

# BOR W PROCESACH FIZJOLOGICZNYCH ROŚLIN

## Boron in physiological processes of plants

Urszula CZAJA-PROKOP

**Summary.** Boron (B) is an essential element for higher plant growth, although its primary function is not completely known. This element is also required for the normal growth of yeast, diatoms, heterocystous cyanobacteria, fishes and for humans. Interesting is the fact, that some taxonomic groups of vascular plants have an absolute requirement for boron while others do not. Moreover, in most plant species the boron requirement for reproduction is much higher than for vegetative growth. Boron have limited mobility and is supplied to growing tissues primarily through the xylem, but isolation of the B-sorbitol complexes from the phloem sap of sugar-alcohol-producing species, conclusively proves that sorbitol facilitates its mobility in higher plants. In recent years, research has progressed to demonstrate boron involvement in three main aspects of plant physiology: structural role for boron in cell walls, a role for boron in membrane function, and boron involvement in metabolic activities. It was proposed that boron can be involved in a number of metabolic pathways such as auxin, phenol, ascorbic, carbohydrate and nitrate metabolism. This review presents a general boron status in plant, boron uptake and mobility, its role under growth and reproduction, structural role for boron in cell walls, a role for boron in membrane function, and boron involvement in metabolic activities.

**Key words:** boron, cell wall structure, deficiency, function, growth, membrane, mobility, plant metabolism, reproduction, uptake.

*Mgr Urszula Czaja-Prokop, Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7, 30–387 Kraków*

### WSTĘP

Bor jest istotnym mikroelementem dla drożdży [7], okrzemek [69], sinic wytwarzających heterocysty [40, 42], roślin naczyniowych [122], ryb [34], również dla ludzi [85]. Pierwiastek ten jest obecnie uważany za istotny składnik odżywczy roślin naczyniowych [72]. Bor jest obecny we wszystkich tkankach roślin, a ilościowe różnice jego zawartości uzależnione są od gatunku rośliny i rodzaju tkanki. Istnieją duże wahania pomiędzy wymaganą a tolerowaną ilością boru u różnych gatunków roślin. Występują również duże różnice genotypowe wrażliwości na deficyt boru u roślin tego samego gatunku i niejednokrotnie mają one szerszy zakres niż różnice międzygatunkowe [101]. Niedostatek boru u roślin powoduje wiele anatomicznych i bio-

chemicznych zmian, które objawiają się głównie we wtórnych efektach. Pierwsze symptomy niedoboru boru pojawiają się w merystemach wierzchołkowych; w przeciągu godzin w stożku wzrostu korzenia, a w ciągu minut, czy sekund w szczycie łagiewki pyłkowej [10, 48, 122]. Deficyt boru objawia się kruchością tkanek, podczas gdy rośliny rosnące w warunkach optymalnego jego stężenia zachowują wysoką elastyczność [49, 72].

Badania dotyczące fizjologicznej roli boru prowadzone były głównie na roślinach naczyniowych. Obecność tego pierwiastka w roślinach stwierdził Agulhon w 1910 roku [1], a pierwsze dowody zapotrzebowania roślin na bor dostarczone zostały przez Warrington [122]. Ta sama autorka oraz Sommer i Lipman [116] określili poziom zapotrzebowania na bor dla sześciu

roślin dwuliściennych, niestrączkowych i jednej jednoliściennnej z rodziny traw – jęczmienia. Symptomy niedoboru boru u roślin dwuliściennych pojawiają się wkrótce po przeniesieniu ich do pożywki pozbawionej boru; niektóre jednoliściennne wzrastają normalnie bez boru w pożywce [114]. Szkolnik [114] wydzielił wśród roślin dwuliściennych i jednoliściennych kilka grup ze względu na szybkość występowania objawów niedoboru boru i stadium rozwoju, w którym to ma miejsce. U części dwuliściennych (słonecznik, pomidor, dynia, lucerna) objawy w tkankach merystematycznych występują szybciej niż u jednoliściennych i innych dwuliściennych (groch, soja, łubin). Natomiast jednoliściennne można podzielić na dwie grupy pod względem wrażliwości na deficyt boru. Pierwsza obejmuje: kukurydzę, trzcinę cukrową, jęczmień i inne, wykazujące wczesne objawy zahamowania wzrostu, a następnie obumieranie. Druga grupa to m. in.: pszenica, owies, żyto, tymotka, wykazujące objawy niedoboru boru w fazie rozmnażania (generatywnej) [114].

Zazwyczaj pierwszym widocznym objawem deficytu boru jest obumarcie wierzchołka pędu głównego. Następnie rozwijają się pędy boczne z pączków bocznych, po czym wierzchołki tych pędów także zamierają. Liście nieznacznie grubieją, ulegają skręceniu, czasami stają się chlorotyczne. Ogonki liściowe i liście stają się kruche [10, 48, 122]. W korzeniu roślin z niedoborem boru obserwowano podobne objawy. Najpierw zachodzą zmiany w merystemie wierzchołkowym, później utrata dominacji merystemu apikalnego oraz inicjacja licznych merystemów bocznych nienormalnie blisko wierzchołka, które bez dopływu boru zamierają [16, 26, 59, 72]. Cohen i Lepper [26] twierdzili, że zahamowanie elongacji korzenia spowodowane jest raczej zatrzymaniem podziałów merystematycznych, a nie ograniczeniem elongacji komórek. Jednak podstawowy efekt braku boru w korzeniu pomidora wyrażał się zarówno zatrzymaniem podziałów komórkowych, jak i zahamowaniem wzrostu komórek w wierzchołkach korzeni [66]. W większości przypadków, wyżej opisane objawy są skutkiem zmian zachodzących na poziomie komórkowym w błonie i ścia-

nie komórkowej, jak również zaangażowania boru w procesy metaboliczne. Różnorodność i szybkość pojawiania się symptomów niedoboru boru sugerują jego istotną funkcję w rozwoju i wzroście roślin. W ostatnich latach nastąpiło wyraźne nasilenie badań nad mechanizmem wpływu boru na anatomię i procesy fizjologiczne, które skłania do podsumowania i przeglądu dotychczasowej wiedzy na ten temat. W artykule przedstawiono aktualne poglądy na strukturalną rolę boru w ścianie komórkowej, jego udział w funkcjonowaniu błony i wpływ na niektóre szlaki metaboliczne roślin. Omówiona jest tu również charakterystyka chemiczna i fizjologiczna boru.

#### CHARAKTERYSTYKA CHEMICZNA BORU I ESTRÓW BORANOWYCH

Bor (B) jest pierwszym pierwiastkiem grupy metaloidów (półprzewodników), do której należą też krzem i german. Pierwiastki te mają właściwości pośrednie między metalami a niemetalami. Kwas borowy zachowuje się jak kwas Lewisa, tzn. przyłącza grupę wodorotlenową z wody, pozostawiając nadwyżkę jonów wodorowych. Jest on słabym kwasem –  $pK_a = 9,1$ . Kwasowość kwasu borowego podnosi dodanie alkoholu wielowodorotlenowego (poliolu), np. glicerolu lub mannitolu. Przyczyną tego zakwaszenia jest tworzenie cyklicznych diestrów. Estrы te formują się i dysocjują spontanicznie, a ich równowaga dynamiczna jest zależna od pH [95]. Stopień zakwaszenia lub wzrost przewodności są miarą intensywności tworzenia się anionowych estrów boranowych i ich stabilności w niskim pH [72]. Związki o strukturze furanu wykazują niezwykle silne zdolności do kompleksowania anionów boranowych i tworzą najbardziej trwałe diestry z borem [82]. Cis-diole na pierścieniu furanowym są strukturami rzadko występującymi w naturze. Taką budowę posiadają głównie cukry redukujące, które w większych ilościach są toksyczne dla roślin ze względu na reakcję Maillard'a [95]. Jedynymi powszechnie występującymi związkami o budowie furanu, które wykazują zdolność do tworzenia kompleksów cis-diol z boranem w roztwo-

rach *in vivo* są apioza i ryboza [72]. Pewne konformacje pierścieniowe umożliwiają tworzenie kompleksów boru z trans-1,2diolami, ale sąsiadujące grupy -OH muszą być bocznymi odgałęzieniami na osi C-C [72].

W ostatnich latach wyizolowano i oznaczono jako B-ramnogalakturnian kompleks boru występujący w ścianie komórkowej roślin [56, 90]. Kobayashi i in. podali, że występuje on jako dimer ramnogalakturnianu II (dRG-II) połączonych wiązaniami boran: diol [63, 65]. Innymi kompleksami boru są transportujące bor we floemie kompleksy z cukrami i ich pochodnymi np. B-sorbitol, B-mannitol lub B-dulcitol [19]. Bor tworzy również kompleksy ze związkami fenolowymi [21]. Zdolność do formowania przez boran kompleksów z cukrami czy fenolami wydaje się leżeć u podstaw jego znaczącej roli w metabolizmie roślin.

#### POBIERANIE I DYSTRYBUCJA BORU W ROŚLINACH

Bor występuje szczególnie często w glebach lekkoteksturowych, w których może być łatwo wypłukiwany w głąb profilu, przez co staje się niedostępny dla roślin [9]. Czynniki wpływające na dostępność boru i stopień jego adsorpcji w glebie są: pH roztworu glebowego, tekstura gleby, jej wilgotność, temperatura oraz zawartość substancji organicznych w glebie [45, 125]. Jest on pobierany przez korzenie roślin z gleby jako niezdysoncjowany kw. borowy -  $H_3BO_3$ . Raven [97] sugerował pasywne pobieranie boru przez rośliny ze względu na dobrą rozpuszczalność kwasu borowego w wodzie. Jednak często były obserwowane znaczące różnice w pobieraniu boru przez różne gatunki roślin rosnących w identycznych warunkach. Ten paradoks można wytłumaczyć złożonym mechanizmem pobierania kwasu borowego, na który składają się: aktywne pobieranie, wydzielanie związków kompleksujących bor do rizosfery, różnice gatunkowe w związkach wiążących bor (np. pektyny ściany komórkowej), fizyczne bariery w korzeniach oraz gatunkowe różnice w przepuszczalności błony [50]. Różnice w przepuszczalności błony dla kwasu borowego wyini-

kają z zawartości steroli w lipidach błonowych, rodzaju polarnych fragmentów cząsteczek tych lipidów, długości ich łańcuchów acylowych oraz właściwości fizycznych błony i pH [31]. Wielu badaczy popierało hipotezę, że bor jest pobierany przez korzenie częściowo na drodze pasywnej dyfuzji, a po części za pomocą nośników lub kanałów [28, 29, 117]. Dordas i in. [32, 33] dostarczyli dowodów, że bor może być pobierany poprzez ułatwioną dyfuzję, za pomocą akwaporyn (np. PIP1) lub innych dużych białek podstawowych błony - MIP.

W roślinach naczyniowych bor przemieszcza się głównie ksylemem. Na przykład zaopatrzenie w bor młodych kłosów pszenicy jest zależne od długodystansowego transportu boru, pobieranego dzięki aktywności transpiracyjnej liści [53]. Generalnie bor był uważany za mało ruchliwy mikroelement u znacznej liczby gatunków, ponieważ był akumulowany w liściach i nie podlegał przemieszczaniu do innych organów roślinnych. Jednak nie było to powszechne zjawisko. Oertli wykrył, że przy przeniesieniu siewek pomidora do pożywki pozbawionej boru, niewielka ilość tego pierwiastka podlegała remobilizacji i była transportowana z wierzchołków rośliny do korzenia [89]. Następnie Shelp i in. [113] wykazali, że stężenie boru w częściach kwiatowych brokułu było wyższe niż w liściach, a dostarczony dolistnie bor był transportowany do kwiatów głównie przez floem. Odnotowano również, że bor jest mikroelementem wysoce ruchliwym u świerka i sosny [68], a dostarczany dolistnie może być przemieszczany ze starszych liści gatunków *Prunus*, *Pyrus*, *Malus* [19, 46] i *Glycine max* [99, 100]. Brown i Hu prowadzili badania nad modelem dystrybucji boru w organach pędu i translokacją podawanego dolistnie izotopu  $^{10}B$  u sześciu gatunków drzew. Wyniki tych badań wykazały, że u gatunków bogatych w sorbitol bor przemieszcza się swobodnie, natomiast u gatunków nie produkujących sorbitolu bor jest nieruchliwy [19, 20]. Hu i in. [52] wyizolowali i scharakteryzowali rozpuszczalny kompleks sorbitol-boran-sorbitol z nektaru kwiatowego brzoskwini i kompleks mannitol-boran-mannitol z soku floemowego selera. Zauważyli też, że obecność cząsteczek wiążących

bor w komórkach, np. sorbitolu, podnosi jego pobieranie [19]. Potwierdzają to wyniki badań prowadzonych na zmienionym genetycznie tytoniu, który wykazywał zwiększoną produkcję sorbitolu. Zmiany te wyraźnie prowadziły do podniesienia pobierania boru oraz zwiększenia jego ruchliwości u modyfikowanych roślin [5, 17]. Brown i in. dostarczyli dowodu na ruchliwość floemową boru, która zależy u różnych gatunków od rodzaju transportowanych cukrów. Co więcej, obecność boru w pożywce wpływała na natężenie syntezy sorbitolu w modyfikowanej linii tytoniu [17]. Również u ryżu wykryto, że produkcja sorbitolu zwiększa transport boru we floemie dzięki tworzeniu się kompleksów boran-sorbitol [6]. Shelp i in. twierdzą, że u roślin z ograniczoną ruchliwością boru, jest on dostarczany do tkanek poprzez floem [111, 113]. Obecny we floemie bor może pochodzić pośrednio z liści lub bezpośrednio z ksylemu [112]. Odkryto bowiem fakt występowania transferu tego pierwiastka pomiędzy ksylemem a floemem u brokułu i łubinu podczas wczesnego wzrostu reprodukcyjnego [74, 112]. Podsumowując, bor jest transportowany na długich dystansach ksylemem wraz z prądem transpiracyjnym, natomiast we floemie jego ruchliwość jest nieznaczna i zależy od gatunku rośliny oraz produkcji polili tworzących kompleksy z borem.

#### ROLA BORU W STRUKTURZE ŚCIANY KOMÓRKOWEJ

Ważnym czynnikiem determinującym rozmiary i kształt komórki roślinnej jest rozrost ściany komórkowej. Ściana pierwotna jest modyfikowana chemicznie i strukturalnie za pomocą wiązań poprzecznych między ich głównymi komponentami, do których należą polimery celulozowe, polimery hemicelulozowe i pektynowe polisacharydy [24]. Okazało się, że istnieje związek pomiędzy pierwotną ścianą komórkową a przyswajaniem boru, gdyż jako wczesny przejaw jego deficytu często obserwowano uszkodzenie struktury ściany komórkowej [48, 49, 72]. Ponadto, związany bor komórkowy jest zlokalizowany głównie w ścianie komórkowej [49, 51, 72, 77, 79], podczas gdy we frakcji błon,

protoplastie i wakuoli jest go niewiele [65, 72, 75, 78]. Loomis i Durst [72] sugerowali, że wiązania poprzeczne polimerów ściany komórkowej tworzą estry boranu z hydroksylowymi grupami węglowodanów i glikoprotein ściany komórkowej. Prawdopodobnie apioza jest kluczowym węglowodanem przy wytwarzaniu tych wiązań, gdyż powszechnie występuje w ścianach komórkowych u różnych gatunków roślin, zarówno jedno-, jak i dwuliściennych. Innym węglowodanem mogącym tworzyć wiązania estrowe z boranem jest fukoza występująca w ścianach komórkowych okrzemek i niektórych glonów, a także w ścianach komórkowych roślin wyższych (z wyjątkiem traw) jako cząstka terminalna w ksyloglukanach i ramnogalakturnonach [24, 47, 72]. Pierwszy kompleks borano-polisacharydowy wyizolowali Matoh i in. ze ścian komórek korzenia rzodkiewki [79]. Kompleks ten zawierał 0.232% B, 52.3% kwasu uronowego, 17.4% arabinozy, 9.8% ramnozy, 4.9% galaktozy oraz 0.3% ksylozy. Kobayashi i Matoh scharakteryzowali ten kompleks jako borano-ramnogalakturnonian II (RG-II-B) [63]. Matoh ze współpracownikami zbadali obecność tego kompleksu w ścianach komórkowych u 24 gatunków roślin wyższych. Stwierdzili oni, że we wszystkich badanych gatunkach bor jest związany z RG-II, a u 15 z badanych gatunków RG-II może być jedyną molekułą kompleksującą bor w ścianie komórkowej [77, 80]. Odkryto również, że w ścianach komórkowych roślin jednoliściennych występuje kompleks RG-II-B, podobny do obecnego u roślin dwuliściennych [61]. Równocześnie O'Neill i in. [90] używając hodowli zawieszinowych platana i komórek etiolowanych łodyg grochu wykazali, że RG-II jest dominującym dimerem, kowalencyjnie związanym przez ester boranowy w ścianach komórek roślin wyższych. Boran w kompleksie RG-II-B jest estryfikowany przez grupy hydroksylowe przy C-2 i C-3 dwóch z czterech 3'-wiązań reszt apiozylowych dimeru [57, 90]. W pierwotnej ścianie komórkowej mogą tworzyć się makromolekularne kompleksy złożone z RG-II, monomeru RG-I i homogalakturnonianu [90]. Około 80% boru ściany komórkowej znajduje się w kompleksie RG-II, co sugeruje, że bor nie jest

przypadkowo wiązany przez polisacharydy ściany, lecz bierze udział w jej formowaniu [58, 77, 79]. Popiera ten pogląd Fleischer [39] twierdząc, że ester boranowy związany z RG-II reguluje makroskopową konformację sieci pektynowej w ścianie komórkowej. Ten sam badacz sugeruje również, że bor jest konieczny do utrzymania normalnej struktury porów w matriksie ściany [38]. Prócz udziału w formowaniu wiązań poprzecznych w pektynie, estry boranowe tworzone z grupami hydroksylowymi cukrów w pektynowych czy glikoproteinowych polimerach, stanowią miejsce chelatowania wapnia lub magnezu w ścianach komórkowych [120, 123]. Wskazują na to wyniki badań potwierdzające fakt, że rośliny wykazujące deficyt boru zawierają w ścianie komórkowej mniej wapnia [123]. Prawdopodobnie rejon RG-II stanowi miejsce wiązania przez bor pektynowych łańcuchów, a mostki wapniowe kształtują supramolekularną sieć pektynową i zakotwiczą ją w ścianie komórkowej [3, 64, 81]. Jednak przy większym stężeniu, bor specyficznie hamuje absorpcję wapnia [2].

Boran może być również wiązany w ścianie komórkowej przez glikoproteiny bogate w hydroksyprolinę oraz proteiny z dużą zawartością proliny. Bonilla i in. [16] odkryli, że proporcja hydroksyproliny do suchej masy ściany komórkowej była 5 razy niższa u brodawek korzeniowych fasoli z deficytem boru, w porównaniu z kontrolą. Co więcej, w komórkach brodawek z deficytem boru było obecne mRNA kodujące jedno z białek zawierających hydroksyprolinę (noduliny), sama zaś proteina nie była wbudowywana w ścianę. Wyniki te sugerują, że bor bierze udział w strukturalnym włączaniu protein do ściany komórkowej [16]. Z ostatnich badań Yu i współpracowników [126] wynika, że deficyt boru powoduje gwałtowne zwiększenie zawartości protein cytoszkieletu w komórkach wierzchołka korzenia u kukurydzy. Zaobserwowali oni również zmianę wzoru polimeryzacji tych protein, co zapewnia mechaniczne wzmocnienie obrzeża protoplastu. Prawdopodobnie ta szybka odpowiedź jest mechanizmem adaptacyjnym korzeni kukurydzy na pozbawienie boru i wynikające z tego zmiany w ścianie komórkowej [126].

## WPLYW BORU NA INTEGRALNOŚĆ I FUNKCJE BŁONY KOMÓRKOWEJ

Niektóre efekty deficytu boru nie są związane z jego wpływem na strukturę ściany komórkowej. Rośliny z niedoborem boru często wykazują bardzo szybką reakcję na dodanie tego mikroelementu do pożywki. Do szybkich reakcji należy m.in. zmiana w funkcjonowaniu błony komórkowej po dodaniu boru do tkanek wykazujących jego deficyt. Potraktowanie takich roślin roztworami zawierającymi bor prowadzi do hiperpolaryzacji błon, stymulacji wydzielania jonów  $H^+$  zależnego od żelazicjanku, zwiększenia aktywności ATP-azy i NADH-oksydazy błonowej oraz zwiększenia transportu jonów [4, 36, 44, 105, 110].

Wielu badaczy opisywało obniżenie aktywności różnych systemów transportu jako efekt niedoboru boru i natychmiastowe odwrócenie tych efektów po jego dodaniu [8, 44, 119]. Rośliny z niedoborem boru wykazywały ograniczenie pobierania  $K^+$ , ( $^{86}Rb^+$ ) [104], modyfikację procesu translokacji  $Ca^{2+}$  [123], redukcję pobierania fosforu [104]. Stwierdzono również obniżenie szybkości transportu jonów  $H^+$  poprzez redukcję stymulowanej  $K^+$  wanadano-wrażliwej ATP-azy błonowej [8, 37]. Dyskusyjne jest, czy obserwowane efekty braku boru są konsekwencją ograniczenia systemu aktywnego transportu np. ATP-azy pompującej  $H^+$ , czy wyraża się ogólnym wpływem boru na strukturę błony. Drugi pogląd wspiera fakt, że w kilku przypadkach przy braku boru obserwowano niższy przepływ jonów  $K^+$ ,  $Rb^+$  i  $H_2PO_4^-$  [44, 104]. Obserwowano także brak zmian lub zwiększony wypływ  $K^+$  [119]. Niewykluczone, że zmiany w pobieraniu i transporcie jonów przez błonę mają związek z metabolizmem fenoli, które, jak podaje Glass [43], wywierają wpływ na pobieranie jonów.

Sugerowano również, że bor jest zaangażowany w utrzymywanie potencjału błonowego reagując z systemami enzymów redoks [4, 37, 67]. Blaser-Grill i in. [8] badali wpływ boru na potencjał błonowy, wydzielanie protonów u *Elodea densa* i *Helianthus annuus* oraz pobieranie  $H^+$  w hodowli zawieszinowej *Daucus carota*.

Stwierdzili oni, że niedobór boru obniża potencjał spoczynkowy w fazie ciemnej zarówno w komórkach korzenia *Helianthus*, jak i liści *Elo-dea*. Nie jest pewne, czy jest to bezpośrednio związane z wpływem boru na aktywność ATP-azowej pompy protonowej, ponieważ stosunkowo wysoki poziom wanadynianu był potrzebny do zlikwidowania tego efektu. Roldan [105] zaproponował, że stymulacja aktywności  $H^+$ -ATP-azy błonowej przez bor jest niespecyficzna i opiera się na tzw. efekcie słabego kwasu, a wpływ  $H_3BO_3$  może być porównywalny z innymi niskocząsteczkowymi słabymi kwasami organicznymi, które przypuszczalnie obniżają pH cytoplazmy, co z kolei może wpływać na pobór i uwalnianie  $H^+$  i procesy transportu związane z przemieszczaniem się  $H^+$ . Niektórzy badacze twierdzą, że boran wpływa na aktywność błonowej wanadano-wrażliwej  $H^+$ -ATP-azy przez zmniejszenie gradientu  $H^+$  generowanego przez tą ATP-azę [67, 88]. Mechanizm oddziaływania boru pozostaje wciąż przedmiotem spekulacji. Przedstawiono hipotezę, że  $B(OH)_3$  podwyższa tempo transportu elektronów w reakcjach związanych z fitochromami [118]. Potwierdza to uderzające podobieństwo charakterystyki potencjału błonowego w warunkach ciemności/światło u *Elo-dea* z deficytem boru do potencjału błonowego *Elo-dea* potraktowanej DCMU – inhibitorem transportu elektronów [8]. Inni badacze też obserwowali zależną od boru hiperpolaryzację błon [88, 110]. Jednak Obermeyer i inni twierdzą, że różnice te są małe i mogą być efektem zakłóceń w działaniu  $H^+$ -ATP-azy [88]. Sugerują oni, że bor może zmieniać otoczenie błonowej ATP-azy przez reakcję z glikozyłowymi resztami glikoprotein i glikolipidów błony komórkowej formując estry boranowe [88]. Również Ferrol i in. uważają, że funkcja boru może być związana z jego wpływem na komponenty błony [36]. Mühling i in. [84] wykazali, że przy deficycie boru błona komórkowa wiąże mniej wapnia, co prowadzi do jej uszkodzenia. Może to być spowodowane brakiem specyficznych miejsc do wiązania  $Ca^{2+}$  (dioli boranowych lub węglowodanów wielowodorotlenowych). Ostatnio Brown i in. [18] zasugerowali rolę boru w formowaniu i funkcjo-

nowaniu aktywnych fizjologicznie domen błonowych.

Podsumowując, bor pełni prawdopodobnie bezpośrednią funkcję w błonie stymulując związane z błoną enzymy utrzymujące potencjał błonowy, transport jonów i stan redox apoplazmy, może też pełnić rolę strukturalną, podobną do pełnionej w ścianie komórkowej [9, 92, 106].

## BOR A ROZMNAŻANIE ROŚLIN

Zaobserwowano, że u większości roślin wpływ boru na rozmnażanie, szczególnie kwitnienie i owocowanie, jest o wiele większy niż na wzrost wegetatywny [30, 72, 86, 115]. Co więcej, często obserwowano objawy deficytu boru w fazie reprodukcyjnej u roślin nie wykazujących takich symptomów w fazie wegetatywnej. Może to być związane ze słabym zaopatrzeniem tkanek reprodukcyjnych w bor i jego niską mobilnością. Defekt reprodukcji u roślin występuje najczęściej podczas suszy, niskich temperatur oraz wysokiej wilgotności i jest prawdopodobnie wynikiem osłabienia transportu boru z gleby do rozwijających się tkanek reprodukcyjnych [17]. Ta specyficzna wrażliwość tkanek reprodukcyjnych na deficyt boru wynika, jak sugerują Dell i Huang [30], również z ich umiejscowienia. Niektóre struktury reproduktywne (komora pyłkowa, woreczek zalążkowy) mają ograniczony dostęp do wiązek naczyniowych, które kończą się w tapetum ściany pylnika i hipostazie woreczka zalążkowego. U roślin z małą ruchliwością boru we floemie dostarczanie tego pierwiastka jest znacznie ograniczone, gdyż jedynym jego źródłem jest pasywny transport ksylemem z korzenia [17, 18]. Podczas fazy reprodukcyjnej, poszczególne gatunki roślin wykazują inne zapotrzebowanie na bor [101], również stadia rozwoju reprodukcyjnego rośliny różnią się między sobą pod względem wrażliwości na deficyt boru [55, 98]. Huang i in. [55] podali, że pyłek pszenicy wykazuje szczególnie dużą wrażliwość na deficyt boru w okresie od premeiotycznej interfazy przez mejozę do późnej tetrady oraz od I mitozy do II, podczas którego następuje akumulacja skrobi w ziarnach pyłku. Od dawna jest znany fakt, że bor wpływa na kielkowa-

nie pyłku i wzrost łagiewki pyłkowej [25, 55, 87, 88, 94, 103]. U pszenicy deficyt boru powoduje słaby rozwój pylników i pyłku, obniżenie procentu kielkujących ziaren pyłku oraz ograniczenie długości łagiewki pyłkowej [25, 102]. Ziarna pyłku kielkującego w pożywce bez boru wykazują akumulację kalozy w szczycie łagiewki pyłkowej oraz wzrost zawartości fenoli i kwasów karboksylowych [121]. Brak tego pierwiastka podczas wczesnej mikrosporogenezy może oddziaływać na rozwój i funkcję ścian komórkowych pylnika (endotecjum i tapetum) oraz zakłócać transport floemowy substancji odżywczych np. cukrów z przylegających liści. Zaburza również metabolizm węglowodanów w tapetum i mikrosporach, co prowadzi do niedorozwoju mikrospor i w efekcie do ich sterylności [54]. Robbertse i in. [103] zaobserwowali, że kielkujące łagiewki pyłkowe petunii wykazują dodatni chemotropizm w stosunku do stężenia boru. Podczas dojrzewania kwiatu zalążnia prawdopodobnie wytwarza gradient stężenia boru w słupku. Po zapyleniu rosnąca łagiewka pyłkowa pobiera bor, obniżając jego stężenie w słupku. Bor zaczyna napływać z zalążni w kierunku słupka, powodując kierunkowy wzrost łagiewki pyłkowej [103]. Większość badaczy twierdzi, że wpływ boru na kielkowanie pyłku wynika z jego funkcji w stabilizowaniu struktury ściany komórkowej oraz wpływu na funkcjonowanie błony komórkowej. Jak podają Obermeyer i in. [88] kwas borowy stymuluje błonową  $H^+$ -ATPazę w niewykiełkowanych ziarnach pyłku, która pełni ważną funkcję podczas inicjacji fazy ich kiełkowania [87]. Dodanie boru do pożywki aktywuje nośniki jonów zlokalizowane w błonie łagiewki pyłkowej, indukując napływ jonów do jej wnętrza i podnosząc przez to ciśnienie turgorowe wywołujące elongację łagiewki. Jednocześnie bor stabilizuje nowo syntetyzowaną ścianę komórkową wierzchołka łagiewki pyłkowej i przez to zapobiega jej pęknięciu z powodu wzrostu ciśnienia turgorowego [88].

#### ROLA BORU W METABOLIZMIE ROŚLIN

Wpływ boru na strukturę ściany komórkowej oraz integralność błony komórkowej są do-

brze poznane, w przeciwieństwie do jego roli w metabolizmie roślin. Pffefer i in. [93] badając wewnątrzkomórkową lokalizację boru u słonecznika stwierdzili stosunkowo wysokie stężenie boru w cytozolu i wakuoli roślin hodowanych w pożywce z niską zawartością boru w stosunku do odpowiedniego stężenia u roślin zawierających 100 razy więcej boru w pożywce. Wyniki te sugerują, że bor pełni dodatkową rolę w metabolizmie roślin poza swoją funkcją w ścianie i błonie komórkowej. Postulowano, że bor jest włączony w wiele szlaków metabolicznych i może brać udział w ich regulacji w sposób podobny do hormonów roślinnych [91]. Na podstawie przeglądu wcześniejszej literatury Paar i Loughman [91] wymieniają następujące funkcje boru: wpływ na transport i metabolizm cukrów, syntezę ściany komórkowej, regulacja przemian kwasu indoliloctowego (IAA), akumulację związków fenolowych, metabolizm kwasów nukleinowych oraz wpływ na proces oddychania. Ostatnio dyskutowanymi funkcjami boru związanymi z metabolizmem roślin są: przemiany i transport auksyn, akumulacja związków fenolowych oraz metabolizm askorbinianu, azotu i węglowodanów.

Zaobserwowano podobieństwa objawów deficytu boru u roślin do ich odpowiedzi na nadmiar auksyn. Na tej podstawie w latach 60–70. sugerowano, że bor może być związany z metabolizmem, transportem lub działaniem auksyn [10, 104, 114], była to tzw. teoria „hiperauksyn”, według której deficyt boru powoduje tworzenie się nadmiaru auksyn nie zużywanych przy wzroście i w metabolizmie. Zdaniem Szkolnika [114] efekty braku boru są równoznaczne z toksycznością nadmiaru kwasu indolilo-3-octowego (IAA) [114]. Hirsch i Torrey [48] sugerowali udział boru raczej w utrzymywaniu integralności błony komórkowej, niż regulacji stężenia endogennych auksyn. Hipotezie „hiperauksyn” zaprzeczają również wyniki pracy Fackler i Goldbach [35], badających wpływ deficytu boru na stężenie m.in. IAA w wierzchołkach pędu i korzenia słonecznika, fasoli oraz pomidora. Po przeniesieniu roślin do pożywki bez boru, zmiany w stężeniu IAA w wierzchołkach korzenia i pędu są stosunkowo małe i nie mogłyby

wywołać zmian metabolicznych obserwowanych zazwyczaj u roślin z deficytem boru [35]. Oddziaływanie boru na poziom endogennych auksyn następuje prawdopodobnie przez kontrolę ich transportu i odbywa się na dwóch drogach. Pierwszą z nich jest utrzymywanie wraz z wapniem integralności błony komórkowej i kontrola jej przepuszczalności, co ułatwia wnikanie auksyn do komórek [48, 119]. Z drugiej strony bor jest prawdopodobnie konieczny do syntezy ligandów będących komponentami białek transportujących auksyny [119]. Ostatnio Li i in. [70] zaobserwowali, że w krótkim czasie od pozbawienia roślin boru, następuje zmniejszenie wydajności polarnego transportu IAA oraz towarzyszące temu obniżenie stężenia cytokinin. Sugerują oni, że deficyt boru powoduje zahamowanie biosyntezy cytokinin w wierzchołkach korzenia i/lub pędu bezpośrednio, albo przez redukcję tempa wzrostu tych organów. Potem ma miejsce zmniejszenie biosyntezy IAA i jej polarnego transportu. Niski poziom tego transportu hamuje elongację organu i utratę dominacji apikalnej obserwowanej u roślin z niedoborem boru [70]. Zarzucono ostatecznie teorię „hiperauksyn”, a wpływ boru na transport auksyn jest nadal dyskusyjny.

Bor jest jednym z mikroelementów, które wpływają na zawartość fenoli i prawdopodobnie na ich metabolizm. Już od dawna obserwowano, że brak boru prowadzi ogólnie do nagromadzenia związków fenolowych w roślinie [21, 83, 96, 114]. Zaskakujący jest fakt, że przy deficycie boru nie ma leukoantocjanów, które normalnie są obecne przy akumulacji związków fenolowych [96]. Ruiz i in. twierdzą, że gromadzenie się fenoli jest główną przyczyną uszkodzenia struktury i funkcji błony podczas deficytu boru [106]. Te zaburzenia w metabolizmie fenoli mogą być konsekwencją wpływu boru na metabolizm węgla. Główną rolę odgrywają tu tworzone przez bor kompleksy z niektórymi cukrami czy fenolami. Uważa się, że bor tworzy kompleksy z kwasem 6-fosfoglukonowym i w ten sposób hamuje aktywność dehydrogenazy 6-fosfoglukonianu, podnosząc poziom wolnego kwasu fosfoglukonowego w tkankach z deficytem boru. Konsekwencją tego jest przemieszczenie sub-

stratów z glikolizy do szlaku pentozofosforanowego, który prowadzi do zwiększenia natężenia syntezy fenoli [21]. Bor może wpływać na akumulację fenoli również stymulując aktywność liazy fenyloalaninowej (PAL) oraz hamując utylizację fenoli przez podniesienie aktywności peroksydazy (POD) i oksydazy polifenolowej (PPO) [21, 107].

W ostatnich latach zaobserwowano bliski związek między borem a metabolizmem askorbinianu. Lukaszewski i Blewins [73] modyfikowali odżywianie borem wydłużających się korzeni dyni i odkryli bliską, pozytywną korelację pomiędzy wzrostem korzenia, stężeniem askorbinianu w wierzchołkach korzenia oraz zaopatrzeniem rośliny w bor. Sugerowali oni, że mechanizm interakcji boran – askorbinian może odnosić się do wpływu boru na cykl redox askorbinianu i transport elektronów w błonie [73]. Zmniejszanie się stężenia askorbinianu podczas deficytu boru odbywa się kosztem jego zredukowanej formy, tzn. przy niedoborze boru zwiększa się poziom utlenionego askorbinianu, podczas gdy poziom askorbinianu zredukowanego maleje [21]. Szybkie zahamowanie wzrostu pędu czy korzenia, podczas deficytu boru, może wynikać z wpływu boru na metabolizm askorbinianu. Wynika to z faktu, że kwas askorbinowy jest zaangażowany w regulację aktywności merystemów i wzmacnia procesy wzrostowe [27, 71]. Lukaszewski i Blewins przedstawili hipotezę, że inhibicja błonowej oksydazy NADH przy deficycie boru może zmieniać równowagę redox askorbinianu i przez to wpływać na proces wzrostu [73].

Odnotowano również związek boru z metabolizmem azotanów i utrzymywaniem równowagi węglowo-azotowej u roślin. Pobierane przez roślinę jony azotanowe przed włączeniem do procesów syntezy są zredukowane najpierw do azotynu, a następnie do amoniaku. Redukcję tę katalizują kolejno: reduktaza azotanowa i reduktaza azotynowa. Całkowite tempo redukcji azotanu zależy od dostępności energii i węglowodanów. Synchronizacja redukcji azotanu z metabolizmem węgla prawdopodobnie zachodzi na poziomie transkrypcji oraz translacji genów enzymów uczestniczących w redukcji azotanu



[60] Ostatnio wykazano, że azotan jest sygnałem do kontroli ekspresji genów kluczowych, zaangażowanych w metabolizm węglowy i azotowy [108]. Camacho-Cristobal i in. [22] badali wpływ zawartości azotanów na akumulację skrobi w liściach tytoniu z niedoborem boru. Wykazali oni, że ważnym przejawem deficytu boru jest znaczne obniżenie zawartości azotanów w liściach, co w efekcie może ograniczać aktywność reduktazy azotanowej. U roślin z niedoborem boru zaobserwowano również akumulację heksoz, sacharozy i skrobi w liściach oraz odwrócony stosunek pomiędzy zawartością azotanu i skrobi [22]. Ten istotny efekt deficytu boru można wytłumaczyć na dwóch nie wykluczających się drogach. Niższa aktywność reduktazy azotanowej u roślin z deficytem boru powoduje niższe zapotrzebowanie na szkielety węglowe i stąd akumulacja glukozy i fruktozy. Ponadto obniżenie zawartości azotanu i kationów wywołuje zachwianie równowagi osmotycznej, która może być korygowana przez akumulację osmoregulatorów, takich jak heksozy czy sacharoza [22].

Obserwowano także wpływ boru na fotosyntezę. Jak wykazał Kastori [62], przy niedoborze tego pierwiastka jest niższa wydajność fotosytemu PSII i występują zaburzenia w fotosyntetycznym wydzielaniu tlenu. Również u *Anabaena* szczepu PCC 7119 zaobserwowano przy deficycie boru redukcję wydzielania tlenu i wiązania CO<sub>2</sub> [41].

#### WPLYW BORU NA WIĄZANIE AZOTU

Wielu badaczy wykazało wpływ boru na wiązanie azotu, zarówno przez bakterie brodawkowe u roślin strączkowych [11, 12, 16, 23, 124], jak i przez sinice [13, 14, 15, 40, 41, 42, 76]. *Cyanobacteriae* wymagają boru do produkcji heterocyst zdolnych do wiązania azotu, ale nie są wrażliwe na deficyt boru, kiedy mają do dyspozycji związany azot [40]. Deficyt boru u roślin strączkowych, żyjących w symbiozie z *Rhizobium leguminosarum*, objawia się zmniejszeniem liczby brodawek korzeniowych oraz zmianami w ich rozwoju, prowadzącymi do zahamowania aktywności nitrogenazy [11, 12, 16]. U brodawek korzeniowych z deficytem bo-

ru stwierdza się istotne zmiany anatomiczne, przeważnie w rejonie parenchymy. Nici infekcyjne wykazują anomalie strukturalne, często pękają i uwalniają bakterie do wnętrza uszkodzonych komórek gospodarza [16]. Ze względu na te uszkodzenia, rizobia wewnątrz brodawek mają niską zdolność wiązania azotu lub jej brak. Jak wynika z ostatnich badań, wpływ boru na aktywność nitrogenazy ma charakter pośredni. Bonilla i in. dowiedli, że brak boru hamuje wiązanie kowalencyjne noduliny (ENOD<sub>2</sub>) w ścianie komórkowej brodawek korzeniowych, w wyniku czego nie zostaje wytworzona bariera powstrzymująca dyfuzję tlenu do wnętrza brodawek. Z kolei, brak tej bariery prowadzi do uszkodzenia nitrogenazy wiążącej azot [16]. Podobnie u sinicy *Anabaena* PCC 7119 deficyt boru drastycznie obniża aktywność nitrogenazy, na skutek pozbawienia bariery tlenowej, jaką tworzy wewnętrzna warstwa glikolipidów otoczki heterocyst. Z badań Garcia-Gonzales i Mateo [40, 42] wynika, że bor stabilizuje wewnętrzną warstwę glikolipidów otoczki oddziałując z ich grupami -OH.

Obserwowany był również wpływ boru na sam przebieg wnikania rizobium do komórki gospodarza. Stwierdzono, że bor odgrywa ważną rolę, pośrednicząc w oddziaływaniu powierzchniowej komórki roślinnej i bakterii, które prowadzi do endocytozy rizobia przez komórki gospodarza i poprawnego ustanowienia symbiozy [11].

#### PODSUMOWANIE

Bor pełni ważną funkcję jako komponent ściany komórkowej. Determinuje rozmiar i kształt komórki regulując makroskopową konformację sieci pektynowej oraz wpływa na procesy fizjologiczne zależne od prawidłowej budowy ściany komórkowej. Bor pełni istotną funkcję w błonie komórkowej stymulując enzymy włączone w regulację potencjału błonowego, transport jonów i stan redox apoplazmy. Rola boru w metabolizmie roślin nie jest jeszcze dokładnie określona. W literaturze wskazuje się na różnorakie funkcje boru w metabolizmie roślin, jednak nadal nie jest poznany mechanizm jego

wplywu na modyfikację różnych szlaków metabolicznych. Nie wiadomo czy wplyw ten jest bezposredni, czy jest on wtórna konsekwencja zaangażowania boru w utrzymywanie integralności struktur komórkowych, takich jak ściana i błona komórkowa. Pewne jest, że istotne funkcje boru w fizjologii roślin wynikają z jego właściwości chemicznych i tworzenia kompleksów cis-diol, np. RG-II-B, boran-sorbitol.

#### LITERATURA

- [1] AGULHON H. 1910. Présence et utilité du bore chez les végétaux. *Ann. Inst. Pasteur* **24**: 321–329.
- [2] ASAD A., BELL R. W., DELL B., HUANG L. 1997. External boron requirements for canola (*Brassica napus* L.) in boron buffered solution culture. *Ann. Bot.* **80**: 65–73.
- [3] BALUSKA F., HLAVACKA A., SAMAJ J., PALME K., ROBINSON D. G., MATOH T., MCCURDY D. W., MENZEL D., VOLKMANN D. 2002. F-actin-dependent endocytosis of cell wall pectins in meristematic root cells. insights from brefeldin a-induced compartments. *Plant Physiol.* **130**: 422–431.
- [4] BARR R., BOTTGER M., CRANE F. L. 1993. The effect of boron on plasma membrane electron transport and associated proton secretion by cultured carrot cells. *Biochem. Mol. Biol. Int.* **31**: 31–39.
- [5] BELLALLOUI N., BROWN P. H., DANDEKAR A. M. 1999. Manipulation of *in vivo* sorbitol production alters boron uptake and transport in tobacco. *Plant Physiol.* **119**: 735–741.
- [6] BELLALLOUI N., YADAV R. C., CHERN M. S., HU H., GILLEN A. M., GREVE C., DANDEKAR A. M., RONALD P. C., BROWN P. H. 2003. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem-boron mobility in rice. *Physiol. Plant.* **117**: 79–84.
- [7] BENNETT A., ROWE R. I., SOCH N., ECKHERT C. D. 1999. Boron stimulates yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) growth. *Am. Soc. Nutr. Sci.* **99**: 2236–2238.
- [8] BLASER-GRILL J., KNOPPIK J. D., AMBERGER A., GOLDBACH H. 1989. Influence of boron on membrane potential in *Elodea densa* and *Helianthus annuus* and H<sup>+</sup> extrusion of suspension cultured *Daucus carota* and *Lycopersicon esculentum*. *Plant Physiol.* **99**: 280–288.
- [9] BLEVINS D. G., LUKASZEWSKI K. M. 1998. Boron in plant structure and function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49**: 481–500.
- [10] BOHNSACK C. W., ALBERT L. S. 1977. Early effects of boron deficiency on indoleacetic acid oxidase levels of squash root tips. *Plant Physiol.* **59**: 1047–1050.
- [11] BOLANOS L., BREWIN J., BONILLA I. 1996. Effects of boron on rhizobium-legume cell-surface interactions and nodule development. *Plant Physiol.* **110**: 1249–1256.
- [12] BOLANOS L., ESTEBAN E., LORENZO C., FERNANDEZ-PASCUAL M., FILIPE M. R., GARATE A., BONILLA I. 1994. Essentiality of boron for symbiotic dinitrogen fixation in pea (*Pisum sativum*) rhizobium nodules. *Plant Physiol.* **104**: 85–90.
- [13] BOLANOS L., MATEO P., BONILLA I. 1993. Calcium-mediated recovery of boron deficient *Anabaena* sp. PCC 7119 grown under nitrogen fixing conditions. *J. Plant Physiol.* **142**: 513–517.
- [14] BONILLA I., BOLANOS L., MATEO P. 1995. Interaction of boron and calcium in the cyanobacteria *Anabaena* and *Synechococcus*. *Physiol. Plant.* **94**: 31–36.
- [15] BONILLA I., GARCIA-GONZALEZ M., MATEO P. 1990. Boron requirement in cyanobacteria. *Plant Physiol.* **94**: 1554–1560.
- [16] BONILLA I., MERGOLD-VILLASENOR C., CAMPOS M. E., SANCHES N., PEREZ H., LOPEZ L., CASTREJON L., SANCHEZ F., CASSAB G. I. 1997. The aberrant cell walls of boron deficient bean root nodules have no covalently bound hydroxyproline/proline-rich proteins. *Plant Physiol.* **115**: 1329–1340.
- [17] BROWN P. H., BELLALLOUI N., HU H., DANDEKAR A. 1999. Transgenically enhanced sorbitol synthesis facilitates phloem boron transport and increases tolerance of tobacco to boron deficiency. *Plant Physiol.* **119**: 17–20.
- [18] BROWN P. H., BELLALLOUI N., WIMMER M. A., BASSIL E. S., RUIZ J., HU H., PFEFFER H., DANDEL F., RÖMHELD V. 2002. Boron in Plant Biology. *Plant Biol.* **4**: 205–223.
- [19] BROWN P. H., HU H. 1996. Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for boron mobility in sorbitol-rich species. *Ann. Bot.* **77**: 497–505.
- [20] BROWN P. H., SHEL P. B. J. 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil* **193**: 85–101.
- [21] ÇAKMAK I., KURZ H., MARSCHNER H. 1995. Short-term effects of boron, germanium and high light intensity on membrane permeability in boron deficient leaves of sunflower. *Physiol. Plant.* **95**: 11–18.
- [22] CAMACHO-CRISTOBAL J. J., GONZALEZ-FONTES A. 1999. Boron deficiency causes a drastic decrease in nitrate content and nitrate reductase activity, and increases the content of carbohydrates in leaves from tobacco plants. *Planta* **209**: 528–536.
- [23] CARPENA R. O., ESTEBAN E., SARRO M. J., PENALOSA J., GARATE A., LUCENA J. J., ZORNOZA P. 2000. Boron and calcium distribution in nitrogen-fixing pea plants. *Plant Sci.* **151**: 163–170.
- [24] CARPITA N. C., GIBEAU D. M. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J.* **3**: 1–30.
- [25] CHENG C., RERKASEM B. 1993. Effects of boron on pollen viability in wheat. *Plant and Soil* **155/156**: 313–315.
- [26] COHEN M. S., LEPPER R. 1977. Effect of boron on cell elongation and division in squash roots. *Plant Physiol.* **59**: 884–887.
- [27] CORDOBA-PEDREGOSA M. C., GONZALEZ-REYES J. A., CANADILLAS M. S., NAVAS P., CORDOBA F. 1993. Role of apoplastic and cell-wall peroxidases on the stimulation of root elongation by ascorbate. *Plant Physiol.* **112**: 1119–1125.

- [28] DANNEL F., PFEFFER H., RÖMHELD V. 2000. Characterization of root boron pools, boron uptake and boron translocation in sunflower using the stable isotopes  $^{10}\text{B}$  and  $^{11}\text{B}$ . *Aust. J. Plant Physiol.* **27**: 397–405.
- [29] DANNEL F., PFEFFER H., RÖMHELD V. 2002. Update on boron in higher plants – uptake, primary translocation and compartmentation. *Plant Biol.* **4**: 139–204.
- [30] DELL B., HUANG L. 1997. Physiological response of plants to low boron. *Plant and Soil* **193**: 103–120.
- [31] DORDAS C., BROWN P. H. 2000. Permeability of boric acid across lipid bilayers and factors affecting it. *J. Membr. Biol.* **175**: 95–105.
- [32] DORDAS C., BROWN P. H. 2001. Evidence for channel mediated transport of boric acid in squash (*Cucurbita pepo*). *Plant and Soil* **235**: 95–103.
- [33] 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 Physiol.* **124**: 1349–1361.
- [34] ECKHERT C. D. 1998. Boron stimulates embryonic trout growth. *J. Nutr.* **128**: 2488–2493.
- [35] FACKLER U., GOLDBACH H., WEILER E. W., AMBERGER A. 1985. Influence of boron deficiency on indol-3yl-acetic acid and abscisic acid levels in root and shoot tips. *J. Plant Physiol.* **119**: 295–299.
- [36] FERROL N., BELVER A., ROLDAN M., RODRIGUES-ROSAS M. P., DONAIRE J. P. 1993. Effects of boron on proton transport and membrane properties of sunflower (*Helianthus annuus*) cell microsomes. *Plant Physiol.* **103**: 763–769.
- [37] FERROL N., DONAIRE J. P. 1992. Effect of boron on plasma membrane proton extrusion and redox activity in sunflower cells. *Plant Sci.* **86**: 41–47.
- [38] FLEISCHER A., O'NEILL M. A., EHWALD R. 1999. The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II. *Plant Physiol.* **121**: 829–838.
- [39] 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 Physiol.* **117**: 1401–1410.
- [40] GARCIA-GONZALES M., MATEO P., BONILLA I. 1988. Boron protection for  $\text{O}_2$  diffusion in heterocysts of *Anabaena* PCC7119. *Plant Physiol.* **87**: 785–789.
- [41] GARCIA-GONZALES M., MATEO P., BONILLA I. 1990. Effect of boron deficiency on photosynthesis and reductant sources and their relationship with nitrogenase activity in *Anabaena* PCC 7119. *Plant Physiol.* **93**: 560–565.
- [42] GARCIA-GONZALES M., MATEO P., BONILLA I. 1991. Boron requirement for envelope structure and function in *Anabaena* PCC 7119 heterocysts. *J. Exp. Bot.* **42**: 925–929.
- [43] GLASS A. D. M., DUNLOP J. 1974. Influence of phenolic acids on ion uptake. IV. Depolarization of membrane potentials. *Plant Physiol.* **54**: 855–858.
- [44] GOLDBACH H. E. 1985. Influence of boron nutrition on net uptake and efflux of  $^{32}\text{P}$  and  $^{14}\text{C}$ -glucose in *Helianthus annuus* roots and cell cultures of *Daucus carota*. *J. Plant Physiol.* **118**: 431–438.
- [45] GOLDBERG S. 1997. Reactions of boron with soils. *Plant and Soil* **193**: 35–48.
- [46] HANSON E. J. 1991. Movement of boron out of tree fruit leaves. *HortScience* **26**: 271–273.
- [47] HAYASHI T. 1989. Xyloglucans in the primary cell wall. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **40**: 139–168.
- [48] HIRSCH A. M., TORREY J. G. 1980. Ultrastructural changes in sunflower root cells in relation to boron deficiency and added auxin. *Can. J. Bot.* **58**: 856–866.
- [49] HU H., BROWN P. H. 1994. Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin. *Plant Physiol.* **105**: 681–689.
- [50] HU H., BROWN P. H. 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil* **193**: 49–58.
- [51] HU H., BROWN P. H., LABAVITCH J. M. 1996. Species variability in boron requirement is correlated with cell wall pectin. *J. Exp. Bot.* **47**: 227–232.
- [52] HU H., PENN S. C., LEBRILLA C. B., BROWN P. H. 1997. Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. *Plant Physiol.* **113**: 649–655.
- [53] HUANG L., BELL R. W., DELL B. 2001. Boron supply into wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Wilgoyne) ears whilst still enclosed within leaf sheaths. *J. Exp. Bot.* **52**: 1731–1738.
- [54] HUANG L., BELL R. W., DELL B. 2001. Recent advances on boron in wheat reproduction – A mini-review. W: W. J. HORST, M. K. SCHENK, A. BÜRKERT, N. CLAASSEN, H. FLESSA, W. B. FROMMER, H. E. GOLDBACH, H. W. OLFS, V. RÖMHELD, B. SATTELMACHER, U. SCHMIDHALTER, S. SCHUBERT, N. VON WIRÉN, L. WITTENMAYER (red.), *Plant Nutrition*, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, s. 108–109.
- [55] HUANG L., PANT J., DELL B., BELL R. W. 2000. Effects of boron deficiency on anther development and floret fertility in wheat (*Triticum aestivum* L. Wilgoyne'). *Ann. Bot.* **85**: 493–500.
- [56] ISHII T., MATSUNAGA T. 1996. Isolation and characterization of a boron-rhamnogalacturonan-II complex from cell walls of sugar beet pulp. *Carbohydr. Res.* **284**: 1–9.
- [57] ISHII T., MATSUNAGA T., PELLERIN P., O'NEILL M. A., DARVILL A., ALBERSHEIM P. 1999. The plant cell wall polysaccharide rhamnogalacturonan II self-assembles into a covalently cross-linked dimer. *J. Biol. Chem.* **274**: 13098–13104.
- [58] ISHII T., MATSUNAGA T., HAYASHI N. 2001. Formation of rhamnogalacturonan II-borate dimer in pectin determines cell wall thickness of pumpkin tissue. *Plant Physiol.* **126**: 1698–1705.
- [59] JOSTEN P., KUTSCHERA U. 1999. The micronutrient boron causes the development of adventitious roots in sunflower cuttings. *Ann. Bot.* **84**: 337–342.
- [60] KAISER W. M., HUBER S. C. 1994. Posttranslational regulation of nitrate reductase in higher plants. *Plant Physiol.* **106**: 817–821.
- [61] KANEKO S., ISHII T., MATSUNAGA T. 1997. A boron-

- rhamnogalacturonan-II complex from bamboo shoot cell walls. *Phytochemistry* **44**: 243–248.
- [62] KASTORI R., PLESNICAR M., PANKOVIC D., SAKAC Z. 1995. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence and soluble carbohydrates in sunflower leaves as affected by boron deficiency. *J. Plant Nutr.* **18**: 1751–1763.
- [63] KOBAYASHI M., MATOH T., AZUMA J. 1996. Two chains of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiol.* **110**: 1007–1020.
- [64] KOBAYASHI M., NAKAGAWA H., ASAKA T., MATOH T. 1999. Borate-rhamnogalacturonan II bonding reinforced by  $\text{Ca}^{2+}$  retains pectic polysaccharides in higher-plant cell walls. *Plant Physiol.* **119**: 199–203.
- [65] KOBAYASHI M., OHNO K., MATOH T. 1997. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. II. Characterization of the boron-polysaccharide complex. *Plant Cell Physiol.* **38**: 676–683.
- [66] KOUCHI H., KUMAZAWA K. 1976. Anatomical responses of root tip to boron deficiency. III. Effect of boron deficiency on sub-cellular structure of root tips, particularly on morphology of cell wall and its related organelles. *Soil Sci. Plant Nutr.* **22**: 53–71.
- [67] LAWRENCE K., BHALLA P., MISRA P. C. 1995. Changes in (NADPH)-dependent redox activities in plasma-membrane-enriched vesicles isolated from boron – and zinc-deficient chickpea roots. *J. Plant Physiol.* **146**: 652–657.
- [68] LEHTO T., KALLIO E., APHALO P. J. 2000. Boron mobility in two coniferous species. *Ann. Bot.* **86**: 547–550.
- [69] LEWIN J., CHEN C. H. 1976. Effects of boron deficiency on the chemical composition of a marine diatom. *J. Exp. Bot.* **27**: 916–921.
- [70] LI C., PFEFFER H., DANNEL F., RÖMHELD V., BANGERTH F. 2001. Effects of boron starvation on boron compartmentation, and possibly hormone-mediated elongation growth and apical dominance of pea (*Pisum sativum*) plants. *Physiol. Plant.* **111**: 212–219.
- [71] LIN L. S., VARNER J. E. 1991. Expression of ascorbic acid oxidase in zucchini squash (*Cucurbita pepo* L.). *Plant Physiol.* **96**: 159–165.
- [72] LOOMIS W. D., DURST R. W. 1992. Chemistry and biology of boron. *Biofactors* **3**: 229–239.
- [73] LUKASZEWSKI K. M., BLEVINS D. C. 1996. Root growth inhibition in boron-deficient or aluminum-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism. *Plant Physiol.* **112**: 1135–1140.
- [74] MARENTES E., SHEL P. B. J., VANDERPOOL R. A., SPIERS G. A. 1997. Retranslocation of boron in broccoli and lupin during early reproductive growth. *Physiol. Plant.* **100**: 389–399.
- [75] MARTINI F., THELLIER M. 1993. Boron distribution in parenchyma cells of clover leaves. *Plant Physiol. Biochem.* **31**: 777–786.
- [76] MATEO P., BONILLA I., FERNANDEZ-VALIENTE E., SANCHEZ-MASEO E. 1986. Essentiality of boron for dinitrogen fixation in *Anabaena* sp. PCC 7119. *Plant Physiol.* **81**: 430–433.
- [77] MATOH T. 1997. Boron in plant cell walls. *Plant Soil* **193**: 59–70.
- [78] MATOH T., ISHIGAKI K., MIZUTANI M., MIZUTANI M., MATSUNAGA W., TAKABE K. 1992. Boron nutrition of cultured tobacco BY-2 cells. I. Requirement for and intracellular localization of boron and selection of cells that tolerate low levels of boron. *Plant Cell Physiol.* **33**: 1135–1141.
- [79] MATOH T., ISHIGAKI K., OHNO K., AZUMA J. 1993. Isolation and characterization of a boron-polysaccharide complex from radish roots. *Plant Cell Physiol.* **34**: 639–642.
- [80] MATOH T., KAWAGUCHI S., KOBAYASHI M. 1996. Ubiquity of a borate-rhamnogalacturonan II complex in the cell walls of higher plants. *Plant Cell Physiol.* **37**: 636–640.
- [81] MATOH T., KOBAYASHI M. 1998. Boron and calcium, essential inorganic constituents of pectic polysaccharides in higher plant cell walls. *J. Plant Res.* **111**: 179–190.
- [82] MAZUREK M., PERLIN A. 1963. Borate complexing by five-membered-ring vic-diols. *Can. J. Chem.* **41**: 2403.
- [83] MONDY N. I., MUNSHI C. B. 1993. Effect of boron on enzymatic discoloration and phenolic and ascorbic acid content of potatoes. *J. Agric. Food Chem.* **41**: 554–556.
- [84] MÜHLING K. H., WIMMER M., GOLDBACH H. E. 1998. Apoplastic and membrane-associated  $\text{Ca}^{2+}$  in leaves and roots as affected by boron deficiency. *Plant Physiol.* **102**: 179–184.
- [85] NIELSEN F. H. 1997. Boron in human and animal nutrition. *Plant Soil* **193**: 199–208.
- [86] NOPPAKONWONG R. N., BELL R. W., DELL B., LONERAGAN F. J. 1993. An effect of shade on the boron requirement for leaf blade elongation in black gram (*Vigna mungo* L. Hepper). *Plant Soil* **155/156**: 317–320.
- [87] OBERMEYER G., BLATT M. R. 1995. Electrical properties of intact pollen grains of *Lilium longiflorum*: Characteristic of the non-germinating grain. *J. Exp. Bot.* **46**: 803–813.
- [88] OBERMEYER G., KRIECHBAUMER R., STRASSER D., MASCHESSNIG A., BENTRUP F. W. 1996. Boric acid stimulates the plasma membrane HC-ATPase of ungerminated lily pollen grains. *Physiol. Plant.* **98**: 281–290.
- [89] OERTLI J. J. 1993. The mobility of boron in plants. *Plant Soil* **155/156**: 301–304.
- [90] O'NEILL M. A., WARRENFELTZ D., KATES K., PELLERIN P., DOCO T., DARVILL A. G., ALBERSHEIM P. 1996. Rhamnogalacturonan-II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. *J. Biol. Chem.* **271**: 22923–22930.
- [91] PARR A. J., LOUGHMAN B. C. 1983. Boron in membrane functions in plants. W: D. A. ROBB, W. S. PIERPOINT (red.), *Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants*. Academic Press, New York, s. 87–107.
- [92] PFEFFER H., DANNEL F., RÖMHELD V. 1998. Are there connections between phenol metabolism, ascorbate metabolism and membrane integrity in leaves of boron deficient sunflower plants? *Physiol. Plant.* **104**: 479–485.
- [93] PFEFFER H., DANNEL F., RÖMHELD V. 2001. Boron

- compartmentation in roots of sunflower plants of different boron status: A study using the stable isotopes  $^{10}\text{B}$  and  $^{11}\text{B}$  adopting two independent approaches. *Physiol. Plant.* **113**: 346–351.
- [94] POLSTER J., SCHWENK M. 1992. The role of boron, silicon and nucleic bases on pollen tube growth of *Lilium longiflorum* (L.). *Z. Naturforsch. Tübingen – Mainz* **47**: 102–108.
- [95] POWER P. P., WOODS W. G. 1997. The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant and Soil* **193**: 1–13.
- [96] RAJARATNAM J. A., LOWRY J. B. 1974. The role of boron in the oil palm (*Elaeis guineensis*). *Ann. Bot.* **38**: 193–200.
- [97] RAVEN J. A. 1980. Short – and long-distance transport of boric acid in plants. *New Phytol.* **84**: 231–249.
- [98] RAWSON H. M. 1996. The developmental stage during which boron limitation causes sterility in wheat genotypes and the recovery of fertility. *Aust. J. Plant Physiol.* **23**: 709–717.
- [99] REINBOTT T. M., BLEVINS D. G. 1995. Response of soybean to foliar-applied boron and magnesium and soil-applied boron. *J. Plant Nutr.* **18**: 179–200.
- [100] REINBOTT T. M., BLEVINS D. G., SCHON M. K. 1997. Content of boron and other elements in main stem and branch leaves and seed of soybean. *J. Plant Nutr.* **20**: 831–843.
- [101] RERKASEM B., JAMJOD S. 1997. Genotypic variation in plant response to low boron and implications for plant breeding. *Plant and Soil* **193**: 169–180.
- [102] RERKASEM B., NETSANGTIP R., LORDKAEW S., CHENG C. 1993. Grain set failure in boron deficient wheat. *Plant Soil* **155/156**: 309–312.
- [103] ROBERTSE P. J., LOCK J. J., STOFFBERG E., COETZER L. A. 1990. Effect of boron on directionality of pollen tube growth in *Petunia* and *Agapanthus*. *S. Afr. J. Bot.* **56**: 487–492.
- [104] ROBERTSON G. A., LOUGHMAN B. C. 1974. Reversible effects of boron on the absorption and incorporation of phosphate in *Vicia faba* L. *New Phytol.* **73**: 291–298.
- [105] ROLDAN M., BELVER A., RODRIGUEZ-ROSALES M. P., FERROL N., DONAIRE J. P. 1992. *In vivo* and *in vitro* effects of boron on the plasma membrane proton pump of sunflower roots. *Physiol. Plant.* **84**: 49–54.
- [106] RUIZ J. M., BRETONES G., BAGHOUR M., RAGALA L., BELAKBIR A., ROMERO L. 1998. Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves. *Phytochemistry* **48**: 269–272.
- [107] RUIZ J. M., GARCIA P. C., RIVERO R. M., ROMERO L. 1999. Response of phenolic metabolism to the application of carbendazim plus boron in tobacco. *Physiol. Plant.* **106**: 151–157.
- [108] SCHEIBLE W. R., GONZALEZ-FONTES A., LAUERER M., MÜLLER-RÖBER B., CABOCHE M., STITT M. 1997. Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *Plant Cell* **9**: 783–798.
- [109] SCHON M. K., BLEVINS D. G. 1990. Foliar boron applications increase the final number of branches and pods on branches of field-grown soybean. *Plant Physiol.* **92**: 602–607.
- [110] SCHON M. K., NOVACKY A., BLEVINS D. G. 1990. Boron induces hyperpolarization of sunflower root cell membranes and increases membrane permeability to  $\text{K}^+$ . *Plant Physiol.* **93**: 566–571.
- [111] SHELPS B. J. 1988. Boron mobility and nutrition in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Ann. Bot.* **61**: 83–91.
- [112] SHELPS B. J., KITHEKA A. M., VANDERPOOL R. A., VAN CAUWENBERGHE O. R., SPIERS G. A. 1998. Xylem-to-phloem transfer of boron in broccoli and lupin during early reproductive growth. *Physiol. Plant.* **104**: 533–540.
- [113] SHELPS B. J., MARENTES E., KITHEKA A. M., VIVEKANANDAN P. 1995. Boron mobility in plants. *Physiol. Plant.* **94**: 356–361.
- [114] SHKOLNIK M. Y. 1974. General conception of the physiological role of boron in plants. *Sov. Plant Physiol.* **21**: 140–150.
- [115] SHORROCKS V. M. 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and Soil* **193**: 121–148.
- [116] SOMMER A. L., LIPMAN C. B. 1926. Evidence on the indispensable nature of zinc and boron for higher green plants. *Plant Physiol.* **1**: 231–249.
- [117] STANGOULIS J. C. R., REID R. J., BROWN P. H. 2001. Kinetic analysis of boron transport in *Chara*. *Planta* **213**: 142–146.
- [118] TANADA T. 1978. Boron – key element in the actions of phytochrome and gravity? *Planta* **143**: 109–111.
- [119] TANG P. M., DELAFUENTE R. K. 1986. Boron and calcium sites involved in indole-3-acetic acid transport in sunflower hypocotyl segments. *Plant Physiol.* **81**: 651–655.
- [120] TEASDALE R. D., RICHARDS D. K. 1990. Boron deficiency in cultured pine cells. *Plant Physiol.* **93**: 1071–1077.
- [121] WANG Q. 2003. Boron influences pollen germination and pollen tube growth in *Picea meyeri*. *Tree Physiol.* **23**: 345–351.
- [122] WARINGTON K. 1923. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann. Bot.* **37**: 629–672.
- [123] YAMAUCHI T., HARA T., SONODA Y. 1986. Distribution of calcium and boron in the pectin fraction of tomato leaf cell wall. *Plant Cell Physiol.* **27**: 729–732.
- [124] YANNI Y. G. 1992. Performance of chickpea, lentil and lupin nodulated with indigenous or inoculated rhizobia micropartners under nitrogen, boron, cobalt and molybdenum fertilization schedules. *World J. Microb. Biotech.* **8**: 607–613.
- [125] YERMIYAHU U., KEREN R., CHEN Y. 2001. Effect of composted organic matter on boron uptake by plants. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **65**: 1436–1441.
- [126] YU Q., BALUSKA F., JASPER F., MENZEL D., GOLDBACH H., E. 2003. Short-term boron deprivation enhances levels of cytoskeletal proteins in maize, but not zucchini, root apices. *Physiol. Plant.* **117**: 270–278.