

Kadmiyum Toksikitesi Altındaki Bolal Buğday Çeşidinde Salisilik Asidin Apoplastik Antioksidatif Sistem Üzerine Etkileri

Deniz Tiryaki^{1*}, Ökkeş Atıcı¹, Sinem Karakuş²

¹Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzurum

²Hakkâri Üniversitesi, Çölemerik MYO, Hakkâri

²Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzincan
e-mail: deniztiryaki25@hotmail.com

DOI: 10.57244/dfbd.1298625

Geliş tarihi/Received:17/05/2023

Kabul tarihi/Accepted:29/08/2023

Özet

Bu çalışmada Salisilik asit (SA) uygulamasının, kadmiyum (Cd) stresine maruz bırakılmış Bolal çeşidi buğdayın (*Triticum aestivum* L.) yapraklarındaki apoplastik antioksidan enzim (katalaz, peroksidaz ve süperoksit dismutaz) aktiviteleri ile lipid peroksidasyonu ve hidrojen peroksit miktarı üzerine etkileri araştırılmıştır. Bitkiler 22-20 °C'de toplam 18 gün büyütülmüşlerdir. Bitki yapraklarına 12. gün farklı konsantrasyonlarda (0.01, 0.1, 1 mM) SA uygulanmış ve bundan 3 gün sonra, bitkilerin yetiştiği ortama farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 µM) Cd uygulanmıştır. Araştırmamızda 18.gün bitki yaprakları deney materyali olarak kullanılmışlardır. SA uygulamaları, 50 ve 100 µM Cd'de katalaz (CAT) aktivitesini artırırken POX aktivitesini düşürmüştür. 25 ve 50 µM Cd'e maruz kalmış buğday yapraklarında ise SOD aktivitesini genelde artırmıştır. Ancak, 100 µM Cd'de aktiviteyi düşürmüştür. SA uygulamaları, 25, 50 ve 100 µM Cd etkisi altındaki buğdayda lipid peroksidasyonunu (LPO) düşürürken 25 µM Cd'de SA'nın 3 konsantrasyonunda H₂O₂ miktarını artırmıştır. SA 50 µM Cd'de H₂O₂ miktarını artırmıştır, 100 µM Cd'de 0.01 ve 0.1 mM SA uygulamaları aktiviteyi artırırken, 1 mM ise düşürmüştür. Sonuç olarak bitkilere Cd stresine maruz kalmadan uygulanan SA'nın hem apoplastik antioksidatif enzimleri hem de LPO ve H₂O₂ miktarlarını düzenleyerek bir koruma sağlayabildiği görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apoplast, *Triticum aestivum*, kadmiyum, salisilik asit, antioksidan enzimler, hidrojen peroksit, lipid peroksidasyonu.

Effects of Salicylic Acid on the Apoplastic Antioxidative System in Bolal Wheat Varieties Under Cadmium Toxicity

Abstract

In this study, the effects of salicylic acid (SA) application on apoplastic antioxidant enzyme (catalase, peroxidase and superoxide dismutase) activities, lipid peroxidation and hydrogen peroxide amount in leaves of Bolal variety wheat (*Triticum aestivum* L.) exposed to cadmium (Cd) stress were investigated.. The plants were grown 22-20 °C for 18 days. The SA was applied on the plant leaves at 12th day in different concentrations (0.01, 0.1, 1mM) and after three days the different concentrations (25, 50, 100 µM) of Cd were applied to the plants growing media. In our research, plant leaves on the 18th day were used as experimental material. SA applications increased catalase (CAT) activity at 50 and 100 µM Cd and decreased POX activity. In wheat leaves exposed to 25 and 50 µM Cd, SOD generally increased its activity. However, it decreased activity at 100 µM Cd. SA applications reduced lipid peroxidation (LPO) in wheat under the influence of 25, 50, and 100 µM Cd, while increasing the amount of H₂O₂ in 3 concentrations of SA at 25 µM Cd. SA increased the amount of H₂O₂ at 50 µM Cd, 0.01 and 0.1 mM SA applications at 100 µM Cd increased the activity, 1 mM decreased. As a result, it is seen that SA applied to plants without being exposed to Cd stress can provide protection by regulating both apoplastic antioxidant enzymes and LPO and H₂O₂ amounts.

Keywords: Apoplast, *Triticum aestivum*, cadmium, salicylic acid, antioxidant enzyme, hydrogen peroxide, lipid peroxidation.

Giriş

Kentleşme ve sanayileşme sonucu çevreye önemli miktarda metaller ve toksik materyaller birikmektedir. Bu durum zamanla çevre kirliliğine, toprağın bozulmasına ve tarımsal üretimde elde edilen birçok üründe ekonomik kayba neden olmaktadır (Kapahi ve Sachdeva 2019; Mohy El-Din ve Abdel-Kareem 2020; El Dakak ve Hassan 2020). Nüfus ve kirlilik artışına bağlı olarak da tarım topraklarının verimliliği azalmaktadır. Çevre kirleticileri arasında yer alan ağır metaller, kalıcı yapıları, bitki, hayvan ve insan sağlığı üzerinde zararlı etkilere yol açabilecek toksik etkileri nedeniyle dikkat çekmektedir (Pereira ve ark. 2018; Amjadi ve ark.2021). Bu ağır metallerden biri olan kadmiyum (Cd) toksik olup bitki metabolizmasında çok önemli zararlara neden olmaktadır (Benavides ve ark. 2005; Gratao ve ark. 2005). Bitkilerde Cd çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri bozar, hücre ölümüne ve büyümenin engellenmesine neden olur (Popova ve ark. 2009; Xu ve ark. 2009). Cd oksidatif hasara da neden olur ve böylece antioksidan enzim aktivitelerini azaltır (Chaoui ve ark. 1997, Gallego ve ark. 1996).

Salisilik asit (SA), damarlı bitkilerde yaygın olarak bulunan fenolik bir bileşiktir. Bitki büyümesinin, gelişiminin düzenlenmesinde ve çevresel strese karşı bitki tepkisinde önemli bir rol oynar (Senaratana ve ark. 2000) Dışsal uygulanan SA antioksidan enzimlerin aktivitelerini düzenlediği ve abiyotik strese karşı bitkilerin toleransını artırdığı gösterilmiştir (He ve ark. 2002).

Çalışmamızda bitkiye önceden uygulanan SA'nın, bitki Cd stresine maruz kaldığında, apoplastik antioksidatif sistemi düzenleyerek bitki cevabının düzenlenmesinde bir rol alabileceği hipotezi ileri sürülmüştür. Bu amaç için Bolal buğday çeşidine SA uygulanmış ve uygulamadan belirli bir süre sonra bitkiler Cd stresine maruz bırakılmışlardır. Cd stresine maruz kalmış bitkilerin yapraklarındaki apoplastik antioksidan enzimlerin aktiviteleri belirlenmiştir. Bitki stresinin ve stresten korunmanın bir derecesini gösteren lipid peroksidasyonu ve H₂O₂ miktarı da ölçülmüştür.

Materyal ve Metot

Bitkilerin Büyütülmesi

Bu araştırmada, monokotil bir bitki olan buğdayın (*Triticum aestivum*) Bolal varyetesi kullanılmıştır. Bitkiye ait tohumlar, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden temin edilmiştir. Tohum sterilizasyonu için kuru tohumlar birkaç kez çeşme suyu ile yıkandıktan sonra %10'luk çamaşır suyunda 5 dk bekletilmiş ve en son saf su ile iyice yıkanarak durulanmıştır. Bitkiler kum kültüründe yetiştirilmiştir. Bunun için her bir saksıya eşit miktarda olacak şekilde kum konulmuş ve kum içeren saksılar önce suyla 5 kez, sonra 1N HCL ile ve en sonda saf su ile yıkanmıştır. Bu işlemle kum içindeki metal iyonlarının uzaklaştırılması sağlanmıştır. Her saksıya 25 g tohum ekilmiştir. Bitkiler bir iklim dolabında 22-20 °C ve 12/12 saat ışık-karanlık periyodunda (20.000 lüks, %70 nem) 18 gün süreyle büyütülmüştür. Her saksı, 10. güne kadar, günlük olarak eşit miktarda çeşme suyu ile sulanmıştır. Onuncu günde bitkiler Hoagland besin çözeltisi ile sulanmıştır.

Çimlenmeden sonra 12. günde bitki yapraklarına farklı konsantrasyonlarda salisilik asit (0.0, 10, 100, 1000 mM pH: 6.5) bir atomizer yardımıyla püskürtülmüştür. İşleme bütün yaprakların yıkandığından emin oluncaya kadar devam edilmiştir. 15.günde ise kadmiyum çözeltisi (25, 50, 100 µM) her saksıya 50 mL olacak şekilde uygulanmıştır.

Apoplastik Proteinlerin Ekstraksiyonu ve İzolasyonu

Apoplastik proteinlerin ekstraksiyonu için, buğday yaprakları bir bisturiyle yaklaşık 1 cm uzunlukta dikkatlice kesilerek oluşturulan kesitler (7 g), en az 6 kez bol saf su ile iyice yıkanmıştır. Bu işlemle dokuların kesilen bölgelerinden gelebilecek hücrel protein kontaminasyonu önlenmiştir (Hon ve ark. 1994; Atıcı ve Nalbantoğlu, 1999a,b). Hazırlanan 7 g yaprak kesiti, içerisinde 20 mM askorbik asit ve 20 mM CaCl₂ çözeltisi bulunan vakumlanabilir bir desikatöre yerleştirilmiş ve desikatör bir vakum pompası ile 20 dakika vakumlanmıştır. Vakumlanmış dokular 20 mL'lik enjektörlere dikkatlice yerleştirildikten sonra, enjektörler birer santrifüj tüpüne konulmuş ve 2000 x g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjlemenin bitiminde, tüplerin dip kısmında biriken apoplastik ekstrakt, apoplastik proteinlerin elde edilmesi için kullanılmıştır (Atıcı ve Nalbantoğlu 1999a,b; Taşgın ve ark. 2003; Tiryaki ve ark. 2019).

Apoplastik proteinlerin izolasyonu için, apoplastik ekstraktlara hacimlerinin 1.5 katı soğuk (-20 °C) aseton ilave edilmiş ve karışım -28 °C'de 1 gece bekletilmiştir. İkinci gün, örnekler 3500 x g'de 20 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra apoplastik protein peleti elde edilmiştir. Pelet, önce %96'lık sonra %70'lik etanol ile birer kez dikkatlice yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Tamamen kurumuş pelet apoplastik enzim aktivitelerinin belirleneceği zamana kadar -28 °C'de saklanmıştır (Hon ve ark. 1994; Atıcı and Nalbantoğlu 1999a,b; Taşgın ve ark.2003).

Enzim aktivitesi ölçümü yapılacağı zaman, apoplastik protein peletleri, 1 mL 0.2 M (pH: 7.5) sodyum fosfat tamponu içinde iyice çözülmüş ve apoplastik antioksidan enzim aktiviteleri ölçümü için hazır hale getirilmiştir. Ölçüm esnasında enzim çözeltileri buz içinde tutulmuşlardır.

Yapraklarda Apoplastik Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi, nitro blue tetrazolium (NBT)'un süperoksit radikalleri ile mavi renkli formazona fotokimyasal indirgenmesi reaksiyonunun SOD enzimi tarafından engellenmesinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Reaksiyon karışımı (3 mL); 50 mM KH₂PO₄ (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 63 µM NBT, 0.1 mM EDTA ve 13 µM riboflavin içermektedir. 560 nm'de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiştir. Değerler EU/mg protein olarak sunulmuştur (Agarwal ve Pandey 2004).

Katalazın (CAT) aktivite tayini için Gong ve ark. (2001) tarafından önerilen metot kullanılmıştır. 103 mM KH₂PO₄ tamponundan ve 40 mM'luk H₂O₂ substrat çözeltisinden 25 µl enzim ekstraktından oluşan reaksiyon karışımının 240 nm'de absorbans belirlenmiştir. 1 dakika içinde, absorbansı 1 µmol azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiştir.

Peroksidaz (POX) aktivite tayini, guaikol ve H₂O₂'nin substrat olduğu reaksiyonun bir ürünü olan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbands artışının 470 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır (Angelini ve Federico 1989). Reaksiyon karışımı 0.1 M, NaH₂PO₄ (pH: 5.5) ve 5 mM guaikol ve 5mM H₂O₂ içeren substrat çözeltisi ve 10 µl enzim ekstraktından oluşmaktadır.

Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi için kullanılan yöntem Heath ve Packer (1968) tarafından kullanılmıştır.

Bunun için yaklaşık 200 mg taze bitki materyali %10'luk TCA (trichloro-acetic acid) 10 mL %25'lik 2-TBA (thiobarbituric acid) ile homojenize edilmiştir. Homojenat buz banyosunda 95 °C de 30 dk inkübe edilmiş ve sonra 10.000 xg'de 10 dk santrifüj edilmiştir, 532 nm'de absorbands değerleri okunduktan sonra 600 nm deki non-spesifik absorbsiyon için belirlenen absorbands değeri çıkarılmıştır.

Lipid peroksidasyonunun hesaplanması: 1 mL çözeltideki MDA (nmol/ ml):[(A532-A600) / 155000] x 10⁶ formülüyle hesaplanmıştır. Sonuçlar MDA (nmol / gram doku) şeklinde verilmiştir.

Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi

H₂O₂'nin miktar tayini için kullanılan yöntem Mukherjee ve Choudhuri (1983) tarafından kullanılmıştır.

Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi için taze bitki dokusu (2 gr) 2 mL soğuk aseton ile homojenize edilmiş ve bulamaç 10.000 xg'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantın 1 mL si %5 Ti(SO₄)₂ ve 0.2 mL amonyak ile karıştırılmıştır. Çökelti biçimlendikten sonra reaksiyon karışımı 10.000 xg'de 10 dk santrifüj edilmiş, sonra pelet 2M H₂SO₄ te eritilmiş ve 415 nm'de absorbandsı okunmuştur.

İstatistik Analiz

Her bir grupta altı tekerrürlü yapılan denemelerden elde edilen veriler SPSS (22.0) istatistik paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar ise Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi (p<0.05) kullanılarak yorumlanmıştır.

Bulgular

25 µM Cd etkisi altındaki bitki yapraklarında SA'nın 3 konsantrasyonu da (0.01, 0.1, 1 mM) CAT aktivitesinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Ancak, 50 ve 100 µM Cd stresindeki bitkilerde, SA'nın üç konsantrasyonunda CAT aktivitesinde önemli (p<0.05) bir artışa sebep olmuştur. Örneğin, 100 µM Cd'de CAT aktivitesindeki artışlar 0.01, 0.1, 1 mM SA uygulamalarında kontrole göre sırasıyla %27, %161, %220 gibi önemli oranda yüksek bulunmuştur (Tablo 1, Şekil 1).

25 µM Cd'e maruz kalmış bitkilerde 0.01 mM SA uygulaması POX aktivitesini değiştirmezken, 0.1 ve 1 mM SA uygulamaları POX aktivitesini önemli derecede düşürmüştür (p<0.05). Örneğin tek başına 25 µM Cd'e göre 0.1 ve 1 mM SA uygulamaları POX aktivitesini %31, %67 düşürmüştür. 50 ve 100 µM Cd stresindeki

bitkilerde SA'nın üç konsantrasyonu POX aktivitesinde azalmaya neden olmuştur. Diğer taraftan tek başına Cd uygulamaları Cd konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak POX aktivitesini artırmıştır ve en fazla artış 100 µM Cd'de gözlenmiştir (Tablo 2, Şekil 2).

25 µM Cd'e maruz bırakılmış bitkilerde SA'nın iki konsantrasyonu (0.01, 0.1 mM) SOD aktivitesinde artışa neden olmuştur ($p<0.05$), 1 mM SA uygulaması SOD aktivitesinde önemli değişikliğe neden olmamıştır ancak 50 µM Cd'e maruz bırakılmış bitkilerde SA'nın üç konsantrasyonunda SOD aktivitesini artırmıştır. 25 ve 50 µM Cd uygulamalarının aksine 100 µM Cd etkisine maruz kalmış bitkilerde SA'nın üç konsantrasyonunda SOD aktivitesini düşürmüştür. Bulgularımızda, tek başına 100 µM Cd'e göre 0.01, 0.1 ve 1 mM SA uygulamaları SOD aktivitesini sırasıyla, %28, %23, %31 düşürmüştür (Tablo 3, Şekil 3).

Lipid peroksidasyonu (LPO) sonuçlarına göre 25, 50, 100 µM Cd stresine maruz bırakılmış bitkilerde SA konsantrasyonları lipid peroksidasyonu düşürmüştür. Sonuçlarımızda tek başına 100 µM Cd'e göre 0.01, 0.1 ve 1 mM SA uygulamaları lipid peroksidasyonunu sırasıyla, %49, %36, %61 oranında düşürmüştür (Tablo 4, Şekil 4).

25 µM Cd'e maruz bırakılmış bitki yapraklarında, SA'nın 3 konsantrasyonunda H₂O₂'de önemli bir artışa neden olmuştur. En fazla artış ise 0.01 ve 0.1 mM SA uygulamalarında gözlenmiştir. 50 µM Cd'de SA'nın 3 konsantrasyonunda H₂O₂ miktarını artırmıştır. 100 µM Cd'de 0.01 ve 0.1 mM SA uygulamaları H₂O₂ miktarını artırırken, 1 mM SA ise düşürmüştür (Tablo 5, Şekil 5).

Tablo 1. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* yapraklarında apoplastik katalaz aktivitesi üzerine etkileri

Cd (µM)	SA (mM)			
	0.0	10	100	1000
25	0.4536±0.006 ^a	0.36 ± 0.046 ^a	0.42 ± 0.040 ^a	0.44 ± 0.0 ^a
50	0.203 ± 0.002 ^c	0.54 ± 0.002 ^a	0.29 ± 0.017 ^b	0.34 ± 0.028 ^b
100	0.288 ± 0.0 ^c	0.367 ± 0.006 ^c	0.756 ± 0.011 ^b	0.924 ± 0.05 ^a

*Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).

Tablo 2. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında apoplastik peroksidaz aktivitesi üzerine etkileri

Cd (µM)	SA (mM)			
	0.0	10	100	1000
25	5276.7 ± 115. ^a	5073.6±57.73 ^a	2599.7±57.61 ^b	1730.5±115.5 ^c
50	5998.2±230.9 ^a	3635.6±173.0 ^b	1804.7±57.73 ^d	2599.7±173.0 ^c
100	6157.5±115.5 ^a	880.4 ± 34.64 ^d	1254.5 ± 57.9 ^c	1856.7±11.66 ^b

*Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir.

Tablo 3. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında apoplastik süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkileri

Cd (μM)	SA(mM)			
	0.0	10	100	1000
25	3.75 ± 0.11^c	4.22 ± 0.12^b	4.77 ± 0.1^a	3.74 ± 0.08^c
50	4.07 ± 0.05^b	5.17 ± 0.08^a	4.29 ± 0.11^b	5.14 ± 0.05^a
100	4.36 ± 0.11^a	3.12 ± 0.06^b	3.31 ± 0.11^b	2.97 ± 0.01^b

* Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ($p < 0.05$).

Tablo 4. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında lipid peroksidasyonu aktivitesi üzerine etkileri

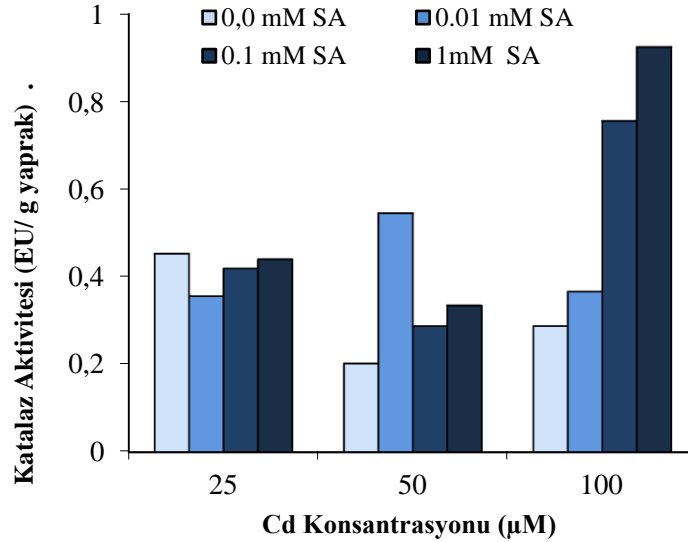
Cd (μM)	SA(mM)			
	0	10	100	1000
25	29.72 ± 1.15^a	21.74 ± 2.88^b	22.44 ± 2.42^b	18.73 ± 0.57^b
50	35.60 ± 2.88^a	21.36 ± 0.61^b	30.47 ± 1.77^a	18.19 ± 0.63^b
100	47.37 ± 1.16^a	23.76 ± 0.69^c	30.19 ± 1.15^b	18.26 ± 1.17^d

* Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ($p < 0.05$).

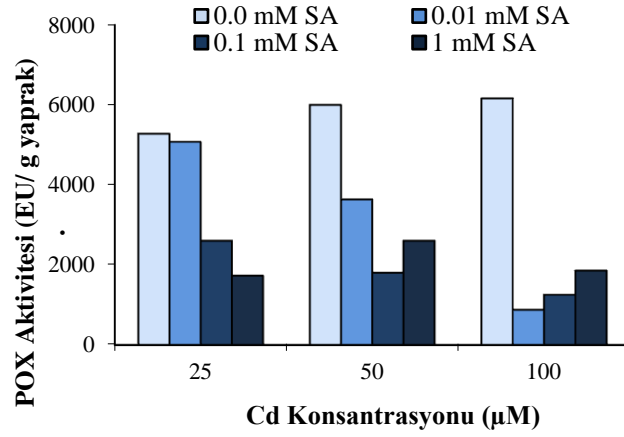
Tablo 5. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında H_2O_2 aktivitesi üzerine etkileri

Cd (μM)	SA(mM)			
	0.0	10	100	1000
25	144.14 ± 0.63^c	343.7 ± 11.51^a	348.75 ± 11.54^a	291.7 ± 23.09^b
50	195.57 ± 11.66^c	388.9 ± 5.77^a	327.5 ± 11.54^b	304.64 ± 0.63^b
100	265.21 ± 17.32^c	393.84 ± 1.73^a	296.85 ± 1.76^b	197.95 ± 1.15^d

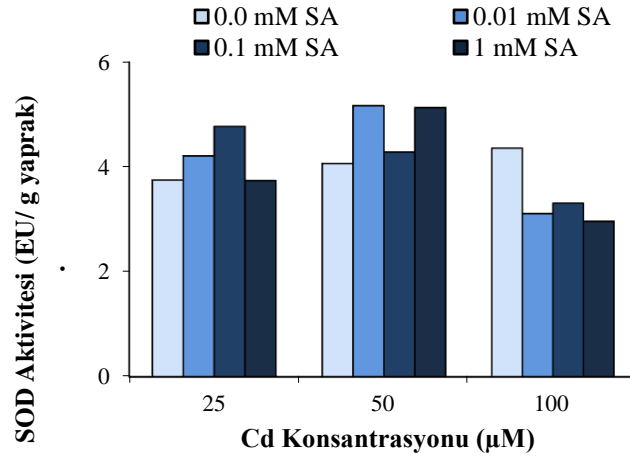
* Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ($p < 0.05$).



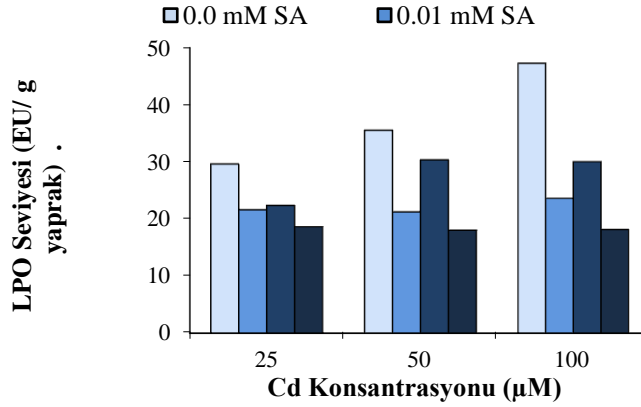
Şekil 1. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında apoplastik katalaz aktivitesine etkileri.



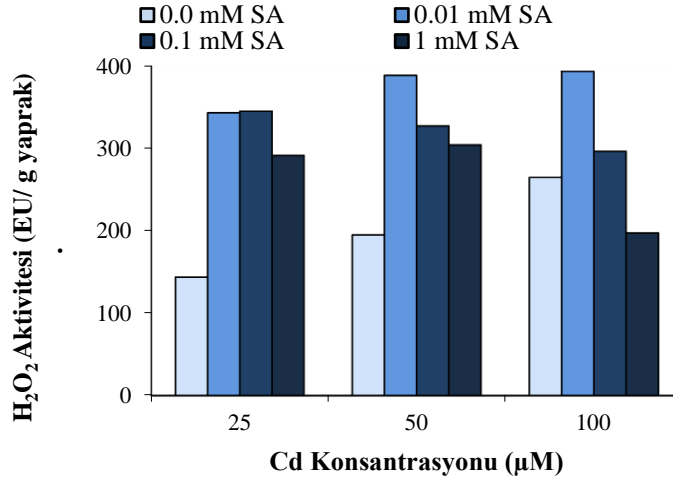
Şekil 2. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında apoplastik peroksidaz aktivitesine etkileri.



Şekil 3. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında apoplastik süperoksit dismutaz aktivitesine etkileri.



Şekil 4. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında lipid peroksidasyonu üzerine etkileri.



Şekil 5. SA muamelesinin Cd stresine maruz bırakılmış *T. aestivum* cv. Bolal yapraklarında H₂O₂ miktarı üzerine etkileri.

Tartışma ve Sonuç

Kadmiyumun (Cd) canlılar için toksik bir ağır metal olduğu, bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerine de çok fazla olumsuzluklara sebep olduğu birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Schützendübel ve ark. 2001; Vitoria ve ark. 2001 Benavides ve ark. 2005; Gratao ve ark. 2005; Dogan ve ark.2022). Bitki hücrelerinde Cd birikimine bağlı olarak çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik süreçler bozulur ve oksidatif stres artışına bağlı olarak hücre ölümüne ve büyümenin engellenmesine neden olur (Chaoui ve ark. 1997; Toppi ve Gabrielli, 1999; Sandalio ve ark. 2001; Xu ve ark. 2009; Guo ve ark. 2009; Popova ve ark. 2009). Ağır metal stresinin de içinde yer aldığı abiyotik stresler altındaki bitkilerde oksidatif stresin bir sonucu olarak hücrede reaktif oksijen türlerinin (serbest radikaller) hızlı bir artışı meydana gelir. Bu reaktif oksijen bileşikleri (ROS), DNA, çoklu doymamış lipidler ve diğer biyomoleküllerin yapısına zarar vererek en ölümcül etkilere sahiptir. Böyle bir durumda meydana gelebilecek hasarı azaltmak için ROS bileşiklerinin katalaz (CAT), peroksidaz (POX), süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimlerce hızlı bir şekilde zararsız hale getirilmesi gerekir. Salisilik asit (SA) de gerek normal koşullarda gerekse stres altındaki bitkilerde, antioksidan sistemi ve enzimleri etkileyen önemli bir sinyal molekülüdür (Sakhabutdinova ve ark. 2004; Hayat ve Ahmad, 2007).

Çalışmamızda, bitkiye önceden uygulanan SA'nın bitki Cd stresi ile karşılaştığı durumda stresten koruyabilme potansiyeli araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda bitki hücrelerinin strese ilk cevap bölgeleri apoplast olduğundan apoplastik antioksidan enzimler (CAT, POX ve SOD) üzerine çalışılmıştır. Ayrıca SA uygulamasından sonra stresten korunma derecesini farklı bir açıdan gösteren lipid peroksidasyon ve hidrojen peroksid seviyeleri de belirlenmiştir.

SA, CAT aktivitesini 50 ve 100 µM Cd etkisine maruz bitkide artırmıştır. Bu sonuçlara göre Cd stresine maruz kalmadan önce buğday fidelerine uygulanan SA, bitki Cd stresine girdiğinde, yapraklardaki apoplastik CAT aktivitesini artırabilmektedir. Panda ve Patra (2007), yaptıkları bir çalışmada *Oryza sativa* yapraklarında SA muamelesi hücrel CAT aktivitesini artırdığını bildirmişlerdir. Mba ve ark. (2007),

kabak (*Brassica sinensis*) bitkisinde Cd stresine maruz bırakılmadan önce uygulanan SA'nın POX aktivitesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Mısır bitkisi ile yapılan bir çalışmada Cd etkisine maruz kalan bitkide SA muamelesi hücrel SOD aktivitesini arttırdığı rapor edilmiştir (Krantev ve ark. 2008). Benzer şekilde, *Brassica sinensis* ve *Oryza sativa* ile yapılan çalışmalarda da SA'nın Cd stresi altında SOD aktivitesini artırdığı belirlenmiştir (Mba ve ark. 2007; Panda ve Patra 2007). Pirinç ile yapılan bir çalışmada SA ile muamelenin H₂O₂ aktivitesini ve lipid peroksidasyonu seviyesini düşürdüğü bildirilmiştir (Guo ve ark.2007). Çalışmada elde ettiğimiz bulgular yukarıda belirtilen literatürler ile uyumlu görülmekle birlikte farklı kısımların uygulanan konsantrasyon farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, buğday bitkisine Cd stresine maruz kalmadan önce uygulanan SA, hem apoplastik antioksidatif enzimleri hem de LPO ve H₂O₂ miktarlarını düzenleyerek bitkiye bir koruma sağlayabildiği görülmektedir.

Kaynaklar

- Agarwal, S. and Pandey V. (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48(4), 555-560.
- Amjadi, Z.Namdjoyan, S. Soorki,A.A.(2021). Exogenous melatonin and salicylic acid alleviates cadmium toxicity in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings. *Ecotoxicology* 30:387–401
- Angelini, R. and Federico R. (1989). Histochemical evidence of polyamin oxidation and generation of hydrogen peroxide in the cell wall. *J.Plant Physiol*, 135, 212-217.
- Atıcı, Ö. Nalbantoğlu B. (1999a). Effect of apoplastic proteins on freezing tolerance in leaves. *Phytochemistry*, 50, 755-761.
- Atıcı, Ö. and Nalbantoğlu B. (1999b). Apoplastic proteins associated with the cold acclimation process in leaves. *Bio-Sci. Res. Bull*, 15, 55-60.
- Benavides, M.P. Gallego, S.M. Tomaro, M.L. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*,17, 21-34.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H.,El Ferjani E. (1997). Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.*, 127, 139-47.
- Dogan, M., Bolat, I., Karakas, S., Dikilitas, M., Gutiérrez-Gamboa, G., & Kaya, O. (2022). Remediation of Cadmium Stress in Strawberry Plants Using Humic Acid and Silicon Applications. *Life*, 12(12), 1962.
- El Dakak, R.A. Hassan, I.A. (2020) The Alleviative Effects of Salicylic Acid on Physiological Indices and Defense Mechanisms of Maize (*Zea Mays* L. Giza 2) Stressed with Cadmium *Environmental Processes* 7:873–884
- Gallego, S.M. Benavies, M.P. Tomaro, M.L. (1996). Effect of heavy metal ions on sunflower leaves evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Sci.*, 121, 151-159.
- Gong, Y. Toivonen P.M.A. Lau O.L. and Wiersma PA. (2001). Antioxidant system level in 'Braeburn' apple in related to its browning disorder. *Bot. Bull. Acad. Sin.*,42, 259-264.
- Gratao, L.P., Polle, A., Lea, P., and Azevedo, A. (2005). Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology*, 32, 481-494.

- Guo, B. Liang, YC. Zhu, YG. Zhao, FJ. (2007a). Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress. *Environ.Pollut.*, 147, 743-9.
- Guo, B. Liang, Y. Zhu, Y. (2009). Does salicylic acid regulate antioxidant defense systems, cell death, cadmium uptake and partitioning to acquire cadmium tolerance in rice? *J. Plant Physiol*, 166, 20-31.
- Hayat, S. and Ahmad, A. (2007). Salicylic Acid: A Plant Hormone. Published by Springer. Dordrecht, The Netherlands pp. 396.
- He, Y.L. Liu, Y.L. Chen, Q. Bian, A.H. (2002). Thermotolerance related to antioxidation induced by salicylic acid and heat hardening in tall fescue seedlings. *J. Plant Physiol. Mol. Biol*, 28, 89-95
- Heath, R.L. Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 25, 189-198.
- Hon, W-C. Griffith M. Chong P. Yang D.S.C. (1994). Extraction and isolation of antifreeze protein from winter rye (*Secale cereale* L.) leaves. *Plant Physiol*, 104, 971-980.
- Kapahi, M. Sachdeva, S. (2019). Bioremediation Options for Heavy Metal Pollution. *Journal of Health and Pollution* 9 (24).
- Krantev, A. Yordanova, R. Janda, T. Szalai, G. Popova, L. (2008). Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *J. Plant Physiol*. 165, 920–931.
- Mba, F.O. Zhi-Ting, X., and Hai-Jie, Q. (2007). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in Chinese cabbages (*Brassica chinensis*). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (18), 3065-3071.
- Mohy El-Din, S.M. Abdel-Kareem, M.S. (2020). Effects of Copper and Cadmium on the Protein Profile and DNA Pattern of Marine Microalgae *Chlorella salina* and *Nannochloropsis salina*. *Environmental Processes*. 7:189–205.
- Mukherjee, S.P. Choudhuri, M.A. (1983). Implications of water stress-induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in *Vigna* seedlings. *Physiologia Plantarum*, 58, 166-170.
- Panda, S.K. Patra, H.K. (2007). Effect of salicylic acid potentiates cadmium-induced oxidative damage in *Oryza sativa* L. leaves. *Acta Physiol. Plant*. 29, 567–575
- Pereira, L.M., Karpouzoglou, T., Frantzeskaki, N., Olsson, P. (2018). Designing transformative spaces for sustainability in social-ecological systems. *Ecology and Society*, 23 (4).
- Popova, L.P. Maslenkova, L.T. Yordanova, R.Y. Ivanova, A.P. Krantev, A.P. Szalai, G. (2009). Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiol Biochem*, 47, 224-31.
- Sakhabutdinova, A.R. Fatkhutdinova, D.R. and Shakirova, F.M. (2004). Effect of salicylic acid on the activity of antioxidant enzymes in wheat under conditions of salinization. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 40(5), 501-505.
- Sandalio, L.M. Dalurzo, H.C. Gomez, M. Romero-Puertas, M.C. del Rio, L.A. (2001). Cadmium induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany*, 52, 2115-2126.
- Schützendübel, A. Schwanz, P. Teichmann, T. Gross, K. Langenfeld-Heyser, R., Godbold, D.L. Polle, A. (2001). Cadmium-induced changes in antioxidants

- systems, hydrogen peroxide content and differentiation in Scots pine roots. *Plant Physiology*, 127, 887-898.
- Senaratna, T. Touchell, D. Burn, E. Dixon, K. (2000). Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regul.*, 30, 157-161.
- Taşğın, E. Atıcı, Ö. and Nalbantoğlu, B. (2003). Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regulation*, 41, 231-236.
- Toppi, L.S.D. Gabrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.*, 41, 105-30.
- Tiryaki, D. Aydın, İ. Atıcı, A. (2019). Psychrotolerant bacteria isolated from the leaf apoplast of cold-adapted wild plants improve the cold resistance of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under low temperature. *Cryobiology* 86, 111-119.
- Vitoria, A.P. Lea, P.J. Azevedo, R.A. (2001). Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues. *Phytochemistry*, 57, 701-710.
- Xu, J. Yin, H.X. Li, X. (2009). Protective effects of proline against cadmium toxicity in micropropagated hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. *Plant Cell Rep.*, 28, 325-33.