



TUZ STRESİ KOŞULLARINDA SALİSİLİK ASİDİN ZAMANA BAĞLI UYGULANMASININ ARPA (*Hordeum vulgare* L.) KÖKLERİNİN ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Hülya TORUN ^{1,2*}, Faik Ahmet AYAZ ²

¹ Biyosistem Mühendisliği Bölümü, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Düzce Üniversitesi, 81620 Düzce

² Biyoloji Bölümü, Fen Fakültesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 61080 Trabzon

ÖZET

Toprak tuzluluğu önemli ürün kayıplarına neden olan başlıca abiyotik stres tiplerinden biridir. Tuzluluk stresi esnasında bitkide geliştirilen tolerans mekanizmalarını anlayabilmek, ürün verim ve kalitesindeki ciddi kayıpları azaltan tolerant çeşitlerin seçimi ve ıslahında önem arz etmektedir. Salisilik asit (SA), bitkilerde tuz stresi dahil pek çok abiyotik strese fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri etkileyen önemli bir sinyal moleküldür. Bu çalışmada, SA'nın tuz stresi öncesinde ve stres süresince uygulanmasının, arpa (*Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı, Erginel, Akhisar) çeşitlerinin köklerinde büyüme parametreleri, prolin miktarı ve antioksidan savunma sistemi enzimlerinin (süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR)) aktivitelelerini nasıl değiştirdiği incelenmiştir. Tuz stresi, arpanın her üç çeşidinde de büyüme parametrelerinde azalmaya neden olmuştur. Strese karşı en tolerant çeşit Kalaycı, en hassas ise Akhisar olarak belirlenmiştir. Ayrıca, SA'nın uygulama süresinin antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkisi ortaya konulmuştur. Sonuç olarak, SA antioksidan savunma sistemini uyararak tuz stresinin sebep olduğu oksidatif hasarı azaltmıştır. Bu etki, SA'nın uygulama zamanına ve türün çeşitlerine göre farklılık göstermiştir. Özellikle stres öncesi uygulanan SA, tuz stresine karşı daha yüksek tolerans göstermiş ve çeşitler arasında bu etki daha çok Kalaycı çeşidinde gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan enzim, Arpa, Kök, Salisilik asit, Tuz stresi

ABSTRACT

Soil salinity is one of the major abiotic stress types causing significant crop losses. To understand tolerance mechanisms occurring in plants during salinity stress is significant for choosing and improving tolerant species decreasing serious losses in yield and quality in crops. Salicylic acid (SA) is an important signalling molecule affecting physiological and biochemical processes in many abiotic stresses including salt stress. In this study, how altered the growth parameters, proline amount, and the activities of antioxidant defense system enzymes (superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POX), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR)) in roots of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı, Erginel, Akhisar) cultivars with the application of pre- and simultaneous treatment of SA was investigated. Salt stress caused a decrease in growth parameters in all cultivars of barley. It was identified that Kalaycı was the most tolerant and Akhisar the most sensitive genotype against the stress. Moreover, the effect of time-dependent application of SA on the antioxidant defense system has been established. As a result, SA reduced the salt-induced oxidative damage caused by salt stress by stimulating the antioxidant defense system. This effect differed according to the application time of the SA and genotypes. Especially pretreatment of SA displayed higher tolerance to salt stress and this effect was more observed in Kalaycı among cultivars.

Keywords: Antioxidant enzyme, Barley, Root, Salicylic acid, Salt stress

1. GİRİŞ

Bitkiler sessil doğaları gereği yaşamlarını sürdürdükleri alanlarda birden fazla etkenin büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkileyerek verim düşüklüğüne neden olduğu olumsuz koşullara maruz kalırlar. Bitkilerin sıklıkla maruz kaldığı ve ürün verimliliğini sınırlayan abiyotik stres koşulları arasında su; eksikliği ve aşırılığı, iyon; eksikliği ve aşırılığı, sıcaklık; düşük ve yüksek, ışık; eksikliği ve aşırılığı bulunmaktadır. Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli'ne (IPCC) göre küresel iklim değişikliğinden

*Sorumlu Yazar: hulyatorun@duzce.edu.tr

Geliş: 16.07.2018 Kabul: 31.10.2018

dolayı yakın gelecekte abiyotik stres faktörlerinin daha da artacağı tahmin edilmektedir [1]. Sürekli artan insan nüfusu ve bunun yanında sanayileşme süreci içerisinde, tarımsal alanların kaybı ve iklim değişikliğine bağlı olarak su varlığının azalması ciddi sorunları da ortaya çıkarmaktadır [2]. Hastalık ve yabancı ot ile mücadeledeki ürün kayıpları, problemlili topraklar ve dengesiz iklim değişimlerinin neden olduğu istenmeyen fizikokimyasal (abiyotik) çevresel koşulların meydana getirdiği ürün kayıplarının yanında çok daha düşük yüzdeliğe sahiptir [3]. Bundan dolayı, bitkilerin artan nüfus ve değişen çevre koşullarına karşı adaptasyon kazanabilmeleri adına yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar gelecek nesiller için önem arz etmektedir.

Dünya, litrede yaklaşık 30 g NaCl içeren sulara sahip olması ile tuzlu bir gezegendir [4]. Ancak, bitki büyüme ve gelişimini sınırlayıcı etki gösteren maddeler arasında tuz kadar daha toksik bir madde yoktur [5]. Tuzdan etkilenmiş alanların çoğu, kurak ya da yarı kurak bölgelerde uzun dönemde doğal nedenlerden kaynaklanan, genellikle Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarının birikiminden meydana gelmektedir [6]. Doğal tuzlanmanın dışında, son yıllarda ekilmiş tarım arazilerinin belirgin bir kısmı, tarımsal potansiyelini düşüren ve ikincil tuzlanma olarak adlandırılan sulamaya eşlik eden zayıf drenajdan olumsuz yönde etkilenmektedir. Tuz stresi fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler seviyede bitki büyümesi ve verimliliğinde zararlı etkiler meydana getirmekte [7,8] ve yüksek tuz konsantrasyonları hücre genişlemesini kısıtlayan turgorun azalması veya kaybına neden olan su potansiyelini düşürerek hiperozmotik stres oluşturmaktadır [5,9]. Dolayısıyla, toprak ıslah çalışmalarının yanı sıra tuzlu topraklardan daha fazla yararlanabilmek için bitkilerin tuz stresi koşullarındaki adaptasyon mekanizmalarının anlaşılması büyük önem taşımaktadır.

Aktif oksijen türleri (AOT) olarak da adlandırılabilen reaktif oksijen türleri (ROT) tüm aerobik organizmalarda normal koşullarda üretilen ve aerobik metabolizmanın kaçınılmaz olarak oluşan yan ürünleridir [10]. Bitki hücrelerinde yoğun olarak peroksizom, kloroplast, mitokondri, plazma membranı ve hücre dışı bölgelerde üretilen ROT'lar, temel olarak tekli oksijen (¹O₂), süperoksit anyon radikali (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikalidir (HO·). ROT'lar büyüme, gelişme, abiyotik ve biyotik stres, hormonal düzenleyicilerin üretimi ve programlı hücre ölümü gibi sayısız uyarıcıları kontrolünde tutabilen önemli sinyal molekülleri olarak iş görürler. ROT'lar düşük seviyelerde hücresel sinyal yollarında ikincil mesajcı olarak görev alır; ancak tuz stresi gibi çevresel streslere bağlı olarak yüksek miktarlarda biriktiğinde toksik etkiye sahiptirler. Bu durum, hücrede ROT üretim ve detoksifikasyon mekanizmalarının hassas bir dengede tutulmasıyla sağlanır [11]. Bitki hücrelerinde ROT'ların temizlenmesinde karmaşık bir antioksidan ağ görev yapmaktadır ve hücre sinyallerinin gereksinimlerine göre seviyeleri kontrol edilmektedir. Bitkiler, büyük miktarda askorbat, glutatyon ve tokoferol gibi düşük moleküler ağırlıklı antioksidan maddeleri ve süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimatik antioksidanlar birikir [11,12].

Salisilik asit (SA), bitki tarafından üretilen fenolik bir bileşiktir ve fenolik bileşiklerin sentezinin gerçekleştiği şikimik asit yolunda ara bir ürün olan sinamik asidin doğal bir türevidir. SA, bitki büyüme düzenleyicisi kategorisi içerisine dahil edilmiştir [13] ve ekzojen uygulanan SA'nın çevresel streslere karşı bitki cevabının hafifletilmesi için önemli bir sinyal molekül olduğu bilinmektedir [14]. Ancak, SA'nın stresin uygulanma zamanına göre köklerdeki etkisinin nasıl değiştiği ile alakalı henüz bir netlik bulunmamaktadır.

Arpa (*Hordeum vulgare* L.), tahıllar arasında iklim genişliği açısından hemen her koşula kolaylıkla adapte olabilen bir üründür. Fazla soğuk ve fazla sıcak olmayan, nispi nemi yüksek olan yerlerde iyi gelişmektedir ve geniş toprak çeşitliliğine de sahiptir. Bir diğer serin iklim tahılı olan buğdaya göre kuru, tuzlu ve fakir topraklarda toleransı yüksektir [15]. Tuz stresi koşullarında yetiştirilen arpa bitkisinin antioksidan savunma sisteminin nasıl düzenlendiği ile ilgili pek çok çalışma mevcut olsa da SA'nın stres öncesi ya da stresle eş zamanlı uygulanmasının tuz stresi koşullarında büyütülen arpada nasıl bir etki meydana getirdiği ile ilgili bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Dolayısıyla, bu çalışma ile iki farklı tuz konsantrasyonunun arpa çeşitlerinin köklerinde, SA'nın stres uygulama zamanına bağlı olarak SOD,

POX, CAT, APX ve GR gibi antioksidan savunma sisteminde önemli rolü olan enzimlerin aktivitelerini stres toleransı kazanılması yönünde nasıl etkilediğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitki Materyalinin Sağlanması ve Yetiştirilmesi

Arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkisinin Erginel-90 ve Kalaycı-97 çeşitlerine ait tohumlar Eskişehir Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden, Akhisar-98 çeşidine ait tohumlar ise Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Tohumlar öncelikle % 5 sodyum hipoklorid (çamaşır suyu) ile 15 dakika steril edilmiş ve ardından saf su ile iyice yıkanmıştır. Steril olan tohumlar perlit içeren saksılarda Hoagland içerisinde [16] kontrollü şartlarda (22°C, %70 nem) karanlıkta çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenen tohumlar hidroponik ortamda 16/8 saat, 22/18°C, %70/65 nem (gündüz/gece) içeren ortamda ve 300 µmol (foton) m⁻²s⁻¹ ışık yoğunluğunda büyüme bırakılmıştır. Fideler bu ortamda Hoagland çözeltisi her iki günde bir tazelenerek yetiştirilmiştir. Büyümenin 16. gününe gelindiğinde bitkiler 9 farklı deneme grubuna ayrılmıştır:

- Kontrol (K),
- 150 mM NaCl (15),
- 300 mM NaCl (30),
- 24 saat 0,5 mM SA ön muamelesi (öSA),
- 24 saat 0,5 mM SA ön muamelesi ardından 150 mM NaCl uygulaması (öSA15),
- 24 saat 0,5 mM SA ön muamelesi ardından 300 mM NaCl uygulaması (öSA30),
- Sürekli olarak (4 gün boyunca) 0,5 mM SA uygulaması (sSA),
- Sürekli olarak (4 gün boyunca) 0,5 mM SA ile birlikte 150 mM NaCl uygulaması (sSA15),
- Sürekli olarak (4 gün boyunca) 0,5 mM SA ile birlikte 300 mM NaCl uygulaması (sSA30).

Bitkiler tüm uygulamaların ardından 21. günde her bir gruba ait bitkilerin kök ve sürgünleri ayrılarak hasat edilmiş, örnekler derhal sıvı azottan geçirilerek analizlere kadar -80°C'de saklanmıştır.

2.2. Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi

Hasat esnasında arpa çeşitlerine ait her bir deney grubundan rastgele alınan bitkilerin kök uzunlukları ölçülmüştür. Köklerin yaş ağırlıkları tartılmış ve tartımın ardından örnekler 80°C'de 48 saat etüvide bekletildikten sonra kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

2.3. Prolin Miktarının Belirlenmesi

Arpa çeşitlerinin köklerinden 0,5 g alınan örnekler % 3'lük sülfosalisilik asit ile parçalanmıştır. Santrifüjün ardından 2 mL süpernatantın üzerine 2 mL asetik asit ve 2 mL ninhidrin çözeltisi ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan tüpler 100°C'de 1 saat bekletildikten sonra 4 mL toluen ilavesinden sonra oluşan üst faz 520 nm'de UV-Visible spektrofotometrede ölçülmüştür [17].

2.4. Antioksidan Enzimlerin Ekstraksiyonu Ve Aktivitelerinin Belirlenmesi

Enzim özütleri, her bir çeşit ve gruba ait 0,5 g kök örneklerinin sıvı azot yardımı ile toz haline getirilerek % 1 (w/v) polivinilpolipirrolidon (PVPP) ve 1 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren 50 mM fosfat tamponu (pH 7,0) ile homojenize edilerek hazırlanmıştır. APX ekstraksiyonu için aynı tampona 2 mM askorbat ilave edilmiştir. Elde edilen özütler +4°C'de 20.000 g'de 20 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda elde edilen süpernatant enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

2.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesinin belirlenmesi Beauchamp ve Fridovich [18] metoduna göre yapılmıştır. Aktivite tayini için 50 mM fosfat tamponu (pH 7,8), 0,1 mM EDTA, 13 mM metiyonin, 75 µM nitro blue tetrazolium (NBT) ve 2 µM riboflavin içeren 3 mL'lik reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Karışıma özütün ilavesinden ardından 10 dk beyaz ışık altında bekletilmiş ve süre sonunda 560 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. SOD aktivitesi, indikatör olarak kullanılan NBT'nin süperoksit radikalleri ile mavi renkli bir formazana indirgenmesi reaksiyonun SOD enzimi tarafından engellenmesinin ölçülmesiyle tayin edilmiştir. Bu reaksiyonun %50'sinin inhibisyonuna uygun süpernatant hacmi 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiştir.

2.4.2. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) aktivitesinin belirlenmesi

Guaiakol bağımlı peroksidaz aktivitesi Mika ve Lüthje [19]'nin yöntemine göre belirlenmiştir. Enzim aktivitesi, 25 mM sodyum asetat (pH 5,0) tamponu, 10 mM guaiakol ve 10 mM H₂O₂ içeren karışımın 470 nm'de absorbanstaki artışın kaydedilmesiyle belirlenmiştir. Aktivite sonuçları, 26,6 mM⁻¹cm⁻¹ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplanmış ve spesifik enzim aktivitesi dakikada tüketilen µmol mL⁻¹ H₂O₂ olarak ifade edilmiştir.

2.4.3. Katalaz (CAT; 1.11.1.6) aktivitesinin belirlenmesi

CAT enziminin aktivitesinin tayini Aebi [20]'ye göre belirlenmiştir. Enzim aktivitesi, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 30 mM H₂O₂ ve enzim özütü içeren reaksiyon karışımının 240 nm'de absorbanstaki düşüşün kaydedilmesi ile belirlenmiştir. CAT'ın bir ünitesi dakikada harcanan µmol H₂O₂ olarak ifade edilmiştir.

2.4.4. Askorbat peroksidaz (APX; 1.11.1.11) aktivitesinin belirlenmesi

APX aktivitesinin tayini Nakano ve Asada [21]'ya göre yapılmıştır. Reaksiyon karışımı, 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7,0), 250 µM askorbat, 5 mM H₂O₂ ve enzim özütü içermektedir. Askorbatın oksidasyonu ile beraber 290 nm'de absorbansta meydana gelen düşüş izlenmiş ve 1 ünite APX aktivitesi, dakikada okside olan 1 mmol mL⁻¹ askorbat olarak ifade edilmiştir.

2.4.5. Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) aktivitesinin belirlenmesi

GR aktivitesi Foyer ve Halliwell [22]'in yöntemine göre 340 nm'de absorbanstaki düşüşün kaydedilmesi ile belirlenmiştir. Enzim aktivitesi tayini için 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 7,8), 1mM yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), 0,25 mM NADPH, 0,5 mM EDTA ve enzim özütü içeren reaksiyon karışımındaki GSSG miktarındaki azalma ölçülmüştür. Enzim aktivitesi, dakikada indirgenen 1 mmol mL⁻¹ GSSG miktarı olarak ifade edilmiştir.

2.5. İstatistiksel Analizler

Her bir deneme 2 kez biyolojik ve 3 kez teknik tekrar ($n = 6$) olacak şekilde yapılmıştır. Elde edilen veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One way ANOVA) ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıkların önemlilik düzeyi Duncan Testi ile belirlenmiştir. $P < 0,05$ olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir. Bütün şekillerdeki hata çubukları ortalama \pm standart sapmayı gösterecek şekilde belirtilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Büyüme Parametreleri

Hordeum vulgare L. ‘Akhisar’, ‘Erginel’ ve ‘Kalaycı’ çeşitlerinin tuz stresi koşullarında SA uygulamasına bağlı olarak kök uzunluğu, kök yaş ve kuru ağırlıklarında meydana getirdiği değişiklikler Tablo 1’de gösterilmiştir. Arpa bitkisinin her üç çeşidi de tuz stresinden olumsuz etkilenmiştir. 150 mM NaCl uygulamasında kök uzunlukları Akhisar, Erginel ve Kalaycı’da kontrol gruplarına göre sırasıyla %51, 20 ve 12 azalırken, 300 mM NaCl uygulamasında %65, 55 ve 30 azalmıştır. Hem stres öncesi hem de stres süresince uygulanan SA, her iki tuz konsantrasyonu Kalaycı çeşidinin kök uzunluğunda önemli değişikliklere sebep olmamıştır. Diğer taraftan, SA uygulamaları, 150 mM tuz konsantrasyonunda Erginel’in kök uzunluğunu değiştirmezken 300 mM NaCl altında stres öncesi uygulanan SA %54, stresle eş zamanlı uygulanan SA ise 2,3 kat artışa neden olmuştur. Akhisar çeşidinde ise iki SA uygulaması da hem 150 hem de 300 mM NaCl altında sırasıyla %44 ve 81 oranında kök uzunluğunu arttırmıştır.

Tablo 1. Tuz stresi altında salisilik asit (SA) uygulamasının arpa çeşitlerinde (*Hordeum vulgare* L. ‘Akhisar’, ‘Erginel’, ‘Kalaycı’) kök uzunluğu (U; cm), kök yaş (YA; mg) ve kök kuru ağırlığı (KA; mg) üzerine etkileri. Aynı satırda yer alan rakamlarda bulunan üstel harflerden aynı olanlar istatistiksel olarak birbirlerinden farklı değildir ($P < 0,05$).

Akhisar									
	K	15	30	öSA	öSA15	öSA30	sSA	sSA15	sSA30
U	31,3 ^a	15,4 ^d	11,1 ^e	30,6 ^{ab}	22,1 ^{bc}	20,1 ^c	30,5 ^{ab}	22,8 ^{bc}	20,1 ^c
YA	2,12 ^a	1,07 ^{bc}	0,70 ^{cde}	0,92 ^{cd}	0,72 ^{cde}	0,59 ^d	1,30 ^b	0,63 ^{de}	0,55 ^d
KA	0,27 ^a	0,17 ^{bc}	0,14 ^{bcd}	0,12 ^{cd}	0,12 ^{cd}	0,12 ^{cd}	0,18 ^b	0,11 ^{cd}	0,10 ^d
Erginel									
	K	15	30	öSA	öSA15	öSA30	sSA	sSA15	sSA30
U	36,8 ^b	29,4 ^{cd}	16,4 ^e	42,8 ^a	29,0 ^{cd}	25,2 ^d	36,1 ^b	33,5 ^{bc}	37,4 ^b
YA	1,87 ^a	0,85 ^{bc}	0,66 ^c	1,84 ^a	0,90 ^{bc}	0,74 ^{bc}	1,15 ^b	0,96 ^{bc}	0,66 ^c
KA	0,20 ^{ab}	0,12 ^c	0,11 ^c	0,22 ^a	0,12 ^c	0,11 ^c	0,16 ^{bc}	0,13 ^c	0,11 ^c
Kalaycı									
	K	15	30	öSA	öSA15	öSA30	sSA	sSA15	sSA30
U	34,5 ^a	30,3 ^{ab}	24,2 ^{de}	23,4 ^{de}	30,5 ^{ab}	21,5 ^e	28,6 ^{bc}	27,9 ^{bcd}	26,4 ^{bcd}
YA	1,60 ^a	1,11 ^b	0,73 ^{cd}	0,87 ^{bcd}	1,01 ^{bc}	0,60 ^d	0,90 ^{bcd}	0,84 ^{bcd}	0,71 ^{cd}
KA	0,16 ^{ab}	0,17 ^a	0,14 ^{abc}	0,10 ^d	0,11 ^{cd}	0,10 ^d	0,11 ^{cd}	0,14 ^{abc}	0,13 ^{bc}

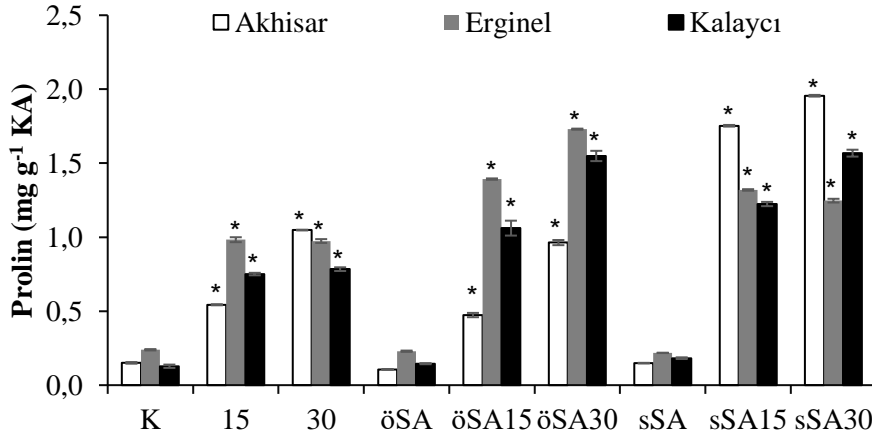
Tuz stresi her üç arpa çeşidine ait kök yaş ağırlıklarında azalma sağlamıştır. Yaş ağırlıklardaki bu azalış, 150 ve 300 mM NaCl konsantrasyonlarında kontrol bitkilerine kıyasla sırasıyla Akhisar’da %50 ve 67, Erginel’de %55 ve 65 ve Kalaycı’da %31 ve 54 olarak tespit edilmiştir. Tuz stresi koşullarında (150 ve 300 mM NaCl) her iki SA uygulaması da Erginel ve Kalaycı’da yaş ağırlıkta herhangi bir değişime neden olmazken, sadece 150 mM tuz konsantrasyonunda stres boyunca uygulanan SA, Akhisar çeşidinde yaş ağırlığı %41 azaltmıştır.

Kök kuru ağırlıkları, tuz stresinin iki konsantrasyonunda da yaklaşık olarak aynı oranda azalma göstermiştir. 300 mM NaCl uygulaması kontrole kıyasla Akhisar’da %48, Erginel’de %45 ve Kalaycı’da ise %13 azalma sağlamıştır. Her iki SA uygulaması tuz stresi koşullarında (150 ve 300 mM NaCl) arpa çeşitlerinin kök kuru ağırlıklarında belirgin bir değişikliğe neden olmamıştır. Sadece 150

mM NaCl uygulamasında, Kalaycı kök kuru ağırlığı, stres öncesinde uygulanan SA ile %35, stres sırasında uygulanan SA ile ise %29 azalmıştır.

3.2. Prolin

Arpa çeşitlerinde NaCl ve SA uygulamalarının kökteki prolin içeriğinde oluşturduğu değişimler Şekil 1'de gösterilmiştir. Tuz stresi, her üç çeşitte de prolin miktarını önemli oranda arttırmıştır. 150 mM NaCl uygulaması, prolin miktarında kontrole kıyasla Akhisar'da 3,6, Erginel'de 4,1 ve Kalaycı'da 5,8 kat artış sağlamıştır. Diğer taraftan, 300 mM tuz stresi uygulamasında ise bu artış, Akhisar'da 7 kat olurken, Erginel ve Kalaycı'daki artış oranı 150 mM NaCl konsantrasyonundaki oranla aynı kalmıştır. Her iki SA uygulaması da köklerdeki prolin miktarında SA uygulaması yapılmayan gruplara göre artışa neden olmuştur. Ancak stresle aynı anda uygulanan SA, 150 mM NaCl altında 3,2 kat ve 300 mM NaCl altında %87 oranla Akhisar'da, stres öncesinde uygulanan SA, 150 mM NaCl altında %42 ve 300 mM NaCl altında %78 oranla Erginel'de prolin miktarında artış sağlamıştır. Kalaycı köklerindeki prolin artışı ise hem stres öncesi hem de stres sırasında uygulanan SA ile aynı oranda etkilenmiştir.



Şekil 1. Tuz stresi altında salisilik asit uygulamasının arpa çeşitlerinde (*Hordeum vulgare* L. cv. 'Akhisar', 'Erginel', 'Kalaycı') prolin miktarı üzerine etkileri. Sütunlar üzerindeki * aynı tür içinde istatistiksel bakımdan kontrol grubundan farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$). Sütunlardaki hata çubukları ortalama \pm standart hata (S.E)'yi ifade etmektedir ($n = 6$).

3.3. Antioksidan enzim aktiviteleri

3.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

Tuz stresi her iki konsantrasyonda da SOD aktivitesini Erginel'de etkilemezken, 300 mM NaCl uygulamasında Akhisar köklerinde SOD aktivitesi %35 azalmış, Kalaycı'da ise 2,5 kat artmıştır (Şekil 2A). Stres esnasında uygulanan SA, stres öncesindeki SA uygulamasına göre her üç arpa çeşidinde de SOD aktivitesinde istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) oranda azalmaya neden olmuştur. Diğer taraftan, stres öncesinde uygulanan SA ile kökteki SOD enzim aktivitesi, Akhisar'da sadece 150 mM NaCl'de %18 azalma, Erginel'de 150 ve 300 mM NaCl'de sırasıyla %19,1 ve 14,4 artış ve Kalaycı'da yine sırasıyla %42,2 ve 48,5 artış sağlamıştır.

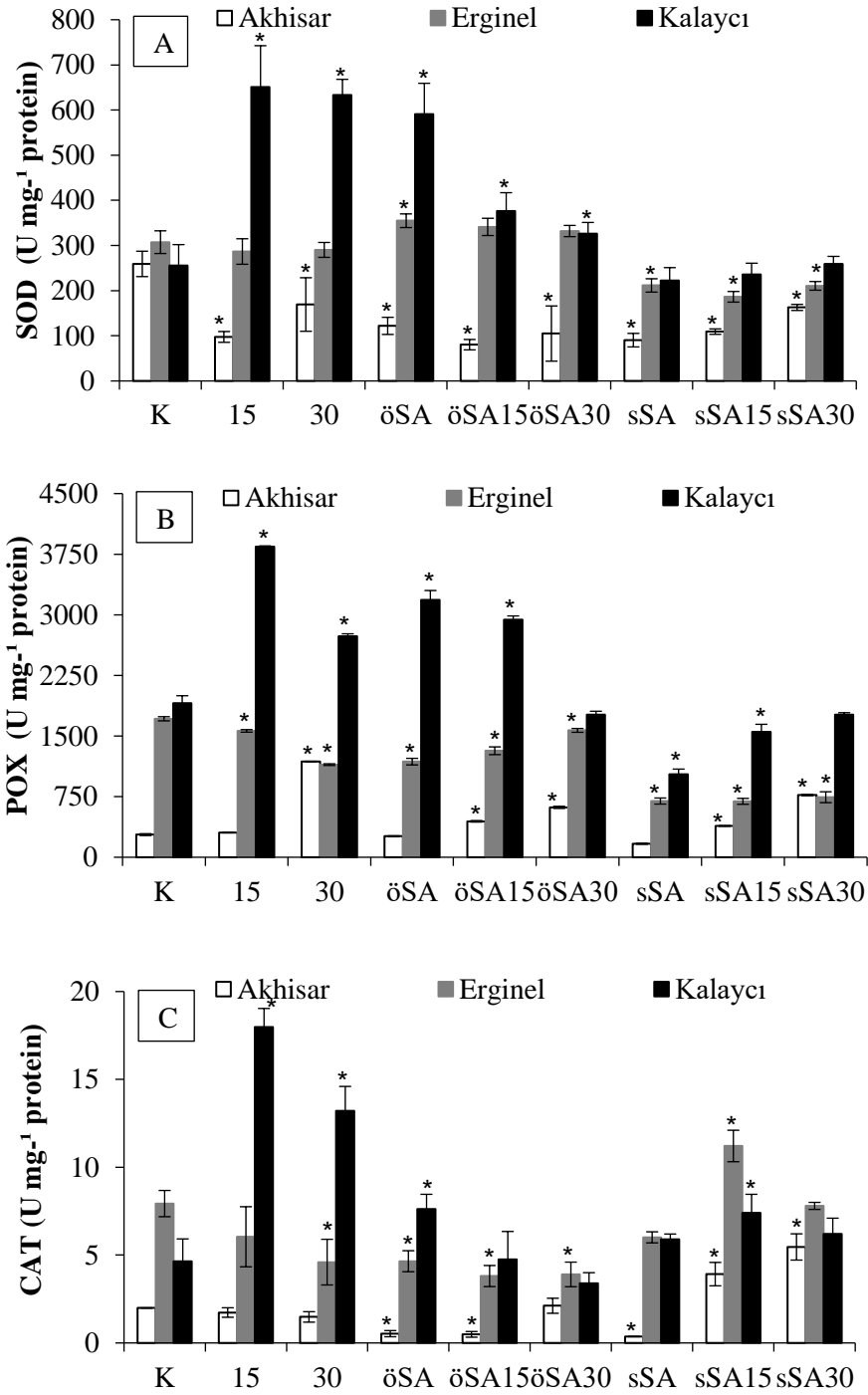
3.3.2. Peroksidaz (POX) aktivitesi

POX aktivitesi tuz stresi koşullarında arpa çeşitleri arasında farklılık göstermiştir (Şekil 2B). 150 mM NaCl konsantrasyonu, kökteki POX aktivitesini kontrole kıyasla Akhisar'da değiştirmezken, Erginel'de % 8,7 azalmaya ve Kalaycı'da 2 kat artışa sebep olmuştur. 300 mM NaCl koşullarında ise Akhisar'da POX aktivitesi 4,2 kat ve Kalaycı'da %43,5 artarken, Erginel'de aktivite azalmayı sürdürmüştür (%33,1). İki farklı SA uygulaması her iki tuz konsantrasyonunda Kalaycı'da POX aktivitesinde

azalmaya neden olmuştur; bu düşüş öSA + 150 mM NaCl'de %23,5 ve öSA + 300 mM NaCl'de %35,4 iken sSA + 150 mM NaCl'de %59,6 ve sSA + 300 mM NaCl'de %35,5 olarak belirlenmiştir. Akhisar'da POX aktivitesi, her iki SA uygulamasında da 150 mM'da artarken (öSA ile %46,3 ve sSA ile 27,4) 300 mM'de azalmıştır (öSA ile %48 ve sSA ile 35,1). Erginel çeşidinde ise her iki SA uygulaması POX aktivitesini 150 mM NaCl konsantrasyonunda azaltırken 300 mM NaCl stresi altında öSA uygulaması %37 arttırmış, sSA uygulaması ise %35,2 azaltmıştır.

3.3.3. Katalaz (CAT) aktivitesi

Arpa çeşitleri arasında kökte ölçülen SOD ve POX aktivitelerinde olduğu gibi CAT aktivitesi de en yüksek Kalaycı çeşidinde bulunmuştur (Şekil 2C). Erginel'de tuz stresinin şiddeti arttıkça CAT aktivitesinde azalma gözlenirken Akhisar'da tuz stresi uygulaması boyunca istatistiki olarak önemli değişiklikler ($P < 0,05$) kaydedilmemiştir. Kalaycı'da ise CAT aktivitesinde her iki tuz konsantrasyonunda da artış belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulamasında CAT aktivitesindeki artış 3,8 iken 300 mM NaCl uygulamasında 2,8 olarak bulunmuştur. Her iki SA uygulaması Kalaycı çeşidinde CAT aktivitesini azaltmıştır. Bu azalma, öSA + 150 mM NaCl'de %73,3 ve öSA + 300 mM NaCl'de %74,2 iken sSA + 150 mM NaCl'de %58,9 ve sSA + 300 mM NaCl'de %53 olarak belirlenmiştir. Stres öncesinde uygulanan SA, Erginel köklerindeki CAT aktivitesinde her iki tuz konsantrasyonunda da değişikliğe sebep olmazken stres sonrasında uygulanan SA 150 mM NaCl (%86,7) ve 300 mM NaCl (%69,6) altında artışa neden olmuştur. Tuz stresi koşullarında, Akhisar çeşidi ise CAT aktivitesindeki artışı stres süresince uygulanan SA ile göstermiştir. Bu artışlar, 150 mM'da 2,3 ve 300 mM'da 3,7 kat olarak belirlenmiştir.

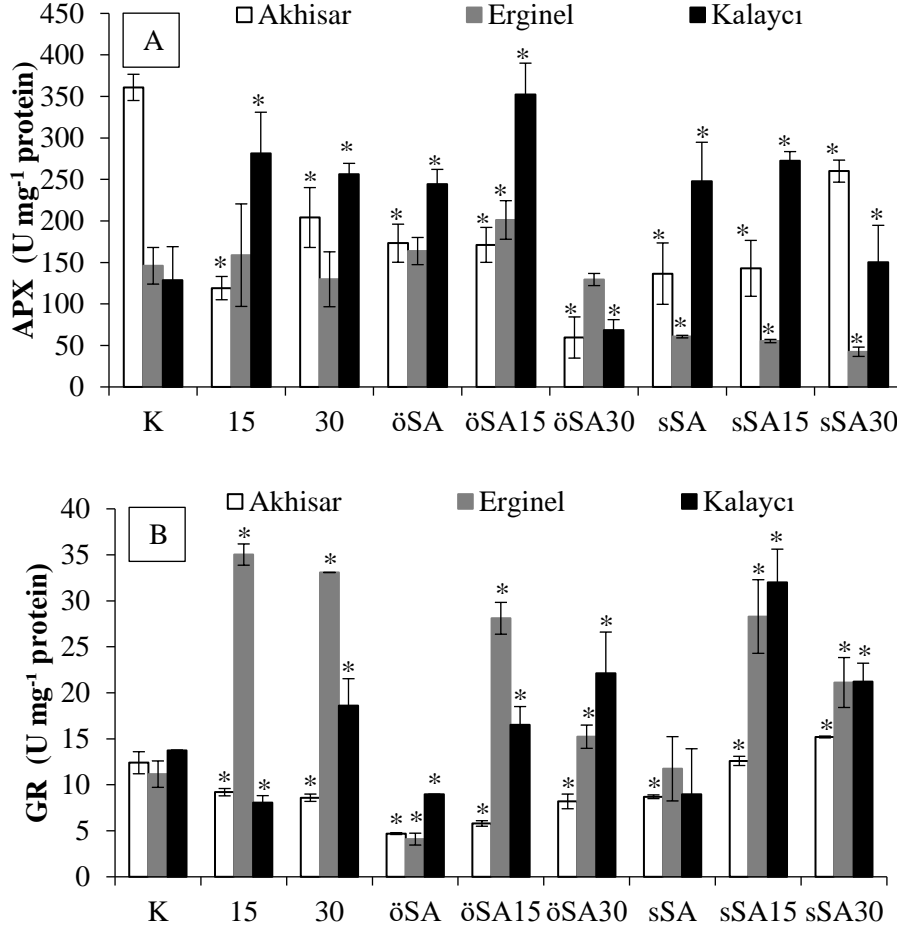


Şekil 2. Tuz stresi altında salisilik asit uygulamasının arpa çeşitlerinde (*Hordeum vulgare* L. cv. 'Akhisar', 'Erginel', 'Kalaycı') A) süperoksit dismutaz, B) peroksidaz ve C) katalaz enzim aktiviteleri üzerine etkileri. Sütunlar üzerindeki * aynı tür içinde istatistiksel bakımdan kontrol grubundan farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$). Sütunlardaki hata çubukları ortalama \pm standart hata (S.E)'yi ifade etmektedir ($n = 6$).

3.3.4. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi

Tuz stresi koşullarında APX aktivitesi, her iki NaCl konsantrasyonunda da Kalaycı çeşidinin köklerinde artarken Akhisar'da azalmıştır; Erginel'de ise herhangi bir değişim kaydedilmemiştir (Şekil 3A). 300

mM NaCl uygulamasında kontrole göre APX aktivitesi Kalaycı'da %99,4 artarken Akhisar'da %43,4 azalmıştır. Stres öncesi uygulanan SA, Erginel köklerindeki APX aktivitesinde değişime sebep olmazken, 300 mM NaCl uygulamasında büyütülen Kalaycı çeşidinde aktivite %73,3 ve Akhisar'da ise %70,8 azalmıştır. Diğer taraftan, stres esnasında uygulanan SA ise her üç çeşitte de etki göstermiştir. APX aktivitesi, 300 mM tuz uygulanan koşullarda SA uygulaması ile Akhisar'da (%27,4) artarken Erginel (%67) ve Kalaycı'da (%41,3) azalma kaydedilmiştir.



Şekil 3. Tuz stresi altında salisilik asit uygulamasının arpa çeşitlerinde (*Hordeum vulgare* L. cv. 'Akhisar', 'Erginel', 'Kalaycı') A) askorbat peroksidaz ve B) glutasyon redüktaz enzim aktiviteleri üzerine etkileri. Sütunlar üzerindeki * aynı tür içinde istatistiksel bakımdan kontrol grubundan farklı olduğunu göstermektedir ($P < 0,05$). Sütunlardaki hata çubukları ortalama \pm standart hata (S.E)'yi ifade etmektedir (n = 6).

3.3.5. Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi

Çalışmada kullanılan arpa çeşitlerinin köklerinde GR aktivitesi, tuz stresi koşullarında Erginel ve Kalaycı'da artış gösterirken Akhisar'da azalmıştır (Şekil 3B). Özellikle en yüksek aktivite farklılıklarının görüldüğü 300 mM tuz stresi altında büyüyen bitkilerde GR aktivitesi kontrol bitkilerine kıyasla Akhisar'da %30,6 azalmıştır. Oysaki, Erginel ve Kalaycı çeşitlerinde GR aktivitesi sırasıyla %66,1 ve 34,8 artmıştır. Stres öncesi uygulanan SA, 300 mM NaCl uygulanan stres koşullarında, Akhisar ve Kalaycı çeşitlerinde GR aktivitesini istatistiki olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) etkilememiştir. 150 mM tuz koşullarında büyüyen Kalaycı çeşidinde GR aktivitesi, öSA ile 2, sSA ile 4 kat artmıştır. Stres öncesi uygulanan SA, Akhisar'da 150 mM NaCl uygulanan koşullarda %37 azalma gösterirken, stres esnasında uygulanan SA, 150 ve 300 mM NaCl altında sırasıyla %37 ve 76,7 artış

sergilemiştir. Her iki SA uygulaması da Erginel’de GR aktivitesini azaltmıştır. Bu azalma, öSA + 150 mM NaCl’de %20 ve öSA + 300 mM NaCl’de %54,1 iken sSA + 150 mM NaCl’de %8,6 ve sSA + 300 mM NaCl’de %36,3 olarak belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Salisilik asit (SA), bitkilerde çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlara etki eden, önemli bir sinyal molekül olarak davranan ve biyotik ve abiyotik strese karşılık bitkinin göstereceği dirençte çeşitli etkilere sahip olan bir bitki hormonu olarak kabul edilmektedir [7,23]. Bitki toleransındaki rolü pek çok stresle ilişkilendirilmiş olsa da yapılan çalışmalar, literatürde abiyotik stres altındaki bitkilerde SA uygulaması ile antioksidan savunma sisteminin nasıl düzenlendiği henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. Örneğin, mısır bitkisine yapılan SA uygulaması kuraklık toleransını baskılamıştır [24]. *Arabidopsis*’te yaban tip bitkiye yapılan SA muamelesi ile 5°C’in altında bitki yaşayamazken, SA birikimi yapamayan NahG bitkilerinin bu koşullarda yaşayabildikleri [25], yüksek konsantrasyondaki SA’nın *Arabidopsis* bitkisinde NaCl tarafından oksidatif hasarı arttırdığı ve NahG bitkilerinin NaCl uygulamasına çok dayanıklı olduğu [26] bilinmektedir. Bu sonuçlar, SA’nın bitki türü ve uygulanan konsantrasyona bağlı olarak stres toleransında, karşı etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, tuz stresi koşullarında büyüyen bitkilerdeki fizyolojik süreçte, tuza hassas/tolerant çeşitlerin belirlenmesi ve bu süreçlerin SA uygulaması ile ne ölçüde etkilendiğinin ortaya konulması önemli bir sonuç meydana getirecektir.

Tuzluluk, bitki hücrelerinin metabolik aktivitesinde bitkinin büyümesindeki azalmayı yansıtacak şekilde azalma ile sonuçlanmaktadır [27] ve bitki büyümesi, tuz stres toleransının zirai anlamda en önemli markörlerinden biridir [28]. Büyümedeki azalmayı tespit etmeye yarayacak olan morfolojik gözlemlere bakıldığında, çalışmamızda, SA yokluğunda, tuz stresli arpa fidelerine ait büyüme parametrelerinde önemli azalmalar saptanmıştır. Kök uzunluğunda azalma belirlenerek çeşitler arasında Akhisar’ın tuza karşı direncinin daha az olduğu ortaya konulmuş; dolayısıyla Akhisar çeşidinin, aşırı tuz stresli ortamda en yüksek büyüme inhibisyonu gösterdiği tespit edilmiştir. Kalaycı ve Erginel’de de kök uzunluğunda artan tuz stresi ile azalma gözlenirse de azalma oranları Akhisar çeşidinden daha azdır. SA uygulaması ile çeşitler arasında farklı etkiler gözlenmiştir. Hem stres öncesi hem de stres esnasında uygulanan SA, bitki büyümesi üzerine tuzun zarar verici etkilerini hafifletmiştir. Büyüme üzerine SA’nın bu etkisi, Shakirova ve ark.nın [29] yaptığı çalışma ile destekleyici niteliktedir. SA’nın kök kuru ağırlığı üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, tuz stresi olmayan bir ortamda 0,5 mM SA uygulaması kök kuru ağırlığında değişim göstermemiştir [30]. Bu çalışmayı destekler nitelikte bizim çalışmamızda da, 0,5 mM konsantrasyonda her iki SA uygulaması ile Erginel’in kök kuru ağırlığında istatistiksel değişim gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, SA’nın büyüme parametreleri üzerindeki etkisinin türden türe değiştiğini ve aynı türün çeşitleri üzerinde de önemli değişimlere sebep olduğunu göstermektedir. Bitki büyümesi ile ilgili olarak SA’nın rolü diğer bitki büyüme düzenleyicilerine göre daha az çalışılmıştır. Ekzojenik SA’nın vejetatif büyüme üzerine etkileri bitki türleri, olgunlaşma safhaları ve SA’nın konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir.

Bitki hücrelerinde ozmotik ayarlanma organik çözünen maddeler olarak bilinen ozmolitlerin birikimi ile gerçekleştirilmektedir. Bu ozmolitler arasında önemli yeri olan prolin, ozmotik basıncı ayarlama, zar bütünlüğünü koruma, enzim/protein dengesini sağlama, NADP⁺/NADPH oranını koruma ve serbest radikalleri temizleme gibi çoklu işlevlere katılmaktadır [31]. Günümüzde yapılan araştırmalarla, birçok bitkinin strese cevap olarak prolin biriktirdiği ve biriken prolinin bitkinin stresten geri dönüşümünde gerekli olduğu çok iyi bilinmektedir [32]. Çalışmamızda, birçok çalışmada olduğu gibi artan tuz stresi ile azalan bağıl su içeriğine karşın arpa çeşitlerine ait köklerde prolin miktarlarında artış belirlenmiştir. Bitkilerde yüksek miktarlarda biriken prolin çevresel streslere karşı bir adaptasyon cevabıdır [33]. Tuzluluğa hassasiyet gösteren çeşitlerde kök ve yaprak gibi vejetatif organlardaki prolin miktarının artışının artan NaCl konsantrasyonu ile daha da artması bu bitkilerde ROS’ların temizlenmesi için daha fazla gereksinimin olduğunun göstergesi olarak değerlendirilebilir. Çalışmamızda, prolin artışı, 150 mM

NaCl'de Kalaycı, 300 mM NaCl'de ise Akhisar çeşidinde belirlenmiştir. Sonuçlarımızla benzer olarak, tuz stresi koşullarında prolin seviyelerindeki yüksek artışlar pancar [34], yonca [35] ve susam [36] gibi tuza toleransı yüksek bitki türlerinde rapor edilmiştir. Tuz stresi altında Akhisar ve Kalaycı'daki prolin miktarındaki artış, ozmotik ayarlamaların arpa çeşitleri tarafından geliştirilen tuzluluğa toleransın bir parçası olduğunu göstermektedir. Sodyum klorürün arpa çeşitleri üzerine SA'nın etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda, prolin içeriğinin SA ile önemli derecede ($P < 0,05$) değiştiği belirlenmiştir. Shakirova ve ark.nın [29] tuz stresi altındaki buğday fideleri ile yaptığı çalışmada, tuz stresi koşullarında yüksek düzeylerde biriken prolinin ekzojenik olarak uygulanan SA ile daha da arttığı ve dolayısıyla tuzluluğun oluşturduğu zararlı etkilerin hafifletildiği tespit edilmiştir. El-Tayeb [37]'in yine arpa bitkisi ile yaptığı tuz stresi çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kalaycı çeşidinde tuzla birlikte uygulanan SA, her iki SA uygulamasında da kökte prolin miktarında artışa sebep olmuştur. Diğer taraftan, Akhisar ve Erginel çeşitlerinde SA'nın uygulama zamanı açısından farklılıklar belirlenmesi çeşitler arasında tolerans farklılıkları olduğunu kesin göstergesi niteliğindedir. Genel olarak, literatür [29,31,37] ile de benzer sonuçlar elde ettiğimiz çalışmamızla, SA'nın prolin gibi önemli bir ozmolitin miktarında artışa sebep olduğu ve arpa çeşitlerinde NaCl stresine karşı ozmotoleransı arttırarak katkıda bulunduğunu ortaya konulmuştur.

Aşırı tuzluluk, bitkide su eksikliğini teşvik ederek, iyonik ve ozmotik stres etkilerini arttırarak ROS oluşumuna neden olup, lipid zarlarda, proteinlerde ve nükleik asitte oksidatif hasarla sonuçlanan oksidatif stres meydana getirir [38]. Tuz-teşvikli oksidatif stres esnasında, atmosferik CO₂' in varlığı stoma kapanmasındaki artış yüzünden azalır ve Kalvin çevrimi vasıtasıyla NADPH'nin birikimi azaltılır. Fotosentetik elektron taşınması esnasında ferrodoksin aşırı miktarda azaldığında, elektronlar PSI'den oksijene çok zararlı oksijen radikallerini üreten zincir bir reaksiyonu başlatan Mehler Reaksiyonu olarak adlandırılan süreç ile süperoksit radikallerinin oluşumu için aktarılabilmektedir [12,39]. Bitkiler sesil tabiatlarından dolayı çevresel streslere adaptasyon gösterirler. ROS'lar sinyal moleküller olarak davranırlar ve bitkilerde oluşan ROS'lara karşı savunma amaçlı antioksidan mekanizma devreye sokulur [40]. Çalışmamızda, tuz stresi koşullarında artan prolin miktarı ile birlikte antioksidan enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) değişimler ve SA'nın tuz stresi ile teşvik edilen enzim aktivitelerinde önemli rolleri belirlenmiştir. SOD, O₂⁻ radikalinin H₂O₂'e dönüşümünü sağlayan antioksidan enzimdir. SA uygulaması olmaksızın yalnızca tuz uygulaması yapılan grupta, Kalaycı çeşidinin köklerinde diğer iki çeşide kıyasla SOD aktivitesinin yüksek olması, oksidatif hasarın ve hücrel toksisitenin en fazla azaltıldığı çeşit olduğunu belirlenmesini sağlamıştır. Akhisar'da düşük olan ve Erginel'de değişmeyen SOD aktivitesi, artan tuz stresi koşullarında Kalaycı çeşidindeki kadar etkili bir antioksidan savunma sistemine sahip olmadıklarını göstermiştir. SOD aktivitesinin aynı türün çeşitleri arasında strese olan tolerans farklılıklarının ortaya konulması açısından literatürde benzer sonuçlar kaydedilmiştir [41-43].

SOD aktivitesinin ürünü olan H₂O₂, hücrel toksisite için önemli bir ajan ya da çevresel stres ve strese verilen cevaplar arasında potansiyel bir sinyal moleküldür [44] ve miktarı hücre içerisinde sayısız enzim tarafından düzenlenmektedir. CAT, peroksizom ve glioksizomlarda, POX, kloroplastlarda ve APX de kloroplast, sitozol, mitokondri ve peroksizomlarda H₂O₂'in süpürülme işlemini gerçekleştirerek oksidatif strese karşı bitkiyi korumada hayati rol oynarlar. Çalışmamızda, SOD, POX, CAT, APX ve GR enzimlerinin aktiviteleri, tuz stresi koşullarında en çok Kalaycı çeşidinin köklerinde teşvik edilmiştir. Dolayısıyla, Kalaycı çeşidinin Akhisar ve Erginel çeşitlerine göre çok daha etkili antioksidan savunma sistemine sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer sonuçlar, tuz stres toleransları farklı olan iki mısır çeşidi [45] ile iki farklı arpa türü [44] arasında da belirlenmiştir. Ayrıca, APX aktivitesinin tuz toleransı yüksek olan bitkilerde daha yüksek olduğu bulgularına benzer olarak, şeker pancarı [46] ve susam [36] bitkilerinde de rapor edilmiştir. Akhisar'da POX ve Erginel'de de GR aktivitesinin tuz stresi altındaki artışı, söz konusu enzimlerin oksidatif strese karşı bu çeşitlerde daha etkili olduğunu göstermektedir. Tuza tolerant olan bitkilerde GR aktivitesinin yüksek olduğu çeltik köklerinde [47], bezelye [48] ve mung fasulyesi yapraklarında [8] kaydedilmiştir. APX ve GR aktivitelerinin Akhisar köklerinde azalması askorbat-glutasyon döngüsünün bu arpa çeşidi için ROS temizlenmesinde etkili

olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, Erginel çeşidi ile diğer bir arpa çeşidi olan Tokak arasında yapılmış iki farklı karşılaştırılmalı çalışmaların birinde 12 günlük kuraklık stresi [49] ve diğerinde ise 12 günlük tuz stresi ile beraber paklobutrazol uygulaması [50] altında Erginel çeşidinin kuraklık toleransının düşük olduğu rapor edilmiştir. Önceki ve mevcut çalışmalara ait veriler arasındaki farklılıkların uygulama koşulları ve tuz stresinin uygulama süresinin daha kısa olması durumlarından kaynaklandığı varsayılabilir.

Tuz stresi koşullarında, üç farklı arpa çeşidinde teşvik edilen antioksidan savunma sistemine SA'nın etkisi incelendiğinde, çeşitler arasında farklı düzenlenmeler olduğu belirlenmiştir. Kalaycı çeşidinde GR enzim aktivitesi hariç SA'nın stres öncesinde yapılan uygulamasının daha etkili bir savunma yaptığı belirlenmiştir. SA muamelesi ile tuz stresi altında POX aktivitesindeki artış başka bir çalışmada da kaydedilmiştir [37]. Genç buğday fidelerinin kökleri ile yapılan tuz stresi ve SA'nın etkileri üzerine olan çalışmada da SOD ve POX aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir [51]. Erginel'de SA'nın her iki uygulaması, antioksidan savunma sistemini etkili bir şekilde arttırmazken, dikkat çekici durum, SA'nın tuz stresi ile birlikte uygulandığında her iki tuz konsantrasyonunda da CAT aktivitesinin arttığı saptanmasıdır. SA uygulaması olmayan gruba kıyasla CAT aktivitesinde görülen bu artış, kökte H₂O₂'in süpürülme işleminin etkili şekilde gerçekleştiğinin göstergesidir. Literatürde SA uygulamasının CAT [52,53] ve APX [54] enzim aktivitelerini inhibe ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda, tuz stresi toleransının diğer çeşitlere göre yüksek olduğu belirlenen Kalaycı çeşidinde her iki SA uygulamasının CAT aktivitesini düşürdüğü; fakat tuza hassasiyeti belirlenen Akhisar ve Erginel çeşitlerinde özellikle tuzla beraber yapılan SA uygulamasında aktivitenin arttığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, stres öncesinde uygulanan SA, APX aktivitesini Kalaycı'da arttırırken, stresle beraber uygulandığında Akhisar'da artmıştır. Stres öncesinde yapılmış olan SA ön muamelesi fasulye bitkisinde tuz stresi altında CAT ve APX aktivitelerini azalmıştır [30]. Shakirova [55], SA uygulaması ile SOD, APX ve GR aktivitelerinde artış ve CAT aktivitesinde de azalma olabileceğini kaydetmiştir. Dahası, tuz stresine maruz bırakılmış hardal bitkisi üzerine SA'nın etkilerinin araştırıldığı çalışmada, çeşitli antioksidan enzim (SOD, CAT ve POX) aktivitelerinin artışı ile doğru orantılı olarak belirlenen prolin artışı tuza veya SA'ya maruz kalmanın sonucu olarak tuz stresine karşı geliştirilen toleransın göstergesi olduğu saptanmıştır [56].

SA uygulaması ile CAT ve APX aktivitelerinde bitki bazında farklı sonuçlar mevcuttur ve bu sonuçlar, SA'nın uygulanma zamanına, stresin şiddetine ve bitkinin türüne göre enzim aktivitelerinin değiştiğini göstermektedir. SOD, POX ve GR değişimlerine de bakıldığında antioksidan enzim aktivitelerinin SA ile düzenlendiğini ve SA'nın tuz stresine karşı aynı türe ait çeşit düzeyinde koruma sağladığını açıkça ortaya koymaktadır. Tuz stresi altında SA'nın bitki büyümesini teşvik etmesi, prolin miktarında artışa sebep olması ve etkili antioksidan savunma sistemi yardımıyla tuzun zararlı etkilerini azaltabilme kabiliyeti, tuzluluktan dolayı yaşanabilecek ürün kayıplarını önleyebileceğini göstermektedir. Arpa kökleri ile yapılmış olan deneysel sonuçlara göre, üç çeşit arasında tuz stresine toleransı en yüksek olan Kalaycı, en düşük olan ise Akhisar'dır. SA uygulamaları arasındaki farklılık çeşide ve antioksidan enzimin türüne göre değişmekle birlikte, antioksidan savunma sisteminde meydana getirdiği değişikliğe göre en etkili SA uygulaması Kalaycı'da stres öncesinde, Akhisar ve Erginel'de stresle beraber yapılan uygulamalarla olduğu tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma "Tuz Stresine Maruz Bırakılan Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Çeşitlerinde Salisilik Asit Muamelesinin İçsel Fitohormonlar Düzeyinde Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkilerinin Araştırılması" başlıklı doktora tezinden üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Sekmen, AH, Ozgur R, Uzılday B, Turkan I. Reactive oxygen species scavenging capacities of cotton (*Gossypium hirsutum*) cultivars under combined drought and heat induced oxidative stress. *Environ Exp Bot* 2014; 99: 141-149.
- [2] Mittler R, Blumwald E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives, *Annu Rev Plant Biol* 2010; 61: 443-462.
- [3] Peleg Z, Reguera M, Tumimbang E, Walia H, Blumwald E. Cytokinin-mediated source/sink modifications improve drought tolerance and increase grain yield in rice under water-stress. *Plant Biotechnol J* 2011, 9(7): 747-758.
- [4] Flowers TJ. Improving crop salt tolerance. *J Exp Bot* 2004; 55: 307-319.
- [5] Zhu JK. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 2002; 53: 247-273.
- [6] Rengasamy P. Transient salinity and subsoil constraints to dryland farming in Australian sodic soils: an overview. *Aust J Exp Agr* 2002; 42: 351-361.
- [7] Syeed S, Anjum NA, Nazar R, Iqbal N, Masood A, Khan NA. Salicylic acid-mediated changes in photosynthesis, nutrients content and antioxidant metabolism in two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Acta Physiol Plant* 2010; 33: 877-886.
- [8] Nazar R, Iqbal N, Syeed S, Khan NA. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *J Plant Physiol* 2011; 168: 807-815.
- [9] Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 2000; 51: 463-499.
- [10] Bose J, Rodrigo-Moreno A, Shabala S. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. *J Exp Bot* 2014; 65: 1241-1257.
- [11] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. The reactive oxygen gene network in plants. *Trends Plant Sci* 2004; 9: 490-498
- [12] Turkan I, Demiral T. Recent developments in understanding salinity tolerance. *Environ Exp Bot* 2009; 67: 2-9.
- [13] Raskin I. Role of salicylic acid in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol* 1992; 43: 439-463.
- [14] Senaratna T, Touchell D, Bunn E, Dixon K. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regul* 2000; 30: 157-161.
- [15] Islam S, Malik AL, Islam AKMR, Colmer TD. Salt Tolerance in a *Hordeum marinum*-*Triticum aestivum* amphiploid, and its parents. *J Exp Bot* 2007; 58: 1219-1229.
- [16] Hoagland DR, Arnon DI. The water culture method for growing plants without soil. *Calif Agric Exp Stn* 1950; 347: 1-32.

- [17] Bates LS, Waldren RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 1973; 39: 205-207.
- [18] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem* 1971; 44: 276-287.
- [19] Mika A, Lüthje S. Properties of guaiacol peroxidase activities isolated from corn root plasma membranes. *Plant Physiol* 2003; 132: 1489-1498.
- [20] Aebi H. Catalase in vitro. In: Packer, L, editor. *Methods in Enzymology*. Orlando, FL: Academic Press, 1984. pp. 121-126.
- [21] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 1981; 22: 867-880.
- [22] Foyer CH, Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta* 1976; 133: 21-25.
- [23] Arfan M, Athar HR, Ashraf M. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? *J Plant Physiol* 2007; 6: 685-694.
- [24] Németh M, Janda T, Horváth E, Páldi E, Szalai G. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Sci* 2002; 162: 569-574.
- [25] Scott IM, Clarke SM, Wood JE, Mur LA. Salicylate accumulation inhibits growth at chilling temperature in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2004; 135: 1040-1049.
- [26] Borsani O, Valpuesta V, Botella MA. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol* 2001; 126: 1024-1030.
- [27] Ramagopal S. Salinity stress induced tissue specific proteins in barley seedlings. *Plant Physiol* 1987; 84: 324-331.
- [28] Munns R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ* 2002; 25: 239-250.
- [29] Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fatkhutdinova RA, Fatkhutdinova DR. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci* 2003; 164: 317-322.
- [30] Palma F, Lluch C, Iribarne C, Garcia-Garrida JM, Tejera Garcia NA. combined effect of salicylic acid and salinity on some antioxidant activities, oxidative stress and metabolite accumulation in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Growth Regul*, 2009; 58: 307-316.
- [31] Misra N, Saxena P. Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. *Plant Sci* 2009; 177: 181-189.
- [32] Szabados L, Savaouré A. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci* 2010; 15: 89-97.
- [33] Rai V K. Role of amino acids in plant responses to stress. *Biol Plant* 2002; 45: 481-487.

- [34] Gzik A. Accumulation of proline and pattern of α -amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress. *Environ Exp Bot* 1996; 36: 29-38.
- [35] Petrusa L, Winicov I. Proline status in salt tolerant and salt sensitive alfalfa cell lines and plants in response to NaCl. *Plant Physiol Biochem* 1997; 35: 303-310.
- [36] Koca H, Bor M, Özdemir F, Türkan I. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environ Exp Bot* 2007; 60: 344-351.
- [37] El-Tayeb MA. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regul* 2005; 45: 215-224.
- [38] Parida AK, Das AB. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol Environ Saf* 2005; 60: 324-349.
- [39] Hsu SY, Kao CH. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. *Plant Growth Regul* 2003; 39: 83-90.
- [40] Khan W, Prithviraj B, Smith DL. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *J Plant Physiol* 2003; 160: 485-492.
- [41] Sreenivasulu N, Grimm B, Wobus U, Weschke W. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiol Plant* 2000; 109: 435-442.
- [42] Amor NB, Jiménez A, Megdiche W, Lundqvist M, Sevilla F, Abdelly C. Response of antioxidant systems to NaCl stress in the halophyte, *Cakile maritima*. *Physiol Plant* 2006; 126: 446-457.
- [43] Sabra A, Daayf F, Renault S. Differential physiological and biochemical responses of three *Echinacea* species to salinity stress. *Sci Hortic* 2012; 135: 23-31.
- [44] Seckin B, Türkan I, Sekmen AH, Ozfidan C. The Role of antioxidant defense system at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). *Environ Exp Bot* 2010; 69: 76-85.
- [45] Azevedo Neto AD, Prico JT, Eneas-Filho J, Braga De Abreu CE, Gomes-Filho E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environ Exp Bot* 2006; 56: 235-241.
- [46] Bor M, Özdemir F, Türkan I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Sci* 2003; 164: 77-84.
- [47] Demiral T, Turkan I. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environ Exp Bot* 2005; 53: 247-257.
- [48] Hernández JA, Jiménez A, Mullineaux P, Sevilla F. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. *Plant Cell Environ* 2000; 23: 853-862.
- [49] Acar O, Türkan I, Ozdemir F. Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties, *Acta Physiol Plant* 2001; 23: 351-356.

- [50] Özmen AD, Özdemir F, Türkan I. Effects of paclobutrazol on response of two barley cultivars to salt stress. *Biol Plant* 2003; 46: 263-268.
- [51] Hayat Q, Hayat S, Irfan M, Ahmad A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environ Exp Bot* 2010; 68: 14-25.
- [52] Chen Z, Silva H, Klessig DF. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 1993; 262: 1883-1886.
- [53] Ansari MS, Misra N. Miraculous role of salicylic acid in plant and animal system. *Am J Plant Physiol* 2007; 2: 51-58.
- [54] Durner J, Klessig DF. Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11312-11316.
- [55] Shakirova FM. Role of hormonal system in the manifestation of growth promoting and antistress action of salicylic acid. In: Hayat S, Ahmad A, editors. *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer, Dordrecht, 2007. pp. 69-89.
- [56] Yusuf M, Hasan SA, Ali B, Hayat S, Fariduddin Q, Ahmad A. Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. *J Integr Plant Bio* 2008; 50: 1-4.