

Ömer DEMİRTAŞ

**BOR KİRLİLİĞİNİN *Phaselous vulgaris* L. ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
ANALİZLERLE İNCELENMESİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

Ömer DEMİRTAŞ

Haziran - 2011

Haziran 2011

**BOR KİRLİLİĞİNİN *Phaseolus vulgaris* L. ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
ANALİZLERLE İNCELENMESİ**

Ömer DEMİRTAŞ

Fen Bilimleri Enstitüsü

Fatih Üniversitesi

Biyoloji Anabilim Dalı

Haziran 2011

İstanbul, Türkiye

ONAYLAMA SAYFASI

Bu tezin şekil ve içerik açısından Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tez Yazım Kılavuzunda belirtilen kurallara uygun formatta yazıldığını onaylıyorum.

Yrd. Doç. Dr. Sevim IŞIK
Anabilim Dalı Başkanı

Biyoloji Anabilim Dalı 50230813 numaralı öğrencisi Ömer DEMİRTAŞ tarafından hazırlanan bu tezin Yüksek Lisans Tezinde bulunması gereken yeterliliğe, kapsama ve niteliğe sahip olduğunu onaylıyorum.

Yrd. Doç. Dr. M.Serdal SAKÇALI
Tez Danışmanı

Tez Sınavı Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Serdal SAKÇALI

Yrd. Doç. Dr. Lokman ALPSOY

Yrd. Doç. Dr. İrem İFFET UZUNOR

Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tez Yazım Kılavuzunda belirtilen kurallara uygun formatta yazıldığını onaylıyorum.

Doç. Dr. Nurullah ASLAN
Müdür

Haziran 2011

**BOR KİRLİLİĞİNİN *Phaseolus vulgaris* L. ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
ANALİZLERLE İNCELENMESİ**

Ömer DEMİRTAŞ

Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Haziran 2011

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. M. Serdal SAKÇALI

ÖZET

Bu çalışmada, Bor (B) stresine karşı dayanıklılık düzeyini tespit etmek için; fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinin ticari magnum çeşidine 0, 7,5, 15, 30, 60, 120, 250, 500, 1000 ppm B uygulamasının oluşturduğu toksisite stresinin büyüme parametreleri (kök ve gövde), bağıl su içeriği, toplam klorofil miktarı ve süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (AP), katalaz (CAT) gibi antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Fasulye bitkisinin magnum çeşidinde B toksisitesi; etkisini öncelikle araştırma bitkilerinin yapraklarında nekrotik bölgelerin oluşumuyla göstermiş, daha sonra da kök ve gövde gelişiminin etkilendiği görülmüştür. Yapılan analizlere göre B toksisitesinin etkileri; yaprakta morfolojik bozukluklar, yaş ve kuru ağırlıklarda azalma, kök ve gövde boyunda kısaltmalar, çimlenme yüzdesi düşmesi, bağıl su içeriklerinde artış, terleme miktarında azalma, protein miktarında artış ve antioksidan enzimlerden SOD ve APX enzimlerinin aktivitelerinde önce artış daha sonra azalış, CAT enzim aktivitesinde azalma görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), klorofil, Bor kirliliği, Bor toksisitesi, SOD, CAT, APX,

**EXAMINING THE EFFECTS OF BORON POLLUTION ON
BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) PLANT THROUGH PHYSIOLOGICAL
AND BIOCHEMICAL ANALYSIS**

Ömer DEMİRTAŞ

M. S. Thesis - Biology

June 2011

Supervisor: Assist. Prof. M.Serdal SAKCALI

ABSTRACT

In this study, the application of 0, 7.5, 15, 30, 60, 120, 250, 500, 1000 ppm Boron toxicity stress on type of commercial magnum of the beans (*Phaseolus vulgaris* L.) plant was comparatively examined in terms of antioxidant enzyme activities such as growth parameters (root and stock), relative water content, the total amount of chlorophyll and activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) in order to determine resistance degrees of it to the stress of boron.

B toxicity on type of magnum of bean plant; the impact has firstly showed on the leaves of research plant by the formation of necrotic areas, and then it has been observed that the root and stock development has been influenced. According to analysis, the effects of boron toxicity were leaf morphological abnormalities, reduction in fresh and dry weights, root and shortening in root and stock length, germination percentage decline, a decrease in the amount of perspiration, increased leaf water potential, an increase in the amount of protein and before increase and then decrease of SOD and APX enzymes activities from the antioxidant enzymes, decreased CAT enzyme activities.

Keywords: Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Boron pollution, Boron toxicity, SOD, CAT, APX, Chlorophyll

İTHAF

Değerli aileme ve canım nişanlıma.

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmalarım konusunda bana yardımı esirgemeyen, çalışmam sırasında fikir ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. M. Serdal SAKÇALI'ya sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu çalışmanın yapılmasında bana desteklerini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Lokman ALPSOY'a, özellikle laboratuvar çalışmalarımıza katkıda bulunan Sayın Hüseyin TOMBULOĞLU' na ve Sayın Güzin KEKEÇ'e, tezimin hazırlanmasında gösterdiği yardımlardan dolayı Sayın Cansu KURT'a ayrıca çalışmamın her aşamasında yanımda olan değerli arkadaşım Mustafa ÖZEL' e teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarımda bana moral veren canım aileme ve desteğini hep yanımda hissettiğim nişanlıma sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İTHAF	vi
TEŞEKKÜR SAYFASI	vii
İÇİNDEKİLER TABLOSU	viii
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xii
BÖLÜM-1 GİRİŞ	1
1.1 Amaç ve Kapsam	1
1.2 Bor elementi	5
1.3 Canlılarda Bor ve Etkileri	11
1.3.1 Bor ve Bitkiler	12
1.3.2 Bitki Metabolizmasında Bor	12
1.3.3 Borun Bitkilerde Taşınması	15
1.3.4 Bitkilerde Bor Kirliliği ve Toksisitesi	16
1.4 Fasulye (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	17
BÖLÜM-2 MATERYAL VE METOT	19
2.1 Bitki seçimi	19
2.1.1 <i>Phaseolus vulgaris</i> L. Ev. Magnum	19
2.2 Borik Asitin Çözeltisinin Hazırlanması	20
2.3 Ekimi Yapılacak Tohumların Sterilizasyonu	20
2.4 Tohumların Çimlendirilmesi	20

2.5	Çimlenen Tohumlarda Kök Uzunluklarının Ölçülmesi	20
2.6	Bağıl Su İçeriğinin Ölçülmesi	21
2.7	Terleme Miktarının Ölçülmesi	21
2.8	Klorofil Miktarı Tayini	21
2.9	Toplam Protein Tayini	22
2.10	Antioksidan Enzim Aktivitesi	23
2.10.1	Enzim Ekstratının Hazırlanması	23
2.10.2	SOD (Süperoksit Dismutaz) Aktivite Tayini.....	23
2.10.3	APX (Askorbat peroksidaz) Aktivite Tayini	23
2.10.4	CAT (Katalaz) Aktivite Tayini	24
BÖLÜM-3 BULGULAR		25
3.1	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Çimlenme Üzerine Etkisi	25
3.2	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Kök Gelişimlerine Etkisi	26
3.3	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Bağıl Su Miktarı Üzerine Etkisi	29
3.4	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Terleme Üzerine Etkisi.....	29
3.5	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi	30
3.6	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Protein Miktarı Üzerine Etkisi ..	31
3.7	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi .	32
3.8	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin APX Aktivitesi Üzerine Etkisi .	34
3.9	Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin CAT Aktivitesi Üzerine Etkisi .	35
BÖLÜM-4 TARTIŞMA VE SONUÇ		36
REFERANSLAR.....		41

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.1 Bor Elementinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	5
Tablo 1.2 Bor ve Türevlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	7
Tablo 1.3 Ticari Öneme Sahip Bazı Bor Mineralleri, Bor İçerikleri ve Bulunduğu Yerler	8
Tablo 1.4 Dünya Bor Rezervinin Ülkelere Göre Dağılımı	9
Tablo 1.5 Günlük alınması gereken bor miktarı.....	12
Tablo 1.6 Bor ihtiyaçlarına göre bazı bitkilerin gruplandırılması ve gereken bor miktarının sınır değerleri.	13
Tablo 2.1 Fasulye (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) bitkisinin Magnum çeşidinin fizyolojik özellikleri	19

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1 Bor Elementinin Kristal Yapısı	6
Şekil 1.2 Orta ve Güney Anadolu Bölgesi İlleri Topraklarının Genel Bor Haritası.....	10
Şekil 1.3 Antioksidant Mekanizma	17
Şekil 3.1 Farklı bor konsantrasyonlarında gerçekleşen çimlenme yüzdeleri	25
Şekil 3.2 Farklı bor konsantrasyonlarının çimlenme üzerine etkisi.....	26
Şekil 3.3 Farklı bor konsantrasyonlarının kök gelişimine etkileri.....	27
Şekil 3.4 Farklı bor konsantrasyonlarının çimlenen tohumlar üzerine etkileri	27
Şekil 3.5 Kök uzunluğu ve çimlenme yüzdesi arası kolerasyon grafiği	28
Şekil 3.6 Farklı bor konsantrasyonlarının bitki gelişimine etkileri ve yaprakta oluşturduğu hasarlar	28
Şekil 3.7 Farklı bor konsantrasyonlarının bağıl su oranlarına etkisi.....	29
Şekil 3.8 Farklı bor konsantrasyonlarının terleme miktarı üzerine etkisi	30
Şekil 3.9 Farklı bor konsantrasyonlarının klorofil pigmenti miktarı üzerine etkisi.....	31
Şekil 3.10 Farklı bor konsantrasyonlarının toplam protein miktarı üzerine etkisi	32
Şekil 3.11 Farklı bor konsantrasyonlarının SOD enzimi aktivitesi üzerine etkisini.....	33
Şekil 3.12 Farklı bor konsantrasyonlarının APX enzimi aktivitesi üzerine etkisi.....	34
Şekil 3.13 Farklı bor konsantrasyonlarının CAT enzimi aktivitesi üzerine etkisi.....	35

SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

APX	Askorbat Peroksidaz Enzimi
BNCT	Bor Nötron Yakalama Tedavisi
B-RG-II	Bor/Ramnogalakturonan
CAT	Katalaz Enzimi
DHA	Dehidroaskorbat
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
MDHA	Monodehidroaskorbat
NADH	Nikotinamit adenine dinükleotit
NBT	Nitroblue Tetrazolium
POX	Peroksidaz
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz Enzimi

BÖLÜM-1

GİRİŞ

1.1 Amaç ve Kapsam

Toprakta bulunan Bor (B) miktarı toprağın özelliklerine bağlı olarak değişmekte ve toprak tuzluluğu, sodyum ve organik madde miktarlarındaki artışlar elverişli bor miktarının da topraktaki düzeyini artırmaktadır (Gezgin, ve ark., 2001).

B'un bitkiler için en ideal ve toksik düzeyleri birbirine yakın olduğundan bitkilerin B toksitesi ve etkinliğini ayarlamak çok güçtür. Bu sebeple bitkilerde eksikliği ve toksite belirtileri en fazla görülen mikro elementtir (Sakal ve Singh, 1985; Goldberg, 1997).

Göl veya sel alanlarındaki birikintilerde, denizlerde oluşan tortul kayalarda ve deniz balçıklarında daha fazla oranda B bulunmaktadır (Ermiş, 2002). Yarıkurak ve kurak bölgelerde fazla miktarda B içeren suların sulama suyu olarak kullanılması topraktaki B fazlalığının diğer bir nedenidir. Kirletilmiş sular, B maden işletmelerinden çıkan atıklar ve uçucu küller topraktaki B fazlalığına neden olan diğer kaynaklardır. Gübrelemenin normalden fazla uygulandığı tarım alanlarındaki topraklarda da B artabilmektedir (Nable ve ark., 1997).

B mineralinin sulama sularındaki miktarının az olduğu bilinmektedir. Buna rağmen B bileşiklerinin suda kolayca çözündüğü düşünüldüğünde B endüstri atıklarının çevreye verdikleri zararın etkileri anlaşılacaktır. B bileşikleri sulama sularıyla toprağa ve sulara geçerek burada ağır metallerle bileşik yapıp zararlarını artırmaktadır (Boncukçuoğlu, 2003)

B mineralinin fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin anlaşılması amacıyla yapılan çalışmalar 1927 yılında başlamaktadır. Bitkilerde hücre duvarı yapısına katılması üzerine yapılan çalışmaların yanı sıra çiçeklenmede, polen çimlenmesinde, mey olgunlaşmasında, azot ve karbonhidrat metabolizmalarına katılmasında, nükleik asit, pektin ve ATP sentezlerinde rol almasında, hormon hareket ve etkinliğinde yer aldığı görülmüştür. Ayrıca kök büyümesi, hücre bölünmesi, iletken dokuların korunması, tohum uyku halinin ve bitki-su ilişkilerinin düzenlenmesi, diğer elementler üzerinde düzenleyici etkilerinin olması gibi pek çok yapısal, fizyolojik ve metabolik fonksiyonlarda rol aldığı yönünde çalışmalar da bulunmaktadır (Marchner, 1995; Blevins ve Lukaszewski, 1998).

Büyüme ve gelişmedeki rolü net olarak bilinmemektedir. Daha çok B'un hücre duvar yapısını koruyucu etkisi olabileceği, zar fonksiyonundaki etkisi üzerinde durulmaktadır (Bray ve ark., 2000).

Bitkide bor alımı arttığında gövdeden yaprakların en uç kısımlarına doğru bir taşıma olur. Çünkü transpirasyonun sonlandığı nokta yapraklar olup en fazla B birikmesi burada görülmektedir. Yapraklardan geriye gidildikçe B oranı düşer. Bitkilerde görülen en belirgin etkiler yaşlı yaprak uçlarında ve yaprak kenarlarında yanıklar ve nekrotik, klorotik beneklerdir (Nable ve ark., 1997). B toksisitesinin bitkide ürün kaybına ve çok yüksek B seviyelerinde bitki ölümlerine sebep olduğu bildirilmiştir (Khan ve ark., 1999).

Oluşabilecek bir stres durumunda bitkilerde biyokimyasal ve fizyolojik olarak birçok değişik tepkiler oluşturularak stresin üstesinden gelinmeye çalışılmaktadır. Bitkide oluşan stres faktörleri bazı tepkilere neden olmaktadır (Bray ve ark., 2000).

Canlılarda biyolojik sistemlerin normal gelişimini engelleme yönünde oluşan olumsuz bir kuvvet veya etkiye "Biyolojik stres" denir. Stres iki kısımda incelenmektedir. Diğer organizmaların zararlı etkisiyle oluşan strese "Biyotik stres"; çevrenin fiziksel ve kimyasal etkileriyle meydana gelen strese de "Abiyotik stres" denir. Abiyotik stres olan B stresi ile karşı karşıya kalan bitkilerde olumsuz değişimler

görülür. Bazı bitki tür ve çeşitleri az düzeyde etkilenirken bazı türler ise ölümcül düzeyde zarar görmektedir (Bray ve ark., 2000).

Bitkiler stres faktörlerinin azaltılması veya önlenmesiyle stresten korunurlar. Bitkide stres görüldüğünde bazı yapıda bazı değişiklikler olur. Bitkilerde strese tolerans mekanizması; doku ile organel seviyesinde ve moleküler olarak gerçekleşir ve meydana gelen stres etkisinin azaltılmasını veya tolere edilmesini içermektedir (Edreva, 1988). Bitkiler yaprak ayası kalınlığı, stoma büyüklüğü ve sıklığı, kütikulanın kalınlığını değiştirerek strese tepki gösterirler (Acar, 1999).

Stres altındaki bitkilerde artan düzeylerde sentezlenen serbest radikaller hücrelere zarar vermekte, özellikle yavaşlama sürecindeki fotosentezin hızını daha da düşürmektedir. Sentezlenen serbest oksijen radikalleri, protein membran lipitleri ve nükleik asitler ile klorofil gibi hücre komponentlerini de bozmaktadır (Davies, 1987)

Temel enerji üretimi moleküler oksijenin suya indirgenmesiyle gerçekleşir. Oksijenin indirgemesinde sorun yaşanırsa biyolojik molekülleri okside edebilen aktif oksijen türleri meydana gelir (Seçkin 2005). Aktif oksijen türleri “Süperoksit (O_2^-) radikalleri, hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri (OH^-), tek değerlikli oksijen (O_2)” kloroplast, mitokondri ve peroksizomlarda gerçekleşen oksidatif reaksiyonlarla meydana gelir. Stresin olmadığı durumlarda bitkilerde bulunan antioksidant savunma sistemleri, aktif oksijen türlerine karşı gerekli korumayı gerçekleştirmektedir (Cakmak, Strbac ve Marschner 1993). Stres koşullarında aktif oksijen türevlerinin arttığı tespit edilmiştir (Sairam ve Srivastava, 2002). Bitki yapısında doğal yollarla oluşan aktif oksijen türevleri stresinde etkisiyle koruyucu mekanizmaların yeterli olamadığı durumlarda hücre yapı ve işlevleri zarar görmektedir (Demiral, 2003).

Bitkiler abiyotik stres durumunda aktif oksijeni uzaklaştıran enzim aktivitelerini arttırırlar. Enzim aktivitelerinin yükselişi sonucunda enzimlere ait proteinlerin ve mRNA'ların miktarları da artar (Satoh ve Murata, 1998). Bitkiler içerdikleri antioksidant enzimler sayesinde farklı çevresel streslere karşı cevap ve tolerans sağlamaktadırlar (Bor, Özdemir ve Türkan, 2003; Türkan ve Demiral, 2004)

Bitkiler stres koşullarında aktif oksijen türleriyle antioksidant enzimler ve çeşitli antioksidantlar meydana getirerek mücadele ederler. Antioksidantlar; askorbat peroksidaz (APX) , katalaz (CAT) , glutasyon redüktaz (GR), süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX) olarak sıralanabilir. (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Süperoksit radikalleri çok kararsız yapıdadır. Süperoksit radikalleri hücre içinde bulunan Fe^{3+} ve Cu^{2+} iyonlarını indirgeyip daha kararlı olurlar. Tilakoid zarında bulunan bir metalloenzim olan süperoksit dismutaz, süperoksit radikallerinin, H_2O_2 ve O_2 ' ye dönüşümünü gerçekleştiren antioksidant savunma sisteminin önemli bir enzimidir. (Bowler ve ark., 1992).Açığa çıkan hidrojen peroksit peroksidaz, katalaz ve askorbat-glutasyon döngüsü enzimleriyle etkisiz hale getirilir (Fridowich, 1998).

Ülkemizin 3.5 milyon ha tarım arazisine sahip olan Orta-Güney Anadolu bölgesi (Konya, Afyon, Karaman, Aksaray, Niğde, Nevşehir ve Kayseri) tarım topraklarından alınan örneklerde yapılan analiz sonuçlarına göre toprakların elverişli B miktarının 0,01-63,9 mg kg^{-1} arasında değiştiği, %26,6'sında B'ca yetersiz ($<0,5$ mg kg^{-1}) ve %18'ininde ise B'ca toksik ($>3,0$ mg kg^{-1}) düzeyde oldukları bulunmuştur (DPT., 2002).

Orta Anadolu başta olmak üzere kurak-yarı kurak bölgelerde B toksisite yaygın görülmekte ve bu nedenle bu bölgelerde yetiştirilen ürünlerde ciddi ürün kayıpları olmaktadır. Ayrıca jeotermal amaçlı kuyulardan çıkan atıkların yer altı ve yer üstü su kaynaklarında ve boraks işletmelerinin bulunduğu bölgelerde B konsantrasyonu yüksek olmakta ve sulama açısından riskli sonuçlar doğurabilmektedir. Sındırgı, Bigadiç ve Balıkesir ovalarını sulayan Simav çayı etrafta bulunan boraks madenlerince bırakılan atıklarla B miktarı yükselmiş olup geniş bir alanda B kirliliği görülmektedir (Ural, 1995)

Fasulye Türkiye' de nohut ve mercimekle birlikte en fazla üretimi yapılan baklagil bitkisi olup ağırlıklı olarak bodur fasulye olmak üzere yıllık yaklaşık 162 000 ha alanda 250 000 ton fasulye üretilmekte ve dekara ortalama 154 kg verim alınmaktadır. Ekim alanları düşünüldüğünde Orta Anadolu Bölgesi 57 305 ha ve %31,8'lik pay ile en fazla

fasulye ekim alanına, üretimde ise 108 424 ton ve %43,3'lük pay ile yaklaşık yarısına sahiptir (Çiftçi, 2004).

Çalışmamızda Orta Anadolu Bölgesinde en fazla yetiştirilen baklagillerden fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinin bölgede üretimi yapılan magnum çeşidi üzerinde oluşan B toksisitesinin etkilerini fizyolojik ve biyokimyasal olarak inceledik. Kontrol grubu ve 7,5, 15, 30, 60, 120, 250, 500, 1000 ppm B uygulanarak yaptığımız çalışmamızda bitkilerin tohumlarının çimlenme yüzdeleri, kök ve gövde uzunlukları, bağıl su içerikleri, klorofil miktarı, protein miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri (APX, CAT, SOD) incelenmiştir.

1.2 Bor elementi

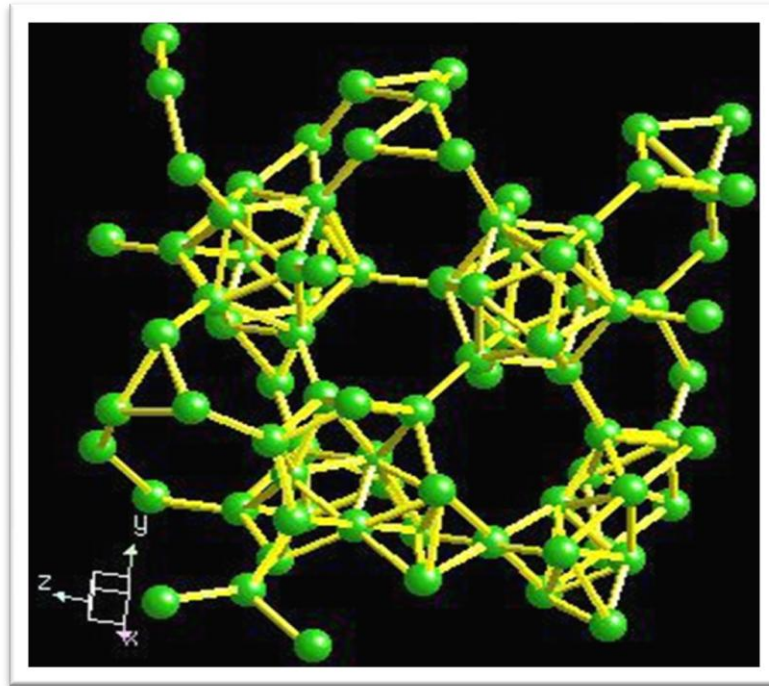
Bor saf element olarak ilk kez 1808 yılında Fransız kimyager J.L. Gay-Lussac ve Baron L.J. Thenard ile İngiliz kimyager H. Davy tarafından elde edilmiştir. Yüksek saflıktaki B, ancak bromit veya klorit formlarının tantalyum flamenti aracılığıyla hidrojen ile reaksiyona sokularak elde edilmektedir. Bor ismi B'un tuzu olan borakstan türetilmiştir (<http://www.etimaden.gov.tr> 2011).

Tablo 1.1 Bor Elementinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Atom ağırlığı :	10.811 ± 0.005 g/mol
Kaynama noktası:	2500° C
Yoğunluğu :	2.34 g /cm ³
Oksidasyon sayısı :	3
Elektronegatifliği :	2.0
İyonlaşma enerjisi :	191 k cal /g atom
Sertliği :	9.3 Mohs
Atom yarıçapı :	0.98
Fusion Isısı :	5.3 k cal / g atom
Buharlaştırma Isısı :	128 k cal / g atom
Kristal Yapısı :	Hexagonal
Erime Isısı :	2200 °C

B, doğada ^{10}B (%18,98) ve ^{11}B (%81,02) olmak üzere iki kararlı izotop halinde bulunmaktadır. Yerkabuğunun yaklaşık % 0,001'lik bir kısmını oluşturan B, element halde iken amorf veya kristal yapıda, suda çözünmeyen, kahverengimsi-siyah renge ve toz şeklinde olup normal sıcaklıklarda oldukça karardır. Oksijene eğilimi oldukça fazla olan bir elementtir. Yeryüzünde oksijen bileşikler şeklinde, daha çok da Ca ve Na boratlar halinde bulunurlar. En sık rastlanan B bileşiği; borik oksit (B_2O_3) ve borakstır ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (Adriano, 1986). B tabiatta hiçbir zaman serbest halde bulunmamaktadır. Doğada yaklaşık 230 çeşit B minerali olduğu bilinmektedir (www.boren.gov.tr).

Topraktaki çözünebilir B'un çoğunluğunu borik asit (H_3BO_3) oluşturmaktadır. Borik asit, toprakların çoğunda görülen pH sınırları içinde dissosiyasyon olmadığı için, toprak kolloidlerine bağlanamaz ve hızla yıkanarak toprağın alt horizonlarına doğru inmektedir. Kurak bölge topraklarında B, üst toprak horizonlarında birikir ve toksik konsantrasyon değerlerine kadar çıkar (Boşgelmez ve ark., 2001).



Şekil 1.1 Bor Elementinin Kristal Yapısı

B, periyodik sistemde B simgesi ile gösterilen III-A Grubuna ait, atom numarası 5, atom ağırlığı 10,81 olan, bitki besleyici elementler içinde metal olmayan tek elementtir (Boşgelmez ve ark., 2001). Elementler içinde 51. yaygın element olan B yeryüzünde toprakta, kayalarda ve suda yaygın olarak bulunan bir elementtir. Deniz suyunda 0,5-9,6 ppm, tatlı sularda 0,001-1,5 ppm ve topraktaki B içeriği genelde ortalama 10-20 ppm, sınırlan içindedir.

Yüksek konsantrasyonda ve ekonomik düzeydeki B kaynakları B'un oksijenle bağlanmış bileşikleri olarak daha çok Türkiye ve Amerika'nın kurak volkanik ve hidrotermal aktivitelerinin yüksek olduğu bölgelerde bulunmaktadır (Ediz ve Özday, 2001).Doğada çok sayıda B bileşiği bulunmasına rağmen endüstriyel aolarak tinkal, boraks, kolemanit, üleksit, kernit, probertit, boraks dekahidrat, boraks pentahidrat, susuz boraks, borik asit, sodyum perborat ve hidroborasit önemli B bileşikleridir. B madeninin değeri içerdiği boroksit (B_2O_3) miktarı ile ölçülmektedir.

Tablo 1.2 Bor ve Türevlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (WHO, 1998)

	Bor	Borik asit	Boraks	Boraks Penta Hidrat	Bor oksit
Molekül Formülü	B	H_3BO_3	$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	$Na_2B_4O_7 \cdot 5H_2O$	B_2O_3
Mol.Ağırlığı (g/mol)	10,81	61,83	381,43	291,35	69,62
Bor İçeriği(%)	100	17,48	11,34	14,85	31,06
Fiziksel Şekli	Siyah Kristal	Beyaz veya Renkli Kristalimsi	Beyaz veya Renkli Kristalimsi	Beyaz veya Renkli Kristalimsi	Beyaz veya Renkli Granüler
Erime Noktası	2300	171	≥ 62	≤ 200	-

Çeşitli endüstri dallarında kullanılan B; fiberglas, tıp uygulamaları ve eczacılık maddeleri, nükleer reaktörlerde koruyucu olarak, suni gübre yapımı, fotoğrafçılık, cam ve emaye gibi bazı sektörlerde başlıca temel hammaddeyi oluşturmaktadır. Boraks ve borik asit gibi, başta en çok bilinenleri olmak üzere, birçok formda kullanılabilen B, çok yönlü ve yararlı bileşikler oluşturmaktadır. Söz konusu bileşiklerin başlıca özellikleri ise kuvvetli lehimlemede, kaynak işlerinde, sürtünmelerin azaltılmasında ve arıtma işlemlerinde büyük avantajlar sağlamalarıdır. Boraks ve borik asit, bakterileri öldürücü niteliği, su içinde kolay eriyebilmesi ve mükemmel su yumuşatıcı özellikleriyle sabunlarda, temizleyicilerde, deterjanlarda, çok çeşitli ilaçların yapımında, tekstilde kullanılan boyaların yapımında, çeşitli malzemelerin uzun süre korunmasında ve tarım sanayinde çok yaygın kullanım alanlarına sahiptirler.

Borik asit birçok mineralin bileşiminde mevcuttur ancak ekonomik olarak en önemli bileşikler boraks, kolemanit ve üleksittir. Dünya B gereksiniminin büyük bir kısmı bu üç bileşik tarafından karşılanmaktadır.

Tablo 1.3 Ticari Öneme Sahip Bazı B Mineralleri, B İçerikleri ve Bulunduğu Yerler

Mineral	Formülü	% B ₂ O ₃	Bulunduğu yer
Boraks (Tinkal)	Na ₂ B ₄ O ₇ .10H ₂ O	36,6	Kırka, Emet, Bigadiç, A.B.D
Kernit(Razorit)	Na ₂ B ₄ O ₇ .H ₂ O	51,0	Kırka, A.B.D., Arjantin
Üleksit	NaCaB ₅ O ₉ .8H ₂ O	43,0	Bigadiç, Kırka, Emet, Arjantin
Propertit	NaCaB ₅ O ₉ .5H ₂ O	49,6	Kestelek, Emet, A.B.D
Kolemanit	Ca ₂ B ₆ O ₁₁ .5H ₂ O	50,8	Emet, Bigadiç, Küçükler, A.B.D
Pandermit(Priseit)	Ca ₄ B ₁₀ O ₁₉ .7H ₂ O	49,8	Sultançayır, Bigadiç
Borasit	Mg ₃ B ₇ O ₁₃ Cl	62,2	Almanya
Szaybelit	MgBO ₂ (OH)	41,4	B.D.T.
Hidroborasit	CaMgBO ₁₁ .6H ₂ O	50,5	Emet

Dünya borat üretiminin %90'ı Amerika Birleşik Devletleri ve Türkiye tarafından gerçekleştirilmektedir. Dünyada bilinen B yataklarının %70'i Türkiye'de bulunmaktadır (Helvacı, 2004).

Türkiye'nin borat yatakları Marmara Denizi'nin güneyinde 300 km. doğu-batı, 150 km. kuzey-güney yönlerinde uzanan bir alanda, Batı Anadolu'da görülür. Esas olarak Bigadiç, Kestelek, Sultançayır, Emet ve Kırka yurdumuzun başlıca borat alanlarıdır (Kistler and Helvacı, 2004).

Türkiye'de bilinen başlıca borat yatakları Batı Anadolu'da yer almakta ve bu yataklar dünya rezervinin % 60-70' ine sahip bulunmaktadır. Türkiye rezervlerinin % 37'si Bigadiç, % 34' ü Emet, % 28 'i Kırka ve %1' i Kestelek bölgesinde bulunmaktadır.

Tablo 1.4 Dünya B Rezervinin Ülkelere Göre Dağılımı (Garett, 1998; Roskil, 1999; Kalafatoğlu ve Örs, 2000)

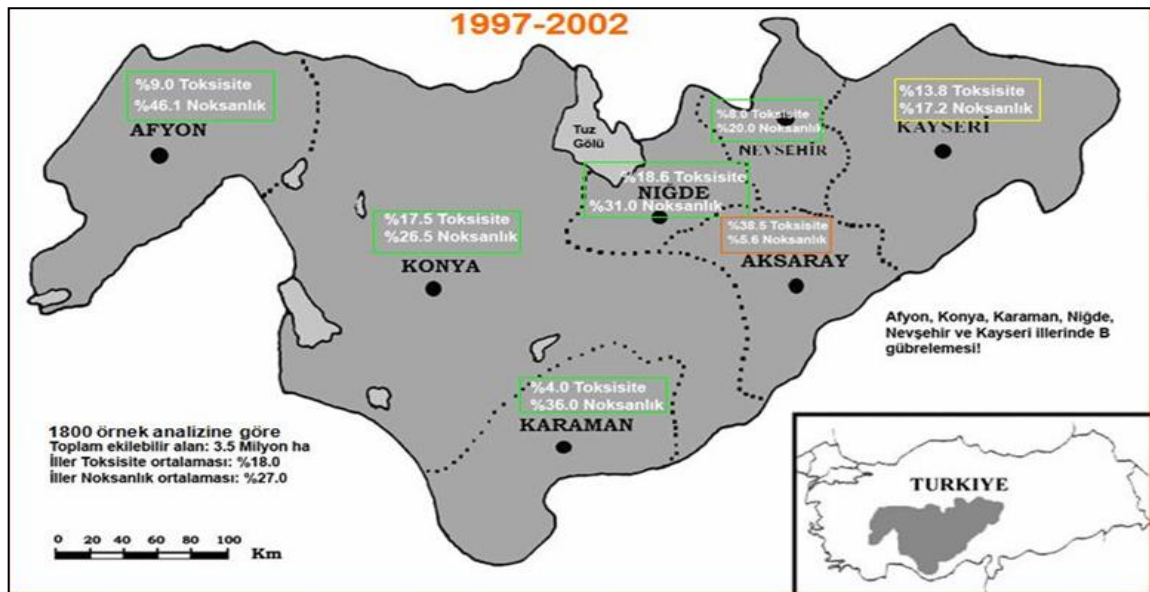
Ülke	Görünür milyon ton	% Görünür miktar	Muhtemel milyon ton	Toplam milyon ton	% Toplam miktar
Türkiye	375	66.3	483	858	58.2
ABD	60	10.6	149	209	14.2
Kazakistan	54	9.5	82	136	9.2
Rusya	28	5.0	112	140	9.5
Çin	27	4.8	9	36	2.4
Diğer	22	3.9	74	96	6.5
Toplam	566	100	909	1475	100

B, yeraltı suyunda doğal olarak, yüzey sularında endüstriyel kirletici olarak veya tarımsal yüzey akışların ve çürüyen bitki materyallerinin bir ürünü olarak bulunabilir (Provin ve Pitt, 2002). Deniz kökenli tortul kayalarda, deniz balçıklarında, göl veya sel alanlarındaki birikintilerde daha fazla oranda B bulunmaktadır (Ermiş, 2002). Kurak ve yarı kurak bölgelerde yüksek miktarda B içeren suların, sulama suyu olarak kullanılması

topraktaki B fazlalığının diğer bir nedenidir. Gübrelemenin normalden fazla uygulandığı tarım alanlarındaki topraklarda da B artabilmektedir. Kirletilmiş sular, B maden işletmelerinden çıkan atıklar ve uçucu küller topraktaki B fazlalığına neden olan diğer kaynaklardır (Nable ve ark., 1997).

Son 60 yıl içinde 80'den fazla ülke topraklarının B minerali bakımından fakir olduğu bu nedenle günümüzde yılda yaklaşık 15 milyon ha alana B uygulamasının yapıldığı bilinmektedir. B mineralinin yağmurla beraber $B(OH)_3$ şeklinde topraklardan hızlıca uzaklaşması toprakta B eksikliğine sebep olan faktörlerden en önemlisidir. Özellikle kalkerli topraklarda toprak pH'nın artmasına bağlı olarak $B(OH)_4$ 'ün oluşması ve sonuç olarak topraktaki B miktarının azalması diğer bir etmendir. B eksikliği; kumlu ve çakıllı topraklarda da B'un yağmurlarla akıp gitmesi sonucu meydana gelmektedir. Killi topraklar B mineralini absorbe ettikleri için ve kuru topraklarda su azlığından dolayı B miktarı azalabilmektedir (Shorrocks, 1997).

Orta-Güney Anadolu tarım bölgesinde 1999 yılından beri araştırma yapan DPT (Devlet Planlama Teşkilatı) toprak analizleri ve farklı ürünlere B uygulaması olarak yaptığı araştırmaların sonuçları harita üzerinde görülmektedir



Şekil 1.2 Orta ve Güney Anadolu Bölgesi İlleri Topraklarının Genel B Haritası

Ülkemizin 3,5 milyon ha tarım arazisine sahip olan Orta-Güney Anadolu bölgesi (Konya, Afyon, Karaman, Aksaray, Niğde, Nevşehir ve Kayseri) tarım topraklarından alınan örneklerde yapılan analiz sonuçlarına göre toprakların elverişli B miktarının 0,01-63,9 mg kg⁻¹ arasında değiştiği, %26,6'sında B'ca yetersiz (<0,5 mg kg⁻¹) ve %18'inde ise B'ca toksik (>3,0 mg kg⁻¹) düzeyde oldukları bulunmuştur. Toprakların elverişli bor miktarının toprak özelliklerine bağlı olarak değiştiği ve özellikle toprak tuzluluğu, sodyum ve organik madde miktarı arttıkça elverişli bor miktarının da çok önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir (Gezgin ve ark., 2002).

1.3 Canlılarda B ve Etkileri

İnsan vücuduna besinler, solunum ve deri yoluyla alınan B'un %90-95 kadarı 24 saat içerisinde herhangi bir değişikliğe uğramadan idrarla vücuttan atılmaktadır; ancak çok az bir kısmı saç, kemik, tırnak, karaciğer ve dalakta birikmektedir (Greenwood, 1975). Metabolizmaya alınan yüksek miktardaki B; karaciğer, böbrek ve merkezi sinir sisteminde anormalliklere, kusma, ishal, baş dönmesi, zehirlenme ve deride döküntülere neden olmaktadır (Saylı, 2000).

B'un zehir etkisinin düşük olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konuşmuştur. Çocuklarda 15-30 g boraks veya 2-5 g borik asit doğrudan alındığı zaman havale, koma ve beyin zarı iltihabı yetişkinlerde ise baş ağrısı, ishal, kusma gibi zehirlenme belirtileri görülebilmektedir (Cantürk, 2002).

Uygun dozda alınan B'un birçok faydası olduğu tespit edilmiştir. B; Kalsiyum, D Vitamini ve bazı minerallerin düzenlenmesinde etkili olduğundan, kemik-kas yapısının korunması ve güçlenmesini sağlamaktadır. Bununla birlikte günlük alınan 3,25 gr B, beyin fonksiyonlarını ve zihinsel performansını arttırmaktadır (Penland, 1994).

Hayvanlar üzerinde B'un uzun süreli etkilerinin araştırılması, fareler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmaların sonucuna göre, içme suyuna katılan 0,84 mg/kg miktardaki B'un herhangi bir zararının olmadığı gözlenmiştir. Başta üreme organları olmak üzere çeşitli sistemler; miktarın artırılması ve sürecin uzatılması durumundan olumsuz etkilenmişlerdir. Akciğer iltihabı artmış, gebelik bozulmuş ve yavru zarar

görmüştür. Hayvanlar için öldürücü doz, hayvan türüne, kilogram ve vücut ağırlığına göre 1, 2, 3, 4 ve 5 g arasında değişmektedir. Farelerde 3-4 g gibi yüksek dozlar kısa süre içinde depresyon ve titremelere neden olup hayvanı ölüme götürebilmektedir. Köpeklerde ise kusma gibi belirtilerde gözlenmiştir.

Tablo 1.5 Günlük alınması gereken B miktarı (Priscilla, 1998).

Çocuklarda	1,5 mg	Yetişkin bayanlarda	2 mg
11-18 Yaş Erkeklerde	2 mg	Menopoz öncesi bayanlarda	3 mg
Yetişkin Erkeklerde	2 mg	Hamile bayanlarda	2,5 mg
		Emziren bayanlarda	2,5 mg

1.3.1 B ve Bitkiler

Bitkiler için gerekli 16 temel mineralden biri olan B, mikrobeseleyici özelliğindedir. B'un temel kaynağı toprağın üst tabakalarındaki çürümüş bitki dokularıdır. Optimum düzeyde alınan B, köklerin büyümesini, havadan emilen karbondioksit miktarını ve fotosentezi artırmaktadır. Diğer yandan yüksek dozları ise bitkilerde toksik etkilere neden olmaktadır (Garrett, 1998).

1.3.2 Bitki Metabolizmasında Bor

Bitkiler B mineralini aktif ve pasif olarak alabilmelerine rağmen, yaygın olarak pasif absorpsiyon yoluyla ve iyonlaşmamış $B(OH)_3$ şeklinde alırlar (Nable ve ark., 1997). B bitkiler tarafından az da olsa, $B(OH)_4^-$ iyonları şeklinde de alınabilmektedir (Hu ve Brown, 1997).

B, toprakta 2-200 ppm arasında değişen miktarlarda bulunmaktadır. Bitkiler topraktaki B'un %5'inden daha azını kullanabilirler. Sulama suyunda ise normal şartlarda en fazla 0,5 mg/L oranında bulunmalıdır. Hassas bitkilerde 0,5-1 mg/L, toleranslı bitkilerde ise 4 mg/L'nin üstü toksisiteye neden olabilmektedir (Cantürk, 2002).

Her bitkinin ihtiyaç duyduğu B miktarı ve bitki yapısında bulunan B miktarı farklıdır. Örneğin, B eksikliği olan topraklarda, buğdayda yapılan bir çalışmada 4 kgB/ha B uygulaması ile verim önemli oranda artmıştır. Daha yüksek B uygulamalarında ise verimde azalma görülmüştür (Güneş ve ark., 2000). Tek çenekliler çift çeneklilerden daha az B ihtiyacı duymaktadırlar. Süt özsuyu sistemine sahip bitkiler ise özellikle B mineraline olan gereksinimleri daha fazladır (Mengel, 1984)

Tablo 1.6 B ihtiyaçlarına göre bazı bitkilerin gruplandırılması ve gereken B miktarının sınır değerleri (Gezgin ve ark., 2005'ten alınmıştır).

Hassas Bitkiler Bitki mgB/kg	Yarı Dayanıklı Bitkiler Bitki mgB/kg	Dayanıklı Bitkiler Bitki mgB/kg
Buğday 6-17	Ispanak 25 - 60	Şeker pancarı 35 - 200
Arpa 6-21	Biber 25 – 75	Elma 25 - 50
Yulaf 14-24	Domates 40 - 80	Yonca 35 - 80
Buğday(yazlık) 6-10	Marul 23 – 60	Hıyar 30- 100
Mısır 5 – 25	Şeftali 20 – 60	Kırmızı pancar 30 - 85
Soya fasulyesi 21-55	Armut 20 – 70	Kabak 25 - 75
Bezelye 30-70	Kiraz 20- 100	Lahana 25 - 75
Fasulye 25 – 80	Aasma 30-60	Ayçiçeği 29 - 125
Çilek 23 – 50	Soğan 25 – 75	Kereviz 25 - 50
Patates 21 -75	Kayısı 25 – 70	Turp 40-100
Çeltik 5 -15	Havuç 30-100	

B minerali ile yapılan bir diğer çalışmada ise B'un glukoprotein ve glukolipitlere bağlanmasının önemli olduğu ileri sürülmüştür. Bitki hücre zarları fosfolipit/glukoprotein bileşenleri galaktoz ve mannoz içeren zarda yerleşen şekerler, borat ile kompleksler oluşturma kapasitesine sahip serin ve tirozin gibi aminoasitleri içeren çeşitli hidroksilamin bileşenlerine sahiptir. Bu potansiyel durum çeşitli B bağlayan moleküllerin zarin kararlılığını, fonksiyonu ve oluşumunda rol aldığını göstermektedir (Parr ve Loghman., 1983).

Bitkilerde primer çeper yapısı, hücrenin sınırını ve şeklini belirlemek için büyük önem arz eder. Çeper geliştikçe mekanik özelliği, bileşiminde bulunan selülozik polimerler, hemiselülozik ve pektik polisakkaritlerin arasındaki çapraz bağlarla değiştirilebilir.

B mineralinin hücre duvarına etkisi uzun yıllar araştırılmıştır. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki; B eksikliği hücre çeperinin sentezi ve yapısal bütünlüğünün bozulmasını takiben apikal meristemlerin büyümelerinin durması, sert ve kırılğan yaprak oluşumlarına sebep olmaktadır. Ayrıca oldukça ince ve yapısı bozulmuş hücre duvarı oluşumu görülmüştür. B mineralinin olmadığı ortamda hücre çeperinde değişimler görülür ve çeper-zar arasında veziküller oluşur.

Buğdaygiller familyasında eşeyssel gelişim için gerekli B vejetatif gelişim için gerekli olan B'dan daha fazladır. Bunun sebebi ise hücre çeperinin daha az B içermesidir. Fakat eşeyssel gelişimdeki B miktarının yüksekliğinin fizyolojik sebebi tam olarak izah edilememiştir.

B hidroksilce zengin şekerlere bağlanabilmesinden dolayı polen tüp duvarının oluşumunda gerekli olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda özellikle çiçekteki dişi organ kısımlarında B derişimi yüksek bulunmuştur (Schmacker, 1932).

Yapılan bir diğer çalışmada ise B'un şeker taşınmasını ve alınımını artırdığı gösterilmiştir yaptıkları çalışmada Borik asidin elma, lahana ve turp solüsyonlarında fruktoz miktarını 100 kat artırdığını tespit etmişlerdir (Roush ve Gowdy., 1961).

Bor eksikliğinde zar proteinlerinin aktivitesi, hücre zarında madde taşınması ve zar kompozisyonunda meydana gelen değişiklik üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Mısır tohumlarının B eksikliğinde çimlendirilmesi sonucunda fidelerde fosfat alınımı azalmıştır (Parr ve Loughman., 1983). Ayrıca hücre zarından fosfor giriş-çıkışının B eksikliğinde azaldığı (Goldbach ,1985) ve mısır bitkisinde fosfor-rubidyum emilimi 2-4 gün içinde %25-54 oranında azaldığını belirlemiştir (Robertson ve Loughman., 1974).

Fasulye bitkisinde B eksikliğine bağlı olarak azalan fosfor-rubidyum emilimine paralel olarak ATPaz azalması ile uyarılan potasyum iyonu aktivitesi B uygulanmasıyla bir saat içinde tamamen normale dönmüştür (Pollard, Parr ve Loughman., 1977). Ayrıca domates ve havuçla yapılan çalışmalarda B'un eksikliği net H⁺ salınımını 3-4 saat içinde yarı yarıya azalttığını tespit etmiş ve bu durum bor ilavesi ile kısa sürede giderilmiştir (Blaser-Grill, Knoppik, ve ark., 1989; Goldbach, Hartmann ve Rotzer., 1990).

B eksikliğinin eşeyssel gelişime etkileri; tahıllarda tohum kalitesinin azalması, hardal ve domateste tomurcukların dökülmesi, karnabahar bitkisinde çiçek başlarının kuruması şeklindedir (Gupta 1993). Birçok ağaçta çiçeklenmenin erken olması, meyve veriminin düşmesi buğdayda ve kaba yoncada erkek organda kısırılık, mısırdaki dişi organda kısırılık ve eşeyssel gelişimde düzensizlikler görülmektedir (Vaughan, 1977; Misra ve Patil., 1987; Dell ve Huang., 1997)

B noksanlığında, kabak bitkisinin kök uçlarında soya fasulyesinin yapraklarında bu döngüyü sağlayan APX ve GR enzimlerinin inhibisyonuna neden olmuştur. Ayrıca askorbat, glutatyon düzeyinde azalma ve yapılan çalışmalarda B ve askorbat/glutatyon döngüsü arasında yakın bir ilişki tespit edilmiştir. (Lukaszewski ve Blevins 1996; Çakmak ve Römheld; 1997; Liu ve Yang., 2000)

1.3.3 Borun Bitkilerde Taşınması

Bitki besin elementi olan B'un düşük miktarları bile bitki için zararlı olabilmektedir. Genel bir kural olmamakla birlikte kurak ve yarı kurak bölgelerde tuzlu topraklarda B fazlalığı görülmektedir (Sezen, 1988).

Vasküler bitkilerde B'un köklerden terleme etkisiyle hareket ederek, yaprakların büyüme bölgelerine ulaşmaktadır. Fakat burada biriken B'un translokasyonu çok fazla değildir. ¹⁰B izotopuyla yapılan çalışmalarda sonbahar mevsiminde meyve ağaçlarında B miktarının zamanla arttığı gösterilmiştir. Fakat kış mevsimine doğru B kabuğa doğru yönelmiştir. İlkbaharda ise kabuktan çiçek kısımlarına yönelip meyve oluşumunda rol oynadığı tespit edilmiştir (Hu ve ark., 1979).

Bazı armut, elma ve erik cinslerinde B taşınımı değerlendirilmiştir. Ayrıca şeftali bitkisinin floeminden mannitol-B-mannitol kompleksi izole edip karakterize etmiştir. Bu çalışmayla bitkilerde ilk B transport molekülü izole edilmiştir.

1.3.4 Bitkilerde Bor Kirliliği ve Toksisitesi

B'un bitkiler için gerekli olan miktarı ve toksik seviye arasındaki fark çok düşük olduğu için, B miktarını ayarlamak çok zordur. Bu sebeple noksanlık ve toksisite belirtileri en yaygın görülen elementlerden birinin B olduğu bilinmektedir. B'un fazlalığı da noksanlığında olduğu gibi bitki için tehlikelidir. B mineralinin sularda ve toprakta belirli bir miktar üzerinde olması B toksisitesine sebep olmaktadır. (Göncü, 1982; Keren ve Bingham., 1985; Sakal ve Singh., 1985; Goldberg., 1997)

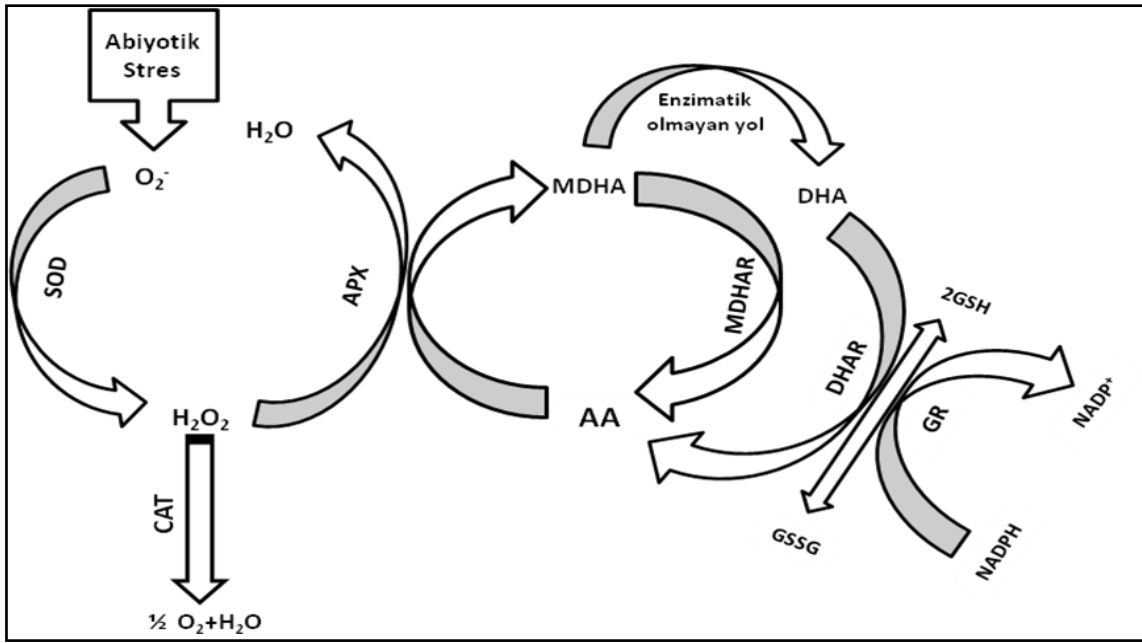
B minerali doğal sulama sularında az miktarda bulunmaktadır. Fakat B bileşiklerinin suda kolayca çözünebilmesinden dolayı B endüstri atıklarının çevreye olan etkileri sulama suları yardımıyla geniş bir coğrafyada etkisini göstermektedir. B bileşikleri özellikle sulama sularıyla toprağa geçerek burada ağır metallere bileşik yaparak zararlı etkilerini artırmaktadır (Boncukçuoğlu, 2003).

B'un sulama suyu ve topraktaki yüksek dozları toksisiteye sebep olmakta bu da ciddi ürün kayıplarına sebep olmaktadır. Özellikle kurak-yarı kurak bölgelerde toksisite daha çok görülmektedir (Staiger ve Machelet., 1984)

Sulama suyundaki B miktarı özellikle bitkiler için önemli bir parametredir. Sulama suyu ve bununla taşınarak topraktaki B fazlalığı toksisiteye sebep olmaktadır. Bu durum bitkilerde yaprakta sararma, uç yanmaları ve yarılmalara, olgun yapraklarda ise dökülme ve büyüme hızının yavaşlaması ile ürün veriminin azalması gibi morfolojik etkilere neden olmaktadır. Ayrıca yüksek B miktarı bitkide stres mekanizmasının çalışması, terleme, pigment miktarı, genotoksisite gibi çok çeşitli etkilere sebep olmaktadır (Boncukçuoğlu, ve ark. 2003).

Antioksidant savunma mekanizmasının ilk basamağı süperoksit dismutaz enziminin süperoksit radikalini oksijen ve hidrojen peroksite dönüştürmesiyle gerçekleşir. Süperoksit dismutaz enzimi serbest oksijen radikalinin H_2O_2 ve O_2' ye dönüşümünü gerçekleştiren antioksidant sisteminin en önemli enzimi olarak kabul edilir (Bowler ve ark.,1992).

Bundan sonraki aşamada açığa çıkan hidrojen peroksit peroksidaz, katalaz ve askorbat-glutasyon döngüsü enzimleriyle etkisiz hale getirilir (Foyer ve ark., 1994; Fridowich, 1998)



Şekil 1.2 Antioksidant Enzim Mekanizması

1.4 Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)

Türkiye’de nohut ve mercimekle birlikte en fazla üretimi yapılan baklagil bitkisi olup daha çok bodur fasulye olmak üzere yıllık yaklaşık 162 000 ha alanda 250 000 ton fasulye üretilmektedir. Bir dekada ortalama 154 kg verim alınır. Orta Anadolu Bölgesi 57 305 ha ve %31,8’lik pay ile en fazla fasulye ekim alanının olduğu bölgedir. 108 424 ton ve %43,3’lük pay ile üretimin yaklaşık yarısına sahiptir (Çiftçi, 2004). Fasulye yetiştiriciliğinde önemli bir bölge olmasına rağmen verimin düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun en önemli nedenlerinin başında uygun üretim tekniklerinin,

bilinçli gübrelemenin ve aynı zamanda fasulye tarımı yapılan alanlarda yeterli seviyede mikro besin elementi gübrelemesinin yapılmaması düşünülebilir.

Modern tarımda başarı birçok faktöre bağlıdır. Bu faktörlerden en önemlisi kimyasal gübreler olup tekniğine uygun kullanılmadığı takdirde birçok yan etkileri görülmektedir. Tarımsal ve ekonomik açıdan sürdürülebilir, yenilenebilir yeni yöntemler geliştirilmelidir. Makro ve mikro besin elementleri olmak üzere tarımda kullanılan tüm kimyasalların kontrolsüz bir şekilde kullanımı verimde büyük azalışlara neden olmakla birlikte tarımsal ekosistemine de zarar vermektedir. Kimyasal gübrelerin gereğinden fazla kullanımı gıdalarda yol açtığı kirliliğin (nitrat ve nitrit birikimi) yanı sıra, insanlarda da sağlık sorunlarına yol açtığı bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, Dünya ve Türkiye topraklarında mikro besin elementleriyle ilgili yaygın beslenme problemlerinin olduğu ortaya konulmuştur (Eyüpoğlu ve ark., 1995).

Orta Anadolu tarım topraklarının büyük bir kısmında çinko (Zn), bor (B) ve demirin (Fe) noksanlığı ve B toksisitesi ile bunların hem bitkilerde hem de besin zinciri yoluyla insan ve hayvanlarda olumsuz etkileri çok yaygın olarak görülmektedir (Gezgin ve ark., 2002). Yetersiz mikro element beslenmesi durumunda ölüm oranları artmakta, özellikle çocuklarda zekâ gelişimi gerilemekte ve tüm günlük yaşamda verimlilik düşmektedir. Bunun yanında çeşitli organlarda hastalıklar da farkında olmadığımız sorunlara yol açabilmektedir. Bu nedenle özellikle gıda amaçlı yetiştirilen ürünlerin içerik bakımından zenginleştirilmesi amacıyla ya yeterince gübrelemenin yapılması ya da topraktan daha iyi besin maddesi alıp depolayabilen, ayrıca gübreleme yapılmadığı durumlarda noksanlık şartlarında daha az verim kaybına sahip bitki genotiplerinin seçilip tohum geliştirme programlarında kullanılması gerekmektedir (Çakmak, 2002; Welch, 2002).

Türkiye topraklarının besin elementlerinin alımını etkileyen yüksek kil ve kireç miktarı, düşük organik madde miktarı ve yüksek pH gibi nedenlerle çoğu kez farklılıklar arz etmesi dünyada farklı şartlarda yapılan çalışmaların Türkiye’de kullanılabilirliğini sınırlamaktadır. Ülkemizde önemli bir bitkisel protein kaynağı olan fasulye ile ilgili detaylı çalışmalar yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

BÖLÜM-2

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada B'un bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal yapılarına etkisinin kontrolü, fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinin magnum genotipi kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmada B kaynağı olarak borik asit (H_3BO_3) kullanıldı.

2.1 Bitki seçimi

2.1.1 *Phaseolus vulgaris* L. Ev. Magnum

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinin ticari bir çeşidi olan 'Magnum' Orta Anadolu Bölgesinde tarımı yapılmaktadır. Bitki tohumları Altınekinli tohumculuktan A.Ş firmasından alınmıştır. Uzun baklalı, bodur ve yüksek verime sahiptir. Baklaları düzgün, yeşil renkli ve kılçıksız olup tohum yatağı belirsizdir. Tohumlar kahverengi olup fasulye mozaik virüsüne karşı dayanıklıdır.

B uygulamalarının bazı bodur fasulye genotiplerinin kuru madde miktarı, tane verimi ve B konsantrasyonu üzerine etkisinin yapıldığı çalışmada magnum genotipinin B toksisitesine karşı toleranslı bir genotip olduğu görülmüştür (Gökmen ve ark., 2005).

Tablo 2.1 Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisinin Magnum çeşidinin fizyolojik özellikleri

Bitki Özellikleri			Bakla Özellikleri			
Olgunlaşma Zamanı (Gün)	Bitki Yapısı	Bakla Boy (cm.)	Bakla Eni (cm.)	Bakla Dane Sayısı	Bakla Rengi	Tohum Rengi
49 – 51	Güçlü	18 – 20	1.8	6 - 7	Yeşil	Kahverengi

2.2 Borik Asitin Çözeltisinin Hazırlanması

Petri kaplarında yapılacak çimlendirmeler için öncelikle stok olarak 1 M borik asit çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltiden seyreltme işlemiyle 0, 7,5, 15, 30, 60, 120, 250, 500, 1000 ppm konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Kontrol grubu için ise saf su kullanıldı. Toprakta yapılan çalışmada ise 1 M borik asit çözeltisi kullanılarak 1kg toprak başına 0, 7,5, 15, 30, 60, 120, 250, 500, 1000 mg B içerecek şekilde hazırlanan çözeltiler toprağa sulama suyuyla verilmiştir.

2.3 Ekimi Yapılacak Tohumların Sterilizasyonu

Tohumlar da ekilmeden önce sterilize edildiler. Sterilizasyon için önce 20 dk. yarı yarıya seyreltilmiş klorak kullanılıp, sonra tohumlar 3 kez distile suyla yıkandılar; ardından 3 dk. %96'lık etil alkol kullanıldı ve tohumlar yine 3 defa distile suyla yıkandı. Tohum ekimi işlemleri steril kabinde gerçekleştirildi.

2.4 Tohumların Çimlendirilmesi

Yeterince alınan fasulye tohumları her bir petri kabına 10'ar olacak şekilde 0, 7,5, 15, 30, 60, 120, 250, 500, 1000 ppm konsantrasyonlarındaki borik asit çözeltileri içeren saf su ile nemlendirilmiş kurutma kâğıtları arasında çimlendirilmiştir. Petri kaplarının içine önce bir miktar pamuk, daha sonra da kuruma kâğıtları yerleştirilip kurutma kâğıtları borik asit içeren su ile nemlendirildikten sonra aralarına tohumlar yerleştirilmiştir. Petri kaplarının ağızları kapatılarak çimlenme için steril olan iklim dolabına bırakıldılar.

Tohumların çimlenmesi ve çimlenme sonrası genç fidecikleri, büyüme ve gelişme süresince % 55-60 nem, 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyodlarda, 21±2 °C sıcaklık ile gün ışığında yetiştirilmişlerdir.

2.5 Çimlenen Tohumlarda Kök Uzunluklarının Ölçülmesi

Kontrol grubu ve her bir konsantrasyondaki petri kaplarında çimlenen tohumlardan gelişen köklerin uzunlukları 72 saat sonra beyaz bir kâğıt üzerine alınıp ölçümleri yapıldı. Uzunluk ölçümleri her bir petri kabındaki tohumlar ölçüldükten sonra aritmetik ortalamaları alınıp kaydedildi. Fotoğraf çekimi için kök uzunlukları ortalamalara en yakın olan örnekler seçildi.

2.6 Bağlı Su İçeriğinin Ölçülmesi

Yeterli olgunluğa ulaşmış bitkilerin her bir gruptaki bitkilerden en genç sürgünlerden sonra gelen lateral yapraklarının uç kısımlarından seçilen yaprak örneği alınarak yaş ağırlıkları ölçüldü. 6 saat boyunca dd-H₂O içinde petri kaplarında bekletilerek turgor haline gelmeleri sağlandı. 70 °C' de 72 saat etüvde kurutulduktan sonra kuru ağırlıklar saptandı. Her bir gruba ait yaprak örneklerinin bağlı su içeriği aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Bağlı Su İçeriği (\%)} = [(YA - KA) / (TA - KA)] \times 100$$

YA=Yaş Ağırlık

KA=Kuru Ağırlık

TA=Turgorlu Ağırlık

2.7 Terleme Miktarının Ölçülmesi

Bitkiler bir hafta susuz bırakıldıktan sonra olgun yapraklar seçilerek Steady state porometer (LI-COR) LI-1600 cihazıyla gün içerisinde terlemenin ve metabolizma hızının en fazla olduğu düşünülen öğlen vaktinde 14.00 ile 14.30 saatleri arası yapılan ölçümler kaydedilmiştir. Ölçümler üç kez tekrarlanıp değerler kaydedilip farklı B konsantrasyonlarına bağlı oluşan terleme grafikleri hazırlanmıştır.

2.8 Klorofil Miktarı Tayini

Kontrol gurubu ve farklı B konsantrasyonlarında yetiştirilip dört hafta sonunda hasat edilen bitkilerin yapraklarındaki fotosentetik pigment tayini (Witham, Blayles ve

Levlin., 1971)'na göre yapılmıştır. 0,1 gr taze yaprak örneği alınıp önce 10 ml asetonda ezilmiştir. Filtre kâğıdından süzülerek elde edilen süzütünün hacmi ölçülüp kaydedilmiştir. UV spektrofotometrede klorofil a için 663 nm, klorofil b için 645 nm ve toplam klorofil için 450 nm dalga boyunda okunan değerler kaydedilmiştir. Bu absorbans değerleri daha sonra aşağıdaki formüller uygulanarak bitki yaprak dokusunun 1 gramında bulunan klorofil a, klorofil b ve klorofil t miktarları mg cinsinden hesaplanmıştır.

$$\text{Mg klorofil a/g doku} = [12,7 (D63) - 2,69 (D45)].(V/1000.B)$$

$$\text{Mg klorofil b/g doku} = [22,9 (D45) - 4,68 (D63)].(V/1000.B)$$

$$\text{Mg klorofil t/g doku} = [20,2 (D45) + 8,02 (D63)].(V/1000.B)$$

(D: bitki ekstraktının belirtilen dalga boyundaki absorbans değeri, V: %80lik asetonun son hacmi, B: ekstre edilen yaprak dokusunun g olarak taze ağırlığı)

2.9 Toplam Protein Tayini

Yapraklardaki çözünebilir protein miktarı (Bradford, 1976) yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntem proteine coomassie-brillant blue G-250'nin bağlanması esasına dayanıp oluşan kompleks 595 nm'de maksimum absorbans göstermektedir.

Bitki dokuları ağırlıklarının 10 misli 0,05M fosfat tampon çözeltisinde (pH=6,5) soğuk bir havanda ezilerek homojenize edilmiştir. Homojenat filtre kağıdında süzülükten sonra süzütü 4500xg dönüş hızında 20 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Tüplerden süpernatant alınıp protein tayininde kullanılmıştır. Standart grafik için 1 ml'inde 1 mg protein içeren standart sığır albümin çözeltisinden tüplere 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 µg protein içerecek şekilde pipetlendikten sonra saf su ile toplam hacimleri 0,1 ml'ye tamamlanmıştır. Bu tüplere 5 ml coomassie reaktifi ilave edilip bir vortex yardımı ile iyice karıştırılmıştır. Kör olarak 0,1 ml tampon ve 5 ml coomassie reaktörünün karışımı kullanılmıştır. Her bir numunenin spektrofotometrede 595 nm de absorbans değerleri okunarak standart grafik çizilmiştir.

Bitki dokularından alınan örnekler santrifüjlendikten sonra elde edilen süpernatantlar benzer şekilde coomassie reaktifi ile muamele edildikten sonra 595

nm’de absorbans ölçülüp, standart grafik üzerinden protein miktarları mg protein/g taze yaprak olarak verilmiştir.

2.10 Antioksidan Enzim Aktivitesi

2.10.1 Enzim Ekstratının Hazırlanması

Sıvı-N içinde 1 g iyice ufalanan yaprak örnekleri 5 ml soğuk ekstraksiyon çözeltisi [0,1 M Na-fosfat (pH 7,5), 0,5 mM Na-EDTA ve 1 mM askorbik asit] ile homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenatlar 4°C’de 30 dakika 18000 g’de santirüj edilmiştir. CAT, SOD ve APX belirlenmesi için ekstraktı -20°C’de bekletilmiştir (Jebara, ve ark., 2005).

2.10.2 SOD (Süperoksit Dismutaz) Aktivite Tayini

Nitroblue tetrazolium (NBT)’un 560 nm’de indirgenmesinin engellenmesi ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi (50 mM Na-fosfat tampon çözeltisi (pH 7,0), 0,1 mM Na-EDTA, 33 mM NBT, 5 µM Riboflavin, 13 mM methionin) 2.5 ml ve 0.2 ml enzim ekstraktı vorteks yardımıyla iyice çalkalandı. Reaksiyon 25°C’de (40 W) 75 µmol m²s⁻¹’de 10 dakika bekletilerek sağlanmıştır. Kontrol çözeltisi (enzimsiz olarak) aynı süre karanlıkta bekletilmiştir. Kontrol ve reaksiyon çözeltisi 560 nm’de okunmuştur. SOD aktivitesi birim olarak NBT’nin % 50’sini indirgeyen aktivite olarak belirlenmiştir (Rahnama ve Ebrahimzadeh, 2005).

2.10.3 APX (Askorbat peroksidaz) Aktivite Tayini

Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi askorbik asite bağlı H₂O₂’in indirgenmesiyle ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisi içerisine 0.1 ml enzim ekstraktının ilavesi ile reaksiyon başlamıştır. Daha sonra oluşan karışımlar spektrofotometre cihazında 290 nm’de ölçümler yapılmıştır. Değerlendirme, 1 g yaş ağırlık için 1 dakika içinde absorbandsaki değişim olarak hesaplanmıştır. Reaksiyon çözeltisi: 3 ml 50 mM K-fosfat tampon çözeltisi (pH 7,0), 0,5 mM askorbik asit, 0,1 mM EDTA, 1,5 mM H₂O₂ (Sairam ve Srivastava., 2002).

2.10.4 CAT (Katalaz) Aktivite Tayini

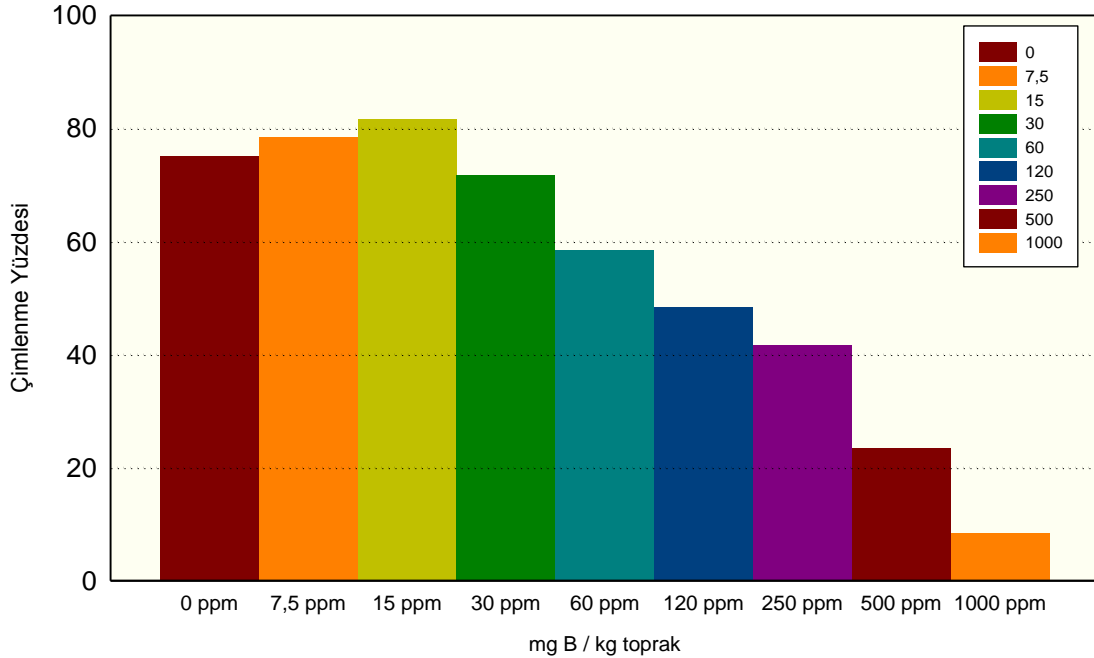
Katalaz enzim aktivitesi H_2O_2 'in kaybolmasının izlenmesi ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi: 2,5 ml 0.05 M fosfat tampon (pH 7,0), 1,5 mM H_2O_2 ve 0,2 ml enzim ekstraktıdır. Oluşturulan karışımlar sırasıyla 240 nm'de spektrofotometre cihazına yerleştirildi ve absorbans değerleri kaydedildi. Değerlendirme 1 g yaş ağırlık için 1 dakika içinde absorbansdaki değişim ile hesaplanmıştır (Jebara ve ark., 2005).

BÖLÜM-3

BULGULAR

Fasulye bitkisinin magnum çeşidine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki B toksisitesini fizyolojik ve biyokimyasal analizlerle incelenmiştir. Çalışmamızda farklı konsantrasyonlarda B minerali uygulanmıştır. Kontrol grubu, 7,5, 15, 30, 60, 120, 250, 500, 1000 ppm B uygulanarak yaptığımız çalışmamızda bitkinin çimlenmesi, kök ve gövde uzunlukları, terleme miktarı, bağıl su içerikleri, klorofil miktarı, protein miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, APX, CAT) incelenmiştir.

3.1 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Çimlenme Üzerine Etkisi

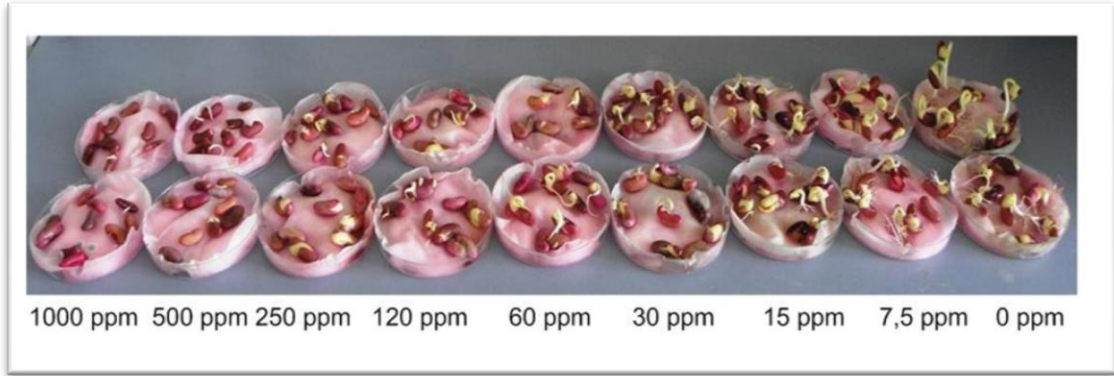


Şekil 3.1 Farklı B konsantrasyonlarında gerçekleşen çimlenme yüzdeleri

Fasulye bitkisinin magnum çeşidinin farklı B konsantrasyonlarında çimlenme yüzdeleri hesaplamak için petri kaplarına ektiğimiz tohumları 0, 7,5, 15, 30, 60, 120, 250, 500 ve 1000 ppm B konsantrasyonlarında çimlenmeye bırakıp 72 saat sonra sayımlar yapıldı ve çimlenme yüzdeleri grafik haline getirildi. 25

Kontrol grubunu çimlenme yüzdesi % 75 olarak hesaplanmıştır. En iyi çimlenme yüzdesi % 81 ile 15 ppm değerinde görülmü

ştür. Artan konsantrasyonlardaki çimlenme yüzdeleri kademeli olarak düşmüş ve en düşük değer % 8 olarak 1000 ppm'de görülmüştür.



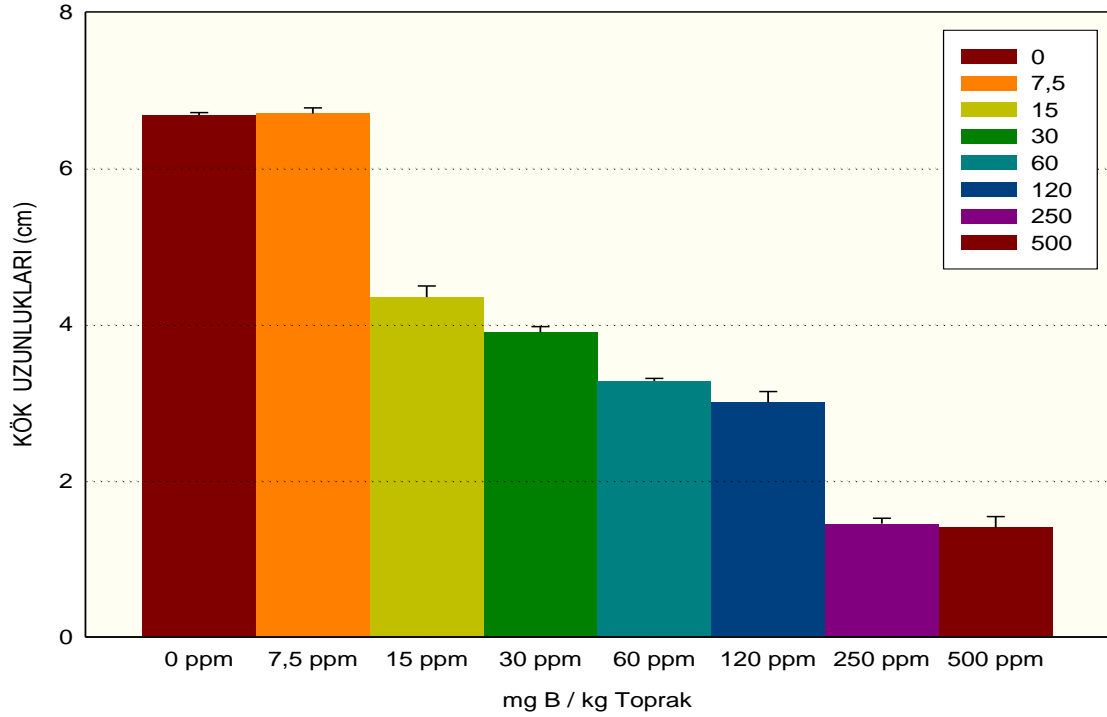
Şekil 3.2 Farklı B konsantrasyonlarının çimlenme üzerine etkisi

3.2 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Kök Gelişimlerine Etkisi

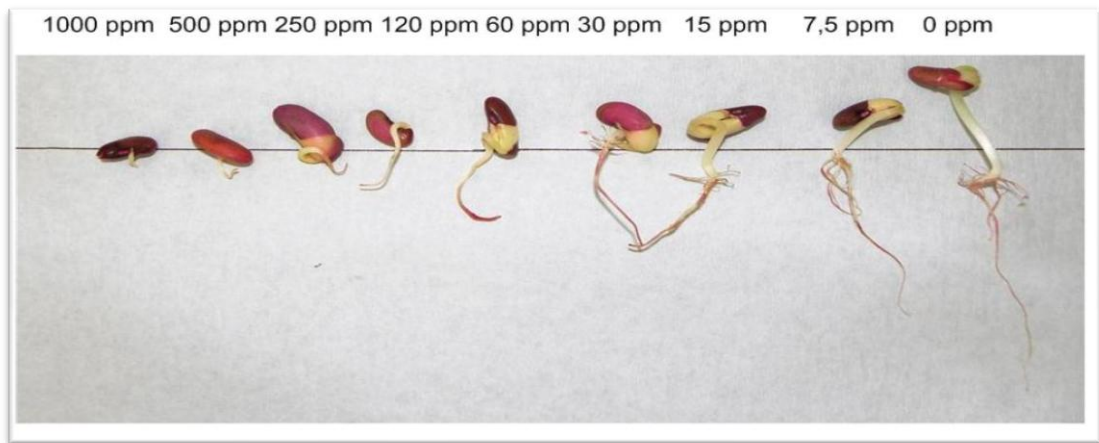
Farklı konsantrasyonlarda yetiştirilen fasulye bitkisinin magnum çeşidinin kök ölçümlerinde kök gelişimi yüksek konsantrasyonlarda yavaşlamakta olduğu grafik yapılarak şekilde gösterilmiştir.

0 ve 7,5 ppm B konsantrasyonlu petriplerdeki kök uzunluğu en yüksek düzeyde olup 6,7 cm uzunluğundadır. 15 ppm de 4,35 cm olan kök uzunluğu 30 ppm de 3,9 cm'ye kadar düşmüştür. 60 ve 120 ppm değerlerinde kök uzunlukları 30 ppm'e yakınlık göstermesine rağmen 250 ve 500 ppm değerlerinde kontrol grubuna göre % 20

değerinde olmuştur. Kök uzunluğu 1,40 cm olarak ölçülmüştür. 1000 ppm setinde ölçüm yapılamamıştır.



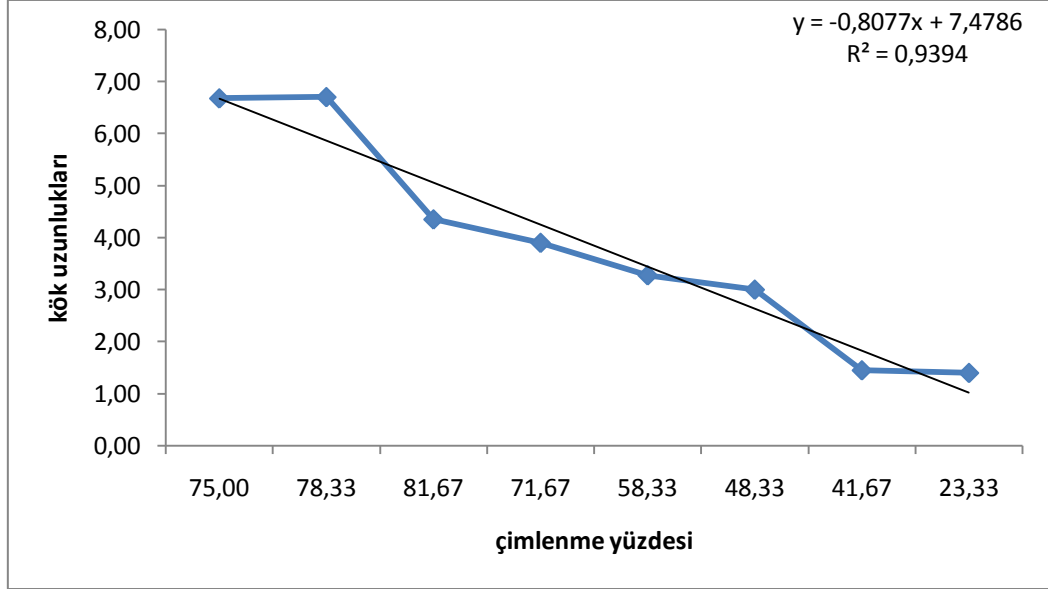
Şekil 3.3 Farklı B konsantrasyonlarının kök gelişimine etkileri



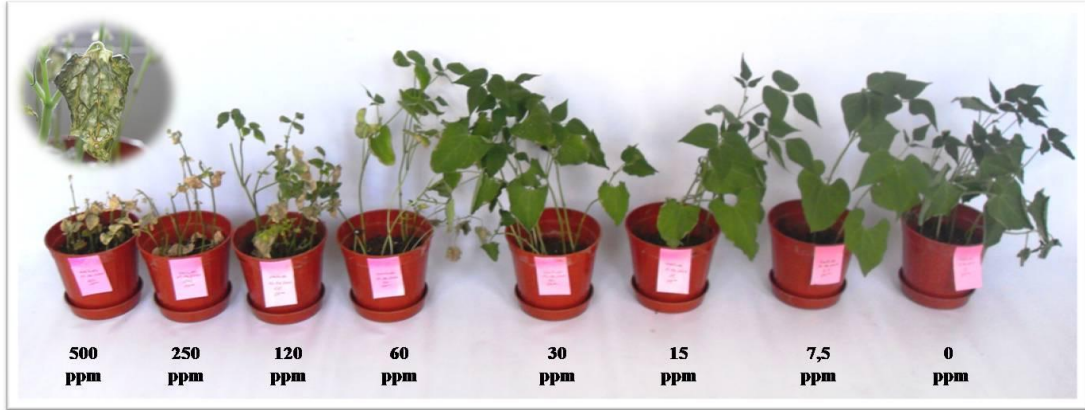
Şekil 3.4 Farklı B konsantrasyonlarının çimlenen tohumlar üzerine etkileri

Bitkiye farklı konsantrasyonlarda B minerali uygulandığında kök gelişimi ile çimlenme yüzdeleri karşılaştırıldığında pozitif bir kolerasyon görülmektedir. Çimlenme

yüzdelerinin yüksek olduğu 0, 7,5, 15 ppm değerlerinde aynı zamanda kök gelişimlerinde iyi olduğu görülmüştür. 250 ve 500 ppm değerlerinde ise hem kök gelişimi olumsuz etkilenmiş hemde çimlenme yüzdeleri düşük çıkmıştır



Şekil 3.5 Kök uzunluğu ve çimlenme yüzdesi arası kolerasyon grafiği



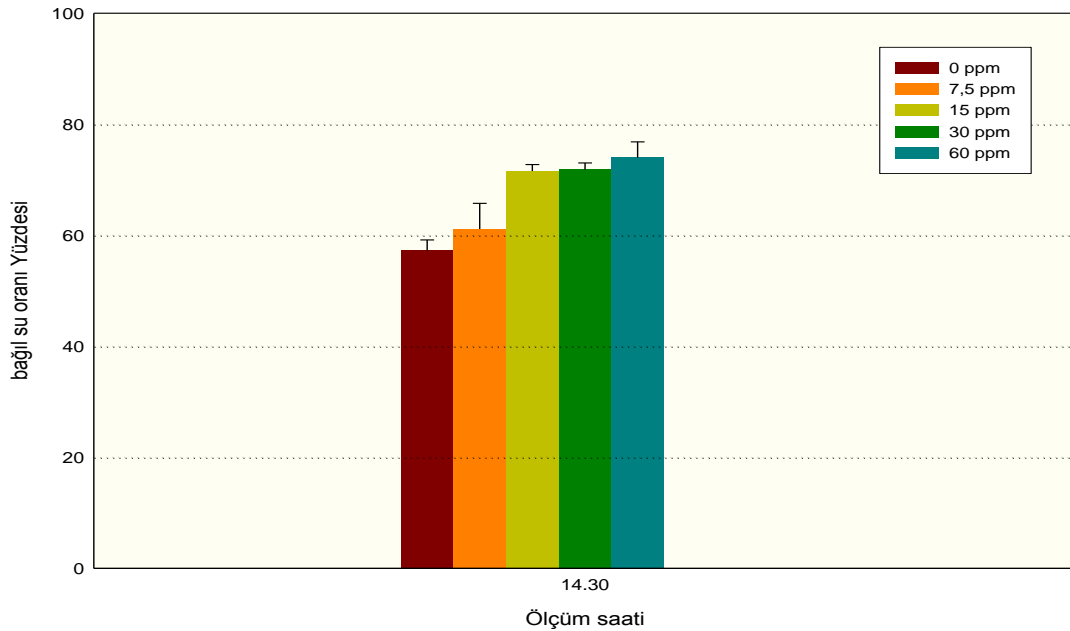
Şekil 3.6 Farklı B konsantrasyonlarının bitki gelişimine etkileri ve yaprakta oluşturduğu hasarlar

Bitkilerin toprak üstü aksamalarının karşılaştırılmasında en iyi gelişim gösteren 7,5 ve 15 ppm konsantrasyonlarındaki fasulyelerde görülmüştür. 30 ppm'den sonraki konsantrasyonlarda yapraklarda aşırı miktarda nekrozlar göze çarpmaktadır. Ve bitki

yapraklarını büyüklükleri giderek azalmaktadır. En kısa gövde ve en küçük yapraklar 500 ppm değerinde görülmüştür. 1000 ppm’de ise gövde ve yapraklar oluşmamıştır.

3.3 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Bağlı Su Miktarı Üzerine Etkisi

Çalışmamızda kontrol grubu ve dört farklı konsantrasyonda yetiştirilen fasulye bitkilerinin olgunlaşmış yapraklarından seçilerek alınan yaprak örneklerinin bağlı su miktarları grafikte gösterilmiştir.



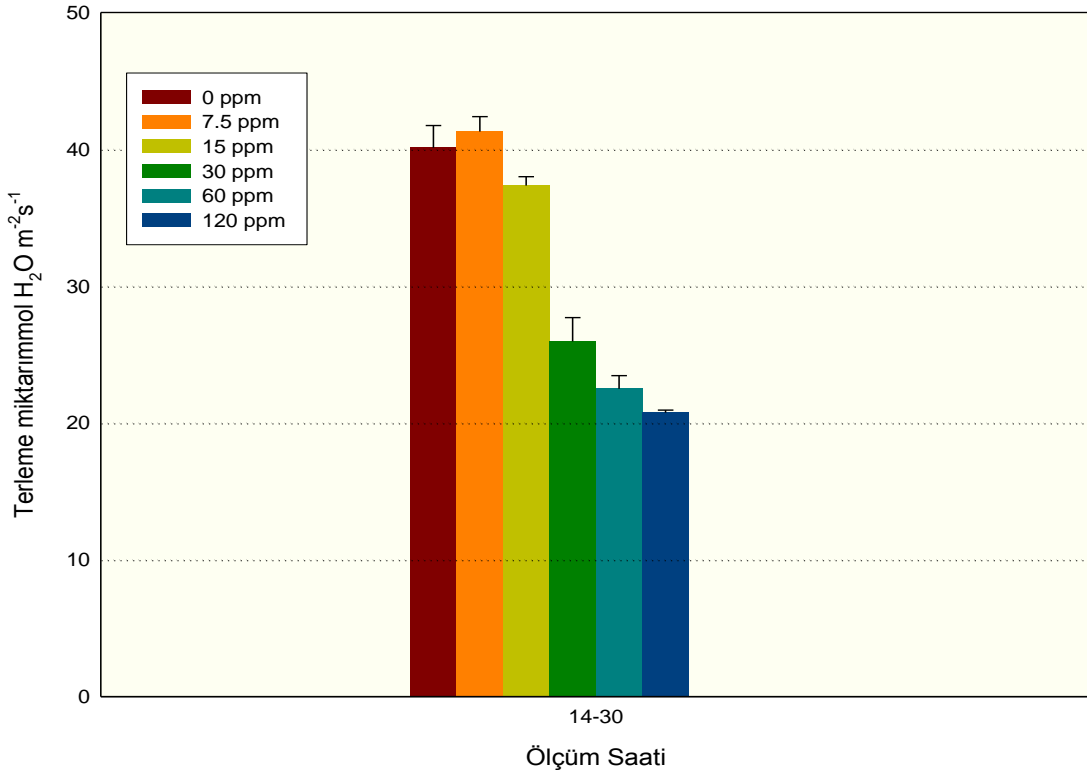
Şekil 3.7 Farklı B konsantrasyonlarının bağlı su oranlarına etkisi

Kontrol grubuna göre tüm konsantrasyonlarda yaprak bağlı su oranlarının yüksek olduğu görüldü (%57). Kontrol grubuna göre 7,5 ppm’de önemli bir artış olmamıştır (% 3). 15 ppm değerinde % 10 olan bu artış 30 ppm’değerinde yine aynıdır. Son olarak 60 ppm değerinde de önemli bir artış görülmeyerek % 73 değerleri tespit edilmiştir.

3.4 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Terleme Üzerine Etkisi

Dört hafta boyunca farklı B konsantrasyonlarında bırakılan fasulye bitkilerinin terleme ölçüm sonuçları Şekil-3.6’da görülmektedir. Kontrol grubuna göre

karşılaştırıldığında 7,5 ppm'de hafif bir artış (% 3-4) gözlemlenmiştir. Artan konsantrasyon değerlerinde ise (15, 30, 60, ve 120 ppm) kontrol grubuna göre terleme miktarlarında azalma görülmektedir.

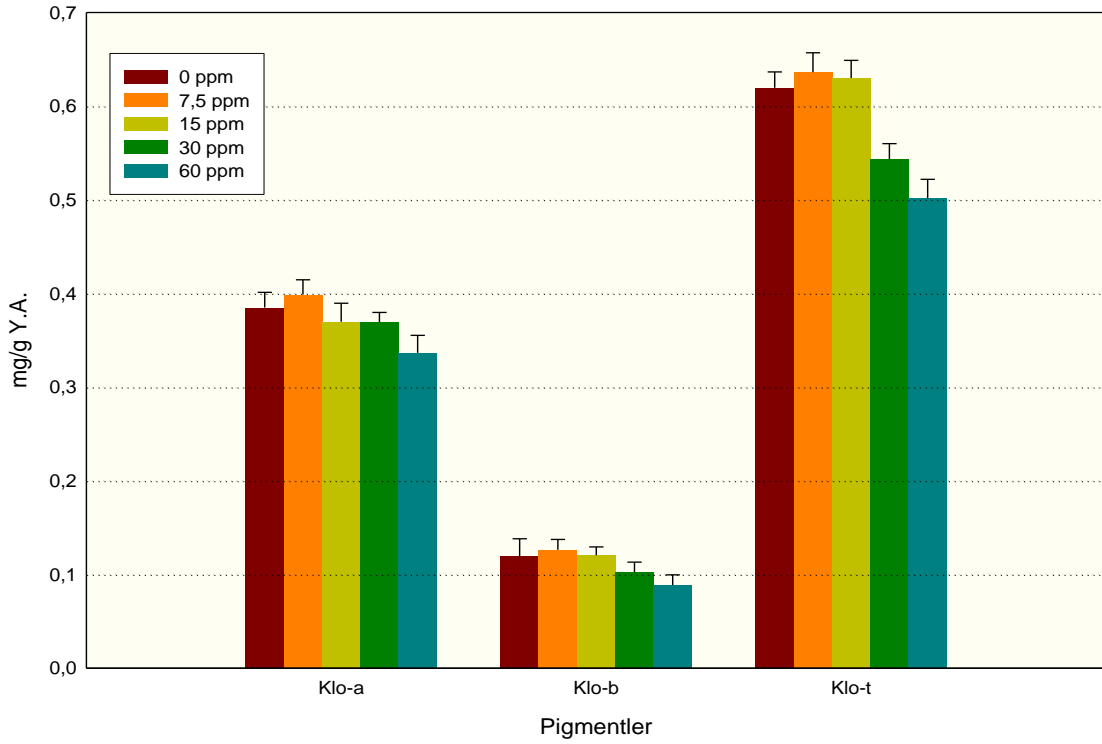


Şekil 3.8 Farklı B konsantrasyonlarının terleme miktarı üzerine etkisi

15 ppm'de %93 olan terleme (kontrol grubuna göre) 30 ppm'de % 60 seviyelerine düştüğü görülmüştür. 60 ppm' de ciddi bir düşüş görülmezken son olarak 120 ppm'de % 51 seviyesinde olmuştur.

3.5 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi

Saksılarda yetiştirilen fasulyeler dört hafta sonra yeterli büyüklüğe ulaşmasının ardından bitkilerin olgun yapraklarından alınan örneklerde yapılan analiz sonuçları grafikte görülmektedir.



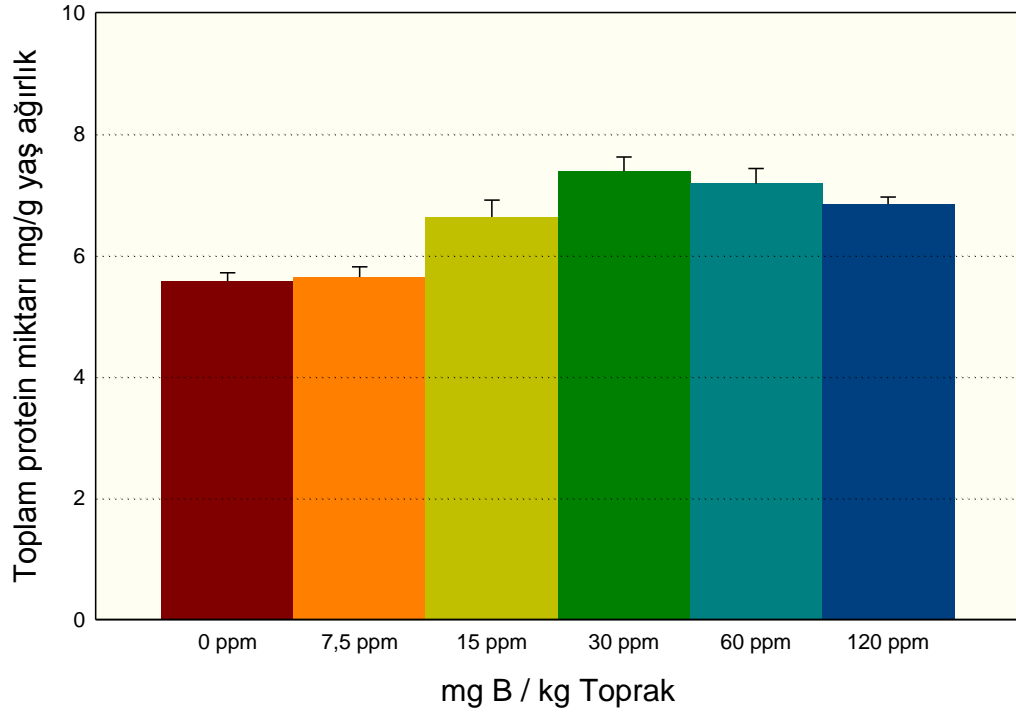
Şekil 3.9 Farklı B konsantrasyonlarının klorofil pigmenti miktarı üzerine etkisi

Alınan örneklerdeki klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları şekilde gösterilmiştir. Her üç durumda da klorofil miktarlarında kontrol grubuna göre azalma görülmüştür. Klorofil b miktarı, klorofil a'ya göre miktarca daha düşük olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda klorofil a 0,385, klorofil b ise 0,1195 mg/g Y.A. olarak tespit edilmiştir. 7,5 ppm'de ise klorofil a miktarında kontrol grubuna oranla % 3 miktarında bir artış tespit edilmiştir. Yaklaşık aynı oranlardaki artışlar klorofil b ve klorofil t'de de görülmüştür. 15, 30 ve 60 ppm değerleri kontrol grubuna oranla daha düşük seviyede olmasına rağmen ciddi bir fark görülmemiştir. 60 ppm değerindeki klorofil miktar oranları (kontrol grubuna göre) klorofil a için %87, klorofil b % 70 ve klorofil t için % 81 civarlarında olduğu görülmüştür.

3.6 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Fasulye bitkisinde yapraklarında yapılan protein miktar analizinde kontrol grubu yapraklarındaki protein miktarı 5,5 mg/g yaş bitki seviyesinde olduğu görülmüştür.

önemli bir artışın olmadığı protein miktarları diğer konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre daha fazladır.



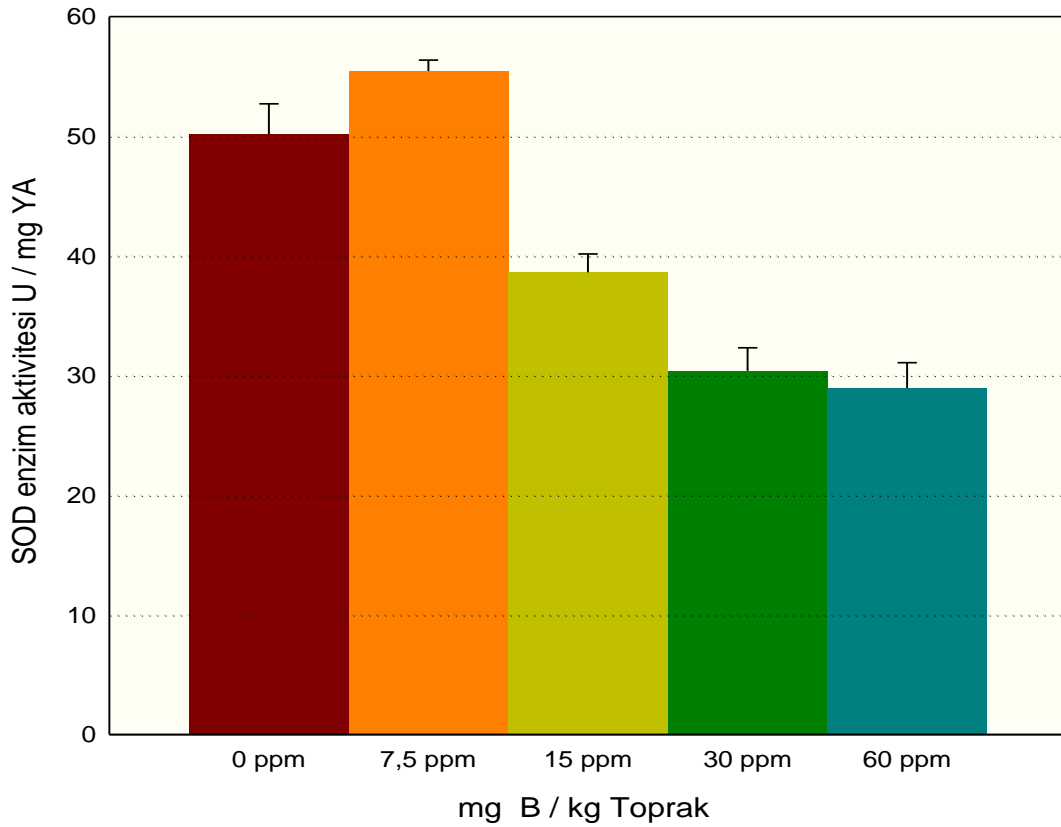
Şekil 3.10 Farklı B konsantrasyonlarının toplam protein miktarı üzerine etkisi

Kontrol gruna göre 7,5 ppm B konsantrasyonundaki artış çok önemli değildir (% 1). 15 ppm değerindeki artış % 19 olarak görülmekte ve protein miktarı 6,63 mg/g yaş bitki olarak ölçülmüştür. 30 ppm B konsantrasyonunda ise artış % 32 seviyesinde görülmekte ve protein miktarı 7,38 mg/g yaş olduğu görülmüştür. 60 ve 120 ppm B konsantrasyonu içeren bitkilerde protein miktarlarında hafif azalmalar görülmektedir. Kontrol grubuna göre %22 fazla olan 120 ppm de 6,84 mg/g yaş bitki miktarı saptanmıştır

3.7 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi

Fasulye bitkisinin magnum çeşidinin farklı konsantrasyonlardaki SOD enzim aktivitesi değerlerinde oluşan değişimlere bakıldığında B konsantrasyon değerleri arttıkça enzim aktivite değerlerinde 7,5 ppm'de bir artış gözlenirken, sonraki

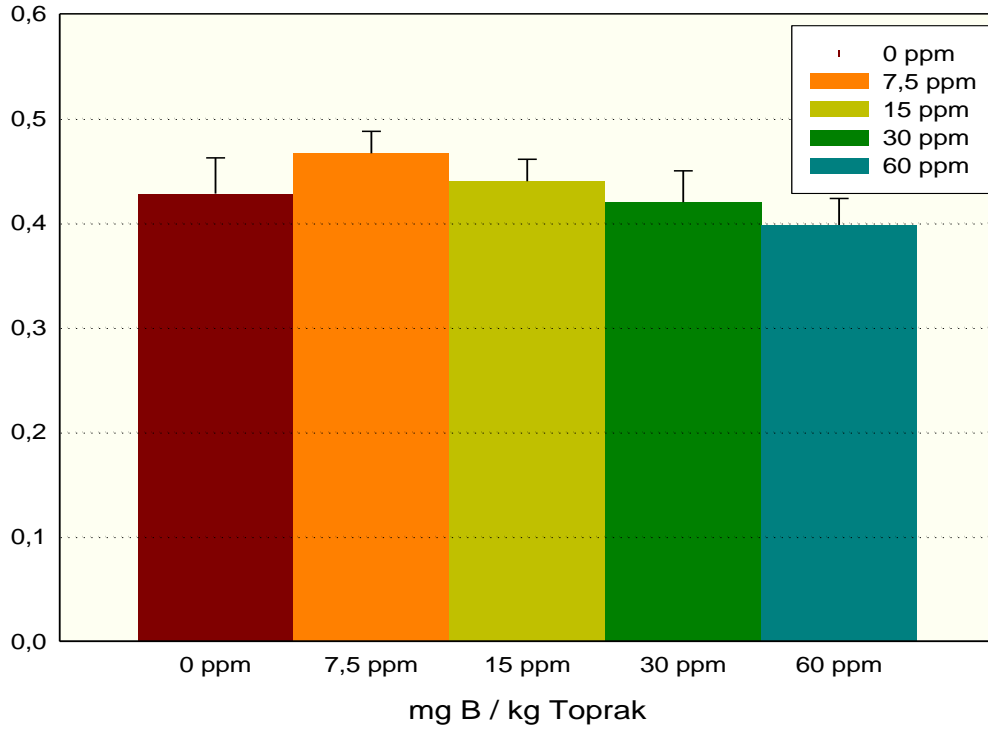
konsantrasyonda genel bir azalma görülmektedir. Kontrol grubundaki aktivite seviyesi 50,16 U/mg Y.A. düzeyindedir.



Şekil 3.11 Farklı B konsantrasyonlarının SOD enzimi aktivitesi üzerine etkisini

7,5 ppm'de % 10 artma görülerek aktivite düzeyi 55,43 U/mg Y.A. olarak ölçülmüştür. Daha sonraki konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre düşüş görülmüştür. 15 ppm B konsantrasyonunda % 76 olan oran son olarak 60 ppm'de % 57 seviyelerine kadar düşerek 28 U/mg Y.A aktivite ölçümü yapılmıştır.

3.8 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin APX Aktivitesi Üzerine Etkisi



Şekil 3.12 : Farklı B konsantrasyonlarının APX enzimi aktivitesi üzerine etkisi

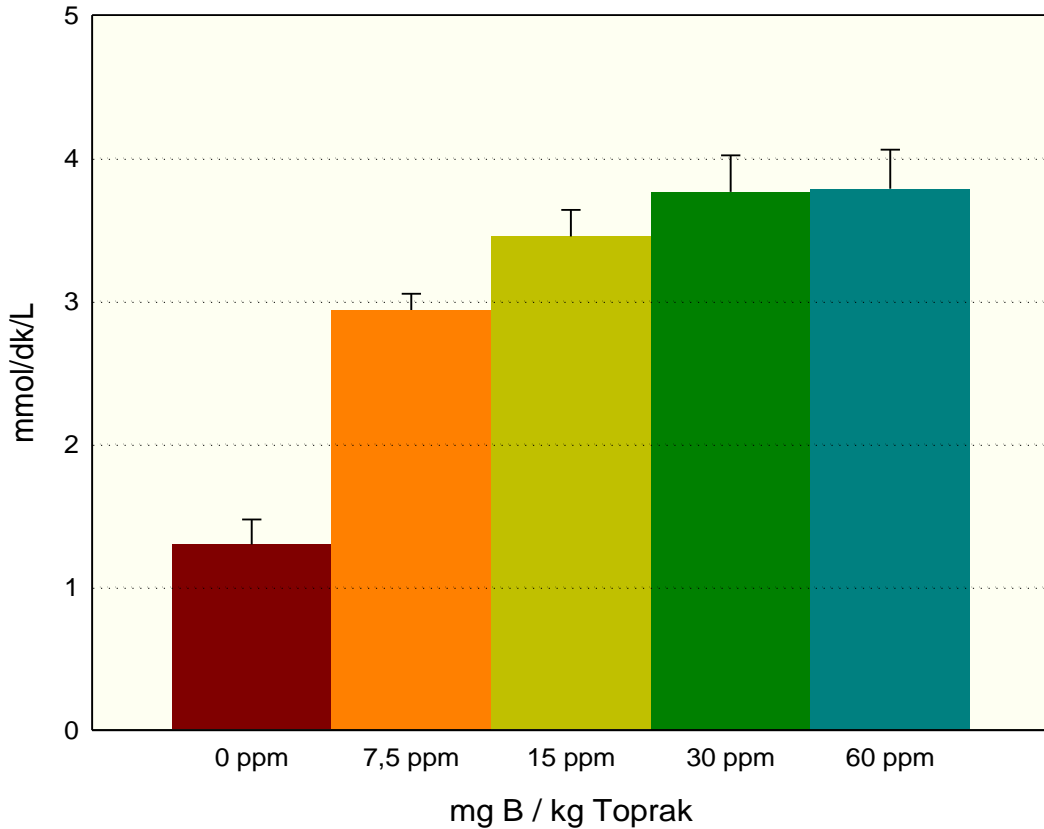
Fasulye bitkisine uygulanan farklı düzeylerdeki B konsantrasyonlarında yapraklarda strese karşı oluşan antioksidant enzim metabolizmalarındaki değişimi gözlemlemek için APX aktiviteleri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar grafikte gösterilmiştir.

Kontrol grubuna göre 7,5 ppm'de % 8 seviyesinde bir artış meydana gelmiştir. Görülen bu artışın ardından tekrar aktivite miktarlarında azalmalar dikkat çekmektedir. 15 ppm'de kontrol grubunun hafif üzerinde (% 2) görülen aktivite değeri 30 ppm ve 60 ppm konsantrasyonlarında kontrol grubundan daha düşük seviyede tespit edilmiştir. 60 ppm B konsantrasyonu içeren bitkilerde aktivite seviyesi % 92 civarında (kontrol grubuna göre) görülmüştür

3.9 Farklı Konsantrasyonlardaki B Toksisitesinin CAT Aktivitesi Üzerine Etkisi

Farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanan fasulye bitkisindeki katalaz aktivitesi analizlerinde kontrol grubundaki katalaz aktivitesinin 1,3 mmol/dk/L değerle ve en az seviyede olduğu görülmektedir. Artan konsantrasyonlarda katalaz aktivitesindeki artışlar önemli görülmektedir.

7.5 ppm'de kontrol grubuna göre yaklaşık ik kat artışla 2,93 mmol/dk/L değeri görülmüştür. 15, 30, 60, ppm değerinde saksılardaki fasulye bitkilerindeki katalaz aktivitelerinin konsantrasyonla doğru orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir. 60 ppm değerindeki artış kontrol grubunun üç katı miktarında 3,78 mmol/dk/L olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.13 Farklı B konsantrasyonlarının CAT enzimi aktivitesi üzerine etkisi

BÖLÜM-4

TARTIŞMA VE SONUÇ

B üzerine yapılan birçok çalışma; B elementinin bitkiler için temel elementlerden biri olduğunu, türden türe değişmekle birlikte eksikliği veya fazlalığının çeşitli olumsuz etkilere yol açtığını ortaya koymaktadır (Kekeç, 2010; Goldgerg, 1997). B toksisitesi bitkide morfolojik, fizyolojik ve genotoksik gibi etkilere yol açtığı görülmüştür. B miktarının yüksek olduğu topraklarda yetişen bitkilerde verim düşüşleri görülmekle birlikte,ileri B kirliliği durumunda bitkinin ölümüne neden olabilecekleri çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir.(Nable ve ark., 1997; Khan ve ark., 1999)

Bu çalışmada fasulye bitkisinde yüksek B konsantrasyonunda meydana gelen strese bağlı çimlenme ve fide gelişimi, bağıl su oranı ölçümü, terleme miktarı ölçümü, klorofil miktarı ölçümü toplam protein miktarı ölçümü ve antioksidan enzim aktivite değişimleri (SOD APX, CAT) incelenmiştir.

B toksisitesiyle ilgili mısır (Güneş ve ark., 2000), domates (Soy ve Güneş, 2003), buğday (Reid ve ark., 2004), asma (Güneş ve ark., 2006) çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bunlara ek olarak salatalık (Alpaslan ve Güneş, 2001), havuç (Eraslan, 2007), malta eriği (Lopez-Gomez ve ark., 2007) ve asma (Ersöz ve ark., 2009; Güneş, 2006) bitkileri üzerinde, tuzla birlikte B stresinin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal etkileri incelenmiştir. Ayrıca (Çamaş, 2006; Kekeç ve ark., 2010) yüksek seviyedeki B'un, buğday bitkisinde genotoksik etkilerinin olduğu rapor etmişlerdir. Yüksek seviyedeki B'un, bitki gelişimini yavaşlattığı, kök ve gövde uzunluklarının azalttığı, kuru ve yaş ağırlığı düşürdüğü, yaprak deformasyonuna ve yaprakların erken dökülmesine neden olduğu görülmektedir.

Yapılan çimlenme deneylerinde konsantrasyona bağlı olarak çimlenme yüzdelерinin düştüğü tespit edilmiştir. Özellikle başlangıç konsantrasyonlarında %85'lerde olan çimlenme 1000 ppm'de % 5'e kadar düşmüştür. Bu değerler daha önce yapılan çimlenme çalışmalarıyla paralellik göstermiştir (Çamaş, 2006). Kök ve ξ 36 uzunlukları çimlenmeyle karşılaştırıldığında ise yüksek kolerasyonda görülmel ($r^2 \sim 0,92$).

Terleme miktarı ve yaprak su potansiyeli, bitkilerde, B toksisitesiyle birlikte değişen diğer unsurlardır. Güneş ve ark. (2006)., asmada yüksek miktarda B alımının (20 ve 30 mg kg⁻¹ B) yapraklarda stoma direncini arttırdığını ortaya koymuşlardır. Aynı şekilde, B toksisitesinin mandarin bitkisinde, stoma direncini arttırdığı belirtilmiştir (Papadakis ve ark., 2004). Diğer yandan Ardıç (2006), B toksisitesinin nohutta, bağıl su miktarının değiştirmedini gözlemlemiştir. Bu çalışmalar neticesinde elde edilen veriler, fasulye bitkisinin magnum çeşidinde genel olarak stoma direncinin arttığı tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak terleme miktarının 7,5 ppm değerinde hafif bir artış gözlenip daha sonra 120 ppm'de kontrol grubuna göre yaklaşık %95 düzeyinde bir azalış ve yaprak su potansiyelinde kontrol grubuna göre 60 ppm de %50 oranında bir artış görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında, (Güneş ve ark., 2006) ile (Papadakis ve ark., 2004)'nın yaptıkları çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. fakat (Ardıç., 2006)'ın araştırmasıyla uyumluluk göstermemektedir.

Birçok stres faktörü klorofil miktarlarındaki önemli değişiklikler oluşturmaktadır (Sivritepe ve Eris, 1999; Sairam ve Saxena, 2000; Sairam ve Srivastava, 2002; Charbaji ve Ayyoubi, 2004; Demiray ve Eşiz Dereboylu, 2005; Sotiropoulos ve ark., 2006). Havuç ve arpa bitkileri üzerinde (Nable, 2004), bitkiye yüksek oranda B uygulanmasının klorofil miktarına etkisi incelenmiştir. Bu incelemeye göre; klorofil miktarının, yüksek oranda B uygulanması neticesinde düştüğü gözlenmiştir. Yaptığımız çalışmada, yüksek B uygulamasında toplam klorofil miktarlarında kontrol gurubuna göre 7,5 ve 15 ppm'de artış olmasına rağmen 60 ppm'de yaklaşık % 20'lik bir düşüş görülmüştür. (Nable, 2004; Demiray ve Dereboylu, 2005)'in araştırma sonuçları, bu çalışmada çıkan sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Klorofil miktarındaki azalma artan

reaktif oksijen türevlerinin klorofilin yapısını bozmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Total protein miktarları kontrol grubundan yüksek B konsantrasyonlarına doğru gidildikçe, özellikle 30 ppm'e kadar bir artış (% ~17) daha sonraki konsantrasyonlarda ise düşüş görülmesine rağmen bu düşüş kontrol grubundan daha aşağıda olmamıştır. Bu sonucun; mısır bitkisinde farklı stres durumlarındaki total protein miktarını inceleyen (Köşkenoğlu, 2006) ile uyumlu olduğu; ancak (Çanakçı ve Munzuroğlu, 2007)'nin çalışmaları ile uyumlu olmadığı görülmüştür. Protein miktarında meydana gelen artışın sebebi olarak stres mekanizmasında görevli enzimlerin ve hücre zarından madde geçişini sağlayan proteinlerin miktarındaki değişim olabileceği düşünülmektedir.

Antioksidant savunma sistemi; enzimatik ve enzimatik olmayan savunma mekanizmaları sayesinde, bitkiler için toksik olan oksijen ara ürünlerinin zararsız hale getirilmesinde, hücreleri oksidatif zararlara karşı korumaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT) ve glutatyon redüktaz (GR) enzimatik antioksidantlar olarak sayılabilirler (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Bowler, Van Montagu ve Inze, 1992; Çakmak ve ark., 1993; Rascio ve ark., 1994; Lopez ve ark., 1996; Renard ve Guerrier, 1997; Asada, 1999). Bu enzimlerin, birbirinden farklı stres koşullarında yapılan çalışmalarda, farklı şekilde etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Güneş ve ark. (2006); asma bitkisinde, deney grubu yani B uygulanan bitkilerle kontrol grubu yani B uygulanmayan bitkileri karşılaştırdıklarında, SOD ve CAT aktivitelerinin arttığını, APX aktivitesinin ise azalış gösterdiğini belirlemişlerdir. Ersöz (2009) çalışmasında, yüksek tuz ve düşük tuzla birlikte B uyguladığında; SOD aktivitesinin azaldığını ve düşük tuz uygulaması ise artış gösterdiğini belirlemiştir. Gökmen (2006) domateste, uzun süreli düşük sıcaklık uygulaması sonucunda, SOD ve APX enzimlerinin aktivitesinin arttığını, CAT aktivitesi ise azaldığını ortaya koymuştur. Lopez-Gomez ve ark. (2007) B'un antioksidan sistemlerle birlikte tuza toleransının etkilerini, yenidoğum bitkisi üzerinde araştırmışlardır. Bu araştırmaya göre, orta düzeyde tuz uygulaması sonucunda APX artarken, yüksek tuzlulukta SOD aktivitesi azalmıştır. Karabal ve ark. (2003) araştırmalarında, B uygulamasının, B toksisitesine hassas

Hamidiye arpa kültür çeşidinin köklerinde SOD ve CAT aktivitesini arttırdığını ortaya koymuşlardır. B'a toleranslı arpa kültür çeşidi Anadolu'nun köklerinde ise; CAT'ın arttığını, APX'in azaldığını ve SOD miktarlarında değişim olmadığını belirlemişlerdir.

Çalışmamızda, fasulye bitkisinin magnum çeşidine uyguladığımız yüksek konsantrasyonlarındaki B toksisitesinde SOD aktivitesi 7,5 ppm değerinde 55,8 U/mg Yaş ağırlık seviyesinde görülürken 120 ppm'de yarıya kadar düşmüştür. CAT aktivitesi tüm konsantrasyon değerlerinde kontrol grubuna göre artış görülmüş ve 120 ppm değerinde kontrol grubuna göre dört kat artış görülmüştür. APX aktivitesi, 7.5 ppm'e kadar kontrol grubuna göre artış; daha sonra yüksek konsantrasyon değerlerindeki azalış görülmüştür. CAT, SOD ve APX aktivitesindeki artış (Güneş ve ark., 2006; Gökmen, 2006; Lopez-Gomez, 2007; Ersöz, 2009; Karabal, Yücel ve Öktem, 2003)'in yapmış olduğu çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir.

Aşırı B toksisitesine bağlı olarak antioksidan enzim aktivitelerinin bozulmuş ya da bir enzim inhibitörünün aktiviteyi azaltmış olabileceği, SOD ve APX aktivitelerindeki yüksek konsantrasyonlardaki azalışının nedeni olarak düşünülmektedir. SOD aktivitelerinin yüksek konsantrasyonlardaki azalışının nedeni aşırı bor toksisitesine bağlı olarak antioksidan enzim aktivitelerinin bozulmuş olabileceği ya da bir enzim inhibitörünün aktiviteyi azaltmış olabileceği düşünülmektedir. APX aktivitesinde görülen azalma yüksek B'un glikoz 6 fosfat dehidrogenaz enzimini inhibe etmesinden dolayı NADPH miktarının azalması (Roush ve Gowdy, 1961) ile glutasyonun tekrar indigenememesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. CAT aktivitesinde görülen artış özellikle H_2O_2 miktarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca peroksizomlarda lokalize olmasından dolayı CAT, diğer enzimlere göre toksisiteye bağlı artan radikallerden daha az etkilendiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; fasulye bitkisinin magnum çeşidinde yaptığımız bu çalışmada, yüksek B konsantrasyonlarının bitki büyümesini yavaşlattığı, bitkide morfolojik bozukluklara sebep olduğu, protein miktarını artırdığı, terleme miktarını azalttığı, yaprak su potansiyelini arttırdığı, antioksidant enzim sistemini harekete geçirdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alınarak fasulye bitkisinde B mineralinin bitki üzerinde fizyolojik değişimler yaptığı bir kez daha gözlenmiş ve bu değişimlere neden

olan biyokimyasal etkilerin anlaşılabilmesi üzerinde durulmuştur. Çalışmamızın sonucunda; fasulye bitkisinin düşük seviyelerden başlayarak, yüksek seviyede B muamelesine tepki olarak SOD, APX, CAT enzimlerini aktivitelerini artırdığı anlaşılmıştır. Enzim sistemlerinin harekete geçmesinin yanında bitkinin su alımının yüksek seviyede B' da ne derece etkilendiği yapılan terleme ve bağıl su içeriği ile analiz edilmeye çalışılmış ve sonuç olarak bitkinin yüksek seviyede B' a tepki olarak stomalarını kapatarak terleme oranının azaldığı tespit edilmiştir. Bitkinin terleme oranını azaltarak, topraktan su ile birlikte çözünmüş halde alınan B mineralinin ve su alımının azaltılması ile bitkiye daha az B mineralinin girmesini sağlayacak şekilde tepki oluşturduğu düşünülmektedir. Bunun yanında B elementinin bitkide en önemli fonksiyonlarından birisi olan hücre duvarı sertliğinin yüksek B içeren bitkilerde fazla olmasından yola çıkarak yüksek düzeydeki B, bitkinin stoma elastikliğinin azalmasına ve terleme oranının azalmasına neden olmaktadır. Bu çalışma B-hücre duvarı ilişkilerinin araştırmasına yönelik çalışmalara yol gösterici nitelikte olacaktır.

REFERANSLAR

Acar, O., Kurağa dayanıklı bazı arpa çeşitlerinde süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin araştırılması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 1999.

Acar, O., I. Türkan, ve F. Özdemir., Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties, *Acta Physiologiae Plantarum* 3, no. 23, 351-356, 2001.

Adriano, D. C., Trace Elements in the Terrestrial Environment Springer- Verlog, New York, p. 73-79, 1986,

Ardıç, M., Bor Toksisitesinin Nohut (*Cicer arietinum* L.) Bitkisinde Biyokimyasal Özellikler Üzerindeki etkileri, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Kütahya, 2006.

Asada, K., The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Ann.ReLoov-Plant Physiol.Plant Mol.Biol.*, no. 50, 601-639, 1999.

Blaser-Grill, J., D. Knoppik, A. Amberger, ve H.E. Golbach., Influence of boron on the membrane potential in *Elodea densa* and *Helianthus annuus* roots and H⁺ extrusion of suspension cultured *Daucus carota* cells, *Plant Physiol.*, no. 90, 280-284, 1989.

Blevins, D.G., Lukaszewski ve K.M., Root growth inhibition in boron-deficient or aluminium-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism, *Plant Physiol.*, no. 112, 1135-1140, 1998.

Boncukçuoğlu, R., M.M. Kocakerim, E.A. Yılmaz, ve T.M. Yılmaz., Bor Elementinin çevresel Açıdan Değerlendirilmesi, Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü, Erzurum, 2003.

Bor, M., F. Özdemir, ve İ Türkan., The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Science*, no. 164, 77-84, 2003.

Boşgelmez, A., Boşgelmez, İ.İ., Savaşçı S. and Paslı N., Ekoloji II.Toprak, Başkent Klişe Matbaacılık, ISBN: 975-96377-2-3, p. 669-675, Ankara, 2001.

Bowler, C., M. Van Montagu, ve D. Inze., Superoxide dismutase and stress tolerance, Annu.Rev.Plant Physiol.Plant Mol.Biol., no. 43, 83-116, 1992. 41

Bowler, C., M. Van Montagu, ve D. Inze., Superoxide dismutase and stress tolerance, Plant Physiol.Plant Mol.Biol. (Annu.Rev.), no. 43, 83-116, 1992.

Bradford, M.M., A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Anal.Biochem., no. 72, 248-254, 1976.

Bray, E., J. Bailey-Serres, ve E. Weretilnyk., Responses to abiotic stresses, Rockrille M.D., American Society Plant Physiology , 2000.

Çakmak, I., D. Strbac, ve H. Marschner., Activities of hydrogen peroxide scavenging enzymes in germinated wheat seeds, J.Exp.Bot., no. 44, 127-132, 1993.

Cantürk, M., TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi, 2002.

Charbaji, T., ve Z. Ayyoubi., Differential growth of some grapevine varieties in Syria in response to salt in vitro. In Vitro Cell Dev., Biol. Plant., no. 40, 221-224, 2004.

Çakmak, I., D. Strbac, ve H. Marschner., Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds, Journal of Experimental Botany, no. 44(258), 127-132, 1993.

Çakmak, I., D. Strbac, ve H. Marshner., Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds.» Journal of Experimental Botany 258, no. 44, 127-132, 1993.

Çakmak, L., ve V. Römheld., Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants, Plant and Soil., no. 193, 71-83, 1997.

Çamaş, M., B'un Genotoksik Etkilerinin Hordeum vulgare L. Üzerinde İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gebze, 2006.

Çanakçı, S., ve Ö. Munzuroğlu., Asetilsalisilik asit'in Mısır (*Zea mays* L.) fidelerinin taze ağırlık değişimi ve pigment ve protein miktarları üzerine etkileri, Fırat Üniv.Fen ve Müh.Bil.Dergisi 3, no. 19, 259-264, 2007.

Çiftçi, C. Y., Dünyada ve Türkiye'de Yemelik Tane Baklagiller Tarımı. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Teknik Yayınlar Dizisi No:5, Ankara 2004.

Davies, K.L., Adams, P. and Winsor, G.W., Bud development and flowering of *Chrysanthemum morifolium* in relation to some enzyme activities and to the copper, iron and manganese status. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.* 9: 249-264, 1978.

Dell, B., ve L. Huang., Physiological response of plants to low boron, *Plant and Soil*, no. 193, 103-120, 1997.

Demiral, T., Genç pirinç fidelerine dışarıdan glisinbetain uygulanmasıyla, tuza (NaCl) toleransının artırılmasında antioksidant enzim aktivitesinin rolünün araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2003.

Demiray, H., ve A. Eşiz Dereboylu., Bor elementi ve Niasinin Nantes Havuç (*Daucus carota* L.) çeşidinin büyümesi üzerine etkileri, *Ege Üniv.Ziraat Fak.Derg.* 1, no. 42, 191-201, 2005.

Demiray, H., ve O. Akçam., Bor Elementinin Sambro No.3 Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkileri, *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 3, no. 41, 181-190, 2004.

Edreva, A., *Stress Physiology, Definitions and Concepts of Stress. Classifications of stress Factors, Approaches Applied in Stress Research, Bitkilerde stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri sempozyumu.* Bornova, Etiltem, İzmir, 1988.

Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A. and Alpaslan, M., Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity, *Scientia Horticulturae*, no. 133, 120-128, 2007.

Ermiş, İ., Bazı arpa çeşitlerinin çimlenme yüzdesi ve antioksidant enzim düzeylerine bor stresinin etkisi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2002.

Ersöz, S., Asma anaçlarında (*vitis* sp.) bor ve tuz stresine tolerans mekanizmalarının stresle ilgili fizyolojik parametreler ve antioksidan enzimlerle belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı, 2009.

Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü. <http://www.etimaden.gov.tr>. 2011. (14.05.2011 tarihinde erişilmiştir).

Eyüpoğlu, F., Kurucu, N., ve Talaz, S., Türkiye Topraklarının Bitkiye Yararlı Mikro elementler Bakımından Genel Durumu. Toprak Gübre Araştırma Ens. 620/A-002 Projesi Toplu Sonuç Raporu, Ankara, 1995.

Foyer, C., P. Descourvieres, ve K.J. Kunert., Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants, *Plant Cell Environ*, no. 17, 507-523, 1994.

Foyer, C.H., P. Descourvieres, ve K.J. Kunert., Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants., *Plant Cell Environ*, no. 17, 507-523, 1994.

Fridowich, I., Oxygen toxicity: a radical explanation, *The Journal Experimental Biology*, no. 201, 1203-1209, 1998.

Garrett, D. Borates: Handbook of Deposits, Processing, Properties and Use. San Diego, 1998.

Gezgin, S., ve ark., 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*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2001.

Goldbach, H.E., D. Hartmann, ve T. Rotzer., Boron is required for the ferricyanide induced proton release by auxins in suspension-cultured cells of *Daucus carota* and *Lycopersicon esculentum*, *Plant Physiol.*, no. 80, 114-118, 1990.

Goldberg, S., ve ark., Effect of high boron application on boron content and growth of melons, *Plant and Soil*, no. 256, 403-411, 2003.

Goldberg, S., Reactions of boron with soils, *J. Plant and Soil.*, no. 193, 35-48, 1997.

Gomez-Rodriguez, M.V., J. Luna del Castillo, ve M.C. Alvarez-Tinaut., The evolution of glucose-6P-dehydrogenase and 6P-gluconate-dehydrogenase activities and 6P-gluconat dehydrogenase activities and the ortho-diphenolic content of sunflower leaves cultivated under different boron treatments, *J.Plant Nutr.*, no. 10, 2211-2229, 2007.

Gökmen, Ö.Ö., Domateste soğuk stresinin antioksidatif mekanizmalar yönünden araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. Adana: Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak anabilim Dalı, 2006.

Göncü, N., Dünya ve Türkiye'de Metal ve Mineral Kaynaklarının Potansiyeli, Ticareti, Beklenen Gelişmeler, Ankara: M.T.A.Enst.Yayımları, 187, 1982.

Greenwood, N.N. Boron. Oxford: Pergamon Press, 1975.

Gupta, M.C., Y.W. Jame, C.A. Campbell, A.J. Leyshon, ve W. Micholaichuk, Boron Toxicity and Deficiency, *Can.J.Of.Soil Sci.*, no. 65, 381-408, 1985.

Gupta, U.C., Factors affecting boron uptake by plants, in Boron and its role in crop production, 1993.

Güneş, A., G. Söylemezoğlu, A. İnal, E.G. Bağcı, S. Çoban, ve O. Şahin., Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity, Scientia Horticulturae, no. 110, 279-284, 2006.

Güneş, A., M. Alparslan, H. Ozcan, ve Y. Cıkılı., Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen Mısır Çeşitlerinin Bor Toksisitesine Duyarlılıkları, Türk J.Agric.For., no. 24, 277-282, 2000.

Güneş, A., İnal, A., Adak, M.S., Eraslan, F., Çiçek, N., Effect of Boron Fertilization on the Yield and Some Yield Components of Bread and Durum Wheat. Turk J. Agriculture and Forestry, no. 27, 329-335, 2003.

Halliwell, B., ve J.M.C. Gutteridge., Free radicals in biology and medicine., Clarendon Pres, Oxford, 1989.

Helvacı. C., Türkiye Borat Yatakları: Jeolojik Konumu, Ekonomik Önemi Ve Bor Politikası, 5. Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu, 11-27 S , İzmir, 2004.

Hu, H., S.G. Penn, C.B. Lebrilla, ve P.H. Brown., Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants, Plant Physiol., no. 113, 649-55, 1997.

Hu, H., ve P.H. Brown., Localization of boron in cell walls of squash and tobacco, Plant Physiol., no. 105, 681-689, 1994.

Jebara, S., M. Jebara, F. Limam, ve M.E. Aouani., Changes of ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and super-oxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salinity, J.Plant Physiol., no. 162, 926-936, 2005.

Kalafatoğlu, İ.E., ve S.N. Örs., 21.Yüzyılda Bor Teknolojileri ve Uygulamaları, Kritek, TÜBİTAK-Marmara Araştırmalar Merkezi, Gebze, 2000.

Karabal, E., M. Yücel, ve A. Öktem, Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity, Plant Science, no. 164, 925-933, 2003.

Kekeç, Güzin., Assessment of Genotoxic Effects of Boron on Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by Using RAPD Analysis, Bull Environ Contam Toxicol, no. 84, 759-764, 2010.

Keren, R., ve F.T. Bingham., Boron in Water. Soils and Plants. In Adv. In Soil Sci. (Ed. By B.A. Stewart), no. 1, 229-276, 1985.

Khan, N., K.J. Young, ve J.N. Gartrell., Boron toxicity in barley. Division of plant Research, Agriculture Western Australia, Farmnote. Farmnote, 1999.

Kobayashi, M., H. Nakagawa, T. Asaka, ve T. Matoh., Borate-rhamnogalacturonan II bonding reinforced by Ca^{+2} retains pectic polysaccharides in higher-plant cell walls, *Plant Physiol.*, no. 119, 199-203, 1999.

Köşkenoğlu, S., Tuz ve Su Stresi Altındaki Mısır (*Zea mays* L.) Bitkisinde prolin birikim düzeyleri ve stres parametrelerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla, 2006.

Liu, P., ve Y.A. Yang., Effects of molybdenum and boron on membrane lipid peroxidation and endogenous protective systems of soybean leaves, *Acta Bot.Sin.*, no. 42, 461-466, 2000.

Lopez, F., G. Vansuyt, F. Casse-Delbart, ve P. Fourcroy., Ascorbate peroxidase activity not the mRNA level, is enhanced in salt-stressed *Raphanus sativus* plants, *Physiologia Plantarum*, no. 97, 13-20, 1996.

Lopez-Gomez, E., San Juan, M. A., Diaz-Vivancos, P., Mataix Beneyto, J., Garcia Legaz, M. F. ,Hernandez, J. A., Effect of rootstocks grafting and boron on the antioxidant systems and salinity tolerance of loquat plants *Environmental and Experimental Botany*, no. 60, 151-158, 2007.

Lukaszewski, K.M., ve D.G. Blevins., Root growth inhibition in boron-deficient or aluminium-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism, *Plant Physiol.*, no. 112, 1135-1140, 1996.

Misra, D., ve B. Patil., Effect of boron on seed yield in lucern *Medicago sativa* L., *Crop Sci.*, no. 158, 34, 1987.

Nable, R.O., G.S. Banuelos, ve J.G. Paull. «Boron toxicity.» *Plant Soil*, no. 193, 181-198, 1997.

Nielsen, F.H., Trace elements in present knowledge in Nutrition, *International Life Science Institute*, 355-358, 1996.

Nielsen, F.H., ve T.R. Schuler. Studies of the interaction between boron and calcium, and its modification by magnesium and potassium in rats. Effects on growth, blood variables, and bone mineral composition. *BM Trace Elem Res.*, 225-237, 1992.

Papadakis, I.E., K.N. Dimassi, A.M. Bosabalidis, I.N. Therios, ve A. Giannakoula., Boron toxicity in Clementine mandarin plants grafted on two rootstocks, *Plant Science*, no. 166, 539-547, 2004.

Parr, A.J., ve B.C. Loughman., Boron and membrane function in plants. in *Metals and micronutrients: uptake and utilization by plants*, 87-107. New York, 2004

Penland, J.G., Dietary boron, brain function and cognitive performance, *Environ Health Perspect*, 65-72, 1994.

Pollard, A., A.J. Parr, ve B.C. Loughman., Boron in relation to membrane function in higher plants, *J.Exp.Bot.*, no. 28 , 831-841, 1977.

Priscilla, M.C., ve D. Ph., Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate (HMB)., *Sport Science*, no. 1, 11, 1998.

Provin, T. L ve Pitt, J. L., *Description of Water Analysis Parameters*. Soil and Crop Science Department, The Texas A&m University, 2002.

Rahnama, H., ve H. Ebrahimzadeh., The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedlings, *Biol.Plant*, no. 49, 93-97.

Rascio, A., C. Platani, G. Scalfati, A. Tonti, ve N. Fonzo., The accumulation of solutes and water binding strenght in durum wheat, *Physiologia Plantarum*, no. 90, 715-721, 1994.

Reid, R.J., J.E. Hayes, A. Post, J.C.R. Stangoulis, ve R.D. Graham., A critical analysis of causes of boron toxicity in plant., *Cell and Enviroment*, no. 25, 1405-1414, 2004.

Renard, M., ve G. Guerrier., Is proline a compatible solute in cali from NaCl-sensitive *Lycopersicon esculentum* and NaCl-tolerant *L.pennelli*, *Plant Physiol.*, no. 150, 331-337, 1997.

Robertson, G. A, ve B. C. Loughman., Response to boron deficiency: A comparison with responses produced by chemical methods of retarding root elongation, *New Phytol*, no. 73, 821-832, 1974.

Roush, A., ve B. Gowdy., The inhibition of yeast alcohol dehydrogenase by borates, *Biochim Biophys Acta.*, no. 52, 200-202, 1961.

Sairam, R. K., ve D.C. Saxena., Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stres tolerance, *J. Agronomy and Crop Science*, no. 184, 55-61, 2000.

Sairam, R.K., ve G.C. Srivastava., Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress, *Plant Sci.*, no. 162, 897-904, 2002.

Sairam, R.K., ve G.c. Srivastava., Changes in antioxidant activity in subcellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stres, Plant Science, no. 162, 897-904, 2002.

Sakal, R., ve AP. Sing B., Boron research and agricultural production. In micronutrient res., Agric. Prod. (Ed. Tondon, Hıs), New Delhi, India, 1-31, 1985.

Saylı, B.S., İnsan Sağlığı ve Bor Mineralleri, Düzenleyen Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi ve A.Ü. Tıp Fakültesi-Eti Holding Araştırma Projeleri Yürütücüsü. Ankara, 2000.

Schmacker, T., Bor als physiologisch entscheidendes. Element Naturwissenschaften, no. 20, 839, 1932.

Seçkin, B., Mannitolün tuz stresine maruz bırakılan buğday fidelerinin antioksidant enzim düzeyleri üzerindeki etkilerinin araştırılması., Yüksek Lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2005.

Sezen, Y., Suların Genel Özellikleri ve Kalitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, 1988.

Shorrocks, V. M., The occurrence and correction of boron deficiency, Kluwer Academic Publ. Dordrecht the Netherlands, 1997.

Sivritepe, N., ve A. Eris., Determination of salt tolerance in some grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) under *in vitro* conditions, Tr. J. of Biology., no. 23, 473-485, 1999.

Sotiropoulos, T. E., I. N. Therios, D. Almaliotis, I. Papadakis, ve K.N. Dimassi., Response of cherry rootstocks to boron and salinity, Journal of Plant Nutrition, no. 29, 1691-1698, 2006.

Soy, M., ve A. Güneş., Fosforun domates (*Lycopersicon esculentum* L.) bitkisinde bor toksisitesini önlemede etkisi, Tarım Bilimleri Dergisi, A. Ü. Ziraat Fakültesi, no. 9, 279-277, 2003.

Staiger, K., ve B. Machelet., Grenzwerte für Schwermetalle und Bor, Proc. Mengen. u. Spurenelemente, Karl-Marx Univ., 236-239, Leipzig, 1984.

Türkan, İ., ve T. Demiral., Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment, Journal of Plant Physiology, no. 161, 1089-1100, 2004.

Ural, E., Türkiyenin Çevre Sorunları, Türkiye Çevre Vakfı, Ankara, 1995.

Vaughan, A.K.F., The relation between the concentration of boron in the reproductive and vegetative organs of maize plant and their development, *Rhod.J.Agric.Res.*, no. 15, 163-170, 1977.

Welch, R.M. and Graham, R.D., Breeding Crops for Enhanced Micronutrient Content. *Plant Soil*, no. 245, 205-214, 2002.

Witham, F.H., D.F. Blayles, ve R.M. Levlin., *Experiments in Plant Physiology*, 55-56, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1971.