alındı üzerine % 1.0 lik titanium (IV) klorid ve % 20'lik H_2SO_4 (V/V) çözeltileri 25 ml olarak suda hazırlandı ve ekstraktın üzerine 1 ml eklendi, vorteksle karıştırıldıktan sonra 10 000 g de 15 dakika santrifüjlendi. Süpernatantın 410 nm'de köre karşı (fosfat tamponu) absorpsansı ölçülerek

hidrojen peroksit konsantrasyonu hesaplandı. (Absorbans= $\epsilon \cdot I \cdot C$ formülünden) [$\epsilon=0.28 \mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$].

2.2.4. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

Prolin içeriği Bates ve arkadaşları (1973) tarafından belirlenen metoda göre spektrofotometrede absorbansın ölçülmesiyle tayin edildi. 7. günde stres uygulanmış mercimek ve arpa bitkilerinin filiz ve köklerinden 0,5'er g alınıp % 5'lik sülfosalisilik asit solusyonunda homojenize edilip 13 000g'de 10 dk. santrifüjlendi. Süpernatant alınıp üzerine 1 ml glasier asetik asit ve 1 ml taze hazırlanmış ninhidrin solüsyonu eklenerek 95 °C'de 1 saat inkübe edildi ve oda sıcaklığına soğutuldu. Örneklerin üzerine 2 ml tolüen eklenerek vorteksle 20 sn karıştırılıp tolüen fazı alınıp 520 nm'de köre karşı ölçüm alındı. Prolin konsantrasyonu prolin standart eğrisi oluşturularak $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık olarak hesaplandı.

2.2.5. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu Heat ve Packer (1968) tarafından belirlenen metoda göre hesaplandı. Bu metoda göre lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak MDA (Malondialdehid)'yi kabul eden tiyobarbütirik asit testi kullanıldı. 1 g bitki örneği, % 20 trikloroasetik asit ve % 0.5 tiyobarbütirik asit içeren 10 ml çözeltide homojenize edildi. Homojenat 95 °C'de 30 dakika inkübe edildi ve 10000 g'de 10 dakika santrifüjlendi. 532 ve 600 nm'de süpernatantın absorbansı okundu, 600 nm'deki spesifik olmayan absorbans çıkarıldı. Kırmızı renkli MDA-TBA kompleksinin miktarından lipid peroksidasyon değişimleri hesaplandı. (Absorbans= $\epsilon \cdot I \cdot C$ formülünden) [$\epsilon=155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$]

2.2.6. Antioksidan Enzim Aktivite Ölçümleri

Çalışmalarda kullanılan tüm solüsyonlar bidistile su ile günlük taze olarak hazırlandı.

2.2.6.1. Süperoksit Dismutaz

25 mM, pH 7.0 Fosfat Tamponu (0.8704 gr K_2HPO_4 ve 0.6808 gr KH_2PO_4 250 ml bidistile suda çözüldü ve 1 M NaOH ile pH 7.0'a ayarlandı).

Methionin Çözeltisi

0.0746 gr methiyonin 5 ml 20 mM, pH 7.8 fosfat tamponu içerisinde çözülerek hazırlandı (1 ml'lik küvette 13 mM olacak şekilde kullanıldı).

NBT Çözeltisi

0.041 gr nitroblue tetrazolyum 5 ml 20 mM, pH 7.8 fosfat tamponu içerisinde çözülerek hazırlandı (1 ml'lik küvette 75 µM olacak şekilde kullanıldı).

EDTA Çözeltisi

0.0019 gr Na-EDTA 50 ml 20 mM, pH 7.8 fosfat tamponu içerisinde çözülerek hazırlandı (1 ml'lik küvette 0,1 µM olacak şekilde kullanıldı).

Riboflavin Çözeltisi

0.0018 gr riboflavin 10 ml 20 mM, pH 7.8 fosfat tamponu içerisinde çözülerek hazırlandı (1 ml'lik küvette 2 µM olacak şekilde kullanıldı).

Süperoksit Dismutaz Aktivite Ölçümü

Süperoksit dismutaz aktivitesi Beyer ve Fridovich (1987) tarafından önerilen metoda göre NBT'nin fotokimyasal indirgenme inhibisyonunun izlenmesiyle tayin edildi. Reaksiyon karışımı (1 ml'lik küvette belirtilen konsantrasyonlarda olacak şekilde reaktifler ve üzerine absorbanı anlamlı okunabilen enzim konsantrasyonları ile tampon eklendi) 350 µmol/m⁻²s ısı şiddetinde 15 dakika bekletildi. SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm'de, ışık altında bekletilen NBT'nin % 50'sinin indirgenmesi için gerekli olan enzim miktarı olarak tayin edildi.

2.2.6.2. Askorbat Peroksidaz

Askorbik Asit Solüsyonu

0.0176 gr askorbik asit 10 ml 0.025 M, pH 7,0 fosfat tamponu içerisinde çözülerek her kullanımda taze olarak hazırlandı.

Askorbat Peroksidaz Aktivite Ölçümü

Askorbat peroksidaz aktivitesi, Nakano ve Asada (1981) tarafından belirlenen yöntemle göre 290 nm de askorbat oksidasyon oranının monitörden izlenmesiyle ölçüldü ($\epsilon=2,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Reaksiyon karışımı 0,1 mM EDTA, 1mM hidrojen peroksit, 0.25 mM askorbik asit ve enzim örneğini içeren 1 ml 25 mM pH 7,0 fosfat tamponudur. Fosfat tamponu içerisinde 20 mM β-merkapt etanol olacak şekilde hazırlandı. $[U/ml=(\Delta A.V_t) / \epsilon.V_s]$ formülü kullanılarak hesaplamalar yapıldı. (V_t : Toplam küvet hacmi, V_s : Enzim hacmi).

2.2.6.3. Guasikol Peroksidaz

Guasikol Çözeltisi

% 1 doygunlukta olacak şekilde 0.05 ml guasikol 5 ml 0.025 M, pH 7,0 fosfat tamponu içerisinde çözülerek her kullanımda taze olarak hazırlandı.

Guasikol Peroksidaz Aktivite Ölçümü

0,5 g örnek 2,5 ml fosfat tamponunda homojenize edildi. Guasikol peroksidaz aktivitesi guasikol oksidasyonuna bağlı olarak Nakano ve Asada (1981) tarafından belirlenen yöntemle göre 470 nm 'de absorbanstaki artış izlenerek belirlendi ($\epsilon=26,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Reaksiyon karışımı % 0.05 guasikol, 10 mM hidrojen peroksit, enzim örneği içeren 25 mM pH 7,0 fosfat tamponudur. $[U/ml=(\Delta A.4.V_t) / \epsilon.V_s]$ formülü kullanılarak hesaplamalar yapıldı. (V_t : Toplam küvet hacmi, V_s : Enzim hacmi).

2.2.6.4. Lipoksigenaz

Lipoksigenaz aktivitesi Axelrod ve arkadaşları (1981) tarafından belirlenen yöntemle göre linoleik asidin substrat olarak kullanılmasıyla tayin edildi. Substrat çözeltisi 1,3 mM linoleik asidin, içerisinde % 0,1 Tween 20 olan 25 ml, 10 mM, pH=10 olan tetraborat tamponunda hazırlandı ve 234 nm de absorbanstaki artışın 1 dakika izlenmesiyle lipoksigenaz aktivitesi tayin edildi ($\epsilon=25 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$). $[U/ml=(\Delta A.1000.V_t) / \epsilon.V_s]$ formülü kullanılarak hesaplamalar yapıldı. (V_t : Toplam küvet hacmi, V_s : Enzim hacmi).

2.2.6.5. Katalaz

Bitki doku homojenatlarında katalaz (EC 1.11.1.6.) aktivite tayini Aebi'ye (1984) göre yapılmıştır. Bu metoda göre H_2O_2 , ışık spektrumunun UV alanında dalga boyunun azalmasıyla artan bir absorbsiyon verir. H_2O_2 'nin parçalanıp ortamdan uzaklaştırılmasıyla oluşan absorbans azalması 240 nm de takip edildi. Absorbansta gözlenen azalma hızı katalaz aktivitesi ile orantılıdır. Deneyde 50 mM, pH 7,0 fosfat tamponu ve H_2O_2 , (Merck) kullanılmıştır. Fosfat tamponu içinde H_2O_2 bulunan çözeltiye belirtilen miktarlarda numune konularak köre karşı 240 nm dalga boyunda spektrofotometrede 15'er saniye aralıklarla 3 kez ölçülmüştür.

2.2.8. Fotosentetik Pigment Tayini

Klorofil içeriği Arnon (1949) tarafından geliştirilen yöntemle göre belirlendi. Bitkilerin taze yaprak örnekleri (100–200 mg) 15 ml % 80'lik (hacim/hacim) asetonla homojenize edilerek beyaz bant filtre kâğıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Elde edilen ekstraksiyonda absorbans değerleri U.V. spektrofotometresinde (UV-Vis 530, Jasco, Japon) 652 nm'de alınan absorbans değerlerine göre toplam klorofil değişimleri incelendi (Birim, mg/g taze ağırlık). Hesaplamalar Lichtenthaler ve Wellburn (1983) tarafından aşağıda verilen formüle göre yapılmıştır (A:ölçülen absorbans değeri).

$$\text{Toplam klorofil} = A_{652} \times 27.8 / \text{mg örnek ağırlığı}$$

2.2.8. İstatistiksel Analiz

Bütün deneyler en az 3 defa tekrarlandı. Sonuçlar, ortalamanın standart hatası alınarak ve varyans analizi yapılarak istatistiksel analize tabi tutuldu. Varyans analizleri bilgisayarda SPSS15 veri analiz programı kullanılarak çoklu karşılaştırma testi (ANOVA) ile $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ anlamlılık seviyelerinde yapıldı. Ayrıca yine aynı program ile korelasyon (ilgileşim) testleri yapılarak yorumlandı.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

3.1. Bor Stresine Maruz Bırakılmış Kırmızı Mercimek ve Arpa Bitkilerinin Büyüme Ortamındaki Azot kaynağının Değiştirilmesinin Etkileri

Yapılan bu çalışmada 5 ve 10 mM'lık bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek(Yerli) ve arpa (Tokak 157/37) bitkilerinin büyüme ortamlarındaki farklı azot kaynaklarının (NO_3^- , NH_4^+ ve Üre) bitki büyüme parametreleri, metal içerikleri, bazı enzim aktivite değişimleri ve toplam klorofil miktarları üzerine etkisi izlendi.

3.1.1. Büyüme Parametreleri

NO_3^- , NH_4^+ ve Üre gibi üç farklı azot kaynağı uygulanan kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında en yüksek % relatif büyüme hızı NH_4^+ azot kaynaklı örnekte belirlenmiştir.

5 mM bor stresi uygulanmış mercimek bitkisinin filizlerinde 7. gün sonunda yapılan ölçümlerde % relatif büyüme hızı kontrol gruplarına göre NO_3^- 'de % 4,49 NH_4^+ 'da % 1,73'lük ve Üre'de % 3,58'lik azalma göstermiştir. Arpa bitkisinde ise kontrol gruplarına göre değişim NO_3^- de % 3,28 NH_4^+ 'de % 1,22'lik ve Üre'de % 3,06'lık azalma şeklinde belirlenmiştir. 10 mM bor uygulamasında ise kırmızı mercimek filizlerinde kontrol gruplarına göre % relatif büyüme hızında NO_3^- 'de % 8,41, NH_4^+ 'de % 4,59'luk ve Üre'de % 6,48'lik azalma tespit edilmiştir. Arpa bitkisinde ise kontrol gruplarına göre değişim NO_3^- 'de % 6,78, NH_4^+ 'de % 3,67'lik ve Üre'de % 5,89'luk azalma şeklinde belirlenmiştir.

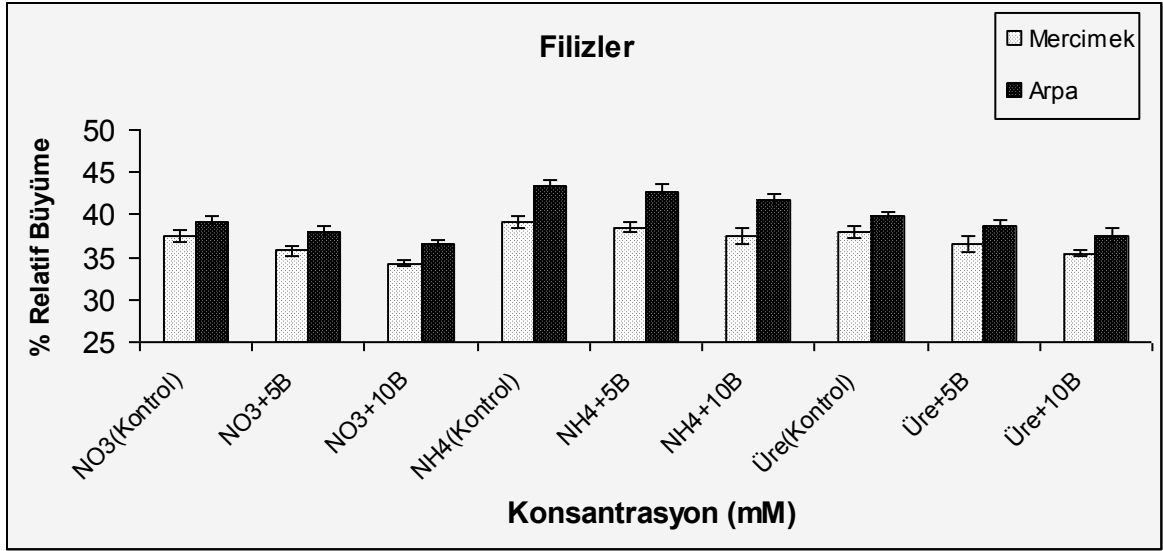
Köklerde ise yapılan ölçümlerde 5 mM bor uygulamasında kontrol gruplarına göre % relatif büyüme hızındaki değişimler filizlerde ki sonuçlara benzer olarak tespit edilmiştir fakat köklerdeki azalmanın filizlerdeki göre daha az olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarda bor stresi uygulanan mercimek ve arpa bitkilerinin % relatif büyüme hızı kontrol gruplarıyla kıyaslandığında % relatif büyüme hızının düştüğü belirlenmiştir. 5 ve 10 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin farklı azot kaynaklarının % relatif büyüme hızı üzerine etkileri incelendiğinde ise en düşük % değişim kontrol gruplarına göre NH_4^+ uygulanan örneklerdeki belirlendi. Ayrıca çalışmada iki bitki kıyaslandığında % relatif büyüme hızı mercimek bitkisinde daha düşük olarak gözlemlendi. Bu da arpa bitkisinin bor stresinden daha az etkilendiğini göstermektedir. ($p < 0,01$).

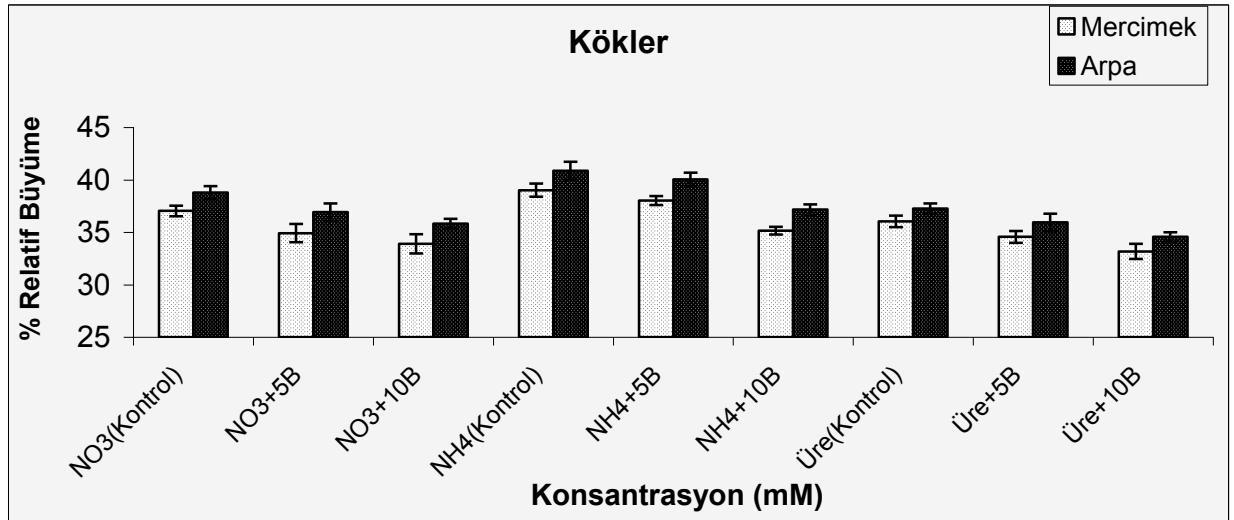
Borlu ortamlar gibi, tuzlu ortamlarda yetişen bitkilerin osmotik basıncının tuzdan dolayı artmasıyla suyun faydalı etkisinin azalması ve bitkilerin iyon dengesindeki bozulmalar büyüme parametrelerine olumsuz yönde etki etmektedir (Lewitt, 1980). Birçok araştırmacı tarafından tuzluluk stresi üzerine yapılan çalışmalarda, bitkilerde büyüme geriliği ile birlikte yapraklar, gövde ve köklerin yaş-kuru ağırlıklarında önemli azalmalar gözlemlendiği rapor edilmiştir (Hernandez ve arkadaşları, 2000; Cherian ve arkadaşları, 1999; Takemura ve arkadaşları 2000). Cervilla ve arkadaşları (2007) 2 tür domates bitkisinde bor toksisitesine bağlı olarak % relatif büyüme hızının azaldığını rapor etmişlerdir. Öztürk ve arkadaşları (2007) patates bitkisinin dekar başına yumru veriminde azot kaynaklarını incelemişler ve amonyum sülfat gübresinden amonyum nitrat ve üreye göre daha yüksek verim aldıklarını rapor etmişlerdir. Britto ve arkadaşları (2002) düşük konsantrasyonlarda NH_4^+ ve NO_3^- kullanımında arpa bitkisinde NH_4^+ 'den daha yüksek verim aldıklarını rapor etmişlerdir. Boukcim ve arkadaşları *Cedrus Atlantica* bitkisinde biyokütle yaş ağırlıklarda NH_4^+ uygulanan örneğin NO_3^- 'e göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

Yaptığımız çalışma sonuçlarına paralel sonuçlar Athanassios ve arkadaşlarının (2005) elma köklerinde yaptığı çalışmada 0.5 mM bor ilavesiyle kuru ağırlıkta artışların olduğu şeklinde sonuçlar rapor edilmiştir. Karabal ve arkadaşları (2003) arpa kültürüne yüksek konsantrasyonda (10.0 mM) bor uygulaması sonucu yaprak ve köklerin yaş-kuru ağırlıklarında azalmaların olduğu rapor etmişlerdir. Jalloh ve arkadaşları (2009) Cd toksisitesi üzerine farklı azot kaynaklarının pirinç bitkisindeki ürün verimine etkilerini incelemişler ve NH_4^+ uygulanan örneklerden üreye ve NO_3^- 'e göre daha yüksek düzeyde verim aldıklarını rapor etmişlerdir.

Yaptığımız çalışma göstermiştir ki bor stresi bitkilerin metabolik faaliyetlerini hasara uğratarak büyümeyi olumsuz yönde etkilemiştir. Ayrıca farklı azot kaynaklarının kullanımı toksisiteye karşı farklı cevapların alınmasını sağlamış ve toleranslı olan arpa bitkisi bor stresinden daha az etkilenecek daha fazla büyüme ve gelişme gözlemlenmiştir.



Şekil 3.1.1: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının filizlerdeki 7.gün % relatif büyüme hızı üzerine etkisi.



Şekil 3.1.2: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının köklerdeki 7.gün % relatif büyüme hızı üzerine etkisi.

3.1.2. Metal İçerikleri

Bu çalışmada azot kaynakları değiştirilmiş örneklerin büyüme solüsyonlarına 5 ve 10 mM bor ilave edilerek 7. gün sonunda her iki bitkinin kök ve filizlerinde K, Fe, Ca, Na, değişimleri izlendi.

Yapılan metal ölçümleri sonucunda her iki bitkinin kök ve filizlerinde bor stresine bağlı olarak K miktarının arttığı, Ca, Fe ve Na miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Farklı azot kaynağı yönünden sonuçlar değerlendirildiğinde azalış ve artışların en düşük % değişimi NH_4^+

uygulanan örneklerde belirlenmiştir. Kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında NH_4^+ uygulanan örneklerin daha iyi olduğu anlaşılmaktadır. İki bitkiyi birbiriyle kıyasladığımızda metal değişiminin arpa bitkisinde bor stresine bağlı olarak daha düşük seviyede olduğu görünmüştür. Bu da arpa bitkisinin kırmızı mercimek bitkisine göre bora daha toleranslı olduğunu göstermektedir ($p<0,01$).

3.1.2.2. K miktarı

Mercimek ve arpa filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre, K miktarının NO_3^- uygulanmış bitkiye 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 13,63 ve % 11,48 oranında arttığı gözlenmiştir. NH_4^+ uygulanmış bitkiye 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 8,61 ve % 6,79 oranında arttığı gözlenmiştir. Üre uygulanmış bitkiye 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 12,79 ve % 9,57 oranında arttığı gözlenmiştir. 10 mM bor ilave ettiğimizde ise K miktarında kontrol gruplarıyla kıyaslandığında 5 mM bor ilavesi sonuçlarına benzer fakat daha yüksek yüzdesel artışlar olduğu tespit edilmiştir. Benzer etkiler köklerde de gözlenmiştir fakat filizlerle kıyaslandığında daha düşük % artışlar belirlendi ($p<0,05$).

3.1.2.1 Fe Miktarı

7. gün Fe miktarı ölçümlerinde mercimek ve arpa bitkilerinin filizlerinde NO_3^- uygulanan örneklerle 5 mM B ilave ettiğimizde sırasıyla % 13.04, % 8.42 oranında azalmaların olduğu tespit edilmiştir. NH_4^+ uygulanmış bitkiye 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 5,64 ve % 3,24 oranında azaldığı gözlenmiştir. Üre uygulanmış bitkiye 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 11,60 ve % 7,12 oranında azalma belirlendi. 10 mM bor ilave ettiğimizde ise Fe miktarında kontrol gruplarıyla kıyaslandığında 5 mM bor ilavesi sonuçlarına benzer fakat daha yüksek % azalma olduğu tespit edilmiştir. Benzer etkiler köklerde de gözlenmiştir fakat filizlerle kıyaslandığında daha yüksek % azalma belirlendi ($p<0,01$).

3.1.2.3. Ca miktarı

Mercimek ve arpa filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre, Ca miktarının NO_3^- uygulanmış bitkilere 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 18,40 ve % 16,20 oranında azaldığı gözlenmiştir. NH_4^+ uygulanmış bitkilere 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 10,90 ve % 9,65 oranında azaldığı gözlenmiştir. Üre uygulanmış bitkilere 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 15,22 ve % 14,59 oranında azaldığı gözlenmiştir. 10 mM bor ilave ettiğimizde ise Ca miktarında kontrol gruplarıyla kıyaslandığında 5 mM bor ilavesi sonuçlarına benzer fakat daha yüksek yüzdesel azalışlar olduğu tespit edilmiştir. Benzer etkiler köklerde de gözlenmiştir fakat filizlerle kıyaslandığında daha düşük % azalışlar belirlendi ($p<0,01$).

3.1.2.4 Na miktarı

Mercimek ve arpa filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre, Ca miktarının NO_3^- uygulanmış bitkilere 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 18,40 ve % 16,20 oranında azaldığı gözlenmiştir. NH_4^+ uygulanmış bitkilere 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla %

10,90 ve % 9,65 oranında azaldığı gözlenmiştir. Üre uygulanmış bitkilere 5 mM bor ilave edilmesiyle sırasıyla % 15,22 ve % 14,59 oranında azaldığı gözlenmiştir. 10 mM bor ilave ettiğimizde ise Ca miktarında kontrol gruplarıyla kıyaslandığında 5 mM bor ilavesi sonuçlarına benzer fakat daha yüksek yüzdesel azalışlar olduğu tespit edilmiştir. Benzer etkiler köklerde de gözlenmiştir fakat filizlerle kıyaslandığında daha düşük % azalışlar belirlendi ($p<0,05$).

Tablo:3.1.1: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün metal içerikleri üzerine etkisi.

	K(mg/gDW)				Ca(mg/gDW)				Fe(mg/gDW)				Na(mg/gDW)			
yapraklar	mercimek		arpa		mercimek		arpa		mercimek		arpa		mercimek		arpa	
NO3(Kontrol)	90,63	± 3,31	85,42	± 2,11	13,02	± 0,60	15,54	± 0,69	0,139939	± 0,0057	0,16879	± 0,0110	37,84	± 0,97	40,11	± 0,81
NO3+5B	102,98	± 3,18	95,23	± 2,16	11,44	± 0,30	13,86	± 0,61	0,121681	± 0,0051	0,154568	± 0,0045	25,82	± 0,83	29,17	± 0,73
NO3+10B	111,82	± 2,26	103,73	± 2,45	9,85	± 0,45	12,16	± 0,72	0,108578	± 0,0058	0,145613	± 0,0096	18,15	± 0,91	20,62	± 0,68
NH4(Kontrol)	58,54	± 3,01	50,49	± 1,81	17,42	± 0,56	20,89	± 0,53	0,099229	± 0,0041	0,126866	± 0,0067	44,64	± 0,66	50,78	± 0,63
NH4+5B	63,58	± 3,16	53,92	± 2,18	14,63	± 0,34	17,97	± 0,48	0,093636	± 0,004	0,12275	± 0,0061	35,8	± 0,93	42,17	± 0,80
NH4+10B	69,16	± 2,19	61,74	± 1,93	11,84	± 0,56	15,11	± 0,46	0,088721	± 0,0038	0,118959	± 0,0058	29,54	± 0,80	34,26	± 0,64
Üre(Kontrol)	62,54	± 2,56	55,08	± 2,18	14,82	± 0,50	17,53	± 0,54	0,124061	± 0,0045	0,151824	± 0,0098	50,05	± 0,72	59,36	± 0,61
Üre+5B	70,54	± 2,76	60,35	± 3,21	12,31	± 0,88	14,46	± 0,47	0,109671	± 0,0039	0,141008	± 0,0085	38,29	± 0,88	46,71	± 0,71
Üre+10B	76,62	± 2,11	66,37	± 1,32	9,87	± 0,76	12,01	± 0,42	0,098593	± 0,0035	0,132818	± 0,0077	28,6	± 0,54	36,12	± 0,48
Kökler																
NO3(Kontrol)	80,11	± 1,93	76,17	± 2,41	15,68	± 0,53	18,62	± 0,91	0,267337	± 0,0075	0,309417	± 0,0123	45,63	± 0,82	47,94	± 0,88
NO3+5B	89,02	± 1,78	83,96	± 3,19	13,58	± 0,45	16,42	± 0,78	0,224183	± 0,0065	0,279503	± 0,0111	30,22	± 0,91	33,64	± 1,01
NO3+10B	96,61	± 2,44	90,85	± 2,78	10,22	± 0,82	12,95	± 0,75	0,196698	± 0,0058	0,259397	± 0,0103	20,86	± 0,84	24,18	± 1,12
NH4(Kontrol)	47,58	± 1,34	43,13	± 2,76	20,07	± 0,40	23,96	± 0,54	0,189375	± 0,0045	0,219669	± 0,0073	48,8	± 0,75	54,94	± 0,69
NH4+5B	50,94	± 1,18	45,32	± 1,82	18,04	± 0,79	21,8	± 0,47	0,174976	± 0,0039	0,209382	± 0,0065	36,93	± 0,67	43,3	± 0,65
NH4+10B	54,87	± 1,28	49,3	± 3,65	15,73	± 0,68	19,42	± 0,42	0,159551	± 0,0035	0,199585	± 0,0059	31,56	± 0,51	35,28	± 0,74
Üre(Kontrol)	51,73	± 1,05	48,44	± 1,48	17,68	± 0,56	20,81	± 0,77	0,229059	± 0,0064	0,247517	± 0,0104	55,98	± 0,98	61,5	± 0,85
Üre+5B	56,93	± 2,18	52,74	± 2,16	15,82	± 0,87	18,61	± 0,72	0,197261	± 0,0069	0,229407	± 0,0088	40,8	± 0,89	46,9	± 0,87
Üre+10B	61,79	± 3,26	57,28	± 1,45	10,92	± 0,34	13,47	± 0,67	0,174517	± 0,0056	0,209894	± 0,0086	34,37	± 0,58	38,04	± 0,89

3.1.3. Malondialdehid (MDA), Prolin ve Hidrojen Peroksit değişimleri:

Üç farklı azot kaynağı uygulanan kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında en düşük MDA miktarı NH_4^+ azot kaynaklı örnekte belirlenmiştir.

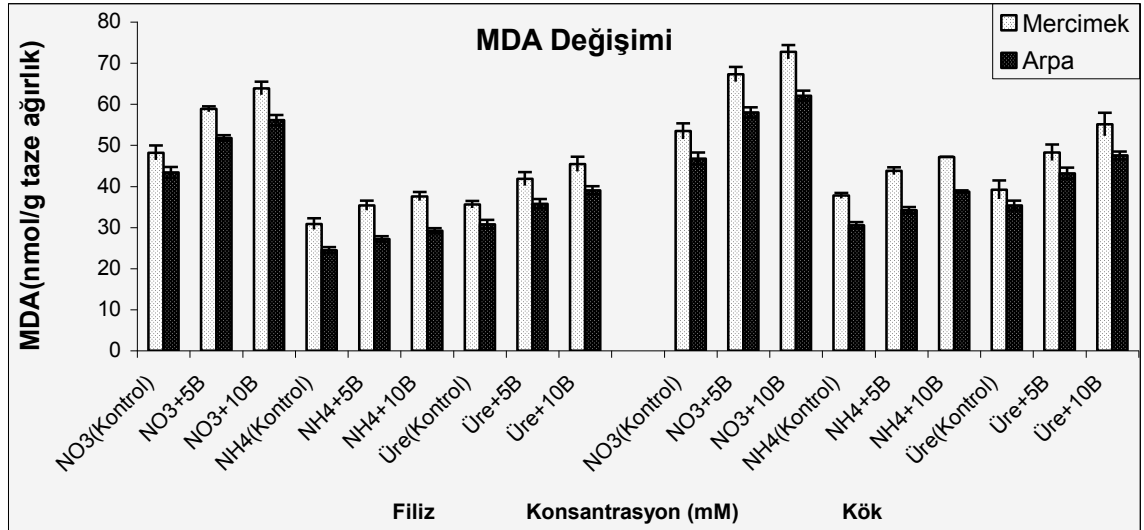
5 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek bitkisinin filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 22,037, NH_4^+ 'de % 14,48'lik ve Üre'de % 17,63'lük bir artış gözlenmiştir. Arpa filizlerinde ise NO_3^- de % 19,26, NH_4^+ de % 11,12'lik ve ürede ise % 16,28'lik bir artış gözlenmiştir. 10 mM bor uygulamasında ise kırmızı mercimek bitkisinin filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 32,54, NH_4^+ 'de % 21,74'lük ve Üre'de % 27,75'lik bir artış gözlenmiştir. Arpa filizlerinde ise NO_3^- de % 29,35, NH_4^+ de % 19,30'luk ve ürede ise % 26,84'lük bir artış gözlenmiştir ($p<0,01$).

Bitki köklerinde ise 5 mM bor uygulamasında kırmızı mercimekte 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında ki artış NO_3^- 'de % 25,86, NH_4^+ 'de % 15,92 ve Üre'de % 23,14'lük olarak gözlenmiştir. Arpa bitkisinde ise NO_3^- 'de % 23,94, NH_4^+ 'de % 11,92 ve Üre'de % 22,25'lik artışlar görülmüştür. 10 mM bor uygulanması sonucu ise MDA miktarı mercimek bitkisinde NO_3^- 'de % 36,03, NH_4^+ 'de % 24,88 ve Üre'de % 31,04'lük artışlar şeklinde gözlenmiştir. Arpa bitkisinde ise NO_3^- 'de % 32,63, NH_4^+ 'de % 26,85 ve Üre'de % 34,47'lik artışlar belirlenmiştir ($p<0,01$).

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarda üç farklı azot kaynağında büyüyen örnekler kontrol gruplarıyla kıyaslandığında bor stresiyle MDA miktarının arttığı belirlenmiştir. 5 ve 10 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin farklı azot kaynaklarının MDA miktarı üzerine etkileri incelendiğinde ise en düşük % artış kontrol gruplarına göre NH_4^+ uygulanan örneklerde belirlendi. Ayrıca çalışmada arpa bitkisindeki MDA miktarı artışları mercimekten daha düşük belirlenmiştir. Bu da arpa bitkisinin bor stresinden daha az etkilendiğini göstermektedir. ($p<0,01$).

Aktif oksijen türlerinin oluşumu stres faktörüne karşı bitkilerin oluşturmuş olduğu genel bir tepkidir (Luna ve arkadaşları; 1994; Gossett ve arkadaşları; 1994). Bu aktif oksijen türleri hücrede membranların yapısında bulunan lipidleri oksitleyerek (Lipid peroxidation) membranların yapısının bozulmasına neden olurlar. Bunun sonucunda zarların iyon alımındaki seçici geçirgenlik özellikleri kaybolabilir veya azalır. Malondialdehit (MDA) biyomembrandaki doymamış yağ asitlerinin ayrışma ürünlerinden biridir. Stres faktörleri sonucu hücre zarlarındaki lipidlerin oksitlenmesi reaksiyonlarında ortaya ara ürün olarak malondialdehit çıkar. Bu nedenle stres çalışmalarında malondialdehit miktarı stres zararının ölçüsünü belirlemede kullanılır (Wise ve Naylor 1987). Cervilla ve arkadaşları (2007) 2 tür domates bitkisinde MDA miktarının bor toksisitesine bağlı olarak arttığını rapor etmişlerdir. Q-Y-Li ve arkadaşları (2008) arpa bitkisini tuz stresine maruz bırakmış ve NO uygulayarak MDA miktarının azaldığını rapor etmişlerdir. P.

crispus'da civa akümülayonu lipit peroksidasyonuna neden olmuş ve MDA düzeyinde artma belirlenmiştir (Ali ve ark.,2000). Somashekaraiah ve arkadaşlarının (1992) yaptığı çalışmada Phaseolus vulgaris'in kadmiyum muameleli çimlenme denemesinde MDA düzeyinde artma meydana geldiği rapor edilmiştir. Pb ve diğer ağır metal streslerinin *Vigna* fidelerinde, (Bhattacharya ve Choudhuri, 1995), pirinçte (Mishra ve Chudhuri, 1996) MDA düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir. Toksik Zn miktarına bırakılan bitkilerde lipit peroksidasyonu arttığı için MDA üretiminde de artma meydana gelir. Serbest radikallerin aşırı oluşması ve artan lipit peroksidasyonu MDA üretimini arttırmaktadır (Alia ve ark., 1995). Yapılan başka bir çalışmada da Asma bitkisine uygulanan farklı konsantrasyonlarda ki borun (0,10,20,30 mg/kg) MDA miktarını arttırdığı rapor edilmiştir.(Güneş ve ark.,2006). Soğan bitkisi ile yapılan çalışmada da benzer sonuçlar rapor edilmiştir(İnal ve Tarakçioğlu, 2001).



Şekil 3.1.3: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün MDA miktarı üzerine etkisi.

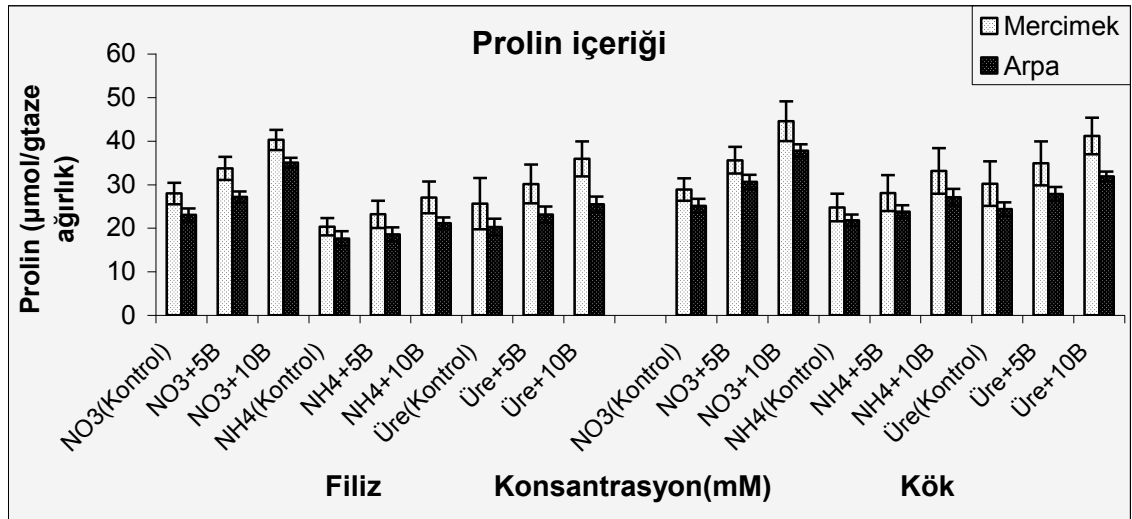
Üç farklı azot kaynağı uygulanan kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında en düşük prolin miktarı her iki bitkinin filiz ve köklerinde NH₄⁺ azot kaynaklı örnekte belirlenmiştir.

7.gün prolin miktarı ölçümlerinde NH₄⁺ azot kaynaklı örneklerde 5 mM bor stresinde kontrol grubuna göre kırmızı mercimekte % 13,91, arpada ise % 5,58'lik artış gözlemlendi. 10 mM bor stresinde ise % 32,94 kırmızı mercimekte, % 20,16 arpada artış gözlemlendi. NO₃⁻ ve Üre azot kaynaklı örneklerde ise kontrol gruplarına göre % artışlar 5 mM ve 10 mM bor stresinde NH₄⁺'den daha yüksek olarak belirlendi. Kendi aralarında değerlendirme yapacak olursak en yüksek artış kontrol gruplarına göre NO₃⁻ azot kaynaklı örneklerde belirlenmiştir (p<0,01).

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarda üç farklı azot kaynağında büyüyen örnekler kontrol gruplarıyla kıyaslandığında bor stresıyla prolin miktarının arttığı belirlenmiştir. 5 ve 10 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin farklı azot kaynaklarının prolin miktarı üzerine etkileri incelendiğinde ise en düşük % artış kontrol gruplarına göre NH_4^+ uygulanan örneklerde belirlendi. Ayrıca çalışmada arpa bitkisindeki prolin miktarı artışları mercimekten daha düşük belirlenmiştir. Bu da arpa bitkisinin bor stresinden daha az etkilendiğini göstermektedir. ($p < 0,01$).

Prolin aminoasidi, son yıllarda bitki stres fizyolojisinde üzerinde en çok çalışılan bileşiklerden birisi olmuştur. Bu bileşiğin tuz ve su stresi altındaki bitkilerde önemli oranlarda yükseldiği ve bu sayede bitki savunma mekanizmasını harekete geçirerek bitkinin strese karşı koyma mekanizmasını desteklediği görüşü hâkimdir. (Shannon, 1997) Birçok bitki tuzlu şartlarda toksik olmayan ancak koruyucu ozmolit olarak görev yapan prolin biriktirir (Muthukumarasamy ve ark., 2000; Singh ve ark., 1983) Athanassios ve arkadaşları (2005) 0.5 mM bor uygulamasının elma köklerinin prolin içeriğinde kontrole göre azalma olduğunu, 0.5 mM bordan sonraki konsantrasyonlarda MDA, LPO H_2O_2 ve prolin içeriklerinde artışların olduğunu rapor etmişlerdir.

Karabal ve arkadaşları (2003) arpa bitkisine uyguladıkları 5.0 ve 10.0 mM borun stres oluşturarak prolin MDA ve H_2O_2 içeriğini artırdığını rapor etmişlerdir. Cervilla ve arkadaşları (2007) 2 tür domates bitkisinde MDA miktarının bor toksisitesine bağlı olarak arttığını rapor etmişlerdir. Q-Y-Li ve arkadaşları (2008) arpa bitkisini tuz stresine maruz bırakmış ve NO uygulayarak tuz stresi sonucu artan MDA miktarının azaldığını rapor etmişlerdir.



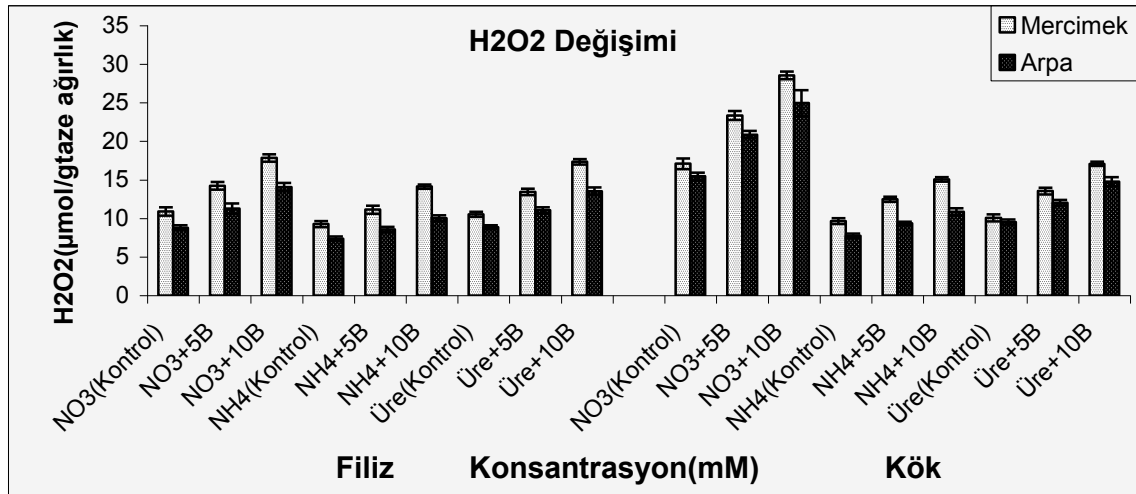
Şekil 3.1.4: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün prolin miktarı üzerine etkisi.

NO_3^- , NH_4^+ ve Üre gibi üç farklı azot kaynağı uygulanan kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında en düşük H_2O_2 miktarı her iki bitkinin kök ve filizlerinde NH_4^+ azot kaynaklı örneklerde belirlenmiştir.

5 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek bitki filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre H_2O_2 miktarında NO_3^- 'de % 30,64, NH_4^+ 'de % 20,41'lik ve Üre'de % 27,73'lük bir artış gözlenmiştir. Arpa filizlerinde ise NO_3^- 'de % 28,10, NH_4^+ 'de % 16,15'lik ve Üre'de ise % 24,72'lik bir artış gözlenmiştir. Bu verilere göre en az artış NH_4^+ azot kaynaklı örneklerde ve arpa bitkisinde gözlenmiştir. 10 mM bor uygulanan örneklerde ise H_2O_2 miktarındaki değişim MDA miktarında ki değişime paralel değerler şeklinde tespit edilmiştir ($p<0,01$).

Bitki köklerinde ise kırmızı mercimekte 7. gün ölçümlerinde kontrol grubuna göre H_2O_2 miktarında ki artış NO_3^- 'de % 36,69, NH_4^+ 'de % 28,95 ve Üre'de % 34,56'lık olarak gözlenmiştir. Arpa bitkisinde ise NO_3^- 'de % 34,82, NH_4^+ 'de % 20,80 ve Üre'de % 26,47'lik artışlar görülmüştür. 10 mM bor uygulanan örneklerde ise artış miktarı kök MDA artış miktarına paralel değerler şeklinde tespit edilmiştir ($p<0,01$).

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarda üç farklı azot kaynağında büyüyen örnekler kontrol gruplarıyla kıyaslandığında bor stresiyle H_2O_2 miktarının arttığı belirlenmiştir. 5 ve 10 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin farklı azot kaynaklarının H_2O_2 miktarı üzerine etkileri incelendiğinde ise en düşük % artış kontrol gruplarına göre NH_4^+ uygulanan örneklerde belirlendi. Ayrıca çalışmada arpa bitkisindeki H_2O_2 miktarı artışları mercimekten daha düşük belirlenmiştir. Bu da arpa bitkisinin bor stresinden daha az etkilendiğini göstermektedir. ($p<0,01$).



Şekil 3.1.5: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün H_2O_2 miktarı üzerine etkisi.

Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre MDA, prolin ve H_2O_2 miktarları istatistiksel olarak irdelendiğinde MDA ve prolin R^2 değeri 0,98927, MDA ve H_2O_2 R^2 değeri 0,97446, Prolin ve H_2O_2 R^2 değeri ise 0,95499 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar da göstermektedir ki bu parametrelerin artışları anlamlı ve birbirini destekler nitelik taşımaktadır.

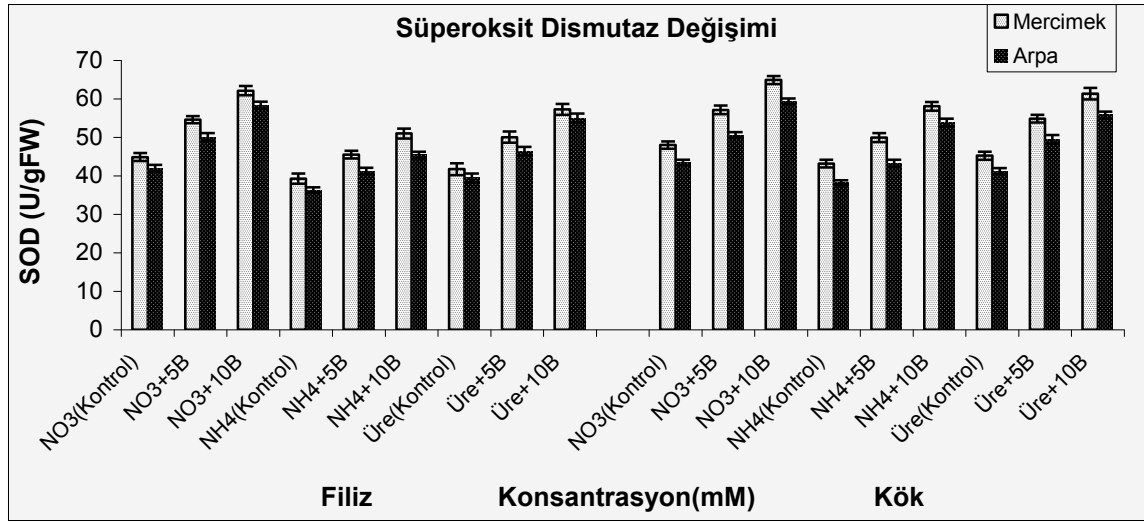
3.1.4. Süperoksit Dismutaz(SOD), Askorbat Peroksidaz(APX), Guasikol Peroksidaz(GPX) Lipoksigenaz(LOX) ve Katalaz(CAT) Aktivitelerinin Değişimleri:

Çimlendirme işlemi sona ermiş kırmızı(Yerli) mercimek ve arpa(Tokak) bitkileri ayrı ayrı azot kaynakları içeren büyüme solüsyonlarına 5 mM ve 10 mM bor konularak 7. gün sonunda kontrol gruplarına göre kök ve filizlerdeki (yaprak+sap) süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, guasikol peroksidaz ve katalaz aktivitelerindeki değişimler incelendi.

NO_3^- , NH_4^+ ve Üre gibi üç farklı azot kaynağı uygulanan kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında en düşük SOD aktivitesi NH_4^+ azot kaynaklı örnekte belirlenmiştir.

5 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin filizlerindeki süperoksit dismutaz aktivitesi kontrol gruplarına göre 7. günün sonunda sırasıyla NO_3^- 'de % 21,64 ve % 19,32, NH_4^+ 'de % 15,84 ve % 13,64, Üre'de ise % 19,94 ve 17,66'lık artış göstermiştir ($p<0,05$). 10 mM bor stresi ise kırmızı mercimek ve arpa filizlerinde paralel şekilde fakat daha yüksek düzeylerde aktivite artış yüzdeleri tespit edilmiştir. Ayrıca 5 mM ve 10 mM bor stresi uygulanan iki bitkinin de köklerinde yapılan süperoksit dismutaz aktivitesi ölçümlerinin sonuçlarını değerlendirecek olursak mercimek bitkisinin köklerinde arpa bitkisine göre daha yüksek %'lerde artışlar tespit edilmiştir. Filizler ve kökleri karşılaştırsak köklerdeki artış yüzdeleri filizlere göre daha düşük düzeyde belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarda üç farklı azot kaynağında büyüyen örnekler kontrol gruplarıyla kıyaslandığında bor stresine SOD aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. 5 ve 10 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin farklı azot kaynaklarının SOD aktivitesi üzerine etkileri incelendiğinde ise en düşük % artış kontrol gruplarına göre NH_4^+ uygulanan örneklerde belirlendi. Ayrıca çalışmada arpa bitkisindeki SOD aktivite değişimleri mercimekten daha düşük belirlenmiştir. Bu da arpa bitkisinin bor stresinden daha az etkilendiğini göstermektedir. ($p<0,05$).



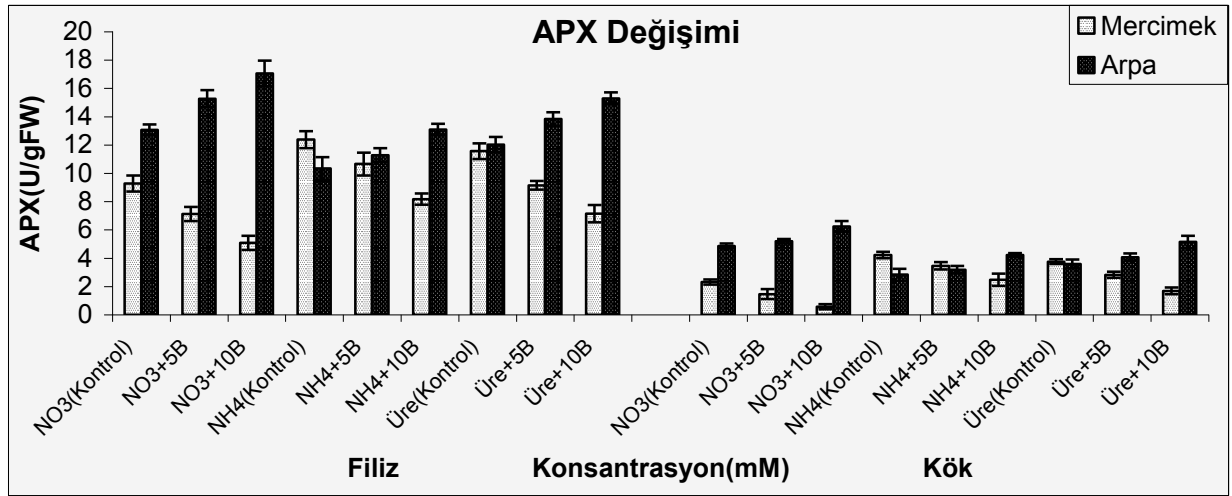
Şekil 3.1.6: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkisi.

Bitki hücrelerinde H_2O_2 'in detoksifikasyonunda en önemli indirgen substrat askorbatır. APX askorbatı H_2O_2 ve suya parçalamaktadır. Askorbik asit, Süperoksit anyonu, singlet oksijen ve H_2O_2 gibi ROS'ların geniş bir bölümünü elemine etmekte ve zincir kırıcı olarak görev yapmaktadırlar. Jalloh ve arkadaşları (2009) Cd toksisitesi üzerine farklı azot kaynaklarının pirinç bitkisindeki etkilerini incelemişler, NH_4^+ ve üre uygulanan örneklerde SOD ve GPX aktivitelerinin arttığını rapor etmişlerdir. Wang ve arkadaşları (2008) Vallisneria spiralis bitkisinde yaptıkları çalışmada NH_4^+ miktarı arttıkça APX, GPX ve CAT aktivitesinin arttığını SOD aktivitesinin ise belli bir derişime kadar arttığını ve 20-28 mM'a çıktığında ise azaldığını rapor etmişlerdir.

Üç farklı azot kaynağı uygulanan kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında en düşük APX aktivitesi NH_4^+ azot kaynaklı örnekte belirlenmiştir.

5 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek bitkisinin filizlerindeki askorbat peroksidaz aktivitesi kontrol gruplarına göre 7. günün sonunda NO_3^- 'de % 23,28, NH_4^+ 'de % 13,97 ve Üre'de % 20,93'lük azalma göstermiştir. Arpa filizlerinde ise mercimek bitkisindeki azalmaların aksine NO_3^- 'de % 16,92, NH_4^+ 'de % 8,99 ve Üre'de % 15,06'luk aktivite artışı belirlenmiştir. 10 mM bor stresi ise kırmızı mercimek bitkisinde daha yüksek düzeyde azalmalar ve arpa filizlerinde daha yüksek düzeylerde aktivite artışları tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca 5 mM ve 10 mM bor stresi uygulanan iki bitkinin de köklerinde yapılan askorbat peroksidaz ölçümlerinin sonuçlarını değerlendirecek olursak mercimek bitkisinin köklerinde filizlerine oranla daha yüksek düzeyde azalmalar, arpa bitkisinde ise daha düşük % artışlar tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarda üç farklı azot kaynağında büyüyen örnekler kontrol gruplarıyla kıyaslandığında mercimek bitkisinde bor stresine APX aktivitesinin azaldığı arpa bitkisinde ise arttığı belirlenmiştir. 5 ve 10 mM bor stresini uygulanmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin farklı azot kaynaklarının APX aktivitesi üzerine etkileri incelendiğinde ise mercimek bitkisindeki en düşük % azalış, arpa bitkisinde ise artış kontrol gruplarına göre NH_4^+ uygulanan örneklerde belirlendi. Ayrıca çalışmada arpa bitkisindeki APX aktivite artışının belirlenmesi arpa bitkisinin bor stresinden daha az etkilendiğini ve mercimek bitkisindeki aktivite azalışı ise enzimin inhibe olduğunu göstermektedir. ($p < 0,05$).



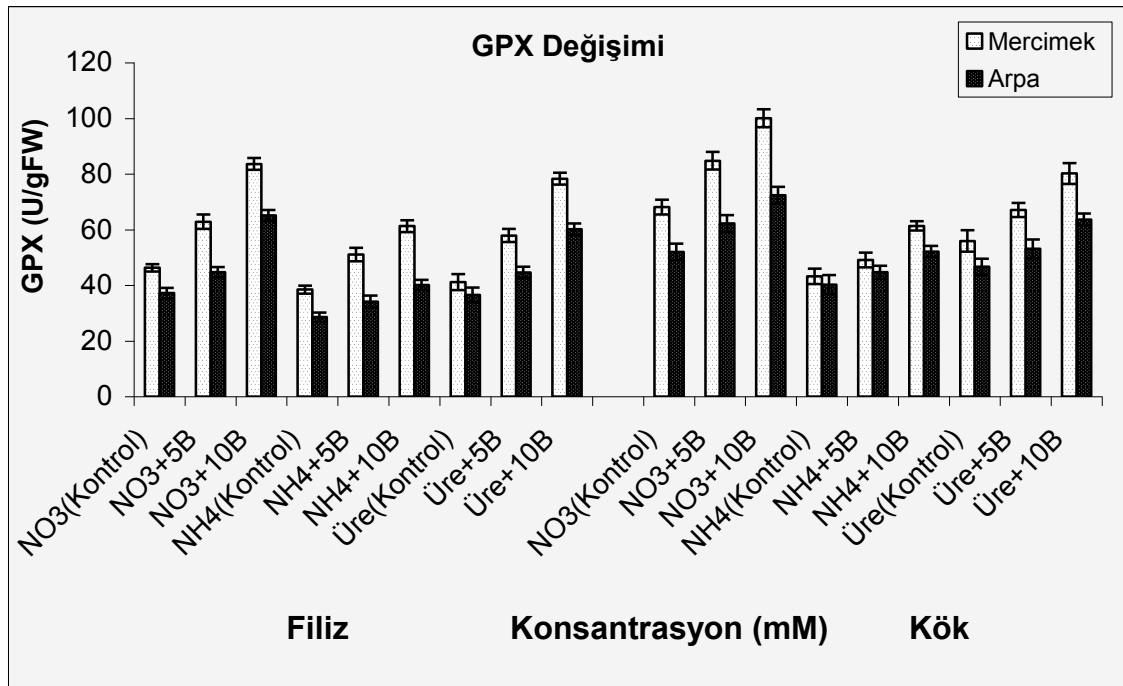
Şekil 3.1.7: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün askorbat peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

Yapılan diğer bir aktivite ölçümü de guasikol peroksidaz enzim aktivitesidir. Üç farklı azot kaynağı uygulanan kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında en düşük GPX aktivitesi NH_4^+ azot kaynaklı örnekte belirlenmiştir. Bu enzim aktivitesinde kontrol gruplarına göre 7. gün sonunda kırmızı mercimek bitkisi filizlerinde 5 mM bor stresini uygulanmış örnekler için NO_3^- 'de % 42,20, NH_4^+ 'de % 24,88 ve Üre'de % 37,04'lük artışlar belirlendi. 10 mM bor stresini uygulanmış örneklerde ise NO_3^- 'de % 90,62, NH_4^+ 'de % 49,00 ve Üre'de % 76,69'luk artışlar belirlenmiştir. Arpa filizlerinde ise kontrol gruplarına göre 7. gün sonundaki guasikol peroksidaz aktivitesi ölçümlerinde 5 mM bor uygulanan örneklerde NO_3^- 'de % 22,19, NH_4^+ 'de % 19,61 ve Üre'de % 20,39'luk artışlar belirlendi. 10 mM bor stresini uygulamasında da mercimek filizlerine benzer şekilde fakat daha düşük seviyede artışlar belirlenmiştir.

İki bitkinin de köklerinde yapılan GPX aktivitesi ölçümlerinde ise filizlerde ki ölçümlere gibi % aktivite artışları gözlenmiştir fakat bu artışlar filizlerdekinden daha düşük seviyelerde belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarda üç farklı azot kaynağında büyüyen örnekler kontrol gruplarıyla kıyaslandığında bor stresıyla GPX aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. 5 ve 10 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin farklı azot kaynaklarının GPX aktivitesi üzerine etkileri incelendiğinde ise en düşük % artış kontrol gruplarına göre NH_4^+ uygulanan örneklerde belirlendi. Ayrıca çalışmada arpa bitkisindeki GPX aktivite değişimleri mercimekten daha düşük belirlenmiştir. Bu da arpa bitkisinin bor stresinden daha az etkilendiğini göstermektedir. ($p < 0,05$).

Gossett ve ark. (1994) yaptıkları araştırmada *Gossypium hirsutum* L.'da tuz stresinin SOD, guasikol peroksidaz aktivitelerini artırdığını, CAT ve APX aktivitelerini ise azalttığını rapor etmişlerdir.

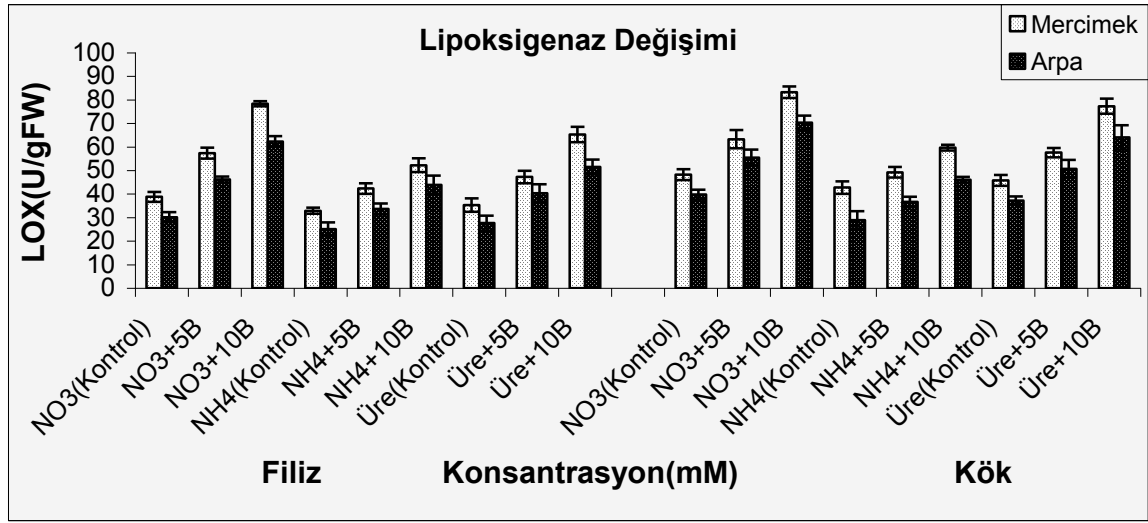


Şekil 3.1.8: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün guasikol peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

Lipoksigenaz aktivite ölçümleri değerlendirilirse kontrol gruplarına göre 7. gün sonundaki değişimler kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin filizlerinde 5 mM bor stresi uygulanmış örnekler için sırasıyla NO_3^- 'de % 47,82 ve %52,95, NH_4^+ 'de % 28,68 ve % 34,13 Üre'de ise % 33,79 ve % 46,02 oranında artışlar belirlenmiştir. 10 mM bor stresi uygulamasında

da mercimek ve arpa filizlerinde benzer şekilde fakat daha yüksek yüzdesel seviyede artışlar belirlenmiştir.

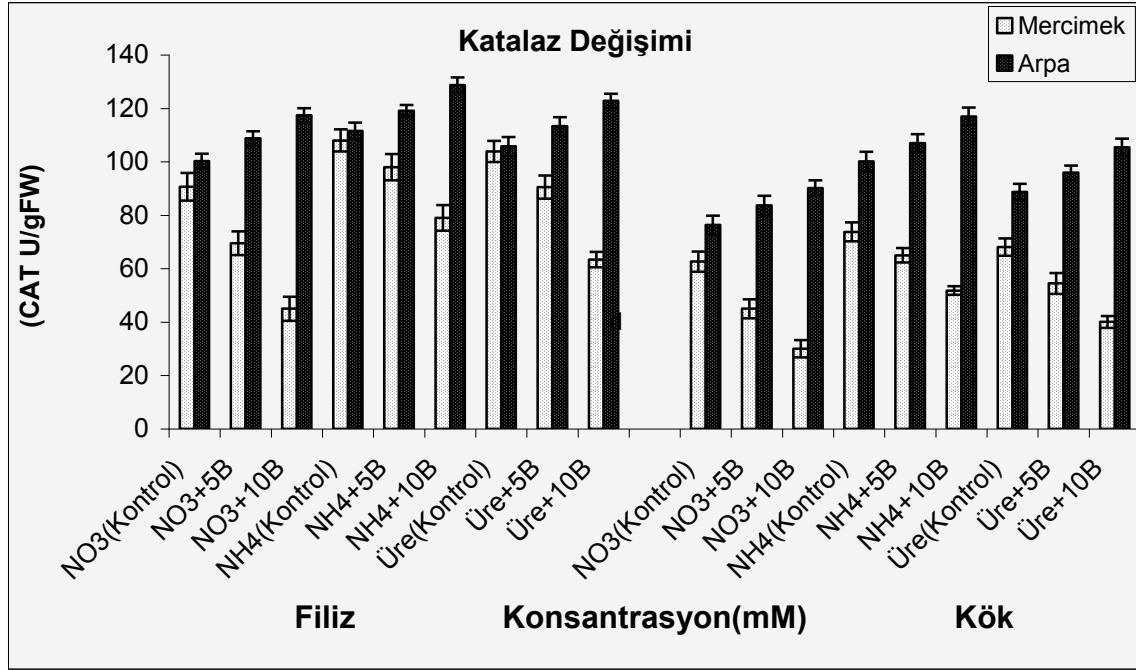
İki bitkinin de köklerinde yapılan LOX aktivitesi ölçümlerinde ise filizlerde ki ölçümlere benzer % aktivite artışları gözlenmiştir fakat bu artışlar filizlerdekinden daha düşük seviyelerde belirlenmiştir. Ayrıca en düşük LOX aktivite artışı, azot kaynakları açısından değerlendirilecek olursa NH_4^+ 'lü örneklerde tespit edilmiştir ve arpa bitkisinde mercimek bitkisine göre daha düşük seviyede LOX aktivitesi tayin edilmiştir.



Şekil 3.1.9: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün lipoksigenaz aktivitesi üzerine etkisi.

5 mM bor stresi uygulanmış kırmızı mercimek bitkisinin filizlerindeki katalaz aktivitesi kontrol gruplarına göre 7. günün sonunda NO_3^- 'de % 23,33, NH_4^+ 'de % 9,26 ve Üre'de % 12,81'lik azalma göstermiştir ($p<0,01$). Arpa filizlerinde ise mercimek bitki filizlerindeki aksine NO_3^- 'de % 8,49, NH_4^+ 'de % 6,82 ve Üre'de % 7,12'lik artış ($p<0,05$) şeklinde değişimler belirlenmiştir. 10 mM bor stresi ise kırmızı mercimek filizlerinde daha yüksek düzeylerde aktivite azalışları ($p<0,01$) ve arpa filizlerinde kontrol gruplarına göre daha yüksek düzeylerde aktivite artışları ($p<0,05$) şeklinde tespit edilmiştir. Ayrıca 5 mM ve 10 mM bor stresi uygulanan iki bitkinin de köklerinde yapılan katalaz aktivitesi ölçümlerinin sonuçlarını değerlendirecek olursak mercimek bitkisinin köklerinde filizlere paralel fakat daha yüksek % azalmalar ($p<0,01$) tespit edilirken arpa bitkisinin köklerinde filizlere göre daha yüksek % artışlar belirlendi ($p<0,05$). Ayrıca azot kaynakları arasındaki farklılıklar değerlendirilecek olursa NH_4^+ uygulanan mercimek örneklerinde ki aktivite azalış %'si diğer azot kaynaklı örneklerle göre daha düşük düzeyde

belirlenmiştir ($p<0,01$). Arpa bitkisinde ise NH_4^+ uygulanan örneklerdeki katalaz aktivite % artışı diğer azot kaynaklarından daha düşük düzeyde belirlendi ($p<0,05$).

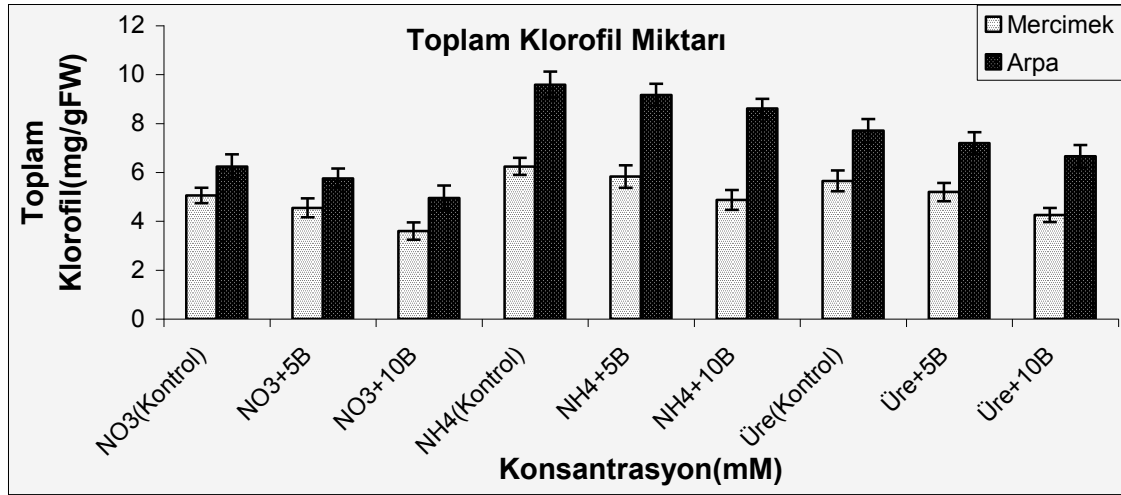


Şekil 3.1.10: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün katalaz aktivitesi üzerine etkisi.

3.1.5. Toplam Klorofil Değişimi

İki bitki türünde de toplam klorofil değişimlerini 7. gün sonunda değerlendirdiğimizde bor stresi uygulanan her iki bitki örneklerinde toplam klorofil miktarlarında azalmalar belirlenmiştir. Arpa bitkisinin toplam klorofil % azalışı mercimek bitkisine göre daha düşük düzeyde belirlenmiştir. Ayrıca azot kaynakları yönünden bulgularımızı değerlendirecek olursak her iki bitkide de NH_4^+ uygulanan örneklerin toplam klorofil miktarı diğer örneklerle göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,01$).

E. Cuahiri ve arkadaşları (2008) de *Fibro capsia japonica*(*Raphidophyceae*) bitkisinde yaptıkları çalışmada farklı azot kaynakları kullanımında NH_4^+ 'ün NO_3^- ve Üreye göre daha yüksek düzeyde klorofil miktarı oluşturduğunu rapor etmişlerdir. H.R. Roosta ve arkadaşları (2009) salatalık bitkisinde, N.Majerowicz ve arkadaşları (2000) ise *catasetum fimbriatum* (*orchidaceae*) bitkisinde yaptıkları çalışmalarda NH_4^+ 'ün NO_3^- 'e göre daha yüksek klorofil oluşturduğunu rapor etmişlerdir.



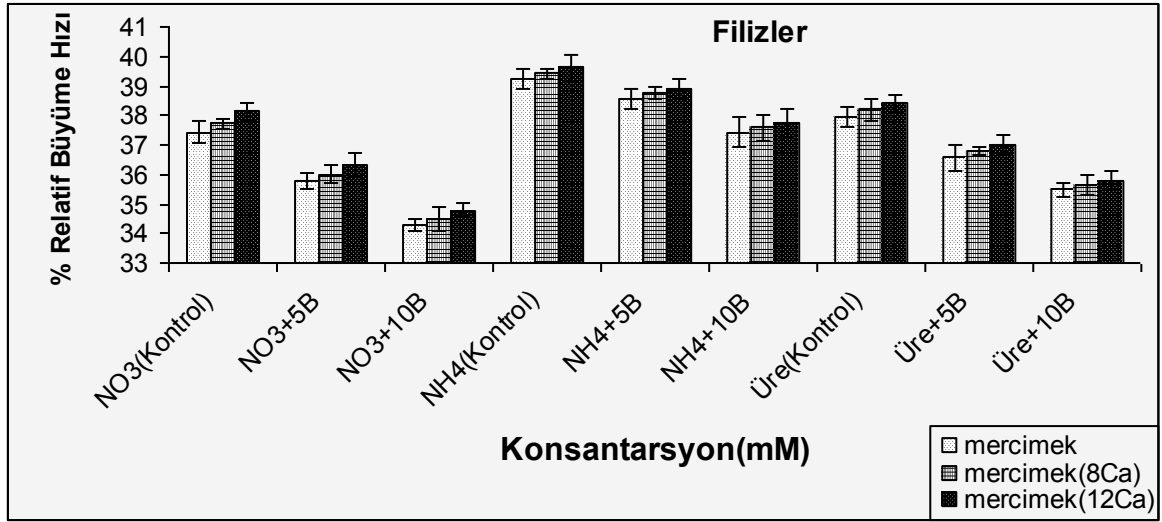
Şekil 3.1.11: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek ve arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasının 7.gün toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.

3.2. Farklı Azot Kaynakları içeren ortamda Bor Stresine Maruz Bırakılmış Kırmızı Mercimek ve Arpa Bitkilerinin Büyüme Solüsyonlarına Kalsiyum ilavesinin etkileri

10 gün çimlendirilmiş kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin büyüme solüsyonlarına 10'ar mM azot içeren KNO_3 , NH_4Cl ve Üre, 5-10 mM bor ve 8-12 mM kalsiyum ilave edilerek 7 gün sonunda kontrol gruplarına göre bitki büyüme parametreleri, metal içerikleri enzim aktiviteleri ve toplam klorofil miktarları üzerine etkileri incelenmiştir.

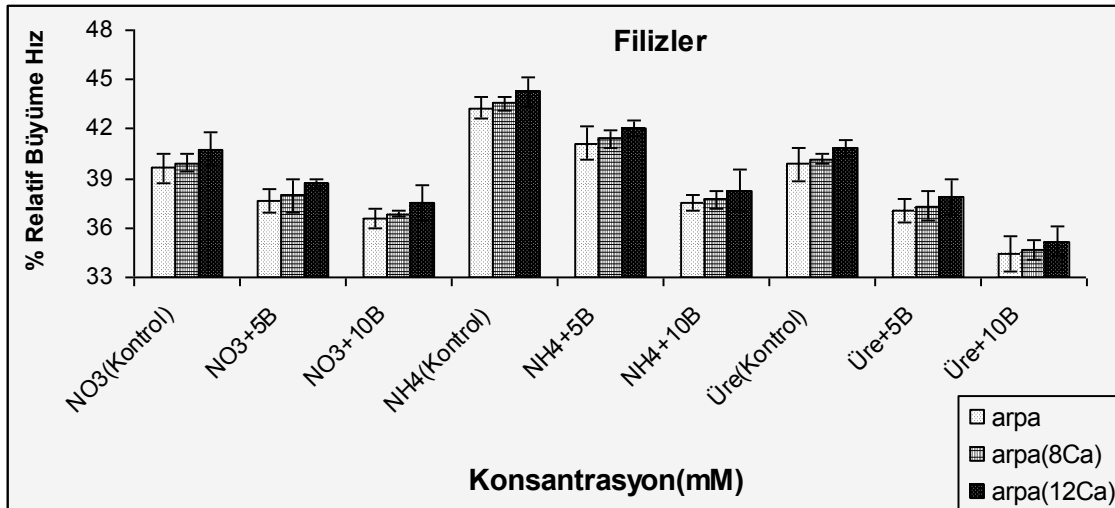
3.2.1. Büyüme Parametreleri

Mercimek bitkisinde 7. gün ölçülen relatif büyüme hızı NO_3^- lü gruba 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilave edilmesiyle sırasıyla % 0.74 ve % 1.82 oranında artış göstermiştir. NO_3^- +5 mM B ve NO_3^- +10 mM B uygulanmış gruplara 8 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde relatif büyüme hızı sırasıyla % 0.70 ve % 0.63 oranında artmıştır. Benzer etkiler NH_4^+ ve üre gruplarına 8 mM Ca^{2+} ilavelerinde de gözlenmiştir.



Şekil 3.2.1: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin filizlerdeki 7.gün % relatif büyüme hızı üzerine etkisi.

Arpa bitkisinde 7. günde ölçülen relatif büyüme hızı da mercimek bitkisine benzerlik göstermiştir. NO_3^- 'lü kontrol grubuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde relatif büyüme hızı sırasıyla % 0.86 ve % 2.94 oranında artış göstermiştir. NO_3^-+5 mM B ve NO_3^-+10 mM B uygulanmış arpa bitkisine 8 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde relatif büyüme hızı % 0.83 ve % 0.82 oranında artmıştır. NH_4^++5B ve $\text{Üre}+5\text{B}$ gruplarına 8 mM Ca^{2+} ilavesiyle relatif büyüme hızı sırasıyla % 0.59 ve % 0.73 oranında artmıştır. Bu veriler gösteriyor ki Ca^{2+} ilavesiyle relatif büyüme hızı doğru orantılı olarak değişim göstermektedir.



Şekil 3.2.2: Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin filizlerdeki 7.gün % relatif büyüme hızı üzerine etkisi.

% relatif büyüme hızının en yüksek değişimi NO_3^- uygulanmış örneklerde 12 mM Ca^{2+} ilavesi ile elde edilmiştir. Sonuç olarak kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinde 12 mM Ca^{2+} ilavesi ile daha yüksek düzeyde % relatif büyüme elde edilmiştir.

3.2.2. Metal İçerikleri

Bu çalışmada azot kaynakları değiştirilmiş örneklerde 5 ve 10 mM bor ile birlikte 8-12 mM olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda kalsiyum ilave edilerek 7. gün sonunda Fe, K, Ca ve Na değişimleri izlendi.

3.1.2.2. K miktarı

Mercimek bitki filiz ve köklerinde 7. gün sonunda yapılan K miktarı ölçümlerinde 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesiyle belirli oranlarda azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Bor stresine maruz kalan örneklerde bu azalmaların daha düşük düzeylerde ve köklerde ki K miktarı azalışının filizlere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise 8 mM'a oranla 12 mM uygulanan örneklerde daha yüksek K miktarı azalışı olduğu belirlenmiştir.

Arpa filiz ve köklerinde 7. gün sonunda yapılan K miktarı ölçümlerinde ise 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesiyle kontrol gruplarına göre belirli oranlarda azalışların olduğu tespit edilmiştir. Bor stresine maruz kalan örneklerde bu azalmaların daha düşük düzeylerde ve köklerde ki K miktarı azalışının filizlere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ca^{2+} ilavesinde ise 8 mM'a oranla 12 mM uygulanan örneklerde daha yüksek düzeyde K miktarı azalışının olduğu belirlenmiştir.

3.1.2.1 Fe Miktarı

7. gün sonunda yapılan Fe miktarı ölçümlerinde kontrol gruplarına göre bor stresi uygulanmamış kırmızı mercimek bitki filizlerinde NO_3^- , NH_4^+ ve üre uygulanan örneklerde 8 mM Ca^{2+} uygulandığında sırasıyla % 9,05-% 5,96 ve % 7,45 oranında artış belirlendi. 12 mM Ca^{2+} uygulandığında ise sırasıyla % 12,70-% 8,71 ve % 10,88 oranında artış belirlendi. 5 ve 10 mM bor uygulanan örneklerde de 8 ile 12 mM'lık Ca^{2+} uygulamasının Fe miktarını artırdığı tespit edilmiş fakat bu artış 12 mM Ca^{2+} uygulanan örneklerde daha yüksek düzeyde belirlenmiştir.

Kırmızı mercimek bitki köklerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde ise bor stresi uygulanmamış NO_3^- , NH_4^+ ve üre uygulanan örneklerde 8 mM Ca^{2+} uygulandığında sırasıyla % 4,55- % 2,67 ve % 3,47, 12 mM Ca^{2+} uygulanan örneklerde ise sırasıyla % 7,55- % 4,22 ve % 5,36 oranında artışlar tespit edildi. 5 ve 10 mM bor uygulanan örneklerde de Ca^{2+} uygulamaları sonucunda Fe miktarının arttığı tespit edilmiştir.

7. gün sonunda yapılan Fe miktarı ölçümlerinde arpa filizlerinde kontrol gruplarına göre 5 mM B stresine maruz kalmış NO_3^- , NH_4^+ ve üre uygulanan örneklerde 8 mM Ca^{2+} ilavesinde sırasıyla % 5,84-% 4,09 ve % 4,52 oranında artış belirlendi. 5 mM B ile 12 mM Ca^{2+} uygulandığında ise sırasıyla % 9,80-% 6,68 ve % 8,87 oranında artış belirlendi. B stresine maruz kalmamış ve 10 mM bor uygulanan örneklerde de 8 ile 12 mM'lık Ca^{2+} uygulamasının Fe

miktarını arttırdığı tespit edilmiş fakat bu artış 12 mM Ca^{2+} uygulanan örneklerde daha yüksek düzeyde belirlenmiştir.

Arpa köklerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde 5 mM bor stresine maruz kalmış NO_3^- , NH_4^+ ve üre uygulanan örneklerde 8 mM Ca^{2+} ilavesi sonucunda sırasıyla % 1,94- % 1,57 ve % 1,79, 12 mM Ca^{2+} ilavesi sonucunda ise sırasıyla % 3,67- % 2,40 ve % 3,16 oranında artışlar tespit edildi. Bor stresi uygulanmamış ve 10 mM bor uygulanan örneklerde de Ca^{2+} uygulamaları sonucunda Fe miktarının arttığı tespit edilmiştir.

Bitki filiz ve köklerini kıyaslayacak olursak; filizlerdeki Fe miktarı artışının köklere göre daha yüksek oranda olduğu belirlendi. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise 8 mM Ca^{2+} ilavesine göre daha yüksek düzeyde Fe artışı tespit edilmiştir. Azot kaynakları açısından değerlendirecek olursak, en yüksek Fe miktarı artışı NO_3^- azot kaynaklı uygulamalarda belirlenmiştir.

Bitkiler geliştikleri ortamdan demiri sürekli almak durumundadır. Yaşlı yapraklardan genç yapraklara doğru Fe'nin aktarılabilmesi nedeniyle bitki büyüme organlarının Fe gereksinimini sürekli olarak Fe alarak karşılayabilmektedir. Bitki yapraklarında Fe miktarı kuru madde ilkesine göre 10-1000 mg /kg arasında değişir. Yeterli Fe miktarı ise genelde 50-250 mg kg^{-1} arasındadır. Fe miktarı 50 mg kg^{-1} 'den az olduğu zaman bitkilerde noksanlık belirtileri görülür (Kacar ve Katkat, 1998). Yapılan çalışmada bor toksisitesinden dolayı Fe alımının azaldığı belirlendi. Kontrol grupları kendi aralarında kıyaslandığında en düşük % azalışın NH_4 uygulanan örneklerde olduğu tespit edilmiştir.($p<0,01$)

3.1.2.3. Ca miktarı

Mercimek filiz ve köklerinde 7. gün sonunda yapılan Ca miktarı ölçümlerinde 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesiyle kontrol gruplarına göre belirli oranlarda artışların olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$). Bor stresine maruz kalan örneklerde bu artışların daha düşük düzeylerde ve köklerde ki Ca miktarı artışının filizlere oranla daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Ca^{2+} ilavesinde ise 8 mM'a oranla 12 mM uygulanan örneklerde daha yüksek düzeyde Ca miktarı artışının olduğu belirlenmiştir. Azot kaynaklarına göre ise en yüksek artış NO_3^- azot kaynaklı örneklerde tespit edilmiştir. Arpa bitkisinin filiz ve köklerinde de mercimek bitkisinin Ca sonuçlarına paralel fakat daha düşük % artışlar gözlenmiştir($p<0,01$)

3.1.2.4 Na miktarı

Mercimek bitki filiz ve köklerinde 7. gün sonunda yapılan Na miktarı ölçümlerinde 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesiyle belirli oranlarda azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Bor stresine maruz kalan örneklerde bu azalmaların daha düşük düzeylerde ve köklerde ki Na miktarı azalışının filizlere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ca^{2+} ilavesinde ise 8 mM'a oranla 12 mM uygulanan örneklerde daha yüksek düzeyde Na miktarı azalışının olduğu belirlenmiştir.

Arpa filiz ve köklerinde 7. gün sonunda yapılan Na miktarı ölçümlerinde ise 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesiyle kontrol gruplarına göre belirli oranlarda azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Bor stresine maruz kalan örneklerde bu azalmaların daha düşük düzeylerde ve köklerde ki Na

miktarı azalışının filizlere oranla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ca^{2+} ilavesinde ise 8 mM'a oranla 12 mM uygulanan örneklerde daha yüksek düzeyde Na miktarı azalışının olduğu belirlenmiştir.

Tablo:3.2.1: Bor stresi altındaki kırmızı mercimek bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün metal içerikleri üzerine etkisi.

K(mg/gDW)							Ca(mg/gDW)						Fe(mg/gDW)						Na(mg/gDW)					
yapraklar	mercimek		Mercimek(8 mM Ca)		Mercimek(12 mM Ca)		mercimek		Mercimek(8Ca)		Mercimek(12Ca)		mercimek		Mercimek(8Ca)		Mercimek(12Ca)		mercimek		Mercimek(8 mM Ca)		Mercimek(12 mM Ca)	
NO3(Kontrol)	90,63	± 3,31	76,92	± 2,38	69,82	± 2,39	13,02	± 0,60	19	± 1,15	20,2	± 1,51	0,1399	± 0,0057	0,1526	± 0,0054	0,1577	± 0,0056	37,84	± 0,97	41,05	± 1,08	42,19	± 1,12
NO3+5B	102,98	± 3,18	99,28	± 1,12	89,93	± 1,11	11,44	± 0,30	16,18	± 1,24	16,77	± 1,31	0,1216	± 0,0051	0,1305	± 0,0050	0,136	± 0,0051	25,82	± 0,83	28,52	± 1,0	30,08	± 1,10
NO3+10B	111,82	± 2,26	109,07	± 2,04	101,83	± 1,97	9,85	± 0,45	13,45	± 1,26	14	± 1,13	0,1085	± 0,0058	0,1162	± 0,0048	0,1207	± 0,0048	18,15	± 0,91	20,21	± 0,96	22,05	± 0,96
NH4(Kontrol)	58,54	± 3,01	56,19	± 1,25	50,6	± 1,40	17,42	± 0,56	20,11	± 1,23	21,64	± 1,71	0,0992	± 0,0041	0,1051	± 0,0038	0,1078	± 0,0032	44,64	± 0,66	46,82	± 0,76	48,9	± 0,60
NH4+5B	63,58	± 3,16	61,87	± 1,09	58,88	± 1,17	14,63	± 0,34	16,34	± 1,10	17,84	± 1,62	0,0936	± 0,0040	0,0977	± 0,0052	0,1004	± 0,0027	35,8	± 0,93	37,47	± 1,04	39,53	± 0,54
NH4+10B	69,16	± 2,19	67,68	± 1,07	65,98	± 1,08	11,84	± 0,56	13,32	± 1,18	14,17	± 1,36	0,0887	± 0,0038	0,0917	± 0,0028	0,0945	± 0,0025	29,54	± 0,80	30,89	± 0,56	32,88	± 0,50
Üre(Kontrol)	62,54	± 2,56	56,78	± 2,35	52,38	± 2,30	14,82	± 0,50	19,1	± 1,16	20,87	± 1,91	0,124	± 0,0045	0,1333	± 0,0034	0,1375	± 0,0048	50,05	± 0,72	53,1	± 0,68	55,25	± 0,96
Üre+5B	70,54	± 2,76	68,97	± 1,96	64,95	± 1,99	12,31	± 0,88	15,6	± 1,57	17,15	± 1,83	0,1096	± 0,0039	0,1167	± 0,0042	0,1187	± 0,0041	38,29	± 0,88	40,41	± 0,84	43,12	± 0,82
Üre+10B	76,62	± 2,11	75,22	± 1,72	73,26	± 1,71	9,87	± 0,76	11,69	± 1,45	13,17	± 1,74	0,0985	± 0,0035	0,1037	± 0,0036	0,1061	± 0,0036	28,6	± 0,54	30,34	± 0,72	32,56	± 0,72
Kökler																								
NO3(Kontrol)	80,11	± 1,93	60,47	± 2,54	56,58	± 2,37	15,68	± 0,53	21,94	± 1,47	22,9	± 1,60	0,2673	± 0,0075	0,2795	± 0,0068	0,2875	± 0,0052	45,63	± 0,82	48,24	± 1,36	50,27	± 1,04
NO3+5B	89,02	± 1,78	80,85	± 2,28	76,21	± 2,04	13,58	± 0,45	17,44	± 1,52	19,04	± 1,59	0,2241	± 0,0065	0,2329	± 0,0058	0,2377	± 0,0047	30,22	± 0,91	32,03	± 1,16	33,63	± 0,94
NO3+10B	96,61	± 2,44	92,2	± 2,15	86,96	± 1,71	10,22	± 0,82	12,4	± 1,24	13,88	± 1,50	0,1966	± 0,0058	0,2036	± 0,0049	0,2085	± 0,0045	20,86	± 0,84	22,38	± 0,98	24	± 0,90
NH4(Kontrol)	47,58	± 1,34	43,27	± 1,32	40,95	± 1,22	20,07	± 0,40	22,25	± 1,28	23,48	± 1,29	0,1893	± 0,0045	0,1944	± 0,0038	0,1973	± 0,0031	48,8	± 0,75	50,76	± 0,76	51,65	± 0,62
NH4+5B	50,94	± 1,18	49,06	± 1,16	46,1	± 1,01	18,04	± 0,79	19,49	± 1,20	20,52	± 1,44	0,1749	± 0,0039	0,1787	± 0,0033	0,1812	± 0,0027	36,93	± 0,67	38,02	± 0,66	39,26	± 0,54
NH4+10B	54,87	± 1,28	53,41	± 1,10	51,34	± 0,78	15,73	± 0,68	16,79	± 1,31	17,37	± 1,89	0,1595	± 0,0035	0,1626	± 0,0029	0,1651	± 0,0025	31,56	± 0,51	32,53	± 0,58	33,81	± 0,51
Üre(Kontrol)	51,73	± 1,05	45,78	± 2,19	43,41	± 2,10	17,68	± 0,56	21,14	± 1,35	22,9	± 1,55	0,229	± 0,0064	0,237	± 0,0046	0,2413	± 0,0051	55,98	± 0,98	58,75	± 0,92	59,96	± 1,02
Üre+5B	56,93	± 2,18	53,55	± 1,83	50,18	± 1,66	15,82	± 0,87	18,52	± 1,56	19,88	± 1,61	0,1972	± 0,0069	0,2034	± 0,0044	0,2076	± 0,0044	40,8	± 0,89	42,17	± 0,88	43,88	± 0,88
Üre+10B	61,79	± 3,26	60,28	± 1,64	57,17	± 1,24	10,92	± 0,34	12,21	± 1,12	13,41	± 1,15	0,1745	± 0,0056	0,1797	± 0,0028	0,1833	± 0,0039	34,37	± 0,58	35,69	± 0,56	36,91	± 0,78

Tablo:3.2.2: Bor stresi altındaki kırmızı arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün metal içerikleri üzerine etkisi.

	K(mg/gDW)						Fe(mg/gDW)						Ca(mg/gDW)						Na(mg/gDW)					
Yapraklar	arpa		Arpa(8 mM Ca)		Arpa(12 mM Ca)		arpa		arpa(8Ca)		arpa(12Ca)		arpa		Arpa(8Ca)		Arpa(12Ca)		arpa		arpa(8Ca)		arpa(12Ca)	
NO3(Kontrol)	85,42	± 2,11	74,21	± 3,31	67,11	± 2,21	0,1687	± 0,0110	0,1796	± 0,0084	0,1865	± 0,0080	15,54	± 0,69	20,96	± 1,06	22,15	± 0,60	17,15	± 0,81	14,97	± 0,83	14,59	± 0,77
NO3+5B	95,23	± 2,16	92,76	± 3,18	86,12	± 3,16	0,1545	± 0,0045	0,1636	± 0,0102	0,1697	± 0,0099	13,86	± 0,61	17,61	± 0,78	19	± 0,63	25,82	± 0,73	23,17	± 0,70	22,39	± 0,69
NO3+10B	103,73	± 2,45	101,6	± 2,26	97,21	± 4,66	0,1456	± 0,0096	0,1518	± 0,0111	0,1583	± 0,0110	12,16	± 0,72	15,01	± 0,52	16,26	± 0,71	38,84	± 0,68	36,22	± 0,60	35,22	± 0,60
NH4(Kontrol)	50,49	± 1,81	48,56	± 3,01	44,24	± 4,16	0,1268	± 0,0067	0,1334	± 0,0058	0,1375	± 0,0057	20,89	± 0,53	24,04	± 0,82	25,15	± 0,95	27,54	± 0,63	25,91	± 0,96	25,08	± 1,04
NH4+5B	53,92	± 2,18	52,58	± 3,16	50,16	± 3,27	0,1227	± 0,0061	0,1277	± 0,0062	0,1309	± 0,0063	17,97	± 0,48	20,15	± 0,78	20,62	± 1,05	34,8	± 0,80	33,33	± 0,80	32,64	± 0,89
NH4+10B	61,74	± 1,93	60,49	± 2,19	59,59	± 3,31	0,1189	± 0,0058	0,123	± 0,0070	0,1259	± 0,0072	15,11	± 0,46	16,74	± 0,77	17,21	± 1,13	49,64	± 0,64	48,59	± 0,66	47,7	± 0,75
Üre(Kontrol)	55,08	± 2,18	51,11	± 2,56	48,26	± 4,18	0,1518	± 0,0098	0,1604	± 0,0061	0,166	± 0,0061	17,53	± 0,54	22,16	± 0,55	23,73	± 0,65	28,6	± 0,61	26,42	± 0,88	25,52	± 0,87
Üre+5B	60,35	± 3,21	59,13	± 2,76	56,16	± 5,16	0,141	± 0,0085	0,1473	± 0,0069	0,1535	± 0,0069	14,46	± 0,47	17,22	± 0,67	19,01	± 0,70	40,29	± 0,71	38,17	± 0,68	37,49	± 0,72
Üre+10B	66,37	± 1,32	65,29	± 2,11	64,34	± 2,33	0,1328	± 0,0077	0,138	± 0,0075	0,1427	± 0,0077	12,01	± 0,42	13,99	± 0,75	15,31	± 0,76	52,05	± 0,48	50,63	± 0,55	49,86	± 0,61
Kökler																								
NO3(Kontrol)	78,17	± 2,41	62,13	± 2,58	61,41	± 2,56	0,3094	± 0,0123	0,3172	± 0,0072	0,3233	± 0,0074	18,62	± 0,91	23,78	± 0,60	25,42	± 1,20	22,86	± 0,88	20,51	± 0,95	19,89	± 0,93
NO3+5B	85,96	± 3,19	79,79	± 2,62	77,74	± 2,54	0,2795	± 0,0111	0,2849	± 0,0089	0,2897	± 0,0090	16,42	± 0,78	20,08	± 0,52	21,65	± 1,30	29,22	± 1,01	26,95	± 0,81	26,49	± 0,82
NO3+10B	90,85	± 2,78	87,16	± 2,57	85,14	± 2,36	0,2593	± 0,0103	0,2639	± 0,0097	0,2668	± 0,0098	12,95	± 0,75	15,16	± 0,85	16,4	± 1,11	42,63	± 1,12	40,65	± 0,62	39,96	± 0,64
NH4(Kontrol)	43,13	± 2,76	39,65	± 2,6	37,68	± 2,42	0,2196	± 0,0073	0,2255	± 0,0049	0,2282	± 0,0050	23,96	± 0,54	26,66	± 0,54	28,22	± 0,65	33,56	± 0,69	31,93	± 1,06	31,05	± 1,19
NH4+5B	45,32	± 1,82	43,91	± 2,61	41,92	± 2,65	0,2093	± 0,0065	0,2126	± 0,0053	0,2144	± 0,0054	21,8	± 0,47	23,83	± 0,65	24,68	± 0,87	38,93	± 0,65	37,38	± 0,95	36,8	± 1,09
NH4+10B	49,3	± 3,65	48,24	± 2,74	46,99	± 2,52	0,1995	± 0,0059	0,2015	± 0,0058	0,204	± 0,0059	19,42	± 0,42	21,09	± 0,79	21,52	± 0,73	44,8	± 0,74	43,62	± 0,84	43,09	± 0,97
Üre(Kontrol)	48,44	± 1,48	43,84	± 2,42	41,39	± 2,48	0,2475	± 0,0104	0,252	± 0,0053	0,2574	± 0,0054	20,81	± 0,77	25,05	± 0,98	27,36	± 0,64	37,37	± 0,85	35,3	± 1,02	34,27	± 1,01
Üre+5B	52,74	± 2,16	49,82	± 2,59	47,99	± 2,44	0,2294	± 0,0088	0,2335	± 0,0059	0,2366	± 0,0060	18,61	± 0,72	21,72	± 0,76	23,02	± 1,61	43,8	± 0,87	42,09	± 0,86	41,59	± 0,93
Üre+10B	57,28	± 1,45	56,11	± 2,71	53,5	± 3,51	0,2098	± 0,0086	0,21287	± 0,0066	0,2155	± 0,0066	13,47	± 0,67	15,23	± 0,97	16,18	± 1,37	48,98	± 0,89	47,64	± 0,61	47,04	± 0,67

3.2.3. Malondialdehid, Prolin ve Hidrojen Peroksit değişimleri:

Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin bitkilerde MDA miktarını azalttığı belirlenmiştir. ($p < 0,01$)

Kontrol grupları üzerine 8 mM Ca^{2+} uygulanmış kırmızı mercimek bitkisinin filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 7,84, NH_4^+ 'de % 5,88'lik ve Üre'de % 6,53'lük bir azalış gözlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise mercimek filizlerinde NO_3^- de % 13,95, NH_4^+ da % 8,55'lik ve ürede ise % 11,95'lik bir azalış gözlenmiştir.

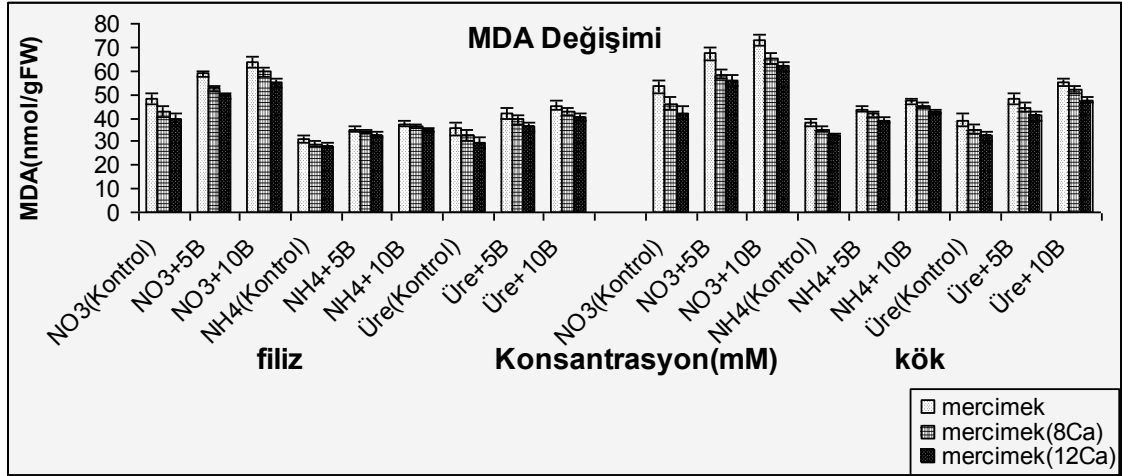
5 mM bor üzerine 8 mM Ca^{2+} uygulamasında ise kırmızı mercimek bitkisinin filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 5,44, NH_4^+ 'de % 3,28'lik ve ürede ise % 4,11'lik bir azalış gözlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise mercimek filizlerinde NO_3^- 'de % 10,25, NH_4^+ 'de % 7,02'lik ve ürede ise % 9,26'lık azalış şeklinde MDA miktarı tayin edilmiştir.

10 mM bor stresi üzerine 8 mM Ca^{2+} ilavesinde ise mercimek filizlerinde 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 4,56, NH_4^+ 'de % 2,93'lük ve Üre'de % 3,98'lik bir azalış gözlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise mercimek filizlerinde NO_3^- de % 9,44, NH_4^+ de % 6,76'lık ve ürede ise % 7,65'lik bir azalış gözlenmiştir.

Bitki köklerindeki MDA miktarı değişimleri incelenecek olursa kontrol gruplarına 8 mM Ca^{2+} ilavesi ile 7. gün sonunda yapılan ölçümlerde kontrol gruplarına göre NO_3^- 'de % 10,83, NH_4^+ 'de % 6,55'lik ve ürede ise % 7,65'lik azalış belirlendi. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise mercimek köklerinde NO_3^- de % 17,72, NH_4^+ 'de % 13,69'luk ve ürede ise % 15,62'lik bir azalış gözlenmiştir.

5 mM bor üzerine 8 mM Ca^{2+} uygulamasında ise kırmızı mercimek bitkisinin köklerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 9,66, NH_4^+ 'de % 5,01'lik ve ürede ise % 6,38'lik bir azalış gözlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise mercimek köklerinde NO_3^- 'de % 15,15, NH_4^+ 'de % 11,19'luk ve ürede ise % 14,51'lik azalış şeklinde MDA miktarı tayin edilmiştir.

10 mM bor stresi üzerine 8 mM Ca^{2+} ilavesinde ise mercimek köklerinde 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 6,19, NH_4^+ 'de % 4,05'lik ve Üre'de % 5,22'lik bir azalış gözlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise mercimek köklerinde NO_3^- 'de % 12,79, NH_4^+ 'de % 10,04'lük ve ürede ise % 11,89'luk bir azalış gözlenmiştir.



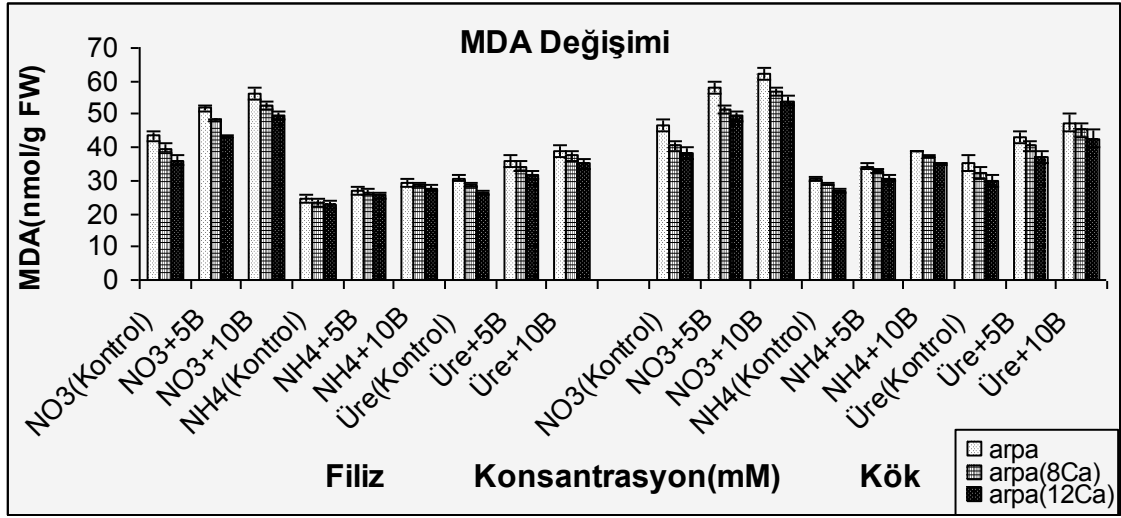
Şekil 3.2.3: Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün MDA miktarı üzerine etkisi.

Kontrol grupları üzerine 8 mM Ca^{2+} uygulanmış arpa bitkisini değerlendirecek olursak; filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 5,92, NH_4^+ 'de % 4,74'lük ve Üre'de % 5,09'luk bir azalış gözlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise filizlerde NO_3^- 'de % 11,38, NH_4^+ 'de % 6,79'luk ve ürede ise % 9,79'luk bir azalış gözlenmiştir.

5 mM bor üzerine 8 mM Ca^{2+} uygulamasında ise arpa bitkisinin filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 3,85, NH_4^+ 'de % 2,20'lik ve ürede ise % 2,92'lik bir azalış belirlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise arpa filizlerinde NO_3^- 'de % 8,34, NH_4^+ 'de % 5,53'lük ve ürede ise % 7,71'lik azalış şeklinde MDA miktarı tayin edilmiştir.

10 mM bor stresi üzerine 8 mM Ca^{2+} ilavesinde ise arpa filizlerinde 7. gün ölçümlerinde kontrol gruplarına göre MDA miktarında NO_3^- 'de % 3,17, NH_4^+ 'de % 2,09'luk ve Üre'de % 2,61'lik bir azalış gözlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise arpa filizlerinde NO_3^- 'de % 7,57, NH_4^+ 'de % 5,56'lık ve ürede ise % 6,30'luk bir azalış gözlenmiştir.

Arpa köklerindeki MDA miktarı değişimleri incelenecek olursa mercimek bitkisinin köklerine paralel azalmalar gözlenmiştir. Fakat arpa bitkisinin köklerindeki azalış %'leri mercimek bitki köklerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.2.4: Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün MDA miktarı üzerine etkisi.

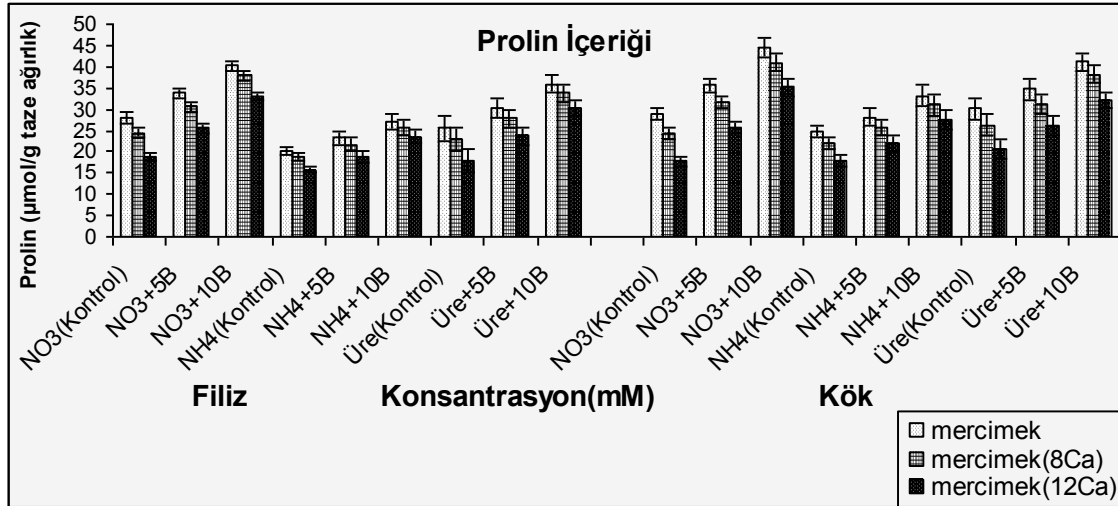
Yapılan çalışmada kalsiyum ilavesi sonucundaki MDA miktarını filizlerde ve köklerde değerlendirecek olursak; mercimek ve arpa bitkilerinde MDA üretimi azalmaktadır. Bu azalış yüzdesel olarak en fazla mercimek bitkisinde ve azot kaynağı olarak NO_3^- kullanılan örneklerde belirlenmiştir. Bitkilerin köklerinde ise azalış daha düşük seviyede belirlenmiştir. Sonuç olarak bor stresine düşük toleranslı olan mercimek bitkisinin, azot kaynağının değiştirilmesi ve kalsiyum ilavesi ile bitkide strese karşı direnç artmıştır. Ayrıca bor stresine toleranslı arpa bitkisinde de azot kaynağının değiştirilmesi ve kalsiyum ilavesi MDA miktarını azaltarak strese karşı iyileşme göstermiştir.

Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek ve arpa bitkilerinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin bitkilerde MDA miktarını azalttığı belirlenmiştir. ($p < 0,01$)

Mercimek bitki filizlerinde Prolin miktarındaki değişimlerde ise kontrol gruplarına 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavelerinde 7, gün sonunda alınan ölçümlerde NO_3^- uygulanan örneklerde Prolin miktarındaki yüzde azalış diğerlerine göre daha yüksek düzeyde belirlendi. 5 mM bor uygulanan örneklerde ise Prolin değişiminde 8 mM kalsiyum ilavesiyle NO_3^- 'de % 10,27, NH_4^+ de % 6,13' ve ürede ise % 6,77 oranında azalış gözlenmiştir. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise NO_3^- 'de % 27,35, NH_4^+ de % 18,47'lik ve ürede ise % 21,46'lık azalış şeklinde prolin miktarı tayin edilmiştir. 10 mM bor uygulanmış örneklerde de bu tür azalışlar diğer uygulamalara göre daha düşük seviyede belirlendi ve NO_3^- azot kaynaklı örneklerdeki azalış diğerlerinden yüksek seviyede belirlendi.

Mercimek bitki köklerinde ise prolin miktarındaki değişim filizlerdeki gibi kontrol gruplarında kalsiyum ilavesiyle en yüksek düzeyde artış olarak belirlendi fakat bu artış filizlerden daha yüksek yüzdesel oranda gerçekleşti. 5 mM bor uygulanmasında ve 10 mM bor

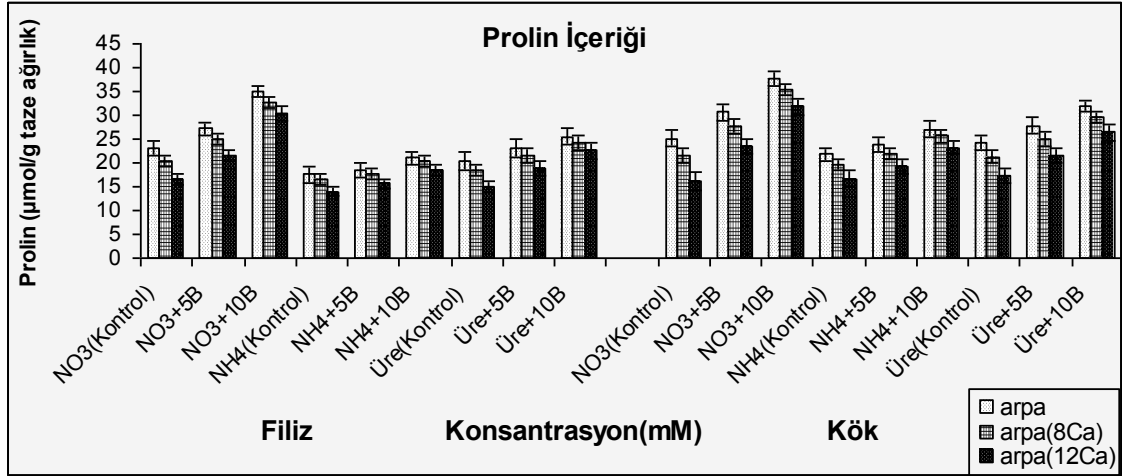
uygulanmasında kalsiyum ilaveleri prolin miktarını düşürmüştür. Filizlerde olduğu gibi bu düşüş en yüksek yüzdesel oranda NO_3^- azot kaynaklı örneklerde tespit edildi ve 12 mM Ca^{2+} ilave edilen örneklerde 8 mM Ca^{2+} ilave edilen örneklere göre daha yüksek düzeyde azalış belirlendi.



Şekil 3.2.5: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün prolin miktarı üzerine etkisi.

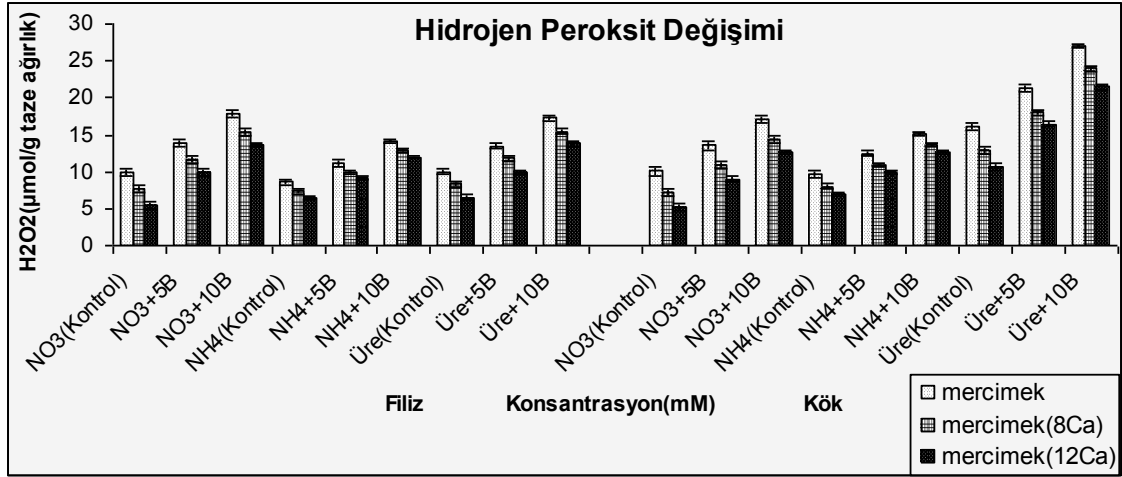
Arpa bitki filizlerinde Prolin miktarındaki değişimlerde ise kontrol gruplarına 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavelerinde 7, gün sonunda alınan ölçümlerde NO_3^- uygulanan örneğin Prolin miktarındaki yüzde azalış diğerlerine göre daha yüksek düzeyde belirlendi. 5 mM bor uygulanmış örneklerde de mercimek bitki filizlerindeki benzer fakat daha düşük % azalışlar belirlendi ve NO_3^- azot kaynaklı örneklerdeki azalış diğerlerinden yüksek seviyede belirlendi. 10 mM bor uygulanan örneklerde ise Prolin değişiminde 8 mM kalsiyum ilavesiyle NO_3^- 'de % 5,41, NH_4^+ de % 3,80 ve ürede ise % 4,13 oranında azalış gözlenmiştir. 10 mM bor stresine 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ise NO_3^- 'de % 18,37, NH_4^+ de % 11,94'lük ve ürede ise % 13,83'lük azalış şeklinde prolin miktarı tayin edilmiştir.

Arpa köklerinde ise prolin miktarındaki değişim filizlerdeki gibi kontrol gruplarında kalsiyum ilavesiyle en yüksek düzeyde artış olarak belirlendi fakat bu artış filizlerden daha yüksek yüzdesel oranda gerçekleşti. Ayrıca 12 mM Ca^{2+} ilave edilen örneklerde 8 mM Ca^{2+} ilave edilen örneklere göre daha yüksek düzeyde azalış belirlendi. 5 mM bor uygulanmasında ve 10 mM bor uygulanmasında kalsiyum ilaveleri prolin miktarını mercimek köklerindeki gibi benzer şekilde düşürmüştür. Filizlerde olduğu gibi bu düşüş en yüksek yüzdesel oranda NO_3^- azot kaynaklı örneklerde tespit edildi.



Şekil 3.2.6: Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün prolin miktarı üzerine etkisi.

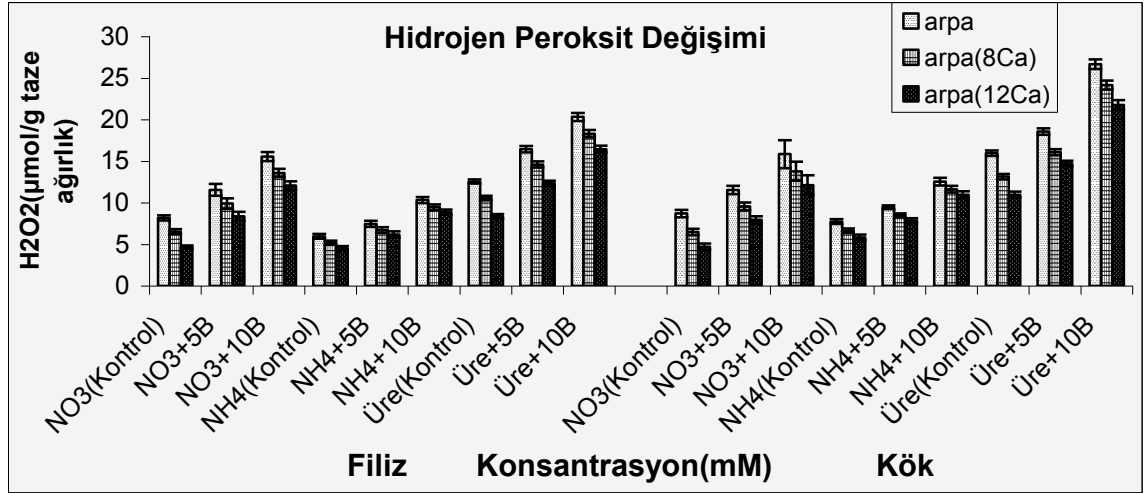
Hidrojen peroksit değişimini inceleyecek olursak; 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesi sonucunda mercimek bitkisinin filizlerinde ve köklerinde yapılan 7. gün sonunda ki ölçümlerde MDA ve prolin ölçümlerine paralel değişimler belirlenmiştir. En yüksek % azalma NO_3^- azot kaynaklı örneklerde belirlendi. Köklerdeki % azalma oranı ise filizlerden daha yüksek düzeyde tespit edildi. 8 mM ile 12 mM Ca değerlendirilecek olursa 12 mM Ca örneklerinde daha yüksek düzeyde H_2O_2 % azalma belirlendi.



Şekil 3.2.7: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün H_2O_2 miktarı üzerine etkisi.

Arpa bitkisinde hidrojen peroksit değişimini inceleyecek olursak; 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesi sonucunda filizlerinde ve köklerinde yapılan 7. gün sonunda ki ölçümlerde MDA ve prolin ölçümlerine paralel değişimler belirlenmiştir. En yüksek % azalma NO_3^- azot kaynaklı örneklerde belirlendi. Köklerdeki % azalma oranı ise filizlerden daha yüksek düzeyde tespit edildi. 8 mM ile

12 mM Ca değerlendirilecek olursa 12 mM Ca örneklerinde daha yüksek düzeyde H₂O₂ % azalma belirlendi.

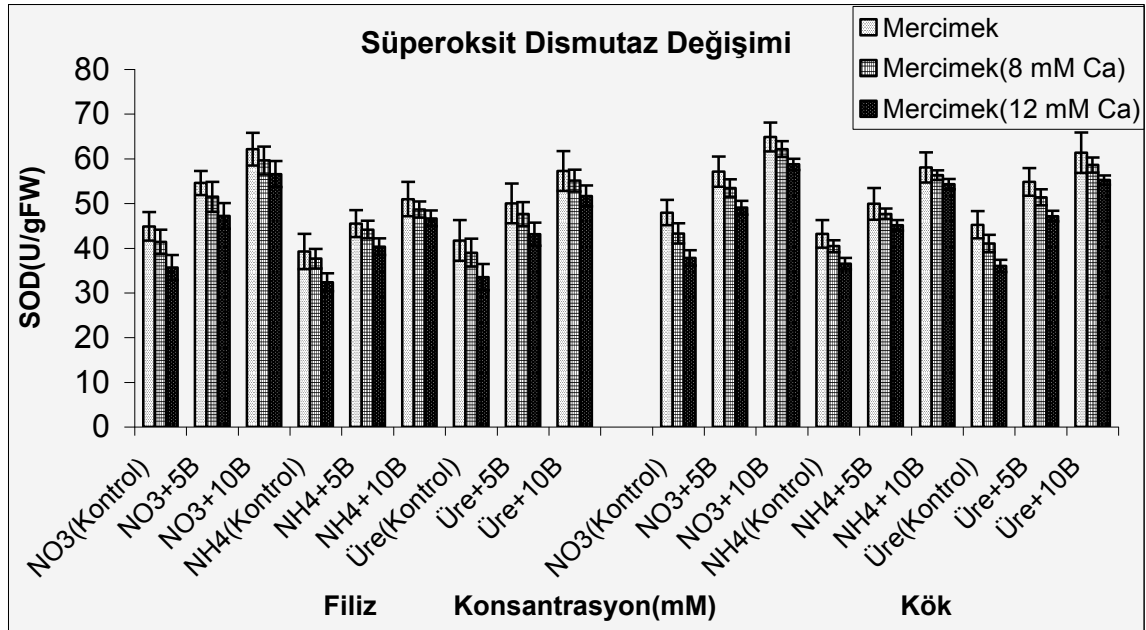


Şekil 3.2.8: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün H₂O₂ miktarı üzerine etkisi.

Sonuç olarak değerlendirildiğinde kalsiyum ilavesiyle H₂O₂ miktarında azalmalar tespit edildi. Bu azalmalar en yüksek seviyede NO₃⁻ azot kaynaklı bitkilerde belirlendi. 12 mM kalsiyum ilavesinin de 8 mM'a göre daha yüksek düzeyde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. İki bitkiyi karşılaştıracak olursak arpa bitkisindeki azalmalar mercimek bitkisine göre daha yüksek düzeyde belirlendi.

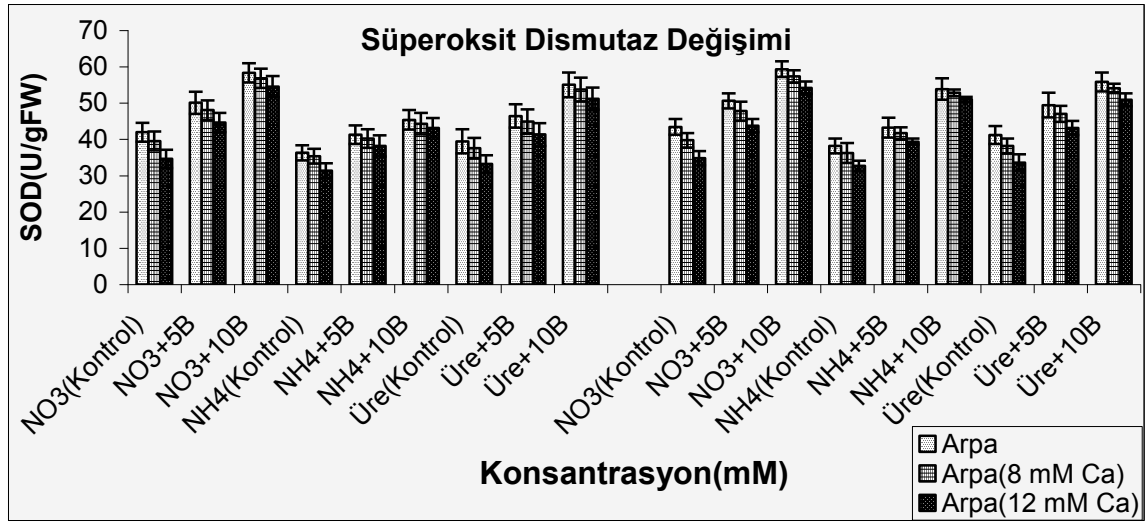
3.2.4. Süperoksit Dismutaz, Askorbat Peroksidaz, Guasikol Peroksidaz, Lipoksigenaz ve Katalaz Aktivitelerinin Değişimleri:

7. gün sonunda yapılan SOD ölçümlerinde mercimek bitkisinin filizlerinde 8 mM Ca²⁺ ilavesiyle kontrol gruplarına göre(kalsiyumsuz uygulama) NO₃⁻, NH₄⁺ ve üre uygulanan örneklerde sırasıyla % 7,73, % 4,12 ve % 6,51'lik azalışlar tespit edilmiştir. 5 mM bor uygulanan örneklerde ise azalışlar NO₃⁻, NH₄⁺ ve ürede sırasıyla % 5,67, % 2,90 ve % 4,72 olarak tespit edildi. 10 mM bor uygulanan örneklerde ise paralel fakat daha düşük yüzdelerde azalmalar belirlendi. Mercimek köklerinde ise filizlere oranla daha yüksek düzeyde paralel % azalmalar belirlenmiştir. 12 mM Ca²⁺ ilavesinde ise kontrol gruplarına göre daha yüksek düzeyde SOD aktivitelerinde azalmalar belirlenmiştir ve bu azalmalar 8 mM Ca²⁺ ilavesi ile paralellik göstermektedir. En yüksek % azalma NO₃⁻ azot kaynaklı uygulamalarda belirlenmiştir (p<0,01).



Şekil 3.2.9: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkisi.

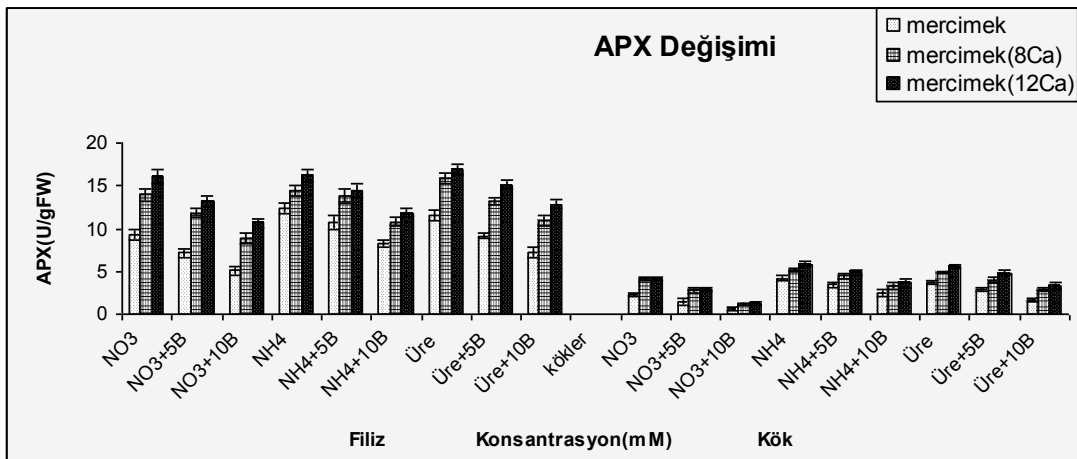
7. gün sonunda yapılan SOD ölçümlerinde arpa bitkisinin filizlerinde ise 8 mM Ca²⁺ ilavesiyle kontrol gruplarına göre NO₃⁻, NH₄⁺ ve üre uygulanan örneklerde sırasıyla % 5,77, % 2,62 ve % 4,70'lik azalışlar tespit edilmiştir. 5 mM bor uygulanan örneklerde ise azalışlar NO₃⁻, NH₄⁺ ve ürede kontrol gruplarına göre sırasıyla % 4,05, % 2,48 ve % 3,29 olarak tespit edildi. 10 mM bor uygulanan örneklerde ise paralel fakat daha düşük yüzdelerde azalmalar belirlendi. Arpa köklerinde ise filizlere oranla daha düşük düzeyde paralel % azalmalar belirlenmiştir. 12 mM Ca²⁺ ilavesinde ise kontrol gruplarına göre daha yüksek düzeyde SOD aktivitelerinde azalmalar belirlenmiştir ve bu azalmalar 8 mM Ca²⁺ ilavesi ile paralellik göstermektedir. En yüksek % azalma NO₃⁻ azot kaynaklı uygulamalarda belirlenmiştir (p<0,01).



Şekil 3.2.10: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkisi.

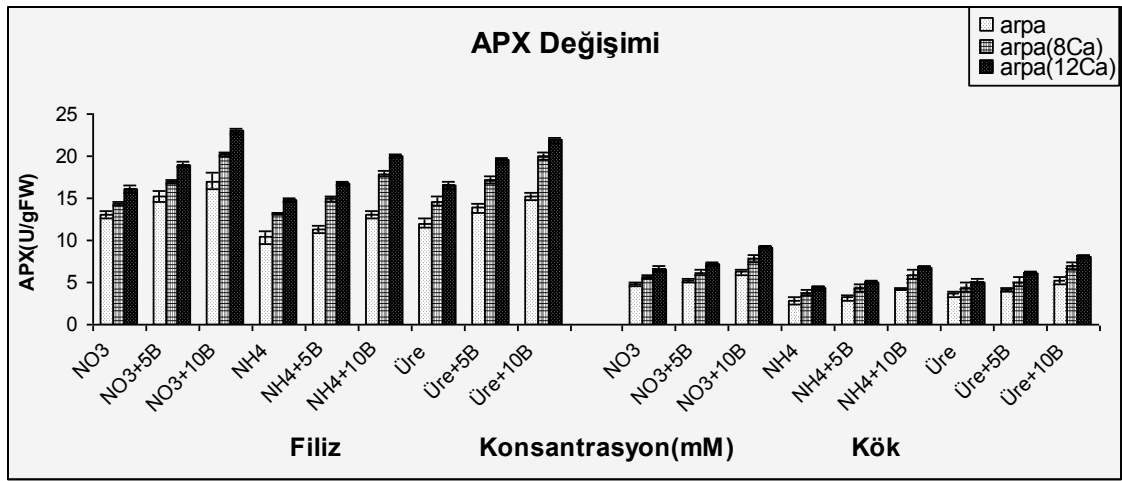
7. gün mercimek filizlerindeki APX aktivitesi NO_3^- ’lı kontrol grubuna göre 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilave edilmesiyle sırasıyla % 50,08 ve % 73,22 oranında artış göstermiştir. NH_4^+ ve üre uygulanmış mercimek filizlerine 8 mM Ca^{2+} ilavesiyle APX aktivitelerinde sırasıyla % 15,96 ve % 36,99 oranında artmaların olduğu tespit edilmiştir. 12 mM Ca ilavesinde 8 mM Ca ilavesine göre daha yüksek düzeyde APX aktivite % artışları belirlenmiştir ($p<0,01$).

7. gün ölçümlerinde APX aktivitesinde mercimek köklerinde de benzer sonuçlara rastlanmıştır. NO_3^- , NH_4^+ ve üre uygulanmış köklere 8 mM Ca^{2+} ilavesiyle APX aktivitesi sırasıyla % 75,17, % 23,72, % 30,50 oranında artmalar göstermiştir ($p<0,01$).



Şekil 3.2.11: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün askorbat aktivitesi üzerine etkisi.

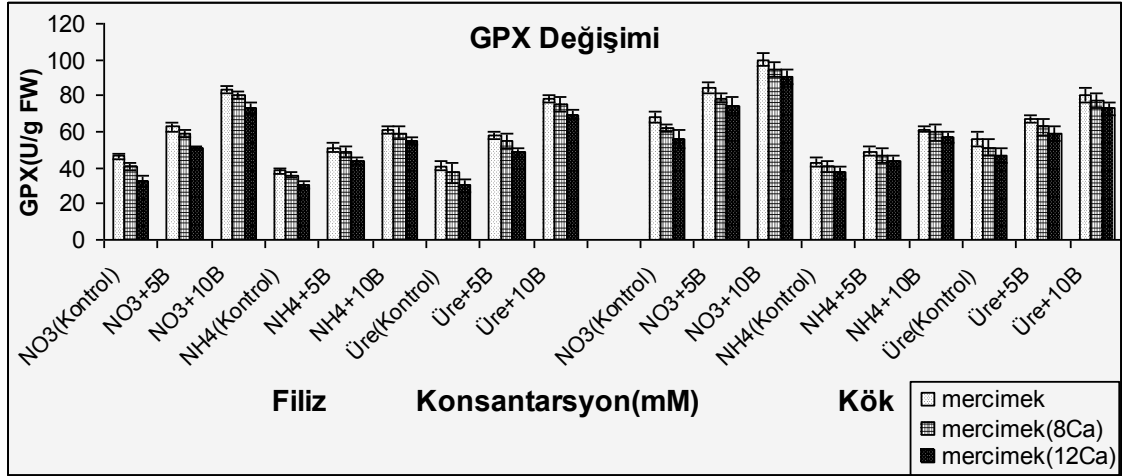
Arpa filizlerinde ölçülen 7. gün APX aktivitesinde NO_3^- lü kontrol grubuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde sırasıyla % 9,62 ve % 22,76'lık artmaların olduğu gözlenmiştir. NO_3^- +5 mM B uygulanmış arpa filizlerine 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesiyle sırasıyla APX aktivitelerinde % 11,27 ve % 24,38'lik artışların olduğu saptanmıştır. NH_4^+ +5mM B, Üre+5 mM B uygulanmış arpa filizlerine 8 mM Ca^{2+} ilave edilmesiyle APX aktivitelerinde sırasıyla % 32,22 ve % 24,73'lük artışlar elde edilmiştir. Aynı şekilde arpa köklerinde yapılan çalışma da APX aktivitesinde filizlere benzer sonuçlar elde edilmiştir. NO_3^- , NH_4^+ ve üre gruplarına 8 mM Ca^{2+} ilave edilmesiyle sırasıyla % 17,30, % 31,79 ve % 22,77'lik artmaların olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.2.12: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün askorbat peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

Mercimek filizlerinde yapılan 7. gün ölçümlerinde GPX aktivitesinin NO_3^- uygulanmış bitkiye 8 mM Ca^{2+} ilave edilmesiyle % 12,07, 12 mM Ca^{2+} ilave edilmesiyle de % 30.28 oranında azaldığı tespit edilmiştir. NO_3^- +5 mM B uygulanmış filizlere 8 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde % 6,75, 12 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde ise % 18,89 oranında bir azalma gözlenmiştir. 10 mM B uygulanan NO_3^- azot kaynaklı örnekler 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilave edildiğinde daha düşük % azalma belirlendi. NH_4^+ ve üre azot kaynaklı örneklerde de benzer sonuçlar elde edildi fakat en düşük % azalma NH_4^+ azot kaynaklı örneklerde belirlendi ($p<0,01$).

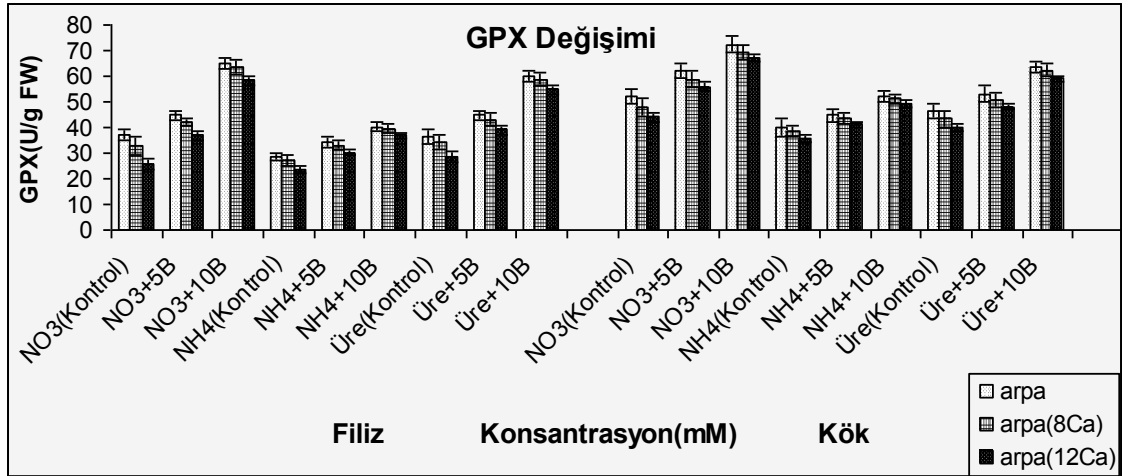
7.gün GPX ölçümlerinde benzer etkiler mercimek köklerinde de filizlere paralel fakat daha düşük % azalmalar gözlenmiştir. Buna göre en yüksek % azalma NO_3^- azot kaynaklı örneklerde belirlendi. 12 mM Ca^{2+} ilavesinde 8 mM'a göre daha yüksek % azalmalar tespit edilmiştir ($p<0,01$).



Şekil 3.2.13: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün guasikol peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

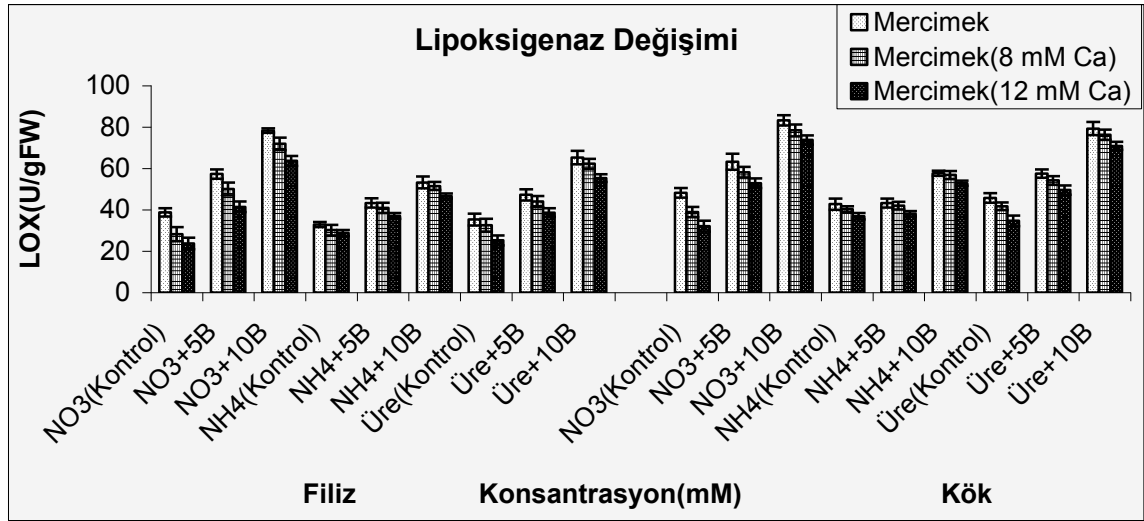
Arpa filizlerinde yapılan 7. gün GPX aktivitesinde NO_3^- uygulanmış filizlere 8 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde % 11,56'lık bir azalma, 12 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde ise % 30,73'lük bir azalma olduğu saptanmıştır. NH_4^+ ve üre uygulanmış arpa filizlerine 8 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde sırasıyla %4,88 ve % 6,63'lük azalmaların olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde 12 mM Ca^{2+} ilave ettiğimizde sırasıyla % 17,04 ve % 21,77'lik azalmalar tespit edilmiştir ($p < 0,01$).

Arpa köklerinde yapılan çalışmalarda da filizlere benzer etkilere rastlanmıştır. 8 ve 12 mM'lık Ca^{2+} ilavelerinin köklerdeki GPX aktivitelerinde azalmalara sebep olduğu anlaşılmıştır.



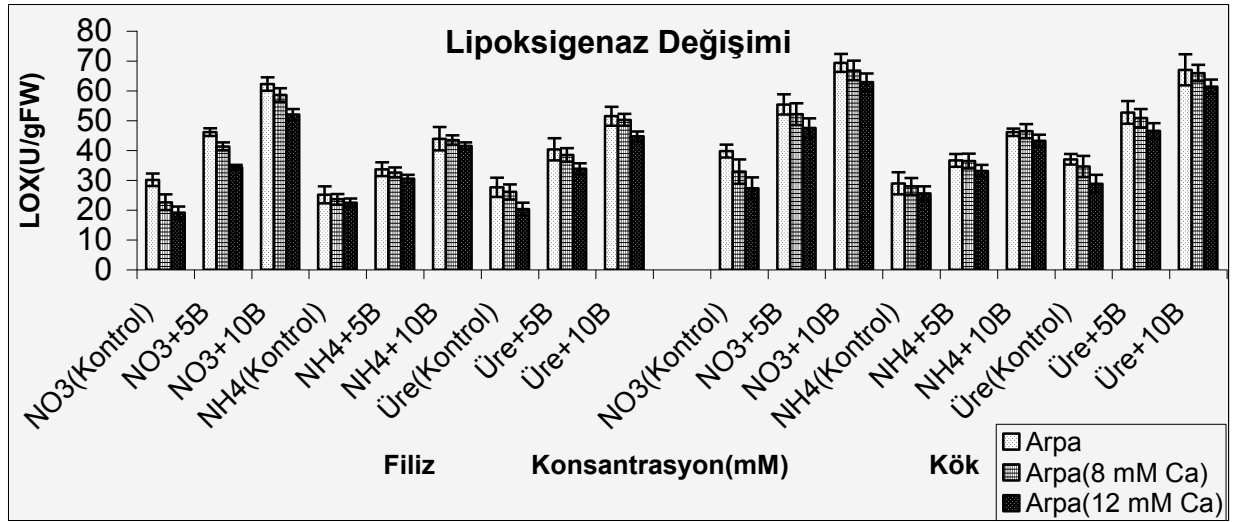
Şekil 3.2.14: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün guasikol peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi.

7. gün sonunda yapılan LOX aktivite ölçümlerinin sonuçlarında kontrol gruplarına göre 12 mM Ca^{2+} ilave edilen mercimek filizlerinde NO_3^- , NH_4^+ ve üre uygulanan örneklerde sırasıyla % 38,76, % 12,48 ve % 28,57'lik azalmalar tespit edilmiştir. 5 mM bor uygulanan örneklerde ise kontrol gruplarına göre NO_3^- , NH_4^+ ve üre için sırasıyla % 27,70, % 14,47 ve 18,18 'lik azalmalar belirlendi. 10 mM bor uygulanan örneklerde de kontrol gruplarına göre sırasıyla % 18,65, % 12,25 ve % 15,25'lik azalmalar tespit edildi. 8 mM Ca^{2+} ilavesinde ise kontrol gruplarına göre 12 mM Ca^{2+} ilavesinden daha düşük ve paralel % azalmalar belirlendi. Mercimek köklerinde yapılan LOX ölçümlerinde ise kontrol gruplarına göre filizlere paralel fakat daha düşük % azalmalar belirlendi. Grafikten de anlaşılacağı üzere 12 mM Ca^{2+} ilave edilen NO_3^- azot kaynaklı örneklerde en yüksek % LOX azalması tespit edilmiştir.



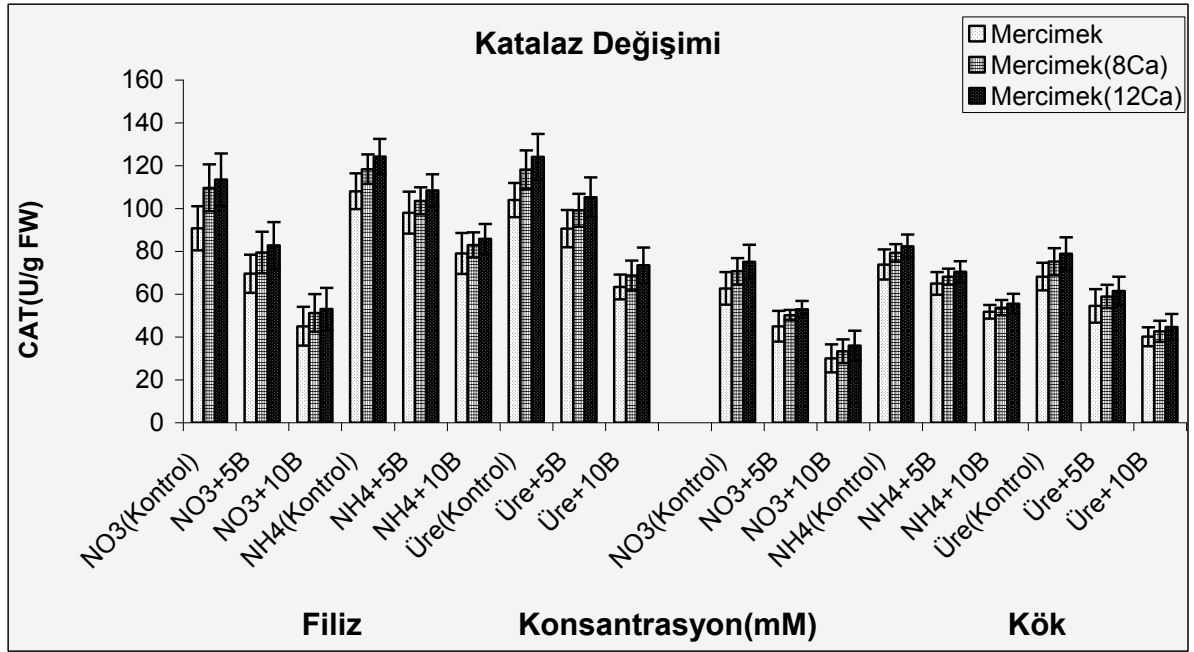
Şekil 3.2.15: Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün lipoksigenaz aktivitesi üzerine etkisi.

7. gün sonunda yapılan LOX aktivite ölçümlerinin sonuçlarında kontrol gruplarına göre 12 mM Ca^{2+} ilave edilen arpa filizlerinde NO_3^- , NH_4^+ ve üre uygulanan örneklerde sırasıyla % 36,59, % 10,30 ve % 26,39'luk azalmalar tespit edilmiştir. 5 mM bor uygulanan örneklerde ise kontrol gruplarına göre NO_3^- , NH_4^+ ve üre için sırasıyla % 25,52, % 9,33 ve % 26,01'lik azalmalar belirlendi. 10 mM bor uygulanan örneklerde de kontrol gruplarına göre sırasıyla % 16,47, % 5,52 ve % 13,07'lik azalmalar tespit edildi. 8 mM Ca^{2+} ilavesinde ise kontrol gruplarına göre 12 mM Ca^{2+} ilavesinden daha düşük ve paralel % azalmalar belirlendi. Arpa köklerinde yapılan LOX ölçümlerinde ise kontrol gruplarına göre filizlere paralel fakat daha düşük % azalmalar belirlendi. Grafikten de anlaşılacağı üzere 12 mM Ca^{2+} ilave edilen NO_3^- azot kaynaklı örneklerde en yüksek % LOX azalması tespit edilmiştir.



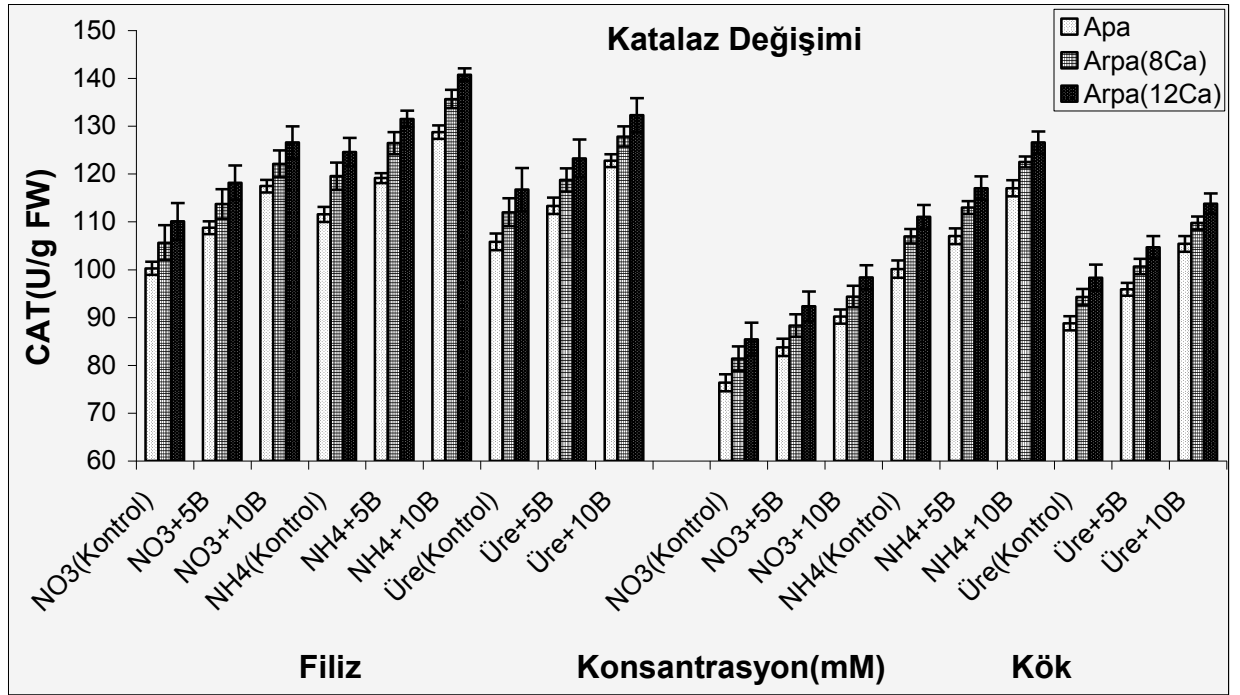
Şekil 3.2.16: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün lipoksigenaz aktivitesi üzerine etkisi.

Yapılan katalaz aktivite ölçümlerinde bor stresi uygulanmamış mercimek örneklerine 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavelerinde kontrol gruplarına göre filizlerde sırasıyla NO₃⁻'de % 20,91 ve % 25,12 NH₄⁺'de % 9,55 ve % 15,01 ürede % 13,71 ve % 19,38 düzeylerinde artışlar belirlendi. 5 mM ve 10 mM bor uygulanan örneklerde ise borsuz örneklerle paralel fakat daha düşük % artışlar belirlendi. Mercimek köklerinde ise yapılan CAT ölçümlerinde filizlere paralel değişimler belirlendi fakat % artışlar filizlerden daha düşük düzeyde tespit edildi.



Şekil 3.2.17: Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış kırmızı mercimek bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün katalaz aktivitesi üzerine etkisi.

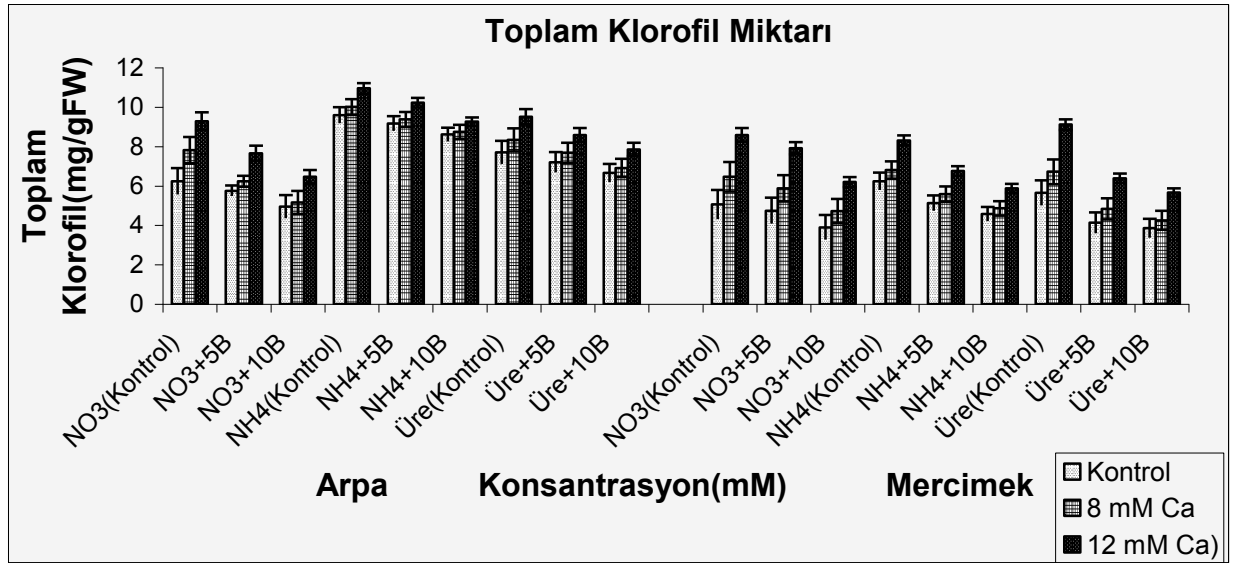
Arpa bitkisinde yapılan katalaz aktivite ölçümlerinde ise bor stresi uygulanmamış örneklerle 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesiyle kontrol gruplarına göre filizlerde sırasıyla NO_3^- 'de % 5,37 ve % 9,79 NH_4^+ 'de % 7,17 ve % 11,71 ürede % 5,85 ve % 10,30 düzeylerinde artışlar belirlendi. 5 mM ve 10 mM bor uygulanan örneklerde ise borsuz örneklerle paralel fakat daha düşük % artışlar belirlendi. Arpa köklerinde ise yapılan CAT ölçümlerinde filizlere paralel değişimler belirlendi fakat % artışlar filizlerden daha yüksek düzeyde tespit edildi.



Şekil 3.2.18: : Farklı azot kaynakları içeren ortamda bor stresine maruz bırakılmış arpa bitkisinin büyüme solüsyonuna 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesinin 7.gün katalaz aktivitesi üzerine etkisi.

3.2.5. Toplam Klorofil Değişimi

İki bitki türünde de toplam klorofil değişimlerini 8 ve 12 mM Ca^{2+} ilavesiyle 7. gün sonunda değerlendirdiğimizde her iki bitki örneklerinde kalsiyum ilavesiyle toplam klorofil miktarlarında artışlar belirlenmiştir. Arpa bitkisinin toplam klorofil artışı mercimek bitkisine göre daha düşük düzeyde belirlenmiştir. Ayrıca nitrat kaynakları yönünden bulgularımızı değerlendirecek olursak her iki bitkide de NO_3^- uygulanan örneklerin toplam klorofil miktarı diğer örneklerle göre daha yüksek bulunmuştur. Kalsiyum miktarına göre değerlendirecek olursak 12 mM Ca^{2+} ilavesinde ölçülen toplam klorofil miktarı 8 mM Ca^{2+} ilavesinden daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir.



Şekil 3.2.19: Bor stresi altındaki arpa bitkilerine farklı azot kaynaklarının uygulanmasıyla 8 ve 12 mM Ca²⁺ ilavesinin 7.gün toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.

3.3. İstatistiksel Analiz Verileri, Değerlendirilmesi ve Yorum

Tablo:3.3.1: Farklı azot kaynaklarında bor stresi uygulanmış mercimek ve arpa bitkilerinde filiz ve kök parametrelerinin korelasyon testi N=3 (0-5 ve 10 mM Bor).

Mercimek	APX	GPX	MDA	CAT	LOX	H ₂ O ₂	Prolin	% Relatif Büyüme Hızı	SOD
NO ₃ ⁻ (Filiz)	-1.000**	.998**	.980*	-.999**	.999**	.999**	.999**	-.999**	.997**
NH ₄ ⁺ (Filiz)	-.999**	.997*	.983*	-.998**	.999**	.999**	.997**	-.999**	.998*
Üre (Filiz)	-.997**	.980*	.964	-.995	.997**	.998**	.975	-.998**	.990*
NO ₃ (Kök)	-.983*	.980*	.992	-.970	.972	.975	.972	-.987	.992
NH ₄ ⁺ (Kök)	-.999**	1.00**	.970	-.999*	.994	.999*	.999*	-.997*	.993*
Üre (Kök)	-.999*	.999*	.972	-.999*	.997*	.999*	1.000**	-.997*	.994*
Arpa									
NO ₃ ⁻ (Filiz)	.998*	.967	.984	1.000**	1.000**	.999**	.984	-.990	1.000**
NH ₄ ⁺ (Filiz)	.998*	.949	.993	.998*	.998*	.995	.971	-.997	.998*
Üre (Filiz)	.949	.967	.906	.968	.968	.975	.997*	-.920	.968
NO ₃ ⁻ (Kök)	.993	.984	.984	.983	.984	.977	.936	-.999*	.983
NH ₄ ⁺ (Kök)	.998*	.968	.983	.999*	1.000**	1.000*	.985	-.989	1.000**
Üre (Kök)	.998*	.968	.984	1.000**	.999*	.999*	.984	-.989	1.000**

** p<0.01 düzeyinde istatistiksel anlamlılık.

* p<0.05 düzeyinde istatistiksel anlamlılık.

Mercimek bitkisinin filiz ve köklerinde GPX, LOX, SOD, MDA, Prolin ve H₂O₂ parametreleri bor stresi ile pozitif korelasyon gösterirken % relatif büyüme hızı, APX, CAT parametreleri bor stresi ile negatif korelasyon göstermiştir. Arpa bitkisinin kök ve filizlerinde ise GPX, LOX, SOD, APX, CAT, MDA, Prolin ve H₂O₂ parametreleri bor stresi ile pozitif korelasyon gösterirken % relatif büyüme hızı negatif korelasyon göstermiştir. (Tablo:3.3.1). Kalsiyum ilavesi sonucunda elde edilen veriler için yapılan korelasyon analizi sonuçları da yukarıda ki sonuçlara

paralel olarak benzerlik göstermiştir. Sonuç olarak elde ettiğimiz veriler korelasyon içerisinde değişimler göstererek birbirlerini destekler nitelik taşımaktadır.

Yapılan çalışma sonuçları değerlendirildiğinde her iki bitkide de bor stresine bağlı olarak stres parametrelerinde ve büyüme parametrelerinde birbirlerini destekler nitelikte sonuçlar belirledik. Ayrıca farklı azot kaynaklarının kullanılması ile de her iki bitki için bor stresine karşı farklı cevapların alındığını belirledik. Elde ettiğimiz diğer bir sonuç da toleranslı ve toleranssız bitkilerin bor stresine maruz bırakıldıklarında verdikleri cevaplar birbirlerinden farklı olarak belirlendi. Bor konsantrasyonu yüksek olan topraklarda yetiştirilen bitkilerin amonyum azot kaynaklı gübre kullanılmasıyla ya da nitrat azot kaynaklı gübre kullanılarak kalsiyum takviyesi yapılması ile bor toksisitesinin etkilerinin kısmi olarak gideriminin sağlandığını belirledik.

4.Kaynaklar

1. Aebi, H., Catalase Invitro. Methods in Enzymology 105, 121–126, 1984.
2. Atalay, A., Garrett, H.E., Mawhinney, T.P. and Mitchell, R.J., Boron fertilization and carbohydrate relations in mycorrhizal and nonmycorrhizal short-leaf pine. Tree Physiol., 4; 275-280, 1988.
3. Aggarwal, S.C. and Yadav, D.V., Effect of boron and nitrogen on yield and boron content of wheat. J. Indian Soc. Soil Sci., 32, 197-200, 1984.
4. Alscher, R.G., Donahue, J.L. and Cramer, C.L., Reactive Oxygen Species and Antioxidans: Relationships in Gren Cells. Physiol. Plant., 100: 224-233, 1997.
5. Asada, K., Production and Action of Active Oxygen Species in Photosynthetic Tissues. In: C.H. FOYER, P.M. MULLINEAUX (Eds.), Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants. CRC Pres, Boca Raton, FL, 77-104, 1994.
6. Allen, R., Dissection of Oxidative Stress Tolerance Using Transgenic Plants. Plant Physiol. 107: 1049-1054, 1995.
7. Athanassios M., Thomas S., Georgia T.,Grigorios D., Ioannis T., 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, 54–62, 2006.
8. Bates L, Rapid determination in free proline of water stress studies. Plant Soil 39, 205, 1973.
9. Bolwell, G. P. Plant Biol., 2 (1999) 287.
10. Blum, A., "Breeding Crop Varieties for Stress Environments", Critical Reviews in Plant Sciences, 2: 199-237 (1986).
11. Brown P.H. and Shelp B.J. 1997. Boron mobility in plants. In Plant and Soil. Proceedings Eds. R.W. Bell and B. Rerkasem, pp. 193:85-101. Kluwer Academic Publishers, Dordrecth, the Netherlands.
12. Brown, P.H. and Hu, H., Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. Ann. Bot., 77; 497-505, 1996.
13. Bellaloui, N., Brown, P.H. and Dandekar, A.M., Manipulation of in Vivo Sorbitol Production Alters Boron Uptake and Transport in Tobacco. Plant Physiology, 119; 735-741, 1999.

14. Birnbaum, E.H., Dugger, W.M., and Baesley, C.A., Interaction of boron with component of nucleic acid metabolism in cotton ovules cultured in Vitro. *Plant Physiol.*, 59; 1034, 1977.
15. Bolaños, L., Estabén, E., De Lorenzo, C., Fernández-Pascual, M., De Felipe, M.R., Garate, A. and Bonilla, I. Essentiality of boron for symbiotic dinitrogen fixation in pea (*Pisum sativum*) rhizobium nodules. *Plant Physiol.*, 104; 85-90, 1994.
16. BOWLER, C., MONTAGU, M.V. and INZE, D., Superoxid Dismutase and Stress Tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43: 83-116, 1992.
17. Britto DT, Kronzucker HJ. NH₄⁺ toxicity in higher plants: a critical review. *J Plant Physiol*;159:567–84, 2002-
18. Boukcim H, Pages L, Plassard C, Mousain D., Root system architecture and receptivity to mycorrhizal infection in seedlings of *Cedrus atlantica* as affected by nitrogen source and concentration. *Tree Physiol* 21: 109–115, 2001
19. Coke, L. and Whittington, W.J., The role of boron in plant growth, IV. Interrelationships between boron and indol-3-yl acetic acid in the metabolism of bean radicles. *J. Exp. Bot.*, 19; 295-308, 1968.
20. Cordoba-Pedregosa, M.D.C., Gonzalez-Reyes, J.A., Canadillas, M.D.S., Navas, P. And Cardoba, F., Role of apoplastic and cell wall peroxidases on the stimulation of root elongation by ascorbate. *Plant Physiol.*, 112; 1119-1125, 1996.
21. Chattopadhyay. S., Data, S.K. and Mahato, S.B., Production of L-DOPA from cell suspension culture of *Mucuna pruriens f. pruriens*. *Plant Cell Rep.*, 13; 519- 522, 1994.
22. Coke, L. and Whittington, W.J., The role of boron in plant growth, IV. Interrelationships between boron and indol-3-yl acetic acid in the metabolism of bean radicles. *J. Exp. Bot.*, 19; 295-308, 1968.
23. Chen, Z., H. Silva, D. Klessig, *Science*, 262 (1994) 1883.
24. Cervilla, L. M., Blasco, B., Ríos, J. J., Rosales, M. A., Rubio-Wilhelmi, M. M., Sánchez-Rodríguez, E., Romero, L., Response of nitrogen metabolism to boron toxicity in tomato plants, *Plant Biology*, 11, 671–677, 2009

25. Chao W., Song H. Z., Pei F. W., Jun H., Wei L., Wen J. Z., Metabolic adaptations to ammonia-induced oxidative stress in leaves of the submerged macrophyte *Vallisneria natans* (Lour.) Hara, *Aquatic Toxicology*, 87, 88–98, 2008.
26. Cucchiari E., Franca G., Antonella P., Cecilia T., Rossella P., Effect of salinity, temperature, organic and inorganic nutrients on growth of cultured *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae) from the northern Adriatic Sea, *Harmful Algae*, 7, 405–414, 2008.
27. Çakmak, İ., Yılmaz, A., Kalaycı, M., Ekiz, H., Ülger, A.C. and Brown, H.J., Zinc deficiency and boron toxicity as critical nutritional problems in wheat production in Turkey. 5th Int. Wheat Conference, Ankara, Turkey, June 10-14, p. 279. 1996.
28. Çakmak, İ. and Römheld, V., Boron deficiency-induced impairments of cellular function in plants. *In Plant and Soil Proceedings* Eds. R.W. Bell and B.
29. Çakmak, İ., Kurz, H. and Marschner, H., Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. *Physiol. Plant.*, 95; 11-18, 1995.
30. Çavdar C., A. Sifil T. Çamsarı, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4 (1997)
31. Dixon, R.K., Garrett, H.E. and Cox, G.S., Boron fertilization, vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization and growth of *Citrus jambhiri* Lush. *J. Plant Nutrition*, 12; 687-700, 1989.
32. Dugger, W.M., Boron in plant metabolism. *In Encyclopedia of Plant Physiology*, new series, Vol. 15. Eds. A. Lauchli and R.L. Bielecki. pp. 626-650 Springer- Verlag, Berlin, 1983.
33. Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breusegem, F., Dual Action of the Active Oxygen Species During Plant Stress Responses. *Cell. Mol. Life. Sci.* 57: 779-795. 2000.
34. Elstner, E.F., Oxygen Activation and Oxygen Toxicity. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33: 73-96, 1982.
35. Fackler, U., Goldbach, H., Weiler, E.W. and Amberger, A., Influence of Boron deficiency on indol-3yl-acetic acid and abscissic acid levels in root and shoot tips. *J. Plant Physiol.* 119, 295–299, 1985.

36. Fridovich, I., Süperoxide Radical and Süperoxide Dismutases. *Annu. Rev. Biochem.* 64: 97-112, 1995.
37. Gezgin, S., Dursun, N., Hamurcu, M., Harmankaya, M., Önder, M., Sade, B., Topal, A., Soylu, S., Akgün, N., Yorgancılar, M., Ceyhan, E., Çiftçi, N., Acar, B., Gültekin, İ., Işık, Y., Şeker, C. and Babaoğlu, M., Determination of B Contents of Soils in Central Anatolian Cultivated Lands and its Relations between Soil and Water Characteristics, Boron in Plant and Animal Nutrition. Edited by Goldbach et al., Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York, 2002
38. Gezgin, S., Dursun, N., Hamurcu, M. ve Ayaslı, Y., Konya Ovasında şeker pancarı bitkisinin beslenme sorunlarının toprak ve bitki analizleri ile belirlenmesi. Konya Pancar Ekicileri Kooperatifi Eğitim ve Sağlık Vakfı Yayınları, Bahçıvanlar Basım San. A.Ş., Konya, 1998.
39. Gümüş, A., Metalik Maden Yatakları, K.T.Ü. Yayın No. 59, 536 Sayfa. 1974,
40. Goldberg, S., Reaction of boron with soils, *Proceedings Eds. R.W. Bell and B. Rerkasem.*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, *In Plant and Soil*, pp. 193:35-48, 1997.
41. Gauch, H.G. and Dugger, W.M., The role of boron translocation of sucrose. *Physiol. Plant.*, 28; 457, 1953.
42. Gauch, H.G. and Dugger, W.M., The physiological action of boron in higher plants. *Maryland Agr. Exp. Station Bulletin*, A 80, 1954.
44. Güneş, A., Alpaslan, M. ve İnal, A., Bitki Besleme ve Gübreleme. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:1514, Ders Kitabı No:467, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara. 2000.
45. Goldbach, H.E., Influence of boron nutrition on net uptake and efflux of ^{32}P and ^{14}C -glucose in *Helianthus annuus* roots and cell cultures of *Dauca carota*. *J. Plant Physiol.*, 118; 431-438, 1985.
46. Goldbach, H.E. and Amberger, A., Influence of boron deficiency on 3H indol-3-ylacetic acid uptake and efflux in cell cultures of *Daucus carota* L. *Plant Growth Regul.*, 4; 81-86, 1986.
47. Gossett, D.R., Millhollon, E.P., Lucas, M.C., Antioxidant Response to NaCl Stress in Salt Tolerant an Salt-Sensitive Cultivars of Cotton, *Crop Sci.*, 34, 706-714, 1994.

48. Grant, J.J. and Leake, G. J., Role of Reactive Oxygen Intermediates and Cognate Redox Signaling in Disease Resistance. *Plant Physiol.* 124: 21-29, 2000.
49. Heath RL, Packer L, Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Arch Biochem Biophys* 125: 189–198, 1968.
50. Hu, H. and Brown, P.H., Localisation 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 Physiol.*, 105; 681-689, 1994.
51. Hu, H. Brown, P.H., and Labavitch, J.M., Species variability in boron requirement is correlated with cell wall pectin. *J. Exp. Bot.*, 47; 227-232, 1996.
52. Hirsch, A.M., Pengelly, W.L. and Torrey, J.G., Endogenous IAA levels in borondeficient and control root tips of sunflower. *Bot. Gaz.*, 143; 15-19, 1982.
53. Hirsch, A.M. and Torrey, J.G., Ultrastructural changes in sunflower root cells in relation to boron deficiency and added auxin. *Can. J. Bot.*, 58; 856-866, 1980.
54. Hernandez, J., Jimenez, A., Mullineaux, P. and Sevilla, F., Tolerance of Pea Plants (*Pisum sativum*) to Long-Term Salt Stress is Associated with Induction of Antioxidant Defences, *Plant Cell Environ.*, 23, 853-862, 2000.
55. Hu, Penn, H.,S.G., Lebrilla, C.B. and Brown, P.H., Isolation and characterization of soluble B-complexes in higher plants. *In Plant Physiol. Proceedings* Eds. R.W. Bell and B. Rerkasem, pp. 113; 649-655. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, the Netherlands, 1997.
56. Inal, A. and Tarakcioglu, C., Effects of Nitrogen Forms on the Growth, Nitrate Accumulation, Membran Permeability, and Use Efficiency of Hydroponically Grown Bunch Onion (*Allium cepa* L. Var.Radar) Boron Deficiency and Toxicity. *J. Plant Nutrition*, 24(10); 1521-1534, 2001.
57. Jana S. and Choudhuri M.A. Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperms during aging. *Aquat. Bot.* 12: 345–354, 1981.
58. Jones, R.A., Qualset, C.O., Breeding Crops for Environmental Stress Tolerance, In: Collins, G.B., Petolino, J.G. (Eds.), *Application of Genetic Engineering to Crop Improvement* Dordrecht, Netherlands, Nijhoff/Junk, , pp.305-340,1984.

59. Jalloh, M.A., Jinghong C., Fanrong Z., Guoping Z., Effect of different N fertilizer forms on antioxidant capacity and grain yield of rice growing under Cd stress, *Journal of Hazardous Materials*, 162,1081–1085, 2009.
60. Keren, R. and Bingham, F.T., Boron in water, soils and plants, *Adv. Soil Science*, 1; 230-276, 1985.
61. Karabal, E., Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity, *plant science*, 164, 925-933, 2003.
62. Levitt, J., Responses of Plants to Environmental Stress, I. Chilling, Freezing and High Temperature Stresses, Academic Press, Inc., 2nd Edition, pp.607, 1980.
67. Loomis, W.D. and Durst, R.W., Chemistry and biology of boron. *Biofactors*, 3; 229-239, 1992.
68. Letho, T., Kallio, E. and Aphalo, P.J., Boron Mobility in Two Coniferous Species. *Annals of Botany*, 86; 547-550, 2000.
69. Letho, T., Raisanen, M., Lavola, A., Julkunen-Tiitto, R. and Aphalo, P.J., Boron Mobility in Deciduous Forest Trees in Relation to Their Polyols. *New Phytologist*, 163; 333-339, 2004.
70. Lukaszewski, K.M. and Blevins, D.G., Root growth inhibition in boron-deficient or aluminum-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism. *Plant Physiol.*, 112; 1135-1140, 1996.
71. Loughman, B.C., Metabolic factors and the utilisation of phosphate by plants. *Ciba Foundation Symposium*, 57; 155-174, 1977.
72. Lovatt, C.J., Evolution of xylem resulted in a requirement for boron in the apical meristems of vascular plants. *New Phytol.*, 99; 509-522, 1985.
73. Liso, R., Calabrese, G., Bitonti, M.B. and Arrigoni, O., Relationship between ascorbic acid and cell division. *Exp. Cell Res.*, 150; 314-320, 1984.
74. Lukaszewski, K.M. and Blevins, D.G., Root growth inhibition in boron-deficient or aluminum-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism. *Plant Physiol.*, 112; 1135-1140, 1996.
75. Marschner, H., Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed. Academic Press, New York, pp. 379-396, 1995

76. Liu, L., Shelp, B.J. and Spiers, G.A., Boron distribution and retranslocation in field-grown broccoli (*Brassica oleracea* var *Italica*). Can. J. Plant Sci., 73; 587-600, 1993.
77. Matoh, T., Boron in plant cell walls, *In* Plant and Soil. Proceedings Eds. R.W. Bell and B. Rerkasem. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, pp. 193:59-70, 1997
78. Marentes, E., Shelp, B.J., Vanderpool, R.A. and Spiers, G.A., Retranslocation of boron in broccoli and lupin during early reproductive growth. Physiologia Plantarum, 100; 389-399, 1997.
79. Mole, S., Ross, J.A.M. and Waterman, P.G., Light-induced variation in phenolic levels in foliage of rain-forest plants. I. Chemical Changes. J. Chem. Ecol., 14; 1-21, 1988.
80. Monday, N.I. and Munshi, C.B., Effect of boron on enzymatic discolouration and phenolic and ascorbic acid content of potatoes. J. Agric. Food Chem., 41; 554-556, 1993.
81. Mckersie, B. D. and Leshem, Y. Y., Oxidative Stress. In: Stress and Stress Coping in Cultivated Plants. Kluwer Academic Publishers, s. 256, 1994.
82. Muthukumarasamy, M., Gupta, S.D. and Pannerselvam, R., Enhancement of Peroxidase, Polyphenol Oxidase and Superoxide Dismutase Activities by Triadimefon in NaCl Stressed Raphanus sativus L, Biol. Plant., 43, 317-320, 2000.
83. Nable, R.O. Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: a preliminary examination of the resistance mechanism. Plant and Soil, 112; 45-57, 1988
84. Oertli, J.J. and Roth, J.A., Boron supply of sugar beet, cotton and soybean. Agron. J. 61; 191-195, 1969.
85. Oertli, J.J., Non-homogeneity of boron distribution in plants and consequences for foliar diagnosis. Comm. Soil Sci. Plant. Anal., 25; 1133-1147, 1994.
86. Özcan, S.,E. GüreL M. Babaoğlu, M. Genetik mühendisliği ve uygulamaları, Bitki Biyoteknolojisi II, Bölüm 20 (2001) 261.
87. Öztürk, E., Kara, K., Polat, T., The Effects of Nitrogenous Fertilizer Forms and Application Times on Tuber Yield and Tuber Size of Potato, Journal of Tekirdag Agricultural Faculty,4,127-135,2007
88. Pate, J.S. Exchanges of solutes between phloem and xsylem and circulation in the

whole plant. *In: Encyclopedia of Plant Physiology, New series. Vol. 1, Transport of plants. I. Phloem transport.* Eds. M.H. Zimmermann and J.A. Miburn, New York, pp. 451-473. Springer-Verlag, 1975.

89. Patel, M.S. and Golakia, B.A., Effect of calcium carbonate and boron application on yield and nutrient uptake by groundnut. *J. Indian Soc. Soil Sci.* 34, 815-820, 1986.

90. Parr, A.J. and Loughman, B.C., Boron and Membrane Function in Plants, in *Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants*, Robb, D.A. and Pierpoint, W.S. Ed., Academic Press, Toronto, 87, 1983.

91. Perkins, H.J. and Aronoff, S., Identification of the blue-fluorescent compounds in boron-deficient plants. *Arch. Biochem. Biophys.*, 64; 506-507, 1956.

92. Pilbeam, D.J. and Kirkby, E.A., The physiological role of boron in plants. *J. Plant Nutr.*, 6; 563-582, 1983.

93. Rerkasem, B.S., Lordkaew, S. and Jampod, S., Assessment of grain set failure and diagnosis for boron deficiency in wheat. Wheat for non- traditional warm areas, *In: D.A. Saunders (Ed.), Mexico D.F. : CIMMYT. Pp. 500-504. 1991*

94. Römheld, V. and Marschner, H., Functions of micronutrients in plants. *In Micronutrients in Agriculture*, 2nd ed. Eds. J.J. Mordvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman and R.M. Welch. pp. 297 328. SSSA Book Series, No. 4, Madison, WI, USA, 1991.

95. Robertson, G.A. and Loughman, B.C., Modification of phosphate transport in *Vicia faba* by boron deficiency, growth regulators, and metabolic inhibitors. *In Membrane Transport in Plants.* Eds. U. Zimmerman and J. Dainty. pp. 444- 449. Springer-Verlag, New York, 1974.

96. Rajarathnam, J.A. and Lowry, J.B., The role of boron in the oil-palm (*Elaeis guinensis*). *Ann. Bot.*, 38; 193-200, 1974.

97. 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.

98. Seresinhe, P.S.J.W. and Oertli, J.J., Effects of boron on growth of tomato cell Suspensions, *Physiol, Plant.*, 81; 31-36, 1991.

99. Shelp, B.J., Shattuck, V.I. and Proctor, J.T.A. Boron nutrition and mobility and its relation to elemental composition of greenhouse grown root crops. II. Radish. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 18; 203-219, 1987.
100. Shelp, B.J., Shattuck, V.I., McLellan, D. and Liu, L., Boron nutrition and composition of glucosinolates and soluble nitrogen compounds in two broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) cultivars. *Can. Plant Sci.*, 72; 889-899, 1992.
101. Shelp, B.J., Vivekanandan, P., Vanderpool, R.A. and Kitheka, A.M., Translocation and effectiveness of foliar-applied boron in broccoli plants of varying Boron status. *Plant and Soil*, 183; 309-313, 1996.
102. Shelp, B.J., The composition of phloem exudate and xylem sap from broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) supplied with NH_4^+ , NO_3^- or NH_4NO_3 . *J. Exp. Bot.*, 38; 1619-1636, 1987.
103. Shelp, B.J., 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. 1993.
104. Spurs, A.R., The effect of boron on cell-wall structure. *Am. J. Bot.*, 44; 637-650, 1957.
105. Shelp, B.J., Boron mobility and nutrition in broccoli (*Brassicca oleracea* var. *Italica*). *Ann. Bot.*, 61; 83-91, 1988.
106. Shkol'nik, M.Y., Krupnikova, T.A. and Smirnov, Y.S., Activity of polyphenol oxidase and sensitivity to boron deficiency in monocots and dicots. *Fiziol. Rast.*, 28; 391-397, 1981.
107. Shkol'nik, M.Y., Developments in Crop Science (6), Elsevier, New York. Trace elements in Plants. pp. 68-109. 1984.
108. Sakal, R., Boron and sulphur-nutrition of groundnut in calcareous soil. Annual Progress Report of the All India Co-ordinated Scheme of Micro and Secondary Nutrients and Pollutant Elements in Soils and Plants (ICAR) pp. 37-40. Rajendra Agril. Univ., Pusa, Bihar, 1987
109. Singh, V. and Singh, S.P., Effect of applied boron on the chemical composition of lentilplants. *J. Indian Soc. Soil Sci.* 31, 169-170, 1983.
110. Shannon, M.C., Adaptation of Plants to Salinity, *Advances in Agronomy* vol:60, 75-119, 1997.

111. Singh, S.K., Sharma, H.C., Goswami, A.M., Datta, S.P. and Singh, S.P., In vitro Growth and Leaf Composition of Grapevine Cultivars as Affected by Sodium Chloride, *Biol. Plant.*, 43, 283-286, 2000.
112. Taiz, L., Zeiger, E., *Plant Physiology*, Sinauer Associates, Inc., 3th Edition, pp.602-611, 2002.
113. Takemura, T., Hanagata, N., Sugihara, K., Babab, S., Karube, I., Dubinsky, Z., Physiological and biochemical responses to salt stress in the mangrove, *Bruguiera gymnorhiza*, *Aquatic Botany*, 68, 15–28, 2000.
114. Warrington, K. The Effect of Boric Acid and Borax on the Broad Bean and Certain Other Plants. *Ann. Bot.*, 37; 629-672, 1923.
115. Willett, I.R., Nitrogen-induced boron deficiency in Lucerne. *Plant and Soil*, 86, 443-446, 1985.
116. Wise, R.R., Naylor, A.W., Chilling-Enhanced Photooxidation: Evidence for the Role of Singlet Oxygen and Endogenous Antioxidants. *Plant Physiol.*, 83, 278-282, 1987.
117. Watanabe, R., Skok, C.J. and Wender, S.H., Effect of boron deficiency on polyphenol production in the sunflower. *Phytochemistry*, 3; 391-393, 1964
118. Vaughan, D. and Ord, B.G., Influence of phenolic acids on morphological changes in roots of *Pisum sativum*. *J. Sci. Food Agric.*, 52; 289-299, 1990.
119. Yamagishi, M. and Yamamoto, Y., Effects of boron on nodule development and symbiotic nitrogen fixation in soybean plants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 40; 265- 274, 1994.
120. Yadav, O.P. and Manchanda, H.R., Boron tolerance studies in gram and wheat grown on a sierozem sandy soil. *J. Indian Soc. Soil Sci.* 27, 174-180, 1979.
121. Xing, T., V. J. Higgins, E. Blumwald, *Plant Cell*, 9 (1997) 249. 22. Uranova, E., D. Inza F. Van, *Journal of Experimental Botany.*, 53(372) (2002) 1227 and *Plant Cell*, 9 (1997) 249.

Özgeçmiş

Doğum Tarihi : 21.10.1980
Doğum Yeri : Trabzon
Uyruğu : T.C.
Medeni Hali : Bekar

Eğitim Durumu :

2007-200-

Celal Bayar Üniversitesi

Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya A.B.D Yüksek Lisans eğitimi

2002 - 2006

Ege Üniversitesi

Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü Lisans Eğitimi (Biyokimyagerlik

Opsiyonu)

2001 - 2002

Ege Üniversitesi

Lisans Öncesi İngilizce Hazırlık Eğitimi

1993 - 2000

Vakıfkebir Anadolu Lisesi (Trabzon)

Ortaöğrenim

1988 - 1993

A. Fazıl Ağanoğlu İlkokulu (Trabzon)

İlköğretim