

Nitrik Oksit Uygulamasının Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Mısır Bitkisinin Mineral Beslenmesi ve Bazı Fizyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi¹

Ayfer ÇELİK Figen ERASLAN*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Isparta
*Sorumlu yazar: figeneraslan@sdu.edu.tr

Geliş tarihi: 28.01.2015, Yayına kabul tarihi: 27.04.2015

Özet: Bu çalışmada, tuz stresi altında yetişen mısır bitkisine topraktan uygulanan nitrik oksidin mısır bitkisinin gelişimi, mineral beslenmesi ve bazı fizyolojik özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bitkilere tuz stresi oluşturmak amacıyla kontrol grubu hariç tüm saksılara 40 mM NaCl uygulanmıştır. Nitrik oksit (NO) vericisi olarak sodyum nitroprussid (SNP) ve NO yakalayıcısı olarak metilen mavisi (MM) 0.5 ve 1 mM dozlarında uygulanmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre, NaCl ve SNP' in artan dozları bitkinin yaş ve kuru ağırlığını kontrole göre önemli oranda azaltmıştır. Membran geçirgenliği, nisbi nem içeriği, yaprak su tutma kapasitesi, total antioksidan aktivitesi, prolin içeriği, lipid peroksidasyonu ve stoma direnci NaCl ve SNP uygulamalarından istatistik olarak önemli derecede etkilenmemiştir. Bitkinin K ve Ca içerikleri uygulamalardan önemli olarak etkilenmezken, N, Cl, Na, Mg, Fe, Zn ve Mn içeriklerinde önemli değişimler belirlenmiştir. Sonuç olarak, tuz stresi altında yetiştirilen mısır bitkisinin strese karşı tolerans geliştirmesinde, NO vericisi olan SNP nin dışarıdan 0.5 mM ve 1.0 mM gibi yüksek dozlarda uygulanmasının olumlu etki oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Besin elementi, metilen mavisi, mısır, nitrik oksit, SNP, tuz stresi

Effects of Exogenous Nitric Oxide on Mineral Nutrition and Some Physiological Parameters of Maize Grown under Salinity Stress

Abstract: In the present study, the effect of nitric oxide (NO) on growth, mineral nutrients concentrations and some physiological properties of maize under salt stress condition was investigated. For this propose, 40 mM NaCl (except control), exogenously applied sodium nitroprusside (SNP) as a NO donor, and methylene blue (MB), as a NO scavenger, (0, 0.5 and 1.0 mM) were supplied.

Results of this study showed that, NaCl and SNP applications were significantly decreased when plant fresh and dry weight compared to control. Membrane permeability, lipid peroxidation, measured in terms of malondialdehyde (MDA) content, excised-leaf water loss, and relative water content, stomatal resistance and proline accumulation were not affected by NaCl and SNP treatments. Nitrogen, P, Cl, Na, Mg, Fe, Zn, Cu and Mn concentrations of maize plant were significantly affected, however no significant effect on the K and Ca concentrations of maize plant was observed. Nitrogen, Na, Cl, Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn and Mn concentrations were increased by increasing levels of SNP. The results of this study indicated that high doses (0.5 mM and 1.0 mM) of exogenously applied sodium nitroprusside (SNP), as a NO donor, had not positive effect to improve plant performance against salinity stress.

Key words: Maize, methylene blue, mineral nutrient, nitric oxide, salt stress, SNP

¹SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiş Yüksek Lisans tez makalesidir

Giriş

Doğadaki çok çeşitli biyotik ve abiyotik çevre etmenleri bitkide strese neden olur. Bu durumda stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açmak suretiyle bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkiler. Bitkisel üretimi sınırlandıran en önemli abiyotik stres faktörleri arasında yer alan tuzluluk, dünyada sulanabilir alanların % 20'sini, tarım arazilerinin ise % 6' sını etkilemiş durumdadır (Kuşvuran, 2011). Toprak tuzluluğu bitkilerde büyüme ve gelişmeyi, ürünün nitelik ve niceliğini olumsuz şekilde etkiler (Kalaji and Pietkiewicz, 1993).

Topraklarda tuzları, Na, Ca, Mg ve K'un klorür ve sülfat bileşikleri oluşturur. Bu tuzların arasında NaCl bitki büyüme ve gelişimini olumsuz yönde en fazla etkileyen bileşiktir (Almodares et al. 2009). Bitki hücrelerinde toksik seviyelerde biriken Na⁺ ve Cl⁻ gibi iyonlar, hücre ölümüne neden olmaktadır. Yüksek miktarlardaki Na⁺ konsantrasyonu, enzimatik fonksiyonları olumsuz yönde etkileyerek, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, membran bütünlüğünün bozulması, büyümenin yavaşlaması ve ozmotik dengesizliğe yol açması gibi birçok olumsuz etki meydana getirmektedir (Mahajan and Tuteja, 2005).

Nitrik oksit (NO) biyolojik açıdan çok önemli bir serbest radikaldır ve 1992 yılında 'yılın molekülü' olarak tanımlanmıştır. Fizyoloji ve tıp alanında memeli hücreleri tarafından üretilen biyolojik bir arabulucu olarak keşfedilmiştir (Koshland, 1992). Son yıllarda nitrik oksidin bitkiler üzerindeki etkilerine birçok çalışmada değinilmiştir (Bolwell, 1999; Wojtaszek, 2000; Beligni and Lamattina, 2001; Wendehenne et al., 2001; Neill et al., 2003; Lamattina et al., 2003). Bitkilerden NO salındığı ilk olarak 1975 yılında soya bitkisinde gözlenmiştir (Klepper, 1979). Nitrik oksit son derece istikrarsız bir serbest radikal olup algılanması ve ölçülmesi bazı zorluklar içermektedir (Luis A. del Rı'oa et al., 2004).

Bitkilerde nitrik oksit sentezi farklı biyokimyasal ve moleküler yollarla gerçekleşmektedir. Mevcut bulgular NO' in enzimatik kaynaklı olduğunu

göstermektedir. Nitrik oksidin enzimatik üretiminin bitkilerde daha fazla olduğu düşünülmektedir (Luis A. del Rı'oa et al., 2004). Aynı zamanda enzimatik olmayan süreçler de bitkilerdeki NO oluşumunda rol oynamaktadır. Örneğin, asidik veya ışıklı ortamda NO₂, NO' e dönüştürülebilmektedir (Cooney et al., 1994).

Nitrik oksit (NO) bitkilerde çeşitli fizyolojik fonksiyonları ile önemli bir sinyal molekülüdür. Bitkilerin tohumdan çiçeklenme evresine kadar büyüme ve gelişmesinde, meyvelerin olgunlaşmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca abiyotik ve biyotik faktörlerden kaynaklanan çevresel stresin oluşturduğu tehlike durumunda, NO farklı bitki türlerinde ve organlarında üretilebilmektedir. Nitrik oksit, oksidatif stres koşullarının verdiği zarara karşı çeşitli biyolojik yollarla bitkileri koruduğu kanıtlanan çok aktif bir moleküldür (Carlos and Lorenzo, 2001).

Nitrik oksit bitki hücrelerinde yararlı olduğu kadar zararlı etkiler de yaratabilir. Bu durum nitrik oksidin miktarına bağlıdır. Nitrik oksit hücrelerdeki iyon regülasyonu (Garcı'a-Mata et al., 2003), hücre duvarı ligninleşmesi (Ferrer and RosBarcelo', 1999), yaşlı hücrelerdeki mitokondriyal ve kloroplastik işlevlerde (Leshem, 1996; Leshem and Haramaty, 1996; Hung and Kao, 2003), demir birikimi (Murgı'a et al., 2002) gibi süreçlerde rol oynamaktadır. Nitrik oksit, H₂O₂ gibi sinyal moleküllerinin biyolojik etkilerine aracılık edebilmektedir.

Bu çalışmada tuz stresi altında yetişen mısır bitkisine uygulanan farklı dozlardaki nitrik oksidin bitki gelişimi, mineral beslenmesi ve bazı fizyolojik özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Deneme toprağı S.D.Ü. Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi arazisinden 0-20 cm derinlikten alınarak deneme kurmaya ve analize hazır hale getirilmiştir. Denemede kullanılan toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri şu şekildedir: Toplam N, 0.47 g kg⁻¹, bitkiye elverişli P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu ve Zn sırasıyla 7.5 mg

kg⁻¹, 422 mg kg⁻¹, 4366 mg kg⁻¹, 502 mg kg⁻¹, 2.56 mg kg⁻¹, 5.4 mg kg⁻¹, 1.0 mg kg⁻¹ ve 0.23 mg kg⁻¹, değişebilir Na ve Cl 19 mg kg⁻¹ ve 0.65 g kg⁻¹, pH, 7.93, EC, 0.40 dS m⁻¹, organik madde, 16.2 g kg⁻¹, kireç % 7.9, kum, kil, silt sırasıyla; % 28.71, % 30.09 ve % 41.20.

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak, 2 kg toprak alan saksılarda ve 25 °C sıcaklık ve 3000 lux ışık altında 16 saat aydınlık koşullarda iklimlendirme kabininde kurulmuştur. Saksılara tohum ekiminden önce temel gübreleme olarak 100 mg N kg⁻¹ NH₄NO₃ tan, 100 mg P kg⁻¹ ve 125 mg K kg⁻¹ KH₂PO₄ tan verilmiştir.

Denemede mısır bitkisi tohumdan her saksıya 4'er adet ekilmiştir. Tuz stresi oluşturmak amacıyla kontrol grubu hariç tüm saksılara 40 mM seviyesinde NaCl uygulanmıştır. Denemede, NO vericisi olarak 0.5 mM ve 1 mM dozlarında sodyum nitroprussid (SNP) ve NO yakalayıcısı olarak 0.5 mM ve 1 mM dozlarında metilen mavisi (MM) tohum ekiminden hemen sonra çözelti şeklinde sulama suyu ile birlikte uygulanmıştır.

Bitkiler 2 aylık gelişim dönemini takiben taze bitki örneklerinde yapılan analizler tamamlandıktan sonra hasat edilerek yaş ağırlıkları belirlenmiştir. Daha sonra 65 °C'de 48 saat kurutulmuş olan yaprakların kuru ağırlıkları tespit edilmiş ve mineral analizler için öğütülmüştür. Bitkilerin toplam N kapsamı Kjeldahl yöntemiyle, bitkide toplam P, vanadomolibdofosfoik sarı renk yöntemine göre; toplam K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn ve Zn Kacar ve İnal (2008) tarafından bildirildiği şekilde atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle, Cl kurutulmuş bitki örneklerinde AgNO₃ ile titre edilerek belirlenmiştir (Kacar ve İnal, 2008).

Taze yaprak örneklerinde nisbi nem içeriği (NNI) Dhanda and Sethi (1998)' ye, membran geçirgenliği Premchandra et al., (1990) ve Sairam (1994)'a, lipid peroksidasyonu (MDA) Sairam and Saxena (2000)'a, prolin içeriği Bates et al. (1973) tarafından bildirildiği şekilde belirlenmiştir. Stoma direnci bitkiler hasat edilmeden önce Steady State Porometre ile temsil edecek

sayıda bitki yapraklarında doğrudan ölçüm yapılarak belirlenmiştir. Klorofil içeriği gelişmenin belirli dönemlerinde doğrudan klorofil (SPAD) değerleri günün aynı saatinde yapılan ölçüm ile belirlenmiştir. Yaprak su tutma kapasitesi (YSTK) Clarke and McCaig (1982) ve Golestani and Asad (1998)' a göre, total antioksidan aktivitesi Prieto et al., (1999)' a göre belirlenmiştir.

Uygulama sonuçlarının önemliliği varyans analizi ile Minitab paket programı kullanılarak, uygulamalar arasındaki farklılıklar ise Mstat paket programı kullanılarak Duncan Çoklu Karşılaştırma Test'i ile belirlenmiştir.

Bulgular

Nitrik oksit (SNP) uygulamasının tuz stresi altında yetiştirilen mısır bitkisinin gelişimi, Na ve Cl içeriği ve bazı fizyolojik özellikleri üzerine etkisi

Mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlıkları SNP uygulaması ve NaCl'den kaynaklanan tuz stresinin etkisiyle istatistiksel olarak önemli oranda azalmıştır (Çizelge 1). Tuz uygulaması bitki yaş ve kuru ağırlığını kontrol grubuna göre önemli oranda azaltmıştır, bu azalış artan oranda SNP uygulanması ile daha fazla olmuştur. Mısır bitkisinde yaş ve kuru ağırlıktaki azalışlar kontrol grubuna göre en fazla NaCl +1 mM SNP +1 mM MM uygulamasında olmuş ve sırasıyla 3. 6 ve 0. 4 g saksı⁻¹ olarak belirlenmiştir. Uygulanan NO (SNP) düzeyinin 0.5 mM'dan 1 mM'a çıkarılması bitkinin yaş ve kuru ağırlığını sırasıyla 8. 2 ve 0. 8 g saksı⁻¹ 'a azaltmıştır.

Mısır bitkisinin Na ve Cl içeriği NaCl ile birlikte yüksek düzeyde SNP ve MM uygulanan konularda kontrole göre önemli oranda artmıştır. Bitkilerde en yüksek Na içeriği 1 mM NO (SNP) ve 1 mM NO (SNP) + 1 mM MM uygulamalarında % 1.43 ve % 1.52 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1).

Bitkinin Cl içeriği NaCl uygulanan tüm konularda kontrole göre önemli oranda artmıştır. Kontrol grubunda % 0.66 olan Cl içeriği, NaCl + 1 mM SNP + 1 mM MM uygulamasında % 3.47' ye çıkmıştır. Diğer uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Tuz stresi ve NO (SNP) uygulamasının mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlığı ve Na Cl içeriğine etkisi

Table 1. Effects of salt stress and NO (SNP) application on fresh and dry matter and Na, Cl concentrations of maize

Uygulama Treatment	Yaş ağırlık (g) Fresh matter (g)	Kuru ağırlık (g) Dry matter (g)	Na (%) Na (%)	Cl (%) Cl (%)
Kontrol Control	22.6 a	2.6 a	0.37 b	0.66 c
NaCl (40 mM)	12.9 b	1.3 b	1.05 ab	2.44 b
NaCl+0.5 mM SNP	10.3 bc	0.9 bc	1.04 ab	2.90 b
NaCl+0.5 mM SNP+ 0.5 Mm MM	9.4 bc	0.9 bc	0.94 ab	2.80 b
NaCl+1 mM SNP	8.2 c	0.8 bc	1.43 a	2.87 b
NaCl+1 mM SNP+1 mM MM	3.6 d	0.4 c	1.52 a	3.47 a
F test	52.78**	27.03**	4.64**	56.45**

** : p<0.01, aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemli.

Hem tuz uygulamasının hem de NO (SNP) ve NO (SNP) + MM uygulamalarının mısır bitkisinin membran geçirgenliği, yaprak su tutma kapasitesi, nisbi nem içeriği ve total antioksidan aktivitesine etkisi istatistiki olarak önemli düzeyde olmamıştır (Çizelge 2). Tuz uygulaması mısır bitkisinin membran geçirgenliğini kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artırmış, YSTK' ni ise

azaltmıştır. Nisbi nem içeriği en yüksek NaCl + 0.5 mM SNP +0.5 mM MM uygulaması yapılan saksılarda % 78.30 olarak belirlenmiştir. Total antioksidan aktivitesi en düşük yalnızca NaCl uygulaması yapılan saksılarda 5.97 mmol kg⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2. Tuz stresi ve NO (SNP) uygulamasının mısır bitkisinin membran geçirgenliği (MG), yaprak su tutma kapasitesi (YSTK), nisbi nem içeriği (NNİ) ve total antioksidan aktivitesi (TAA) üzerine etkisi

Table 2. Effects of salt stress and NO (SNP) application on membrane permeability (MP), excised leaf water loss (RWL), relative water content (RWC) and total antioxidant activity (TAA) of maize

Uygulama Treatment	MG (% , EC) MP (% , EC)	YSTK (%) RWL (%)	NNİ (%) RWC (%)	TAA (mmol kg ⁻¹) TAA (mmol kg ⁻¹)
Kontrol Control	19.7	0.31	49.29	6.33
NaCl (40 mM)	22.6	0.23	67.96	5.97
NaCl+0.5mM SNP	22.7	0.18	71.73	6.73
NaCl+0.5mM SNP+0.5 Mm MM	19.35	0.16	78.30	6.91
NaCl+1 mM SNP	19.30	0.19	66.60	6.28
NaCl+1 mM SNP+1 mM MM	21.5	0.15	58.9	6.11
F test	2.42 ^{öd}	2.50 ^{öd}	2.44 ^{öd}	0.16 ^{öd}

öd: önemli değildir.

Tuz ve NO (SNP) uygulamaları kontrol ile karşılaştırıldığında bitkinin prolin, lipid peroksidasyonu ve stoma direncini istatistiki olarak önemli etkilemezken klorofil içeriğini önemli derecede etkilemiştir (Çizelge 3). Mısır bitkisinin prolin içeriği kontrol grubuna göre diğer tüm uygulamalarda artmıştır. Mısır bitkisinin MDA içeriği kontrol grubuna göre diğer tüm uygulamalarda bir miktar artmıştır, bu artış

en fazla sadece tuz uygulamasında olmuş ve 0.29 nmol kg⁻¹ olarak belirlenmiştir. Mısır bitkisinin stoma direnci kontrol grubuna göre diğer tüm uygulamalarda artmış ve en yüksek değere 24.10 s cm⁻¹ olarak NaCl + 1 mM SNP + 1 mM MM uygulamasında ulaşmıştır. Mısır bitkisinin nisbi klorofil miktarı NaCl' den kaynaklanan tuz stresine karşı artan dozlarda NO (SNP) uygulamasıyla (NaCl+ 1 mM SNP+ 1 mM

MM uygulaması hariç) istatistiksel olarak önemli olarak artmıştır.

Çizelge 3. Tuz stresi ve NO (SNP) uygulamasının mısır bitkisinin prolin içeriği, lipid peroksidasyonu (MDA), stoma direnci ve klorofil içeriği üzerine etkisi

Table 3. Effects of salt stress and NO (SNP) application on proline concentrations, MDA (lipid peroxidation), stomatal resistance and chlorophyll (SPAD readings) of maize

Uygulama Treatment	Prolin (nmol kg ⁻¹) Proline (nmol kg ⁻¹)	MDA (nmol kg ⁻¹) MDA (nmol kg ⁻¹)	Stoma direnci (s cm ⁻¹) Stomatal resistance (s cm ⁻¹)	Klorofil (SPAD) Chlorophyll (SPAD)
Kontrol Control	0.16	0.20	18.58	33.65 bc
NaCl (40 mM)	0.32	0.29	21.35	35.50 bc
NaCl+0.5 mM SNP	0.42	0.24	20.92	40.70 ab
NaCl+0.5 mM SNP+0.5mM MM	1.04	0.27	22.31	44.67 a
NaCl+1 mM SNP	1.90	0.24	22.28	40.10 ab
NaCl+1 mM SNP+1 mM MM	0.55	0.27	24.10	28.28 c
F test	1.16 ^{öd}	1.33 ^{öd}	0.69 ^{öd}	8.28**

** : p<0.01, aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemli. öd: önemli değil.

Nitrik oksit (SNP) uygulamasının tuz stresi altında yetiştirilen mısır bitkisinin bitki besin maddesi içerikleri üzerine etkisi

Tuz stresi altında yetiştirilen mısır bitkisine uygulanan NO (SNP)' in bitkinin N, P, K, Mg ve Ca içerikleri üzerine etkisi Çizelge 4'de verilmiştir. Tuz stresi ve NO uygulamaları bitkinin N, P ve Mg içeriklerini önemli oranda etkilerken, K ve Ca içeriklerindeki değişim istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Mısır bitkisinin N içeriği NaCl ile birlikte artan dozlarda uygulanan NO (SNP)' in etkisiyle kontrole göre istatistiksel olarak önemli oranda artmıştır.

Bitkilerin P içerikleri NaCl uygulaması ve 0.5 mM NO (SNP) + 0.5 mM MM

uygulamasında sırasıyla % 0.20 ve % 0.18 olarak diğer uygulamalardan fazla bulunmuştur. Bitkilerin K içerikleri % 4.13 ile % 4.91 arasında değişim göstermiş, yapılan uygulamalar istatistiksel olarak önemli etki yapmamıştır (Çizelge 4).

Mısır bitkisinin Mg içeriğini, NaCl +1mM SNP uygulamasının diğer uygulamalara göre önemli oranda artırdığı (% 1.44) görülmüştür. Tuz ve NO (SNP) uygulamalarının bitkinin Ca içeriğine etkisi incelendiğinde ise uygulamalar arasında önemli bir farkın gözlenmediği görülmüştür. Bitkilerin Ca içerikleri %0.86 ile % 1.92 arasında değişmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Tuz stresi ve NO (SNP) uygulamasının mısır bitkisinin N, P, K Mg ve Ca içerikleri üzerine etkisi

Table 4. Effects of salt stress and NO (SNP) application on N, P, K, Mg and Ca concentrations of maize

Uygulama Treatment	N (%) N (%)	P (%) P (%)	K (%) K (%)	Mg (%) Mg (%)	Ca (%) Ca (%)
Kontrol Control	2.14 b	0.17 ab	4.13	0.23 b	0.86
NaCl (40 mM)	2.49 ab	0.20 a	4.31	0.70 b	1.26
NaCl + 0.5 mM SNP	2.88 a	0.16 ab	4.84	0.39 b	1.41
NaCl+0.5mM SNP+0.5 mM MM	2.63 a	0.18 a	4.91	0.67 b	1.68
NaCl +1mM SNP	2.64 a	0.12 b	4.75	1.44 a	1.87
NaCl+1mMSNP+1mM MM	2.65 a	0.15 ab	4.79	0.78 b	1.92
F test	5.80**	2.94*	1.50 ^{öd}	9.91**	2.48 ^{öd}

*: p<0.05, **: p<0.01, aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemli. öd: önemli değil

Mısır bitkisinin Fe içeriği hem NO hem de NaCl' den kaynaklanan tuz stresinin etkisiyle kontrole göre artmıştır, ancak bu artışlar NO uygulamasının 1.0 mM dozunda istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Çizelge 5. Tuz stresi ve NO (SNP) uygulamasının mısır bitkisinin Fe, Cu, Zn ve Mn içerikleri üzerine etkisi

Table 5. Effects of salt stress and NO (SNP) application on Fe, Cu, Zn and Mn concentrations of maize

Uygulama <i>Treatment</i>	Fe (mg kg ⁻¹) <i>Fe (mg kg⁻¹)</i>	Cu (mg kg ⁻¹) <i>Cu (mg kg⁻¹)</i>	Zn (mg kg ⁻¹) <i>Zn (mg kg⁻¹)</i>	Mn (mg kg ⁻¹) <i>Mn (mg kg⁻¹)</i>
Kontrol <i>Control</i>	99.7 b	10.25 a	19.7 c	101.0 c
NaCl (40 mM)	106.6 b	11.10 a	28.5 ab	132.1 c
NaCl + 0.5 mM SNP	139.6 ab	7.0 b	29.1 a	147.6 bc
NaCl + 0.5 mM SNP + 0.5 mM MB	151.4 ab	6.30 b	28.3 ab	183.0 ab
NaCl + 1 mM SNP	206.8 a	5.65 b	21.9 bc	196.5 a
NaCl + 1 mM SNP + 1 mM MB	218.7 a	5.87 b	18.5 c	183.4 ab
F test	6.52**	36.82**	3.32*	10.86**

** : p<0.01, aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemli.

Nitrik oksit uygulamalarının tüm konularında bitkinin Cu içeriği kontrol ve NaCl uygulamasına göre istatistik olarak önemli düzeyde azalmıştır. Kontrol ve NaCl uygulamasında Cu içeriği sırasıyla 10.25 ve 11.10 mg kg⁻¹ olurken, 1 mM NO ve MM uygulamasında 5.87 mg kg⁻¹ a düşmüştür (Çizelge 5).

Bitkinin Zn içeriği 1 mM NO (SNP) + MM uygulaması hariç diğer uygulamalarda kontrole göre önemli düzeyde artmıştır. En yüksek Zn içeriği 0.5 mM NO uygulamasında 29.16 mg kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 5).

Mısır bitkisinin Mn içeriği tüm NO (SNP) uygulama konularında önemli oranda artmıştır. Mangan içeriği kontrol grubunda 101.05 mg kg⁻¹ olurken NO uygulamalarıyla artarak 1 mM NO uygulamasında 196.5 mg kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 5).

Tartışma ve Sonuç

Mısır bitkisinde tuz stresine karşı toleransın artırılmasında NO uygulamasının ve dozlarının etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, bitkilerin tuzluluğa ve NO ve SNP uygulamasına bağlı olarak kontrole göre yaş ve kuru ağırlıkları önemli düzeyde azalmıştır. Tuz stresine maruz kalan bitkilerde; bitki yaş ve kuru ağırlığı, yaprak yüzey alanı, yaprak sayısı, klorofil ve verimde azalmanın olduğunu bildiren birçok

Kontrol grubunda 99.7 mg kg⁻¹ olan Fe içeriği, NO' in 1.0 mM SNP ve MM'nin 1 mM olduğu uygulamalarda sırasıyla 206.8 ve 218.7 mg kg⁻¹ olarak belirlenmiştir (Çizelge 5).

araştırma bulunmaktadır (Meloni et al. 2004; Alpaslan ve Güneş, 2001; Eraslan et al. 2007). Turner and Begg (1981), biyokütlerdeki azalmaların fotosentezin azalması nedeniyle ya da yaprak büyüme oranının azalmasıyla veya her ikisinin karşılıklı etkisi sonucunda meydana gelebileceğini bildirmiştir.

Mısır bitkisinin membran geçirgenliğindeki artış kontrol grubuna göre en fazla NaCl uygulamasında % 14.95 oranında olmuştur. Güneş et al. (2007), mısır bitkisinde tuz stresi koşulunda yaprakların membran permeabilitesinin arttığını bildirmişlerdir. Chiyu et al. (2005), Cu toksitesine maruz kalan çeltik yapraklarında NO vericisi olarak SNP' nin etkisini araştırdıkları çalışmada, NO' in Cu toksitesinden olumsuz etkilenen bitkiye karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Tuz stresine maruz kalan mısır bitkisine uygulanan SNP ve MM dozlarına bağlı olarak yaprak su tutma kapasitesinde önemli bir değişim olmamıştır. Meloni et al. (2004) ve Yildirim et al. (2008) tarafından yapılan çalışmalarda da NaCl uygulamasının yaprak su tutma kapasitesini azalttığı belirtilmiştir.

Yapılan uygulamaların mısır bitkisinin prolin içeriğinde önemli bir değişim ortaya koymadığı belirlenmiştir. Farklı stres koşulları altında bitkilerin prolin biriktirdiği bilinmektedir. Bitkilerde kuraklık ve tuz

stresine tepki olarak prolin birikimi; prolinin esasen sitoplazmik ozmotik düzenlemeye katkıda bulunduğu sitozolde gerçekleşmektedir (Ketchum et al. 1991). Mansour (1998), yaptığı çalışmada prolinin ozmotik stres koşullarına maruz kalan bitkiler üzerinde ozmotik uyum sağlayarak, plazma membranının bütünlüğünü koruduğunu belirlemiştir. Tuz stresine maruz kalan yonca bitkisi üzerinde yapılan diğer çalışmalarda, tuza dayanıklı olan bitki köklerinde bulunan prolin miktarının tuza hassas olana göre hızlı bir şekilde iki kat arttığı belirlenmiştir (Petruşca and Winicov 1998; Fougère et al. 1991).

Bu çalışmada tuz stresine maruz kalan mısır bitkisinde lipid peroksidasyonu genel olarak artmış fakat önemli bir değişim göstermemiştir. Stepien ve Klobus (2005), tuzlu koşullarda yetiştirilen mısır ve buğday çeşitlerinin tuz stresine bağlı olarak lipid peroksidasyonunu artırdığını belirtmişlerdir. Kuşvuran et al. (2008), tuz stresi altında yetiştirilen tuza toleranslı ve duyarlı *Cucumis sp.*'nin bazı genotiplerinde hücre zarı hasarı göstergesi olan lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarının tuza hassas genotiplerde artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kontrol grubuna göre nisbi klorofil miktarının NaCl + SNP + MM (1 mM) uygulanan saksılarda % 15.9 oranında azalırken, NaCl + SNP + MM (0.5 mM) ile muamele edilen bitkilerde % 32.74 oranında arttığı belirlenmiştir. Çiçek ve Çakırlar (2002) mısırdaki, Gadallah (1999) ise bakla bitkisinde tuz stresi altında yaprakların klorofil içeriğinde azalmalar görüldüğünü bildirmişlerdir.

Mısır bitkisinde tuz, SNP ve MM uygulamaları stoma direncini genel olarak artırmıştır. Tuz stresinin yanı sıra kuraklığın da stoma direncinin ve transpirasyon oranının düşmesine neden olduğu bilinmektedir (Llorens et al. 2003; Sardans et al. 2008).

Araştırmada, mısır bitkisinde kontrole göre tuz, SNP ve SNP+MM dozlarına bağlı olarak N, K, Ca, Mg, Na, Cl, Fe, Mn ve Zn konsantrasyonlarında artış meydana gelmiştir. Bununla birlikte tuzlu koşullarda bitkilerin P ve Cu konsantrasyonları ise değişmemiştir. Bitkilere NaCl uygulaması

ile Na ve Cl içeriğinin arttığı çeşitli bitkilerde birçok araştırmacı tarafından da rapor edilmiştir (Alpaslan and Güneş, 2001; Eraslan et al. 2007; Al-Hakimi ve Hamada, 2001).

Tuz uygulaması N içeriğini değiştirmezken artan dozlarda uygulanan SNP ve MM bitkilerin N içeriğini kontrole göre önemli oranda artırmıştır. Tuz (NaCl) stresinin bitkilerin N içeriğini azalttığı Güneş et al. (2007) ve İnal et al. (1997) tarafından bildirilmiştir.

Bitki P içeriğinde SNP ve MM uygulamasıyla birlikte azalış meydana geldiği tespit edilmiştir. Tuzluluğun bitkilerin fosfor içerikleri üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar alınmıştır. Bir grup araştırmacı tuz uygulamasının bitkilerin P içeriğini artırdığını (Güneş et al. 2007; Taban ve ark., 1999; Cooper and Dumbroff, 1973) diğer bir grup araştırmacı ise azalttığını (Strogonov, 1964; Ravikovitch and Porath, 1967) belirtmişlerdir.

Yaptığımız araştırmada mısır bitkisine NO vericisi olarak sodyum nitroprussid (SNP) ve NO yakalayıcısı olarak metilen mavisi (MM) 0.5 mM ve 1 mM dozlarında bazı fizyolojik özellikler ve bitkinin beslenme performansına etkisini belirlemek amacıyla uygulanmıştır. Artan dozlarda uygulanan nitrik oksit, tuz stresine maruz kalan mısır bitkisi üzerinde tuz stresine karşı toleransın artırılmasında etkili olmamıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda 0.5 ve 1 mM dozlarında uygulanan nitrik oksit düzeyinin daha az dozlarda uygulanmasının bitkinin strese karşı toleransını arttırmada daha etkili olabileceği düşünülmektedir. Nitrik oksitin tuz stresine bağlı olarak oluşan fizyolojik parametrelerdeki değişimlerin belirlenmesi ve tuz stresine tolerans ve beslenme yönünden bitkiler üzerindeki etkisinin daha düşük dozlarda incelenmesi önerilmektedir.

Kaynaklar

- Al-Hakimi, A., Hamada A.M. 2001. Counteraction of Salinity Stress on Wheat Plants by Grain Soaking in Ascorbic Acid, Thiamin or Sodium

- Salicylate. *Journal of Plant Biology*, 44, 253–261.
- Almodares, A., Hadi, M.R., Akhavan Kharazian, Z. 2009. Sweet sorghum: salt tolerance and high biomass sugar crop. *Biomass Detection, Production and Usage*, Dr. Darko Matovic, 978-953-307-492-4.
- Alpaslan M. and Gunes A. 2001. Interactive Effects of Boron and Salinity Stress on the Growth, Membrane Permeability and Mineral Composition of Tomato and Cucumber Plants. *Plant Soil*, 236,123–8.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. *Plant Soil*, 39, 205-208.
- Beligni, M.V., Lamattina, L. 2001. Nitric oxide in plants: the history is just beginning. *Plant Cell. Environ*, 24, 267–278.
- Bolwell, G.P. 1999. Role of reactive oxygen species and NO in plant defence responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 2, 287–294.
- Carlos, G.M., Lorenzo, L. 2001. Nitric Oxide Induces Stomatal Closure and Enhances the Adaptive Plant Responses against Drought Stress. *Plant Physiology*, 104, 1015-1025.
- Chiyu, C.,Tung, H.K., Kao, C.H. 2005. Nitric Oxide Reduces Cu Toxicity and Cu-Induced NH₄⁺ Accumulation in Rice Leaves. *Journal of Plant Physiology*, 162 1319-1330.
- Clarke, J.M., McCaig, T.N. 1982. Excised Leaf Water Retention Capacity as an Indicator of Drought Resistance of *Triticum* genotypes. *Journal of Plant Science*, 62, 571 578.
- Cooney, R.V., Harwood, P.J., Custer, L.J., Franke, A.A. 1994. Light Mediated Conversion of Nitrogen Dioxide to Nitric Oxide by Carotenoids. *Environ Health Perspect*, 102(5), 460–462.
- Cooper, A.W., Dumbroff, E.B. 1973. Plant Adjustment to Osmotic Stres in Blanced Mineral Nutrient Media. *Canadian Journal of Botany*, 51, 763-773.
- Çiçek, N., Çakırlar, H. 2002. The Effect of Salinity on Some Physiological Parameters in two Maize Cult. *Bulgarian Journal Plant Physiology*, 28(1–2),66–74.
- Dhanda, S.S., Sethi, G.S. 1998. Inheritance of Excised Leaf Water Loss and Relative Water Content in Bread Wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica*, 104, 39-47.
- Eraslan, F., İnal, A., Savaştürk, O., Güneş, A. 2007. Changes in Antioxidative System and Membrane Damage of Lettuce in Response to Salinity and Boron Toxicity. *Scientia Horticulturae*, 114, 1, 5–10.
- Ferrer, M.A., Ros-Barcelo', A. 1999. Differential Effects of Nitric Oxide on Peroxidase and H₂O₂ Production by The Xylem of *Zinnia Elegans*. *Plant Cell Environ Journal*, 22, 891-897.
- Fougère, F., Le Rudulier, D., Streeter, J. G. 1991. Effects of Salt Stress on Amino Acid, Organic Acid, and Carbohydrate Composition of Roots, Bacteroids, and Cytosol of Alfalfa (*Medicago Sativa L.*). *Plant Physiology*, 96(4), 1228–1236.
- Gadallah, M.A.A. 1999. Effect of Proline and Glycinebetaine on *Vicia Faba* Responses to Salt Stress. *Biologia Plantarum Journal*, 42, 2, 249-257.
- Garcia-Mata, C., Gay, R., Sokolovski, S., Hills, A., Lamattina, L., Blatt, M.R. 2003. Nitric Oxide Regulates K⁺ and Cl Channels in Guard Cells through a Subset of AbscisicAcid-Evoked Signaling Pathways. *Proceedings National Academy of Sciences*, 100, 11116–111121.
- Golestani, A.S., Assad, M.T. 1998. Evaulation of Four Screening Teshniques for Drought Resistance and Their Relationship to Yield Reduction Ratio in Wheat. *Euphytica*, 103, 293-299.
- Güneş, A., İnal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bağcı, E.G., Cicek, N. 2007. Salicylic Acid Induced Changes on Some Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative Stress and Mineral Nutrition in Maize (*Zea mays*

- L.) Grown under Salinity. Journal of Plant Physiology, 164, 728-736.
- Hung, K.T., Kao, C.H. 2003. Nitric Oxide Counteracts the Senescence of Rice Leaves Induced by Abscisic Acid. Journal of Plant Physiology, 160 (8), 871-879.
- İnal, A., Güneş, A., Alpaslan, M. 1997. Peat-Perlit Ortamında Besin Çözültüsü ile Yetiştirilen Domates (*Lycopersicon esculentum* L.) in Gelişmesi, Klorofil, Proline ve Mineral Madde İçeriğine Değişik NaCl Düzeylerinin Etkisi. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 21, 95-99.
- Kacar, B. ve İnal, A. 2008. Bitki Analizleri. Nobel Yayınları, 891s, Ankara.
- Kalaji, M.H., Pietkiewicz, S. 1993. Salinity effects on plant growth and other physiological processes. Acta Physiologiae Plantarum, 143, 89-124.
- Ketchum, R.E.B., Warren, R.C., Klima, L.J., Lopez-Gutierrez, F., Nabors, M.W. 1991. The Mechanism and Regulation of Proline Accumulation in Suspension Cultures of the Halophytic Grass *Distichlis spicata* L. Journal of Plant Physiology, 137, 368-374.
- Klepper, L.A. 1979. Nitric Oxide (NO) and Nitrogen Dioxide (NO₂) Emissions from Herbicide-Treated Soybean Plants. Atmospheric Environment, 13, 537-542.
- Koshland, D.E. 1992. The Molecule of the Year. Science, 1861p, California.
- Kuşvuran, Ş., Yaşar, F., Abak, K., Ellialtıoğlu, Ş. 2008. Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Tuza Tolerant ve Duyarlı *Cucumis* sp.'nin Bazı Genotiplerinde Lipid Peroksidasyonu, Klorofil ve İyon Miktarlarında Meydana Gelen Değişimler. Tarım Bilimleri Dergisi, 18(1), 11-18.
- Kuşvuran, Ş. 2011. Bamyada (*Abelmoschus esculentus* L.) da tuz stresine tolerans bakımından genotipsel farklılıklar ve tarama parametrelerinin araştırılması. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi, 28 (2), 55-70.
- Lamattina, L., Garcı'a-Mata, C., Graziano, M., Pagnussat, G. 2003. Nitric Oxide: The Versatility of an Extensive Signal Molecule. Annual Review of Plant Biology, 54, 109-136.
- Leshem, Y.Y. 1996. Nitric Oxide in Biological Systems. Plant Growth Regulation, 18, 155-159.
- Leshem, Y.Y., Haramaty, E. 1996. The Characterization and Contrasting Effects of the Nitric Oxide free Radical in Vegetative Stress and Senescence of *Pisum sativum* Linn. Foliage. Journal of Plant Physiology, 148, 258-263.
- Llorens, L., Peñuelas, J., Estiarte, M. 2003. Ecophysiological Responses of two Mediterranean Shrubs, *Erica multiflora* and *Globularia alypum*, to Experimentally Drier and Warmer Conditions. Journal of Plant Physiology, 119, 231-243.
- Luis A del Río, F., Corpas, J., Barroso, J. 2004. Nitric Oxide and Nitric Oxide Synthase Activity in Plants. Phytochemistry, 65(7), 783-92.
- Mahajan, S., Tuteja, N. 2005. Cold, Salinity and Drought Stresses: an Overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, 444(2), 139-158.
- Mansour, M. M. F. 1998. Protection of Plasma Membrane of Onion Epidermal Cells by Glycinebetaine and Proline against NaCl Stress. Plant Physiology and Biochemistry, 36(10), 767-772.
- Meloni, D.A., Gulotta, M. R., Martínez, C.A., Marco Antonio Oliva, M. A. 2004. The Effects of Salt Stress on Growth, Nitrate Reduction and Proline and Glycinebetaine Accumulation in *Prosopis alba*. Braz. Journal of Plant Physiology, 16(1), 39-46.
- Murgi'a, I., Delledonne, M., Soave, C. 2002. Nitric Oxide Mediates Iron-Induced Ferritin Accumulation in Arabidopsis. Plant Journal, 30, 521-528.
- Neill, S.J., Desikan, R., Hancock, J.T. 2003. Nitric Oxide Signalling in Plants. New Phytologist, 159, 11-35.
- Petrusa, L.M., Winicov, I. 1998. Proline Status in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Alfalfa Cell Lines and Plants in Response to NaCl. Plant

- Physiology and Biochemistry, 35(4), 303–310.
- Premchandra, G.S., Saneoka, A., Ogato, S. 1990. Cell Membrane Stability, an Indicator of Drought Tolerance, as Affected by Applied Nitrogen in Soybean. *Journal of Agriculture Science*, 115, 63-66.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity Through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
- Ravikovitch, S., Porath, A. 1967. The Effect of Nutrients on The Salt Tolerance of Crops. *Plant and Soil*, 26, 49-71.
- Sairam, R.K. 1994. Effect of Moisture Stress on Physiological Activities of Two Contrasting Wheat Genotypes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 32, 594-597.
- Sairam, R.K., Saxena, D.C. 2000. Oxidative Stress and Antioxidants in Wheat Genotypes: Possible Mechanism of Water Stress Tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184, 55-61.
- Sardans, J., Peñuelas, J., Prieto, P., Estiarte, M. 2008. Drought and Warming Induced Changes in P and K Concentration and Accumulation in Plant Biomass and Soil in a Mediterranean Shrubland. *Plant Soil*, 306, 261-271.
- Stepien, P., Klobus, G. 2005. Antioxidant Defense in the Leaves of C3 and C4 Plants under Salinity Stress. *Physiologia Plantarum*, 125, 31-40.
- Strogonov, B.P. 1964. Physiological Basis of Salt Tolerance of Plants as Affected by Various Types of Salinity. Israel Program for Scientific Translations, 279p, California.
- Taban, S., Ozguven, N., Celik, H., Katkat, V. 1999. Effect of Potassium on Macroelements Distribution in Maize Plant Grown under Salt Stress. *Dahlia Greidinger International Symposium Nutrient Management Under Salinity and Water Stress*, 14-17 September, Hafia-Israel, 87-92.
- Turner, N.C., Begg, J.E. 1981. Plant-Water Relations and Adaptation to Stress. *Plant and Soil*, 58, 97-131.
- Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D.F., Durner, J. 2001. Nitric Oxide: Comparative Synthesis and Signalling in Animal and Plant Cells. *Trends Plant Science*, 6, 177–183.
- Wojtaszek, P. 2000. Nitric Oxide in Plants: To NO or not to NO. *Phytochemistry*, 54, 1–4.
- Yildirim, E., Turan, M., Guvenc. 2008. Effect of Foliar Salicylic Acid Applications on Growth, Chlorophyll, and Mineral Content of Cucumber Grown Under Salt Stress. *Journal of Plant Nutrition*, 31(3), 593-612.