



Araştırma Makalesi (Research Article)

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2024, 61 (3):367-381
<https://doi.org/10.20289/zfdergi.1445604>

Hakan ALTUNLU¹

Yonca SURGUN ACAR²

Filiz ALTAN³

Atila Levent TUNA^{4*}

Betül BRN⁴

¹ Muğla S.K. niversitesi, Ortaca MYO, Ortaca, Muğla

² Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Çanakkale

³ Muğla S.K. niversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Menteşe, Muğla

⁴ Muğla S.K. niversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Menteşe, Muğla

* Sorumlu yazar (Corresponding author):
tuna@mu.edu.tr

Anahtar sözcükler: Brassinosteroid, *Gossypium hirsutum*, pamuk, tuzluluk

Keywords: Brassinosteroid, *Gossypium hirsutum*, cotton, salinity

Tuz stresi altındaki pamukta (*Gossypium hirsutum* L.) 24-epibrassinolid'in etkinliği

Efficacy of 24-epibrassinolide in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under salt stress

Received (Alınış): 01.03.2024

Accepted (Kabul Tarihi):04.06.2024

Z

Amaç: Üç pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) çeşidinde (Nazilli 84-S, Carmen, Beyaz Altın-119) NaCl stresine karşı 24-epibrassinolid (EBR) uygulamasının etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem: Pamuk tohumları 3 μ M EBR czeltisi ile 24 saat muamele edildikten sonra saksılara ekilmiş ve 75, 150 mM NaCl içeren Hoagland besin czeltisiyle sulanmıştır. Çiçeklenme dönemi başlangıcında hasat edilen bitkilerde kuru ağırlık, membran geçirgenliği, stoma yoğunluğu, nispi su kapsamı, antioksidatif enzim aktiviteleri, fotosentetik pigment ve DNA kapsamı belirlenmiştir.

Araştırma Bulguları: EBR uygulaması bitkilerin kuru ağırlıkları, nisbi su kapsamı ve stoma yoğunluğuında meydana gelen düşüşü azaltmıştır. Her üç çeşitte de tuz konsantrasyonunun artması ile membran geçirgenliği artmış, ancak bu artış EBR uygulaması ile azalmıştır. NaCl uygulaması ile antioksidatif enzim aktiviteleri (SOD ve POD) nemli oranda artmıştır. NaCl uygulaması stoma-kilit hücre sayısı, pigment kapsamlarını ve DNA içeriğini azaltmış ancak bu azalma EBR uygulaması ile hafifletilmiştir.

Sonuç: Bu sonuçlar, pamuk çeşitlerinde tuza bağlı olarak antioksidatif enzim aktivitesinde artışı göstermekte ve EBR'nin tuz stresi altındaki pamuk bitkisinde su potansiyeli ve membran bütünlüğünün korunmasına yardımcı olarak stresi hafifletici etkilerini ortaya koymaktadır.

ABSTRACT

Objective: The effect of 24-epibrassinolide (EBR) application against NaCl stress in three cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivars (Nazilli 84-S, Carmen, White Gold 119) was investigated.

Material and Methods: After the seeds were treated with 3 μ M EBR solution for 24 h, they were sowed in pots and watered with Hoagland nutrient solution containing 75 and 150 mM NaCl. Plant dry weight, membrane permeability, stomatal density, relative water content, photosynthetic pigment contents, antioxidative enzyme activities, and DNA content were determined in the plants harvested at the beginning of the flowering period.

Results: EBR treatments reduced the decrease in dry weights, relative water content, and stomatal density of plants. Membrane permeability increased with increasing salt concentration in all three varieties, but this increase decreased with the EBR treatment. Antioxidative enzyme activities (SOD and POD) increased significantly with NaCl application. NaCl application reduced stomata-guard cell number, photosynthetic pigment and DNA content, but this decrease was improved by EBR treatment.

Conclusion: These results show a salt-dependent increase in antioxidative enzyme activity in cotton varieties and reveal the stress-relieving effects of EBR by helping to maintain water potential and membrane integrity in cotton plants under salt stress.

GİRİŞ

Tarım üzerindeki olumsuz etkilerinin önemi nedeniyle, tuzluluğun bitkiler üzerindeki zararlı etkilerini azaltacak uygulamalara büyük bir talep bulunmaktadır. Tuzluluk sorunu, bilhassa az yağış alan kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde, toprakların verimliliğini önemli ölçüde düşüren bir sorundur (Kurt vd., 2023). Genel olarak tarımsal ve mühendislik çözümleri tükenmekte olduğundan temel umutlar, bitkilerin tuzlanmanın olumsuz faktörlerine karşı fizyolojik direncinin artırılması üzerine kuruludur (Munns & Gilliam, 2015). Ancak kültür bitkilerinin tuza toleransını arttırmak için klasik ıslah, genetik ve moleküler biyoloji yaklaşımlarını kullanan çok sayıda çalışmaya rağmen, pratik kullanıma uygun kültür bitkilerinin tuza toleranslı formlarının elde edilmesine yönelik çabalar bugüne kadar sınırlı bir başarı göstermekten öteye gidememiştir (Kolomeichuk et al., 2020).

Bitkilerde tuz stresi ile ilgili biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar ise, iyon regülasyonu ve kompartımanlaşma, ozmolitlerin biyosentezi, antioksidatif enzimlerin aktivitesi, bitki hormonlarının indüksiyonu, bitkilerde tuzluluğun gen ekspresyonunda meydana getirdiği değişikliklerdir. Bu genler fonksiyonlarına göre: ozmolitleri sentezleyen genler, hücre bütünlüğünü sağlayan genler, antioksidatif enzimleri kodlayan genler, iyon dengesini düzenleyen genler, transkripsiyon faktörlerini kodlayan genlerdir (Yılmaz vd., 2011).

2020/21 pamuk üretim sezonunda Türkiye'de 1.77 milyon ton kütlü pamuk üretilmiştir. Türkiye'de üretimin %85'ini 6 il (Şanlıurfa, Aydın, Diyarbakır, Hatay, Adana ve İzmir) karşılamıştır. 2020 yılında 1.6 milyar \$ değerinde 1 milyon 57 bin ton lif pamuk ithalatı, 147 milyon \$ değerinde 81 bin ton lif pamuk ihracatı gerçekleştirilmiştir (Anonymous, 2024). Bu açıdan bakıldığında, dünya pamuk üretiminde önemli bir yere sahip olan ülkemizde, önemli ve ekonomik değeri yüksek bir kültür bitkisi konumundadır.

Pamuk, tuzluluk eşiği seviyesi 7.7 dS m^{-1} (Ashraf, 2002) ile orta derecede veya yüksek derecede ($8-12 \text{ dS m}^{-1}$) tuza toleranslı grup bitki türleri arasındadır. *Gossypium* türlerinde tuzluluğun artışına bağlı olarak verimlilikte her dS m^{-1} 'deki kayıp %5.2 olarak belirtilmektedir (Chinnusamy et al., 2005).

Brassinosteroidler (BR), hücre uzaması ve bölünmesinin teşviki ve çeşitli çevresel streslere verilen yanıtlar gibi bitki yaşamının birçok yönünde bitki büyümesini ve gelişimini düzenleyen, büyümeyi teşvik eden önemli bir hormon sınıfıdır. Brassinosteroidler, ilk olarak kolza (*Brassica napus* L.) poleninden izole edilen yeni bir grup bitki steroid hormonudur. Biyolojik olarak en aktif olan BR'ler, brassinolid (BL), 24-epibrassinolid (24-epiBL, 24-EBL, 24-EBR, EBR) ve 28-homobrassinolid'dir (28-homoBL, 28-HBL, HBR). Son araştırmalar, farklı biyotik ve abiyotik koşullara yanıt olarak metabolik reaksiyonların düzenlenmesi gibi bitkilerdeki çeşitli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde BR'lerin önemli rolünü doğrulamıştır. BR'ler, patojen tarafından tetiklenen reaksiyonlara verilen yanıtların yanı sıra tuz ve kuraklık stresinin yönetimini, Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) temizlenmesini, herbisit ve pestisitlere karşı reaksiyonları içerir (Surgun vd., 2012; Djemal et al., 2023). Çeşitli çalışmalar, EBR uygulamasının, daha yüksek prolin birikimi ile birlikte, superoksit-dismutaz (SOD), peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) gibi daha yüksek antioksidan enzim aktiviteleri yoluyla, kuraklığa tolerans sağladığını ve sonuç olarak ROS üretimini ve malondialdehit (MDA) içeriğini düşürdüğünü göstermiştir. 24-epibrassinolid (EBR) uygulamasının etkili bir stres azaltıcı yaklaşım olduğu kanıtlanmıştır. Araştırmalar, ROS ve antioksidanlar arasında bir denge sağlayarak, kuraklık stresi, tuz stresi ve ağır metal stresi dahil olmak üzere çeşitli abiyotik stres toleransının sağlanmasında EBR uygulamasının potansiyel rolünü vurgulamıştır (Khan et al., 2022).

Literatür, EBR'nin aktif bir brassinolid olduğunu ve bitkilerde hücre bölünmesi veya lipid peroksidasyonu gibi farklı metabolik süreçleri işaret eden sinyal bileşiği olarak görev yaptığını göstermektedir. Ayrıca EBR, ROS temizleyici enzimleri aktive ederek reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltır. EBR, fotosentetik pigment aparatının alt yapısını bozulmaya karşı korur, böylece fotosentezi ve diğer yaprak gazı değişim özelliklerini artırır. EBR uygulaması, stres altındaki bitkinin ozmotik durumunu ayarlamak için başta prolin olmak üzere farklı uyumlu çözünenlerin birikimini artırır (Tanveer et al., 2019).

Brassinosteroidlerin strese karşı koymada, mekanizması henüz tam anlaşılmasa da önemli katkılar sunduğu, yapılan birçok araştırmayla gösterilmiştir. EBR ile ekimden önce tohum ıslatma uygulamalarının, pamuk tohumunun çimlenmesini teşvik edip, antioksidan enzim aktivitesini artırarak ve hücre zarı lipid oksidasyonunu azaltarak pamuk fidesinin tuz toleransını arttırdığı rapor edilmiştir (Surgun et al., 2015; Dong et al., 2023). Bir çalışmada, 24-epibrassinolid (0.1 ve 10 μM EBL) ön muamelesiyle tohum hazırlamanın diazinon pestisit toksisitesinin mısır bitkisi üzerindeki hafifletici etkileri araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre, en düşük EBL konsantrasyonuyla (0.1 μM) yetiştirilen bitkiler, toksisite stresi altında SOD, CAT, POD, askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon S-transferaz (GST) enzimlerinin aktivitesinde yukarı doğru bir artış sergilemiştir. Buna karşılık, daha yüksek EBL, antioksidan enzimlerin aktivitesi üzerinde bazı inhibitör etkiler göstermiştir. Ek olarak, düşük EBL, serbest radikal temizleme kapasitesini (DPPH), demir azaltıcı antioksidan gücünü (FRAP), fotosentez hızını, stoma iletkenliğini, prolin ve protein içeriğini arttırmıştır. EBL ayrıca, lipid peroksidasyonunu azaltarak membran bütünlüğünü sağlamıştır (Mehrian et al., 2023). Chen et al. (2022), tuz stresi altında bulunan pirinç bitkisinde, tuzluluğun olumsuz etkisini hafifletmede, tohum çimlenme göstergeleri ve fide morfolojik özelliklerinin gelişmesinde en uygun EBR konsantrasyonunun 0.5 mg L^{-1} olduğunu ve bu etkinin antioksidan enzimin artması, yapraklarda daha yüksek K^+ içeriği ve pirinç kökünde Na^+ alımının azalması yoluyla gerçekleştiğini ifade etmişlerdir. Literatüre bakıldığında konu ile ilgili çok sayıda çalışma göze çarpmaktadır. Bunların arasında; Houimli et al. (2010) biber fidelerinde ve Eleiwa et al. (2011) buğdayda sprey uygulama, Anuradha & Rao (2003) çeltikte, Shahid et al. (2011) bezelyede tohumu uygulama, Ding et al. (2012) ise patlıcan fidelerinde besin çözeltilisine ilave ederek, brassinosteroidlerin tuz stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışma, 24-epibrassinolidin NaCl etkisi altındaki 3 farklı pamuk çeşidinde enzimatik antioksidan savunma sistemi ile bitki gelişimi üzerindeki olası düzenleyici rolünü çiçeklenme dönemindeki bitkilerde incelemek ve günümüz literatürüyle kıyaslamak amacıyla planlanmış ve yürütülmüştür.

MATERYAL ve YÖNTEM

Ülkemizde yetiştirilen pamuk çeşitlerinden çimlenme testi sonuçlarına göre belirlenmiş olan 2 adet toleranslı (Nazilli 84-S ve Carmen) ve 1 adet hassas çeşit (Beyaz altın-119 [BA 119]) seçilmiş (Surgun et al., 2015) ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Ortaca M.Y.O'da 2016 yılında kurulan sera denemesiyle, 8 L. hacimli saksılarda torf:perlit (1:1) karışımında, 4 tekrarlı ve her saksıda 1 adet bitki olacak şekilde ve tesadüf parselleri deneme deseninde yürütülmüştür. Denemede, 3 çeşit x 3 (kontrol + 2 tuz uygulaması) x 2 (kontrol + brassinolid) olmak üzere her tekerrürde 18 uygulama bulunmaktadır. Tohumlar ekimden önce 24 saat 3 μM 24-epibrassinolid (EBR) ile muamele edilmiş (EBR önce az miktarda etanolde çözündürülmüş, sonra distile su ile uygulanacak konsantrasyondaki çözelti hazırlanmıştır), kontrol tohumları ise aynı süre distile suda bırakılmıştır. Muamele edilmiş tohumlar, hazırlanmış olan saksılara 2 cm derinliğinde ekilmişlerdir. Bitkilerin beslenmesi için modifiye Hoagland çözeltilisi (Hoagland & Arnon, 1950) kullanılmıştır. NaCl (0, 75, 150 mM), Hoagland çözeltilisine ilave edilmiştir. Tuz uygulamalarına ekimle birlikte başlanmış ve besin solüsyonu ile birlikte 5 günde bir olmak üzere (toplam 9 kez) saksılardan %20 drenaj alınincaya kadar verilmiştir.

Bitkiler ekimden 47 gün sonra (ilk çiçekler görülünce-tarak oluşumunda) hasat edilmiş, kuru ağırlıkları (gram bitki^{-1}), ayrıca yaprakların nispi su kapsamları (%RWC) Yamasaki & Dillenburg (1999), membran geçirgenliği-elektriksel iletkenlik (Electrical Conductivity -%EC) Lutts et al. (1996), yaprak alt epidermisinde stoma kilit hücre sayıları [$\text{adet (mm}^2\text{)}^{-1}$], klorofil ve karotenoid miktarları (mg g^{-1}) Strain & Svec (1966), superoksit-dismutaz (SOD) (unit mg^{-1} protein) Beauchamp & Fridovich (1971), peroksidaz (POD) ($\Delta\text{A470/min mg}^{-1}$ protein) Chance & Maehly (1955) ve Doyle & Doyle (1987) modifiye edilerek izole edilen DNA'ların kantitatif tayini ($\text{ng } \mu\text{l}^{-1}$) 260 nm'de spektrofotometre ile tespit edilmiştir.

Fizyolojik ve biyokimyasal analizlerden elde edilen verilerin parametrik test koşullarını sağlayıp sağlamadıkları Levene ve Shapiro-Wilk testleri kullanılarak incelenmiştir. Her bir veri grubu için uygulamalar arasındaki farklılıkları tespit etmek için de tek yönlü varyans analizi ve Fisher'ın Least Significant Difference (LSD) metodu uygulanmıştır. Ayrıca, pamuk çeşidi, EBR ve tuz uygulamasının incelenen parametreler üzerindeki bağımsız ve interaktif etkilerini değerlendirmek için çok yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Gerçekleştirilen tüm testlerde anlamlılık düzeyi $\alpha = 0.05$ olarak belirlenmiştir (Zar, 2014). Çalışmanın istatistik analizlerinde SAS V 9.0 (SAS Institute, Statistical Analysis System) software kullanılmıştır.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Bitki kuru ağırlık miktarı

NaCl uygulamasıyla her üç çeşitte de bitkilerin kuru ağırlıkları azalmış ancak EBR uygulaması kuru ağırlıktaki bu düşüşü hafifletmiştir. Tuza toleranslı Nazilli 84-S çeşidinde, kontrolle kıyaslandığında epibrassinolid uygulanmayan EBR (-) grupta toplam kuru madde miktarındaki azalma 49 g iken, epibrassinolid uygulanan EBR (+) grupta 36 g olmuştur. Benzer eğilim diğer çeşitlerde de mevcuttur. NaCl'ün bitki kuru ağırlığında sebep olduğu azalmaya karşı EBR uygulamasının olumlu etkisi toleranslı çeşitlerde (Nazilli 84-S ve Carmen) duyarlı çeşite (BA-119) göre ılımlı oranda yüksektir (Çizelge 1). Çok yönlü varyans analizi, kuru ağırlık değerlerindeki değişkenliğin %35 ila %76'sına tuz uygulamalarının neden olduğunu göstermiştir. "Çeşit" ve "EBR", bağımsız değişkenlerinin de toplam varyasyonun %3 ila %10'unu açıkladığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Ayrıca, kök kuru ağırlığı bakımından BA-119'un diğer iki çeşitten önemli bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Çok yönlü varyans analizine göre yaprak kuru ağırlığı ve toplam kuru ağırlık üzerinde EBR x NaCl interaksiyonu önemli olup, kök kuru ağırlığında ise çeşit x EBR interaksiyonu önemli bulunmuştur.

Çizelge 1. EBR uygulamasının kuru madde miktarı üzerine etkisi

Table 1. Effect of EBR application on the dry matter amount

Çeşit	NaCl (mM)	Kuru madde (g bitki ⁻¹)					
		EBR (-)			EBR (+)		
		Kök	Yaprak	Toplam	Kök	Yaprak	Toplam
Nazilli 84-S	0	25.8±1	145±2	171±2	26.7±1	144±4	170±2
	75	18.7±1	111±1	130±3	26.3±1	123±2	149±2
	150	17.2±1	104±2	122±1	21.0±1	113±1	134±2
Carmen	0	24.8±1	147±2	172±2	26.4±1	145±3	171±2
	75	20.1±1	113±1	133±2	20.9±1	123±2	144±2
	150	18.3±1	105±2	124±2	18.1±1	116±2	134±2
BA-119	0	21.6±1	138±3	159±3	21.3±1	140±4	161±4
	75	18.9±1	110±2	129±2	19.5±1	118±2	138±3
	150	16.3±1	98±3	114±3	16.4±1	103±2	119±2
CV		0.163	0.159	0.158	0.174	0.118	0.121

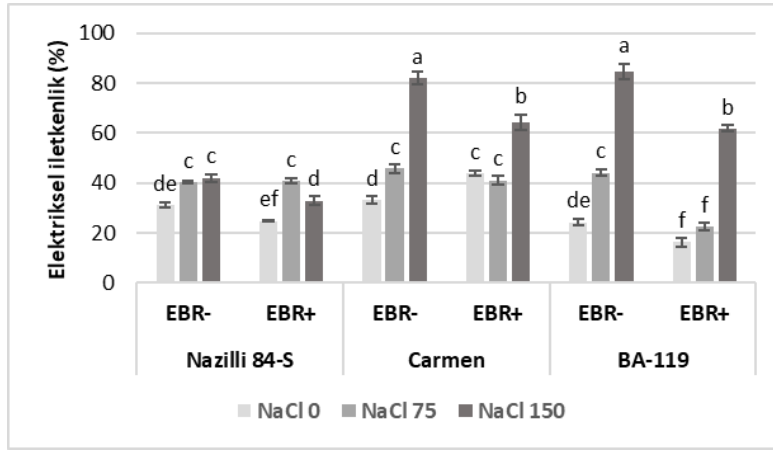
Sonuçlar ortalama \pm standart hata şeklinde sunulmuştur.

Abiyotik stres altındaki bitkilerde ilk tepki, fotosentetik verimliliğin azalmasına bağlı olarak ortaya çıkan bitki yaş ve kuru madde üretimindeki azalmadır. Wani et al. (2019), tuz stresi etkisindeki hardal (*Brassica juncea* L.) bitkisinde gövde ve köklerin kuru ve yaş ağırlıklarında NaCl etkisine bir yanıt olarak azalmanın kaydedildiğini ancak, ortama EBL ilavesiyle bu parametrelerde pozitif artışların meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Bu durum stres altında bulunan bitkiye uygulanan EBL'nin fotosentetik mekanizma üzerinde negatif etki yaratan serbest radikallerin detoksifikasyonu ile ilişkilendirilebilir. EBL'nin tuz toksisitesine maruz kalan bitki hücrelerinin strüktürünü ve kloroplast membranını koruyucu etkilerinden dolayı klorofil parçalanmasını önleyerek fotosentetik devamlılığı sağladığına ve bitki kuru

madde kapsamını koruduğuna yönelik önemli bulgular da bu görüşü desteklemektedir (Castle et al., 2003). Konuya ilişkin yapılan birçok çalışmada da abiyotik stres altındaki bitkilerde strese bağlı % kuru maddede azalma rapor edilirken, farklı yollarla EBL uygulamalarının % kuru madde kapsamalarında pozitif etki yaptığı Özdemir vd. (2004) tarafından çeltikte (*Oryza sativa* L.), Ahmed et al. (2017) tarafından da pamukta (*Gossypium barbadense* L.) bildirilmiştir.

Elektriksel iletkenlik (%EC)

NaCl konsantrasyonu ile artan %EC, EBR uygulamalı örneklerde daha düşük düzeyde belirlenmiştir. Tuza toleranslı Nazilli 84-S çeşidinde 150 mM NaCl konsantrasyonunda %42 olan EC, EBR uygulaması sonucu %33'e düşmüştür. Benzer eğilim Carmen çeşidinde de saptanmıştır. Duyarlı çeşit BA-119'da, EBR uygulamasının etkisi daha belirgindir. 150 mM tuz konsantrasyonunda EBR (-) grupta EC %84 iken EBR (+) grupta %61 olarak bulunmuştur. Genel olarak artan NaCl konsantrasyonları ile yükselen %EC, EBR uygulaması ile istatistiki olarak önemli derecede azalmıştır. %EC değerlerinin çok yönlü varyans analizinde çeşit, EBR ve NaCl uygulamaları ve tüm interaksiyonlar önemli bulunmuş olup toplam varyasyonun %13'ünü çeşit, %51'i NaCl ve %21'ini de çeşit x NaCl interaksiyonu açıklamaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. EBR uygulamasının elektriksel iletkenlik (%) üzerine etkisi.

Figure 1. Effect of EBR application on electrical conductivity (%).

LSD = 7.51; Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde sunulmuştur. Hata çubukları üzerinde gösterilen farklı harfler, uygulamalar arasında anlamlı bir farklılığın olduğunu gösterir.

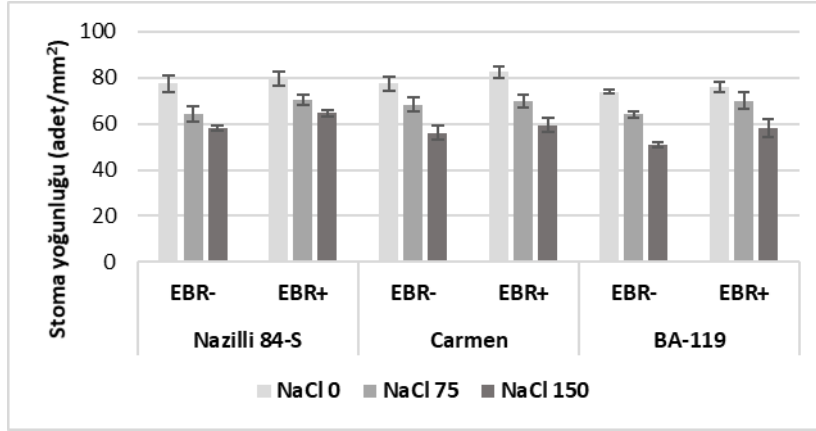
Hücre zarı stabilitesi, uzun zamandır stres toleransının bir göstergesi olarak ele alınmaktadır. Membran geçirgenliği olarak da bilinen %EC, abiyotik stres altında gelişen hücre içi ve hücre dışı ozmotik tutarsızlığın neden olduğu bir iyon kararsızlığı olarak tanımlanabilir. Abiyotik stres altındaki bitkilerde rizosfer bölgesindeki toprak çözeltisinin suda çözünür total tuz konsantrasyonunda (EC) artışa ve ozmotik potansiyelde düşüğe paralel olarak, özellikle Na iyonu etkisiyle membran geçirgenliği de artmaktadır. Bu husus birçok çalışmada değişik araştırmacılarca rapor edilmiştir (Parida & Das, 2005; Kaya et al., 2015). Membran geçirgenliğinin artması sonucunda, fotosentetik kapasitede şiddetli ve geri dönüşümsüz bir azalma görülür. Bitki metabolizması ve nihayetinde verim olumsuz etkilenir (Yılmaz vd., 2011). Çalışmada üç çeşitte de tuz konsantrasyonlarının artması ile %EC yükselmiş ve duyarlı çeşit BA-119'da daha yüksek olmuştur (Şekil 1).

Karlidağ et al. (2011) tuz stresi altındaki çilekte, 24-EBL uygulanmış bitkilerde, kontrole kıyasla daha az elektrolit sızıntısı bildirmiştir. EBR'lerin stres altında membran yapısını ve stabilitesini değiştirdiği rapor edilmiştir. MDA ile membran permeabilitesi arasında da doğrusal bir ilişki vardır. Egbichi et al. (2013), tuzla muamele edilmiş soya fasulyesi kök nodüllerinde üretilen MDA miktarının ortaya koyduğu gibi, tuz stresinin membran lipitlerinde oksidatif hasara neden olduğunu bildirmiştir. Ancak tuz stresi

altında EBR spreylemesi, buğdayda yaprak ve kökte MDA üretimini azaltabilmektedir. Ayrıca başka bir çalışmada, EBR uygulaması sonucu membran geçirgenliğinin azalması, EBR'nin iyon reseptör aktivitesini doğrudan bloke ederek plazmalemma ile etkileşime girmesi sonucu membran yapısında değişikliklere yol açarak etki gösterdiğini düşündürmüştür (Filek et al., 2018). Lutts et al. (1996), çeltikte artan tuz konsantrasyonu ile membran permeabilitesini tuza hassas çeşitte, dirençli çeşide göre daha yüksek bulmuşlardır. Araştırmacılara göre NaCl, çeltik yapraklarının doğal olarak meydana gelen yaşlanmasını hızlandırmış, klorofil ve protein konsantrasyonlarını azaltmış, membran geçirgenliğini ve malondialdehid sentezini arttırmıştır.

Stoma yoğunluğu

Çalışmada, NaCl uygulamalarıyla paralel olarak yaprak stoma kilit hücre sayısında önemli bir azalma gözlenmiştir. Tüm pamuk çeşitlerinde EBR (-) ve EBR (+) fark etmeksizin artan NaCl konsantrasyonlarıyla bitki stoma yoğunlukları arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. Stoma yoğunluğu tüm çeşitlerde belirgin ve yaklaşık olarak aynı oranlarda azalma göstermiştir. EBR uygulamasının tuz ortamında stoma yoğunluğu [adet (mm^2)⁻¹] üzerine beklenen olumlu etkisi, oldukça hafif olup önemsiz düzeydedir (Şekil 2). Varyans analizine göre üç faktör de (çeşit, EBR ve NaCl) önemli olup stoma yoğunluğunda gözlenen toplam varyasyonun %81'i NaCl'dendir.



Şekil 2. EBR uygulamasının birim yaprak alanı başına ortalama stoma-kilit hücre sayısı üzerine etkisi.

Figure 2. Effect of EBR application on the average number of stomatal guard cells per unit leaf area.

Sonuçlar ortalama \pm standart hata şeklinde sunulmuştur.

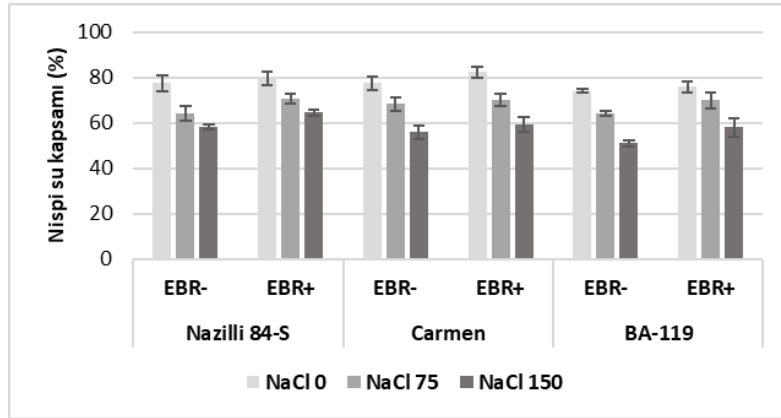
Karlıdağ et al. (2011) tuz stresinin stoma iletkenliğini olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılara göre, genel olarak 24-EBL uygulamaları stoma iletkenliğini önemli ölçüde artırmış, ancak membran geçirgenliğini azaltmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında stoma iletkenliğinde %71 düşüş bildirilmiştir. Stresli çevreye maruz kalan birçok bitkide büyümede görülen azalma, bu çalışmada da gözlemlendiği gibi genellikle fotosentetik kapasitedeki düşüş ile ilişkilidir. Bununla birlikte yaprakta 24-EBL uygulamaları stoma iletkenliğini iyileştirmiştir. Bu da, BR'lerin fotosentetik oranda sağladığı düzelmelerin, stoma veya stoma dışı faktörlerden veya bunların bileşiminden kaynaklanabileceğini göstermektedir (Dubey, 2005).

Kılıç vd. (2007), EBR ön uygulamasının normal şartlarda yetiştirilen arpa fidelerinin yapraklarında stoma sayısını, epidermis hücre sayısını, stoma indeksini, epidermis hücre genişliğini ve yaprak kalınlığını artırdığını, stoma genişliğini ve aralarındaki mesafeyi azalttığını bildirmiştir. EBR ön uygulaması yaprakların üst yüzeyinde stoma uzunluğunu kontrole göre arttırmasına rağmen, alt yüzeyde bu parametreyi azaltmıştır. Diğer bir çalışmada, arpa bitkisini BR ile işleme tabi tutmanın, potansiyel olarak stoma iletkenliğinin ve yoğunluğunun azalması yoluyla su kaybının düzenlenmesi sayesinde, tuz toleransını geliştirebileceği bildirilmiştir (Ouertani et al., 2021).

Nispi su kapsamı

Şekil 3'de görüldüğü gibi, kontrolle karşılaştırıldığında, NaCl uygulamaları ile EBR (-) ve EBR (+) gruplarında nispi su kapsamı belirgin şekilde azalmıştır. 150 mM NaCl uygulamasına bakıldığında, her 3 çeşitte de yaprakların nispi su kapsamı üzerine EBR uygulanması olumlu etki yapmıştır. Tuza toleranslı Nazilli 84-S ve Carmen çeşitlerinde EBR uygulaması sonucunda yaprakların nispi su kapsamı sırasıyla %12 ve %9 artarken, tuza duyarlı BA-119'da %19 oranında artış kaydedilmiştir. Sonuç olarak her üç çeşitte de EBR uygulamasının olumlu etkisi görülmüştür (Şekil 3).

Tuzlu koşullarda yapraktaki su içeriğinin azalması, bitki tarafından alınan su miktarının göreceli olarak azalması, bitkinin hücre turgorunu korumak amacı ile madde birikimini arttırması gibi sebeplerden kaynaklanmaktadır. Hücrede turgor kaybına sebep olan bu durum, hücre içi proseslerde kullanılan su miktarının azalmasına ve dolayısıyla verimin düşmesine neden olmaktadır (Katerji et al., 1997). Nispi su kapsamı (RWC; Relative Water Content), bitkinin su dengesi durumunun ölçülebilir bir göstergesidir, çünkü esas olarak bitkinin tam doyumluğa ulaşması için ihtiyaç duyduğu mutlak su miktarını ifade eder. Dolayısıyla nispi su kapsamı ile su potansiyeli arasında bir ilişki vardır. Bu ilişki bitkinin doğasına ve yaşına göre önemli ölçüde değişmektedir (González & González, 2001).



Şekil 3. EBR uygulamasının bitkinin nispi su kapsamı (%) üzerine etkisi

Figure 3. Effect of EBR application on the relative water content (%) of the plant.

Sonuçlar ortalama \pm standart hata şeklinde sunulmuştur.

Nispi su kapsamının azalmasına rağmen, yaprak ozmolalitesinin arttığı ve müteakiben su eksikliğinden kaynaklı yavaş gelişimin, sadece ozmotik uyumla değil aynı zamanda yaprak dokusu elastikiyetindeki azalmayla da sonuçlandığı rapor edilmiştir (Jones & Turner, 1978). Ali et al. (2008), tuz stresi altındaki hardal (*Brassica juncea*) bitkisine uygulanan 24-epibrassinolidin bitki nispi su kapsamını arttırarak strese toleransını geliştirdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacıların bildirdiğine göre, nispi su kapsamı kontrol bitkilerinde %76, EBL grubunda %89, NaCl grubunda %51 iken NaCl+EBL grubunda %63 olarak saptanmıştır. NaCl grubu ile karşılaştırıldığında EBL uygulaması nispi su kapsamını yaklaşık olarak % 25 arttırmıştır. Agami (2013), NaCl stresi altındaki mısır (*Zea mays*) bitkisi tohumuna 24-epibrassinolid uygulamış ve nispi su kapsamında pozitif yanıtlar elde edildiğini bildirmiştir. Nispi su kapsamı, NaCl seviyesinin artmasıyla birlikte kademeli olarak önemli ölçüde azalmıştır. Kontrolle kıyasla 60 ve 120 mM NaCl için azalma oranları, sırasıyla %12 ve %16 seviyelerinde gerçekleşmiştir. Bununla birlikte, NaCl yokluğunda veya varlığında tohum ıslatma olarak EBL uygulaması nispi su kapsamını geliştirmiştir.

Klorofil ve karotenoid kapsamı

Çalışmada, pamuk bitkisi yapraklarının klorofil ve karotenoid kapsamı artan NaCl konsantrasyonlarına bağlı olarak hem EBR (-) ve hem de EBR (+) gruplarında belirgin bir şekilde azalmıştır. EBR uygulamalarının pamuk bitkisinin yaprak pigment kapsamı üzerine çok belirgin bir etki yapamadığı

görülmüş ve sonuçlardaki toplam varyasyonun sadece %0.3 ila %4.8'ini ortaya koymuştur. Ancak EBR uygulamaları ile yaprak pigment kapsamlarında saptanan azalmanın, EBR uygulanmayanlara göre daha ılımlı seyrettiği belirlenmiştir. Nazilli 84-S çeşidinin klorofil a kapsamına bakıldığında, EBR (-) grup kontrolle kıyaslandığında 150 mM NaCl uygulamasıyla meydana gelen düşüş oranı %45 iken, EBR (+) grupta %16 olarak belirlenmiştir. Bu sonuç, EBR uygulamasının, tuzun olumsuz etkisini kısmen azalttığı bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Diğer gruplarda da benzer sonuçlar alınmıştır. Klorofil a kapsamında çeşit x EBR ve EBR x NaCl interaksiyonları önemli olup her bir interaksiyon toplam varyasyonun %11'ini açıklamaktadır. Klorofil b kapsamı bakımından tüm faktörler önemli olup karotenoid içeriğinde de çeşit x EBR interaksiyonu hariç diğerleri önemli bulunmuştur.

Tuz stresinin fotosentetik mekanizmada pigment sistemi üzerine negatif etki yaparak fotosentez verimliliğinde azalmaya neden olduğu bir çok çalışmada bildirilmiştir (Parida & Das, 2005; Sadeghi & Shekafandeh, 2014; Wu et al., 2017). Tuzluluk, yaprak klorofil sentezi yolunda çalışan enzim aktivasyonunu etkileyerek direkt veya dolaylı yoldan hasar verme potansiyeline sahiptir. Altunlu (2020) yaptığı bir çalışmada, yüksek tuz dozunda (6 dS m⁻¹), kontrol uygulamasına göre biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisinde klorofil kapsamının %26 oranında, gövde yaş ve kuru ağırlığının ise sırasıyla %26 ve %31 oranında azaldığını bildirmiştir. Araştırmacı ayrıca, tuz dozundaki artışa paralel olarak bitki dokusunun elektriksel iletkenliğinin yükseldiğini de bildirmiştir. Tanveer et al. (2018) bitkilerde strese toleransta brassinosteroidlerin rolü üzerine yaptıkları derlemede, EBR uygulamasının birçok bitkide tuz stresine toleransı ve klorofil kapsamını arttırmada önemli bir rol üstlendiğini rapor etmişlerdir. Bezelye (*Pisum sativum*), ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*), marul (*Lactuca sativa*), patlıcan (*Solanum melongena*), hıyar (*Cucumis sativus*), mısır (*Zea mays*) ve maş fasulyesi (*Vigna radiata*) bu bitkilerden bazılarıdır. Brassinosteroidlerin in vitro etkilerini çalışan Verma et al. (2012) yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.) kotiledon nodları kültüründe ortama BR'nin ilavesi ile yüksek bir in vitro çoğalma potansiyeli elde edildiğini ve BR ile total klorofil içeriğinde artış kaydedildiğini belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise, kuraklık stresi altındaki buğdayda BR'lerin etkisi araştırılmıştır. Alınan sonuçlara göre hem kardeşlenme ve hem de çiçeklenme döneminde kuraklık stresi klorofil içeriğini önemli ölçüde düşürürken, BR uygulamasıyla klorofil kapsamında ılımlı artış sağlanmış ve buğdayın büyümesi, verimi, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinde pozitif yönde gelişme sağlandığı rapor edilmiştir (Raza et al., 2023). Bizim çalışmamızda da tuzlu koşulların sebep olduğu klorofil ve karotenoid kapsamındaki azalmayı EBR uygulaması kısmen iyileştirmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. EBR uygulamasının bitkinin klorofil ve karotenoid içerikleri (mg g⁻¹) üzerine etkisi

Table 2. Effect of EBR application on the chlorophyll and carotenoid contents of the plant

Çeşit	NaCl (mM)	Klorofil a		Klorofil b		Karotenoid	
		EBR (-)	EBR (+)	EBR (-)	EBR (+)	EBR (-)	EBR (+)
Nazilli 84-S	0	3.95±0.05	2.66±0.11	1.92±0.05	1.62±0.05	3.32±0.21	3.72±0.17
	75	3.04±0.14	2.52±0.18	1.31±0.02	1.35±0.14	2.59±0.15	2.87±0.20
	150	2.16±0.12	2.26±0.09	0.93±0.06	1.15±0.06	2.01±0.13	2.28±0.16
Carmen	0	3.69±0.12	3.17±0.05	0.97±0.06	1.36±0.07	2.86±0.22	2.97±0.12
	75	2.53±0.10	2.76±0.11	0.67±0.06	1.03±0.08	2.27±0.12	2.67±0.10
	150	2.27±0.13	2.34±0.12	0.48±0.04	1.03±0.08	2.07±0.17	2.19±0.07
BA-119	0	3.33±0.09	3.38±0.17	1.51±0.09	1.39±0.04	4.33±0.14	3.20±0.17
	75	2.42±0.08	2.64±0.16	0.90±0.09	1.14±0.05	2.41±0.09	2.83±0.10
	150	1.57±0.11	2.59±0.05	1.00±0.02	1.02±0.02	1.67±0.10	2.13±0.08

Klorofil a LSD 0.05=0.46, Klorofil b LSD 0.05=0.30, Karotenoid LSD 0.05=0.59

Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde sunulmuştur.

Antioksidatif enzim aktivitesi

Çalışmada pamuk bitkisi yapraklarında SOD ve POD enzim aktiviteleri, artan NaCl konsantrasyonlarına bağlı olarak hem EBR (-) ve hem de EBR (+) gruplarında belirgin bir şekilde artış göstermiştir ($p < 0.05$). Bu durum, bitkide tuzluluk nedeniyle oluşma potansiyeli bulunan serbest oksijen radikallerinin de-toksifikasyonuna yönelik olarak aktifleşen hücresel savunma sisteminin çalışmaya başladığının bir göstergesidir. Çok yönlü varyans analizinde SOD enzim aktivitesinde tüm faktörlerin etkisi önemli bulunurken POD aktivitesinde çeşit x EBR interaksyonu ve çeşit x EBR x NaCl interaksyonu hariç diğerleri (çeşit, EBR, NaCl, çeşit x NaCl ve EBR x NaCl) önemli bulunmuştur. Tuza tolerant Nazilli 84-S ve Carmen çeşitlerinde EBR (-) grupta 150 mM NaCl uygulamasıyla saptanan SOD enzim aktivite artışı sırasıyla yaklaşık olarak %200 ve %90 seviyelerinde iken, bu oran tuza hassas BA-119'da %60 olarak belirlenmiştir. Diğer yandan EBR (+) grupta ise, bu oranlar %290, %87 ve %65 olarak belirlenmiştir. Tolerant ve hassas çeşitlerde verilen tepki yaklaşık olarak benzerdir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Pamuk bitkisinde SOD ve POD enzim aktivitesi üzerine EBR'nin etkisi

Table 3. Effect of EBR on SOD and POD enzyme activity in cotton plant

Çeşit	NaCl (mM)	SOD (Unit mg protein ⁻¹)		POD ($\Delta A_{470} \text{ min}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$)	
		EBR (-)	EBR (+)	EBR (-)	EBR (+)
Nazilli 84-S	0	11.19±0.31 g	13.60±0.40 fg	2.25±0.11 ef	2.57±0.11 def
	75	23.82±1.63 cde	28.96±2.48 bc	4.62±0.04 bc	5.04±0.12 b
	150	33.87±1.48 b	53.02±4.37 a	5.69±0.28 ab	6.95±0.31 a
Carmen	0	13.12±0.93 g	18.99±1.16 defg	2.06±0.18 f	2.29±0.11 ef
	75	19.56±1.98 defg	29.40±1.67 bc	3.23±0.07 def	3.56±0.11 cd
	150	24.94±1.41 cd	35.50±2.70 b	4.74±0.19 bc	5.10±0.13 b
BA-119	0	12.25±0.83 g	13.34±0.22 fg	2.40±0.18 def	2.76±0.05 de
	75	15.44±1.74 efg	16.46±1.39 defg	3.25±0.09 def	3.60±0.07 cd
	150	19.45±1.76 defg	22.02±2.44 cdef	3.48±0.07 cde	4.59±0.37 c

SOD LSD 0.05=8.87, POD LSD 0.05=1.27

Sonuçlar ortalama \pm standart hata şeklinde sunulmuştur.

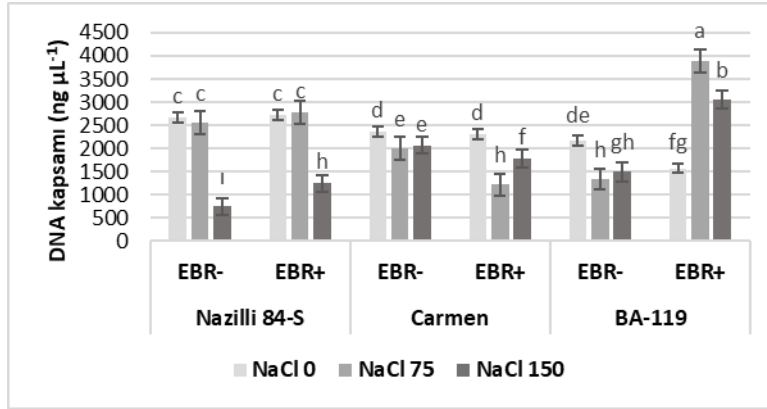
Değerlerin yanındaki farklı harfler, uygulamalar arasında anlamlı bir farklılığın olduğunu gösterir.

Bitkide tuzlu koşullarda stres etkisi ile serbest radikaller özellikle de süper oksit (O_2^-) molekülü artmaktadır. Bu da lipid peroksidasyonuna, yağ asidi doygunluğuna ve sonuçta membran bütünlüğüne zarar vermektedir. Süper oksit genellikle H_2O_2 oluşturmak suretiyle Calvin döngüsünün birçok enziminin inaktivasyonuna neden olmaktadır. Bitkiler de bu oksidatif zararın yol açtığı yıkıcı etkilere karşı antioksidan koruyucu sistemleri ile mücadele etmektedirler. Tuz stresinin derecesine bağlı olarak bu enzimatik antioksidanların aktivitesinde bir artış olmaktadır (Yılmaz vd., 2011). Brassinosteroidler kültür bitkilerinde büyüme ve verimi olumlu etkilemelerinin yanı sıra, farklı abiyotik stres tiplerine karşı bitkilerde direnci geliştirici etki de göstermektedirler. Tuz stresi gibi ağır metal stresi de bir abiyotik stres tipidir ve önemli oranda serbest radikal üretimiyle sonuçlanabilir. Eğer bu serbest radikal üretimi antioksidatif kapasitedeki artışla desteklenmez ise, metabolik olarak yıkım süreci başlayabilir. Shahzad et al. (2018), ağır metal stresi altındaki çeltik (*Oryza sativa* L.), turp (*Raphanus sativus* L.), hardal (*Brassica juncea* L.), köpek üzümü (*Solanum nigrum* L.) ve domates (*Solanum lycopersicum* L.) bitkilerine EBL uygulanmasının antioksidatif aktiviteyi önemli oranda arttırdığını rapor etmişlerdir. MDA kapsamlarında %40'a varan artışların yanı sıra, SOD ve CAT kapsamlarında %80'e varan aktivite artışı bildirilmiştir. Tuz stresi altındaki bitkide antioksidatif sistemin regülasyonu büyüme ve gelişmenin süreğenliği açısından bir gerekliliktir. Wani et al. (2019), tuz stresi etkisindeki hardal (*Brassica juncea* L.) bitkisinde antioksidatif sistemin regülasyonu için EBL uygulamasının pozitif sonuçlarını rapor etmişlerdir. Araştırmacının elde ettiği verilere göre, peroksidaz (POX), CAT ve SOD aktivitelerinde sırasıyla %130, %80 ve %118'e varan

artışlar saptanmış ve tuz stresi altında bulunan bitkide antioksidatif sistem epibrassinolid uygulamasıyla regüle edilmiştir. Diğer yandan Zeng et al. (2024), çalışmalarında yüksek tuzluluğun, bir mangrov türünde (*Kandelia obovata*) BR biyosentez genlerinin ekspresyonunu ve endojen BR seviyelerini arttırdığını bildirmişlerdir. Ardından, tuzun indüklediği BR'nin antioksidan enzimlerin aktivitelerini ve gen ekspresyonlarını tetikleyerek malondialdehit ve hidrojen peroksit düzeylerini azalttığını ve ardından reaktif oksijen türlerinin blokesinde ve köklerde Na^+/K^+ homeostazisini modüle edip, oksidatif hasarı azaltma yoluyla, *Kandelia obovata*'nın yüksek tuzluluğa tepkisindeki BR mekanizması hakkında önemli bir katkı sağladığını rapor etmişlerdir. Kolomeichuk et al. (2023), bitkilerde tuz direncinin oluşumunda endojen BR'lerin önemine dikkat çekmişlerdir. Patateste (*Solanum tuberosum*) tuz stresine tepki olarak endojen BR profilinin değiştiğinin gösterildiğini ifade eden araştırmacılar, BR'lerin tuz stresindeki koruyucu etkisinin, BR'lerin fotosentetik pigmentlerin bozulmasını azaltarak ve hücre antioksidan sistemini aktive ederek fotosentetik süreçlerin verimliliğini arttırdığı gerçeğine dayandığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar buna ilaveten, tuz stresine maruz kalan kolza (*Brassica napus* L.) bitkisinde endojen BR seviyesinin arttığını ve bunun BR'lerin muhtemelen tuz direncinin düzenlenmesindeki rolünden kaynaklandığını da bildirmişlerdir.

DNA kapsamı

Çalışmada, pamuk tohumlarının EBR ile muamelesi, DNA seviyelerinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir. DNA verimi ortalama en düşük $744 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ ile Nazilli 84-S çeşidinde 150 mM NaCl uygulamalı örneklerde bulunmuştur. DNA içeriğinin en yüksek olduğu örnekler ise; hassas çeşit Beyaz Altın 119'da 75 ve 150 mM NaCl 'lü koşulda EBR uygulamalı örneklerde sırasıyla $3898 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ ve $3062 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ bulunmuştur. Nazilli 84-S çeşidinde EBR (-) grupta $744 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ olan DNA kapsamı, aynı çeşitte EBR uygulaması sonucu yaklaşık %70 oranında artarak $1254 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ seviyesine yükselmiştir. Benzer eğilim BA-119 çeşidinde de belirlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. EBR'nin pamuk bitkisinin DNA kapsamı üzerine etkisi

Figure 4. Effect of EBR on DNA content of cotton plant

LSD 0.05=224.4; Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde sunulmuştur.

BR'ler, transkripsiyon ve translasyon süreçlerinde bitki dokusunun büyümesine katılır. Bitki dokusunun büyümesinin aktivasyonunun ve daha yüksek RNA ve DNA polimeraz seviyelerinin, DNA, RNA ve protein içeriğinin artmasıyla ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu enzim aktivitelerinin artırılması, gen ekspresyonunun BR'ler tarafından düzenlenmesinin bir sonucu olabilir ve BR'ler tarafından indüklenen büyüme teşvikiyle doğrudan veya dolaylı olarak ilgili olabilir. BR'nin indüklediği fizyolojik etkilerin çeşitli RNA sentezi ve protein sentezi inhibitörleri tarafından inhibisyonu araştırılmıştır. Sonuçlar BR'lerin fizyolojik etkilerinin DNA, RNA ve hücre proteinlerinin sentezine bağlı olduğunu göstermektedir (Kalinich et al., 1986). Tuz stresi hücre gen ekspresyon mekanizmasını etkiler. Bu nedenle nükleik asitlerin işlenmesinde yer alan moleküllerin de etkilenmesi muhtemeldir (Mahajan & Tuteja, 2005). Nükleik asit ve protein sentezi

bitkide büyüme boyunca erken aktive olan iki prosesdir ve bu prosesler NaCl ile baskılanır fakat fitohormonların etkisi ile de onarılabılır. Brassinosteroidlerin de nükleik asit sentezini etkileyerek büyümeyi regüle ettikleri ve stres koşullarında brassinolid uygulaması ile RNA, DNA ve protein içeriklerinin artması sonucu büyümede iyileşme olduğu belirtilmektedir (Anuradha & Rao, 2001; Parida & Das, 2005).

Şekil 4'den de görülebileceği gibi, NaCl uygulaması ile tüm EBR (-) gruplarda pamuk (*Gossypium hirsutum*) bitkisinin DNA kapsamı azalmıştır. DNA kapsamındaki en fazla azalma tuza tolerant Nazilli 84-S, EBR (-) grupta yaklaşık %70 düzeyinde gerçekleşmiştir. EBR (+) grupta da benzer eğilim mevcuttur. Buna karşın, Carmen çeşidindeki düşüş daha ılımlıdır. Dikkat çeken husus, tuza hassas BA-119'da görülmüştür. Bu çeşitte EBR (-) grupta DNA kapsamı kontrole kıyasla %31 oranında azalırken, EBR (+) grupta %95 düzeyinde artış kaydetmiştir. Bu durum, tuza hassas çeşitte EBR uygulamasının hücre DNA hasarını engelleyici bir etki yaptığının göstergesidir.

Tuzlu koşullarda ekzogen brassinolid uygulaması ile bitkide çözünür protein, DNA ve RNA miktarının arttığı; yer fıstığı (*Arachis hypogae* L.) (Vardhini & Rao, 1998), su yosunu (*Chlorella vulgaris*) (Bajguz, 2000), ve turp (*Raphanus sativus*) (Vardhini et al. 2012) gibi bazı bitkilerde gösterilmiştir. *Chlorella vulgaris* üzerinde yürütölen bir çalışmada, BR'lerin nükleik asit ve protein içeriğinin artırılmasındaki uyarıcı rolü doğrulanmıştır. Alglerin 36 saatlik ekimi sırasında gelişim döngüsünün kısalması ve verimliliğinin iki ila üç kat artması, transkripsiyon ve translasyon işlemlerinin oranında olağandışı bir artış olduğunu göstermektedir (Bajguz, 2000). Ayrıca, Vardhini (2012), tuzlu koşullarda yetiştirilen iki sorgum (*Sorghum* L.) varyetesinde yapraktan brassinolid uygulamasının çözünür protein ve RNA seviyelerini yükselttiğini ve brassinolidin daha fazla tuzlu olan bölgede daha az tuzlu bölgeye göre daha etkili olduğunu belirterek, tuz stresinin negatif etkisine karşı koyma kabiliyeti gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır.

SONUÇ

Çalışmada denenen 24-epibrassinolidin, pamuk bitkisinde tuz stresinin azaltılmasında etkili olma potansiyeli ortaya konulmuştur. EBR uygulamaları, antioksidatif sistemi uyarıp enzim aktivasyonunu sağlayarak, hücre membran bütünlüğünü ve su potansiyelini korumuş, pigment ve DNA hasarını azaltıcı bir etki sergilemiştir. Pamukta 3 µM gibi bir dozda uygulamanın olumlu etkisi gözlenmiş olup, başka uygulama şekil ve dozlarının da denenerek daha etkili sonuçlar alınacağı düşünülmektedir. Böylece tarımsal üretimde geniş bir uygulama olanağı potansiyeli doğabilecektir.

Veri Kullanılabilirliği

Veriler makul talep üzerine sağlanabilmektedir.

Yazar Katkıları

Çalışmanın konsepti ve tasarımı: BB, ALT, HA; örnek toplama: HA, BB; verilerin analizi ve yorumlanması: HA, BB, ALT, FA, YSA; istatistiksel analiz: BB, HA; görselleştirme: ALT, BB, HA, FA, YSA; makalenin yazımı: ALT, BB, HA.

Çıkar çatışması

Bu çalışmada yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Etik Beyan

Bu araştırma için etik kurul raporuna ihtiyaç olmadığını beyan ederiz.

Makale Açıklaması

Bu makale Alan Editörü Prof. Dr. Fatma AYKUT TONK tarafından düzenlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Agami, R.A., 2013. Alleviating the adverse effects of NaCl stress in maize seedlings by pretreating seeds with salicylic acid and 24-epibrassinolide. *South African Journal of Botany*, 88: 171-177. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.07.019>
- Ahmed, H.H.A., E. Darwish & M.G. Alobaidy, 2017. Impact of putrescine and 24-epibrassinolide on growth, yield and chemical constituents of cotton (*Gossypium barbadense* L.) plant grown under drought stress conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*, 16 (1): 9-23. <https://doi.org/10.3923/ajps.2017.9.23>
- Ali, B., S. Hayat, Q. Fariduddin & A. Ahmad, 2008. 24-Epibrassinolide protects against the stress generated by salinity and nickel in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 72: 1387-1392. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.012>
- Altunlu, H., 2020. The effects of mycorrhiza and rhizobacteria application on growth and some physiological parameters of pepper (*Capsicum annuum* L.) under salt stress. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 57 (4): 501-510. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.655491>
- Anonymous, 2024. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF> (Erişim tarihi: 12.01.2024).
- Anuradha, S. & S.S.R. Rao, 2001. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regulation*, 33: 151-153. <https://doi.org/10.1023/A:1017590108484>
- Anuradha, S. & S.S.R. Rao, 2003. Application of brassinosteroids to rice seed (*Oryza sativa* L.) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity. *Plant Growth Regulation*, 40: 29-32. <https://doi.org/10.1023/A:1023080720374>
- Ashraf, M., 2002. Salt tolerance of cotton: Some new advances. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21 (1): 1-30. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044160>
- Bajguz, A., 2000. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38 (3): 209-215. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)00733-6](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00733-6)
- Beauchamp, C & I. Fridovich, 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44: 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Castle, J., T. Montoya & G.J. Bishop, 2003. "Selected Physiological Responses of Brassinosteroids: A Historical Approach, Chapter 2, 45-68". In: *Brassinosteroids, Bioactivity and Crop Productivity* (Eds. S. Hayat & A. Ahmad), Springer, 246 pp.
- Chance, B. & C. Maehly, 1955. Assay of Catalase and Peroxidases. *Methods and Enzymology*, 11: 764-775.
- Chen, Y., J. Ge, Y. Liu, R. Li, R. Zhang, K. Li, Z. Huo, K. Xu, H. Wei & Q. Dai, 2022. 24-Epibrassinolide alleviates the adverse effect of salinity on rice grain yield through enhanced antioxidant enzyme and improved K⁺/Na⁺ homeostasis. *Agronomy*, 12: 2499. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102499>
- Chinnusamy, V., A. Jagendorf & J.K. Zhu, 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45: 437-448. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0437>
- Ding, H.D., X.H. Zhu, Z.W. Zhu, S.J. Yang, D.S. Zha & X.X. Wu, 2012. Amelioration of salt-induced oxidative stress in eggplant by application of 24-epibrassinolide. *Biologia Plantarum*, 56 (4): 767-770. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0108-0>
- Djemal, R., H. Moez & E. Chantal, 2023. "Control of Plant Responses to Salt Stress: Significance of Auxin and Brassinosteroids, Open Access Peer-Reviewed Chapter 6". In: *Making Plant Life Easier and Productive Under Salinity-Updates and Prospects* (Ed. A.A. Naser), IntechOpen, 176 pp., EBook ISBN: 978-1-83768-878-4., <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.106124>
- Dong, Z., J. Huang, T. Qi, Q. Fu, A. Meng & Y. Fu, 2023. Effects of plant regulators on the seed germination and antioxidant enzyme activity of cotton under compound salt stress. *Plants*, 12 (24): 4112. <https://doi.org/10.3390/plants12244112>
- Doyle, J.J. & J.L. Doyle, 1987. A Rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11-15.
- Dubey, R.S., 2005. "Photosynthesis in Plants under Stressful Conditions, 717-738". In: *Hand Book Photosynthesis* (2nd Edition) (Ed. M. Pessarakli), C.R.C. Press, New York, USA, 883 pp.

- Egbichi, I., M. Keyster, A. Jacobs, A. Klein & N. Ludidi, 2013. Modulation of antioxidant enzyme activities and metabolites ratios by nitric oxide in short-term salt stressed soybean root nodules. *South African Journal of Botany*, 88: 326-333. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.08.008>
- Eleiwa, M.E., S.O. Bafeel & S.A. Ibrahim, 2011. Influence of brassinosteroids on wheat plant (*Triticum aestivum* L.) production under salinity stress conditions I- Growth parameters and photosynthetic pigments. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5 (5): 58-65.
- Filek, M., A. Sieprawska, J. Oklestkova, J. Biesaga-Kościelniak, Z. Miszalski & A. Janeczko, 2018. 24-Epibrassinolide as a modifier of antioxidant activities and membrane properties of wheat cells in zearalenone stress conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37: 1085-1098. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9792-0>
- González, L. & M. González-Vilar, 2001. "Determination of Relative Water Content, Chapter 14, 207-212". In: *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques* (Ed. M.J.R. Roger), Springer, Dordrecht, 468 pp. https://doi.org/10.1007/0-306-48057-3_14
- Hoagland, D.R. & D.I. Arnon, 1950. *The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil*. University of California, College of Agriculture, Berkeley, 32 pp.
- Houimli, S.I.M., M. Denden & B.D. Mouhanded, 2010. Effects of 24-epibrassinolide on growth, chlorophyll, electrolyte leakage and proline by pepper plants under NaCl-stress. *EurAsian Journal of Biosciences*, 4: 96-104. <https://doi.org/10.5053/ejobios.2010.4.0.12>
- Jones, M.M. & N.C. Turner, 1978. Osmotic adjustment in leaves of Sorghum in response to water deficits. *Plant Physiology*, 61: 122-126. <https://doi.org/10.1104/pp.61.1.122>
- Kalinich, J.F., N.B. Mandava & J.A. Todhunter, 1986. Relationship of nucleic acid metabolism to brassinolide induced responses in beans. *Journal of Plant Physiology*, 125 (3-4): 345-353.
- Karlidağ, H., E. Yıldırım & M. Turan, 2011. Role of 24-epibrassinolide in mitigating the adverse effects of salt stress on stomatal conductance, membrane permeability, and leaf water content, ionic composition in salt stressed strawberry (*Fragaria xananassa*). *Scientia Horticulturae*, 130: 133-140. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.025>
- Katerji, N., J.W., Van Hoorn, A. Hamdy, M. Mastrorilli & E. Mou Karzel, 1997. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agricultural Water Management*, 34 (1): 57-69. [https://doi.org/10.1016/S0378-3774\(96\)01294-2](https://doi.org/10.1016/S0378-3774(96)01294-2)
- Kaya, C., M. Ashraf, O. Sönmez, A.L. Tuna, T. Polat & S. Aydemir, 2015. Exogenous application of thiamin promotes growth and antioxidative defense system at initial phases of development in salt-stressed plants of two maize cultivars differing in salinity tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37: 1741-1753. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1741-3>
- Khan, R., X. Ma, Q. Hussain, M. Asim, A. Iqbal, X. Ren, S. Shah, K. Chen & Y. Shi, 2022. Application of 2,4-epibrassinolide improves drought tolerance in tobacco through physiological and biochemical mechanisms. *Biology*, 11: 1192. <https://doi.org/10.3390/biology11081192>
- Kılıç, S., K. Çavuşoğlu & K. Kabar, 2007. Effects of 24-Epibrassinolide on salinity stress induced inhibition of seed germination, seedling growth and leaf anatomy of barley. *SDÜ-Fen Edebiyat Fakültesi, Fen Dergisi*, 2 (1): 41-52.
- Kolomeichuk, L.V., M.V. Efimova & I.E. Zlobin, 2020. 24-Epibrassinolide alleviates the toxic effects of NaCl on photosynthetic processes in potato plants. *Photosynthetic Research*, 146: 151-163. <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00708-z>
- Kolomeichuk, L.V., E.D. Danilova, O.K. Murgan, A.L. Sauchuk, R.P. Litvinovskaya, V.A. Khripach, V.V. Kuznetsov & M.V. Efimova, 2023. Endogenous brassinosteroids are involved in the formation of salt resistance in plants. *Doklady Biological Sciences*, 511: 259-263. <https://doi.org/10.1134/S0012496623700485>
- Kurt, C. H., M. Tunçtürk & R. Tunçtürk, 2023. Tuz stresi koşullarında yetiştirilen soya (*Glycine max* L.) bitkisinde bazı fizyolojik ve biyokimyasal değişimler üzerine salisilik asit uygulamalarının etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 60 (1): 91-101. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.1053742>
- Lutts, S., J.M. Kinet & J. Bouharmont, 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78 (3): 389-398. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134>
- Mahajan, S & N. Tuteja, 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>

- Mehrian, S.K., N. Karimi & F. Rahmani, 2023. 24-Epibrassinolide alleviates diazinon oxidative damage by escalating activities of antioxidant defense systems in maize plants. *Scientific Reports*, 13: 19631. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46764-y>
- Munns, R. & M. Gilliam, 2015. Salinity tolerance of crops-what is the cost? *New Phytologist*, 208: 668-673. <https://doi.org/10.1111/nph.13519>
- Ouertani, R.N., D. Arasappan, G. Abid, C.M. Ben, R. Jardak & H. Mahmoudi, 2021. Transcriptomic analysis of salt-stress-responsive genes in barley roots and leaves. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (15): 8155-8172. <https://doi.org/10.3390/ijms22158155>
- Özdemir, F., M. Bor, T. Demiral & İ. Türkan, 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Plant Growth Regulation*, 42 (3): 203-211. <https://doi.org/10.1023/B:GROW.0000026509.25995.13>
- Parida, A.K. & A.B. Das, 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60 (3): 324-349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
- Raza, M.A.S., M.A. Ibrahim, A. Ditta, R. Iqbal, M. U. Aslam, F. Muhammad, S. Ali, F. Çiğ, B. Ali, R.M. Ikram, M.N. Muzamil, M.H. Rahman, M.S. Alwahibi & M.S. Elshikh, 2023. Exploring the recuperative potential of brassinosteroids and nano-biochar on growth, physiology, and yield of wheat under drought stress. *Scientific Reports*, 13: 15015. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42007-2>
- Sadeghi, F. & A. Shekafandeh, 2014. Effect of 24-epibrassinolide on salinity-induced changes in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87: 182-189. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.026>
- Shahid, M.A., M.A. Pervez, R.M. Balal, N.S. Mattson, A. Rashid, R. Ahmad, C.M. Ayyub & T. Abbas, 2011. Brassinosteroid (24-epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 5 (5): 500-510.
- Shahzad, B., M. Tanveer, Z. Che, A. Rehman, S.A. Cheema, A. Sharma, H. Song, S. Rehman & D. Zhaorong, 2018. Role of 24-epibrassinolide (EBL) in mediating heavy metal and pesticide induced oxidative stress in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 935-944. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.066>
- Strain, H.H. & W.A. Svec, 1966. "The Chlorophylls, 21-66". In: II. Extraction, Separation, Estimation and Isolation of Chlorophylls (Eds. L.P. Vernon & G.R. Seely), Academic Press, N.Y., 447pp.
- Surgun, Y., E. Yılmaz, B. Çöl & B. Bürün, 2012. Altıncı grup bitki hormonu: Brassinosteroidler. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8 (1): 27-46.
- Surgun, Y., H. Altunlu, S. Türkecul, B. Bürün & İ. Yokaş, 2015. Effects of 24-Epibrassinolide on growth and some antioxidant enzymes of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivars under NaCl stress. *Journal of Applied Biological Sciences*, 9 (3): 9-17.
- Tanveer, M., B. Shahzad, A. Sharma, S. Biju & R. Bhardwaj, 2018. 24-Epibrassinolide; an active brassinolide and its role in salt stress tolerance in plants: A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 130: 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.035>
- Tanveer, M., B. Shahzad, A. Sharma & E.A. Khan, 2019. 24-Epibrassinolide application in plants: An implication for improving drought stress tolerance in plants. A review, *Plant Physiology and Biochemistry*, 135: 295-303. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.12.013>
- Vardhini, B.V. & S.S.R. Rao, 1998. Effects of brassinosteroids on growth, metabolite content and yield of *Arachis hypogaea*. *Phytochemistry*, 48 (6): 927-930. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00710-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00710-3)
- Vardhini, B.V., 2012. Application of brassinolide mitigates saline stress of certain metabolites of sorghum grown in Karaikal. *Journal of Phytology*, 4 (4): 1-3.
- Vardhini, B.V., E. Sujatha & S.S.R. Rao, 2012. Influence of brassinosteroids on metabolites of *Raphanus sativus* L. *Journal of Phytology*, 4 (2): 45-47.
- Wani, A.S., A. Ahmad, S. Hayat & I. Tahir, 2019. Epibrassinolide and proline alleviate the photosynthetic and yield inhibition under salt stress by acting on antioxidant system in mustard. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135: 385-394. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.002>
- Verma, A., C.P. Malik & V.K. Gupta, 2012. In vitro effects of Brassinosteroids on the growth and antioxidant enzyme activities in groundnut. *International Scholarly Research Notices*, 356485: 1-8. <https://doi.org/10.5402/2012/356485>

- Wu, W., Q. Zhang, E. Ervin, Z. Yang & X. Zhang, 2017. Physiological mechanism of enhancing salt stress tolerance of perennial ryegrass by 24-epibrassinolide. *Frontiers in Plant Science*, 8:1017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01017>
- Yamasaki, S. & L.R. Dillenburg, 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11 (2): 69-75.
- Yılmaz, E., A.L. Tuna & B. Brn, 2011. Bitkilerin tuz stresine karşı geliştirdikleri tolerans stratejileri. *C.B.U. Journal of Science*, 7 (1): 47-66.
- Zar, J.H., 2014. *Biostatistical Analysis*. 5th Edition. Pearson Education, India, 761 pp.
- Zeng, L.L., S. Ling-Yu, W. Xuan, M. Dong, S. Shi-Wei, W. Xiu-Xiu & Z. Hai-Lei, 2024. Brassinosteroid enhances salt tolerance via S-nitrosogluthathione reductase and nitric oxide signaling pathway in mangrove *Kandelia obovata*. *Plant, Cell & Environment*, 47 (2): 511-526. <https://doi.org/10.1111/pce.14745>