

Fasulye (*Phaseolus Vulgaris* L.) Çeliklerinde Ağırlık Değişimleri, Pigment ve Protein Miktarları Üzerine Asetilsalisilik Asit ve Tuz (NaCl) Uygulamasının Karşılıklı Etkileri

Interactive Effects of Acetylsalicylic Acid and Salt (NaCl) Application on Weight Changes, Pigment and Protein Amounts at Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) Shoots

Songül ÇANAKÇI

Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü. Elazığ-TÜRKİYE

Ömer MUNZUROĞLU

Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü. Elazığ-TÜRKİYE

ÖZET

*Bu çalışmada, sera koşullarında yetiştirilen bir haftalık fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerinden alınan çeliklerde ağırlık ve yaş-kuru ağırlık değişimi, pigment ve protein miktarı üzerine 50 ppm asetilsalisilik asit (ASA) ile % 1 NaCl 'nin karşılıklı etkileri araştırılmıştır. Deneme çözeltileri çeliklerin kesik gövde uçlarına kapalı bir sistem yoluyla uygulanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; yaş ağırlık artışı bakımından 50 ppm ASA uygulanmış çelikler ile kontrol grubuna ait çelikler arasında istatistik açıdan fark gözlenmemiştir. Ancak 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanmış çeliklerdeki yaş ağırlık kaybının % 1 NaCl uygulanmış çeliklere göre daha az olduğu gözlenmiştir. Tuz stresine maruz bırakılmış çeliklerin su içerikleri ASA uygulanmış çeliklere göre daha düşük çıktığı için, ASA uygulaması kuru madde miktarının % olarak değerini düşürmüştür. Su içeriği miktarının gruplara göre ve sırasıyla çoktan aza doğru kontrol, 50 ppm ASA, 50 ppm ASA + % 1 NaCl, % 1 NaCl şeklinde olduğu gözlenmiştir. Çeliklerdeki klorofil b ve total pigment II miktarının gruplara göre ve sırasıyla çoktan aza doğru 50 ppm ASA >kontrol > 50 ppm ASA + % 1 NaCl >% 1 NaCl şeklinde olduğu gözlenmiştir. Klorofil a ve total pigment I miktarının gruplara göre ve sırasıyla çoktan aza doğru kontrol = 50 ppm ASA > 50 ppm ASA + % 1 NaCl = % 1 NaCl şeklinde olduğu gözlenmiştir. Çeliklerin karotenoid içerikleri ise sadece kontrol grubunda yüksek çıkmış, diğer gruplar arasında herhangi bir fark belirlenmemiştir.*

Çeliklerde total protein miktarlarının gruplara göre ve sırasıyla çoktan aza doğru kontrol = 50 ppm ASA > 50 ppm ASA + % 1 NaCl > % 1 NaCl şeklinde olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, asetilsalisilik asit tuzun yarattığı osmotik etkiye karşı; çeliklerde yaş ağırlık kaybını, klorofil b ve total pigment II yıkımını belirli oranlarda engellemiştir. Karotenoid miktarı üzerinde önemli bir etkide bulunmamıştır. Ayrıca çeliklerde strese bağlı olarak ortaya çıkan protein yıkımını azaltmıştır.

Anahtar kelimeler: Asetilsalisilik asit, *Phaseolus vulgaris*, Çelik, Sodyumklorür (NaCl).

ABSTRACT

The aims of this study were to investigate the interactive effects of 50 ppm acetylsalicylic acid (ASA) and 1 % NaCl on amount of protein and pigment, changes of wet-dry weight at shoots taken from one-week-old bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. Experiment solutions applied to stem cut tips of seedlings via a closed set. According to the experimental results; from the wet weight increase point of view, no difference was, statistically, observed between shoots of control and 50 ppm ASA treated groups. However, wet weight lost of shoots treated with 50 ppm + 1 % NaCl was found lower than that of 1 % NaCl treated ones. Because of little water content at shoots that subjected to salts stress, the dry substance percent amount was found to be lower than the ASA treated shoots. Water contents of control (buffer), 50 ppm ASA, 50 ppm ASA + 1 % NaCl and 1 % NaCl groups were observed to be higher sequentially. Total pigment II and chlorophyll b levels were found as 50 ppm ASA > control > 50 ppm ASA + 1 % NaCl > 1% NaCl treated shoot groups. Total pigment I and chlorophyll a levels were found as control = 50 ppm ASA > 50 ppm ASA + 1 % NaCl = 1% NaCl treated shoot groups. Carotenoid amount of control shoots was higher than that of the other groups. There was not any difference statistically in carotenoid amounts between other three groups. Total protein levels were found as control = 50 ppm ASA > 50 ppm ASA + 1 % NaCl > 1% NaCl in shoots. As a result, opposite to the osmotic effect created by salt ASA application inhibited the wet weight lost, collapsing of chlorophyll b and total pigment II were decreased at certain levels in shoots. It has not affected carotenoid amount at an important level. In addition, it also decreased the protein collapsing at shoots in stress created by salt.

Key words: Acetylsalicylic acid, *Phaseolus vulgaris*, Cutting, Sodiumchloride (NaCl).

1. Giriş

Ticarî üretim şekli asetilsalisilik asit (ASA) olan salisilik asit (SA)'in bazı bitkilerde çiçeklenmeyi teşvik ettiği (Raskin ve ark., 1989), termogenik etkide bulunduğu (Raskin

ve ark.,1989; Chen ve ark., 1993), termotoleransı arttırdığı (James ve ark.,1998), yaprak dökümünü önemli oranlarda azalttığı (Ferrarese ve ark., 1996), patojenlere karşı direnç sağladığı (Salisbury ve Ross, 1992), etilen biyosentezini inhibe ettiği (Roustan ve ark, 1990), yapraklarda antitranspirant etki yaptığı (Eriş, 1981) rapor edilmiştir. ASA'in bazı bitkilerde çiçeklenmeyi teşvik ettiği (Salisbury ve Ross, 1992), proteinlerin nitelik ve niceliklerini değiştirdiği (Jung ve ark., 1993) tespit edilmiştir. Fenolik bileşiklerin doğal bir herbisit olduğu (Shettel ve Balke, 1983) ve adventif köklenmeyi stimüle ettiği (Kling ve Meyer, 1983) bildirilmiştir. Fenolik bileşiklerin bitki büyümesi sırasında absisik asit (ABA)'in (Apte ve Laloraya, 1982; Pawor ve ark., 1984), gibberellinlerin (Corcoran, 1976) ve sitokininlerin (Ray ve ark., 1983) etkilerini modifiye ederek çalıştıkları ileri sürülmüştür (Ray, 1986).

Fenolik bileşikler stomatal açılmayı önemli ölçüde etkiler. Fakat bu bileşiklerin konsantrasyona bağlı etkileri yeterince açık değildir. ASA'in yüksek konsantrasyonlarda stomaların kapanmasına neden olduğu, yani antitranspirant etki oluşturduğu (Larque-Saavedra, 1975-79), çok düşük konsantrasyonlarda ise stoma açılmasına meyil oluşturduğu tespit edilmiştir (Larque-Saavedra, 1979). 10^{-3} M ASA fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeliklerinde, transpirasyon oranını kontrole göre % 43 oranında azaltmış ve bu oran 5×10^{-5} M ABA'in yaptığı etkiye eş değer bulunmuştur (Larque-Saavedra, 1978). ASA'in çeşitli stres faktörlerine karşı bitkiye direnç sağladığı bilinen bir gerçektir (Duygu, 1981b; Bergmann ve ark.,1994). 1-2 kg/ha ASA püskürtülen arpa, patates ve şeker pancarı bitkilerinde ürün verimi önemli oranlarda artmış ve bu uygulamanın kuraklığa karşı direnç kazandırdığı ileri sürülmüştür (Bergmann ve ark.,1994). Schrader ve Hageman (1967) mısır (*Zea mays* L. cv.) fidelerinin kökünde ve sürgünlerinde SA'in düşük konsantrasyonlarının nitratredüktaz aktivitesi (NRA)'ni arttırdığını ve yüksek SA (5mM) konsantrasyonunun bu aktiviteyi azalttığını göstermişlerdir. NRA üzerinde, SA'nın bu etkisinin bitki hormonlarından geçerek etkili olabileceği ileri sürülmüştür (Shneider ve Whitman, 1974). SA'in membran lipitlerinde eriyerek iyon alımını etkilediği (Glass, 1973; Glass ve Dunlop, 1974) ve böylece kuru ağırlık miktarını azalttığı (Shettel ve Balke, 1983), tıpkı

kalsiyum, jasmonik asit ve etilen gibi bir stres habercisi olduğu (Senaratha ve ark., 2000; Hare ve ark., 1997; Rhoads ve McIntosh, 1992) ileri sürülmüştür. SA (Duygu ve Çökmüş, 1981) ve ASA'nın multipli strese (sıcaklık, kuraklık ve soğuk) karşı tolerans sağladığına dair raporlar mevcuttur (Senaratha ve ark., 2000). Bilindiği gibi multipli stres faktörlerinin bitkiler üzerindeki önemli etkilerinden biri senesensdir. Klorozis ise senesensin önemli bir dış göstergesidir. Domates ve fasulye fideleriyle yapılan bir çalışmada farklı konsantrasyonlardaki SA ve ASA'nın fidelerin daha uzun süre yeşil kalabilmesini sağladığı rapor edilmiştir (Senaratha ve ark., 2000).

Bitkilerin temel yetiştirme ortamı olan topraktan kaynaklanan sorunların en başta gelenlerinden biri tuzluluktur. Kuraklığın ve yüksek tuz konsantrasyonunun bitkilerde yarattığı stres temelde aynıdır. Bu da bilindiği gibi susuzluk, yani su stresidir. Benzioni ve ark., (1967), kök ortamında tuzluluk veya osmotik strese maruz kalmış *Nicotiana rustica* bitkilerinden stres kaldırıldıktan 2 saat sonra, yapraklardan diskler alarak, bunların L-leusin ¹⁴C'ü protein yapısına katma hızını ölçmüşler ve stresin bu hızı azalttığını gözlemişlerdir. Bu sonucun tuz stresinin yaprak dokusundaki içsel sitokinin düzeyini azaltmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Su stresi uygulanan şeker pancarı yapraklarında RNA ve protein seviyelerinde bir azalma gözlenmiştir (Shah ve Loomis,1965). RNA seviyesindeki düşme, su stresinin başlamasından önce veya sulamadan hemen sonra yapraklar benziladenin (BA) ile muamele edilirse, önlenilmektedir (Shah ve Loomis,1965). Sitokinlerin klorofil parçalanmasını yavaşlattığı ve sentezini arttırdığı bilinmektedir (Baltepe, 1986). Strese maruz kalmış bitkilerde, plastit oluşumunda ve klorofil - karotenoid sentezinde görülen azalmanın absisik asit birikiminden (Duysen ve Freeman,1976), ya da sitokinin seviyesindeki azalmadan (Itai ve Ben- Zioni, 1973) kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Sekonder bir bitki ürünü olmasına rağmen SA'in bilinen birçok fizyolojik etkiden dolayı önemli bir bitki hormonu sayılabilecek konumda olduğu ileri sürülmektedir (Raskin, 1992; Biddington,1992; Salisbury ve Ross, 1992; Raskin, 1995; Losanka ve ark.,1997).

Stres altındaki bitkide önemli metabolik değişiklikler olmakta ve bitki genel olarak daha erken yaşlanmaktadır. Protein sentezinin azalması veya yıkımının artması, klorozis ve

nekrozis yaşlanmanın önemli göstergelerindendir. Günümüzde ziraatı yapılan ve yaş olarak tüketime sunulan çok sayıda bitkisel ürün ve süs bitkileri mevcuttur. Bunlarda tazeliğin korunması ve yaşlanmanın geciktirilmesi oldukça önemlidir. Kimyasallar kullanarak, yani dış müdahalelerle bitkilerin verimini artırmak, ayrıca sebze ve meyvelerde tazeliği korumak ülkemiz tarımı açısından önemlidir. ASA'in yurdumuzda üretilebilmesi, ucuz ve toprakta çabuk parçalanabilir olması gibi özelliklere sahip olması, ona bu amaçla kullanılan diğer bir çok kimyasal maddeye göre önemli avantajlar sağlamaktadır. ASA'in bu ve benzeri çalışmalarla test edilmesi, onun gelecekte daha yaygın bir şekilde ülkemiz tarımında kullanılarak verim artışına katkı sağlayacağı kanısındayız.

2. Materyal ve Metot

Araştırmalarımızda, bitkisel materyal olarak fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. Strike) tohumlarının çimlendirilmesinden geliştirilen bir haftalık fidelerden elde edilen çelikler kullanılmıştır. Çünkü salisilik asitin bazı etkilerini kesilmiş ve strese maruz bırakılmış bitki parçalarında gözleyebilmek daha kolay olmaktadır. Fideler sera koşullarında, Rovira, 1956'ya göre hazırlanmış mineral madde içermeyen kum kültüründe yetiştirilmiştir. Sera koşulları, ışık için; saksı kenarında yaklaşık 2500 lux, saksı kenarından 14 -15 cm yukarıda yaklaşık 3000 lux, sıcaklık için; gündüz 25-27 °C, gece 19-21 °C, fotoperiyot; 16 saat ışık, 8 saat karanlık (uzun gün) olacak şekilde düzenlenmiştir. Kristal asetilsalisilik asit 0,5 ml % 95'lik etanol kullanılarak çözülmüştür (Shettel ve Balke, 1983; Robert, 1982-83). Çalışmalarımızda kullandığımız kontrol (saf su) da dahil tüm çözeltiler erlenlere bırakılmadan önce pH'ları 0.05 M NaOH ve HCl ile 4.5-5.0'e ayarlanmıştır (Larque-Saavedra, 1978).

Fasulye çeliklerine gövdenin kesik yüzeyinden yapılacak uygulamalar için gerekli olan erlen + çelik düzenekleri şu şekilde hazırlanmıştır; kum kültüründen çıkarılan bir haftalık homojen görümlü fideler kök boğazının 0.5-1.0 cm yukarisından zedelenmeden kesilmiş ve kök kısmı atılmıştır. Elde edilen çelikler hemen hassas

teraziyle tartılarak, her birinin ilk ağırlığı saptanmıştır. Daha sonra bu homojen görünümlü çeliklerden her biri, gövdesi pamukla sarıldıktan sonra, içerisinde 85 ml çözelti (kontrol, 50 ppm ASA, %1 NaCl, 50 ppm ASA + %1 NaCl) bulunan 100 ml'lik erlenlere zedelenmeden yerleştirilmiştir. Gerek ASA ve gerekse tuz için bu konsantrasyonların seçilmesinde, yapılan çok sayıdaki ön denemeden elde edilen gözlemler kriter alınmıştır. Erlenlerin ağız kısmındaki pamuk vazelinlenerek, iç ortamın dış ortamla olan bağlantısı tamamen kesilmiştir. Her bir grup için bu şekilde hazırlanan 10'ar tane erlen + çelik düzeneği kullanılmıştır. Bütün parametreler için, sera koşullarındaki 48 saatlik inkübasyon süresinin I. günün 16 saatlik ışık periyodunun ilk saati başlangıç olarak alınmıştır.

2.1. Yaş-Kuru Ağırlık Tespiti

Yaş-kuru ağırlık miktarını tespit etmek için, Materyal ve Metot kısmında belirtildiği gibi hazırlanmış erlen + çelik düzeneği seraya kaldırılmıştır. Bu işlemde 48 saat sonra, erlenlerinden çıkarılan çeliklerin bekletilmeden son yaş ağırlıkları tespit edilmiştir. İlk yaş ağırlık ve son yaş ağırlık değerlerine ait farklardan ağırlık değişimi % olarak hesaplanmıştır. Daha sonra bütün gruplara ait çelikler gerekli işaretlemler yapıldıktan sonra sıcaklığı 105 °C'ye ayarlı etüve kaldırılmış ve 6 saat süreyle kurumaya terk edilmiştir. Bu 6 saatlik zaman periyodunda, ağırlık değişiminin sabitleştiği 3 farklı tartım ile belirlenmiştir. Böylece kuru ağırlıkları saptanan çeliklerin su içerikleri ve kuru madde miktarları hesaplanmıştır (Baltepe ve ark., 1982).

2.2. Pigment Analizi

Klorofil a, klorofil b, karotenoid, total pigment I ve total pigment II miktarını tespit etmek için, Materyal ve Metot kısmında belirtildiği gibi hazırlanmış erlen + çelik düzeneği seraya kaldırılmıştır. Bu işlemde 48 saat sonra, erlenlerinden çıkarılan çeliklerin bekletilmeden son yaş ağırlıkları tespit edilmiş ve Witham ve ark., 1971'e göre pigment analizine geçilmiştir. Bu amaçla, her bir grup için primer yapraklardan oluşan 1 g doku kullanılmıştır. Daha sonra CE-5502 Scanning Double Beam UV Spektrofotometrede bu ekstraktların 440, 645, 652 ve 663 nm dalga boylarında ayrı ayrı

absorbansları (optik yoğunlukları) köre (% 80'lik asetona) karşı okunmuştur. Absorbans tayinlerinde 1 cm³ hacmindeki kuarz tüpler kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerlerinden klorofil a, klorofil b, karotenoid, total pigment I (kla 683, P700, karotenoidler) ve total pigment II (kla 673, klb, fikobilinler) miktarları hesaplanmıştır (Witham ve ark., 1971).

2.3. Protein ekstraksiyonu ve Tespiti

Protein miktarını tespit etmek için, Materyal ve Metot kısmında belirtildiği gibi hazırlanmış erlen + çelik düzenekleri seraya kaldırılmıştır. Bu işlemden 48 saat sonra, erlenlerinden çıkarılan çeliklerin bekletilmeden son yaş ağırlıkları tespit edilmiş ve protein analizine geçilmiştir. Protein ekstraksiyonu Ross, (1974)'da anlatılan Larson ve Beevers (1965) metoduna göre yapılmıştır. Bu amaçla her bir grup için 3.5 g taze doku kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemlerinden sonra, ekstraktların her biri deney tüplerine ayrı ayrı konulmuş ve CE-5502 Scaning Double Beam UV Spektrofotometrede 725 nm' de köre karşı absorbansları okunmuştur.

Total protein miktarı Lowry ve ark., (1951) metoduna göre belirlenmiştir. Bu amaçla bir standart protein eğrisi çizilmiştir. Standart protein eğrisinin çiziminde ilk olarak Sigma Diagnostics 'ten temin edilen 0.1 g.ml⁻¹ konsantrasyonundaki sığır serum albumini stok proteininden standart konsantrasyonlar (mg.ml⁻¹) hazırlanmıştır. Metotta anlatılan işlemlerden geçirilen örnekler, CE-5502 Scaning Double Beam UV Spektrofotometrede 725 nm'de okunmuştur. Spektrofotometrede okunan absorbans değerleri kullanılarak bir standart eğri çizilmiştir. Daha sonra çeliklerden elde edilen ekstraktlara ait absorbans değerleri bu standart eğride yerine konularak, buna karşılık gelen protein konsantrasyonu mg.g⁻¹ yaş ağırlık cinsinden tespit edilmiştir. Böylece çelik ekstraktının 150 ml'sindeki dokunun gramı başına protein miktarı hesaplanmıştır.

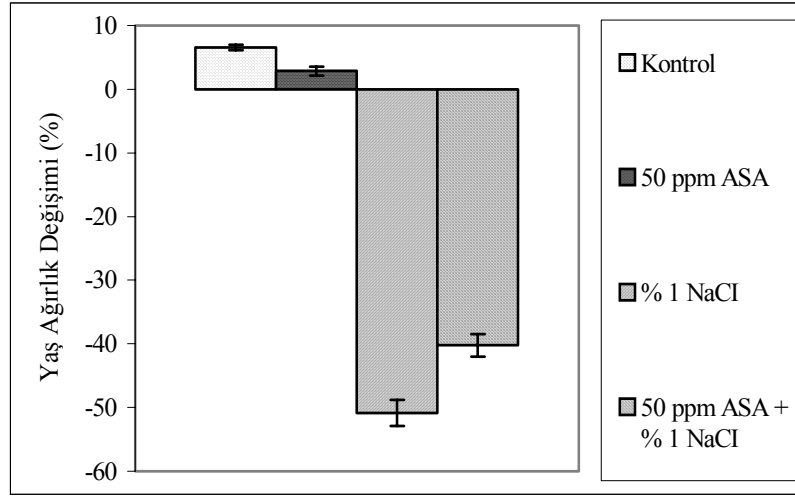
Bütün deneyler 3 defa tekrar edilmiştir. Sonuçlar ortalamanın standart hatası hesaplanarak analiz edilmiştir. Ortalamaların standart hatası histogramların üzerinde dikey çizgiler (bar) şeklinde verilmiştir.

3. Sonuçlar ve Tartışma

3.1. Yaş-Kuru Ağırlık Değişimi

Fasulye çeliklerine gövdenin kesik yüzeyinden yapılan uygulamaların ağırlık değişimleri üzerindeki etkilerine ait sonuçlar Şekil-1'de verilmiştir. Şekil-1'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi fasulye çeliklerinde kontrol grubuna göre; yaş ağırlık artışı 50 ppm ASA uygulanan çeliklerde % 55.81 oranında düşük, yaş ağırlık kaybı % 1 NaCl ve 50 ppm ASA+% 1NaCl uygulanan çeliklerde sırasıyla % 877.52 ve % 714.67 oranlarında yüksek bulunmuştur. 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklere göre ise, % 1 NaCl uygulanan çeliklerde yaş ağırlık kaybı % 26.49 oranında yüksek bulunmuştur. Yaş-kuru ağırlık değişimi bakımından genel olarak kontrol çeliklerine göre; 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklerde kuru ağırlık miktarında sırasıyla % 12.96, % 216.05 ve % 163.25 oralarında artış ve su içeriği miktarlarında yine sırasıyla % 1.18, % 19.83 ve % 14.98 oranlarında azalış olmuştur. 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklere göre ise, % 1 NaCl uygulanan çeliklerde kuru ağırlık miktarı % 20.05 oranında yüksek, su içeriği miktarı % 5.70 oranında düşük bulunmuştur (Tablo-1ve Şekil-2).

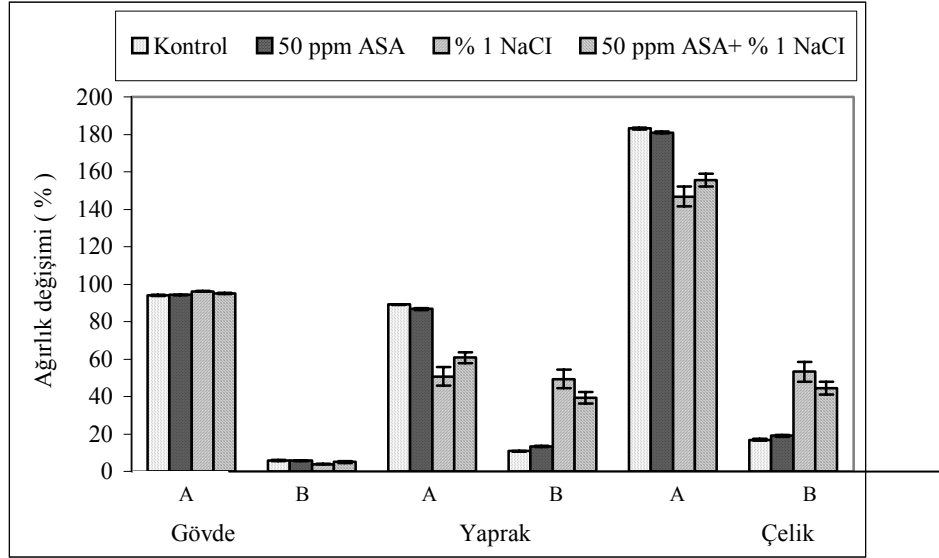
Bütün bu ağırlık değişimlerinin temelinde çeliklerin pasif su alabilme yetenekleri yatmaktadır. Diğer taraftan tuz stresine maruz bırakılmış çeliklerde gözlenen ağırlık kaybında, solunum klimakteriği ve dolayısıyla doku yıkımının önemli rolü olduğu düşüncesindeyiz. Nitekim 50 ppm ASA + % 1 NaCl grubuna ait çeliklerin gövde ve yapraklarında doku yumuşaması ve büzüşmeler % 1 NaCl grubuna ait çeliklere göre daha az oluşmuştur. ASA'nın antitranspirant özelliğinin (Larque-Saavedra, 1978) ve tuzun yarattığı osmotik stresin çeliklerin su alabilme kapasitesini belirli bir noktaya kadar sınırlaması kaçınılmazdır. Strese sokulmuş bitkilerde yaş ağırlığının azaldığı (Itai ve ark., 1973), bunun kuru madde miktarındaki artış veya su içeriğindeki azalıştan kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüştür (Smit-Spinks ve ark., 1984).



Şekil-1 : Bir haftalık fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) fidelerinden alınan çeliklerde kontrol ve 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulamasının 48. saatinde tespit edilen yaş ağırlık değişimine ait % değerler.

Tablo-1 : Bir haftalık fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) fidelerinden alınan çeliklerde kontrol, 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulamasının 48. saatinde tespit edilen yaş – kuru ağırlık değişimine ait değerler.

Gruplar		Kontrol	50 ppm ASA	% 1 NaCl	50 ppm ASA + % 1 NaCl
Ağırlık	Değişimi (%)	+ 6,54 ± 0,45	+ 2,89 ± 0,7	-50,85 ± 2,07	- 40,20 ± 1,77
Gövde	Su içeriği (%)	94,04 ± 0,32	94,28 ± 0,20	96,09 ± 0,19	94,99 ± 0,40
	Kuru madde (%)	5,94 ± 0,32	5,72 ± 0,20	3,90 ± 0,19	5,00 ± 0,40
Yaprak	Su içeriği (%)	89,11 ± 0,22	86,70 ± 0,41	50,73 ± 4,97	60,72 ± 3,02
	Kuru madde (%)	10,88 ± 0,22	13,28 ± 0,41	49,27 ± 4,97	39,28 ± 3,02
Çelik	Su içeriği (%)	91,57 ± 0,27	90,49 ± 0,30	73,41 ± 2,58	77,85 ± 1,71
	Kuru madde (%)	8,41 ± 0,27	9,50 ± 0,30	26,58 ± 2,58	22,14 ± 1,71



Şekil-2 : Bir haftalık fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) fidelerinden alınan çeliklerde kontrol, 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulamasının 48. saatinde tespit edilen A-su içeriği, B- kuru ağırlık miktarlarına ait % değerler.

3.2. Pigment Miktarı Değişimi

Fasulye çeliklerine gövdenin kesik yüzeyinden yapılan uygulamaların pigment miktarı üzerindeki etkilerine ait sonuçlar Şekil-3'te verilmiştir. Tablo-2 ve Şekil-3'ün incelenmesinden de anlaşılacağı gibi fasulye çeliklerinde kontrol grubuna göre; klorofil b ve total pigment II miktarları bakımından 50 ppm ASA uygulanan çeliklerde % 10.90- % 5.57 oranlarında artış, % 1 NaCl uygulanan çeliklerde % 27.76-% 24.89 oranlarında azalış, yine 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklerde % 11.41- % 10.07 oranlarında azalış olmuştur. 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklere göre ise, % 1 NaCl uygulanan çeliklerde % 18.46 - % 16.47 oranlarında düşük bulunmuştur. Klorofil a ve total pigment I bakımından 50 ppm ASA uygulanan çeliklerde istatistik açıdan fark gözlenmemiş, % 1 NaCl uygulanan çeliklerde % 31.94 -% 23.02 oranlarında azalış, 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklerde % 11.92-%15.09 oranlarında azalış

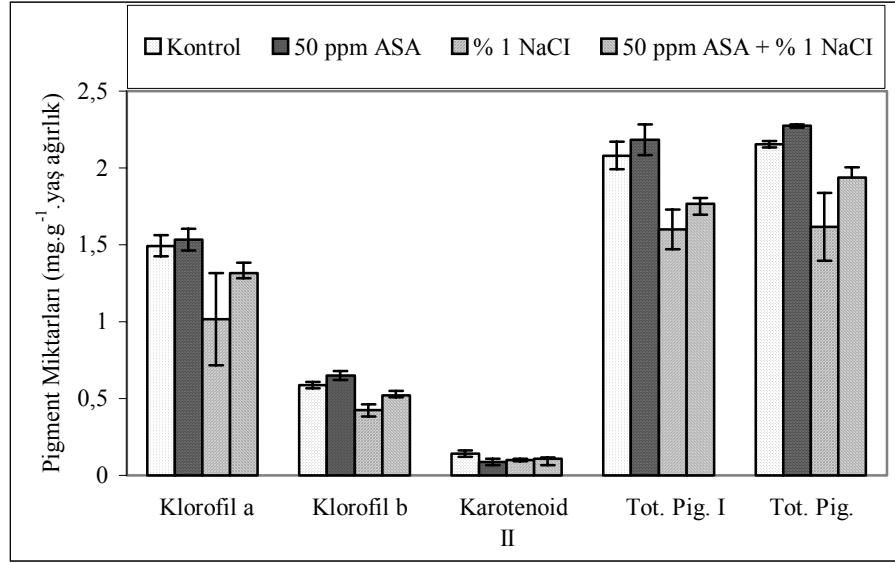
olmuştur. 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklere göre ise, % 1 NaCl uygulanan çeliklerde istatistik açıdan fark gözlenmemiştir. Karotenoidler bakımından 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklerde sırasıyla % 37.58, % 29.78 ve % 23.40 oranlarında azalış olmuştur. 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklere göre ise, % 1 NaCl uygulanan çeliklerde istatistik açıdan fark gözlenmemiştir.

Asetilsalisilik asit uygulanan gruplarda kontrol ve % 1 NaCl gruplarına göre klorofil b ve total pigment II miktarlarının fazla oluşu sentezlerindeki bir artıştan ziyade, yıkımlarındaki bir azalışla açıklanabilir. Bu durum, bizim daha sonra yaptığımız protein analizleriyle de desteklenmektedir. ASA uygulamaları çeliklerde, tuz stresinin yarattığı klorofil a, total pigment I ve karotenoid yıkımını etkilememektedir. Kontrol grubunda diğer 3 gruba kıyasla karotenoid miktarının yüksek çıkması, osmotik

Tablo-2: Bir haftalık fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) fidelerinden alınan çeliklerde kontrol, 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulamasının 48. saatinde hesaplanan pigment miktarları ($mg \cdot g^{-1}$ yaş ağırlık).

Pigment Çeşidi	Kontrol	50 ppm ASA	% 1 NaCl	50 ppm ASA + % 1 NaCl
Klorofil a	1.493 ± 0.07	1.533 ± 0.07	1.016 ± 0.3	1.315 ± 0.07
Klorofil b	0.587 ± 0.02	0.651 ± 0.03	0.424 ± 0.04	0.520 ± 0.03
Karotenoidler	0.141 ± 0.02	0.088 ± 0.02	0.099 ± 0.009	0.108 ± 0.01
Total pigment 1	2.080 ± 0.09	2.184 ± 0.1	1.601 ± 0.13	1.766 ± 0.04
Total pigment 2	2.153 ± 0.02	2.273 ± 0.01	1.617 ± 0.22	1.936 ± 0.07

Strese bağlı olarak bu pigment grubunun da parçalandığını ve ASA uygulamalarının bu sonucu etkilemediğini akla getirmektedir. Nitekim Munzuroğlu ve Baltepe (1993) tarafından yapılan bir çalışmada, çevre kirliliğinin yarattığı strese bağlı olarak klorofilin yanı sıra karotenoid pigmentinin de yıkıma uğradığı rapor edilmiştir. ASA'in etkili bir etilen biyosentezi inhibitörü (Carswel ve ark.,1989) ve dolayısıyla ABA biyosentezi inhibitörü (Hananya ve ark., 1976) olduğu düşünülürse, tuz stresine maruz bırakılmış çeliklerde klorofil yıkımını (Dalton ve Street 1976; Duysen ve Freeman, 1976) yani klorozisi kısmen azalttığı söylenebilir.



Şekil-3: Bir haftalık fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerinden alınan çeliklerde kontrol, 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulamasının 48. saatinde hesaplanan pigment miktarları ($mg \cdot g^{-1} \cdot yaş \text{ ağırlık}$).

3.3. Protein Miktarı Değişimi

Fasulye çeliklerine gövdenin kesik yüzeyinden yapılan uygulamaların protein miktarı üzerindeki etkilerine ait sonuçlar Şekil 4'de verilmiştir. Tablo-3 ve Şekil-4'ün incelenmesinden de anlaşılacağı gibi fasulye çeliklerinde kontrol grubuna göre; protein miktarları 50 ppm ASA uygulanan çeliklerde istatistik açıdan farksız, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklerde sırasıyla % 30.78 ve % 22.92 oranlarında düşük bulunmuştur. 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklere göre ise, % 1 NaCl uygulanan çeliklerde protein miktarları % 10.19 oranında düşük bulunmuştur. Yani ASA uygulaması, tuz stresinden kaynaklanan protein yıkımını azaltmıştır.

Bu sonuç, ASA uygulamalarının osmotik strese karşı bazı bitkilerde doku yıkımını azalttığı ve ürün randımanını artırdığı şeklindeki (Duygu 1981a; Bergmann ve ark., 1994) raporlarla uyum içindedir. Hoyos ve Zhang (2000) tarafından yapılan bir

çalışmada, NaCl'e maruz bırakılmış tütün hücrelerinde SA'in 48 kD ağırlığında (SIPK) ve protein kinaz karakterindeki bir direnç proteininin oluşumunu teşvik ettiği tespit edilmiştir. Sonuçta adı geçen bu direnç proteininin bitkilerin yüksek osmotik strese uyum sağlayabilmesinde öncü olabileceği ileri sürülmüştür. Bu durum, SA ve diğer salisilatların protein sentez metabolizması üzerinde kontrol mekanizması olarak nitelendirilebilecek bir etkide bulunduğunu düşündürmektedir (Pennazio ve ark., 1983 ; Francesco ve ark.,1986).

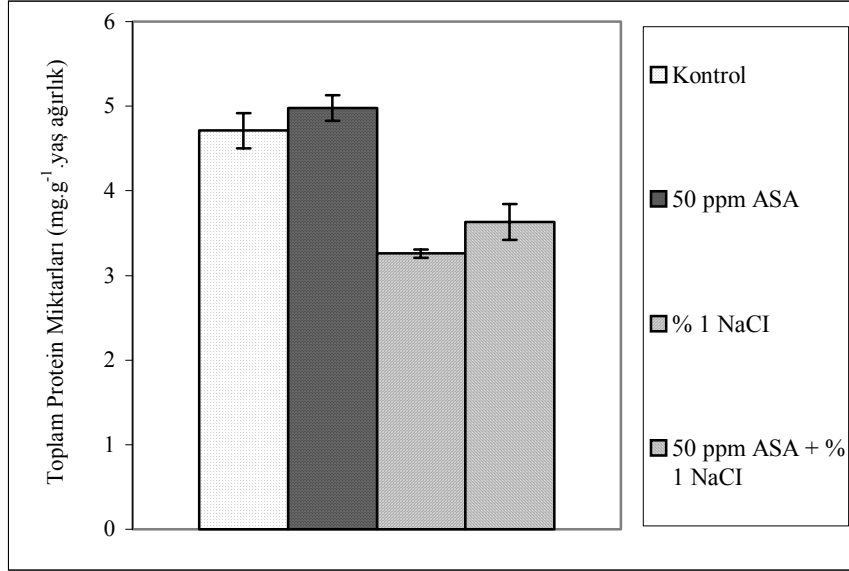
Tuz stresine bağlı olarak ortaya çıkan kuraklıkta bitki dokularındaki protein içeriğinin azaldığı (Ben Zioni ve ark.,1967) ve bu sonuca protein yıkımının neden olduğu (Vaadia ve Wasiel, 1967) ileri sürülmüştür. Bütün bu verilerin ışığı altında, ASA'nın etilen birikmesini engelleyerek (Carswel ve ark.,1989; Roustan ve ark.,1990) veya osmotik strese bağlı olarak artış gösteren ABA'ya antagonist etki yaparak (Larque-Saavedra, 1978; Ray ve Laloraya, 1984; Ray, 1986) protein parçalanmasını kısmen azalttığı söylenebilir. Ayrıca SA'in NRA (nitrat redüktaz aktivitesi) üzerinde konsantrasyona bağlı çift yönlü etkileri (Schrader ve Hageman, 1967), onun protein sentezi üzerinde etkili olduğunun göstergesidir. ASA'in enzim seviyesindeki etkilerinin de bitki hormonları vasıtasıyla gerçekleştiği ileri sürülmüştür (Shneider ve Whitman, 1974).

Tablo-3: Bir haftalık fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerinden alınan çeliklerde kontrol, 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulamasının 48. saatinde ekstre edilen protein miktarları (mg . g⁻¹.yaş ağırlık).

Kontrol	50 ppm ASA	% 1 NaCl	50 ppm ASA + % 1 NaCl
4.71 ± 0.21	4.98 ± 0.15	3.26 ± 0.05	3.63 ± 0.21

Sonuç olarak, ASA tuzun yarattığı osmotik stresi nispeten ortadan kaldırmıştır. Senesensin belirimi olan klorofil parçalanmasını ve protein yıkımını belirli oranlarda durdurmuş veya geciktirmiştir. Yeni bir büyüme regülatörü olarak kabul edilen (Raskin ve ark.,1989; Biddington, 1992; Salisbury ve Ross,1992; Raskin, 1995; Losanka ve

ark.,1997) SA'in bütün bu fizyolojik ve biyokimyasal etkileri diğer bitki büyüme regülatörleriyle karşılıklı etkileşimler içerisine girerek ortaya koyduğu düşüncesindeyiz.



Şekil-4: Bir haftalık fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerinden alınan çeliklerde kontrol, 50 ppm ASA, % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulamasının 48. saatinde ekstre edilen protein miktarları (mg . g⁻¹.yaş ağırlık).

Kaynaklar

- Apte, P.V. and Laloraya, M.M. (1982). Inhibitory action of phenolic compounds on abscisic acid induced abscission. *Journal of Experimental Botany*, 33, 826.
- Baltepe, Ş. (1986). Bitkilerde Senesens ve Yaprak Senesensinin Hormonal İlişkileri, *CÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4.
- Baltepe, Ş. (1982). Bilaloğlu, R. ve Yürekli, A.K., *Bitki Fizyolojisi I (Bitki Metabolizması)* Laboratuvar Kılavuzu, E.Ü. Fen Fakültesi Yayınları, Ekim, 29, 44.
- Benzioni A., Itai, C., Vaadia, Y. (1967). "Water and Salt Stresses, Kinetin and Protein Synthesis in Tobacco Leaves, *Plant Physiol.*, 42,:361.
- Bergmann, H., L.V., Maachelett, B., Geibel, M. (1994). Increase of stress resistance in crop plants by using phenolic compounds. *International symposium on natural phenols in Plant resistance, Volume 1, 13-17 Sep.*, Weihenstephan, Germany. Acta- Horticulturae, 381, 390.
- Biddington, N.L. (1992). The Influence of ethylene in plant tissue culture. *Plant Growth Regulation*. 11:2, 173.
- Carswel, G.K., Johnson C.M., Shillito, R.D. and Harms, C.T. (1989). o-acetylsalicylic acid promotes colony formation from protoplasts of an elite maize inbrend. *Plant Cell Rep* 8:282.
- Chen, Z.X., J.W. Ricigliano and D.F. Klessig, (1993). Purification and Characterization of A Soluble Salicylic acid-Binding Protein From tobacco. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America* 90: (20) 9533
- Corcoran, M.R. (1976). In:Krishnamoorthy, H.N. (ed): *Gibberellins and Plant Growth*. 289. Wiley-Eastern Put. Ltd., New Delhi.
- Dalton, C.C. and Street, H.E. (1976). The role of the gas phase in the greening and growth of illuminated cell suspension cultures of spinach (*Spinacea olareacea* L.) *In vitro* 12, 485.
- Duygu, E. (1981a). *Aspirinin Bitkiler Üzerindeki Etkileri ve Agronomik Önemleri*, AÜFF. Genel Botanik Kürsüsü Ankara. s.,420 (Yayınlanmamış).
- Duygu, E. (1981b). Aspirin ve Tarım, *Bilim ve Teknik* 165, 169.
- Duygu, E., C. Çökmüş, (1981). Salicylic acid and Plant Growth Regulation. Department of General Botany, Science Faculty, Ankara, Turkey, *Plant Growth Regulators*. Varna, Bulgaria,.
- Duysen, M.E., Freeman, T.P. (1976). Promotion of Plastid Pigment Accumulation in Water Stressed What leaf Sections by Hormone Treatment *Amer. J. Bot.*, 63, 8, 1134.

- Eriş, A. (1981). Bazı Biber Çeşitlerinin Fidelerinde Yaprakların Stoma Dirençlerine Salisilik Asit 'in Etkileri Üzerine Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara, *Doğa Bilim Dergisi*, Vet. Hay. / Tar. Orm., 5.
- Ferrarese, I., Moretto, P., Trainotti, L., Rascio N., and Casadoro, G. (1996). Cellulase involvement in the abscission of peach and pepper leaves is affected by salicylic acid, *Journal of Experimental Botany*, 47, 251, Copyright Oxford University Press.
- Francesco, M., Vianello A. ve Pennazio, S. (1986). Salicylate-Collapsed membrane potential in pea stem mitochondria *Physiol. Plant.*, 67, 136.
- Glass, A.D.M. (1973). Influence of phenolic acids on ion uptake. I. Inhibition of phosphate uptake. *Plant Physiol.* 51:1037.
- Glass, A.D.M. and J. Dunlop, (1974). Influence of phenolic acids on ion uptake. IV. Depolarization of membrane potential. *Plant Physiol.* 54, 855.
- Hare, P.D., W.A. Cress and J. van Staden, (1997). *The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress*, Natal Üniv. Research Unit for Plant Growth and Development, Department of Botany, University of Natal Pietermaritzburg, Private Bag X01, Scottville, 3209, South Africa (author for correspondence).
- Hananya, E.B., Goldschmidt, E.E., Goren, R. (1976). Ethylene Induced Formation of ABA in Citrus Peel as Related to Chloroplast Transformations, *Plant Physiol.*, 58, 377.
- Hoyos, M.E. and Zhang, S. (2000). Calcium-Independent Activation of Salicylic acid-Induced protein Kinase by Hyperosmotic Stress, *Plant Physiol*, 122, 1355.
- Itai, C. and Ben-Zioni, A. (1973). Short- and Long- Term Effects of High Temperatures (47-49 °C) on Tobacco Leaves, II. O₂ uptake and Amylolytic Activity, *Physiol. Plant.* 28, 490.
- Itai, C., Ben-Zioni, A. and Ordin, L. (1973). Correlative Changes in Endogenous Hormone Levels and Shoot Growth Induced by Short Heat Treatments to the Root. *Physiol. Plant.* 29, 355.
- James, D.F., Foyer, C.H. and Scott, I.M. (1998). Changes in Salicylic acid and Antioxidants during Induced Thermotolerance in Mustard Seedlings, *Plant Physiol.* 118, 1455.
- Jung, J.L., Fritting, B., Hahne, G. (1993). Sunflower (*Helianthus annuus* L.) pathogenesis-proteins. Induction by aspirin (acetylsalicylic acid) and characterization. *Plant Physiology*, 101, 3, 873.
- Kling, G.J. and Meyer, J.M.M. (1983). Effects of Phenolic Compounds and IAA on Adventitious Root Initiation in Cuttings of *Phaseolus aureus*, *Acer saccharinum* and *Acer griseum*. *Hort Science* 18, 3, 352.

- Larque-Saavedra, A. (1975). *Studies on hormonal aspects of plant growth in relation to chemical and enviromental treatments*. Ph. D. Thesis, University of London.
- Larque-Saavedra, A. (1978). The antitranspirant effect of acetylsalicylic acid on *Phaseolus vulgaris* L. *Physiol. Plant.* 43, 126.
- Larque-Saavedra, A. (1979) Stomatal closure in response to acetylsalicylic acid treatments. *Z. Pflanzenphysiol.* 93, 371.
- Larson, L.A. and Beevers H. (1965). Amino acid metabolism in young pea seedlings, *Plant Physiology*, 40, 424.
- Losanka, P., Pancheval, T., Uzunova, A. (1997). Salicylic acid, Properties, Biosynthesis and Physiological Role. *Bulg. J. Plant Physiol.*, 23, 1-2, 85.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J. and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193.
- Munzuroğlu, Ö. and Baltepe, Ş. (1993). Trafik Araçlarından Kaynaklanan Hava Kirlenmesinin buğday (*Triticum aestivum* L.) Bitkisi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması. *F. Ü. Fen ve Müh. Bilim Dergisi.* 5, 2, 93.
- Pawor, M.S., Ray, S.D. (1984). *Laloraya, M.M., Antagonistic action of some phenolic compounds on ABA-Induced İnhibition of seed germination-B.B.P.*, In Press.
- Pennazio, S., Roggero, P. and Lenzi, R. (1983). Resistance to tobacco necrosis virus induced by salicylate in detached tobacco leaves. *Antiviral Res.* 3, 335.
- Raskin, I., Turner, I.M., and Melander, W.R. (1989). Regulation of heat production in the Inflorescences of an *Arum lily* by endogenous salicylic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86, 2214.
- Raskin, I. (1992). Role of Salicylic Acid In plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43, 439.
- Raskin, I. (1995). Salicylic Acid. *Plant Hormones Physiology. Biochemistry and Molecular Biology*, 188. New York. USA.
- Ray, S.D. (1983). Guruprasad, K.N., Laloraya, M.M., Reversal of abscisic acid-Inhibited betacyanin synthesis by phenolic compounds in *Amaranthus caudatus* seedlings. *Physiol. Plant.* 58, 175.
- Ray, S.D. (1986). GA, ABA, Phenol Interaction in the Control of Growth: Phenolic Compounds as Effective Modulators of GA-ABA Interaction in Radish Seedlings. *Biologia Plantarum (PRAHA)* 28, 5, 361.
- Ray, S.D. and M.M. Laloraya, (1984). Interaction of gibberellic acid, and phenolic compounds in the Control of hypocotyl growth of *Amaranthus caudatus* seedlings. *Can. J. Bot.* 62, 2047.
- Rhoads, D.M., L. Mcitosh, (1992). Salicylic-Acid Regulation of Respiration in higher-Plants-Alternative Oxidase Expression, *Plant Cell* 4, 9, 1131.

- Robert C. (1982-83). Weast, Ph. D. Associate, Handbook of Chemistry and Physics (Weast 63Rd Edition) CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida, C-508.
- Ross, W.C. (1974). *Plant Physiology Laboratory Manual*, Wadsworth Publishing Company Inc. Belmont, California, U.S.A. 73.
- Roustan, J.P., Latche A. and Fallot, J. (1990). Inhibition of ethylene production and stimulation of carrot somatic embryogenesis by salicylic acid. *Biologia Plantarum (PRAHA)* 32, 4. 273.
- Rovira, A.D. (1956). Plant Root Excretions in relation to the Rhizosphere Effect. *Plant and Soil* VII, 2, 178.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. (1992). Plant Physiology, Editor Carey, J.C., In: *Stress Physiology*, 18,400; 23,529; 26,575.
- Schrader, L.E. and Hageman, R.H. (1967). Regulation of nitrate reductase activity in corn (*Zea mays* L.) seedlings by endogenous metabolites. *Plant Physiol.* 42, 1750.
- Schneider, E.A. and Whitman, F. (1974). Metabolism of auxin in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25, 487.
- Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon, (2000). Acetyl salicylic acid (Aspirin) and Salicylic acid Induce Multiple Stres Tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30, 157.
- Shah, C.B. and Loomis, R.S. (1965). Ribonucleic acid and protein metabolism in sugar beet during drought, *Physiol. Plant.* 18, 240.
- Shettel, N.L. and Balke, N.E. (1983). Plant Growth Response to Several Allelopathic Chemicals. *Weed Science.* 31, 293.
- Smit-Spinks, B., Swanson, B.T. and Markhart, A.H.(1984) Changes in Water Relations, Water Flux, and Root Exudate Abscisic Acid Content With Cold Acclimation of *Pinus sylvestris* L. *Aust. J. Plant Physiol.*, 11, 431.
- Vaadia, Y. and Waisel, Y. (1967). *Physiological processes as affected by water balance.* In. *Irrigation of Agricultura Lands.* (R.M., Hagen, H.Rç, Haise, T.W., Edminster, eds.). 334, Amer. Socc. Agran. Madison, Wisconsin.
- Witham, F.H., Blydes D.F. and Dewlin, R.M. (1971). *Experiments in Plant Physiology*, New York, Von Nostrand Reinhold Company, 55.