

ÖZET/ABSTRACT

Borun topraktaki noksanlığı veya yüksek konsantrasyonda bulunması bitki hücre duvarlarını etkileyen önemli bir abiyotik stres faktörü olabilmektedir. Brassinosteroid (BR)'lerin çok düşük konsantrasyonlarda bile hücre bölünmesi, uzaması ve genişlemesi gibi bitki büyüme ve gelişiminde düzenleyici görevlerinin yanı sıra çevresel streslere toleransın artırılmasında da etkili oldukları tespit edilmiştir. Bununla birlikte, BR'lerin streslere toleransı artırma mekanizmalarını anlamaya ilişkin fazla çalışma bulunmamaktadır. Yapılan tez çalışmasında amaç, model bitki olan *Arabidopsis thaliana*'da (a) bor noksanlığı ve bor toksisitesinin bitkilerde hücre çeperi üzerine etkileri ve (b) bitkilerde oluşan bor stresi üzerine 24-Epibrassinolid (EBL)'in olası etkilerinin yaprak ve kök hücre çeperinde moleküler düzeyde araştırılmasıdır. Beş hafta ve on hafta süreyle hidroponik ortamda yetiştirilen *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh bitkileri borik asit (BA) içermeyen (-BA, 0 μM) veya yüksek konsantrasyonda BA (+BA, 3000 μM) ve/veya 1 μM EBL hormonu içeren ortamda 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Uygulamalı bitkilerin (beş ve on haftalık bitkiler) rozet yaprak ve kök örneklerinde hücre duvarı sentezinde rol oynayan CESA1, CESA4, CESA6, CESA8, CSLB5, XTH16, XTH21, XTH23, EXPA5, EXP14, PME2, PME41 ve SEB1 genlerinin ekspresyon seviyeleri Real-Time PCR analizi ile tespit edilmiştir. Beş haftalık ve on haftalık bitkilerin yaprak örneklerinde genel olarak CESA1 ile CESA6 ve CESA4 ile CESA8 genleri benzer ekspresyon profilleri göstermiştir. Beş haftalık bitkilerin yaprak örneklerinde yüksek konsantrasyonda BA uygulaması CESA4, CESA8 ve CSLB5 genlerinin ekspresyonunu artırırken, on haftalık bitkilerde CESA4, CESA6 ve CESA8 genlerinin ekspresyonları hem 0 μM hem de 3000 μM BA uygulamaları sonucu artış göstermiştir. Beş haftalık ve on haftalık bitkilerde EXP8 geninin ekspresyonu 0 ve 3000 μM BA uygulamaları sonucu azalırken, BA ile birlikte yapılan EBL uygulamaları ekspresyonu anlamlı bir şekilde arttırmıştır ($P < 0.01$). EXP14 geninin mRNA seviyesi beş haftalık bitkilerde 0 μM BA uygulamasında azalırken, on haftalık bitkilerde ise 3000 μM BA uygulaması sonucu artmıştır. XTH16 geninin ekspresyonu tek başına yapılan EBL veya BA uygulamaları sonucu beş haftalık bitkilerde azalmıştır, bununla birlikte EBL ile birlikte BA uygulamalarında ekspresyon daha da azalmıştır. XTH23 geninin ekspresyonu her iki bitki grubuna ait örneklerin yaprak dokularında EBL ilaveli 0 ve 3000 μM BA uygulamalarında istatistikî önemlilikte arttırmıştır ($P < 0.01$). PME2 ve PME41 genleri beş haftalık ve on haftalık bitkilerde benzer ekspresyon profilleri göstermiştir ve BA uygulamalarına ilave edilen EBL hormonu ekspresyonların dramatik bir şekilde artmasını sağlamıştır. On haftalık bitkilerde SEB1 geninin ekspresyonu tüm uygulamalar sonucu kontrole göre artış sağlamıştır ($P < 0.01$). EBL hormonu araştırılan genler kapsamında yaprak ve kök dokularına spesifik yanıtlar oluşturmuştur. Beş haftalık bitkilerin kök örneklerinde tek başına ya da BA ile birlikte yapılan EBL uygulamaları araştırılan genlerde (XTH23 geni hariç) genel olarak ekspresyonlarını azaltırken, on haftalık bitkilerde sadece CSLB5, EXP14, XTH16 ve PME2 genlerinin ekspresyonları azalmıştır. Beş haftalık bitkilerin kök örneklerinde yapılan tüm uygulamalar CESA1 (0 μM BA uygulaması hariç) ve CESA4 genlerinin ekspresyonlarını kontrole göre azaltmıştır. EXPA5 geninin ekspresyonu on haftalık bitkilerin kök dokularında kontrole göre değişim göstermeyen 0 μM BA uygulaması EBL hormonu ile birlikte uygulandığında ekspresyonu arttırmıştır. EXP14 geninin transkript seviyesi beş haftalık bitkilerde EBL hormonu tek başına veya 3000 μM BA ile birlikte uygulandığında anlamlı olarak azalırken ($P < 0.01$), on haftalık bitkilerde 0 μM BA uygulamasında da ekspresyonun azalmasına neden olmuştur. On haftalık bitkilerde XTH23 geninin ekspresyonu sadece tek başına yapılan EBL uygulaması ile artarken, beş haftalık bitkilerde kontrole göre ekspresyon değişimi göstermeyen 0 μM BA uygulaması ve anlamlı bir azalma gösteren 3000 μM BA uygulamasının ekspresyonunu EBL uygulaması ile arttırmıştır. XTH21 geninin mRNA seviyesi ise 3000 μM BA ile birlikte yapılan EBL uygulamaları sonucunda kontrole göre anlamlı bir azalma göstermiştir. PME2 geninin ekspresyonu beş ve on haftalık bitkilerin kök hücrelerinde EBL ile birlikte yapılan BA uygulamaları sonucu anlamlı azalmalar göstermiştir. SEB1 geninin ekspresyonu ise beş ve on haftalık bitkilerin kök hücrelerinde farklı ekspresyon profilleri göstermiştir. Sonuç olarak tez çalışması, bitkilerde hücre çeperinde bor-brassinosteroid etkileşimi üzerine yapılan ilk çalışma olma özelliğindedir. Tez çalışması ile hücre çeperinde borun eksikliği ve toksisitesinin etkilerinin yanı sıra brassinosteroidlerin strese yanıtında hücre çeperinde meydana getirdiği değişimler kapsamlı bir şekilde moleküler düzeyde gösterilmiştir.

Deficiency or high concentration of boron in soil could be an important abiotic stress factor affecting the plant cell wall. It has been determined that, Brassinosteroids (BR) even at very low concentrations, are efficient in enhancing the tolerance to environmental stress, and also regulatory functions in plant growth and development such as cell division, elongation and enlargement. At the same time, there are not many studies concerning to understand the mechanisms of how BRs increase the tolerance to stresses. The aim of this thesis study is to search in molecular level in *Arabidopsis thaliana*, as a model plant, (a) the effects of boron deficiency and boron toxicity on cell wall in plants and (b) effects of 24-Epibrassinolid (EBL) on boron stress taken place in plants in leaf and root cell wall. *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh plants were grown in hydroponic environment for five weeks and ten weeks and incubated for 24 hours in environments excluding boric acid (BA) (-BA, 0 μM) or including high concentration of BA (+BA, 3000 μM) and/or 1 μM EBL hormone. In rosette leaf and root samples of applied plants (five and ten week-plants) expression levels of some cellulose synthase genes playing role in cell wall synthesis (CESA1, CESA4, CESA6, CESA8 and CSLB5), genes coding xyloglucan endotransglycosylase/hydrolase proteins (XTH16, XTH21 and XTH23), expansin genes (EXPA5, EXP8 and EXP14), pectin methyl esterase genes (PME2 and PME41) and genes coding cell wall protein (SEB1) were determined by Real-Time PCR analysis. In leaf samples of five weeks and ten weeks plants, generally similar expression profiles were shown in CESA1 with CESA6 and CESA4 with CESA8. In leaf samples of five weeks plants, the application of high concentration BA increases the expression of CESA4, CESA8 and CSLB5 genes, while in ten weeks plants expression of CESA4, CESA6 and CESA8 genes increased in either 0 μM and 3000 μM BA application. In five weeks and ten weeks plants, expression of EXP8 gene was decreased in result of 0 and 3000 μM BA application; EBL application together with BA increased the expression significantly ($P < 0.01$). mRNA level of EXP14 gene is decreased in consequence of 0 μM BA application in five weeks plants, while in ten weeks plants application of 3000 μM BA increased the mRNA level. The expression of XTH16 gene decreased in result of alone EBL or BA applications in five plants, however application of EBL and BA together was more decreased the expression. Expression of XTH23 gene has increased significantly in EBL together with 0 and 3000 μM BA applications in leaf tissues of samples of both two plant groups ($P < 0.01$). PME2 and PME41 genes has shown similar expression profiles in five weeks and ten weeks plants and additional EBL hormone to BA applications has provided to increase the expressions dramatically. In ten weeks plants expression of SEB1 gene has increased in all treatments comparing to the control ($P < 0.01$). Within the concept of surveyed genes, EBL hormone formed specific responses to leaf and root tissues. In root samples of five weeks plants, EBL applications alone or with BA generally decreased the expressions of surveyed genes (except XTH23 gene) while in ten weeks plants expressions of only CSLB5, EXP14, XTH16 and PME2 genes decreased. In root samples of five weeks plants all applications decreased the expression of CESA1 (except 0 μM BA application) and CESA4 genes according to control. In root tissues of ten weeks plants, 0 μM BA application did not change the expression of EXPA5 gene but when applied with EBL hormone, expression increased. Transcript level of EXP14 gene in five weeks plants significantly decreased in alone EBL hormone or EBL with 3000 μM BA application, while in ten weeks plants 0 μM BA application caused the decrease of expression. In ten weeks plants expression of XTH23 gene increased with alone EBL application, on the other hand, in five weeks plants EBL application increased the expression in 0 μM BA application which normally did not show expression change according to control and in 3000 μM BA application which normally showed a significant decrease. mRNA level of XTH21 gene showed a significant decrease according to control as a result of 3000 μM BA together with EBL application. Expression of PME2 gene showed significant decreases in five weeks and ten weeks group plant root cells in consequence of EBL and BA applications. As for the expression of SEB1 gene showed different expression profiles in five weeks and ten weeks plants root cells. Consequently, thesis study is the first study in terms of conducting og boron-brassinosteroid interaction in plant cell wall. With the study, along with the effects of boron deficiency and toxicity in cell wall, changes that brassinosteroids generated in cell wall in response to stress has been determined in molecular level comprehensively.