

**BORUN AYÇİÇEĞİ BİTKİSİNDE VEJETATİF BÜYÜME, PİGMENT, PROTEİN MİKTARI
VE PROTEİN PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Şefike ORTACA

**Dumlupınar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü YönetmeliĐi Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.**

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Hülya ÖLÇER

Haziran – 2005

KABUL ve ONAY SAYFASI

Şefike ORTACA' nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Borun ayçiçeği bitkisinde vejetatif büyüme, pigment, protein miktarı ve protein profili üzerine etkileri" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

29.07.05

(Sınav tarihi)

Üye : Prof. Dr. M. Sabri ÖZYURT

S. Özyurt

Üye : Prof. Dr. Ersin YÜCEL

Ersin Yücel

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hülya ÖLÇER

Hülya Ölçer

Fen Bilimleri Enstitüsü'nün Yönetim Kurulu'nun 09.08.05. gün ve ...12... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

S. Özyurt

Prof. Dr. M. Sabri ÖZYURT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BORUN AYÇİÇEĞİ BİTKİSİNDE VEJETATİF BÜYÜME, PİGMENT, PROTEİN MİKTARI VE PROTEİN PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Şefike Ortaca

Biyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2005

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Hülya ÖLÇER

ÖZET

Borun farklı gelişim evresinde olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* cv. Sanbro) bitkilerinde vejetatif büyüme, yaprak pigment, protein miktarı ve protein profili üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Ayçiçeği bitkileri içerisinde 10, 25, 100 ve 500 μM B içeren besin çözeltilerinde 24 gün kontrollü çevre şartlarında yetiştirilmiştir. Borun yapraklardaki gözle görülebilir etkileri 100 ve 500 μM B uygulanan bitkilerde görülen yaprak ucu ve kenarlarındaki nekrozlardır. Farklı B uygulamalarının gövde ve kök gelişimi üzerine 10. ve 17. günlerde önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Fakat 24. günde gövde uzunluğu B konsantrasyonunun artmasına paralel olarak azalmış ve 500 μM B' da gövde büyümesi 10 μM B' a göre inhibe edilmiştir. Köklerde ise sadece kök yaş ağırlığı 500 μM B uygulanan bitkilerde diğer tüm uygulamalara göre düşmüştür. Bor uygulamalarının uygulama süresince kotiledon ve yaprak gelişimi üzerine bir etkisi görülmemiştir.

Yaprak klorofil ve karotenoid miktarının 17. günden 24. güne 10 ve 25 μM B uygulanan bitkilerde önemli oranda arttığı bulunmuştur. Fakat 24. günde klorofil ve karotenoid miktarında tüm B uygulamalarında önemli bir fark görülmemiştir. Toplam protein miktarı 10 μM B uygulanan bitkilerde 17. günden 24. güne önemli oranda düşmüştür. Fakat 25, 100 ve 500 μM B uygulanan bitkilerde ise protein miktarında her iki günde de önemli bir fark görülmemiştir. Bor uygulamalarına maruz kalan bitkilerde toplam protein profilinde 62 kDa proteininin diğer uygulamalara göre 10 μM B' da 17. günde bulunmadığı ve 24. günde belirmeye başladığı bulunmuştur. Ayrıca 50 kDa proteininin 500 μM B' da diğer uygulamalara göre arttığı bulunmuştur.

Her ne kadar ayçiçeği bitkilerinde vejetatif büyüme B eksikliği veya toksikliği tarafından etkilenmese de yaprakta pigment ve protein profilinde meydana gelen değişimlerin B stresine tolerans mekanizmasında rol alabileceği önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bağlı büyüme oranı, bor, eksiklik, pigment, stres proteinleri, toksiklik.

THE EFFECTS OF BORON ON VEGETATIF GROWTH, PIGMENT AND PROTEIN CONTENT AND PROTEIN PROFILE IN SUNFLOWER PLANTS

Şefike Ortaca

Department of Biology, M. S. Thesis, 2005

Thesis Supervisor: Asist. Prof. Hülya ÖLÇER

SUMMARY

The effects of boron on vegetatif growth, leaf pigment and protein content and protein profile were investigated in sunflower (*Helianthus annuus* cv. Sanbro) during different developmental stage. Sunflower plants were grown in nutrient solution containing 10, 25, 100 and 500 μM B for 24 days in a controlled enviroment. The visible effects of B on leaves were seen as necrosis of the leaf tips and margins in plants supplied with 100 and 500 μM B. The effects of B treatments on root and shoot growth were not apperent on the 10th and 17th days. On the other hand shoot elongation was decreased by increasing B concantration and shoot growth were inhibited by 500 μM B compared to 10 μM B on the 24 day. In roots, it was found that only root fresh weight was decreased by 500 μM B compared with other treatments. However, there were no significant difference in cotyledon and leaf development between all B treatments.

In the leaves of plants supplied with 10 and 25 μM B there were an increase in chlorophyll and carotenoid content from 17th to 24th day. However, on the 24th day there were no significant difference in chlorophyll and carotenoid content between all B treatments. The total protein content of 10 μM B treated plants decreased significantly from 17th to 24th day. However, in 25, 100 and 500 μM B treated plants there were no significant difference in protein content both on 17th and 24th days. As a result of B treatment, protein with relative moleculer weight of 62 kDa was lost in 10 μM B treated plants on 17th day and start to appear on 24th day compared to other treatmants. In addition 50 kDa protein was higher in 500 μM B than the others on both days.

Although vegetative growth of sunflower plants were not effected by deficient or toxic levels of B, it is suggested that changes in pigment and protein profile in leaves may have a role in the tolerance mechanism to B stress.

Key words: Boron, deficiency, pigments, relative growth rate, stress proteins, toxicity.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesinde büyük emeği geçen, hiçbir zaman ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Hülya ÖLÇER'e şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında desteğinden ve fikirlerinden yararlandığım hocalarım Prof. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN ve Yrd. Doç. Dr. Nüket Akanlı BİNGÖL'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, çalışmalarım sırasında maddi, manevi yardımlarından dolayı Arş. Grv. Betül AKIN'a ve aileme teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Bu çalışma Dumlupınar Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 53). Katkılarından dolayı D.P.Ü Araştırma Fonu Başkanlığına ayrıca teşekkür ederim.

Şefike ORTACA

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Toprakta Bor Eksikliğinin Sebepleri.....	1
1.2. Toprakta Bor Toksikliğinin Sebepleri.....	2
1.3. Bitkilerde Bor.....	2
1.3.1. Bitkilerde bor alınımı.....	3
1.3.2. Bitkilerde borun taşınımı.....	4
1.3.3. Bitkide borun dağılımı.....	5
1.3.4. Bitkilerde borun vejetatif büyüme üzerine etkileri.....	6
1.3.5. Bitkilerde borun reproduktif büyüme üzerine etkileri.....	7
1.4. Bitki Metabolizmasında Bor.....	8
1.4.1. Bor ve hücre duvarı.....	8
1.4.2. Bor ve fotosentez.....	9
1.4.3. Bor ve karbonhidrat metabolizması.....	10
1.4.4. Bor ve fenol metabolizması.....	10
1.4.5. Bor ve azot fiksasyonu.....	12
1.4.6. Borun diğer elementlerle ilişkisi.....	13
1.4.7. Adaptasyon mekanizmaları.....	14
1.5. Amaç.....	15
2. MATERYAL VE METOD.....	16
2.1. Çalışmada Kullanılan Kültür Çözeltilisinin Özellikleri.....	16
2.2. Fide Büyümesi.....	16
2.2.1. Kök ve gövde analizleri.....	16
2.2.2. Protein ve klorofil tayini.....	17
2.3. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi.....	18
2.4. İstatistik Analizler.....	18
3. SONUÇLAR.....	19
3.1. Farklı Bor Uygulamalarının Ayçiçeği Yapraklarındaki Fenotipik Etkileri.....	19
3.2. Farklı Bor Uygulamalarının Ayçiçeği Fidelerinde Vejetatif Büyüme Üzerine Etkileri.....	19
3.2.1. Gövde, kök, kotiledon ve yapraklar üzerine etkiler.....	19

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2.2. Kuru materyalin organlara göre dağılımı.....	26
3.2.3. Bağıl büyüme oranı.....	26
3.3. Farklı Bor Uygulamalarının Ayçiçeği Fidelerinde Yaprak Pigment ve Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	28
3.3.1. Pigment miktarı üzerine etkileri.....	28
3.3.2. Protein miktarı ve protein profili üzerine etkileri.....	30
4. TARTIŞMA.....	33
4.1. Borun Vejetatif Büyüme Üzerine Etkileri	33
4.2. Borun Pigment ve Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	34
KAYNAKLAR.....	37



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.4.1.1. Hücre duvarında bulunan rhamnogalacturonan II'nin yapısı ve bor kompleksinin oluşumu	9
1.4.4.1. Borun fenol metabolizması üzerine etkileri.....	12
3.1.1. Farklı B uygulamalarının yapraklar üzerindeki makroskobik ve mikroskobik etkileri.....	20
3.2.1.1. Bor uygulamalarının gelişiminin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinde gövde büyümesi üzerine etkileri.....	21
3.2.1.2. Bor uygulamalarının gelişiminin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinde kök büyümesi üzerine etkileri.....	22
3.2.1.3. Bor uygulamalarının gelişiminin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinde kotiledon ve yaprak büyümesi üzerine etkileri.....	24
3.2.1.4. Bor uygulamasının gelişimin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinin toplam bitki yaş ve kuru ağırlık üzerine etkileri.....	25
3.2.2.1. Bor uygulamalarının gelişimin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinde kuru materyalin kök, gövde, kotiledon ve yaprak dağılımı üzerine etkileri.....	27
3.3.1.1. Bor uygulamalarının ayçiçeği bitkisinde yaprak toplam klorofil ve karotenoid miktarı üzerine etkileri.....	29
3.3.2.1. Bor uygulamalarının ayçiçeği bitkisinde toplam protein miktarı üzerine etkileri.....	31
3.3.2.2. Borun ayçiçeği bitkilerinde yaprak protein profili üzerine etkileri.....	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>		<u>Sayfa</u>
1.1.	Tarımda yaygın olarak kullanılan boratlar.....	2
1.3.1.	Çeşitli bitki gruplarında bor içeriği.....	4
1.3.2.	Bor eksikliğine en hassas ve bor uygulamasına en iyi cevap veren türler	4
3.2.1.1.	Bor uygulamalarının ayçiçeği fidelerinde gövde, kök, kotiledon ve yaprak gelişimi üzerine etkileri.....	23
3.2.3.1.	Bor uygulamalarının ayçiçeği fidelerinde ortalama bağıl büyüme oranı üzerine etkileri.....	28



1. GİRİŞ

Bor (B) oldukça ilginç bir element olup doğada tek başına bulunmaz. Oksijenle bağ kurmaya yatkın olduğundan pek çok değişik oksijen bileşimi oluşturur. Basitten karmaşığa, sonsuz sayıda değişik molekül yapılarına sahip olabilen bu bor-oksijen bileşimlerine “borat” denilmektedir. Borun bu özelliğinden dolayı doğada yaklaşık olarak 230 değişik B minerali bulunduğu bilinmektedir [1, 2].

Dünyada en büyük borat yatakları, kimyasal çökeltme sonucu gölssel ortamlarda meydana gelmiştir. Borat oluşumlarına, gölssel ortamlar dışında, deniz ortamında oluşan tuz yatakları içinde de rastlanır. Bundan başka B mineralleri, yeraltındaki magmanın yeryüzüne doğru yükselirken kristalleşmesi sonucu da oluşabilir. Kirletilmiş sular, B madenlerinden çıkan artıklar ve kimyasal artıklar da topraktaki B’ un en yaygın kaynakları arasındadır [2].

Günümüzde B’ un çok çeşitli kullanım alanları vardır. Bunlardan bazıları, cam sanayii, seramik sanayii, temizleme ve beyazlatma sanayii, metalürji, nükleer uygulamalar, fotoğrafçılık, boya ve kağıt endüstrisi, tekstil kimyasalları, deri giysiler, kozmetik sanayii, böcek öldürücüler ve tarımdır [2, 3]. Tarımda inorganik gübre olarak kullanılabilen B formlarına örnekler çizelge 1.1. de verilmiş olup bunlardan borik asit ve boraks toprakta en kolay çözünebilir ve bitkiler tarafından kolaylıkla alınabilen formlardır. Bununla beraber suda borik asit ve boraks’ dan çok daha hızlı çözünebilir solubor ise genellikle B’ un direk olarak bitki yapraklarına uygulanan formudur [4].

1.1. Toprakta Bor Eksikliğinin Sebepleri

Dünyada son 60 yıl içinde 80’ den fazla ülkenin topraklarının B minerali bakımından fakir olduğu bildirilmiştir. Bunun bir sonucu olarak bugün yılda yaklaşık 15 milyon ha alana B uygulamasının yapıldığı bilinmektedir [3]. Toprakta B eksikliğine sebep olan faktörlerden bir tanesi B’ un yağmurla beraber $B(OH)_3$ formunda topraklardan hızlıca uzaklaşmasıdır. Bununla beraber toprak pH’ ının artmasıyla özellikle kalkerli topraklarda, $B(OH)_4$ ’ün oluşmasının bir sonucu olarak topraktaki B miktarı azalabilir. Kumlu ve çakıllı topraklarda da B’ un yağmurlarla beraber akıp gitmesi sonucu B eksikliği meydana gelebilir. Killi topraklar B’ u adsorbe ettikleri için ve kurak topraklarda da suyun azlığından dolayı B miktarı azalabilir [3, 5]. Yukarıdaki sebeplerden dolayı borca fakirleşmiş ve tarımsal amaçlı kullanılan toprakları ıslah etmek için toprağa B içeren gübreler eklenmesi gerekir.

Çizelge 1.1. Tarımda Yaygın Olarak Kullanılan Boratlar [3]

			B (%)
Rafine Ürünler	$\text{NaB}_4\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sodyum tetraborat pentahidrat	14.9
	$\text{Na}_2\text{B}_8\text{O}_{13} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Solubor	20.8
	$\text{NaB}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	Sodyum tetraborat dekahidrat	11.3
	NaB_4O_7	Sodyum tetraborat	21.4
	H_3BO_3	Borik asit	17.5
Maden Cevheri	$2\text{CaO} \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Kolemanit	Değişken
	$\text{Na}_2\text{O} \cdot 2\text{CaO} \cdot 5\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$	Üleksit	Değişken
	$2\text{CaO} \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Datolit	Değişken
	$\text{CaO} \cdot \text{MgO} \cdot 3\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Hidroborasit	Değişken
	$2\text{MgO} \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Askarit	Değişken

1.2. Toprakta Bor Toksikliğinin Sebepleri

Topraktaki B fazlalığı doğal olarak ana kaynağı deniz kökenli olan topraklarda, kurak ve yarı kurak bölgelerde yüksek B içeren suların sulama suyu olarak kullanılmasıyla, çok miktarda yerel gübreler kullanıldığında ortaya çıkabilir. Bununla beraber B fazlalığına neden olan diğer kaynaklarda kirletilmiş sular, B madenlerinden çıkan atıklar ve uçucu küldür [6]. Dünyanın farklı bölgelerinde bulunan B' ca zengin topraklar, B eksikliği görülen topraklardan az olsa da, bitkiler için toksik bir etkiye sahip olduklarından dolayı kullanılabilir tarım alanlarının azalmasına sebep olmaktadır [4, 7].

Yüksek B içeren toprakların iyileştirilmesi oldukça zordur. İyileştirmede yaygın olarak kullanılan metotlardan bir tanesi toprağın düşük seviyede B içeren sularla sulanması ve fazla B' un topraktan uzaklaştırılmasıdır. Diğer iyileştirme metotları ise toprağa kireç, kalsiyum sülfat gibi kalsiyumca zengin maddelerin uygulanması veya yüksek B' a toleranslı bitkilerin dikimidir. Örneğin, Amerika'da yüksek B içeren topraklarda *Festuca* türü (*Festuca arundinacea*) bitkilerin yetiştirilmesiyle ikinci yıl sonunda topraktaki B seviyesinin % 35 oranında düştüğü saptanmıştır [8].

1.3. Bitkiler ve Bor

Bor tohumlu bitkiler, diatomeler ve bazı yeşil alg türleri için gerekli bir mikroelement olmasına karşın fungi ve bakteriler tarafından ihtiyaç duyulmayan bir mikroelementtir ve bitkilerin B ihtiyacı molar konsantrasyon temel alındığında diğer mikro elementlerden en fazla olanıdır [9].

Bitkiler arasında B isteği açısından oldukça büyük farklılıklar vardır. Bitkiler B ihtiyaçları temel alınarak gruplandırıldığında; i) gramineler; B ihtiyacı en az, ii) diğer monokotiledon ve dikotiledon bitkiler; orta derecede, iii) lateks üreten bitkiler; en yüksek B ihtiyacı olan bitkiler olarak 3 gruba ayrılabilir. Bu gruplara ait bazı bitki örnekleri çizelge 1.3.1.'de verilmiştir. Diğer bir sınıflandırmada ise dikotiledon ve monokotiledonlar büyüme evreleri ve B eksikliği semptomlarının görüldüğü yerler temel alınarak gruplandırılmıştır. Bor eksikliğinde bazı dikotiledonlarda (ayçiçeği, domates, bal kabağı, yonca) kök büyümesinin inhibisyonu ve meristematik bölgenin dejenerasyonu ilk görülen etkiler olmasına rağmen diğer bazı dikotiledonlarda (bezelye, soya fasulyesi, acı bakla) ise büyüme noktalarında görülen bu dejenerasyon daha sonra ortaya çıkar. Ortamda B' un bulunmadığı koşullarda bazı monokotiledonlar (mısır, sorgum, darı, soğan) dikotiledonlara göre normal kök büyümesi ve vejetatif büyümeyi daha uzun bir süre devam ettirebilirler. Arpa, yulaf, çavdar ve buğday gibi monokotiledonlar B eksikliği semptomlarını sadece reproduktif organların gelişimi sırasında gösterirler [10, 11].

Dikotiledonlar arasında B eksikliğine en duyarlı familyaların Cruciferae ve Chenopodiaceae olduğu bildirilmiştir. Örneğin Cruciferae' den *Brassica sp.* ve *Raphanus sp.* ile Chenopodiaceae' den *Beta sp.*' nin B eksikliğine en duyarlı türler olduğu çok uzun zamandır bilinmektedir. Bor eksikliğine en hassas ve B uygulamasına en iyi cevabı veren türler çizelge 1.3.2.' de verilmiştir [3].

1.3.1. Bitkilerde bor alınımı

Bitkiler tarafından B' un alınım mekanizmaları üzerinde yapılan çalışmalar sonucu, B' un pasif veya aktif olarak alınabildiği ortaya çıkmıştır. Borun fazla ve yeterli bulunduğu koşullar altında B alınımı borik asitin pasif alınımının bir sonucudur [12, 13, 14]. Bu pasif alınım da B' un hücre membranından difüzyon ve akuaporin adı verilen taşıyıcı proteinler aracılığıyla geçtiği bildirilmiştir [15, 16]. Örneğin *Arabidopsis* ve kabakta yapılan çalışmalarda taşıyıcı proteinleri inhibe eden HgCl₂ uygulamasının B alınımını % 35 oranında azalttığı bulunmuştur [12].

Borun ortamda yeterli miktarda bulunmadığı koşullarda bitkiler tarafından aktif olarak alındığını gösteren bazı çalışmalar da vardır. Örneğin B eksikliğinde ayçiçeği ksilem özsuğu ve kök hücre özsuğundaki B konsantrasyonunun köklenme ortamındaki B konsantrasyonundan (1µM) 22 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu da B alınımının bir konsantrasyon gradiyentine karşı enerjiyle olduğunu gösteren bir kanıt olarak kabul edilmektedir [12]. Köklenme ortamında bulunan B konsantrasyonunun 100µM' a çıkartılmasıyla aktif alınım mekanizmasının engellendiği ortaya konulmuştur. Aktif B alınımının ortamdaki B konsantrasyonunun artması, kök zonunun düşük sıcaklıkta olması ve 2,4 dinitro fenol uygulanmasıyla engellendiği bulunmuştur [14].

Çizelge 1.3.1. Çeşitli bitki gruplarında bor içeriği (B, ppm kuru ağırlık) [11].

Monokotiller		Dikotiller		Latekse sahip Dikotiller	
Arpa	2.3	Bezelye	22	Karahindiba	80
Buğday	3.3	Pancar	49	Sütleşen	93
Mısır	5.0	Marul	70	Haşhaş	94

Çizelge 1.3.2. Bor eksikliğine en hassas ve B uygulamasına en iyi cevap veren türler [3].

Bitki Türü	Bitki Türü	Bitki Türü	Bitki Türü
<i>Apium graveolens</i> var. <i>Dulce</i>	Kereviz	<i>Eucalyptus</i> sp.	Ökalyptus
<i>Arachis hypogaea</i>	Yerfıstığı	<i>Gossypium</i> sp.	Pamuk
<i>Beta vulgaris</i>	Şeker pancarı	<i>Helianthus annuus</i>	Ayçiçeği
<i>Brassica</i> sp.	Brasica	<i>Malus domestica</i>	Elma
<i>Brassica rutabaga</i>	Turp	<i>Medicago sativa</i>	Yonca
<i>Coffea</i> sp.	Kahve	<i>Olea europaea</i>	Zeytin
<i>Daucus carota</i>	Havuç	<i>Pinus</i> sp.	Çam
<i>Elaeis guineensis</i>	Hurma	<i>Vitis vinifera</i>	Asma

Bu araştırmalar neticesinde kök hücreleri ve köklenme ortamı arasında B için bir konsantrasyon gradiyentinin bulunması B' un ya direkt olarak pasif difüzyonla ya da metabolik enerjiye bağlı olarak alındığını göstermektedir [12].

Bununla beraber transpirasyon oranı, B' un kökten gövdeye taşınımı ve bazı maddelerle kompleks yapma yeteneği ve membran kompozisyonu da bitkide B alımını etkiler. Örneğin steroller bitki membranında bulunan temel elemanlardır ve sterol miktarının fazla olmasının membran akışkanlığını azalttığı bilinmektedir. Neticede steroller su geçirgenliğini ve B un geçiş hızını etkileyebilir [12].

1.3.2. Borun taşınımı

Bir bitki türünün besin elementi stresi boyunca yaşama veya optimal büyümeyi gerçekleştirme kabiliyeti, topraktan besin maddelerini elde edebilme yeteneğine bağlıdır [12]. Bitkide besin maddelerinin taşınımına floem ve ksilemin katılımı türden türe ve her element için farklılık gösterir. Örneğin N, P, K, S ve Mg ya ksilem ya da floem içinde taşınabilirken Ca ve pek çok bitki türünde B' un floemde taşınımı sınırlıdır ve bu elementler büyümekte olan dokulara

sadece ksilem aracılığıyla taşınabilir. Gelişmiş yapraklarda bulunan immobil elementler, gelişmekte olan dokuların ihtiyacını karşılamak için ksilemde tekrar taşınamazlar ve dolayısıyla toprakta her zaman bulunmak zorundadırlar. Ksilemde taşınan bitkide sınırlı bir mobilitiye sahip Ca ve B gibi elementlerin ortamda bulunmaması meristematik büyüme ve özellikle reproduktif büyümenin hızlı bir şekilde inhibisyonu ile sonuçlanır.

Bor ksilemin yanında nadir de olsa floemde de taşınabilir. Bor alkol ve şeker içeren polihidroksil gruplarıyla kompleks yapma yeteneğindedir. Borun şekerlerle kompleks yapması yüksek bitkilerde B' un taşınımını kolaylaştırmaktadır. Bu şekerlere örnek olarak sorbitol, mannitol, fruktoz verilebilir [11]. Şeftali (*Prunus persica*), armut (*Pyrus sp.*), elma (*Malus sp.*), kurtbağrı (*Ligustrum sp.*), kereviz (*Apium graveolensis*) ve zeytin (*Olea sp.*) türlerinde B' un sorbitol, mannitol ve fruktoz gibi şekerlerle kompleks yaparak floemde taşınabildiği bildirilmiştir. [17, 18, 19, 20]. Kerevizin floem öz suyundan ve şeftalinin çiçek nektarından izole edilen özütlerde, B' un kerevizde mannitol-bor- mannitol, şeftali nektarında ise sorbitol-bor-sorbitol, fruktoz-bor-fruktoz ya da sorbitol-bor- fruktoz kompleksi olarak bulunduğu tespit edilmiştir [18, 21]. Fakat sükröz floemde taşınımı yapılan temel bir şeker olmasına rağmen B' la kompleks yapması zayıftır. Orneğin tütünde temel karbonhidrat sükrözdür ve bu bitkinin sorbitol sentezleyemediği bilinmektedir. Genetik mühendisliği çalışmaları sonucunda bu bitkinin sorbitol üretmesi sağlandığında transgenik tütünde B taşınımının arttığı gözlenmiştir [17].

Bununla beraber B' un ksilem veya floemde taşınması B' un çeşitli bitki kısımlarında birikimini de etkilemektedir. Borun ksilemde taşındığı türlerde B ya yaprak uçlarında ya da meyve ve kambiyum dokularında birikirken, floemde taşınan türlerde ise gövdede biriktiği bildirilmiştir [18].

1.3.3. Bitkide borun dağılımı

Bor bitkilerin değişik organları içerisinde en fazla yapraklar ve üreme organlarında, en az da kök, meyve ve tohumlarda bulunur [22, 23]. *Citrus*' da B' un en fazla bazal yapraklarda en az ise odun bölgesinde bulunduğu tespit edilmiştir (bazal yaprak > üst yaprak > kabuk > kök > gövde > odun) [22]. Benzer şekilde zeytin [24], pamuk [23] ve buğdayda [25] yapılan diğer çalışmalar sonucunda da B' un en fazla yapraklarda bulunduğu ve yaprağın bitkinin diğer kısımlarına göre en duyarlı bölge olduğu tespit edilmiştir.

Bununla beraber tek bir yaprak ayasında bile B miktarı bakımından farklılıklar vardır. Orneğin arpada yaprak tabanından yaprak ucuna doğru B miktarının gittikçe arttığı, yaprak tabanındaki B miktarı 0.75 mg g⁻¹ iken yaprak ucunda ise bu değer 23.5 mg g⁻¹ a yükseldiği bulunmuştur [26].

1.3.4. Bitkilerde borun vejetatif büyüme üzerine etkileri

Borun vejetatif büyüme üzerindeki etkilerinden bir tanesi kök büyümesi üzerinedir. Domates, ayçiçeği, kabak gibi bitkilerde büyüme ortamından B' un uzaklaştırılmasıyla kök uzunluğunda hızlı bir azalma görülmüştür [27, 28, 29]. Kök uzaması, hücre bölünmesi ve hücre duvarı içindeki çapraz bağların ayrılıp tekrar birleşmesi ile meydana gelen hücre uzaması gibi işlemlerin bir sonucudur. Bor eksikliğinde kök büyümesinin engellenmesi hücre bölünme oranının düşmesi ve uzunluğuna büyümenin inhibe edilmesinden kaynaklanır. Kök uzunluğunun azalmasını takiben köklerde kahverengileşme, birçok kısa-kahverengi yan köklerin oluşumu ve köklerde anormal genişleme olduğu tespit edilmiştir [5, 30]. Bor eksikliğine benzer şekilde B toksikliğinin de köklerde deformasyona sebep olduğu bulunmuştur [31].

Köklenme ortamındaki düşük sıcaklığın B eksikliği semptomlarını artırdığı bildirilmiştir. Fakat B eksikliğiyle beraber kök bölgesine düşük sıcaklık uygulamasının bazı türlerde (*Brassica* spp.) kök büyümesini engellemediği bazılarında ise (ayçiçeği, kasava) önemli derecede inhibe ettiği bulunmuştur [32].

Diğer taraftan B eksikliğinde gövde büyümesinin de apikal bölgedeki meristematik aktivitenin azalmasından dolayı inhibe edildiği bildirilmiştir [27, 28]. Örneğin bezelyede, B besin solusyonundan uzaklaştırıldıktan sonra 7 gün içinde gövde büyümesinin önemli oranda inhibe edildiği ve lateral tomurcukların gövde büyümesinin durmasıyla büyümeye başladığı gözlenmiştir [33]. Internodların kısa olması, petiol ve gövde çapında meydana gelen artış da B eksikliğinde görülen diğer semptomlardır. Ayrıca B eksikliğinde patatesten yumru sayısının azalmasıyla beraber şekillerinde deformasyon görüldüğü bildirilmiştir [5]. Bor eksikliğinde olduğu gibi B toksikliğinde de gövde büyümesinin azaldığı bulunmuştur [24].

Vejetatif büyümede B eksikliğinin gözle görülebilen semptomları öncelikle genç yapraklarda ortaya çıkar. Bu yapraklar genellikle küçüktür, klorotik lekeler içerir, biçimsiz yaprak ayası meydana gelebilir. Petioller kırılmandır, bazen çatlayabilir ve bunun sonucunda genç yapraklar düşerek ölür. Bazı bitkilerde B eksikliğinde yaprak kıvrılması görülebilir. Ayrıca B eksikliği olan bitkilerde tamamen gelişmiş yapraklar ince ve koyu yeşildir, yaprak sayısında artış görüldüğü ve yeni çıkan yaprakların kırılma olduğu bildirilmiştir [30].

Bor eksikliği semptomları genç yapraklarda görülürken B toksikliği semptomları ise yaşlı yapraklarda görülür. Çeşitli bitki türleri arasında, B toksikliğinin görünebilir tipik semptomu, yaşlı yaprakların uç ve kenarlarında yanıklar, nekrotik-klorotik beneklerdir [22, 25, 34]. Bu durum ksilemi takiben B' un gövde içinde dağılımını da yansıtmaktadır. Klorotik/nekrotik lekelerin yaprak

ayasının diğer kısımlarından daha yüksek oranda B konsantrasyonuna sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca B toksikliğinin bitki başına düşen yaprak sayısı, yaprak alanı ve kuru ağırlığını azalttığı fındık bitkisinde gösterilmiştir [24]. Bor toksikliğinin yapraklar üzerindeki gözle görülebilir semptomları, verim azalmasına sebep olan B miktarından çok daha düşük seviyelerde gerçekleşebilir. Bu morfolojik değişikliklerin yanında yaprakta bazı anatomik değişiklikler de görülür. Örneğin B toksikliğinde portakal yaprağının sünger parankimasının kalınlığında bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir [35].

1.3.5. Bitkilerde borun reproduktif büyüme üzerine etkileri

Bor pek çok bitki türünde vejetatif büyümeden çok reproduktif büyüme için gereklidir. Özellikle gramineler gibi hücre duvarı pektin içeriği düşük ve vejetatif büyüme için B isteği az olan bitkiler ile B' un floemde taşınımının sınırlı olduğu türlerde reproduktif büyüme için B'a gereksinim duyulduğu bilinmektedir [36]. Borun reproduktif büyümedeki ilk etkisi anter gelişimi [37], polen çimlenmesi ve polen tüpü büyümesi [5] üzerinedir. Genellikle pek çok bitki türünde polen tanelerindeki B miktarı düşük olmasına rağmen stigma, stilus ve ovaryumdaki B konsantrasyonu yüksektir [5]. Örneğin nilüfer (*Nymphaea*) bitkisinin polenlerinin %1' lik glikozda çimlenmediği stigmadan hazırlanan özütte ise çimlendiği görülmüştür. Bunun sonucunda stigma özütünün B içerdiği ve %1'lik glikoza borik asit eklenmesiyle polenlerin çimlendiği bulunmuştur. Benzer şekilde optimal B içeren ortamda büyütülen asma bitkilerinde (*Vitis vinifera*), stigma B konsantrasyonu 50-60 ppm kuru ağırlık iken B eksikliğinde bu miktarın 8-20 ppm kuru ağırlığa düştüğü ve döllenmenin olumsuz etkilendiği bildirilmiştir [10].

Borun polen çimlenmesinden çok polen tüpü uzaması için gerekli olduğu bulunmuştur [5]. Bununla beraber stigma ve stilusta yeterli miktarda bulunan B kaloz ile B-kaloz kompleksini oluşturur ve polen tüpündeki kaloz inaktive olur. Bor eksikliğinde ise polen tüpünde kaloz birikiminin artmasıyla polen tüpünün ilerlemesinin engellendiği bulunmuştur [5].

Vejetatif büyümeden çok, özellikle tohum ve meyve gelişimi sırasında yüksek miktarda B'a ihtiyaç duyulmasının temelinde polen tüpünün büyümesinde B'un önemli rolünden kaynaklandığı düşünülür. Bor eksikliği görülen ayçiçeği [27], pamuk [38], zeytin [4], bezelye, mercimek, nohut [30] ve buğdayda [39] dane veriminin, tohum ve meyve gelişiminin düşük olduğu bulunmuştur. Yukarıdaki bitkilerin yapraklarına B uygulandığında dane verimi, tohum ve meyve gelişiminin arttığı bulunmuştur. Bor eksikliğinin bir sonucu olarak meyvelerde bazı semptomlar görülebilir. Örneğin meyveler klorotik lekeler içerir, çatlama görür ve meyveler olgunlaşmadan düşebilir. Etil meyvelerde ise B eksikliği şekil bozukluğuyla meyvenin kalitesini de etkileyebilir. Bor toksikliğinde de yine eksiklikte olduğu gibi buğdayda dane veriminin azaldığı bulunmuştur [40, 41].

1.4. Bitki Metabolizmasında Bor

Bitkilerde B'un rolü için önerilen oldukça uzun bir liste vardır. Örneğin hücre duvarı sentezi ve yapısı, fotosentez, fenolik maddeler ve ligninleşme, karbonhidrat metabolizması, polen çimlenmesi, kalsiyum ve fosfor elementlerine etkisi gibi birçok önemli olayda görevlidir. Bu liste B'un birçok metabolik yolda görev aldığını veya etkilediğini göstermektedir [5, 9, 23].

1.4.1. Bor ve Hücre Duvarı

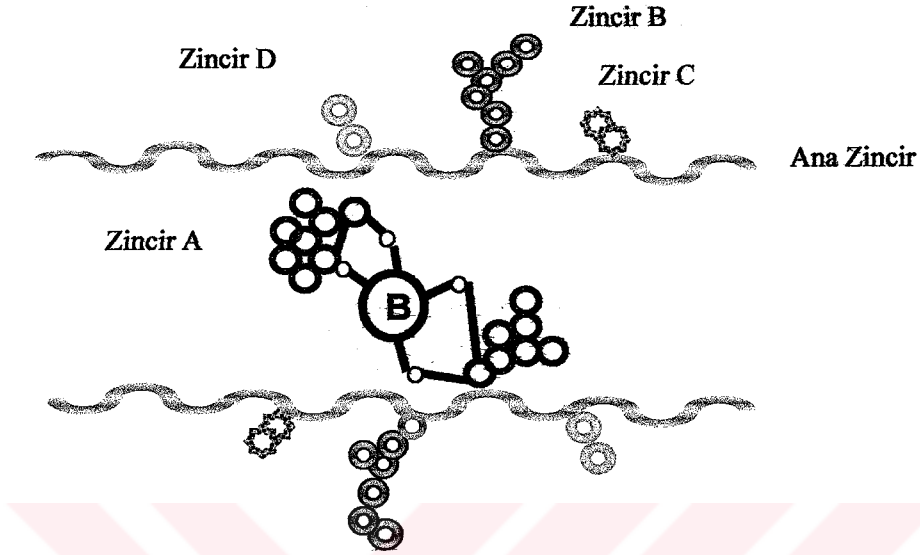
Borun hücre duvarı yapısında önemli bir rolü olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Bor bitki hücre duvarında yapısal bir role sahiptir ve hücre duvarı sentezi için gereklidir. Tütün [42], kabak [43] ve ayçiçeği [43] hücrelerinde yapılan deneylerde B eksikliği altında sitoplazmik B konsantrasyonunun çok düşük olmasına karşın total B'un yaklaşık % 96'sının hücre duvarında bulunduğu gösterilmiştir [43]. Bor eksikliği olan ortamda yetiştirilen bitkilerde hücre duvarında makroskobik ve mikroskobik seviyede değişiklikler görülür. Bor eksikliğinde primer hücre duvarı sentezi ve hücre bölünmesi inhibe edilir [43]. Hücre duvarı çapı ve kalınlığı B eksikliği olan dokularda yüksektir. Örneğin kerevizin parankima hücrelerinin hücre duvarı kalınlığı, B eksikliği olan bitkilerde 4µm iken yeterli B'da ise 1µm olduğu bulunmuştur. Ayrıca B eksikliğinde yapısal deformasyonla beraber düzensiz ve küçük hücrelerin oluşumu gözlenir [5]. Hücre duvarında görülen bu anormalliklerin çoğunun sebebi pektik ağın bozulmasıdır.

Hücre duvarı selüloz, hemiselüloz ve pektinden oluşur. Hücre duvarında bulunan B'un selüloz ve hemiselülozdan çok hücre duvarının elastikiyetini sağlayan pektinlere bağlandığı bulunmuştur [44]. Pektinler dikotil hücre duvarının 1/3'ünü oluştururken monokotil, graminelerde ve tohumuz bitkilerin hücre duvarında yok denecek kadar azdır. Bitkiler arasındaki farklı B isteğinin temel nedeninin pektin içeriği olduğu düşünülmektedir [19].

Pektinler yapısal olarak birbirinden farklı 3 gruptan oluşan asidik bir heteropolisakkarittir. Bu gruplar homogalacturonan (HGA), rhamnogalacturonan-I (RG-I) ve rhamnogalacturonan-II (RG-II)'dir. RG-II'nin dünyadaki en kompleks polisakkarit olduğu düşünülmektedir (molekül ağırlığı 5-10 kDa) ve RG-II 31 monosakkaritten oluşur. RG-II'nin orta lamelde değil, primer hücre çeperinde bulunduğu ortaya konulmuştur [45].

Hücre duvarında bulunan B'un çoğu RG-II'nin iki zincirini birbirine çapraz olarak bağlayan bir borat diol diester halinde bulunur (Şekil 1.4.1.1.). Burada B' u bağlayan şekerin apioz olduğu bulunmuştur. Apioz borik asitle esterler yapabilir veya fizyolojik koşullar altında boratları oluşturarak bitki hücre duvarında pektik ağ içerisinde çapraz bağları meydana getirebilir [12].

Ortamda yeterli B' un olmadığı koşullarda RG-II ve borat ester bağının oluşmadığı ve bu durumun da ortama B eklenmesiyle düzeltilebileceği gösterilmiştir [43].



Şekil 1.4.1.1. Hücre duvarında bulunan rhamnogalacturonan II'nin yapısı ve B kompleksinin oluşumu [46].

1.4.2. Bor ve Fotosentez

Borun fotosentez metabolizmasına etkisi üzerine yapılan araştırmaların sayısı çok fazla değildir. Bununla beraber ayçiçeği üzerinde yapılan bir çalışmada besin solüsyonundaki B konsantrasyonunun azaltılmasına paralel olarak yüksek ışık ve CO₂ konsantrasyonunda maksimum fotosentez oranında bir düşüş meydana geldiği bildirilmiştir [47]. Benzer şekilde pamuk bitkisinde B eksikliğinde fotosentetik oranın düştüğü bulunmuştur [23].

Diğer taraftan B toksikliğinin fotosentez üzerine etkilerinin araştırıldığı bazı *Citrus* türlerinde, besin solüsyonundaki B konsantrasyonunun 0.25 mg B l⁻¹'den (kontrol) bu bitkiler için toksik olduğu kabul edilen 2.5 mg B l⁻¹'a çıkarıldığı durumlarda yapraklardaki klorofil miktarı, stomatal iletkenlik ve fotosentez oranının düştüğü, interselüler CO₂ konsantrasyonunun değişmediği bulunmuştur [22, 35, 48]. Fakat B toksikliğinde meydana gelen bu olumsuz etkilerin uygulamaların 80 ve 120. gününde değil sadece bitkilerin hasat edildiği 204. günde ortaya çıktığı görülmüştür [35]. Bor toksikliği altında fotosentetik oran ve stomatal iletkenliğin azaldığı *Cucurbita pepo* bitkisinde de bulunmuştur [49]. Buna karşın kivi bitkisi üzerinde yapılan diğer bir çalışmada besin solüsyonundaki B konsantrasyonunun 20 µM'dan 50 µM'a çıkarılması ile fotosentetik oran ve interselüler CO₂ konsantrasyonunun maksimum seviyeye çıktığı, daha yüksek B konsantrasyonlarında ise (100, 200,

500 μM B) fotosentez oranının düştüğü ve interselüler CO_2 konsantrasyonunun ise değişmediği bildirilmiştir. Bununla beraber stomatal iletkenlikte uygulamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır [50].

Bor toksisitesi altında fotosentetik parametrelerde meydana gelen değişimler yaprak ve kloroplast yapısında meydana gelen değişimlerden kaynaklanabilir. Besin solüsyonundaki B konsantrasyonunun artırılması ile *citrus* bitkisinin lamina kalınlığının özellikle sünger parankimasi kalınlığının azaldığı bildirilmiştir [35, 48]. Benzer sonuçlar B toksikliği altında kivi bitkisinde de görülmüş, fakat bu bitkide hem sünger hem de palizat parankimasının indirgenmediği, epidermal dokuda ise bir değişim görülmediği tespit edilmiştir [50]. Ayrıca yüksek B konsantrasyonuna bir cevap olarak kloroplastların büyüklüğü azalmasına rağmen kloroplastların yapısında bir değişiklik görülmemiştir. Bununla beraber yüksek B konsantrasyonu kloroplast tilakoidlerinin rölatif hacmini azaltırken, plastoglobulinlerin rölatif hacmini ise artırdığı tespit edilmiştir [35, 48].

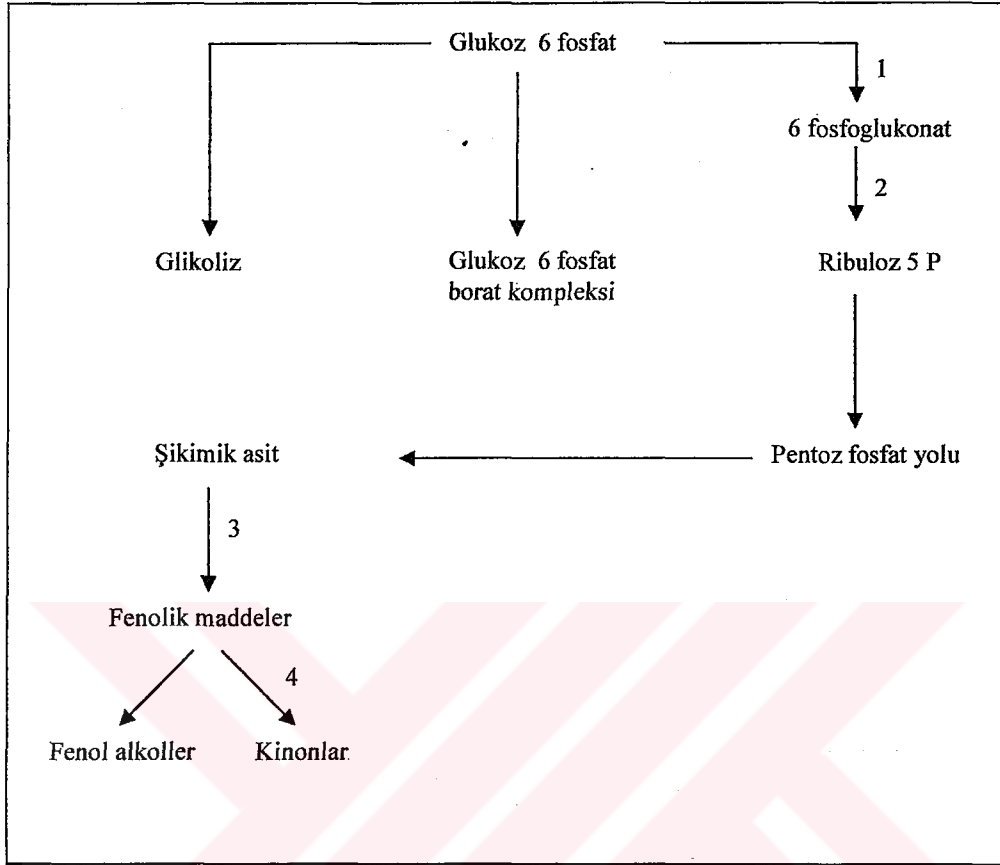
1.4.3. Bor ve karbonhidrat metabolizması

Borun karbonhidrat metabolizmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bitkilerde B eksikliği ve toksikliği genellikle karbonhidrat miktarında artışa sebep olur. Bor eksikliğinin ayçiçeği [28, 47] ve pamuk [23] bitkilerinde yaprak glikoz, fruktoz ve sukroz miktarını artırdığı bulunmuştur. Çözünür şekerler yanında B eksikliğinde pamuk ve su mercimeğinde [36] yaprak nişasta miktarının da arttığı bildirilmiştir. B eksikliğinde karbonhidrat miktarında görülen artışın sebebinin fotosentez sonucu oluşan assimilatların yapraklardan diğer organlara taşınmamasından kaynaklanabileceği önerilmiştir [11, 23].

Benzer şekilde ortamdaki B konsantrasyonunun artırılmasına paralel olarak fıstık bitkisinin yapraklarındaki toplam çözünür şeker miktarı (glikoz, fruktoz, sukroz) artarken köklerdeki glikoz miktarının ise düştüğü ama fruktoz ve sukroz miktarının önemli derecede değişmediği bulunmuştur. Bununla beraber yapraklardaki nişasta miktarında önemli bir değişim görülmezken köklerde ise nişasta miktarının arttığı bildirilmiştir. Sonuçta B toksikliğinin yaprak ve köklerdeki karbonhidrat dengesini bu organlardaki toplam karbonhidrat miktarını etkilemeden değiştirdiği bulunmuştur [24].

1.4.4. Bor ve fenol metabolizması

Bor fenol metabolizması ve fenolik maddeleri etkileyen önemli elementlerden birisidir. Fenolik maddeler pentoz fosfat yolunu takiben şikimik asit yolu üzerinden sentezlenir. Ortamda yeterli miktarda B bulunduğunda, B pentoz fosfat yoluna giren 6-fosfoglukonatla kompleks yaparak



Şekil 1.4.4.1. Borun fenol metabolizması üzerine etkileri. 1. Glikoz 6-P dehidrojenaz, 2. 6-fosfoglukonat dehidrojenaz, 3. Fenil alanin amonia liyaz (PAL), 4. Polifenol oksidaz (PPO) [5].

6-fosfoglukonat dehidrojenaz enzimini inhibe eder. Dolayısıyla ortamda yeterli B bulunduğunda fenolik maddeler birikmez. Çünkü substrat akışı pentoz fosfat yoluna değil glikoliz yoluna kayar. Buna karşın ortamda yeterli B bulunmadığında ise substrat akışı pentoz fosfat yoluna kayar. Bunun bir sonucu olarak fenolik maddelerin birikmesi B'un fenol metabolizması üzerindeki en önemli etkisidir (Şekil 1.4.4.1.) [5, 28, 36, 51].

Fenolik esterler, kumarinler, flavanoidler ve lignin fenilpraponoid yoluyla sentezlenen sekonder metabolitlerdir. Tüm fenilpraponoidler L-fenil alaninden oluşan trans-cinnamik asitten sentezlenir. L-fenilalaninin trans-cinnamik asite dönüşümünden sorumlu olan fenil alanin amonia liyaz (PAL) fenolik maddelerin biyosentezinde rol alan anahtar bir enzimdir. Bu enzim çeşitli stres koşullarına cevap olarak aktive edilir ve fenolik maddelerin birikimine yol açar. Bor eksikliği ve fazlalığı [52] altında fenolik maddelerde görülen artışın sebebi bu maddenin sentezinden sorumlu reaksiyonları katalizleyen enzimlerin aktivitesinde görülen değişimlerdir. Bor eksikliği görülen yapraklarda poli fenol oksidaz (PPO) tarafından fenolik maddelerin oksitlenmesi kinonların

oluşumuna sebep olabilir. Kinonlar O_2 ile reaksiyona girerek toksik süper oksit radikallerini oluşturur. Bor eksikliğine hassas bitki türlerinde kinonların birikmesi hücrede meydana gelen zararın ana sebebidir [53]. Bununla beraber B eksikliğinde dışarıdan uygulanan askorbik asitin kök gelişimini iyileştirdiği ve bu etkiyi PPO aktivitesini inhibe edip kinonların oluşumunu engelleyerek sağladığı bulunmuştur [54, 55].

Bor eksikliğinde olduğu gibi toksikliğinde de PAL, peroksidaz (POD) aktivitesi ve lignin miktarı artmaktadır. Soya fasulyesinin köklerinde yapılan bir çalışmada bitkilere 0.01, 0.05 ve 5 mM B uygulandığında bir hafta sonunda PAL, POD aktivitelerinde ve lignin miktarındaki artışın yanısıra süberin [52] miktarının da arttığı bulunmuştur [51]. Dolayısıyla PAL [5, 51], PPO [5, 51, 54] ve POD B eksikliği ve toksikliğinde [51, 51, 54] fenol metabolizmasında rol alan önemli enzimlerdir. Nitekim B eksikliği görülen dokularda bu enzimlerin aktivitesindeki artış bitkinin bu strese karşı gösterdiği en önemli cevaptır.

1.4.5. Bor ve azot fiksasyonu

Azot atmosferde en fazla bulunan bir gaz olmasına rağmen bitkiler bu azottan doğrudan istifade edemezler. Fakat bazı mikroorganizmalar havanın serbest azotunu fikse ederek bitkiler için kullanılabilir hale getirirler [56]. Nemli topraklarda yaşayan mavi-yeşil alglerden *Anabaena*, heterosist hücreleriyle havanın serbest azotunu fikse ederek nitrojenaz enzimi ile NH_4^+ e indirger ve toprağa verir [57]. Borun *Anabaena*' da azot fiksasyonu için gerekli bir element olduğu bilinmektedir. Heterosistler, vejetatif hücrelerden morfolojik ve fonksiyonel açıdan farklılık gösteren ve azot fikse edebilen özel hücrelerdir. Bu hücrelerde oksijen miktarının düşük tutulması özellikle nitrojenaz enziminin aktivitesi, dolayısıyla azot fiksasyonunun devam etmesi için gereklidir. Heterosistler içinde oksijen miktarının düşük tutulmasında, bu hücreleri çevreleyen kalın zarın önemi büyüktür. Vejetatif hücrede olmayan bu zarın iç tabakası özel glikolipidlerle kaplıdır ve oksijen difüzyonunu engelleyici bir bariyer olarak görev yaptığı tahmin edilmektedir. Borun glikolipid tabakasının kararlılığını sağladığı ve oksijen difüzyonunu azalttığı önerilmiştir. Bor eksikliğinde glikolipit tabakasının kararlılığının bozulduğu ve yüksek oksijen miktarı tarafından nitrojenaz aktivitesinin düştüğü, neticede azot fiksasyonunun azaldığı bildirilmiştir [10].

Bor aynı zamanda baklagillerde azot fikse eden kök nodüllerinin gelişimi için temel bir mikro elementtir. Orneğin optimal bir ortamda bezelye (*Pisum sativum*) bitkilerinin nodüllerindeki B konsantrasyonunun köklerden çok daha fazla olduğu ve nodüllerdeki B'un büyük bir miktarının nodül hücre duvarında yer aldığı bildirilmiştir [58]. Bitki kökleri tarafından salgılanan bazı kimyasal maddeler toprakta serbest olarak bulunan *Rhizobium* cinsi bakterileri kendilerine çekerek nodül oluşumunu başlatır. Bu bakteriler tarafından ortama verilen bazı kimyasal maddeler de kök

tüylerinin uzamasını stimüle eder ve tüyler bakteri popülasyonunun etrafını sarar. Bitkinin kök apikal bölgesindeki primer hücre duvarı materyalinin sitoplazma içine doğru büyümesi ile tünel şeklinde bir yapı meydana gelir ve bakteriler bu tünel vasıtasıyla kök korteks hücrelerine girerek bakteroid adını alır. Bu şekilde enfekte olan bitki de bu enfeksiyona cevap olarak kök korteks ve periskl hücreleri bölünmeye başlar ve nodüller oluşur. Ortamda yeterli B olmadığı zaman bezelye bitkisinde bakteriler tarafından enfekte edilen konukçu hücrelerin sayısının azaldığı ve nodül gelişiminin engellendiği bildirilmiştir [58, 59, 60]. Benzer şekilde B'un az olduğu ortamda büyütülen bitkilerde bitki başına düşen nodül sayısı ve büyüklüğünün azaldığı ve nitrojenaz aktivitesini düştüğü bulunmuştur [60, 61, 62].

1.4.6. Borun diğer elementlerle ilişkisi

İki değerlikli bir katyon olan kalsiyum (Ca^{2+}), diğer mikroelementlerin tersine bitkisel dokular içinde en fazla hücre duvarında bulunur ve biyolojik membranların fonksiyon ve fizikokimyasal özelliklerini etkiler [63]. Bor ve Ca^{2+} un primer hücre çeperinde pektik ağların oluşmasında sinerjistik olarak çalıştığı düşünülmektedir. Borun RG-II ile çapraz bağlanması sonucunda RG-II 'nin yapısında Ca^{2+} un bağlanabileceği yapısal değişiklikler meydana gelir ve Ca^{2+} varlığında oluşan bu kompleksin Ca^{2+} bulunmadığında oluşan kompleksten daha kararlı olduğu bulunmuştur. Turp (*Raphanus sativus*) köklerinden izole edilen borat dimerik kompleksi (B-RG-II) üzerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda, B-RG-II kompleksinden Ca^{2+} un uzaklaştırılması sonucunda kompleksin monomerik RG-II formuna parçalandığı bulunmuştur [64]. Pektinlerin çapraz bağlanmasından sorumlu olan B ve Ca^{2+} un normal polen tüpü büyümesi için de gerekli olduğu bildirilmiştir. Polen tüplerinin büyümekte olan uç kısımlarındaki hücre çeperleri RG-II' yi de kapsayan çoğunlukla pektik polisakaritlerden oluşur. Ortamda yeterli B bulunmadığında hücre çeperindeki polisakaritlerin dağılımı değişebilir ve polen tüpleri şişerek patlayabilir [46].

Besin solüsyonu ya da topraktaki Ca^{2+} konsantrasyonu ve bitkisel dokulardaki Ca/B oranının B toksikliği üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Bitkinin büyüdüğü ortamdaki Ca^{2+} konsantrasyonunun artması B alınımını azaltır. Orneğin besin solüsyonundaki Ca^{2+} miktarının 4-8 mM'dan 12 mM'a çıkarılması kivi bitkilerinde B miktarını azaltmış ve yapraklarda görülen B toksikliği semptomlarını iyileştirmiştir. Borun en fazla yaprak kenarlarında daha sonra yaprak ayasında ve en az da Ca^{2+} un en yüksek konsantrasyonda bulunduğu petiollerde biriktiği bulunmuştur. Yapraklardaki Ca/B oranının B toksikliğinin teşhisi için bir indikatör olabileceği önerilmiştir [65].

Bor ve fosfor (P) arasında da bir ilişki olduğu yapılan çalışmalar sonucu gösterilmiştir. Orneğin işaretlenmiş P^{32} ile yapılan çalışmalarda B eksikliği olan ortamda yetiştirilen baklarda

(*Vicia faba*) P alınımının azaldığı ve bitkilere B verilmesiyle bu etkinin geri döndüğü bildirilmiştir. Bor eksikliği olan mısırdaki ve ayçiçeğinde P alınımının ortama B eklendikten sonra 20 dakika içinde % 40 oranında arttığı tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar fasulye ve mısır bitkilerinde de bulunmuştur [5, 66].

1.4.7. Adaptasyon mekanizmaları

Bitkilerde B eksikliğini engellemek için besin solüsyonu içinde olması gereken B konsantrasyonu ile toksik etkiyle sonuçlanabilecek konsantrasyonlar arasındaki fark diğer temel mikroelementlerle karşılaştırıldığında çok küçüktür. Her bitki türünün B' lu ortamda büyümeye verdikleri cevaplar farklıdır. Halofit bitkilerin yüksek B konsantrasyonuna karşı glikofit bitkilerden daha toleranslı olduğu bildirilmiştir. Orneğin halofit bitkiler deniz suyunda bulunan B konsantrasyonunda (0.35 mol m^{-3}) büyüebilirken, glikofit bitkilerde ise bu konsantrasyonda büyümenin engellendiği bildirilmiştir. Halofitik *Atriplex litoralis*, *Matricaria maritima* ve *Elymus sp.*' nin yapraklarında yüksek konsantrasyonda bulunan B' u büyümede herhangi bir azalma görülmeden tolere edebildiği bildirilmiştir [67].

Halofitik türlerin yüksek konsantrasyondaki B' a toleransında tuz salgı bezleri görev yapabilir. Orneğin B salgılama özelliğine sahip halofitik *Spartina anglica* (Graminae) $25 \mu\text{M}$ B içeren Hoagland solüsyonunda yetiştirildiğinde dört haftalık büyüme periyodunda gövdedeki toplam B' un yaklaşık % 20-28' inin salgı yoluyla bitkiden atıldığı bulunmuştur. Diğer taraftan B' un etkili olarak bağlanabileceği sorbitol üreten halofitik *Plantago maritima*' da B' un şekerle kompleks yapması yüksek B' a tolerans için bir detoksifikasyon mekanizması olabilir [67].

Ayrıca bir çok bitkinin topraktaki yüksek B miktarının yarattığı olumsuz etkiyi B alınımını azaltarak tolere edebileceği bildirilmiştir. Genellikle aynı türün varyeteleri arasında B toksikliğine hassas olan genotiplerin kök, gövde ve yapraklarındaki B miktarı toleranslı genotiplerden daha yüksektir [6, 68, 69, 70]. Orneğin bir kültür bitkisi olan *Lycopersicon esculentum*' un yabani formu olan *Lycopersicon cheesmonii*' ye göre B toksikliğine daha hassas olduğu ve yapısında daha fazla B biriktirdiği bildirilmiştir [6]. Benzer şekilde B' a toleranslı olan bir arpa varyetesinin B' a hassas olan arpa varyetesine göre köklerindeki B miktarını % 50 daha az bir oranda koruyabildiği ve buna paralel olarak ksilemdeki ve yapraklardaki B miktarının hassas varyeteden % 64 ve % 73 oranında daha az olduğu bulunmuştur [68]. Fakat ortamdaki pH' nın artırılması hassas olan varyetenin köklerindeki B konsantrasyonunu azaltırken, toleranslı varyetede ise bir değişime sebep olmamıştır. Sonuçta rizosfer ve kök hücrelerinin sitoplazmasındaki pH değişimlerinin B toksikliğine tolerans mekanizmasındaki etkili olabileceği önerilmiştir [68].

Dünyanın farklı bölgelerinde yetiştirilen türler arasında B toksikliğine toleransta büyük varyasyonlar görülmektedir. Örneğin Kuzey Afrika' da yetişen kışlık arpa varyeteleri Avrupa' da yetişen kışlık arpa varyetelerinden B' a daha toleranslıdır. Benzer şekilde İran ve Afganistan'da yetişen arpa varyetelerinde B toksikliğine toleransın derecesi artarken, Avrupa'da yetişen arpa varyetelerinde ise B toksikliğine toleransın derecesi azalmaktadır. Güney Amerika, Japonya, Çin, Hindistan yarımadası, Batı Asya, Kuzey Amerika ve Doğu Akdeniz orjinli olan ekmek ve durum buğdayının da yüksek B' a toleranslı olduğu bildirilmiştir. Farklı bölgelerde yetiştirilen varyeteler arasında B toksikliğine toleransta görülen bu farklılık edafik adaptasyona bir örnek olabilir [71].

1.5. AMAÇ

Bor bitkilerin gelişimi için gerekli olan bir elementtir ve bitkiler B ihtiyacı molar konsantrasyon temel alındığında diğer mikro elementlerden en fazla olanıdır. Bor birçok bitki türünde immobil olduğu için bu elemente ihtiyaç duyan gelişmekte olan diğer dokulara tekrar taşınamaz ve bu sebeple bitkinin yetiştiği ortamda her zaman bulunması gerekir. Borun özellikle hücre duvarının yapısındaki önemli rolüyle beraber birçok metabolik olayı etkilediğini gösteren araştırmalara ait sonuçlar her gün artmaktadır.

Yaşayan her organizma gibi, bitkilerde de stres koşullarında organizmayı hücresele zarardan koruyan bazı proteinlerin sentezinin artması strese karşı gösterilen tipik bir cevaptır. Örneğin ısı şoku proteini (heat shock protein; HSP), bu proteine sahip hücreler yüksek sıcaklığa maruz bırakıldığında sentezinde artış görülen bir grup proteindir. Isı şoku proteinleri çoğunlukla sıcaklık stresine cevap olarak sentezlenir de gelişimsel ve çevresel sinyallere (osmatik stres, su eksikliği, ağır metal iyonları, arsenat v.b. gibi) cevap olarak da sentezlenir. Bu sebeple ısı şoku proteinleri aynı zamanda stres proteinleri olarak da adlandırılmaktadır. Bu noktada B eksikliği veya toksikliğinin bazı bitkilerde protein miktarı ve profili üzerine etkisini gösteren sınırlı sayıda araştırma yapılmış olup bu araştırmalarda bitkinin içinde bulunduğu gelişim evresi göz önüne alınmamıştır. Bu çalışmadan amaç B' un vejetatif büyüme üzerine etkilerini belirlemek ve yapraklarda protein miktarı ve profilinde gelişim evresine göre meydana gelebilecek etkileri saptamaktır.

Amaç doğrultusunda öncelikle bu araştırmada kullanılan ayçiçeği bitkileri için eksik ve toksik olabilecek B konsantrasyonları belirlenmeye çalışılmış ve farklı konsantrasyonlarda B uygulamalarının ayçiçeğinde vejetatif büyüme, pigment miktarı, protein miktarı ve proteinlerin elektroforetik olarak dağılımına etkileri araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Çalışmada Kullanılan Kültür Çözeltilerinin Özellikleri

Bu araştırmada kontrol besin çözeltisi olarak içeriğinde 10 mM NH_4NO_3 , 1mM KH_2PO_4 , 1mM MgSO_4 , 1mM CaSO_4 , 20mM Fe-EDTA, 3mM KCl, 0,25 mM H_3BO_3 , 2 μM MnSO_4 , 2 μM ZnSO_4 , 0,5 μM CuSO_4 , 0,5 μM Na_2MoO_4 bulunan kültür çözeltiler kullanılmıştır. Kontrol besin ortamına 10 μM , 25 μM , 100 μM veya 500 μM borik asit (H_3BO_3) eklenmesiyle farklı borik asitli kültür çözeltileri hazırlanmıştır.

2.2. Fide Büyümesi

Çalışmada kullanılan ayçiçeği tohumları (*Helianthus annuus* cv. Sanbro) ekim öncesinde % 10' luk sodyum hipoklorit ile 3 dakika yüzeysel sterilizasyona tabii tutulmuştur. Sterilizasyonu takiben tohumlar 3 kez saf su ile yıkanmış ve bunu takiben 2 saat saf suda bekletilmiştir. Çalışmada kullanılacak tohumların dolgun görünüşlü, az çok birbirine benzer olmasına dikkat edilmiştir. Tohumlar 13 cm derinliğinde, 16 cm eninde ve 14 cm boyundaki saksılarda ve perlit ortamında yetiştirilmiştir. Tohumlar saf su ile sulanmış perlit ortamına aralarında belirli mesafe olacak şekilde ekilmiş ve saksıların üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak çimlendirilmiştir. Çimlenmenin 3. gününde alüminyum folyolar çıkarılmış ve 24 gün boyunca bitkiler içinde 10 μM , 25 μM , 100 μM veya 500 μM borik asit (H_3BO_3) bulunan çözeltilerle bir gün arayla sulanmıştır. Çimlendirme ve fide büyümesi 26/18°C (16 saat ışık 8 saat karanlık) ısı ve ışık şartları (17.300 lüx) ve % 70-80 nisbi nem koşullarının bulunduğu bitki büyütme dolabında 24 gün boyunca yapılmıştır.

2.2.1. Kök ve gövde analizleri

Çimlenmenin 3. gününde fidecikler kök, gövde ve kotiledon olmak üzere bir jilet yardımıyla parçalara ayrılmıştır. Kök ve gövdenin uzunlukları milimetrik cetvelle ölçülmüş, kök olarak saçak kök uzunluğu esas alınmıştır. Ortalama kök ve gövde uzunlukları tüm saksılardan alınan değerlerin toplam fidecik sayısına bölünmesi ile hesaplanmış ve uygulama başına cm/ bitki olarak belirlenmiştir. Kesilen kök, gövde ve kotiledonların taze ağırlığı hassas bir terazi (Ohaus) yardımıyla ölçülmüş olup ortalama değerler toplam bitki sayısına bölünerek uygulama başına mg/ bitki olarak hesaplanmıştır. Taze ağırlıkları alınan kök, gövde ve kotiledonların kuru ağırlıklarını belirlemek amacıyla örnekler 75°C' ye ayarlanmış etüvde 48 saat kurutularak ağırlıkların sabit hale gelmesi sağlanmış ve ortalama değerler toplam bitki sayısına bölünerek uygulama başına mg/ bitki olarak hesaplanmıştır.

Uygulamaların 10, 17 ve 24. günlerinin sonunda ise bitkiler kök, gövde, kotiledon ve yaprak olmak üzere parçalara ayrılmıştır. Kök ve gövde uzunlukları ile kök, gövde, kotiledon ve yaprak yaş ve kuru ağırlıklarının belirlenmesi yukarıda belirtilen şekilde yapılmıştır. 24. gün sonunda bitki yapraklarının resimleri mikroskopla (Olympus) ve fotoğraf makinesiyle (Canon) çekilmiştir.

Tüm uygulamalarda bitki organları arasındaki kuru ağırlık dağılımı yüzde olarak hesaplanmıştır. Ayrıca uygulama içi ve uygulamalar arasındaki bağıl büyüme oranı (R) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır [32, 72].

$$R = \frac{1}{t_2 - t_1} \int_{W_1}^{W_2} d(\ln W) = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$$

2.2.2. Protein ve klorofil tayini

Klorofil ve protein tayini için 1. yaprak çiftinin yaprak ayasının ortasından 17. gün ve 24. günde 1 cm çapında yaprak diskleri alınmıştır. Örnekler, alüminyum folyo ile düzgün bir şekilde sarılarak buz içerisine yerleştirilmiş ve daha sonra -20°C 'deki derin dondurucuya kaldırılmıştır. Alınan bu örneklerdeki protein, klorofil ve karotenoid miktarı belirlenmiştir.

Toplam protein ekstrasyonu, klorofil ve karotenoid tayini için 4 yaprak diski buz içerisine yerleştirilmiş havanda; 50mM Hepes, 5 mM MgCl_2 , 1 mM EDTA, 1mM EGTA, % 10 gliserol, % 0.1 Triton X-100, 2 mM benzamidine, 2 mM amino capronic asit, 0,5 mM PMSF, 10 mM DTT içeren 1.5 ml tampon çözeltisi içinde homojenize edilmiştir. Bu homojenattan 200 μl protein tayini için, 200 μl de klorofil ve karotenoid tayini için ayrılmış olup geriye kalan homojenat ise DMSH 5 (313mM Tris pH 6.8, % 10 SDS, % 25 Gliserol, % 25 2-mercaptaetanol) eklenerek 4 dakika sıcak su banyosunda kaynatıldıktan sonra SDS-Poliakrilamit jel elektroforezi (SDS-PAGE) için kullanılmak amacıyla -20°C ' deki derin dondurucuya konulmuştur.

Protein tayini için, 200 μl homojenat üzerine 800 μl % 10' luk Trikloro asetik asit (TCA) ilave edilerek bir gece buzdolabında bekletilmiştir. Bu süre sonunda örnekler 4°C ve 12000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda supernatant atılarak örneğe % 5'lik TCA eklenmiş ve 12000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant tekrar atılarak örneğe % 100' lük aseton ilave edilmiş ve 12000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Bu son aşama iki kere daha tekrarlanmıştır. Sonuçta ependorf tüpü içindeki çökelti aseton buharlaşınca kadar havada kurumaya bırakılmış ve daha sonra 0.24 M NaOH içerisinde çözündürülmüştür. Protein tayini

Lowry ve arkadaşlarına [73] göre yapılmış olup örnekler spektrofotometrede (Shimadzu) 750 nm dalga boyunda okunmuştur. Örnekler içindeki protein miktarı her seferinde örneklerle beraber hazırlanan Bovin Serum Albumin (Sigma) standartlarına (0 – 50 µg/µl) göre hesaplanmıştır (Bio-Rad DC Protein Assay Instruction Manual).

Klorofil ve karotenoid tayininde ise, 200 µl homojenat üzerine 800 µl %100' lük aseton ilave edilerek örnekler -20 °C'de 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra örnekler 12000 rpm' de ve 4 °C' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant içindeki klorofil ve karotenoid miktarı spektrofotometre yardımıyla ölçülmüştür. Klorofil a, klorofil b ve karotenoidler 663, 646, 470 nm dalga boyunda okunmuştur. Klorofil ve karotenoid miktarı aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır [74].

$$\text{Klorofil a } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 12.15 \times A_{663} - 2.55 \times A_{646}$$

$$\text{Klorofil b } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 18.29 \times A_{646} - 2.55 \times A_{663}$$

$$\text{Karotenoid } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 1000 \times A_{470} - 3.27 \times \text{Chl a} - 104 \times \text{Chl b} / 229$$

2.3. SDS- Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE)

Proteinler % 10' luk sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jelde (SDS-PAGE) 190 V ve oda sıcaklığında ayrılmıştır [75]. Örnekler yaprak alanı temel alınarak yüklenmiştir. Jeller içinde % 0.1 Coomassie brilliant blue R içeren metanol/asetik asit/ saf su (4: 1: 5) boya çözeltisi ile boyanmış ve proteinlere bağlanmamış olan boya metanol/ asetik asit/ saf su (8: 2: 29) çözeltisi kullanılarak ortamdan uzaklaştırılmıştır.

Jellerin resimleri bir fotoğraf makinesi (Canon) yardımıyla çekilmiş ve protein bantlarının analizi "Syntage-Gene tools" programı kullanılarak yapılmıştır.

2.4. İstatistik Analizler

Dört farklı konsantrasyonda B içeren besin solüsyonları ayçiçeği bitkilerine uygulanmıştır. Tüm uygulamalar birbirinden bağımsız 4 tekrarlı olarak yapılmıştır. Alınan sonuçların aritmetik ortalamaları ve standart hataları belirlenmiş, değerler tablo ve grafiklerle gösterilmiştir. Sonuçların istatistik açıdan önemlerinin belirlenmesi amacıyla Duncan (p<0.05), LSD (p<0.05) ve t (p<0.05) testleri kullanılmıştır [76].

3. SONUÇLAR

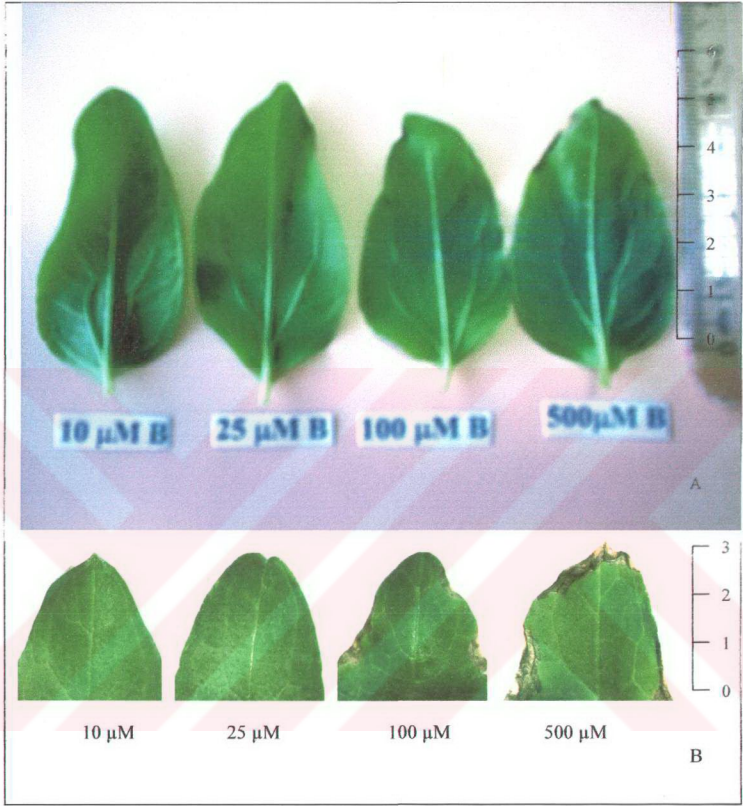
3.1. Farklı Bor Uygulamalarının Ayçiçeği Yapraklarındaki Fenotipik Etkileri

Bor uygulamalarının (10 μ M, 25 μ M, 100 μ M 500 μ M B) ayçiçeği yapraklarındaki gözle görülebilir etkilerini belirlemek amacıyla yapraklardaki fenotipik değişimler 24 gün boyunca gözlenmiştir. 10 ve 25 μ M B uygulanan ayçiçeği bitkilerinin yapraklarında uygulama süresince fenotipik bir değişiklik tespit edilmemiştir. Buna karşın 100 μ M B uygulanan bitkilerde uygulamaya başladıktan sonraki 12. günden itibaren, 500 μ M B uygulanan bitkilerde ise 9. günden itibaren yaprak uçlarında yanıklar görülmeye başlanmıştır. Bu yanıkların 100 μ M B uygulanan bitkilerde 500 μ M B uygulanan bitkilere göre daha az olduğu ve her iki konsantrasyonda da uygulama süresinin sonlarına doğru yaprak yanıklarının daha belirgin hale geldiği görülmüştür (Şekil 3.1.1.).

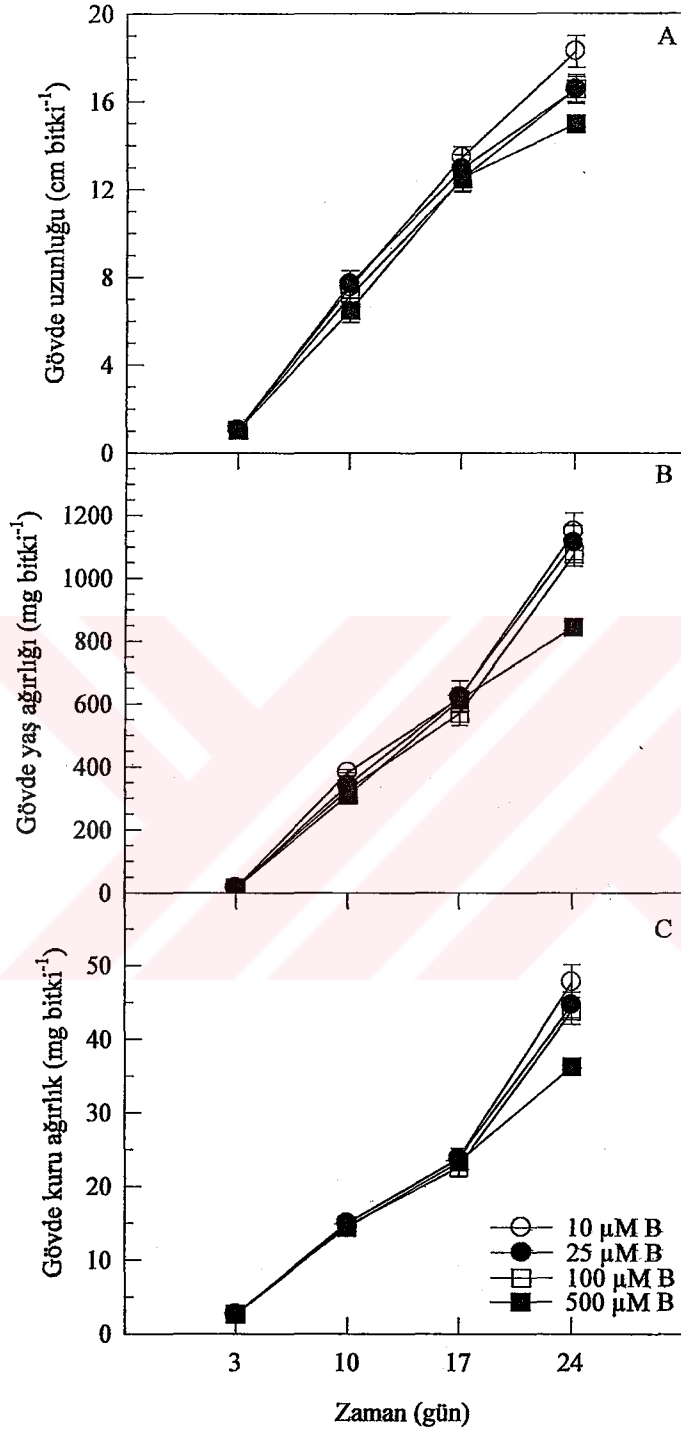
3.2. Farklı Bor Uygulamalarının Ayçiçeği Fidelerinde Vejetatif Büyüme Üzerine Etkileri

3.2.1. Gövde, kök, kotiledon ve yapraklar üzerine etkiler

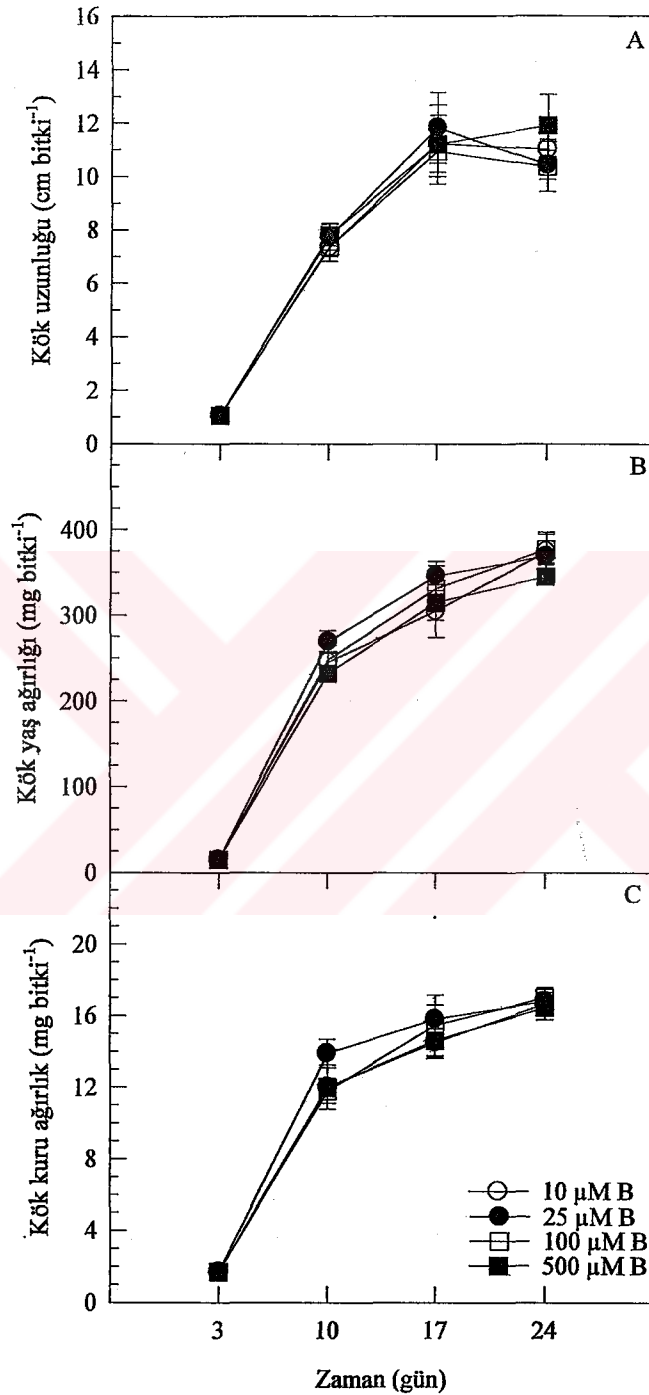
Farklı B uygulamalarının ayçiçeği bitkisinin gövde büyümesi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla 24 gün boyunca birer hafta aralıklarla gövde uzunluğu, yaş ve kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Borun 10 ve 17. günlerde gövde uzunluğu, yaş ve kuru ağırlık üzerine etkisine bakıldığında muameleler arasında önemli bir fark görülmemiştir (Şekil 3.2.1.1.). Buna karşın 24. günde B konsantrasyonunun artışına paralel olarak gövde büyümesinin azaldığı görülmüştür. 10 μ M B uygulanan bitkilerin gövde uzunluğunun diğer uygulamalara göre önemli oranda yüksek olduğu bulunurken, 500 μ M B uygulanan bitkilerin yaş ve kuru ağırlığının 10 μ M, 25 μ M ve 100 μ M B uygulanan bitkilere göre istatistiki açıdan önemli oranda düşük olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.2.1.1.) (Şekil 3.2.1.1.). Bununla beraber, günler arasında gövde uzunluğu, yaş ve kuru ağırlıkta görülen artış oranına bakıldığında, 3-17. günlerde muameleler arasında hiçbir fark görülmemiştir. Buna karşın 17-24. günlerde 500 μ M B uygulanan bitkilerde gövde uzunluğu, yaş ve kuru ağırlıkta görülen artışın diğer muamelelere göre daha düşük olduğu bulunmuştur (Şekil 3.2.1.1.)



Şekil 3.1.1. Farklı B uygulamalarının yapraklar üzerindeki makroskobik (A) ve mikroskobik (B) etkileri. Yapraklar uygulamanın 24. gününde birinci yaprak çiftlerinden seçilmiştir.



Şekil 3.2.1.1. Bor uygulamalarının gelişiminin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinde gövde büyümesi üzerine etkileri. Ayçiçeği fideleri 3. günden itibaren 10 μM, 25 μM, 100 μM ve 500 μM B içeren solusyonlarla 24 gün boyunca büyütülerek 3, 10, 17 ve 24. günlerde gövde uzunluğu (A), yaş (B) ve kuru ağırlıkları (C) belirlenmiştir. Verilen değerler birbirinden bağımsız olarak yapılan dört deneyin ortalaması ±SE olup, her nokta için n = 98-120' dir.



Şekil 3.2.1.2. Bor uygulamalarının gelişiminin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinde kök büyümesi üzerine etkileri. Ayçiçeği fideleri 3. günden itibaren 10 µM, 25 µM, 100 µM ve 500 µM B içeren solüsyonlarla 24 gün boyunca büyütülerek 3, 10, 17 ve 24. günlerde kök uzunluğu (A), yaş (B) ve kuru ağırlıkları (C) belirlenmiştir. Verilen değerler birbirinden bağımsız olarak yapılan dört deneyin ortalaması \pm SE olup, her nokta için $n=98-120$ ' dir.

Farklı B uygulamalarının kök büyümesi üzerine etkilerine bakıldığında, uygulama süresince kök uzunluğu ve kuru ağırlığında muameleler arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Şekil 3.2.1.2.). Buna karşın tüm B uygulamaları 10 ve 17. günlerde kök yaş ağırlığını etkilememesine rağmen 24. günde 500 μM B uygulanan bitkilerin kök yaş ağırlığının 10 μM , 25 μM ve 100 μM B uygulanan bitkilere göre önemli derecede düşük olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.2.1.1.) (Şekil 3.2.1.2.).

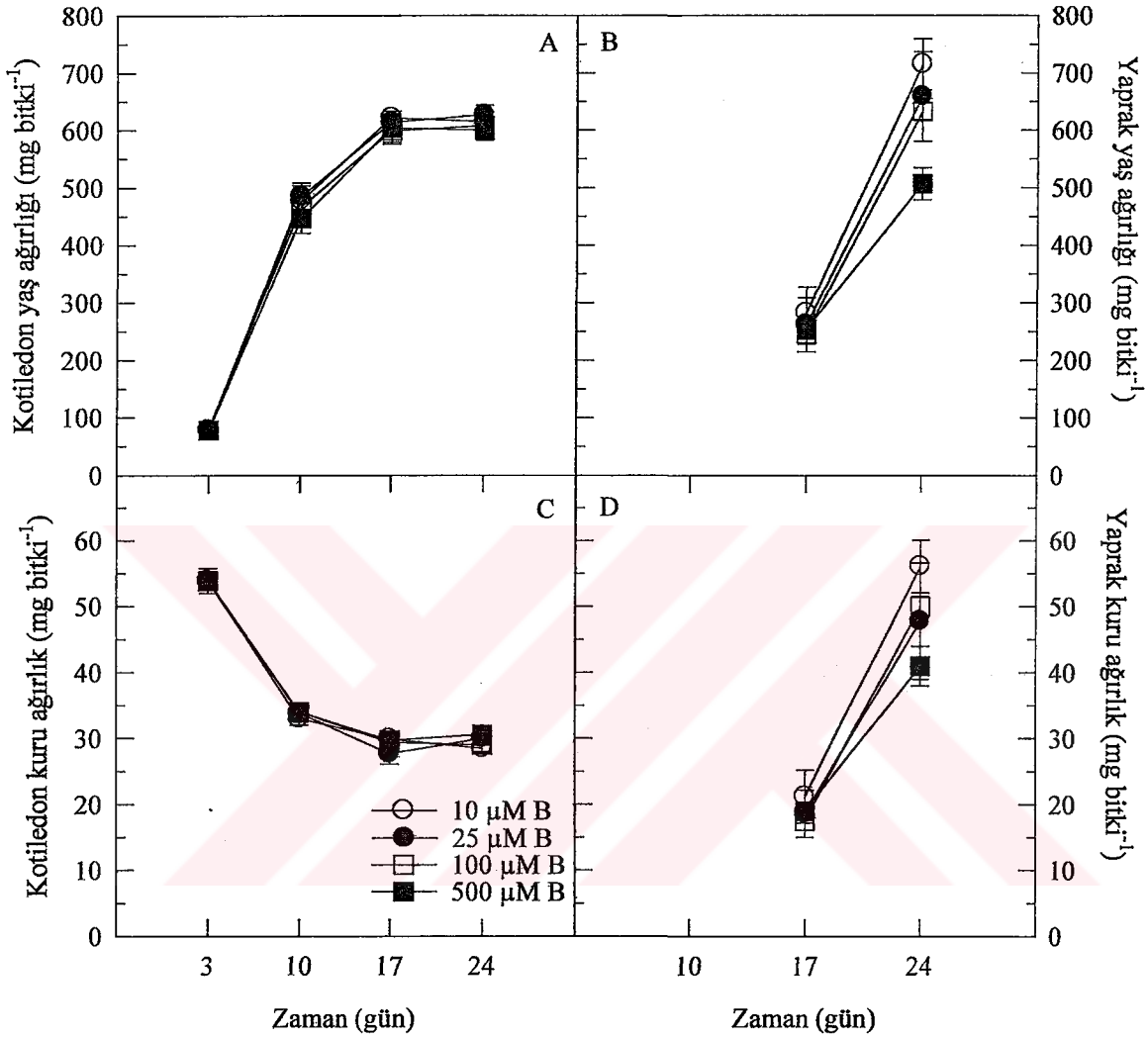
Bor uygulamalarının uygulama süresince kotiledon ve yaprakların yaş ve kuru ağırlığı üzerinde istatistiki açıdan önemli bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir (Duncan'a göre $p < 0.05$) (Şekil 3.2.1.3.). Tüm uygulamalarda kotiledon yaş ağırlığının 3-17. günler arasında arttığı görülürken 17-24. günler arasında ise değişmediği tespit edilmiştir.

Bununla birlikte 3-17. günler arasında kotiledon kuru ağırlığının gittikçe azaldığı, 17-24. gün aralığında ise değişmediği tespit edilmiştir. Yaprğa bakıldığında ise tüm B uygulamalarında 17-24. gün aralığında yaş ve kuru ağırlık miktarının arttığı fakat uygulamalar arasında istatistiki açıdan bir fark olmadığı bulunmuştur (Şekil 3.2.1.3. B-D).

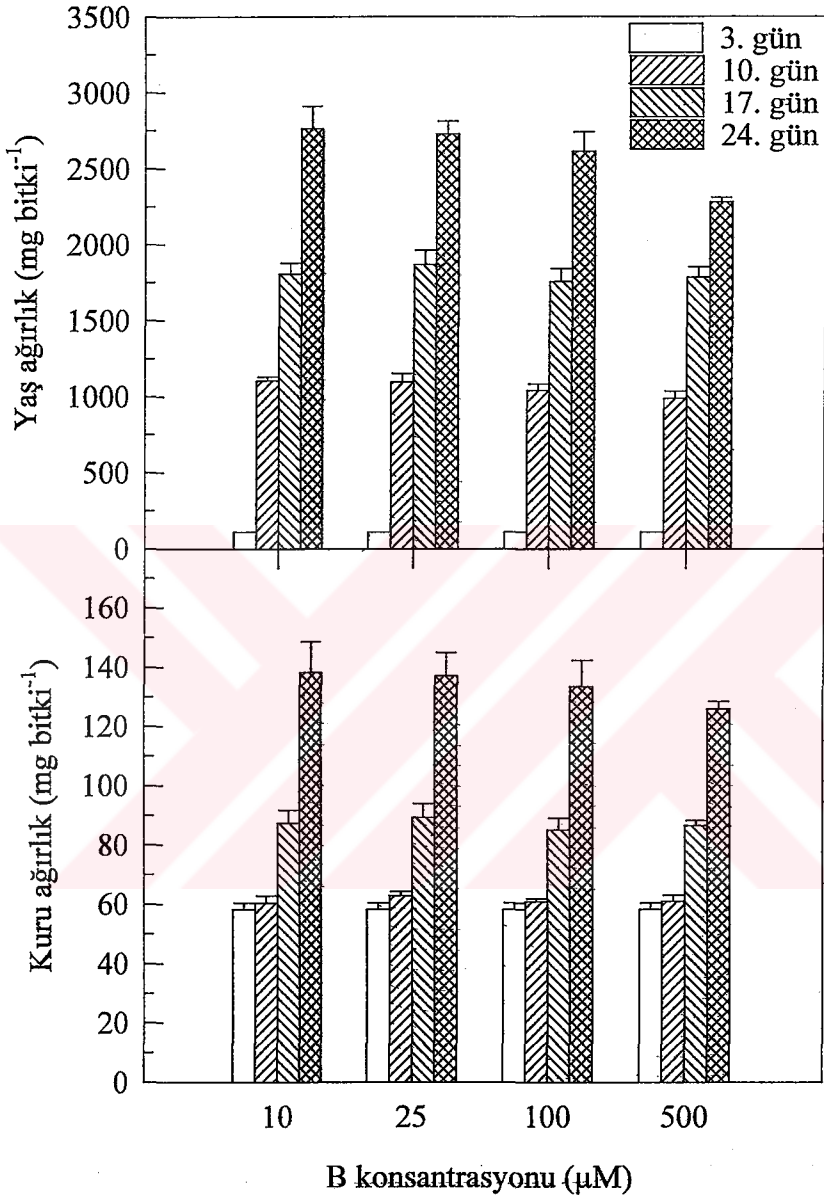
Çizelge 3.2.1.1. Bor uygulamalarının ayçiçeği fidelerinde gövde, kök, kotiledon ve yaprak gelişimi üzerine etkileri. Tabloda verilen değerler 24 günlük fidelere ait olup birbirinden bağımsız olarak yapılan dört deneyin ortalaması \pm SE' dir. Her değer gövde, kök ve kotiledon için $n=98-120$, yaprak için $n= 39-52$ 'dir.

		B Konsantrasyonu (μM)			
		10	25	100	500
Gövde	Uzunluk (cm/bitki)	18.3 \pm 0.7 a	16.5 \pm 0.57 b	16.6 \pm 0.66 b	14,9 \pm 0.19 b
	Yaş Ağırlık (mg)	1148 \pm 60 a	1113 \pm 54 b	1076 \pm 37.7 b	844 \pm 16 c
	Kuru Ağırlık (mg)	47.7 \pm 2.4 a	44.5 \pm 1.74 ab	43.9 \pm 1.83 ab	36.3 \pm 0.56 c
Kök	Uzunluk (cm/bitki)	11 \pm 0.38 a	10.4 \pm 0.54 a	10.4 \pm 0.94 a	11.9 \pm 1.17 a
	Yaş Ağırlık (mg)	374 \pm 22.9 a	369 \pm 8.00 a	377 \pm 18 a	345 \pm 3.00 b
	Kuru Ağırlık (mg)	16.7 \pm 0.89 a	15.8 \pm 0.8 a	17 \pm 0.57 a	16.5 \pm 0.46 a
Kotiledon	Yaş Ağırlık (mg)	615 \pm 18 a	627 \pm 17 a	608 \pm 24 a	600 \pm 18 a
	Kuru Ağırlık (mg)	28.5 \pm 0,48 a	30 \pm 0.7 a	29 \pm 1.2 a	30.6 \pm 0,94 a
Yaprak	Yaş Ağırlık(mg)	715 \pm 44 a	659 \pm 78 a	633 \pm 15 a	507 \pm 28.0 a
	Kuru Ağırlık(mg)	56.1 \pm 4 a	47.8 \pm 8.80 a	50.0 \pm 1.55 a	41 \pm 3 a

Duncan testine göre ($p < 0.05$). Her satırda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir.



Şekil 3.2.1.3. Bor uygulamalarının gelişiminin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinde kotiledon ve yaprak büyümesi üzerine etkileri. Ayçiçeği fideleri 3. günden itibaren 10 µM, 25 µM, 100 µM veya 500 µM B içeren solüsyonlarla 24 gün boyunca büyütülerek 3, 10, 17 ve 24. günlerde kotiledon yaş (A) ve kuru ağırlıkları (C), 17. ve 24. günlerde ise yaprak yaş ağırlık (B) ve kuru ağırlıkları (D) belirlenmiştir. Verilen değerler birbirinden bağımsız olarak yapılan dört deneyin ortalaması \pm SE olup, her nokta kotiledon için $n=98-120$, yaprak için $n=39-59$ dur.



Şekil 3.2.1.4. Bor uygulamasının gelişimin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinin toplam bitki yaş ve kuru ağırlık üzerine etkileri. Ayçiçeği fideleri 3. günden itibaren 10 µM, 25 µM, 100 µM veya 500 µM B içeren solüsyonlarla 24 gün boyunca büyütülerek 3, 10, 17 ve 24. günlerde toplam bitki yaş (A) ve kuru ağırlıkları (B) belirlenmiştir. Verilen değerler birbirinden bağımsız olarak yapılan dört deneyin ortalaması \pm SE olup, her sütun için $n=98-120$ ' dir.

Genel olarak farklı konsantrasyondaki B uygulamalarının toplam bitki yaş ve kuru ağırlığı üzerine olan etkilerine bakıldığında 10 ve 17. günlerde bitki yaş ve kuru ağırlığında muameleler arasında istatistiki açıdan önemli bir fark görülmemiştir. Buna karşın 24. günde 500 μM B uygulanan bitkilerin yaş ağırlığının sadece 10 μM B uygulanan bitkilere göre önemli oranda düşük olduğu bulunmuştur (Duncan'a göre $p < 0.05$) (Şekil 3.2.1.4.). Günler arası artış oranına bakıldığında ise 17-24 günler arasında 10 μM , 25 μM ve 100 μM B uygulanan bitkilerin yaş ağırlığında görülen bu artış oranı yaklaşık % 46- 53 iken 500 μM B' da bu oran % 28' dir. Aynı şekilde 10 μM , 25 μM ve 100 μM B uygulanan bitkilerin kuru ağırlığında meydana gelen artış oranı % 53-58 iken, 500 μM B' da ise bu artış % 45'dir. Buna karşın, tüm uygulamalarda uygulama süresince toplam bitki kuru ağırlığında önemli bir fark tespit edilmemiştir (Duncan'a göre $p < 0.05$) (Şekil 3.2.1.4.).

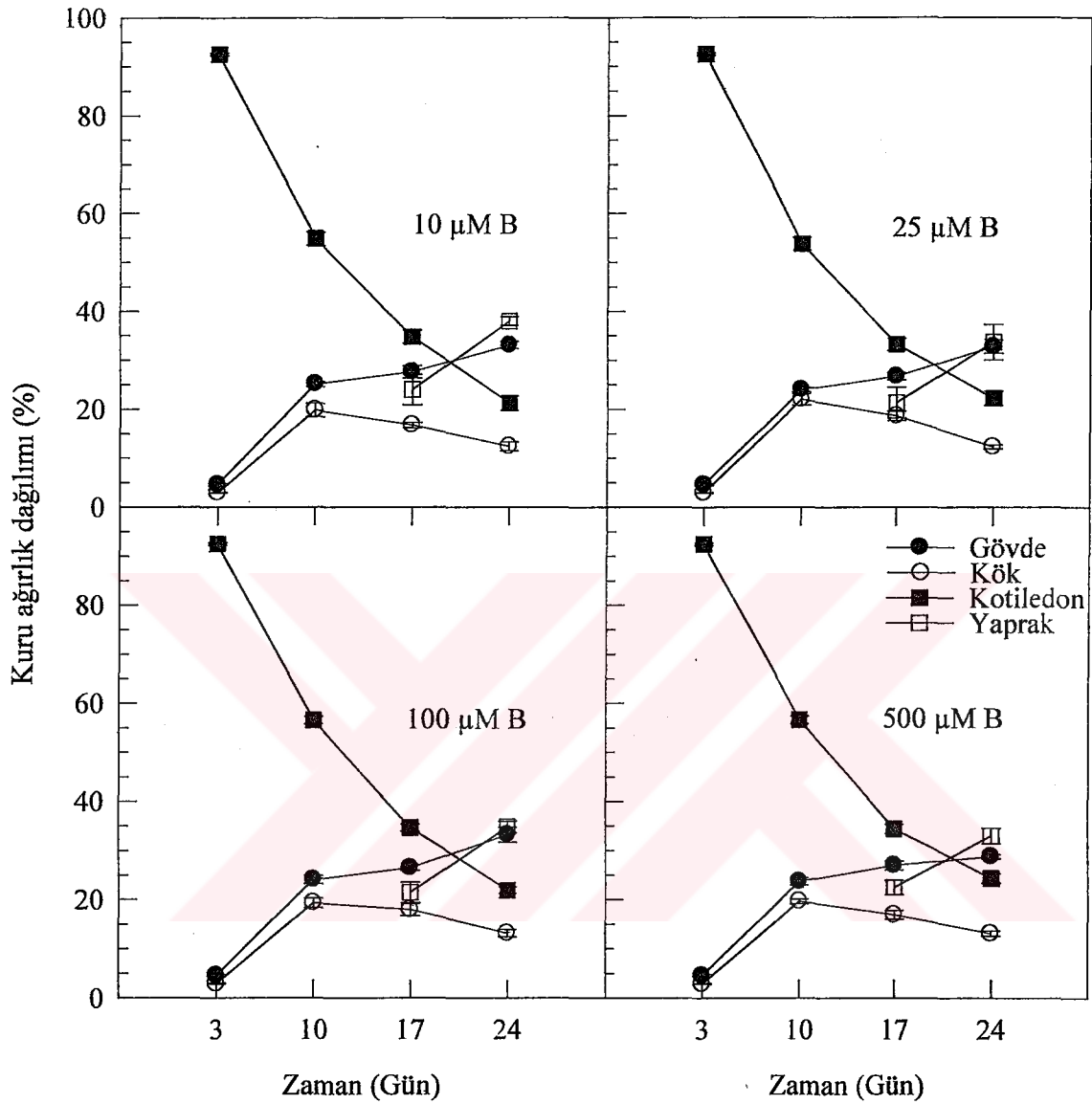
3.2.2. Kuru materyalin organlara göre dağılımı

Bitki kuru materyalinin organlara göre dağılımına bakıldığında, toplam kuru ağırlığın kök, gövde, kotiledon ve yaprak arasında uygulama süresince tüm B uygulamalarında aynı oranda dağıtıldığı görülmektedir (Şekil 3.2.2.1.). Uygulamayı takip eden ilk haftada (10. gün) toplam kuru ağırlığın kök, gövde ve kotiledon arasındaki dağılımı yaklaşık olarak sırasıyla % 20, % 24 ve % 55' dir. 17. günde ise kök ve kotiledona ayrılan kuru ağırlık miktarının yüzdesi gittikçe azalırken, gövdenin kuru ağırlık yüzdesi artmaktadır. Bununla beraber ilk yaprak örneklerinin alındığı 17. günde kuru ağırlığın % 21' ini yaprakların oluşturduğu bulunmuştur. Uygulamaların son haftasında (24. gün) ise yaprak kuru ağırlık yüzdesinin arttığı görülmektedir. Toplam kuru ağırlığın kök, gövde, kotiledon ve yaprak arasındaki dağılımı tüm B uygulamalarında yaklaşık olarak sırasıyla % 12, %32, % 22 ve % 34'tür (Şekil 3.2.2.1.).

3.2.3. Bağlı büyüme oranı

Farklı konsantrasyonlarda B uygulanan bitkilerde, muameleler içi bağlı büyüme oranına bakıldığında, tüm uygulamalarda 3-10 ve 17-24. günler arasında görülen artışın istatistiki açıdan önemli olduğu bulunmuştur (LSD $p < 0.05$) (Çizelge 3.2.3.1.). Fakat 10-17. günler arasındaki bağlı büyüme oranındaki artış ise istatistiki açıdan önemsizdir.

Bununla beraber muameleler arası 3-10 ve 10-17 gün aralığındaki bağlı büyüme oranı benzerdir. 10-17. gün aralığındaki bağlı büyüme oranı 3-10. günlerden % 4 daha fazla olmasına rağmen bu farklılık önemsizdir. 17-24. günlerde ise 10, 25 ve 100 μM B' da bağlı büyüme oranı 10-17. günlerden % 2 oranında daha fazla iken bu oran 500 μM B' da % 0.1' dir.



Şekil 3.2.2.1. Bor uygulamalarının gelişimin farklı evrelerinde olan ayçiçeği fidelerinde kuru materyalin kök, gövde, kotiledon ve yaprak dağılımı üzerine etkileri. Ayçiçeği fideleri 3. günden itibaren 10 µM, 25 µM, 100 µM veya 500 µM B içeren solüsyonlarla 24 gün boyunca büyütülerek 3, 10, 17 ve 24. günlerde kuru materyalin kök, gövde, kotiledon ve yaprak arasındaki dağılımı belirlenmiştir. Verilen değerler birbirinden bağımsız olarak yapılan dört deneyin ortalaması \pm SE olup, her nokta için n= 98-120' dir.

Fakat 17-24. gün aralığında bağıl büyüme oranında görülen bu farklılık istatistiki açıdan önemsizdir (LSD $p < 0,05$) (Çizelge 3.2.3.1.).

Genel olarak farklı B uygulamalarının ayçiçeği bitkisinin vejetatif büyüme üzerine olan etkilerine bakıldığında B' un özellikle gövde büyümesini engellediği bulunmuştur. Özellikle 500 μ M B uygulanan ayçiçeği fidelerinde gövde uzunluğunun 10 μ M B' a göre, yaş ve kuru ağırlık miktarının ise diğer tüm uygulamalara göre önemli derecede düşük olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın tüm B uygulamalarının uygulama süresince kök, kotiledon ve yaprak büyümesi üzerine önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bitki kuru materyalinin tüm uygulamalarda kök, gövde, kotiledon ve yaprak arasında eşit oranda dağıtılması da yukarıdaki verileri desteklemektedir.

Çizelge 3.2.3.1. Bor uygulamalarının ayçiçeği fidelerinde ortalama bağıl büyüme oranı üzerine etkileri.

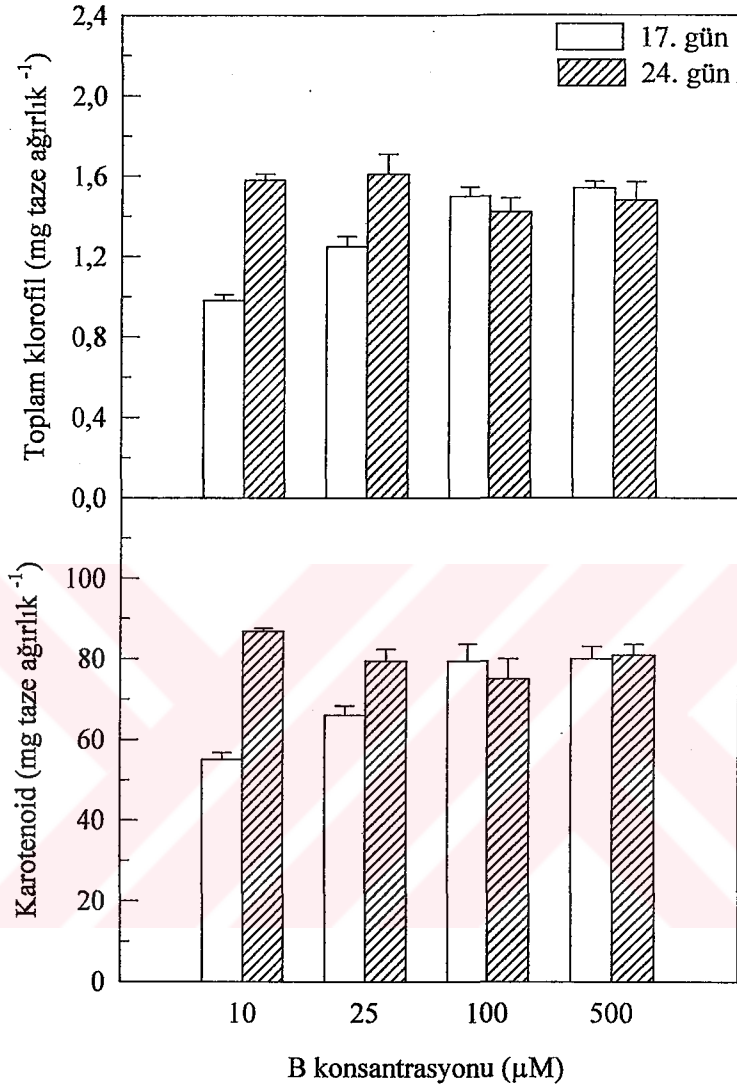
Ortalama Bağıl Büyüme Oranı				
B Konsantrasyonu (μ M)	3-10. gün	10-17. gün	17-24. gün	LSD
10	0.004	0.057	0.073	0.067
25	0.011	0.044	0.069	0.058
100	0.002	0.048	0.071	0.046
500	0.005	0.050	0.051	0.040
LSD	0.015	0.021	0.035	

3.3. Farklı Bor Uygulamalarının Ayçiçeği Fidelerinde Yaprak Pigment ve Protein Miktarı Üzerine Etkileri

Bu çalışmada dört farklı konsantrasyonda (10 μ M, 25 μ M, 100 μ M, 500 μ M) B içeren kültür çözeltilerinde yetiştirilen 17 ve 24 günlük ayçiçeği fidelerinde yaprak pigment ve protein miktarı araştırılmıştır.

3.3.1. Pigment miktarı üzerine etkiler

Farklı B konsantrasyonlarında yetiştirilen ayçiçeği fidelerinde uygulamanın 17 ve 24. günlerinde yaprak toplam klorofil ve karotenoid miktarı saptanmıştır. 10 ve 25 μ M B uygulanan bitkilerde uygulama süresinin artmasına paralel olarak toplam klorofil miktarı da artmaktadır.



Şekil 3.3.1.1. Bor uygulamalarının ayçiçeği bitkisinde yaprak toplam klorofil ve karotenoid miktarı üzerine etkileri. Ayçiçeği fideleri 10 µM, 25 µM, 100 µM veya 500 µM B içeren solüsyonlarda 24 gün boyunca yetiştirilmiştir. Birinci yaprak çiftlerindeki toplam klorofil ve karotenoid miktarı 17. ve 24. günlerde saptanmıştır. Verilen değerler birbirinden bağımsız olarak yapılan dört deneyin ortalaması ± SE olup, her sütun için n = 9' dur.

17. günden 24. güne 10 ve 25 μM B' da klorofil miktarında sırasıyla %61 ve %26 oranında bir artış görülmüş olup bu artışın istatistiki açıdan önemli olduğu bulunmuştur (t-testi $p < 0.05$). Bununla beraber tüm uygulamalarda 24. günde klorofil miktarının istatistiki açıdan önemli derecede değişmediği bulunmuştur (Şekil 3.3.1.1.).

Uygulamalar arası klorofil miktarında görülen değişime bakıldığında ise 17. günde 10 μM B uygulanan bitkilerin klorofil miktarının diğer tüm uygulamalardan % 30 oranında düşük olduğu bulunmuştur. Bu düşüş istatistiki açıdan önemlidir (Duncan'a göre $p < 0,05$). 24. günde ise tüm uygulamalarda klorofil miktarında istatistiki açıdan önemli bir fark olmadığı bulunmuştur.

Bor uygulamalarının yaprak karotenoid miktarı üzerine etkilerine bakıldığında ise 10 μM ve 25 μM B uygulanan bitkilerde uygulama süresinin artmasına paralel olarak karotenoid miktarının arttığı bulunmuştur. 17. günden 24. güne karotenoid miktarında sırasıyla % 55 ve %20 oranında bir artış görülmüş ve bu artışın istatistiki açıdan önemli olduğu bulunmuştur (t-testi $p < 0.05$). Bununla beraber 100 μM ve 500 μM B uygulanan bitkilerde ise karotenoid miktarının istatistiki açıdan önemli derecede değişmediği bulunmuştur (Şekil 3.3.1.1.).

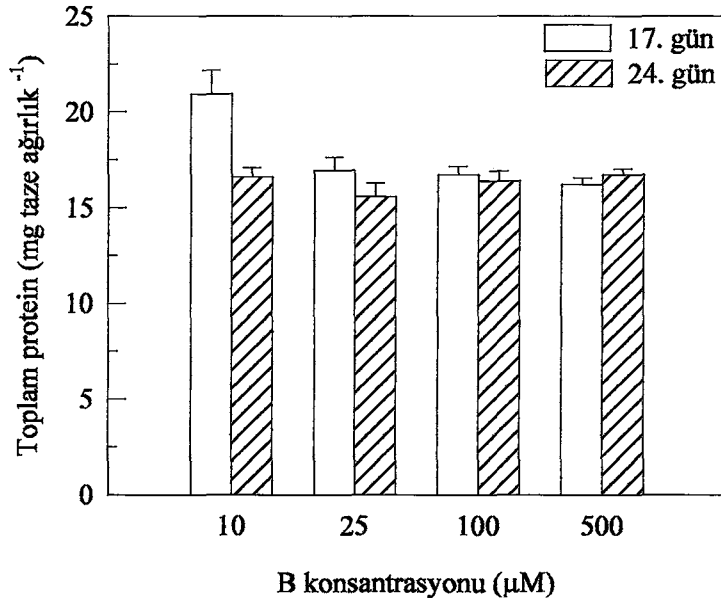
Uygulamalar arası karotenoid miktarında görülen değişime bakıldığında ise 17. günde 10 μM ve 25 μM B uygulanan bitkilerin karotenoid miktarının diğer uygulamalardan sırasıyla %45 ve %20 oranında düşük olduğu bulunmuştur. Bu düşüş istatistiki açıdan önemlidir (Duncan'a göre $p < 0,05$). 24. günde ise tüm uygulamalarda karotenoid miktarının benzer olduğu saptanmıştır.

3.3.2. Protein miktarı ve protein profili üzerine etkiler

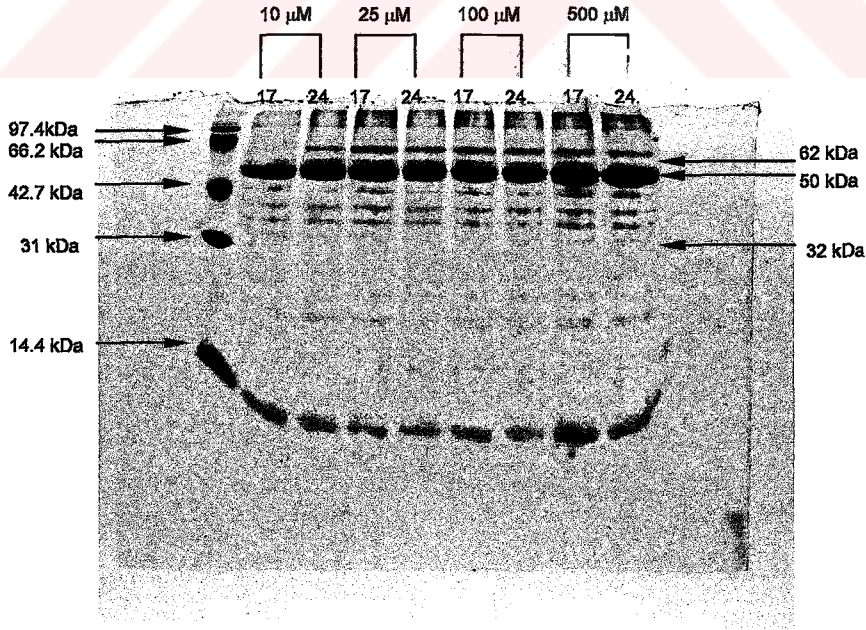
Farklı B konsantrasyonlarında yetiştirilen ayçiçeği fidelerinde uygulamanın 17 ve 24. günlerinde toplam protein miktarı saptanmıştır. 10 μM B uygulanan bitkilerde uygulama süresinin artmasına paralel olarak toplam protein miktarının düştüğü saptanmıştır. 17. günden 24. güne protein miktarında % 21 oranında bir düşüş görülmüş olup bu düşüşün istatistiki açıdan önemli olduğu bulunmuştur (t-testi $p < 0.05$) (Şekil 3.3.2.1.).

Uygulamalar arası protein miktarında görülen değişime bakıldığında 17. günde 10 μM B uygulanan bitkilerin protein miktarının diğer tüm uygulamalardan yaklaşık olarak % 20 oranında daha fazla olduğu ve bunun istatistiki açıdan önemli olduğu bulunmuştur. 24. günde ise tüm uygulamalarda protein miktarında önemli bir değişiklik saptanmamıştır (Şekil 3.3.2.1.).

Comassie blue ile boyanmış jellerde yaprak toplam protein profiline bakıldığında ise hem uygulama içi hem de uygulamalar arası bazı farklılıklar gözlenmiştir. 25, 100 ve 500 μM B uygulanan bitkilerde 17. ve 24. günlerde görülen 62 kDa proteininin 10 μM B uygulanan bitkilerde



Şekil 3.3.2.1. Bor uygulamalarının ayçiçeği bitkisinde yaprak toplam protein miktarı üzerine etkileri. Ayçiçeği fideleri 10 µM, 25 µM, 100 µM veya 500 µM B içeren solüsyonlarda 24 gün boyunca yetiştirilmiştir. Birinci yaprak çiftlerindeki toplam protein miktarı 17. ve 24. günlerde saptanmıştır. Verilen değerler birbirinden bağımsız olarak yapılan dört deneyin ortalaması ± SE olup, her sütun için n = 9'dur.



Şekil 3.3.2.2. Bor uygulamalarının protein profili üzerine etkileri. Protein örnekleri 17. ve 24. günlerde birinci yaprak çiftlerinden izole edilip jele yaprak alanı temel alınarak yüklenmiştir.

17. günde bulunmadığı ve 24. günde belirmeye başladığı bulunmuştur. Buna karşın 32 kDa proteinin ise 10 μ M B' da diğer uygulamalardan daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca 50 kDa proteininin 500 μ M B uygulanan bitkilerde diğer uygulamalara göre arttığı bulunmuştur.



4. TARTIŞMA

4.1. Borun Vejetatif Büyüme Üzerine Etkileri

Bitkilerde B eksikliği ve toksikliğinin yapraklarda gözle görülebilen semptomları vardır. Bu çalışmada 100 ve 500 μM B uygulanan bitkilerde yaprak ucu ve kenarlarında nekrozların görülmesi bu konsantrasyonların ayçiçeği bitkisi için toksik olduğunu göstermektedir. Bununla beraber bu çalışmadan elde edilen diğer sonuçlar 10 μM B konsantrasyonunun ayçiçeği bitkisi için düşük olduğunu göstermesine rağmen bu bitkilerin yapraklarında B eksikliği semptomları görülmemiştir. Ayçiçeği bitkisinde yapılan çalışmalarda 1 μM B uygulanan bitkilerde bile B eksikliği semptomlarının görülmediği bildirilmiştir [14, 31, 44]. Bu da ayçiçeği bitkisinde, yapraklarda eksiklik veya toksiklik semptomlarının belirmesinden çok daha önce metabolik değişimlerin meydana gelebileceğini göstermektedir [49].

Farklı B uygulamalarının 10. ve 17. günlerinde gövde ve kök gelişimi üzerine bir etkisi görülmemiştir. Fakat 24. günde gövde uzunluğu B konsantrasyonunun artmasına paralel olarak azalmış ve 500 μM B' da gövde yaş ve kuru ağırlığının diğer tüm uygulamalardan daha düşük olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde B toksikliğinde kivi bitkilerinde gövde uzunluğu ve yaş ağırlığının [50] azaldığı bildirilmiştir. Arpada gövde uzaması sırasında uygulanan yüksek konsantrasyondaki B' un bitki ekiminden önce uygulanan B' a göre verimi daha fazla oranda azalttığı bildirilmiştir [77]. Bu da B toksikliğinin özellikle gövde büyümesini etkilediğini göstermektedir.

Köklerde ise sadece kök yaş ağırlığı 500 μM B uygulanan bitkilerde diğer tüm uygulamalara göre düşmüştür. Bor uygulamalarının uygulama süresince kotiledon ve yaprak gelişimi üzerine bir etkisi görülmemiştir. Ayçiçeği üzerinde yapılan bir çalışmada 25 μM B' da yetiştirilen kontrol fidelerinde yaprak kuru ağırlığının 500 μM B' a göre yaklaşık %45 daha az olduğu bulunmuştur. Fakat B uygulamaları çimlenmeden bir ay sonra başlamış ve bitkiler 15 gün B stresine maruz kalmıştır [78].

Toplam bitki yaş ağırlığı uygulamaların son gününde (24. gün) 500 μM B' da 10 μM B' a göre önemli derecede düşük olmasına rağmen, tüm B uygulamaları toplam bitki kuru ağırlığını etkilememiştir. Bağlı büyüme oranları ile kuru materyalin organlar arasında dağılım oranlarının benzer olması B' un 24 günlük ayçiçeği fidelerinde vejetatif büyüme üzerine etkisi olmadığını göstermektedir. Bor çoğunlukla yaprak uç ve kenarlarında birikerek yaprak yanmalarına sebep olmasına karşın yaprak laminasında fotosentezin devam etmesi için yeterli bir bölge bırakır. Orneğin ayçiçeğinde yapraklarına yüksek konsantrasyonda (1200 mM) sodyum tetraborat verilmesi

yaprak yanıklarına sebep olurken bitki büyümesini etkilememiştir [27]. Bu da uygulamalar arasında toplam bitki kuru ağırlığında bir değişim görülmemesinin sebebi olabilir.

Literatürde B eksikliği veya toksikliğinin bitkilerde vejetatif büyümeyi engellediğini gösteren çalışmalar yanında vejetatif büyüme üzerine etkisinin görülmediği araştırmalar da vardır. Bitkilerin B ihtiyacı türler arasında oldukça farklılık göstermekte olup ayçiçeği bitkisi B eksikliğine en hassas tür olarak kabul edilmektedir [3]. Orneğin 0.13 μM B uygulaması ayçiçeği bitkisinde vejetatif büyümeyi inhibe ederken buğdayda herhangi bir etkisi görülmemiştir. Ayçiçeği bitkisinde maksimum gövde uzamasının $\geq 1.2 \mu\text{M B}'$ da, buğdayda ise $\geq 0.6 \mu\text{M B}'$ da olduğu bulunmuş ve ayçiçeğinde $\geq 1.2 \mu\text{M B}'$ da gövde ve kökte herhangi bir eksiklik semptomu görülmemiştir [79]. Bununla beraber 1 μM ve 100 μM B uygulamalarına tabi tutulan ayçiçeği bitkilerinde büyümenin engellenmediği gösterilmiş olup [14, 44] bu çalışmadan elde edilen veriler de bunu desteklemektedir.

4.2. Borun pigment ve protein miktarı üzerine etkisi

Bor uygulamalarının 17. gününde 10 ve 25 μM B uygulanan bitkilerin yapraklarındaki klorofil miktarının 100 ve 500 $\mu\text{M B}'$ a göre %53 ve % 20 oranında düşük olduğu bulunmuştur. Fakat 17. günden 24. güne 10 ve 25 μM B uygulanan bitkilerde klorofil miktarı %61 ve %26 oranında artarak 100 ve 500 μM B uygulanan bitkilerdeki seviyeye çıkmıştır. Yaprak karotenoid miktarında görülen değişimler klorofil miktarında görülen değişimlere benzerdir.

Bor eksikliğinin ayçiçeği bitkisinde yaprak klorofil miktarını düşürdüğü [47]. *Spathiphyllum*' da ise artırdığı [30] bulunmuştur. Bununla beraber B toksikliğinin kabakta [49] ve çeşitli *Citrus* türlerinde [35, 48, 80] klorofil miktarını düşürdüğü, *Pinus* 'da [81] ise klorofil ve karotenoid miktarını etkilemediği bulunmuştur. Bu çalışmada pigment miktarında görülen değişimler literatürle benzerlik göstermektedir. Fakat ilginç olarak uygulama süresi ve bitkinin içinde bulunduğu gelişim evresine göre B eksikliğinin pigment miktarı üzerine etkilerinin farklı olduğu bulunmuştur. Bununla beraber B toksikliğinde klorofil miktarında değişimin görülmemesi B' un özellikle yaprak uç ve kenarlarında birikmesinin bir sonucu olabilir.

Bu çalışmada 10 μM B uygulanan bitkilerin yapraklarındaki protein miktarı 17. günde diğer uygulamalara göre %20 daha fazla olmasına rağmen 24. günde düşerek 25, 100 ve 500 μM B uygulanan bitkilerdeki seviyeye inmiştir. Borun nükleik asit sentezi ve protein metabolizmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bor eksikliğinde DNA ve RNA miktarında düşüş olduğu, azotlu bazların kullanımının sınırlandırıldığı bildirilmiştir [5, 11]. Benzer şekilde protein sentezinde aminoasitlerin kullanımının da sınırlandırıldığı ve B eksikliği ortamında domates köklerinde

görülen inhibisyonun protein sentezinde görülen azalmadan kaynaklanabileceği önerilmiştir. Buna karşın B eksikliğinde fasulye kotiledonlarındaki çözümlü protein miktarının arttığı da bildirilmiştir [36]. Bu çalışmada 10 μM B' da 24. günde protein miktarında görülen düşüş nükleik asit miktarı veya protein sentezinde meydana gelen düşüşten kaynaklanabilir. Fakat bu durum 25, 100 ve 500 μM B' da protein miktarının değişmeme sebebini açıklayamamaktadır. Literatürde de bu konuyla ilgili araştırmalara rastlanmamıştır.

Bitki yapraklarında gelişimsel olarak senesense doğru nükleik asit ve protein miktarında normal olarak düşüş görülür [82]. Gelişmekte olan yapraklarda fikse edilen karbonun çoğu protein, pigment, lipid ve hücre gelişimi için gerekli değer yapısal ve metabolik substratlarda bulunur. Buna karşın olgunluğa yeni ulaşmış veya tamamen olgunlaşmış yapraklarda ise fikse edilen karbonun çoğu şeker sentezi için kullanılır [83]. Bu çalışmada 10 μM B uygulanan bitkilerin yapraklarında 17. günden 24. güne protein miktarı düşmesine rağmen klorofil miktarında artış görülmesi, protein miktarındaki değişimin senesensden kaynaklanamayacağını göstermektedir.

Bitkilerde gelişimsel veya ısı şoku, ozmotik stres, ağır metal iyonları vb. gibi çevresel stres koşullarına cevap olarak çeşitli stres proteinlerinin sentezlendiği veya miktar olarak değişimlerin meydana geldiği bilinmektedir [84, 85]. Bu çalışmada molekül ağırlığı 62 kDa olan proteinin diğer uygulamalara göre 10 μM B' da 17. günde bulunmadığı ve 24. günde belirmeye başladığı tespit edilmiştir. Ayrıca 32 kDa proteininin 10 μM B' da, 50 kDa proteininin ise 500 μM B' da diğer uygulamalara göre arttığı görülmüştür. Bor toksikliğinin iki arpa varyetesinde toplam protein profili üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, yaprak ve kökte bulunan bazı proteinlerde değişimler kaydedilmiştir. Bor' a toleranslı varyetenin köklerinde hassas varyetede görülmeyen molekül ağırlığı 35 kDa olan yeni bir proteinin sentezlendiği, hassas varyetenin yaprak dokularında ise toleranslı varyeteye göre 29 kDa proteininin düştüğü, 58 ve 22 kDa proteinlerinin ise tamamen kaybolduğu bildirilmiştir [86].

Buğdayda NaCl ve B toksikliği stresinin proteinler üzerine etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise, intraselüler (sitoplazmik) çözümlü protein miktarında bir değişim görülmemiş fakat interselüler (apoplastik) bölümdaki çözümlü protein miktarının arttığı ve protein profilinin değiştiği saptanmıştır. Apoplastik proteinlerde özellikle 19 kDa molekül ağırlığındaki proteinde artış, 58 ve 51 kDa proteinlerinde ise düşüş olduğu bildirilmiştir. Sadece yüksek B uygulanan (200 μM) bitkilerde ise apoplastik ve stoplazmik protein miktarının 5 μM uygulanan bitkilerle benzer olduğu, stoplazmik protein profilinde de bir farklılık görülmediği bildirilmiştir [87].

Buğday ve arpada yapılan araştırmalar sonucunda protein profilinde meydana gelen değişimlerin B toksikliğine tolerans mekanizmasında rol oynayabileceği önerilmiştir [86, 87].

Literatürde B eksikliği veya toksikliğinin dikotil bitkilerde yaprak protein miktarı ve protein profili üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamış olup, bu çalışmadan elde edilen sonuçların ileride yapılacak olan araştırmalar için temel oluşturabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] Ediz. N., Özdağ. H., 2001. Bor mineralleri ve ekonomisi. DPÜ Fen Bilimleri Dergisi. sayı: 2. 133-152 s.
- [2] Yılmaz, A., 2002, Her derde deva hazinemiz bor, Bilim ve Teknik, sayı:414, 38-48 s.
- [3] Shorrocks, V. M., 1997, The occurrence and correction of boron deficiency, Plant and Soil, 193, 121-148 p.
- [4] Perica, S., Brown, P. H., Connell, J. H., Nyomora, A. M. S., Dordas, C. and Hu, H., 2001, Foliar boron application fertility and fruit set of olive, Hort Science, 36(4), 714-716 p.
- [5] Marshner, 1997, Functions of mineral nutrition: micronutrients, Mineral Nutrition of Higher Plant, 313-404, 889p.
- [6] Nable, R. O., Banuelos, G. S. and Paull, G., 1997, Boron toxicity, Plant and Soil, 193, 181-197 p.
- [7] Bell, R. W. 1997, Diagnosis and prediction of boron deficiency for plant production, Plant and Soil, 193, 149-169 p.
- [8] Banuelos, G. S., Mackey, B., Wu, L., Zambizuski, S. and Akohoue, S., 1995, Bioextraction of soil boron by tall fescue, Ecotoxicology and Environmental Safety, 31(2), 110-116 p.
- [9] Brown, P. H., Bellaloui, N., Hu, H. and Dandekar, A., 1999, Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to boron deficiency, Plant Physiology, 119, 17-20 p.
- [10] Blevins, D. G., Lukaszewski, K. M., 1998, Boron in plant structure and function, Plant Physiology Plant Molecular Biology, 49, 481-500 p.
- [11] Mengel, K. and Kirkby, E. A., 1979, Boron, Principles of Plant Nutrition, 2nd ed., International Potash Institute, Switzerland 483-494, 593 p.
- [12] Brown, P. H., Bellaloui, N., Wimmer, M. A., Bassil, E. S., Ruiz, J., Hu, H., Pfeffer, H., Dannel, F. and Römheld, V., 2002, Boron in plant biology, Acta Botanica, 51p.
- [13] Brown, P. H. and Hu, H., 1994, Boron uptake by sunflower, squash and cultured tobacco cells, Physiologia Plantarum, 91, 435-441 p.
- [14] Pfeffer, H., Dannel, F. and Römheld, V., 1999, Are there two mechanisms for boron uptake in sunflower?, Journal of Plant Physiology, 155, 34-40 p.
- [15] Dordas, C., Chrispeels, M. J., Brown, P. H., 2000, Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots, Plant Physiology, 124, 1349-1361 p.
- [16] Ruiz, J. M. (2001). Aquaporin and function in boron uptake, Plant Science, 6, 3 p.
- [17] Bellaloui, N., Brown, P. H. and Dandekar, A. M., 1999, Manipulation of *in vivo* sorbitol production alters boron uptake and transport in tobacco, Plant Physiology, 119, 735-741 p.
- [18] Brown, P. H. and Hu, H., 1996, Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species, Annals of Botany, 77, 497-505 p.

KAYNAKLAR (Devam)

- [19] Hu, H., Brown, P. H., 1994, Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin (evidence for a structural role of boron in the cell wall), *Plant Physiology*, 105, 681-689 p.
- [20] Perica, S., Bellaloui, N., Greeve, C., Hu, H. and Brown, P. H., 2001, Boron transport and soluble carbohydrate concentrations in olive, *Journal of American Society Science*, 126(3), 291-296 p.
- [21] Hu, H., Penn, S. G., Lebrilla, C. B. and Brown, P. H., 1997, Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants, *Plant Physiology*, 113, 649-655 p.
- [22] Papadakis, I. E., Dimassi, K. N. and Therios, I. N., 2003, response of two citrus genotypes to six boron concentrations: concentration and distribution of nutrients, total absorption and nutrient use efficiency, *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 571- 580 p.
- [23] Zhao, D., Oosterhuis, D. M., 2002, Cotton carbon exchange, nonstructural carbohydrates, and boron distribution in tissues during development of boron deficiency, *Field Crops Research*, 78, 75-87 p.
- [24] Picchioni, G. A. and Miyamoto, S., 1991, Boron uptake and effects on growth and carbohydrate partitioning of pistachio seedling, *Journal of American Society Horticulture Science*, 116(4), 706-711 p.
- [25] Taban, S. and Erdal, I., 2000, Bor uygulamasının değişik buğday çeşitlerinde gelişme ve toprak üstü aksamda bor dağılımı üzerine etkisi, *Turk Journal of Agricultural Forestry*, 24, 255-262 s.
- [26] Reid, R. J., Hayes, J. E., Post, A., Stangoulis, J. C. R. and Graham, R. D., 2004, A critical analysis of causes of boron toxicity in plants, *Plant, Cell and Environment*, 25, 1405-1414 p.
- [27] Asad, A., Blamey, F. P. C. and Edwards, D. G., 2003, Effects of foliar applications on vegetative and reproductive growth of sunflower, *Annals of Botany*, 92, 565-570 p.
- [28] El-Shintinawy, F., 1999, Structural and functional damage caused by boron deficiency in sunflower leaves, *Photosynthetica*, 36, 565-573 p.
- [29] Goldbach, H. E., Yu, Q., Wingender, R., Schulz, M., Wimmer, M., Findekle, P. and Baluska, B., 2001, Rapid response reactions of roots to boron deprivation, *Journal of Plant Nutrition Soil Science*, 164, 173-181 p.
- [30] Yeh, D. M., Lin, L., Wright, C. J., 2000, Effects of mineral nutrition deficiencies on leaf development, visual symptoms and shoot-root ratio of *Spathiphyllum*, *Scientia Horticulturae*, 86, 223-233 p.
- [31] Dannel, F., Pfeffer, H. and Römheld, V., 1998, Compartmentation of boron in roots and leaves of sunflower as affected by boron supply, *Journal of Plant Physiology*, 153, 615-622 p.
- [32] Ye, Z., Huang, L., Bell, R. W. and Dell, B., 2003, Low root zone temperature favours shoot B partitioning into young leaves of oilseed rape (*Brassica napus*), *Physiologia Plantarum*, 118, 213-220 p.

KAYNAKLAR (Devam)

- [33] Li, C., Pfeffer, H., Dannel, F., Römheld, V. and Bangerth, F., 2001, Effects of boron starvation on boron compartmentation and possibly hormone-mediated elongation growth and apical dominance of pea (*Pisum sativum*) plants, *Physiologia Plantarum*, 111, 212-219 p.
- [34] Alpaslan, M. and Günes, A., 2001, Interactive effects of boron and salinity stress on the growth, membrane permeability and mineral composition of tomato and cucumber plants, *Plant and Soil*, 236, 123-128 p.
- [35] Papadakis, I. E., Dimassi, K. N., Bosabalidis, A. M., Therios, I. N., Patakas, A., Giannakoula, A., 2004, Effects of B excess on some physiological parameters of 'Navalina' orange plants grafted on two rootstocks, *Environmental and Experimental Botany*, 51, 247-257 p.
- [36] Lauchli, A. and Bieleski, R. L., 1983, Inorganic plant nutrition, *Encyclopedia of Plant Physiology New Series Volume 15B*, Ed: A. Pirson Göttingen, M. H. Zimmermann, Springer-Verlag, Berlin 626-650, 870 p.
- [37] Huang, L., Pant, J., Dell, B. and Bell, R. W., 2000, Effects of boron deficiency on anther development and floret in wheat (*Triticum aestivum* L. 'Wilgoyne'), *Annals of Botany*, 85, 493-500 p.
- [38] Görmüş, O., 2005, Interactive effect of nitrogen and boron on cotton yield and fiber quality, *Turk Journal of Agricultural Forestry*, 29, 51-59 p.
- [39] Rerkarsem, B. and Jamjod, S., 2004, Boron deficiency in wheat: a review, *Field Crops Research*, 89, 173-186 p.
- [40] Subedi, K. D., Gregory, P. J., Summerfield, R. J., Gooding, M. J., 1998, Cold temperatures and boron deficiency caused grain set failure in spring wheat (*Triticum aestivum*), *Field Crops Research*, 57, 277-288 p.
- [41] Yau, S. K. and Saxena, M. C., 1997, Variation in growth, development and yield of durum wheat in response to high soil boron, *Australian Journal of Agricultural Research*, 48, 945-949 p.
- [42] Matoh, T., Tasaki, M., Kobayashi, M. and Takabe, K., 2000, Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. III. Characterization of the boron-rhamnogalacturonan II complex in cells acclimated to low levels of boron, *Plant Cell Physiology*, 41, 363-366 p.
- [43] Fleischer, A., Titel, C., Ehwald, R., 1998, The boron requirement and cell wall properties of growing and stationary suspension-cultured *Chenopodium album* L. cells, *Plant Physiology*, 117, 1401-1410 p.
- [44] Pfeffer, H., Dannel, F. and Römheld, V., 2001, Boron compartmentation in roots of sunflower plants of different boron status: A study using the stable isotopes B^{10} ve B^{11} adopting two independent approaches, *Physiologia Plantarum*, 113, 346-351 p.
- [45] Perez, S., Rodriguez-Carvajal, M. A., Doco, T., 2003, A complex cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II a structure in quest of a function, *Biochimie*, 85, 109-121 p.
- [46] O'Neill, M. A., Ishii, T., Albersheim, P. and Darvill, A. G., 2004, Rhamnogalacturonan II: Structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide, *Annual Review Plant Biology*, 55, 109-139 p.

KAYNAKLAR (Devam)

- [47] Kastori, R., Plesnicar, M., Pankovic, D. and Sakac, Z., 1995, Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and soluble carbonhydrates in sunflower leaves as affected by boron deficiency, *Journal of Plant Nutrition*, 18, 1751-1763 p.
- [48] Papadakis, I. E., Dimassi, K. N., Bosabalidis, A. M., Therios, I. N., Patakas, A., Giannakoula, A., 2004, Boron toxicity in 'Clementine' mandarin plants grafted on two rootstocks, *Plant Science*, 166, 539-547 p.
- [49] Lovatt, C. J. and Bates, L. M., 1984, Early effects of excess boron on photosynthesis and growth of *Cucurbita pepo*, *Journal of Experimental Botany*, 35, 297-305 p.
- [50] Sotiropoulos, T. E., Therios, I. N., Dimassi, K. N., Bosabalidis, A. and Kofidis, G., 2002, Nutritional status, growth, CO₂ assimilation and leaf anatomical responses in two kiwifruit species under boron toxicity, *Journal of Plant Nutrition*, 25, 1249-1261 p.
- [51] Ruiz, J. M., Bretones, G., Baghour, M., Ragala, L., Belakbir, A. and Romero, L., 1998, Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves, *Phytochemistry*, 48, 269-272 p.
- [52] Ghanati, F., Morita, A., Yokota, H., 2005, Deposition of suberin in root of soybean induced by excess boron, *Plant science*, 168, 397- 405 p.
- [53] Camacho-Cristobal, J. J., Anzellotti, D., Gonzales-Fontes, A., 2002, Changes in phenolic metabolism of tobacco plants during short-term boron deficiency, *Plant Physiology and Biochemistry*, 40, 997-1002 p.
- [54] Cara, F., Sanchez, E., Ruiz, J. M. and Romero, L., 2002, Is phenol oxidation responsible for the short-term effect of boron deficiency on plasma-membrane permeability and function in squash root?, *Plant Physiology and Biochemistry*, 40, 853-858 p.
- [55] Pfeffer, H., Dannel, F. and Römheld, V., 1998, Are there connections between phenol metabolism, ascorbate metabolism and membrane integrity in leaves of boron-deficient sunflower plants?, *Physiologia Plantarum*, 104, 479-485 p.
- [56] Kocaçalışkan, I., 2001, Bitki fizyolojisi, Kütahya, 407 s.
- [57] Mateo, P., Martinez, F., Bonilla, I., Valiente, F. E. and Maeso, E. S., 1987, Effects of high boron concentrations on nitrate utilization and photosynthesis in blue-green algae *Anabaena* PCC 7119 and *Anacystic nidulans*, *Journal of Plant Physiology*, 128, 161-168 p.
- [58] Carpena, R. O., Estaban, E., Sarro, M. J., Penalosa, J., Garate, A., Lucena, J. J., Zornoza, P., 2000, Boron and calcium distribution in nitrogen-fixing pea plants, *Plant Science*, 151, 163-170 p.
- [59] El-Hamdaoui, A., Redondo-Nieto, M., Rivilla, R., Bonilla, I., Bolanos, L., 2003, Effects of boron and calcium nutrition on the establishment of the *Rhizobium leguminosarum-pea (Pisum sativum)* symbiosis and nodule development under salt stress, *Plant Cell and Environment*, 26, 1003-1011 p.
- [60] Bolanos, L., Brewin, N. J. and Bonilla, I., 1996, Effects of boron on *Rhizobium*- legume cell-surface interactions and nodule development, *Plant Physiology*, 110, 1249-1256 p.

KAYNAKLAR (Devam)

- [61] Campbell, N. A., Plant Nutrition, Biology, 4th ed., The Benjamin/Cumming Publishing Company, 711-796, 1206 p.
- [62] Zehirov, G. T., Georgiev, G. I., 2003, Effects of boron starvation on the apoplastic and total solute concentrations influencing nodule growth and acetylene reduction rate, Journal of Plant Physiology, 367-373 p.
- [63] Yu, B. J., Gong, H. M. and Liu, Y. L., 1998, Effects of calcium on lipid composition and function of plasma membrane and tonoplast vesicle isolated from roots of barley seedling under salt stress, Journal of Plant Nutrition, 21 (8), 1589-1600 p.
- [64] Kobayashi, M., Nakagawa, H., Asaka, T. and Matoh, T., 1999, Borate-rhamnogalacturonan II bonding reinforced by Ca²⁺ retains pectic polysaccharides in higher-plant cell walls, Plant Physiology, 119, 199-203 p.
- [65] Sotiropoulos, T. E., Therios, I. N., Dimassi, K. N., 1999, Calcium application as a means to improve tolerance of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* L.) to boron toxicity, Scientia Horticulturae, 81, 443-449 p.
- [66] Cakmak, I., Römheld, V., 1997, Boron deficiency- induced impairments of cellular functions in plants, Plant and Soils, 193, 121- 148 p.
- [67] Rozema, J., De Bruin, J. and Broekman, R. A., 1992, Effects of boron on the growth and mineral economy of some halophytes and non-halophytes, New Phytologist, 121, 249-256 p.
- [68] Hayes, J. E. and Reid, R. J., 2004, Boron tolerance in barley is mediated by efflux of boron from the roots, Plant Physiology, 136, 3376-3382 p.
- [69] Bagheri, A., Paull, J. G., Rathjen, A. J., Ali, S. M. and Moody, D. B., 1992, Genetic variation in the response of pea (*Pisum sativum* L.) to high soil concentrations of boron, Plant and Soil, 146, 261-269 p.
- [70] Paull, J. G., Nable, R. O. and Rathjen, A. J., 1992, Physiological and genetic control of the tolerance of wheat to high concentration of boron and implications for plant breeding, Plant and Soil, 146, 251-260 p.
- [71] Yau, S. K., 2002, Comparison of European with West Asian and North African winter barleys in tolerance to boron toxicity, Euphytica, 123, 307-314 p.
- [72] Beadle, C. L., 1993, Growth analysis, Photosynthesis and Production in a Changing Environment, ed. Hall, D. O., Scurlock, J. M. O., Bolhar-Nordenkamph H. R., Leegood, R. C. and Long S. P., Chapman & Hall, 36-46, 465 p.
- [73] Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, Journal of Biological Chemistry, 193, 266-276 p.
- [74] Hill, C. M., Pearson, S. A., Smith, A. J. and Rogers, L. J., 1985, Inhibition of chlorophyll synthesis in *Hordeum vulgare* by 3- amino 2,3 dihydrobenzoic acid (gabaculin), Bioscience Reports, 5, 775-781 p.
- [75] Laemni, U. K., 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4, Nature, 227, 680- 685 p.

KAYNAKLAR (Devam)

- [76] Kocaçalışkan, İ., 2001, Biyoistatistik, Kütahya, 90 s
- [77] Riley, M. M. and Robson, A. D., 1994, Pattern of supply affects of boron toxicity in barley, Journal of Plant Nutrition, 17, 1721-1738 p.
- [78] Ruiz, J. M., Rivero, R. M., Romero, L., 2003, Preliminary studies on the involvement of biosynthesis of cysteine and glutathione concentration in the resistance to B toxicity in sunflower plants, Plant Science, 165, 811-817 p.
- [79] Asad, A., Bell, R. W., Dell, B., 2001, A critical comparison of the external and boron requirement for contrasting species in boron-buffered solution culture, Plant and Soil, 233, 31-45 p.
- [80] Keleş, Y., Öncel, I. N. and Yenice, N., 2004, Relationship between boron content and antioxidant compounds in citrus leaves taken from fields with different water source, Plant and Soil, 265, 345-353 p.
- [81] Apostol, K. G., Zwiazek, J. J., 2003, Boron and water uptake in jack pine (*Pinus banksiana*) seedling, Environmental and Experimental Botany, 51 (2), 145-153 p.
- [82] Ölçer, H., Lloyd, J. C. And Raines, C. A., 2001, Photosynthetic capacity is differentially affected by reductions in sedoheptulose- 1,7 bi phosphatase activity during leaf development in transgenic plants, Plant Physiology, 125, 982-989 p.
- [83] Dickson, R. E. and Larson, P. R., 1981, ¹⁴C fixation metabolic labeling pattern and translocation profiles during leaf development in *Populus deltoides*, Planta, 152, 461-470 p.
- [84] Süle, A., Vanrobaeys, F., Hajos, G. Y., Van Beeumen, J. and Devreese, B., 2004, Proteomic analysis of small heat shock protein isoforms in barley shoots, Phytochemistry, 65, 1853-1863 p.
- [85] Vinocur, B. and Altman, A., 2005, Recent advanced in engineering plant tolerance to abiotic stres: achievements and limitations, Current Opinion in Biotechnology, 16, 123-132 p.
- [86] Mahboobi, H., Yücel, M., Öktem, H. A., 2000, Changes in total protein profiles of barley cultivars in response to toxic boron concentrations, Journal of Plant Nutrition, 23 (3), 391-399 p.
- [87] Wimmer, M. A.; Mühling, K. H., Lauchli, A., Brown, P. H., Goldbach, H. E., 2003, The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcelular distribution of ions and proteins in wheat leaves, Plant, Cell and Enviroment, 26, 1267-1274 p.