

## **Bor Elementinin Sambro No.3 Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Çeşidinin Büyümesi Üzerine Etkileri**

**Esin AKÇAM-OLUK<sup>1</sup> Hatice DEMİRAY<sup>1</sup>**

### **Summary**

#### **The Effects of Boron on the Growth of sambro no.3 Sunflower (*Helianthus annuus* L.)**

The effects of boron deficiency and excess boron on the growth of sunflower (*Helianthus annuus* L. cv. sambro no.3 ) was investigated. The seeds of the plant was sowed directly to lacking boron, and 6 mg/g (control,K) and 12 mg/g (12) boron containing Murashige-Skoog nutrient medium. Root-shoot length and IAA hormone and pigment content were determined in the germinated seeds four weeks old plantlets.

According to the results, either boron lacking or excess boron in the medium, did not affect germination rate. On the other hand, boron deficiency caused an increase in the root length and IAA content but, a decrease in the shoot length and pigment content; while the excess boron caused a decrease in root length and IAA content but, an increase in the shoot length and pigment content, at the end of four week.

Although there were some differences among the responds in comparison with control, they were not notable. These results allowed us to conclude that, unless this cultivate of sunflower is tolerant to either boron deficiency or excess boron (as twice more in nutrient medium in comparison to control).

**Key words:** *Helianthus annuus*, boron. Sunflower

### **Giriş**

Bitki mikro besleyicilerin içinde Fe, Zn, Cu, Mn vb. gibi metallerin dışında metal olmayan tek element olan bor, oksijene eğilimi fazla olduğundan yapısına sodyum ve kalsiyumu da alarak, doğada boratlar halinde bulunur. Bunlardan en bol bulunanı  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  formülüne sahip olan "boraks"tır (Adriano,1986).

---

<sup>1</sup>Dr.E. Ü., Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik ABD, 35100,Bornova- İZMİR.  
e-mail: esak\_ol@yahoo.co.uk

Borun bitkilerce kullanılabilen formu toprakta çözünebilen, bağımsız, iyonize olmamış  $H_3BO_3$ ,  $B(OH)_3$  veya iyon halindeki  $B(OH)_4^-$ dir (Hu Brown, 1997). Bor topraktan köklerle pasif absorpsiyonla alınır ve bu alımda toprak pH'ı, nemi ve sıcaklığı da etkilidir (Goldberg,1997). Bor elementi bitkilerde hücre zarı, polen çimlenmesi, kök uzaması, nükleik asit, protein ve İndol Asetik Asit (IAA) metabolizması üzerinde rol oynamaktadır. Borun bitkiler üzerindeki bu etkileri, elementin ortamdan çekildiği çalışmalarla ortaya konmuştur (Lewis,1980; Lovatt,1985; Robertson ve Loughman, 1974; Shelp, 1993; Mahboobi ve ark.2000). Yine bu çalışmaların sonuçlarından hareketle, bor etkilerinin bitki türüne ve bor seviyelerine göre değiştiği belirtilmektedir. Topraktaki (veya besin çözeltisindeki) bor yoğunluklarını tolere etme şeklinde de yorumlanabilecek olan bu değişikliklerin, türlerin genotipik farklılıklarından kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (El-Sheik ve ark.,1971; Paull ve ark., 1992). Örneğin, mısırda 0,1, buğday genotiplerinde 0,1-0,2, salatalıkta 0,4, kabakta 1 g/kg yaprak kuru ağırlığı bor bulunmaktadır (Çakmak ve ark., 1996). Bu örneklerden de anlaşılacağı gibi , borun kritik eksiklik ve toksisite değerleri arasında bitki türlerine göre geniş bir aralık bulunmaktadır.

Tohumlarından yağ elde edilmesiyle önemli bir tarım bitkisi olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) genelde bor eksikliğinden olumsuz etkilenirken, yüksek bor derişimlerine tolerant olarak bilinmektedir (Nable ve ark., 1997). Yukarıda verilen buğday örneğinde de olduğu gibi, bor toleransının aynı türün kendi genotipleri içinde bile farklı olabileceği göz önüne alındığında; türlerin, hatta çeşitlerin farklı bor derişimlerine cevaplarının araştırılması için daha fazla çalışma yapılmasının yararlı olacağı ortaya çıkmaktadır.

Yaptığımız literatür taramalarının ışığı altında, bor yönünden dünyanın en zengin topraklarına sahip olmamıza karşılık, ülkemizde bu elementin tarım bitkilerine etkisi üzerine az sayıda araştırma göze çarpmaktadır (Nable ve ark., 1997; Paull ve ark., 1992).

Biz de bu amaçla çalışmamızda, bitki doku kültürlerinde en sık kullanılan MS (Murashige ve Skoog, 1962) reçetesinde,  $L^{-1}$  besi ortamı için önerilen yaklaşık 6 mg/lt bor miktarını baz alarak ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinin Sambro No.3 çeşidinin borsuz ve kontrolün 2 katı (12 mg/lt) bor derişimlerine tepkisini araştırmayı planladık.

### **Materyal Ve Yöntem**

Denemelerimizde ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinin Menemen Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen Sambro No.3 çeşidinin tohumları kullanılmıştır.

### **Tohum Çimlenmesi**

Tohum çimlendirme denemeleri bitki doku kültürlerinde en sık kullanılan Murashige-Skoog (1962) besi ortamında ve *in vitro* şartlarda yapılmıştır. Borsuz (0), 6 mg/l (K) ve 12 mg/l (12) bor içeren 3 farklı tipte hazırlanan besi ortamları kültür kabı olarak kullanılan 1 litrelik mezürlere 200'er ml şeklinde dağıtılmış ve otoklavda sterilize edilmişlerdir. Tohum ekimi işlemleri steril kabinde gerçekleştirilmiştir.

Tohumlar da ekilmeden önce sterilize edilmişlerdir. Sterilizasyon için önce 20 dk. yarı yarıya seyreltilmiş klorak kullanılmış, sonra tohumlar 3 kez saf steril suyla yıkanmışlardır; ardından 2-3 dk. %96'lık etil alkol kullanılmış ve tohumlar yine 3 kez saf steril suyla yıkanmışlardır. Kültür kabı başına 2'şer adet ekilen tohumlar 16/8 (ışık-karanlık) saatlik fotoperiyoda ve  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklığa sahip biyotrona (büyüme dolabı) yerleştirilmişlerdir. Her uygulama için 10'ar adet tohum kullanılmıştır. Deneyler 3 kez tekrar edilmiştir.

### **Pigment Analizleri**

Farklı derişimlerde bor uygulanan ve dört hafta sonunda hasat edilen bitkiciklerin yapraklarındaki fotosentetik pigment tayini Witham ve ark. (1971)'na göre yapılmıştır.

Bu amaçla 0,1 gr taze yaprak örneği alınıp asetonda öğütülmüştür. Filtre kağıdından süzülerek elde edilen süzüntü, UV spektrofotometrede klorofil a (kl a) için 663 nm, klorofil b (kl b) için 645 nm ve toplam klorofil (kl t) için 450 nm dalga boyunda okunmuştur. Bu absorbans değerleri daha sonra aşağıdaki eşitlikte yerine konarak bitki yaprak dokusunun 1 gramında bulunan kl a, kl b ve kl t miktarları mg olarak hesaplanmıştır.

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

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

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

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

### **IAA Analizleri**

Farklı yoğunluklarda bor uygulanan ve dört hafta sonunda hasat edilen bitkiciklerdeki IAA hormonu tayini Baltepe ve Mert, 1972 yönteminde gerekli değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **a) Bitkisel ekstraktın hazırlanması**

5 g taze yaprak örneği alınıp, 50 ml metanolle öğütülmüş ve üzerine 5 ml saf su ve oksitlenmeyi engellemek amacıyla 1-2 adet BHT kristali eklenip, 0°C de 2 saat bekletilmiştir. Bu karışım filtre kağıdından süzülüp, süzüntüdeki metanol, rotavaporda ve 35 °C de uçurulmuştur. Su fazından oluşan kalıntının üzerine 25 ml saf su eklenmiş ve pH'ı 0,1 N HCl yardımıyla 2,5-3 e ayarlanmıştır. Bu asidik su fazı ayırma hunisiyle, her defasında 25 ml etil asetat eklenerek 5 kez ekstre edilmiştir. Bu ekstraksiyon sırasında alttaki su fazı atılıp, üstteki etil asetat fazları toplanmıştır. Bu toplamın üzerine 20 g anhidri sodyum sülfat eklenip buzdolabında 1 gece bekletilmiş, ertesi gün etil asetat rotavaporda 35 °C de uçurulmuş ve kalıntı 1 ml metanolle çözülerek balondan alınmıştır.

#### **İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)**

1 ml metanolde çözünen asit faz ekstresindeki IAA'nın ayrıştırılması ve saflaştırılması İTK yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 20x20 cm boyutundaki cam levhalar 0,5 mm kalınlığında silica-gel 60<sub>254</sub> ile kaplanmış ve 1 ml'lik metanol ekstraktı mikro şırınga ile bu plaklara çizgi halinde uygulanmıştır. Referans işaretleyici olarak metanolde hazırlanan IAA çözeltisi kullanılmıştır. Uygulanan plaklar izopropil alkol (80), amonyak (10) ve saf su (10) karışımından oluşan çözeltide, 25 °C de ve karanlıkta yürütülmüştür. Bu işlem sonunda çözgen sınırları işaretlenen plaklar soğuk hava ile kurutulmuştur.

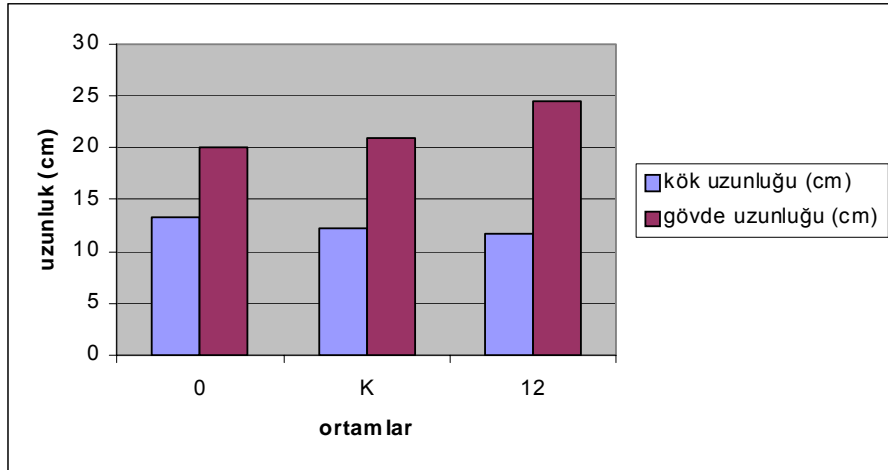
Daha sonra plak üzerindeki referans IAA'nın Rf değeri UV ışık altında belirlenmiştir. Buna göre plağın üzerindeki bitki ekstraktının bulunduğu kısım da belirlenip kazınarak tüplere alınmıştır. Üzerine 5 ml metanol konarak geri kazanım için 1 saat karanlıkta bekletilmiş ve süzölmüştür. Böylece ayrıştırılmış ve saflaştırılmış olan örnekteki IAA absorbanansı yine UV spektrofotometrede 224 nm'de okunmuştur. Okunan değerler Yürekli ve ark. (Yürekli ve ark.,1974) tarafından verilen yöntem kullanılarak 1 g taze yaprak dokusunda, µg IAA olarak tayin edilmiştir.

### Araştırma Bulguları

İki hafta sonunda yapılan ölçümlerde üç ayrı ortama (0,K,12) ekilen tohumların tümünün çimlenebildiği gözlenmiştir. Dört haftalık hasat sonunda yapılan ölçümlerde ise bitkilerin kök uzunlukları 0,K,12 ortamlarında sırasıyla 13.3, 12.2, 11.7 cm; gövde uzunlukları ise 20, 21, 24.5 cm olarak bulunmuştur (Çizelge 1, Şekil 1).

Çizelge 1. 0, K, 12 uygulamalarında yetişen fidelerde dört hafta sonunda kaydedilen kök ve gövde uzunlukları

Ortamlar	Kök Uzunluğu (cm)	Gövde Uzunluğu (cm)
0	13.3 ± 0.20	20 ± 0.81
K	12.2 ± 0.36	21 ± 0.52
12	11.7 ± 0.27	24.5 ± 0.33

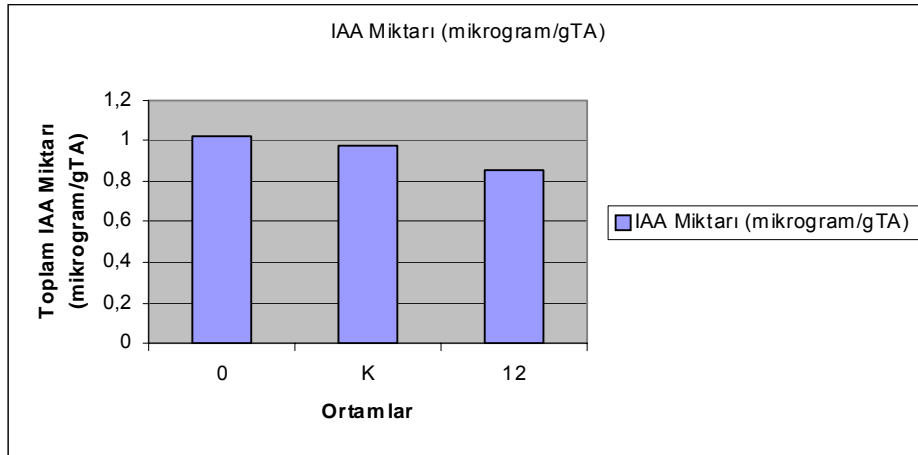


Şekil 1. Farklı bor konsantrasyonlarının dört hafta sonunda *Helianthus annuus* L. bitkisinde kök ve gövde uzama büyümesi üzerine etkileri.

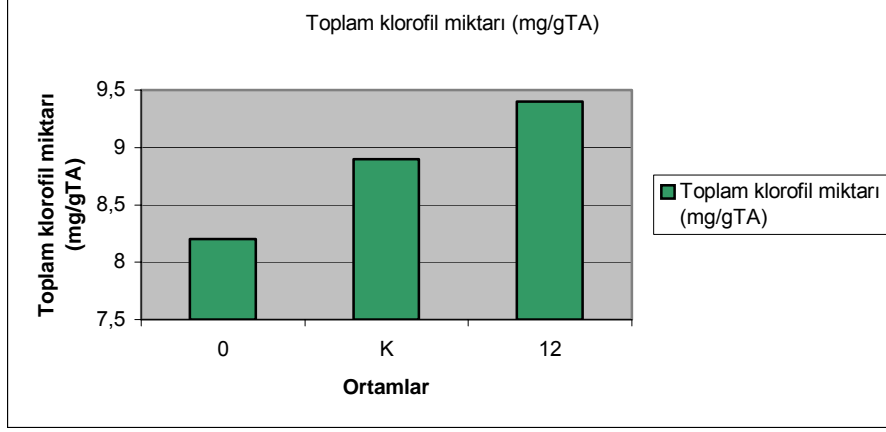
Yine dört hafta sonunda yapılan analizlerde 0, K, 12 ortamlarında yetişen bitkilerin yapraklarında IAA miktarı sırasıyla 1.02, 0.97, 0.85 µg/g TA(Çizelge 2, Şekil 2); toplam klorofil miktarı ise 8.2, 8.9 ve 9.4 mg/g TA olarak ortaya çıkmıştır (Çizelge 2, Şekil 3).

Çizelge 2. 0, K, 12 uygulamalarında yetişen fidelerde dört hafta sonunda kaydedilen IAA ve pigment miktarları

Ortamlar	IAA miktarı ( $\mu\text{g/gTA}$ )	Toplam klorofil miktarı ( $\text{mg/g TA}$ )
0	$1.02 \pm 0.03$	$8.2 \pm 0.08$
K	$0.97 \pm 0.07$	$8.9 \pm 0.02$
12	$0.85 \pm 0.02$	$9.4 \pm 0.06$



Şekil 2. Farklı bor konsantrasyonlarının *Helianthus annuus* L. bitkisinin IAA miktarı üzerine dört hafta sonundaki etkileri.



Şekil 3. Farklı bor konsantrasyonlarının *Helianthus annuus* L. bitkisinin pigment miktarı üzerine dört hafta sonundaki etkileri.

### Tartışma ve Sonuç

Elde edilen bulgulara göre, çimlenme tüm ortamlarda %100 olarak ortaya çıkmıştır. Bu sonuçtan, ortamda gerek bor kıtlılığının, gerekse bor fazlalığının Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) cv.Sambro No.3 çeşidinin tohum çimlenmesi üzerine engelleyici bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

Öte yandan borsuz (0) besi ortamında yetişen bitkiler kontrole göre kök boyunda %9'luk ve IAA miktarında %5'lik bir artış gösterirken, gövde boyunda %4 ve pigment miktarında %7'lik bir azalma sergilemiştir. Öte yandan 12 mg/l bor varlığında (12) yetişen bitkilerde kontrole oranla kök boyunda %4 ve IAA oranında %12'lik bir azalışa karşın, gövde boyunda %22.5'lik ve pigment miktarında da %5'lik bir artış kaydedilmiştir.

Bu sonuçlardan, bitkinin köklerinin bor eksikliğinde kontrole göre daha uzun, fazlalığında ise daha kısa olarak ortaya çıktığı görülmektedir. Gövde uzunluğunda ise durum tam tersidir; bor eksikliğinde azalma, fazlalığında ise artış kaydedilmiştir.

Yapraklardaki IAA miktarı ise bor eksikliğinde; pigment miktarı da bor fazlalığında artış göstermektedir.

Bor eksikliğinin, dokularda IAA'nın parçalanmasından sorumlu IAA oksidaz enziminin etkinliğini azalttığı ve böylece IAA miktarını arttırdığı olgusu (Schon ve ark.,1990), bizim IAA miktarı sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Öte yandan, IAA miktarındaki bu artışın kök morfolojisinde ve anatomisinde değişikliklere neden olabileceği

belirtilmiştir (Witham ve ark.,1971). Bizim sonuçlarımıza göre de (0) ortamında, (K) ve (12)'ye oranla kök boyunda bir artış kaydedilmiştir. Ayrıca kök sonuçları, Ayvaz (2002)'in arpayla yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla da uyum içindedir.

Yine arpa bitkisiyle yapılan çalışmada (Nable ve ark.,1997), bu bitkinin pigment miktarının, bizim sonuçlarımızın tersine, bor fazlalığında (10 ppm) azaldığı rapor edilmektedir. Daha önce giriş bölümünde vurgulanan, bor toksisitesi semptomlarının bitki türlerine göre değişebileceği olgusu ve çalışmamızda gözlenen gövde boyundaki artış verisi birlikte değerlendirildiğinde, ayçiçeği bitkisine 12 mg/l bor uygulamasının, toplam ürün ve fotosentetik verim yönünden, pozitif etkide bulunduğu yargısına varılabilir.

Bor miktarı bakımından üç farklı (0, K, 12) ortamda yetişen Ayçiçeği bitkilerinin tohum çimlenmesi, kök-gövde boyu, IAA ve pigment miktarı sonuçları birbirinden farklı olmakla birlikte, bu farkların düşük oluşu bu bitkinin bor yokluğuna ve kontrolün iki katı (12 mg/l) bor derişimine tolerant olduğunu göstermektedir. Böylece bu sonuçlardan, Ayçiçeği tarımının borca eksik ve/veya, ülkemizde olduğu gibi, borca zengin topraklarda, gerekli ekolojik şartların da sağlanmasıyla rahatlıkla yapılacağı ileri sürülebilir.

Bu yönüyle, temel bilim niteliğinde olan çalışmamız sonuçlarının, uygulamalı bilimciler tarafından tarla şartlarında gerçekleştirilecek olan çiçeklenme, tohum oluşumu, tohumlarda fertilitenin belirlenmesi gibi araştırmalar için yol gösterici olmasını dileriz.

### Özet

Bu çalışmada, bor elementinin eksikliği ve fazlalığının ülkemiz topraklarında tarımı yapılan Ayçiçeği bitkisinin, *Helianthus annuus* L.cv. Sambro No.3 çeşidinin büyümesi üzerine etkileri çalışılmıştır.. Bitkinin tohumları doğrudan borsuz (0), 6 mg/l (kontrol, K) ve 12 mg/l (12) bor içeren Murashige-Skoog besi ortamına ekilmiştir. Dört hafta sonunda gelişen fidelerde kök-gövde uzunluğu, IAA hormonu ve fotosentetik pigment ölçümleri yapılmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlardan bor eksikliğinin kökte uzamayı sağlamasına karşılık, bitkinin pigment miktarı ve gövde boyunda indirgemeye yol açtığı; bor fazlalığının ise kök boyunda bir azalma meydana getirmekle beraber, bitkinin pigment miktarı ve özellikle gövde boyunda artışı sağladığı anlaşılmıştır. Tüm değerler içinde, pigment miktarına paralel ortaya çıkan gövde boyundaki kayda değer artış, bu bitkinin borca zengin topraklara uyumunun daha kolay olabileceği yönünde anlam taşınmasıyla birlikte, değerler arasındaki farkların çok fazla olmayışı, Ayçiçeği bitkisinin Sambro No.3 çeşidinin bor yokluğunu ve/veya bor fazlalığını tolere edebildiğini göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** *Helianthus annuus*, bor, ayçiçeği



### **Kaynaklar**

- Adriano, D.C., 1986, Trace Elements in the Terrestrial Environment, Springer-Verlag, New York, 73-79 p.
- Ayvaz, M., 2002, Bazı Arpa Çeşitlerinde Borun Büyüme ve Gelişme Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, s.21-32.
- Baltepe, Ş., Mert, H.H., 1972, Indol-3-Asetik Asit, Gibberellik Asit ve Absisik Asit'in Kromatografik Seperasyon ve Biyolojik Determinasyonları Hakkında Metodolojik Bir Çalışma, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İlmi Raporlar Serisi No:147, Bornova-İZMİR.
- Çakmak, I., Yılmaz, A., Kalaycı, H., Ekiz, A., Ulger, A.C., Braun, H.J., 1996, Zinc Deficiency and Boron Toxicity as Critical Nutritional Problems in Wheat Production in Turkey, 15<sup>th</sup> International Wheat Conference, 10-14 June, Ankara, Turkey, Abstracts, p.279.
- El-Sheik, A.M., Ulrich, A., Awad, S.K., Mawary, A.E., 1971, Boron Tolerance of Squash, Melon, Cucumber and Corn, J. Am. Soc. Hort. Sci., 96:536-537.
- Goldberg, S., 1997, Reactions of Boron with Soils, Plant and Soil, 193: 35-48.
- Hirsh A.M., Pengelly, W.L., Torrey, J.G., 1982, Endogenous IAA levels in boron deficient and Control Root Tips of Sunflower, Bot. Gaz. (Chicago), 143:19.
- Hu Brown, H.P., 1997, Absorption of Boron by Plant Roots, Plant and Soil, 193:49-58.
- Lewis, D.H., 1980, Boron, Lignification and the Origin of Vascular Plants a Unified Hypothesis, New Phytol, 84: 209-229. Lovatt, C.J., 1985, Evolution of Xylem Results in a Requirement for Boron in the Apical Meristems of Vascular Plants, New Phytol, 99: 509-522.
- Lovatt, C.J., 1985, Evolution of Xylem Results in a Requirement for Boron in the Apical Meristems of Vascular Plants, New Phytol, 99: 509-522.
- Mahboobi, H., Yucel, M., Öktem, H.A., 2000, Changes in Total Protein Profiles of Barley Cultivars in Response to Toxic Boron Concentration, J. Plant Nutr., 23 (3): 391-399.
- Murashige, T., Skoog F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, Physiol Plant 15:473-497
- Nable, R., Banuelos, G., Paul, G.J., 1997, Boron toxicity, Plant and Soil, 193: 181-198.
- Paull, J.G., Nable, R.O., Lake, A.W.H., Materne, M.A., Rathjen, A.J., 1992, Response of Annuar Medics ( Medicago spp) and Field Peas ( Pisum sativum) to High Concentration of Boron: Genetic Variation and the Mechanism of Tolerance, Aust. J. Agric. Res., 43: 203-213.
- Robertson, G.A., Loughman, B.C., 1974, Response to Boron Deficiency: A Comparison with Responses Produced by Chemical Methods of Retarding Root Elongation, New Phytol., 73: 821-832.
- Schon, M.K., Novacky, A., Blevins, D.G., 1990, Boron induces Hyperpolarization on Sunflower Root Cell Membranes and Increases Membrane Permeability to K<sup>+</sup>, Plant Physiol., 93: 566-571.
- Shelp, B.J., 1993, Physiology and Biochemistry of Boron in Plants, In: Boron and Its Role in Crop Protection ( Ed. U.C. Gupta), CRC Press, Boca Raton FL, p. 53-85.

Witham, F.H., Blayles, D.F., Levlin, R.M., 1971, Experiments in Plant Physiology, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 55-56.  
Yürekli, K., Güven, A., Görk, G., 1974, Spektrofotometre ile Hormonların Kantitatif Tayinleri Üzerinde Çalışmalar, Bitki, 1: 60-68.