

Akdeniz Bitki Coğrafyası Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı Çalı Türlerinde Nitrat Redüktaz Aktivitesi (NRA)

Hülya ARSLAN^{1*}, Serap KIRMIZI², F. Selcen SAKAR¹, Gürcan GÜLERYÜZ¹

¹Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı 16059 Görükle, Nilüfer, Bursa-TURKEY

²Uludağ Üniversitesi, Gemlik Asım Kocابiyık Meslek Yüksekokulu, Bitkisel Üretim Programı, Gemlik Bursa-TURKEY

*Corresponding author: arslanh@uludag.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, Akdeniz bitki örtüsünün egemen olduğu alanlardan toplanan 14 adet çalı türünün [*Arbutus unedo* L. (Ericaceae), *Paliurus spina-christi* Miller (Rhamnaceae), *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae), *Quercus cerris* L., *Q. coccifera* L., *Q. robur* L., *Q. trojana* T.B. Veb. (Fagaceae), *Jasminum fruticans* L., *Phillyrea latifolia* L. *Olea europaea* L. (Oleaceae), *Cistus creticus*, *C. laurifolius* (Cistaceae), *Pyrus amygdaliformis* (Rosaceae), *Ailanthus altissima* Miller (Simaroubaceae)] yaprak, genç sürgün ve üreme organları (çicek-meyve) Nitrat Redüktaz Aktivitesi (NRA) araştırıldı. Bitki organlarındaki NRA değerlerine göre türler arasında anlamlı fark tespit edildi ($P<0.05$). Araştırılan türlerin çoğunda yaprak nitrat redüktaz aktivitesi yüksek olmasına karşın nitratın çoğunlukla indirgendiği bitki kısımlarının türe özgü olduğu belirlenmiştir. *Paliurus spina-christi* türünde nitrat çoğunlukla yapraklarda indirgenirken (NRA: 2.74 ± 0.60 mmol NO₂⁻ g⁻¹KM· saat⁻¹), *Jasminum fruticans*'ta üreme organlarında indirgenmemektedir (NRA: 1.53 ± 0.32 mmol NO₂⁻ g⁻¹KM· saat⁻¹). Çalı türlerinin yapraklarındaki nitrat redüktaz aktivitesi ile topraklarındaki aktuel NO₃⁻ içeriği arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemesine karşın ($P>0.05$) genç sürgün ve çicek-meyve kısımlarının NRA'sı ile topraktaki nitrat içeriği arasında anlamlı pozitif ilişki tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Anahtar Kelimeler: Akdeniz, çalı, mineral N, Nitrat Redüktaz Aktivitesi (NRA).

Nitrate Reductase Activity (NRA) in Some Shrub Species from Mediterranean Environment

Abstract

In this study, Nitrate Reductase Activity (NRA) in different organs (leaf, shoot and flowers-fruits) of 14 shrub species [*Arbutus unedo* L. (Ericaceae), *Paliurus spina-christi* Miller (Rhamnaceae), *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae), *Quercus cerris* L., *Q. coccifera* L., *Q. robur* L., *Q. trojana* T.B. Veb. (Fagaceae), *Jasminum fruticans* L., *Phillyrea latifolia* L. *Olea europaea* L. (Oleaceae), *Cistus creticus*, *C. laurifolius* (Cistaceae), *Pyrus amygdaliformis* (Rosaceae), *Ailanthus altissima* Miller (Simaroubaceae)] was investigated. The significant differences were found among shrub species according to examined plant organs ($P<0.05$). Although NRA was high in leaves of many species, nitrate assimilation properties of Mediterranean shrubs was specific to species. The highest NRA was found in the leaves of *Paliurus spina-christi* (2.74 ± 0.60 mmol NO₂⁻ g⁻¹KM· saat⁻¹) whereas it was found in the generative organs of *Jasminum fruticans* (1.53 ± 0.32 mmol NO₂⁻ g⁻¹KM· saat⁻¹). The significant positive correlation was not found between leaf NRA and actuel NO₃⁻ in surrounding soils ($P>0.05$). But it was found between other plant compartments (shoots and generative orgnas) and actaul NO₃⁻ content in the soils ($P<0.05$).

Keywords: Mediterranean, mineral N, Nitrate Reductase Activity (NRA), shrub.

Arslan H, Kirmizi S, Sakar FS, Guleryuz G (2009) Akdeniz Bitki Coğrafyası Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı Çalı Türlerinde Nitrat Redüktaz Aktivitesi (NRA). Ekoloji 18, 71, 49-56.

GİRİŞ

Azot birçok ekosistemde bitki gelişimini belirleyen en önemli elementtir. Bitkilerin temel azot kaynakları topraktaki amonyum (NH₄⁺) ve nitratır (NO₃⁻). Kökler tarafından alınan nitrat organik bileşiklerin yapısına girmeden önce

amonyağa indirgenir. Nitratın amonyağa indirgenmesi iki enzim tarafından yürütülür: Nitratı nitrite (NO₂⁻) indirgeyen Nitrat Redüktaz (NR) ve nitrite amonyağa indirgeyen Nitrit Redüktaz (NIR). Ko-faktör olarak molibdene gereksinim duyan nitrat redüktaz ışığa bağlı olarak iş görür ve günlük bir

Geliş: 13.01.2009 / Kabul: 16.02.2009

aktivite modeline sahiptir. NR molekülü flavin adenin dinükleotid (FAD), Sitokrom (Cyt.) ve molibden içeren prostetik gruptara sahiptir. Substratı tarafından uyarılabilen bir enzim olup, nitrat redüktaz aktivitesinin (NRA) bitkinin dış ortamındaki nitrat varlığını yansittığı ifade edilmektedir (Stadler ve Gebauer, 1992). Nitrat redüktaz indirgenme reaksiyonlarının ilk kademesini düzenlediği için yüksek bitkilerin azot beslenmesinde anahtar olarak kabul edilir ve bu enzimin aktivitesi ekolojik çalışmalarda nitrat varlığı indikatörü olarak kabul edilir (Gebauer ve ark., 1988; Lodhi ve Ruess, 1988).

Yüksek bitkilerin çoğu azot kaynağı olarak nitratı kullanır. Fakat bitki türleri azot özümleme yeteneği açısından farklılık gösterir. Gerek tür içerisinde gerekse türler arasında habitat ile ilişkili olan nitrat özümleme yeteneğindeki farklılıklar çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir (Högberg ve ark., 1986). Ayrıca, bitkilerin organları (toprak altı ve toprak üstü) arasında nitrat özümleme yeteneği açısından farklılıklar vardır (Jiang ve Hull, 1999).

Bitki türlerinin çoğunda nitrat hem kök hem de toprak üstü kısımlarda indirgenir. Odunsu türlerde nitratın tercihen köklerde indirgendiği kabul edilmiş olmasına karşın, daha sonra yapılan çalışmalarla CO₂ indirgeyen organların da nitrat özümleme yeteneğine sahip oldukları rapor edilmiştir (Gebauer ve Schulez, 1997). Nitratın kök ve gövdede indirgenmesi topraktaki azotun formu (sadece nitrat veya hem nitrat hem amonyum bulunması) ve nitrat miktarı ile ilişkilidir (Blevins, 1989). Toprakta amonyum varlığında ağaçlarda nitrat indirgenmesi yavaşlayabilir (Yandow ve Klein, 1986; Pietiläinen ve Lähdesmäki, 1988) veya toprakta nitrat miktarı arttıkça gövdenin toplam azot özümlemesinde katkısı artar. Bu artış ise köklerdeki nitrat indirgenme sürecinin doygunluğa ulaşması ile açıklanabilir (Titus and Kang, 1982; Gojon ve ark., 1991).

Bitkilerin nitrat özümleme yetenekleri ve nitrat redüktazın karakteristiklerilarındaki çalışmalar çoğunlukla kontrollü şartlarda gerçekleştirilen bitkiler ile yapılmaktadır. doğal ekosistemlerdeki bitkilerin nitrat özümlemesilarındaki kısıtlıdır. Bu çalışmada Akdeniz bitki coğrafyası bölgесine ait bazı çali türlerinin farklı organlarındaki nitrat redüktaz aktivitesi ve bu türlerin topraklarındaki aktuel mineral azot ($N_{min} = NH_4^+ - N$ ve $NO_3^- - N$) belirlenerek bu ekosistemlerde nitrat özümlemesini

hakkında bilgi elde etmek hedeflenmiştir.

MATERIAL

Bu çalışmada Akdeniz bitki örtüsünün hakim olduğu Bursa şehri civarında yayılış gösteren 14 adet çali türü seçilmiştir: *Arbutus unedo* L. (Ericaceae), *Paliurus spina-christi* Miller (Rhamnaceae), *Pistacia terebinthus* L. (Anacardiaceae), *Quercus cerris* L., *Q. coccifera* L., *Q. robur* L., *Q. trojana* T.B. Webb. (Fagaceae), *Jasminum fruticans* L., *Phillyrea latifolia* L. *Olea europaea* L. (Oleaceae), *Cistus creticus*, *C. laurifolius* (Cistaceae), *Pyrus amygdaliformis* (Rosaceae), *Ailanthus altissima* Miller (Simaroubaeae). Bu türlerin habitatlarından alınan toprak örnekleri (yaklaşık 0-15 cm) de toprakta mevcut mineral azot varlığını belirlemek için kullanılmıştır.

YÖNTEM

Örnekleme ve NRA testi

Bitki örnekleri Bursa'ya yaklaşık 20 km uzaklıkta yer alan Trilye (Mudanya), Hasanağa ve Uluabat bölgelerinden toplanmıştır. Bursa'da yıllık ortalama yağış 696.5 mm olup en yağışlı mevsim kış, en kurak mevsim ise yazdır (KISY). Yıllık ortalama sıcaklık ise 14.6°C'dir (Güleryüz, 1992). Bitki örneklerinin toplandığı alanların genel özellikleri ve bu bölgelerden seçilen türler Tablo 1'de verilmiştir. Bu bölgelerde maki elemanları doğal bitki örtüsünü oluşturur. Bu çalışmada kullanılan çali türlerine ilave olarak *Ruscus* sp., *Spartium junceum*, *Calycotome villosa*, *Salvia* sp., *Helianthemum* sp., *Thymus* sp., *Asparagus* sp., *Laurus nobilis*, *Erica arborea*, *Clematis viticella*, *Rubus idaeus* gibi türler Akdeniz bitki coğrafyası bölgесine ait türlerdir.

Örnekleme her bölgeden yaklaşık 400 m² büyülüğündeki alandan yapılmış olup bitki örneklerine ait toprak üstü kısımları 16.05.2008-12.06.2008 tarihleri arasında 09:00 ile 11:00 saatleri arasında toplanmıştır. Yaklaşık 200-300 g toprak örneği her bitki örneğinin yakınından alınmış ve 4 mm standart elekle elendikten sonra plastik torbalara konmuştur. Bitki ve toprak örnekleri buz kutusu ile mümkün olan en kısa süre içerisinde laboratuara getirilmiştir.

Toprakta aktuel mineral azot ($NH_4^+ - N$ ve $NO_3^- - N$) tayini mikro-destilasyon yöntemi ile yapılmıştır (Bremner ve Keeney, 1965' göre Gerlach, 1973). Toprak örneklerden 40 g örnek alınarak 500 ml'lik erlen-mayer içine konmuş, üzerine 100 ml %1'lük $KAl(SO_4)_2$ çözeltisi ilave edildikten sonra düşey dönerli çalkalama cihazında 7 dakika/devir'de 30 dakika çalkalandı ve Whatman 42 süzme kağıdı ile

Tablo 1. Araştırılan türlerin toplandığı alanlar ve özellikleri

Alan ve tür	Habitat	Anakaya	Yükseklik(m)
Trilye (Mudanya) <i>Olea europaea</i> <i>Cistus creticus</i> <i>Quercus coccifera</i> <i>Arbutus unedo</i>	Yol kenarı	Kumtaşı	100-110
Uluabat <i>Pyrus amygdalus</i> <i>Phillyrea latifolia</i> <i>Paliurus spina-christi</i> <i>Jasminum fruticans</i> <i>Olea europaea</i> <i>Pistacia terebinthus</i>	Korunan fundalık	Kumtaşı	140-200
Hasanağa <i>Olea europaea</i> <i>Quercus cerris</i> <i>Quercus robur</i> <i>Quercus trojana</i> <i>Phillyrea latifolia</i> <i>Paliurus spina-christi</i> <i>Cistus creticus</i> <i>Cistus laurifolius</i> <i>Pistacia terebinthus</i> <i>Arbutus unedo</i> <i>Ailanthus altissima</i>	Bozuk fundalık	Kumtaşı	100-120

süzülerek gerekli süzülmüştür. Elde edilen toprak süzüntüsünden 20'şer ml üzerine mikro-kjeldahl cihazında MgO (0.2 g) ilave edilerek NH_4^+ -N, aynı süzüntüye Devardas (0.2 g) ilave edilerek NO_3^- -N, geri soğutucu altında % 2'lük 5 ml borik asit ve 200 μl karışık indikator içeren altlıkta amonyak şeklinde toplanan mineral azot 0.005 N H_2SO_4 ile geri titre edilerek volumetric olarak tayin edilmiştir. Aktüel mineral azot tayininin belirlenmesi gerekli toprak nem değeri ise taze toprak örneklerinin yaş ağırlıkları sabitleşinceye kadar (24 saat, 105°C) etüvde kurutulması ile tespit edilmiştir.

NRA testi bitkilerin yaprak, genç sürgün ve üreme organlarından (çiçek-meyve) alınan materyale uygulanmıştır. Seçilen türlerden *Q. robur* ve *Q. trojana* türlerinin çiçek veya meyva kısımlarına

NRA testi uygulanmamıştır. NRA testi, inkübasyon ortamında bırakılan bitkisel materyal tarafından üretilen nitritin absorbansını ölçen spektrofotometrik bir yönteme dayanır (Hageman and Hucklesby, 1971; Jaworski, 1974; Gebauer, 1984). NRA testi iki aşamada yürütülür: İlk aşamada distile su ile yıkanan bitki örneklerinden 8-10 mm'lik boyutlara sahip parçalar kesilir. Bitki materyali vakum işlemi ve azot gazi ilavesinden sonra 5 ml inkübasyon tamponunda (0.08 M KNO_3 , 0.25 M KH_2PO_4 , %1.5 n-proanol) 30°C'de 2 saat süre ile inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda bitkisel materyal inkübasyon tamponundan alınır ve 105°C'de ağırlığı sabit kalıncaya kadar kurutulur. NRA testinin ikinci aşamasında nitrit % 0.1 N-naftiletilendiamin % 5

Tablo 2. Nitrat redüktaz aktivitesi (NRA) araştırılan türlerin topraklarındaki aktüel mineral azot ($\text{NH}_4^+ \text{-N}$ ve $\text{NO}_3^- \text{-N}$) (mg/100 g kuru toprak) değerlerine göre karşılaştırılması

Türler	n	$\text{NH}_4^+ \text{-N}_{\min}$			$\text{NO}_3^- \text{-N}_{\min}$		
<i>Olea europaea</i>	8	0.66 ^a	±	0.11	0.37 ^{ab}	±	0.11
<i>Quercus coccifera</i>	3	0.65 ^a	±	0.00	0.28 ^{bc}	±	0.00
<i>Quercus robur</i>	5	0.59 ^a	±	0.08	0.29 ^{bc}	±	0.05
<i>Quercus cerris</i>	5	0.59 ^a	±	0.08	0.29 ^{bc}	±	0.05
<i>Quercus trojana</i>	5	0.59 ^a	±	0.08	0.29 ^{bc}	±	0.05
<i>Pyrus amygdalus</i>	4	0.71 ^a	±	0.11	0.45 ^a	±	0.08
<i>Phylleria latifolia</i>	9	0.68 ^a	±	0.12	0.40 ^{ab}	±	0.09
<i>Paliurus spina-christii</i>	7	0.63 ^a	±	0.14	0.39 ^{ab}	±	0.12
<i>Cistus laurifolius</i>	6	0.67 ^a	±	0.13	0.34 ^b	±	0.07
<i>Cistus creticus</i>	9	0.66 ^a	±	0.10	0.32 ^{bc}	±	0.06
<i>Jasminum fruticans</i>	3	0.68 ^a	±	0.11	0.47 ^a	±	0.07
<i>Pistacia terebinthus</i>	9	0.65 ^a	±	0.13	0.41 ^{ab}	±	0.12
<i>Arbutus unedo</i>	6	0.68 ^a	±	0.05	0.32 ^{bc}	±	0.04
<i>Alianthus altissima</i>	3	0.56 ^a	±	0.13	0.25 ^{bc}	±	0.04

sülfanilamid eklenerek 540 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okunur ve NRA iki aşamada belirlenen değerler mmol $\text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM}$ saat⁻¹ olarak ifade edilir.

Yaprak, genç sürgün ve üreme organları için belirlenen NRA değerleri ve topraklarındaki mineral azot ($\text{NH}_4^+ \text{-N}$ ve $\text{NO}_3^- \text{-N}$) değerleri açısından türler arasındaki farklılıklar tek yönlü Varyans analizi ile test edilmiş, fark grupları Tukey testi kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca, NRA değerleri ile topraktaki nitrat içeriği arasındaki korelasyon ortaya konmuştur. İstatistik analizler a: 0.05 anlamlılık düzeyinde MICROSTA paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

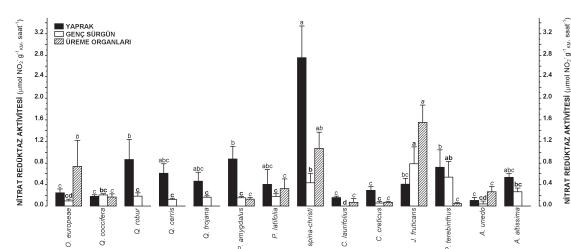
Araştırmada kullanılan 14 adet bodur çalı türünün topraklarında tayin edilen mineral azot ($\text{NH}_4^+ \text{-N}$ ve $\text{NO}_3^- \text{-N}$) değerleri Tablo 2'de verilmiş olup topraktaki NH_4^+ açısından türler arasında anlamlı fark tespit edilmemiş iken ($P>0.05$) $\text{NO}_3^- \text{-N}$ açısından türler arasındaki fark anlamlıdır ($P<0.05$). En yüksek $\text{NO}_3^- \text{-N}$ miktarı *J. fruticans* topraklarında tayin edilmiştir ($0.47 \pm 0.07 \text{ mg}/100 \text{ g}$ kuru toprak). Ayrıca, *P. amygdalus*, *P. latifolia*, *P. terebinthus* ve *P. spina-christi* türlerinin topraklarında da nitrat içeriklerinin yüksek olduğu gözlenmiştir

(Tablo 2).

Kullanılan 14 adet bodur çalı türünün yaprak, genç sürgün ve üreme organlarındaki ortalama nitrat redüktaz aktivitesi değerleri Şekil 1'de verilmiş olup bu değerler açısından türler arasındaki fark anlamlıdır ($P<0.05$).

Yaprakta tayin edilen NRA değerleri 2.74 ± 0.60 ve $0.10 \pm 0.05 \text{ mmol } \text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{ saat}^{-1}$ arasında değişmekte olup en yüksek nitrat redüktaz aktivitesi *Paliurus spina-christi* türünün yapraklarında tespit edilmiştir ($P<0.05$) (Şekil 1). Bu türün ortalama NRA değerlerine en yakın yaprak NRA değerleri *Pyrus amygdalus* ve *Quercus robur* türlerinde belirlenmesine karşın bu türler *Paliurus spina-christi* türü ile aynı grupta yer almamıştır (sırasıyla; 0.88 ± 0.23 ve $0.87 \pm 0.37 \text{ mmol } \text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{ saat}^{-1}$). En düşük yaprak NRA değeri ise *Arbutus unedo* türünde tespit edilmiş olmakla beraber ($0.10 \pm 0.05 \text{ mmol } \text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{ saat}^{-1}$) *Olea europaea*, *Quercus coccifera*, *Cistus laurifolius*, *Cistus creticus* türlerinin yapraklarında da benzer NRA değerleri ölçülmüştür (Şekil 1).

Quercus coccifera ve *J. fruticans* hariç incelenen çalı türleri arasında genç sürgünlerde belirlenen nitrat redüktaz aktivitesi yapraklardaki NRA değerlerinden düşüktür. Genç sürgünlerin nitrat



Şekil 1. Araştırılan türlerin farklı organlarında Nitrat Redüktaz Aktivitesi (NRA)

redniktaz aktivitesi açısından türler arasında anlamlı fark tespit edilmiştir ($P<0.05$) (Şekil 1). Fakat bu farklılık yaprak NRA değerleri için belirlenen farklılıkla benzer değildir. Örneğin, en yüksek yaprak NRA değeri *P. spinosa christi* türünde belirlenirken, genç sürgünlerin en yüksek NRA değeri *J. fruticans* türünde tespit edilmiştir (0.77 ± 0.31 mmol $\text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{saat}^{-1}$). *A. unedo*, *C. creticus*, *C. laurifolius*, *O. europaea* türlerinin genç sürgünlerinde belirlenen NRA değerleri 0.1 mmol $\text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{saat}^{-1}$ 'dan düşüktür (Şekil 1).

Bitkilerin üreme organlarında ölçülen nitrat redüktaz aktivitesi açısından da çalı türleri arasında anlamlı fark bulunmuştur ($P<0.05$). Bu organlarda en yüksek NRA değeri genç sürgün NRA değerinin de yüksek olduğu *J. fruticans* türünde belirlenmiştir (1.53 ± 0.32 mmol $\text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{saat}^{-1}$). *P. spinosa-christi* ve *O. europaea* türlerinin üreme organlarındaki nitrat redüktaz aktivitesinin diğer türlere göre yüksek olduğu belirlenmiştir (sırasıyla; 1.06 ± 0.29 mmol $\text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{saat}^{-1}$ ve 0.73 ± 0.31 mmol $\text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{saat}^{-1}$) (Şekil 1).

Çalı türlerinin yapraklarındaki nitrat redüktaz aktivitesi ile bu türlerin yetişikleri toprakların NO_3^- -N içeriği arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($P>0.05$). Diğer taraftan genç sürgün ve çiçek-meyve kısımlarının NRA'sı ile topraktaki nitrat içeriği arasında anlamlı pozitif ilişki tespit edilmiştir ($P<0.05$) (Tablo 3).

SONUÇ ve TARTIŞMA

Akdeniz bitki coğrafyası bölgесine ait olan çalı türlerinin yapraklarındaki nitrat redüktaz aktivitesinin değişim aralığı incelendiğinde, yapraklardaki nitrat redüktaz aktivitesinin bu türlerin azot beslenmesinde önemli rolü olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar nitratın bitkilerde hem gövde hem de köklerde indirgendiğini (Pate, 1973) gösteren ve odunsu türlerde nitratın yapraklarda da özümlendiğini rapor eden çalışmaların sonuçları ile

uyum sağlamaktadır (Smirnoff ve ark., 1984; Gebauer ve Schulze, 1997; Olsson ve Falkengreen-Gerup, 2003; Carelli ve Fahl, 2006). Ayrıca, bu çalı türlerinin yapraklarındaki nitrat redüktaz aktivitesi çeşitli araştırmacıların doğal alanlarda gelişen otsu türlerde belirlediği nitrat redüktaz aktivitesi değerlerine benzerdir. Örneğin, *J. fruticans* türünün yapraklarında belirlediğimiz NRA değeri (Şekil 1) Gebauer ve ark. (1988) tarafından Orta Avrupa'nın çeşitli doğal alanlarından alınan birçok otsu türün yapraklarındaki nitrat redüktaz aktivitesinden daha yüksektir. Aynı şekilde Högbom ve Ohlson (1991)'un İsveç'in orta kısımlarındaki bataklık alanlarda gelişen otsu türlerin yapraklarında belirlediği NRA değerleri ($0.00-1.41$ mmol $\text{NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{KM} \cdot \text{saat}^{-1}$) çalı türlerinin yapraklarındaki nitrat redüktaz aktivitesi ile benzerdir. Bu sonuçlar odunsu türlerin yapraklarının nitrat özümleme yeteneğinin araştırıldığı farklı çalışmalar tarafından da desteklenmektedir. *Q. robur* yapraklarında belirlediğimiz nitrat özümleme kapasitesi (Şekil 1) aynı türün İngiltere'de doğal yayılış gösteren bireylerinin nitrat özümleme kapasitesi ile benzerlik göstermektedir (Al Gharbi ve Hipkin, 1984). Thomas ve Hilker (2000) bu türün genç bireylerinin yüksek nitrat varlığında bile nitrat eğiliminin düşük olduğunu belirtmesine karşın bizim elde ettiğimiz NRA değeri bu türün yapraklarında nitrat indirgeme yeteneğinin olduğunu göstermektedir.

Diğer taraftan bu çalı türlerinin yapraklarındaki NRA değerleri Akdeniz bitki coğrafyası bölgесinin önemli hayat formlarından olan geofit türlerin yapraklarındaki NRA değişim aralığı içinde yer alır (Arslan ve Güler, 2005). Örneğin bu çalı türlerinin yapraklarındaki NRA değerleri, *Allium flavum*, *Allium guttatum*, *Fritillaria bithynica* gibi pek çok geofit türün NRA değerinden yüksektir. Fakat çalı türlerinin yapraklarındaki nitrat özümleme yeteneği şimdije kadar araştırılmış olan çöplük, bina ve yol kenarı gibi nitrat içeriği yüksek alanlarda yayılış gösteren ruderal türlerin yaprak NRA'sı ile karşılaştırıldığında bu özelliğin tür ile ilişkili olduğu görülmektedir. Nitekim çalı türlerinin yapraklarındaki nitrat indirgeme kapasitesi *Rumex obtusifolius*, *Lamium maculatum*, *Chenopodium album*, *Rumex olympicum*, *Verbascum olympicum* gibi türlerin yapraklarındaki NRA değerlerinden düşük iken (Al Gharbi ve Hipkin, 1984; Gebauer, 1988; Güler, 1999; Arslan ve ark., 2001), *Carduus olympicus* subsp. *olympicus* ve *Verbascum*

Tablo 3. Araştırılan türlerin farklı organlarındaki (yaprak, genç sürgün ve üreme organları) nitrat redüktaz aktivitesi (NRA) ($\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ KM saat}^{-1}$) ile bu türlerin topraklarındaki NO_3^- -Nmin (mg/100 g kuru toprak) değerleri arasındaki basit korelasyon katsayıları, anlamlılık düzeyleri ve regresyon denklemleri ($\alpha < 0.05$; $P < 0.05$ ilişki anlamlı, $P > 0.05$ ilişki anlamsız).

Parametreler	r	P	$Y = a + bx$
Yaprak-NRA	0.167	0.132	$\text{NRA} = 0.563 - 0.000x\text{NO}_3^- - \text{N}$
Genç sürgün-NRA	0.434	0.000	$\text{NRA} = 0.563 - 0.000x\text{NO}_3^- - \text{N}$
Çiçek-Meyve-NRA	0.347	0.026	$\text{NRA} = 0.563 - 0.000x\text{NO}_3^- - \text{N}$

cheiranthifolium türlerinin NRA değerlerine benzerdir (Gülgeryüz ve Arslan, 1999; Arslan ve ark., 2001). Bu sonuçlarda NR'in substrati tarafından uyarılabilmesinin (Solomonson ve Barber, 1990; Kaiser ve ark., 2002) türe özgü olduğunu ifade etmektedir. Ayrıca, çalışma sonuçlarımız bitkilerin yapraklarında nitrat indirgeme özelliğinin taksonomik anlamda tür düzeyinde farklı olduğunu vurgularken bu farklılığın familya düzeyinde de olduğunu ifade eden çalışma sonuçlarını desteklemektedir. Ericaceae türlerinin nitrat indirgeme kapasitesinin düşük olduğu çeşitli çalışmalarında (Lee ve Stewart, 1978; Gebauer ve ark., 1988) belirtilmiş olup araştırmamızda kullanılan ve Ericaceae üyesi olan *A. unedo* yapraklarında nitrat indirgeme kapasitesinin düşük olduğu türlerdendir.

Quercus coccifera ve *J. fruticans* türleri hariç araştırılan diğer türlerin toprak üstü organlarındaki nitrat asimilasyon modeline bakıldığından nitratın tercihen yapraklarda indirgendiği görülmektedir. Odunsu türlerin azot beslenmesi ilgili daha önceki çalışmalarında bu tür bir nitrat indirgenme modeli *Q. robur*, *Acer pseudoplatanus*, *Alnus glutinosa*, *Fraxinus excelsior* gibi türlerde de saptanmıştır (Stadler ve Gebauer, 1992; Gebauer and Schulze, 1997). *J. fruticans* türünün genç sürgünlerindeki yüksek nitrat redüktaz aktivitesi ise bu türün genç sürgünlerindeki dokuların içerdiği kloroplast miktarı ile ilişkilendirilebilir ve fotosentezle sağlanan ve indirgenme reaksiyonlarında kullanılan moleküllerin artmasına bağlanabilir (Marschner, 1995; Gebauer ve Schulze, 1997).

Doğal bitkilerin üreme organlarının nitrat

indirgeme kapasiteleri ile ilgili çalışma çok kısıtlı olup Arslan ve Gülgeryüz (2005) tarafından yapılan çalışmada bazı geofit türlerinin (*Bellevalia sarmatica*, *Muscaria neglectum*, *Anemone coronaria*, *Iris suaveolens*) çiçek kısımlarının bitkinin nitrat beslenmesinde rol aldığını göstermektedir. Araştırdığımız çali türleri arasında *J. fruticans* ve *P. spina-christi* türlerinin üreme organlarının nitrat redüktaz aktivitesi diğer türlerin bu organlarındaki NRA'dan yüksektir. Bu organlardaki yüksek NRA aktivitesi öncelikle bu organların kloroplast içeriği ile ilişkilendirilebilirken, *J. fruticans*'ta yüksek NRA içeriği ise türün topraklarındaki yüksek nitrat içeriğine bağlı olarak türün uyarılabilme özelliğinin yüksek olabileceğiğini düşündürmektedir. Bu organlarla toprak nitrat içeriği arasında belirlenen anlamlı pozitif ilişki de ($P < 0.05$) (Tablo 3) bunu desteklemektedir.

Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar bitki gelişiminin su ve besin varlığı tarafından sınırlandığı Akdeniz ekosistemlerine (Zengin ve ark. 2008) ait çali türlerinin azot beslenmesinde toprak üstü organların katkısı olduğunu göstermektedir. Nitekim (Trubat ve ark., 2008) Akdeniz bölgesi odunsu türlerinde kısa süreli azot eksikliğinin bitki gelişim performansını artırdığını tespit etmişlerdir. Toprak üstü organların nitrat indirgeme kabiliyetinin kuraklık ile ilişkili nitrat alınımının kısıtlanmasına karşı geliştirilen bir adaptasyon olduğunu düşündürmektedir. Bu anlamda bu sonuçlar Akdeniz iklim bölgelerinde gelişen bu türlerin azot beslenmesi ve ekolojileri ile ilgili temel bilgiler vermektedir.

KAYNAKLAR

- Al Gharbi A, Hipkin CR (1984) Studies on nitrate reductase in British angiosperms. I. Comparison of nitrate reductase activity in ruderal, woodland-edge and woody species. New Phytologist 7, 629-639.

- Arslan HU, Güleryüz G, Gökçeoğlu M (2001) A comparative study on nitrate reductase activity (NRA) of some endemic plants from Uludağ National Park. Anadolu University Journal of Science and Technology 2(1), 51-56.
- Arslan H, Güleryüz M (2005) A study on nitrate reductase activity (NRA) of geophytes from Mediterranean environmet. Flora 200, 434-443
- Blevins DG (1989) An Overview of Nitrogen Metabolism in Higher Plants. In: Poulton JE, Romeo JT, Conn EE (eds), Plant Nitrogen Metabolism. Recent Advances in Phytochemistry, Plenum Press, New York, Vol. 23, 1-41.
- Bremner JM, Keeney DR. (1965) Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Analytica Chemica Acta* 32, 485 - 495.
- Carelli MLC, Fahl JI (2006) Partitioning of nitrate reductase activity in *Coffea arabica* L. and its relation to carbon assimilation under different irradiance regimes. *Brazilian Journal of Plant Phytsiology* 18(3), 397-406.
- Gebauer G, Melzer A, Rehder H (1984) Nitrate content and nitrate reductase activity (NRA) in *Rumex obtusifolius* L. I. Differences in organs and diurnal changes, *Oecologia* 63, 136-142.
- Gebauer G, Rehder H, Wollenweber B (1988) Nitrate, nitrate reduction and organic nitrogen in plants from different ecological and taxonomic groups of Central Europea. *Oecologia* 75, 371-385.
- Gebauer G, Schulez E-D (1997) Nitrate nutrition of Central European forest trees. In: Rennenberg H, Eschrich W, Ziegler H (eds), Trees-Contribution to Modern Tree Physiology, Backhuys Publishers, Leiden, 273-291.
- Gerlach A (1973) Metdhodische Untersuchungen zur Bestimmung der Stickstoffnetto-mineralisation. *Scripta Geobotanica* (Göttingen) 5.
- Gojon A, Bussi C, Grignon C, Salsac L (1991) Distribution of NO_3^- reduction between roots and shoots of peachtree seedlings as affected by NO_3^- uptake rate. *Physiologia Plantarum* 82, 505-512.
- Güleryüz G, Arslan H (1999) Nitrate reductase activity in *Verbascum* L. (Scrophulariaceae) species from the Eastern Mediterranean in dependence of altitude. *Turkish Journal of Botany* 23, 89-96.
- Güleryüz G (1992) Uludağ alpin zonu bitki topluluklarında besin maddesi dolaşımı ve verimlilik üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Hageman RH, Hucklesby DP (1971) Nitrate Reductase from Higher Plants In: San Pietro A (ed), Methods in Enzymology, Academic Press, London, New York, 491-503.
- Högberg P, Granström A, Johansson T, Lundmark-Thelin A, Nasholm T (1986) Plant nitrate reductase activity as an indicator of availability of nitrate in forest soils. *Canadian Journal of Forest Research* 16, 1165-1169.
- Högblom L, Ohlson M (1991) Nitrate assimilation in coexisting vascular plants in mire and swamp forest habitats in Central Sweden. *Oecologia* 87, 495-499.
- Jaworski EG (1974) Nitrate reductase assay in intact plant tissues, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 43, 1274-1279.
- Jiang Z, Hull R J (1999) Partitioning of nitrate assimilation between shoots and roots of Kentucky bluegrass. *Crop Science* 39, 746-754.
- Kaiser WM, Weiner H, Kandlbinder A, Tsai CB, Rockel P, Sonoda M, Planchet E (2002) Modulation of nitrate reductase: some new insights, an unusual case and a potentially important reaction. *Journal of Experimental Botany* 53, 875-882.
- Lee JA, Stewart GR (1978) Ecological Aspects of nitrogen metabolism. *Advances in Botanical Research* 6, 1-43.
- Lodhi MAK, Ruess RW (1988) Variation in soil nitrifiers and leaf nitrate reductase activity of selected tree species in a forest community. *Soil Biology and Biochemistry* 20, 939-943.
- Marschner H (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press., London.
- Olsson MO, Falkengren-Grerup U (2003) Partitioning of nitrate uptake between trees and understory in oak forests. *Forest Ecology and Management* 179, 311-320.
- Pate JS (1973) Uptake, assimilatin and transport of nitrogen compunds by plants. *Soil Biology and Biochemistry* 5, 109-119.
- Pietiläinen P, Lähdesmäk P (1988) Effect of various concentrations of potassium nitrate and ammonium sulphate on nitrate reductase activity in the roots and needles of Scots pine seedlings in N Finland. *Annual Botany of Fennici* 25, 201-206.

- Smirnoff N, Todd P, Stewart GR (1984) The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Annals of Botany* 54, 363-374.
- Solomonson LP, Barber MJ (1990) Assimilatory nitrate reductase: functional properties and regulation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41, 225-253.
- Stadler J, Gebauer G (1992) Nitrate reduction and nitrate content in ash trees (*Fraxinus excelsior L.*): distribution between compartments, site comparison and seasonal variation. *Trees* 6, 236-240.
- Thomas FM, Hilker C (2000) Nitrate reduction in leaves and roots of young pedunculate oaks (*Quercus robur*) growing in different nitrate concentrations. *Environmental and Experimental Botany* 43, 19-32.
- Titus JS, Kang S-M (1982) Nitrogen metabolism, translocation, and recycling in apple trees. *Horticultural Review* 4, 204-246.
- Trubat R, Cortina J, Vilagrosa A (2008) Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal of Arid Environments* 72, 879-888.
- Yandow TS, Klein RM (1986) Nitrate reductase of primary roots of red spruce seedlings. *Plant Physiology* 81, 723-725.
- Zengin E, Aka Sağlıker H, Darıcı C (2008) Carbon Mineralization of *Acacia cyanophylla* Soils under the Different Temperature and Humidity Conditions. *Ekoloji* 18, 69, 1-6.