

BUĞDAY BİTKİSİNDE STOMA AÇIKLIĞININ AYRIMLI IŞIK YOĞUNLUKLARINDA POROMETRE TEKNİĞİ İLE ÖLÇÜLMESİ

A. Vahap KATKAT*

ÖZET

Stoma hareketleri üzerine etki eden başlıca fizyolojik etmenler; ışık, bitkinin su durumu, sıcaklık ve karbondioksit miktarlarıdır. Işık etmeni stomaların açılmasını sağlar ve etkisi oldukça hızlıdır. Bitkinin su durumu bitkiler için yetersiz olmaz stomalar kapanırlar. Atmosferdeki karbondioksit miktarı ise stoma açılma derecesi üzerine direkt olarak etki etmekte ve atmosferdeki karbondioksit konsantrasyonunda meydana gelen azalmalar stoma açıklığını arttırmaktadır. Buğday bitkisinde stoma açıklıkları ışık yoğunlukları ile birlikte artış göstermekte ve 50 W.m^{-2} 'ye kadar ışık stoma açıklığını sınırlandıran bir etmen olmaktadır. Bununla beraber 50 W.m^{-2} 'nin üzerinde su ve karbondioksit yokluğu, ışığın etkisini arttırmaktadır.

RESUME

La Mesure du Degré D'ouverture Stomatique Sous Différente Intensité Lumineuse par la Méthode de Porométre Chez le Blé

Les principaux facteurs physiologiques qui ont influencé sur les mouvements des stomates sont la lumière, l'état hydrique de la plante, la température et la teneur en gaz carbonique. Le facteur de lumière commande l'ouverture des stomates et son effet est très rapide. L'état hydrique de la plante détermine également le degré d'ouverture des stomates, en effet des que le bilan d'eau devient déficitaire pour le végétale, les stomates se ferment. La teneur en gaz carbonique de l'atmosphère commande également très directement le degré d'ouverture des stomates et tout abaissement de la concentration du CO_2 de l'atmosphère provoque l'ouverture des stomates. L'ouverture stomatique augmente avec l'intensité lumineuse chez le blé et jusqu'à 50 W.m^{-2} ; la lumière est un facteur qui limite de l'ouverture stomatique. Pourtant au dessus de 50 W.m^{-2} l'absence de l'eau et du gaz carbonique augmentent l'effet de la lumière.

GİRİŞ

Bitki hücrelerinin dış ortam ile bağlantı kurmalarını sağlayan stomalar normal olarak bir çift epidermis hücresinin farklılaşması sonucu oluşmuşlardır. Bu hücreler

* Doç.Dr.; Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi.

genellikle böbrek şeklinde olup gözenek ağızlarının açılıp kapanmasını düzenlerler. Buğdaygil, haçlıgil ve papirüsgül familyalarındaki bitkilerin stoma hücreleri, genellikle özel bir formda olup, yaprağın boyuna doğru paralel sıralar şeklinde dizilmektedirler. Gözenek genişlikleri elips şeklinde olup iç ve dış koşulların etkileri altında değişiklik gösterirler. Klorofil kapsayan bitkilerin fizyolojilerinde stomaların önemi; yaprak ve fotosentetik organlar ile atmosfer arasındaki gaz değişimlerini düzenlemesinden kaynaklanmaktadır. En önemli değişim olayları su buharının dışarı atılması ve ışık etkisi altında fotosentezde kullanılan atmosfer karbondioksitinin absorpsiyonudur.

Ayrıca fotorespirasyon ve respirasyon olguları sırasında oluşan gazlarda stoma aracılığı ile dışarı atılmaktadır. Stoma hareketleri üzerine çeşitli fizyolojik etmenlerin etki etmesi ile bu hareketlerin tek bir mekanizma yerine birçok mekanizmanın etkileri ile oluştuğu son yıllarda yapılan deneysel araştırmalar sonucu ortaya konulmuştur. Bu mekanizmalar genel olarak klasik kuram, hormon kuramı ve iyon kuramı şeklinde belirtilmektedir. Birkaç yıldan beri stoma hareketlerinin özelliklerini açıklamak amacıyla bir çok araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmaların fazlalığı, stomaların fizyolojik özelliklerinin incelenmesi için gerekli tekniklerin gelişmesinden ileri gelmektedir.

Stoma hareketlerini incelemede sayısız yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler genellikle iki grup altında toplanırlar:

1- Direkt (Dolaysız) gözleme yöntemi: Bu teknikte gözenek genişliğini mikrometri ölçüleri yardımı ile ölçmek için önceden yerleştirilmiş foton mikroskobundan yararlanılır. Bu ölçüm yaprağın alt yüzeyinden çıkarılmış epiderm parçasının mutlak alkol ile fikse edilmesinden sonra gerçekleştirilmektedir. Bu yöntem kinetik etütler için kullanılamamakla beraber stomaların açılış derecelerinin indirekt yöntemle ölçülmesinde referans bilgileri vermektedir.

2- İndirekt (Dolaylı) gözleme yöntemi: Bu yöntemler, yapraklarda çeşitli sıvıların infiltrasyon hızları üzerine kurulu tekniklerin dışında kalan porometrik yöntemleri kapsarlar.

a- Direnç (Resistance) Porometreleri: Toplam basınç farkı altında yaprağın içinden havanın geçmesine karşı meydana gelen direncin ölçülmesi esasına bağlı olarak çalışırlar.

b- Geçiş (Diffussion) Porometreleri: Su buharı geçiş porometrelerinde, transpirasyon ölçümünden yararlanılarak stoma direnci hesaplanır. Bu porometreler günümüzde çok geniş olarak kullanılmaktadır.

Hidrojen geçiş porometresi ile gözenekli poröz bir membran gibi kabul edilen yaprağı kateden hava ve hidrojen gazının geçiş direnci ölçülür. Geçiş sırasında yaprağın üst yüzeyinde hidrojen gazı, diğer kısmında ise normal hava bulunur. Kısmi basınç farkı ile gaz yaprağa girerek, yaprağı geçer. Yüksek basınç tarafından düşük basınca doğru geçiş olur. Gaz miktarının hacim olarak ölçülmesi sağlandığında hidrojen gazının, ters yöndeki geçişi oluşturan azot ve oksijen gazlarına oranla 4 kez daha fazla olduğu saptanır. Bu geçiş stoma açılma derecesinin oransal değerini vermektedir. Direnç porometresi ve hidrojen gazının geçişini ölçen porometreler ancak amfiostomotik yani iki yüzeyinde de stoma kapsayan yapraklar için uygundur. Stoma hücrelerinin çok küçük olması ve günümüzde canlı olarak tam ve ani bir şekilde

izole edilememesi direkt olarak biyokimyasal incelemeleri engellemektedir. Bununla beraber son yıllarda geliştirilen mikroteknikler ve radyoizotopların kullanılması stomaların hareket mekanizmaları üzerindeki bilgilerimizi önemli ölçüde artırmıştır.

LİTERATÜR ÖZETİ

Stoma hareketleri üzerine çeşitli etmenler etkili olmaktadır. Stoma hareketleri üzerine etki eden en önemli etmenler ışık, bitkinin su kapsamı, sıcaklık ve karbondioksit miktarlarıdır. Kuiper (1961), C₃ tipi metabolizmaya sahip bitkilerde, stoma açıklıklarının, ışık yoğunlukları ile birlikte artış gösterdiğini belirlemiştir. Stoma açıklıklarının belirlenmeleri için Louguet (1965) Hidrojen gazının diffüzyonu esasına dayanan porometre yöntemini geliştirmiştir. Anılan araştırmacı bu porometre yöntemi ile özellikle amfi stomatik bitkiler üzerinde geniş araştırmalar yapmıştır.

Stoma hareketlerinin incelenmesi amacıyla çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Meinder ve Mansfield (1968), bu yöntemleri iki grupta sınıflandırmışlardır. Birinci gruptaki yöntemler, stoma gözenekleri ile bekçi hücrelerinin boyutlarının ölçülmesinde, ikinci gruptaki yöntemler de stomaların gaz diffüzyonu ile sıvıların infiltrasyonlarına karşı gösterdiği direncin ölçülmesinde kullanılmaktadır. Günümüzde stoma açıklıklarının ölçülmesinde daha gelişmiş ve daha duyarlı porometre yöntemleri geliştirilmiştir.

Stomalar genellikle gündüzleri açık geceleri kapalı bulunan gözeneklerdir. Ancak bu kuralların dışında kalan bitkiler de vardır. Örneğin sayısız kaktüs çeşitleri ile sukulent tipi bitkilerin stomaları diğer bitkilerin tersine gündüzleri kapalı geceleri ise açıktır (Querioz 1976). Bu özellik kuraklığa dayanabilir olmakla ve KAM metabolizması ile yakından ilgilidir. Işık yoğunluğu olduğu kadar ışığın dalga boyu da stoma açıklıkları üzerine etkilidir. En yüksek açılmanın mavi bölgede yani 439 nm civarında olduğu saptanmıştır (Louguet 1980). Karbondioksit konsantrasyonunun stoma açıklığı üzerine etkileri ile ilgili geniş araştırmalar yapan Bingham ve ark. (1981), soya ve mısır bitkisi ile yaptığı çalışmalarda ortamdaki CO₂ konsantrasyonunun azalması durumunda stoma açıklığının arttığını, ortamdaki CO₂ konsantrasyonunun çoğalması durumunda da azaldığını belirtmişlerdir.

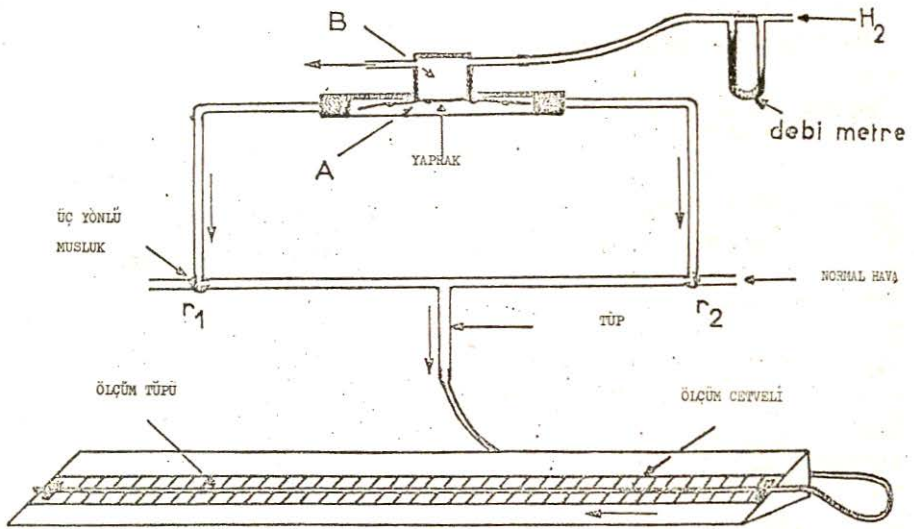
MATERYAL ve METOD

a) Materyal: Bu çalışmada Afganistan kökenli hexaploid bir buğday çeşidi olan *Triticum aestivum* var. Champlein kullanılmıştır. Kışlık bir çeşit olup, bin dane ağırlığı 45,6 g'dır.

Buğday bitkileri 8 cm çapında ve 7 cm yüksekliğindeki plastik saksılarda vermikülit ve perlit karışımı üzerinde yetiştirilmiştir. Yetiştirilme koşulları ise 20 W.m⁻² ışık intensitesi, 20 ± 2 °C sıcaklık, % 70-80 bağıl nem olup bitkiler günde 15 saat ışık altında bırakılmışlardır. Bitkiler ışık altına konulduktan sonra Coic ve Lesaint (1975) besin çözeltisi ile gün aşırı beslenmişlerdir. Stoma açıklıklarının ölçümü ise 15 günlük buğday bitkisinin gelişmesini tamamlamış ikinci yapraklarında gerçekleştirilmiştir.

b) Metod: Stoma açıklıklarının ölçülmesinde hidrojen gazının difüzyonu kurallarına dayanan ve Louguet (1965) tarafından geliştirilen porometre aleti kullanılmıştır.

Porometre; pleksiglas'tan yapılmış ve içinde bir yaprağı izole edebilen iki odalı bir kutudur. Bu iki oda delikli bir membranla ayrılmıştır. Porometre yöntemi ise ayrımlı gaz moleküllerinin difüzyonu esasına dayanmaktadır. Böylece belirli genişlikteki yaprak ayasından gaz geçişinin ölçülmesi sağlanır. Bir membran aracılığı ile gerçekleşen gaz giriş ve çıkışı belirli bir alandaki stoma sayısı ile stomaların açıklıklarına bağlı olarak azalmakta ve çoğalmaktadır. Deneme sırasında stoma sayılarında herhangi bir değişiklik olmadığına göre membrandan geçen gaz miktarı yalnız stoma açıklıklarına bağlı olarak değişmektedir. Şekil 1'de porometre aletinin şematik düzeni görülmektedir. Şekil 1'deki B odacığına belirli bir basınç ile H₂ gazı verilmiştir. Aşağıdaki A odacığı da içinde su damlacığı bulunan ölçülü bir cam boruya bağlanarak ölçüm gerçekleştirilmektedir. Ölçümün başlangıcında süre sıfıra



Şekil: 1

Buğday bitkisi yapraklarındaki stoma açıklıklarının ölçülmesinde kullanılan porometre aletinin şematik düzeni

eşit iken ($t = 0$), B odacığı % 100 hidrojen, A odacığı ise % 100 normal havayı içermektedir. Oksijen molekülünün kütlesi azotunkine yakın olduğu için, normal hava difüzyon yönünden aynı cins molekül olarak kabul edilebilmektedir. (Domergue 1978). Graham'ın difüzyon yasasına göre; gazların difüzyon hızlarının birbirlerine oranı, molekül kütlelerinin birbirlerine oranlarının karekökü ile ters orantılıdır.

$$\frac{Q_{H_2}}{Q_{hava}} = \sqrt{\frac{M_{hava}}{M_{H_2}}} = \sqrt{\frac{29}{2}} = 3.8$$

Q_{H_2} = Hidrojen gazının diffüzyon hızı, Q_{hava} = Havanın diffüzyon hızı

M_{hava} = Hava kütlesi, M_{H_2} = Hidrojen gazı kütlesi

Bu yasaya göre H_2 gazının üst odacıktan alt odacığa olan diffüzyon hızı havanın diffüzyon hızından 3.8 kez daha fazladır. Bu nedenle aşağı odacıktaki gaz molekülleri dereceli borudaki su damlacığını hareket ettirmekte ve stoma açıklıkları genişlediğiçe geçen gaz miktarı artmakta ve su damlacığı da o oranda hızlı hareket etmektedir. Bu dereceli cam borudaki su damlacığının hareket hızı aşağıdaki eşitlikle ölçülmektedir (Louguet, 1971).

$$U = U_{H_2} - U_{hava} = D_p \times D \times \ln \sqrt{\frac{M_{hava}}{M_{H_2}}} = D_p \times D \times \ln 3.8$$

D_p = Yaprığın stoma açıklığı, cm

U = Debi, l.s⁻¹

D = Sıcaklığa bağlı çift diffüzyon katsayısı

$$D_p = \frac{U}{D \times \ln 3.8} = \frac{U}{0,7 \times 1,33} = \frac{U}{0,9457}$$

$$U = \frac{\text{Dereceli cam boruda ölçüm yapılan borunun hacmi, cm}^3}{\text{Aynı boruda su damlacığının birim hareketi için geçen süre, sn.}}$$

$$\text{Borunun hacmi} = \pi r^2 h = 3,14 \times 2^2 \times 0,2 = 2,512 \text{ cm}^3$$

$$U = \frac{2,51}{t} \quad D_p = \frac{U}{0,9457}$$

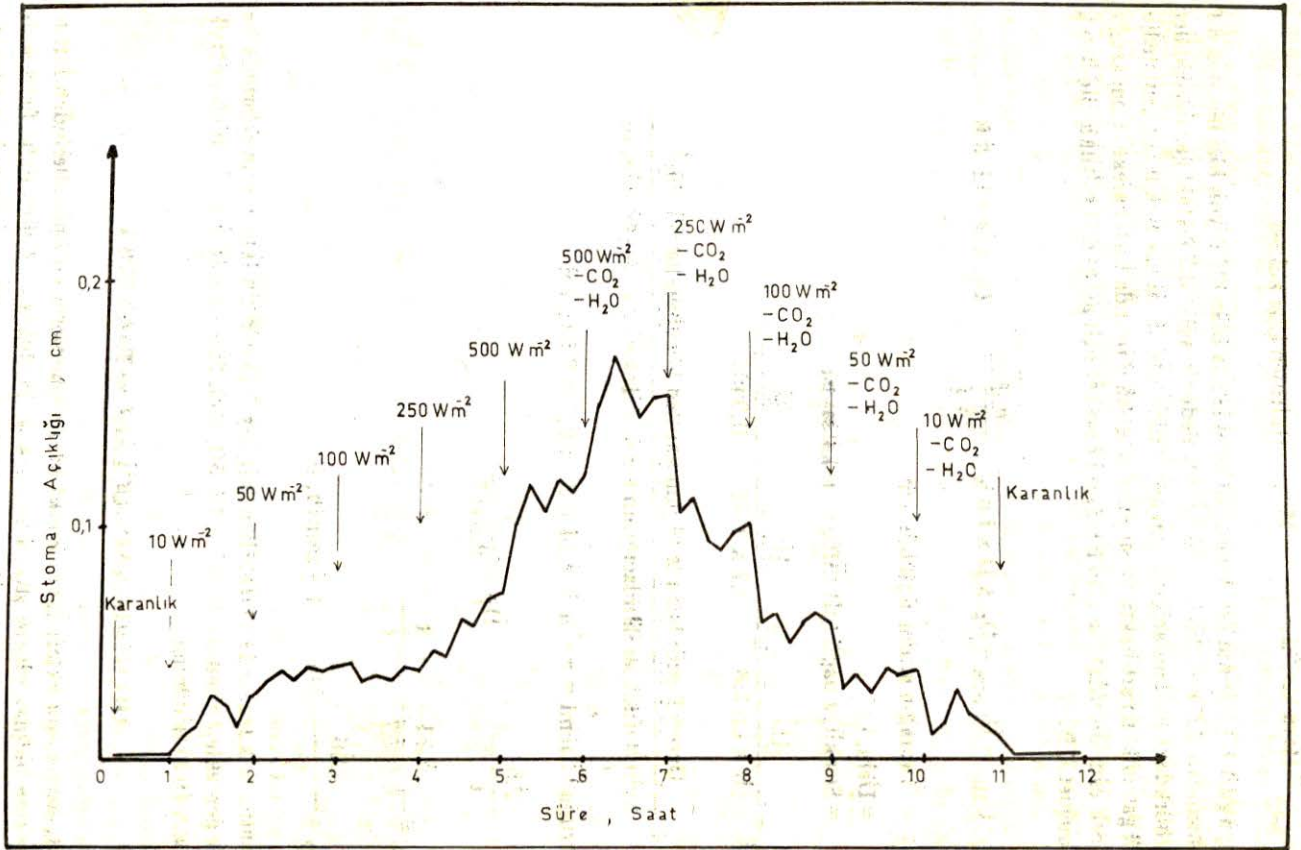
$$D_p = \frac{2,51}{0,9457} \times \frac{1}{t}$$

$$D_p = \frac{2,66}{t}, \text{cm} \quad t = \text{zaman, sn}$$

Kontrollü koşullarda yetiştirilen buğday bitkilerinin ikinci yapraklarında bu yöntemle gerçekleştirilen ölçümlerde 10, 50, 100, 250 ve 500 W.m⁻² gibi 5 değişik ışık yoğunluğu kullanılmıştır.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Işık, stoma açıklıkları üzerine etki eden etmenlerin en önemlilerinden birisidir. Gerçekten buğday bitkisi stomaları, ışık yoğunlukları arttıkça daha fazla açılma göstermişlerdir. Şekil: 2'de normal atmosfer koşullarında ayrımlı ışık yoğunluklarının buğday stomaları üzerine etkileri görülmektedir. Şeklin incelenmesinden anlaşılacağı gibi stoma açıklıkları, ışık yoğunlukları ile birlikte bir artış göstermiş



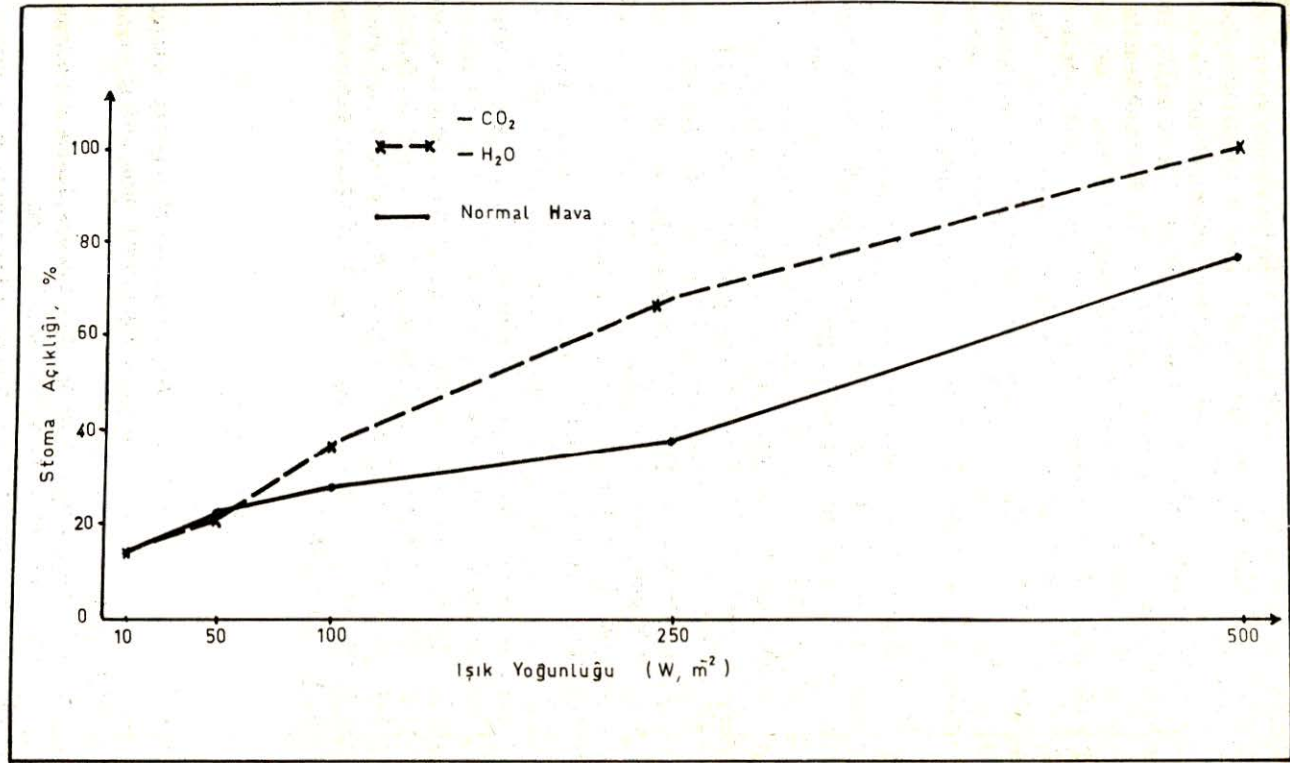
Şekil: 2
Ayrımlı ışık yoğunluklarının buğday bitkisi stoma açıklıkları üzerine etkileri

ancak bu artış düzenli olmamıştır. Her ışık yoğunluğu için altı ölçüm yapılmış olup bu ölçüm değerleri birbirlerinden önemli ölçüde ayrımlılık göstermişlerdir. Ancak ışık yoğunluğu altında stoma açıklıklarında görülen bu ayrımlılıklar, stomaların ritmik olarak açılıp kapanmalarından ileri gelmektedir. Bununla beraber ayrımlı ışık yoğunlukları ile stoma açıklıkları arasında istatistiksel yönden ($P < 0,01$) düzeyinde önemli bir ilişki saptanmıştır. 500 W.m^{-2} ışık yoğunluğu altında normal hava koşullarındaki stoma açıklığı yüz kabul edildiğinde 250 W.m^{-2} de % 49,57; 100 W.m^{-2} de % 36,75; 50 W.m^{-2} de % 29,91; 10 W.m^{-2} de % 17,09 oranında açılma göstermişlerdir. Buradan da görüldüğü üzere ışık yoğunluğu 250 W.m^{-2} den 500 W.m^{-2} ve iki kez arttığında stoma açıklığı da iki kez artış göstermiştir. Ancak bu ilişki diğer ışık yoğunluklarında aynı düzeyde bulunamamıştır. Ferron ve ark. (1982), *Sechium edule* bitkisi stomalarını 50 , 250 ve 500 W.m^{-2} ışık yoğunlukları altında incelemişler, ışık yoğunluğunun 250 W.m^{-2} den, 500 W.m^{-2} ye artması durumunda bu bitkinin stoma açıklığının da $2,4$ kez artış gösterdiğini saptamışlardır.

Bitkilerin stoma açıklıkları ortamdaki karbondioksit konsantrasyonu ve bağıl nem ile de çok yakından ilgilidir. Bu nedenle benzer koşullar altında yetiştirilen buğday bitkilerinin stoma açıklıkları 10 , 50 , 100 , 250 ve 500 W.m^{-2} ışık yoğunlukları altında, bağıl nem ve karbondioksit içermeyen bir ortamda ölçülmüşlerdir (Şekil 2). 500 W.m^{-2} ışık yoğunluğu altında bağıl nem ve karbondioksit içermeyen bir ortamdaki stoma açıklığı yüz kabul edildiğinde 250 W.m^{-2} de % 67,97; 100 W.m^{-2} de % 37,25; 50 W.m^{-2} de % 23,53; 10 W.m^{-2} de % 14,38 oranında açılış göstermişlerdir. Humbert ve Guyot (1981) *Tradescantia albiflora* yapraklarında elektron mikroskopu ile yapmış oldukları incelemelerde karanlık ve normal havada tüm stomaların kapalı olmalarına karşın, bağıl nem ve karbondioksit içermeyen ortamın aydınlatılması durumunda stomaların en yüksek açılmayı meydana getirdiklerini saptamışlardır. Gerçekten 500 W.m^{-2} ışık yoğunluğu altında bağıl nem ve karbondioksit içermeyen bir ortamdaki stoma açıklığı en yüksek değeri vermiştir (Şekil 3). Şeklin incelenmesinden anlaşılacağı gibi 10 W.m^{-2} ile 50 W.m^{-2} ışık yoğunluklarında normal hava ile bağıl nem ve karbondioksitsiz hava arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Ancak 100 W.m^{-2} ışık yoğunluğundan itibaren bir farklılık ortaya çıkmıştır. Elde edilen sonuçlara göre düşük ışık yoğunluklarında, ışık etmesinin stoma açıklıkları üzerine etkisi atmosferde bulunan bağıl nem ve karbondioksit miktarı kadar önemli olmaktadır.

LİTERATÜR

- Bingham, G.E., H.H. Rogers and W.W. Heck. 1981. Responses of plants to elevated carbon dioxide in the field: Photosynthesis, Photorespiration and stomatal conductance. *Plant Physiology*. 67(4): 84.
- Coic, Y. et C. Lesaint. 1975. La nutrition minerale et en eau des plantes en horticulture avancee. Document Technique de la S.C.P.A., 23: 1-22.
- Domergue, M.F. 1978. Interrelations entre la pollution par l'ozone et le mouvement des stomates chez les vegetaux Thesedoct de 3^e cycle. Paris. P. 90.



Şekil: 3
Ayrımlı ışık yoğunluklarında normal hava ile bağıl nem ve karbondioksit içermeyen havanın buğday bitkisi stoma açıklıkları üzerine etkileri

- Ferron F., A. Coudret, C. Zinsou et C. Costes, 1982. Action de l'énergie lumineuse incidente sur le métabolisme photosynthétique de la christophine (*Sechium edule*), *Agronomie* 2(7).
- Humbert, C. et M. Guyot. 1981. Observation épiscopique in vivo des modifications des cellules stomatiques et des cellules épidermiques provoquées par des variations d'éclairage et de teneur en CO₂. *Physiologie végétale*, 19(2) 167-175.
- Kuiper, P.J.C. 1961. The effects of environmental factors on the transpiration of leaves, with special reference to stomatal light response *Meded. Landb. Hoogsh. Wageningen*. 61: 1-49.
- Louguet, F. 1965. Sur une méthode d'étude du mouvement des stomates utilisant la diffusion de l'hydrogène à travers les feuilles. *Actes du Coll de Montpellier UNESCO*, 307-316.
- Louguet, F. 1971. Recherches sur les mécanismes des mouvements stomatiques du *Pelargonium x hortorum* particulièrement à l'obscurité et sous l'action du gaz carbonique. *Thèse de Doctorat d'Etat, Université PARIS VI*, p. 101.
- Louguet, F. 1980. Les stomates: caractères principaux et mécanismes de leur mouvement dans photosynthèse et production végétale. *Ouvrage Collectif publié par C. Costes ed. Bordas*, p. 195-217.
- Meinder, H. et Mansfield, T.A. 1968. The measurement of stomatal aperture. In, *Physiologie of stomata*. Mc Graw Hill Publ. Comp. London, 26-48.
- Queiroz, O., 1976. Chronobiologie du système CAM: les rythmes de capacité enzymatique sont-ils des mécanismes régulateurs? *Physiologie végétale*, 14(3), 629-639.