



**T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***Salvia nemorosa* BİTKİSİNİN BAZI
FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ELİSİTÖRLERİN
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bilal ANDİÇ

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Pınar ORCAN**

**Haziran-2023
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

..... tarafından hazırlanan “.....”
adlı tez çalışması .../.../... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile
Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Unvanı Adı SOYADI

.....

Danışman

Unvanı Adı SOYADI

.....

Üye

Unvanı Adı SOYADI

.....

Üye

Unvanı Adı SOYADI

.....

Üye

Unvanı Adı SOYADI

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof..Dr.

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından **BTÜBAP-2022-YL-01** nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Bilal ANDİÇ
02.06.2023

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Salvia nemorosa* BİTKİSİNİN BAZI FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE ELİSİTÖRLERİN ETKİSİ**

Bilal ANDİÇ

**Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Pınar ORCAN
2023, 63 Sayfa**

Jüri

**Dr. Öğr. Üyesi Pınar ORCAN
Prof. Dr. Çiğdem IŞIKALAN
Prof. Dr. Filiz AKBAŞ**

Bu tez çalışmasında NaCl stres faktörüne maruz bırakılan *Salvia nemorosa* L. bitkisinde biyotik ve abiyotik elisitörlerin (AgNP ve MeJA) fotosentetik pigment içeriği, lipid peroksidasyonu derecesi, prolin içeriği, toplam fenolik ile flavonoid madde içerikleri ve toplam antioksidan aktivite üzerinde yarattığı etkiler değerlendirilmiştir.

Bu amaçla saksılara ekimi yapılan tohumlar belirli bir büyüklüğe eriştikten sonra 100 mM NaCl içeren ¼ Hoagland besin çözeltisi ile 10 gün boyunca sulanmıştır. Bu sürenin sonunda saksılar; “Kontrol, 100 mM NaCl, 100 mM NaCl + 50 µM MeJA, 100 mM NaCl + 10 µM AgNP ve 100 mM NaCl + 50 µM MeJA + 10 µM AgNP” olacak şekilde beş gruba ayrılmış ve 10. günü takiben bitkiler hasat edilmiştir.

Fotosentetik pigment içerikleri (klorofil-a, klorofil-b ve toplam karotenoid) bakımından sonuçlar kontrol grubu ile kıyaslandığında en yüksek değerler her iki elisitörün birlikte uygulandığı NaCl + AgNP + MeJA ekstreden elde edilmiştir. Lipid peroksidasyonunun bir ölçüsü olan MDA miktarında meydana gelen artış çoktan aza doğru “NaCl > NaCl + AgNP > NaCl + MeJA > NaCl+ AgNP + MeJA > Kontrol” şeklinde olmuştur. Tüm uygulamalarda prolin içeriği kontrol grubuna göre artış göstermiş ve en düşük miktar 3,954 mmol/g TA ile NaCl + AgNP + MeJA uygulamasında, en yüksek değer (5,874 mmol/g TA) yalnızca tuz stres faktörünü içeren 100 mM NaCl uygulamasında olmuştur. Toplam fenolik ile flavonoid madde miktarları bakımından ise en yüksek içeriğin NaCl + AgNP + MeJA; en düşük içeriğin ise NaCl uygulamasında olduğu görülmüştür. Ayrıca üç ayrı yöntem ile değerlendirilen toplam antioksidan aktivite bakımından uygulamalar incelendiğinde; DPPH yönteminde düşük konsantrasyonlarda (100 ile 150 µg/mL) NaCl + MeJA uygulamasının aktivite değeri pozitif kontrol olan askorbik asitten yüksek bulunmuştur. 250 µg/mL konsantrasyonda elisitörlerin birlikte ve ayrı ayrı kullanıldığı uygulamalara ait ekstrelerin DPPH radikali süpürme aktivitesi tüm pozitif kontrollerden (AA, BHT, BHA) yüksek olmuştur. ABTS yönteminde düşük konsantrasyonlarda genel olarak tüm uygulamalar pozitif kontrol BHT’den yüksek aktivite gösterirken; 60 ile 80 µg/mL konsantrasyonlarında elisitörlerin birlikte ve ayrı ayrı uygulandığı bitkilere ait etanol ekstreleri pozitif kontrollerden yüksek aktivite göstermiştir. CUPRAC yönteminde ise özellikle 150 ile 200 µg/mL konsantrasyonlarda iki elisitörün birlikte kullanıldığı uygulamalara ait ekstrelerin radikal giderme aktivitesi BHA’dan yüksek bulunmuştur.

Elisitör uygulamaları genel olarak, üç toplam antioksidan yönteminde de tuzun tek başına uygulandığı gruba göre radikal süpürme aktivitesini arttırmıştır. Dolayısıyla kullandığımız parametreler açısından, biyotik ve abiyotik elisitörün birlikte uygulanmasının olumlu sonuçlar vermesi, stres koşullarının yarattığı olumsuz etkiyi gidermede etkili olabilecekleri sonucunun çıkarılmasına yol açmıştır.

Anahtar Kelimeler: AgNP, antioksidan, MDA, MeJA, prolin, *Salvia nemorosa* L.

ABSTRACT

MS THESIS

EFFECT OF ELICITORS ON SOME PHYSIOLOGIC AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN *Salvia nemorosa*

Bilal ANDİÇ

**Institute of Graduate Studies of Batman University
The Degree of Master Science In Biology**

Advisor: Asst. Prof. Dr. Pınar ORCAN

2023, 63 Pages

Jury

Asst. Prof. Dr. Pınar ORCAN

Prof. Dr. Çiğdem IŞIKALAN

Prof. Dr. Filiz AKBAS

In this thesis, the effects of biotic and abiotic elicitors (AgNP and MeJA) on photosynthetic pigment content, lipid peroxidation degree, proline content, total phenolic and flavonoid substance contents and total antioxidant activity in *Salvia nemorosa* L. plant exposed to NaCl stress factor were evaluated. For this purpose, after the seeds sown in pots reached a certain size, they were watered with ¼ Hoagland nutrient solution containing 100 mM NaCl for 10 days. At the end of this period, the pots were divided into five groups as “Control, 100 mM NaCl, 100 mM NaCl + 50 µM MeJA, 100 mM NaCl + 10 µM AgNP and 100 mM NaCl + 50 µM MeJA + 10 µM AgNP” and the plants were harvested after the 10th day.

When the results were compared with the control group in terms of photosynthetic pigment contents (chlorophyll-a, chlorophyll-b and total carotenoid), the highest values were obtained from NaCl + AgNP + MeJA extract, in which both elicitors were applied together. The increase in the amount of MDA, which is a measure of lipid peroxidation, has been in the form of “NaCl > NaCl + AgNP > NaCl + MeJA > NaCl + AgNP + MeJA > Control” from high to low. Proline content increased in all treatments compared to the control group and the lowest amount was in NaCl + AgNP + MeJA application with 3.954 mmol/g TA, the highest value (5,874 mmol/g TA) was in 100 mM NaCl application containing only salt stress factor. In terms of total phenolic and flavonoid substance amounts, the highest content was NaCl + AgNP + MeJA; the lowest content was observed in the NaCl application. In addition, when the applications are examined in terms of total antioxidant activity evaluated by three different methods; In the DPPH method, the activity value of NaCl + MeJA application at low concentrations (100 to 150 µg/mL) was found to be higher than the positive control, ascorbic acid. The DPPH radical scavenging activity of the extracts from the applications in which elicitors were used together and separately at 250 µg/mL concentration was higher than all positive controls (AA, BHT, BHA). In ABTS method, while all applications at low concentrations generally show higher activity than positive control BHT; ethanol extracts of plants in which elicitors were applied together and separately at concentrations of 60 to 80 µg/mL showed higher activity than positive controls. In the CUPRAC method, the radical scavenging activity of the extracts, especially at 150 and 200 µg/mL concentrations of the applications in which two elicitors were used together, was found to be higher than BHA.

Elicitor applications generally increased the radical scavenging activity in all three total antioxidant methods compared to the group in which salt was applied alone. Therefore, in terms of the parameters we use, the positive results of the application of biotic and abiotic elicitor together

led to the conclusion that they can be effective in eliminating the negative effects of stress conditions.

Keywords: AgNP, antioxidant, MDA, MeJA, proline, *Salvia nemorosa* L.



ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma Batman Üniversitesi Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Batman Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür.

Çalışmalarında her türlü desteği sağlayan, bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pınar ORCAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam esnasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Filiz AKBAŞ hocama desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarında her türlü desteği sağlayan Sayın Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Selçuk KURU hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın her aşamasında beni yalnız bırakmayan aileme ve arkadaşlarıma canı gönülden şükranlarımı sunarım.

Bilal ANDİÇ
BATMAN-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1. MATERYAL.....	12
3.2. YÖNTEM.....	13
3.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması.....	13
3.2.2. Bitkisel Materyalin Yetiştirilmesi.....	13
3.2.3. Stres Faktörü ve Elisitör Uygulamaları.....	14
3.2.4. Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi.....	15
3.2.5. Malondialdehit İçeriğinin Belirlenmesi.....	16
3.2.6. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi.....	17
3.2.7. Toplam Fenolik Madde İçeriği.....	18
3.2.8. Toplam Flavonoid İçeriği.....	18
3.2.9. Toplam Antioksidan Aktivite İçeriği.....	19
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	21
4.1.Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi.....	21
4.2. MDA İçeriklerinin Belirlenmesi.....	22
4.3.Prolin İçeriklerinin Belirlenmesi.....	23
4.4.Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Madde İçeriklerinin Belirlenmesi.....	24
4.5.Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	26
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ.....	51

ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa No
Çizelge 4.1. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstralarının fotosentetik pigment içerikleri*	21
Çizelge 4.2. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstralarının MDA içerikleri*	22
Çizelge 4.3. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstralarının prolin içerikleri*	24
Çizelge 4.4. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstralarının toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleri ⁱ	25
Çizelge 4.5. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (%I)*	27
Çizelge 4.6. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstralarının ABTS serbest radikali giderim aktivitesi (%I)*	30
Çizelge 4.7. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstralarının CUPRAC serbest radikali giderim aktivitesi (%I)*	32

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Başlangıç materyali olarak kullanılan <i>S. nemorosa</i> L'nin olgun tohumları	12
Şekil 3.2. <i>Salvia nemorosa</i> bitkilerinin büyüme odasında iki aylık gelişimi	14
Şekil 3.3. <i>Salvia nemorosa</i> bitkilerinde yapılan uygulamalar	15
Şekil 3.4. <i>Salvia nemorosa</i> bitkilerinin analize hazırlık için sıvı azotta öğütülmesi	15
Şekil 3.5. <i>Salvia nemorosa</i> bitkilerinin analize hazırlık için kurutulması	15
Şekil 3.6. MDA standart eğrisi	16
Şekil 3.7. L-Prolin standart eğrisi	17
Şekil 3.8. Gallik asit standart eğrisi	18
Şekil 3.9. Kersetin standart eğrisi	19
Şekil 3.10. DPPH ve ABTS yöntemlerine ait örneklerin inkübasyon sonrası görünüşü	20
Şekil 3.11. Örneklerin spektrofotometrik ölçümü	20
Şekil 4.1. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstrelerinin fotosentetik pigment içerikleri	22
Şekil 4.2. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstrelerinin MDA içerikleri	23
Şekil 4.3. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstrelerinin prolin içerikleri	24
Şekil 4.4 <i>S.nemorosa</i> bitki ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri	25
Şekil 4.5. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstrelerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	26
Şekil 4.6. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstrelerinin ABTS serbest radikali giderim aktivitesi	29
Şekil 4.7. <i>S. nemorosa</i> bitki ekstrelerinin CUPRAC serbest radikali giderim aktivitesi	33

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

L	Litre
μL	Mikrolitre
mL	Mililitre
M	Molar
mM	Milimolar
μM	Mikromolar
mg	Miligram
nm	Nanometre
μg	Mikrogram
ppm	Milyonda bir kısım

KISALTMALAR

NaCl	Sodyum klorür
Ag	Gümüş
AgNP	Gümüş nanopartikül
SA	Salisilik asit
JA	Jasmonat
MeJA	Metil jasmonat
AA	Askorbik asit
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütil hidroksitoluen
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
CUPRAC	Bakır(II) İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasite
GAE	Gallik asit eşdeğeri

QE	Kersetin eşdeğeri
ROT	Reaktif oksijen türleri
CAT	Katalaz
SOD	Süperoksit dismutaz
Na⁺	Sodyum
Cl⁻	Klor
NaCl	Sodyumklorür
CO₂	Karbondioksit
K⁺	Potasyum
Ca⁺²	Kalsiyum
Mg⁺²	Magnezyum



1. GİRİŞ

İnsan nüfusunun 2050 yılında yaklaşık 10 milyar olacağı buna bağlı olarak gıda ihtiyacının %50 oranında artacağı ve dolayısıyla iklim değişikliği tehdidi altındaki mevcut tarım uygulamalarının giderek artan insan nüfusunu karşılayamayacağı aşikardır (Lowry ve ark., 2019; Mora ve ark., 2020). Dünya genelinde su kaynaklarının azalması veya su kalitesinin düşmesi nedeniyle, özellikle de tuzlu koşullarda ürün üretiminin yönetimi kritik önem taşır. Tuzluluk stresi bitkilerin, özellikle de kurak ve yarı kurak bölgelerde büyümesini ve verimini kısıtlayan en önemli çevresel etmenlerden biri olarak kabul edilmektedir (Deng ve ark., 2015). Bu alanlardaki düşük yağmur, yüksek buharlaşma ve düşük drenaj koşulları topraktaki tuz konsantrasyonunu artırır ve tuzluluk stresi oluşturur (Abdel Latef, 2010). Bu nedenlerden dolayı dünyanın kullanılabilir tarım alanlarının yaklaşık üçte birinin tuzluluk sebebiyle zarar gördüğü ve bunun kötü sulama uygulamaları, uygunsuz tarımsal kullanım ve endüstriyel kirlilik nedeniyle küresel düzeyde daha da kötüleşeceği öngörülmektedir (Zhao ve ark., 2020). Ülkemizde de sulamaya uygun alanların yaklaşık 1.5 milyon hektarının tuzluluk ve alkalilik, 2.8 milyon hektarının ise drenaj sorunu yaşadığı bilinmektedir. Bitki büyümesinin, gelişiminin, üretkenliğinin ile veriminin azalmasına ve sınırlı kalmasına neden olan bu süreçler söz konusu olduğunda, hem sağlık hem de gıda ihtiyacını karşılamada gün geçtikçe önemi artan tıbbi ve aromatik bitkiler de yüksek tuzluluk seviyelerinden önemli ölçüde etkilenir (Assaf ve ark., 2022).

Tuzluluk stresi, sodyum klorür (NaCl) başta olmak üzere, çeşitli tuzların kök bölgesinde birikmesiyle oluşup (Valifard ve ark., 2014; Ahanger ve Agarwal, 2017), toprak çözeltisinin ozmotik potansiyelini artırarak besin dengesini bozar ve sodyum (Na^+) ile klor (Cl^-) iyonlarının birikmesinden kaynaklanan spesifik iyon toksisitesi nedeniyle bitki büyümesini ve gelişimini engellemektedir (Rehman ve ark., 2019). Tuz stresinin bitkiler üzerindeki etkileri: Birincil ve İkincil etkiler olarak sınıflandırılmıştır. Ozmotik ve iyonik etkiler birincil, besin ve hormonal dengesizlikler ile oksidatif stres ise ikincil etkiler olarak düşünülmektedir. Tuz stresi altındaki bitkiler ozmotik stresten ötürü stomalarını kapatarak su kaybını önleyebilmekte, bu durum da CO_2 asimilasyonunu sınırlandırdığından bitkilerin büyümesinde olumsuz etkiye neden olmaktadır (Yang ve Guo, 2018). Ozmotik stres, tuz uygulamalarına maruz kalan bitkilerde tuz stresinin ilk aşaması olarak kabul edilir (Munns ve Tester, 2008). Bu etkiler özellikle fotosentez ve çeşitli diğer temel fizyolojik ve biyokimyasal proseslerde

çökmeye neden olur (Abdoli ve ark., 2020). İyonik aşama, ozmotik faza göre nispeten daha yavaş bir süreçtir (Munns ve Tester, 2008) ve tuzluluk stresi ardından gelen oksidatif stres, besin dengesizliği ve hormonal homeostasis değerlerini düşürmektedir (Shu ve ark., 2017; Mahmoud ve ark., 2019). *Salvia hispanica*, *feverfew* (*Tanacetum parthenium* L.), ve *Salvia splendens* gibi türlerde tuzluluk stresi nedeniyle büyüme, kuru madde üretimi ve verimdeki azalma ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Raimondi ve ark., 2017; Mallahi ve ark., 2018). Karimian ve ark., (2019) uygulanan tuz stresinin (0-80 mM NaCl) büyüme parametrelerinde olduğu gibi (kök boyu, gövde boyu), bağıl su içeriği ve klorofil içeriğinde azalmaya yol açtığını ve *Salvia splendens*'te toplam fenol ve toplam çözünür şeker içeriğini artırdığını bildirmiştir. Gengmao ve ark. (2014) tarafından yapılan başka bir çalışmada 100 mM'den az tuz uygulamalarının *Salvia miltiorrhiza*'da büyüme parametreleri üzerinde herhangi bir etkisi olmadığını ancak kuru madde birikimini önemli ölçüde azalttığını ifade etmişlerdir. *Salvia officinalis*'te tuzluluk stresi (150 mM NaCl) bitki boyu, klorofil ve esansiyel yağ içeriğinde düşüşe neden olmuştur (Es-sbihi ve ark., 2021). Na⁺ tuzlarının aşırı derecede artması özellikle ROT üretimi, protein bozulması, hormonal dengesizlik ve membran geçirgenliği üzerinde değişikliklere neden olur (Chaves ve ark., 2009; Mahmoud ve ark., 2019; Abdoli ve ark., 2020). Tuz stresi ayrıca, temel enzimlerin aktivitelerini keserek bitkilerde N (azot) metabolizmasını etkiler (Ashraf ve ark., 2018). Tuz stresi, morfolojik olarak yaprak alanında azalma, fizyolojik ve biyokimyasal olarak da fotosentetik pigmentlerde, gaz değişim özelliklerinde ve foto sistem II'nin kuantum verimliliğinde düşüşe neden olmaktadır (Negrao ve ark., 2017; Chang ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2020). Pigment etkinliğinin azalmasının bir sonucu olarak klorofil miktarı azalmakta, bu nedenle fotosentez hızı düşerek bitkinin büyümesi sınırlanmaktadır (Shu ve ark., 2013; Hassan ve ark., 2020).

Bitkiler tuzluluk stresi ile başa çıkmak için farklı fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar geliştirmişlerdir (Zhao ve ark., 2020). Membran dengesini korumaya yönelik mekanizmalardan biri olan ozmotik düzenleme sürecinde prolin, glisin betain gibi osmotik uyumlu çözünen maddelerin hücresel konsantrasyonlarında artış kaydedilmiştir (Chakhchar ve ark., 2015). Oksidatif stresle başa çıkabilen bitkiler ROT'un zararlı etkilerini azaltmak için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan aktivitelerini geliştirirler (Acosta-Motos ve ark., 2017; Bayat ve Moghadam, 2019).

Biyotik ya da abiyotik stres koşulları altındaki bitkiler savunma mekanizmalarını uyaran bir takım endojen bileşikler (salisilik asit, etilen, absisik asit, sitokininler, jasmonatlar, vb.) üretmektedir. Jasmonik asit (JA) ile onun metil esteri olan metil jasmonatın (MeJA) yüksek yapılı bitkilerde aktif savunma mekanizmasında rol alan ve bitki olgunlaşmasını, hayatta kalmasını düzenlemek için gelişimsel etkileşimleri kontrol eden önemli fitoaleksinler olduğu önceki çalışmalarla ortaya konmuştur (Theis ve Lerda, 2003; Patel ve Krishnamurthy, 2013; Assaf ve ark., 2022; Wen ve ark., 2023). Son yıllarda yapılan çalışmaların çoğu JA'nın bitki olgunlaşma ve gelişimindeki rolünü anlama üzerine odaklanmış, jasmonatların birincil kök büyümesi, yaprak senesensi ve üreme gelişimi gibi çok sayıda önemli fizyolojik süreç ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Wasternack ve Hause, 2007; Kim ve ark., 2015). Tuzluluk, kuraklık ve sıcaklık (düşük/yüksek) başta olmak üzere birçok abiyotik stres koşulları altındaki farklı bitkilerde test edilen JA'ların ekzojen uygulaması, bitkilerin stres toleransını iyileştirmede etkili olmuştur (Ahmad ve ark., 2016). *Arabidopsis*, arpa, buğday, mısır ve inci darısı bitkileri üzerinde yürütülen çalışmalarda, JA'nın stres koşullarına karşı toleransı olumlu yönde etkilediğine dair raporlar mevcuttur (Awan ve ark., 2020; Wang ve ark., 2021). İnci darısı, soya fasülyesi ve buğday bitkileri üzerine yapılan farklı çalışmalarda kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilere absisik asit (ABA) ve JA ekzojen olarak uygulanmış. Bu çalışmalarda ABA ile kıyaslandığında JA uygulamasının, bitki taze ve kuru ağırlığı, kök uzunluğu ve sürgün uzunluğunu daha iyi geliştirdiği, MDA ve H₂O₂ içeriğini pozitif bir şekilde etkilediği belirlenmiştir. Araştırmacılar kuraklık stresinin azalmasında JA'nın ABA'dan daha belirgin bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Ruan, 2019; Awan ve ark., 2020).

Tuz stresi ile ilişkili olarak bitki verimliliğindemeydana gelen kayıplar küresel anlamda yaklaşık %50 oranındadır (Zhao ve ark., 2020). Tuzluluk sağlık, tarım ve gıda güvenliği üzerinde doğrudan etki yarattığı için toleransının sağlanması hayati önem taşımaktadır. Son yıllarda, hızla gelişen bir alan olan nanoteknolojinin benimsenmesi ile sürdürülebilir bitki üretimi için hayati önem taşıyan çözümler sayesinde kayda değer bir ilerleme sağlanmıştır (Tripathi ve ark., 2017; Hofmann ve ark., 2020). Nanopartiküller (NP) genel olarak, bitki büyümesini ve verimini artırmaya yönelik *in vitro* koşullarda strese karşı direnç sağlanması amacıyla kullanılan malzemelerdir.. Ayrıca tarımda gübrelerin, bitki öldürücülerin, böcek ilaçlarının verimli ve kontrollü bir şekilde dağıtımı ve su tutma kapasitesi gibi toprak fiziko-kimyasal özelliklerinin iyileştirilmesi

için de kullanılmaktadır (Vishwakarma ve ark., 2018; Rastogi ve ark., 2019). NP, çapı 1 ile 100 nm arasında olan çok ince parçacıklı bir maddedir. NP'ler, daha büyük boyutlara sahip aynı maddeden oldukça farklı benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olup (Cele, 2020) fiziko-kimyasal veya biyolojik çeşitli yöntemlerle sentezlenebilirler (Singh ve ark., 2018). Yapılan araştırmalarda NP'nin avantajlı yönleri ön plana çıkarılmasına rağmen, çevre kirliliği, hayvan ve insan sağlığıyla ilgili bazı riskleri de taşıdığını vurgulamaktadır (Rai, 2018). Çünkü, bitkilerin NP'lerin belirli konsantrasyonuna maruz kalma durumunun zararlı etkilere neden olabileceği de rapor edilmiştir (Tripathi ve ark., 2017; Vishwakarma ve ark., 2018). Yüksek konsantrasyonlardaki gümüş nanopartikül (AgNP) buğday genotiplerinde fototoksik etki yaparak foto sistem I aktivitesini bozmuş ve kloroplast hasarına yol açmıştır (Rastogi ve ark., 2019). Fakat tüm bu olumsuzluklara rağmen tarım sektöründeki nanopartikül uygulamaları, normal koşullarda ürün üretkenliğini ve tuz stresi gibi olumsuz çevre koşullarına karşı adaptasyonu arttırmaya yönelik umut verici tekniklerden biri olarak kabul edilir (Ahmad ve Akhtar, 2019; Zulfiqar ve ark., 2019). NP'lerin tuzluluk toleransı üzerine etkileri ile ilgili farklı bitki türlerinde birçok rapor mevcut olup C, K, Ca, S, Ag, Cu, Fe, Zn, B, Si gibi çeşitli NP'ler ile yapılan birçok çalışmada tuzluluk stresi dahil olmak üzere farklı çevresel koşullar altında bitkilerin başarılı bir şekilde gelişmesine olanak tanıdığı görülmektedir (Rossi ve ark., 2016; Avestan ve ark., 2019; Abdoli ve ark., 2020; Alabdallah ve Alzahi, 2020; Baz ve ark., 2020; Pinedo-Guerrero ve ark., 2020). AgNP'ler, ayırt edici fizyokimyasal özellikleri (antifungal, antibakteriyel, atık su arıtma potansiyeli) vb. nedeniyle diğer NP'lere oranla birçok önemli uygulama alanına sahiptir (Sheng ve ark., 2018). AgNP'nin ayrıca bitkilerde stres koşulları altında filizlenme ve büyüme ile ilgili özellikleri geliştirdiği bildirilmiştir (Soliman ve ark., 2020). Khan ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada, *Pennisetum glaucum* tohumlarına AgNP ön uygulaması yapılmış ve bu şekilde çimlenen tohumdan elde edilen bitkiler, tuz koşulları altında yüksek antioksidan enzim aktivitesi göstererek, oksitleyici hasarın etkisini azaltmışlardır. Yapılan başka bir çalışmada, AgNP uygulaması ile yaprak Na^+/K^+ oranı bastırılarak, toplam flavonoid ve fenolik içeriğinin artışı sağlanmıştır (Khan ve ark., 2020). Mohamed ve ark. (2017) AgNP ile ön işleme tabi tutulan buğday tohumlarını çimlendirip fide haline geldikten sonra tuz stresine maruz bırakmışlar ve sonuçta buğdayda büyüme, prolin ve çözünür şeker aktivitesinde iyileşme olduğunu bildirmişlerdir.

Tedavi amacıyla kullanılan birçok bitkinin içerdiği sekonder metabolitlerin saflaştırılarak yapılarının aydınlatılması ve bunların farmakolojik ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ile çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan doğal kaynaklı ilaç etken maddeleri bulunmuştur. Sentetik ilaç etken maddelerine göre hem daha az yan etkiye sahip olduğu hem de maliyetinin daha az olduğu bilinen doğal kaynaklı maddeler daha çok tercih edilmektedir. Yaşam süresinin uzaması, halkın bilinçlenmesi, sağlıklı beslenme gibi nedenler insanları bir dost gibi gördükleri doğaya yani bitkilere, bitkisel ürünlere, her geçen gün biraz daha yöneltmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Anadolu'da eskiden beri insanların lokman hekim ve aktarlar denen kişiler aracılığı ile tedavi amacıyla bitkilere başvurduğu bilinmektedir. Dünya üzerinde ortalama 20.000 çeşit bitki tıbbi amaçla kullanılmaktadır. Bunların da % 20' si bitkisel droglar olarak geniş bir kullanıma sahiptir. Avrupa'da ortalama 2.000 çeşit bitkisel drog ticareti yapılırken, Türkiye'de bu sayı alt türler de dahil olmak üzere yaklaşık 350 civarı olup bunların da ortalama %42-43' ünün ihracatı yapılmaktadır. Ticareti yapılan türler genellikle, doğal yaşam alanlarından toplanmaktadır ancak son yıllarda bu bitkilerin tarımına ilgi oldukça artmıştır. Son yıllarda yapılan farmakolojik çalışmalar ile bu türe ait ekstraktlarının antioksidan potansiyelleri oldukça önemli bulunmuştur (Tepe, 2008).

Dünya üzerinde 220'ye yakın cins ve 4000'e yakın tür ile temsil edilen Lamiaceae familyası Türkiye'de 46 cins, 586 tür ve yaklaşık 239 endemik türler ile temsil edilmektedir. Bu familyanın en önemli üyelerinden olan *Salvia*, Türkiye'de 45'i endemik olmak üzere 89 tür ile temsil edilmekte ve eski zamanlardan beri şifalı bitki olarak dünyanın birçok yerinde kullanılmaktadır (Batıbay, 2017). *Salvia* türlerinin sekonder metabolitleri başlıca terpenoit, steroid, flavonoid ve diğer fenolik bileşiklerden ibarettir. Özellikle taşıdıkları di- ve triterpenler nedeniyle antiinflamatuvar, antiviral, antitümör aktivitelerinin yanı sıra taşıdıkları flavonların antioksidan, antimikrobiyal, sitotoksik vb. pek çok aktiviteye sahip olduğu bilinen bir gerçektir. Bazı *Salvia* türleri, gıda, baharat ve aroma olarak kullanıldığı için ekonomik öneme de sahiptir (Bahadori ve ark., 2016). *Salvia* adı, çok çeşitli tıbbi etkileri nedeniyle "sağlık" anlamına gelen Latince "Salvare" kelimesinden köken alır (Ulubelen ve ark., 2002). Bu türlerden biri olan *Salvia nemorosa* L. (syn. *S. sylvestris*), Orta Avrupa ve Batı Asya'da yetişmektedir (Skala ve Wysokinska, 2004). *S. nemorosa*'nın yaprakları harici olarak Türk geleneksel tıbbında kanamayı durdurmak için kullanılmaktadır (Takeda ve ark., 1997). Rusya'da *S.*

nemorosa ve en yaygın adaçayı türü olarak bilinen *S. officinalis* hemen hemen aynı rahatsızlıklar için kullanılmaktadır (Daskalova, 2004).

Salvia türleri fenolik bileşikler açısından zengin olduğu için biyoaktif bileşiklerinin izolasyonu ve karakterizasyonu üzerine birçok çalışma mevcuttur (Bautista ve ark., 2013; Lu ve Foo, 2002). Bu nedenle literatürde daha çok bu bitkilerin ekstrelerine, saflaştırılmış bileşiklerine ve uçucu yağlarının antimikrobiyal, sitotoksikite, sıtma önleyici, tümör önleyici ve iltihap önleyici vb. biyolojik aktivitelerine odaklanılmıştır (Ulubelen, 2003; Farimani ve ark., 2013). Fakat cins üzerinde besin değeri ve fonksiyonel bir gıda olarak önemi konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu alandaki bilgi eksikliği nedeniyle, bu çalışma, olası farmasötik ve gıda olarak kullanımlarından dolayı yaygın tıbbi bir bitki olan *S. nemorosa*'nın potansiyelini araştırmak için temel bilgiler sağlaması açısından önemlidir. Ayrıca yapılan çalışmalarda biyotik veya abiyotik elisitörlerin ayrı ayrı uygulamaları kapsamlı bir şekilde araştırılmış fakat stres koşullarına yanıt olarak birlikte etkilerinin (NP'ler ile MeJA/SA) araştırıldığı çalışmalar çok kısıtlı kalmış olmakla beraber, *Salvia* türlerinde AgNP ve MeJA'nın kombine etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla, elisitörlerin fizyolojik-biyokimyasal ve moleküler düzeylerde stres toleransını yönetmedeki rollerinin gelecekteki çalışmalar için çözüm odaklı olacağı düşünülmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı, bu tez çalışmasında NACI stres faktörü altındaki *S. nemorosa* bitkisinde AgNP ve MeJA elisitörlerinin ayrı ayrı ve birlikte uygulaması yapılarak bazı önemli fizyolojik, biyokimyasal ve antioksidan kapasitelerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Biyotik ya da abiyotik stres koşulları altında bitkiler savunma mekanizmalarını uyaran salisilik asit (Malamy ve Klessig, 1992; Patel ve Krishnamurthy, 2013), etilen (Ohtsubo ve ark., 1999) ve jasmonatlar (Farmer ve Ryan, 1992; Gundlach ve ark., 1992; Hiraga ve ark., 2000) gibi bir takım endojen bileşikler üretmektedir. Jasmonik asit ile onun metil esteri olan metil jasmonatın, yüksek yapılı bitkilerin savunma mekanizmasında aktif bir şekilde rol alan önemli fitoaleksinler olduğu çalışmalarla ortaya konmuştur. (Theis ve Lerda, 2003; Patel ve Krishnamurthy, 2013). Fenolik bileşiklerin tıbbi amaca yönelik kullanımları nedeniyle, söz konusu bileşiklerin birikimini arttırmak için *Salvia* türlerinde birkaç elisitör (biyotik ve abiyotik) kullanarak çalışmalar yapılmıştır (Yan ve ark., 2006; Zhang ve ark., 2013; Xing ve ark., 2018). Elisitörler, fenolik metabolitler de dahil olmak üzere savunma ile ilgili metabolitlerin sentezi ve birikiminin artmasına neden olan stres tepkilerini uyaran maddelerdir (Naik ve Al-Khayri, 2016; Narayani ve Srivastava, 2017). Abiyotik elisitörler olarak kullanım potansiyeline sahip nanopartiküller de, bitkilerde biyoaktif bileşiklerin uyarılmasında ve fitokimyasalların biyosentezinde yer alan genlerin ekspresyonunu indüklemekteki aktif rolleri hakkında ki veriler araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Zhao ve ark., 2017; Barrios ve ark., 2017; Singh ve ark., 2018; Karakas ve ark., 2020).

Yapılan araştırmalar Ag^+ ve MeJA uygulamalarının bitkilerde toplam fenolik, flavonoid ve antioksidatif aktivite etkinliğini arttırdığını göstermiştir (Park ve ark., 2016; Xing ve ark., 2018; Ghimire ve ark., 2019; Goncalves ve ark., 2019). Yan ve ark., (2006) 15 mM Ag^+ 'nin *Salvia miltiorrhiza* kök kültürlerinde fenolik asit birikimine olumlu etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Sahar ve ark. (2011) farklı konsantrasyonda (0, 4, 8 ve 12 ds/m'lik) NaCl uygulaması yapılan çalışmada *Salvia resanlis* L. türünde toplam şeker, protein ve prolin içeriği üzerine 0, 1, 2 ile 4 mM salisilik asit etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar, salisilik asit uygulaması ile birlikte yapraklarda çözünür glikoz, fruktoz ve prolin şeker miktarının önemli düzeyde artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Stres koşullarında, bitkideki ozmotik düşüşe bağlı olarak prolin ve şeker miktarındaki artış, susuzluğa karşı toleransın artmasına ve dolayısıyla bitki gelişiminin hızlanmasına yol açtığı ifade edilmiştir.

Genellikle bitkilerin birçoğu stres koşulları altında yaşamlarını devam ettirmek için çeşitli ikincil metabolit üretimini artırır. Mansour Ghorbanpour (2015) tarafından yapılan çalışmada *Salvia officinalis* bitkisine uygulanan farklı konsantrasyonlarda ((kontrol, 0, 10, 50, 100, 200 ve 1000 mg) TiO_2 nano-partiküllerinin etkisi değerlendirilmiştir. 100 ve 1000 mg'lık TiO_2 uygulamasındaki bitkilerde en yüksek oranda toplam fenolik ve flavanoid içeriğini teşvik etmiştir. Aynı araştırmacılar *S.officinalis* bitkilerinde Nano- TiO_2 uygulanmasının, antioksidan biyosentezini uyardığını ve ikincil metabolizmayı geliştirmek üzere bir elisitör görevi gördüğünü ifade etmiştir.

Tıbbi uygulamalar açısından biyolojik aktif fitokimyasallar olan fenolik bileşikler, *Salvia* türlerinin ana ikincil metabolitleri arasında yer almaktadır. Attaran Dowom ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada, *Salvia virgata* Jacq. sürgün kültürlerine ayrı ayrı uygulanan Ag^+ iyonları, maya özü ve MeJA'nın etkisi toplam fenolik, flavonoid ve fenolik asit birikimi bakımından incelenmiştir. Araştırmacıların elde ettiği verilere göre, MeJA ve Ag^+ iyonlarının, *S. virgata*'nın rejenere edilmiş kültürlerinde rasmonik asit gibi değerli fenolik asitlerin üretimini uyarma yeteneğine sahip olduğu rapor edilmiştir.

Abdel Kareem ve ark. (2017) tuz stresine maruz bıraktıkları buğday bitkisine farklı konsantrasyonlarda AgNP (0, 2.0, 5.0 ve 10.0 mM) uyguladıkları çalışmada, AgNP'nin düşük konsantrasyonları (0.2-0.5 mM) toplam çözünür şeker ve prolin içeriğinin kontrol grubuna göre artırdığını, CAT ve POD aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlar ışığında, AgNP uygulamasının buğday bitkisinde tuz toleransını artırdığını, AgNP'nin stres koşulları altında uzun vadeli tepkisinin daha fazla araştırılması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) bitkisinde 25 ve 50 mM konsantrasyonda NaCl'nin bazı biyokimyasal, morfolojik ve fizyolojik değişkenleri üzerine 0.5 mM salisilik asit uygulamasının etkisi incelenmiştir. Sadece NaCl stres faktörüne maruz bırakılan bitkilerde bitki boyu, yaş ağırlık, pigment içeriği ve enzim aktivitesinin azalmasına karşın MDA ve uçucu yağ içerikleri artmıştır. SA uygulamasından sonra morfolojik parametreler ile pigment içerikleri genel olarak değişkenlik göstermezken, antioksidan enzim aktiviteleri, MDA ve uçucu yağ içerikleri artış göstermiştir. Tuz stres faktörünün reyhan bitkisinde yol açtığı hasara karşı SA'nın iyileşme sağladığı ifade edilmiştir (Kaya ve İnan, 2017).

Tuzluluk stres faktörü altındaki asma bitkilerinde, stresin yol açtığı zarar ve bu zararları iyileştirebilen uygulamaların araştırıldığı çalışmada (Odabaşoğlu ve ark., 2018), yapraktan uygulanan salisilik asit, MeJA, humik asit bitki ağırlığı, bitki boyu, prolin içeriği gibi değişkenler bakımından tuz stresinin etkisini azaltmada kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Salvia officinalis L.'nin tohum kültürlerinde uçucu yağları üzerine jasmonik asit ile salisilik asit elisitörlerinin etkisinin araştırıldığı çalışmada, iki elisitör uygulamasının da (özellikle JA için 0.1051 ile 0.2102 g/L ve SA için 0.138 g/L konsantrasyonları) esansiyel yağlarda artışa yol açtığı rapor edilmiştir (Yadegari, 2018).

Oğuz (2019) yaptığı çalışmada, Karahan- 99 ile Kınacı- 97 buğday çeşitlerinde tuz stresi ile jasmonik asitin birlikte etkisini incelemiştir. Tuz uygulaması yalpan çeşitlerin klorofil-a, klorofil-b ve prolin içeriği aktivitelerinde azalma, tuz+Jasmonik asit uygulamalarında ise parametrelerde iyileşme görülmüştür. Araştırma tuz stresinin yol açtığı zararlı etkinin giderilmesinde jasmonik asitin etkili olduğu sonucuna varmıştır.

Tura (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *Glycine max.* L. Merr. (soya) tohumları 0.25, 0.50, 0.75 ve 1.0 mM konsantrasyonlarda salisilik asit uygulamalarına maruz bırakılarak çimlenme, fide gelişimi ile bazı fizyolojik değişkenler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yüksek SA konsantrasyonlarının (0.75 ile 1.0 mM) çimlenme, klorofil, MDA ve prolin içeriklerinde kayda değer olumlu etki sağladığı ifade edilmiştir.

Fatemi ve ark. (2019) *Salvia khuzistanica*'nın nodal segment kültürlerinde MeJA elisitörünün PAL, TAT, HPPR ve RAS genlerinin ekspresyon seviyelerini uyardığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, MeJA'nın bir elisitör olarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) süpürülmesi ve lipid peroksidasyonu derecesinin iyileştirilmesinden sorumlu olabileceğini ifade etmişlerdir

Salvia officinalis L. bitkisinde farklı konsantrasyonlarda jasmonik asit ve titanyum dioksit nanopartiküllerinin etkisinin incelendiği çalışmada esansiyel yağ, klorofil (a ve b), toplam klorofil miktarı ile bağıl su içeriği ile GPD, SOD ve CAT gibi antioksidan enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde artış gösterdiği bildirilmiştir. Araştırmacılar iki elisitör uygulamasının ayrı ayrı kullanılmasının antioksidan sistem ve fizyolojik özellikler bakımından olumlu etki yarattığını vurgulamıştır (Mazarie ve ark., 2019).

Obayes ve Naji (2020) tarafından yapılan çalışmada gümüş nanopartiküllerinin (AgNP) uygulandığı *Salvia officinalis* L'nin *in vitro* kültürlerinde superoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitelerinde artış sağlandığı; 20 mg/L AgNP uygulamasında CAT ve 80 mg/L AgNP uygulamasında ise SOD aktivitesi en yüksek düzeye ulaştığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar AgNP 'nin düşük konsantrasyonda bile biyoaktif bileşiklerin üretimi için kullanılabilir olduğunu belirtmişlerdir.

Son yıllarda fitohormon olarak jasmonik asit (JA) ve türevlerinin rolleri, bitkilerde stres savunmasının yanı sıra gelişimine de katkı sağlayan önemli bileşikler olarak kabul görmüş ve JA ile ilgili araştırma sayısı hızla artarak bitkilerdeki önemi vurgulanmıştır. JA'nın kök büyümesi, üreme organlarının büyümesi ve hatta bitki senesensi gibi çeşitli fizyolojik süreçleri de kontrol ettiğini artık bilinmektedir. *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana benthamiana* ve *Oryza sativa* L. bitkilerinde yapılan çalışmalarda JA biyosentezi ile sinyal yollarının çevresel streslere yanıt vermedeki rolü vurgulanmıştır (Ghorbel ve ark., 2021).

Pesaraklu ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada, MeJA ve Ag⁺ uygulaması'nın *S. officinalis* ve *S. verticillata*'daki toplam fenolik ve toplam fenolik asit içeriğinde olumlu etkisi bildirilmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri verilere göre AgNO₃ (15 mM) ve MeJA (50 mM) uygulamalarının her iki *Salvia* türünde de dört baskın fenolik asit olan rasmonik asit (RA), salvianolik asit A (Sal-A), salvianolik asit B (Sal-B) ve kafeik asitin (CA) birikimini uyardığını ve arttırdığını göstermiştir.

Cuminum cyminum L. (Kimyon) bitkisi farklı konsantrasyonlarda gibberellik asit (GA₃) ve metil jasmonat (MeJA) uygulamalarına maruz bırakılarak uçucu yağ kalitesine olan etkisi araştırılmıştır (Şanlı ve ark. 2021). Bu kapsamda gruplar halinde bitkilere 0, 50, 100 ve 150 ppm GA₃ ile 0, 0.5, 1.0 ve 1.5 mM MeJA uygulanmıştır. Genel olarak her iki uygulamanın uçucu yağ kalitesine etkisi olumlu ancak doza bağlı olarak değişkenlik göstermiş en yüksek etkiyi MeJA uygulamaları teşvik etmiştir.

Shoja ve ark. (2022) *Salvia tebesana* bitkisinden elde ettikleri kalluslarda titanyum nanopartikül (10, 60 ve 120 mg) ve metil jasmonat (50, 100 ve 200 µm) uygulamalarının fenolik bileşik, flavonoidler ve antioksidan aktivite üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 10 ve 60 mg nano-TiO₂ ile 50 µM Meja uygulanan *S. tebesana* kalluslarında fenolik bileşenlerin üretimi önemli ölçüde teşvik edilmiştir.

Bayat ve ark. (2022) yaptıkları diğerk bir çalışmada, *Salvia lavandulifolia* bitkisi üzerinde tuz stresini araştırmışlardır. Tuz uygulaması bitkinin büyüme özelliklerini önemli ölçüde etkileyerek, klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içeriğinin kontrole göre yüksek oranda azaltmıştır. Ancak çalışmada kullanılan her bir tuz konsantrasyonu toplam fenolik madde içeriğini artırmıştır.

Melisa (*Lippia alba*) bitkisindeki uçucu yağların morfofizyolojik özellikleri ve içeriğinde meydana gelen değişimleri incelemek için Silva-Santos ve ark. (2023) yaptıkları çalışmada, bitkilere MeJA (0, 1, 2 ve 4 mM) ve SA (0, 1, 2 ve 4 mM) elisitrlerini yapraktan püskürtme şeklinde uygulamışlardır. Elisitrlerden MeJA için 2 mM ve SA için 4 mM'lık uygulaması ikincil metabolizmayı ve monoterpenler, seskiterpenler ile fenilpropanoidler gibi belirli moleküllerin üretimini uyarma potansiyeline sahip olduğu ifade edilmiştir.

Literatür taramalarında da görüldüğü üzere Lamiaceae familyasına ait türlerde yapılan çalışmalar daha çok biyoaktif bileşenlerin izolasyonu/karakterizasyonu, antimikrobiyal, sitotoksiste, anti-sıtma, anti-tümör, kardiyovaskle, anti-inflamatuar gibi zleri ve uçucu yağlarının biyolojik aktiviteleri üzerine odaklanmıştır (Lu ve Foo, 2002; Ulubelen, 2003; Bautista ve ark., 2013; Farimani ve ark., 2013). Bununla birlikte antioksidan kapasiteyi arttırmaya yönelik yapılmış çalışmalar oldukça sınırlı sayıda kalmıştır. *Salvia nemorosa* ile ilgili bu kapsamda yapılan çalışma ise yok denecek düzeydedir. Bu nedenle bu türlerin fizyolojik, biyokimyasal ve antioksidan kapasitelerinin değerlendirilmesi ile ilgili yapılan ya da ilerde yapılacak çalışmalar literatürdeki bu açığı kapatmaya katkı sağlayacaktır. Tüm bunlar göz önünde bulundurularak, bu tez çalışmasında tuz stres faktörü etkisindeki *Salvia nemorosa* bitkisinde bir nanopartikül olan Ag-NP ile Metil jasmonat elisitrleri uygulanarak bazı önemli fizyolojik ve biyokimyasal kapasiteleri üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Lamiaceae familyasının bir üyesi olan, ülkemizde “Adaçayı” olarak isimlendirilen, ekonomik açıdan da önemli türler barındıran *Salvia* genusu farmakoloji, kozmetik, gıda sektörlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bayan ve Genç, 2016; Yılar ve ark., 2017).

Salvia cincine ait olan *Salvia nemorosa* L. çok yıllık otsu bir bitki olup Doğu Anadolu Bölgesi’nde yayılış gösterir. Ülkemizde yöresel isimleri genel olarak çöl çayı, kara ot, adaçayı, gehareş, siyah ot, gemdaş ve gemtaş olarak bilinir. Halk arasında soğuk algınlığında, gri boya elde etmede, kanamayı durdurmada, yara tedavisinde ve çay yapımında kullanılır. Rusya’da *S. nemorosa*, *Salvia*’nın en yaygın türü olan *S. officinalis* ile geleneksel tıpta hemen hemen aynı rahatsızlıklar için kullanılmaktadır (Altundağ, 2009).

Bu tez çalışmasında başlangıç materyali olarak *S. nemorosa*’nın olgun tohumları kullanılmış olup (Şekil 3.1), deneysel analizler Batman Üniversitesi Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Batman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür.



Şekil 3.1. Başlangıç materyali olarak kullanılan *S. nemorosa* L’nin olgun tohumları

-*Salvia nemorosa*'nın Takson Hiyerarşisi

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classis: Magnoliopsida

Subclassis: Asteridae

Order: Lamiales

Family: Lamiaceae

Genus: *Salvia*

Species: *Salvia nemorosa* L.

3.2. Yöntem

3.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması

Hoagland Besin Çözeltisi

¼ Hoagland (Hoagland ve Arnon 1938) besin çözeltisi için; litre başına toz haldeki “Hoagland’s No. 2 Basal Salt Mixture”den 0.4 gram (g) tartılarak toplam hacim 1 lt olacak şekilde distile suda eritildi.

NaCl Çözeltileri

100 mM tuz çözeltisi için; 23.4 g toz NaCl tartılarak, 4 lt ¼ Hoagland besin çözeltisine ilave edilerek eritildi.

Standart Çözeltiler

2.6-di-t-bütil-1-hidroksitoluen (BHT) için 10 mg BHT 10 ml etanol içinde çözülerek, 1000 ppm’lik BHT çözeltisi hazırlandı.

2-t-bütil-4-hidroksianisol (BHA) için 10 mg BHA 10 ml etanolde çözülerek, 1000 ppm’lik BHA çözeltisi hazırlandı.

Askorbik Asit (AA) için 10 mg L-askorbik asit 10 ml distile suda çözülerek, 1000 ppm’lik AA çözeltisi hazırlandı.

3.2.2. Bitkisel Materyalin Yetiştirilmesi

Bu tez çalışmasında yüzey sterilizasyonundan önce benzer olgunluk ve görünümde olan *S. nemorosa* tohumları seçilerek, başlangıç materyali olarak kullanıldı. Tohumlar, %5’lik sodyum hipokloritte (NaOCI) 2 dk bekletildikten sonra steril saf su

ile iyice çalkalanarak NaOCI'den arındırıldı. Bu işlemten sonra tohumlar, toprak:torf:perlite (3:3:1) içeren saksılara ekilerek, kontrollü koşulların sağlandığı bitki büyüme odasında gelişmeye bırakıldı.

3.2.3. Stres Faktörü ve Elisitör Uygulamaları

Saksılara ekimi yapılan tohumlar, tarla su kapasitesi baz alınarak yaklaşık 10 yapraklı hale gelinceye kadar ¼ Hoagland besin çözeltisi ile sulandı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *Salvia nemorosa* bitkilerinin büyüme odasında iki aylık gelişimi

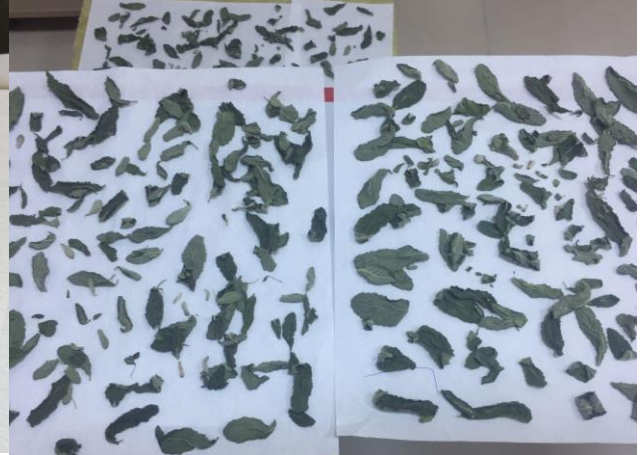
İstenilen büyüklüğe erişen bitkiler 100 mM NaCl içeren ¼ Hoagland besin çözeltisi ile 10 gün boyunca sulandı. Kontrol gruplarındaki bitkiler, NaCl içermeyen çözelti ile aynı zaman ve ölçüde sulandı. Bu sürenin sonunda hazırlanan saksılar; “Kontrol, sadece 100 mM NaCl, 100 mM NaCl + 50 µM MeJA, 100 mM NaCl + 10 µM AgNP ve 100 mM NaCl + 50 µM MeJA + 10 µM AgNP” olacak şekilde beş gruba ayrıldı (Şekil 3.3). Hazırlanan elisitörler yapraktan püskürtme yöntemi ile bitkilere uygulandı. 10. günü takiben bitkiler hasat edilerek toprak altı ve toprak üstü kısımları birbirinden ayrıldı, bir kısmı kurumaya bırakıldı ve diğer bir kısmı da sıvı azot ile havanda ezilerek öğütüldü (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5). Film kutuları içerisine yerleştirilen örnekler etiketlenerek, analiz zamanına kadar -80°C’de muhafaza edildi.



Şekil 3.3. *Salvia nemorosa* bitkilerinde yapılan uygulamalar



Şekil 3.4. *Salvia nemorosa* bitkilerinin analize hazırlık için sıvı azotta öğütülmesi



Şekil 3.5. *Salvia nemorosa* bitkilerinin analize hazırlık için kurutulması

100 mM NaCl stresi faktörüne maruz bırakılan *S. nemorosa* bitkilerinde stresin olumsuz etkisinin giderilip giderilmediğinin belirlenmesi amacıyla yapılan elisitör uygulamaları (50 μ M MeJA ile 10 μ M AgNP) sonucu elde edilen bitkilerde;

fotosentetik pigment içerikleri,

lipid peroksidasyonu derecesi,

prolin içeriği,

toplam antioksidan kapasiteleri (DPPH, CUPRAC, ABTS),

toplam fenolik ve flavonoid içeriği

analizleri yapılarak karşılaştırmalı bir şekilde değerlendirilmiştir.

3.2.4. Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi

Klorofil a, klorofil b, toplam karotenoid ve toplam klorofil içeriğindeki değişimleri belirlemek için rastgele alınan 0.25 g taze yaprak örnekleri 2 ml %80'lik aseton ile homojenize edildi (Arnon, 1949), homojenant filtre kağıdından süzdürüldükten sonra %80'lik aseton ile 5 ml'ye tamamlanmış ve 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra örneklerin absorbansları klorofil-a için 663 nm, klorofil-

b için 645 nm ve toplam karotenoid için 480 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Fotosentetik pigmentlerin miktarları aşağıdaki eşitliklere (3.1, 3.2 ve 3.3) göre hesaplandı:

$$mg \text{ klorofil-a/gr doku} = [\Delta_{A663} \times 12.70 - \Delta_{A645} \times 2.69] (V/1000 \times W) \quad (3.1)$$

$$mg \text{ klorofil-b/gr doku} = [\Delta_{A645} \times 22.90 - \Delta_{A663} \times 4.68] (V/1000 \times W) \quad (3.2)$$

$$mg \text{ toplam karotenoid/gr doku} = [\Delta_{A480} + \Delta_{A663} \times 0.114 - \Delta_{A645} \times 0.638/112.50] (V/1000 \times W) \quad (3.3)$$

Burada;

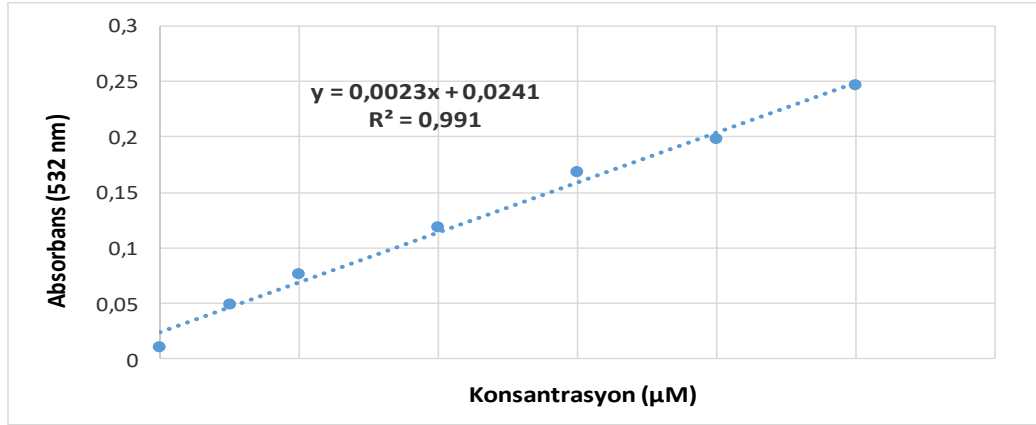
Δ : ekstraktın belirtilen dalga boyundaki absorbans değerini,

V: %80'lik asetonun ml olarak son hacmi,

W: ekstre edilen dokunun gr olarak taze ağırlığını göstermektedir.

3.2.5. Malondialdehit İçeriğinin Belirlenmesi

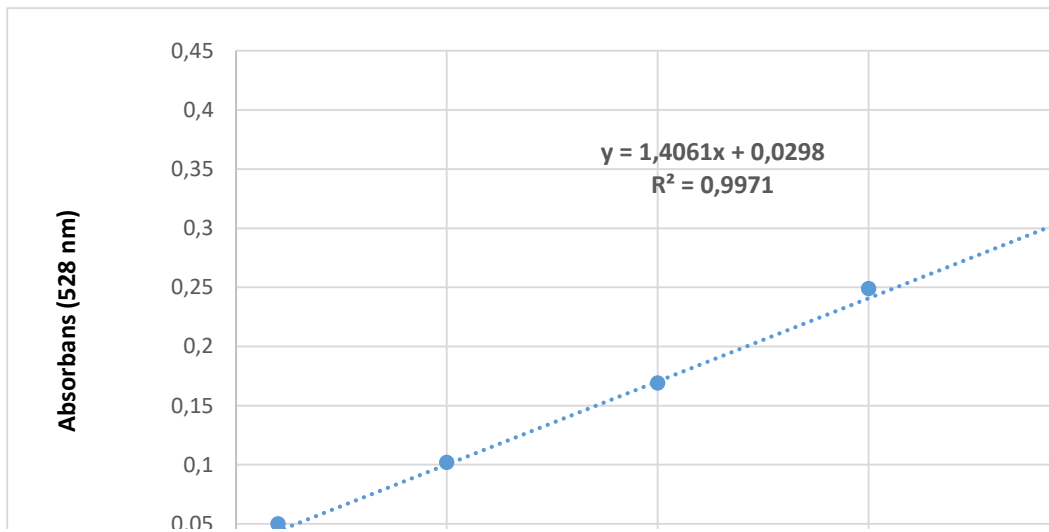
Lipit peroksidasyonunun ölçüsü olan MDA içeriği Ohkawa ve ark. (1979)'ne göre belirlenmiştir. Örneklerden 100 mg tartılarak, üzerine 2 ml %5'lik trikloroasetik asit (TCA) eklenerek homojenizasyon sağlanmıştır. Hazırlanan bu karışım 25 °C 12000 rpm'de 20 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. 0.4 µl süpernatant ve içinde %0.5 oranında tiyobarbitürik asit (TBA) bulunan 0.4 µl %20'lik TCA çözeltisi içeren reaksiyon karışımı, 95 °C'lik sıcak su banyosunda 1 saat tutulduktan sonra reaksiyonu durdurmak amacıyla buz banyosuna konulmuş 10000 rpm de 10 dakika santrifüjlenerek karışımların absorbans değerleri UV-Vis spektrofotometre yardımıyla 532 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Yaprak dokularındaki MDA miktarı, standart 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (MDA) grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. MDA standart eğrisi

3.2.6. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

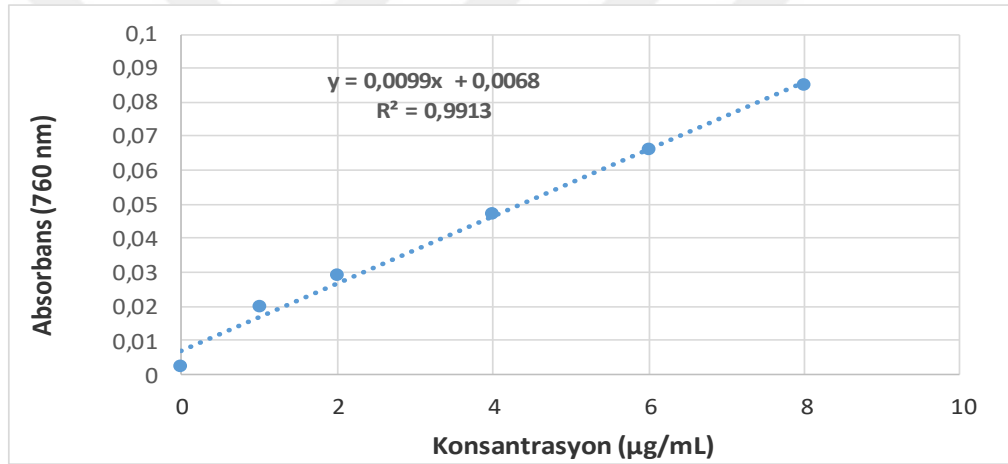
Prolin miktarı spektrofotometrik olarak AsitNinhidrin metodu ile belirlenmiştir (Bates ve ark., 1973; Ghoulam ve ark., 2002). 100 mg taze yaprak örneği %40'lık 2 ml metanol ile ekstrakte edilmiş 1 ml ekstrakt, 1 ml glasiyal asetik asit ve 6 M ortofosforik asitten (3:2 v/v) oluşan karışım üzerine 25 mg ninhidrin ilave edilerek 1 saat süre ile 100 °C de inkübasyona bırakılmıştır. Sonraki karışımların bulunduğu tüpler soğutulurak 5 ml toluen ilave edilmiştir. Yaprak örneklerinin prolin miktarının belirlenmesi için tüplerin üst kısmında oluşan fazın absorbans değeri 528 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Örneklerin prolin miktarı, L-prolin standardı kullanılarak hazırlanan grafik yardımıyla (Şekil 3.7) hesaplanmış ve mmol g⁻¹ taze ağırlık olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.7. L-Prolin standart eğrisi

3.2.7. Toplam Fenolik Madde İçeriği

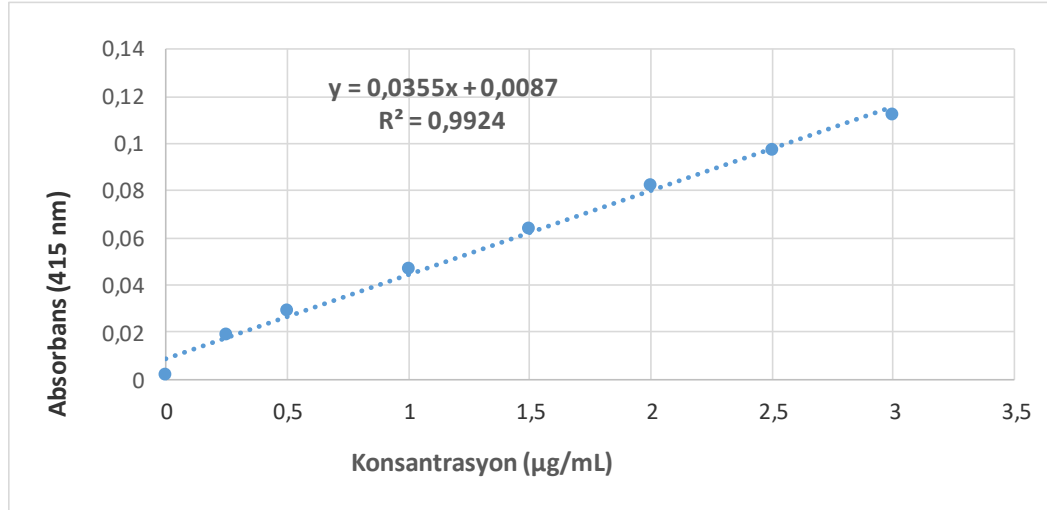
Toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılmak üzere gallik asite eş değer olarak tespit edilmiştir (Slinkard ve Singleton, 1977). Ekstrelerin 1000 ppm konsantrasyonda çözeltileri hazırlanarak 100 µg ekstre içeren örnek çözeltileri distile su ile 4.6 mL'ye tamamlanmış, bu karışıma 100 µL Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) ve 3 dakika sonra %2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 300 µL ilave edilerek oda sıcaklığında iki saat boyunca inkübe edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileri için de aynı işlem uygulanarak inkübasyon sonrasında 760 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm alınmıştır. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri standart gallik asit grafiğinden elde edilen gallik aside eş değer (GAE) eşitlik (Şekil 3.8) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.8. Gallik asit standart eğrisi

3.2.8. Toplam Flavonoid İçeriği

Toplam flavonoid miktarları kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat yöntemi ile belirlenmiştir (Moreno ve ark., 2000). 1000 ppm'lik kersetin çözeltisi hazırlanmış, bu çözeltiden 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 ve 200 µL alınarak hacimleri %80'lik etanol ile 4.8 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra karışımın üzerine 0.1 mL 1 M potasyum asetat ve bir dakika sonra 0.1 mL %10'luk alüminyum nitrat ilave edilerek 40 dk.'lık inkübasyon süresinden sonra 415 nm'de kontrole karşı UV spektrofotometresinde absorbansları okunmuştur. Ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri standart kersetin grafiğinden elde edilen eşitlik (Şekil 3.9) kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.9. Kersetin standart eğrisi

3.2.9. Toplam Antioksidan Aktivite İçeriği

DPPH yönteminde; ekstrelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir (Blois, 1958). %0.004 DPPH çözeltisine etanolde ekstrete edilmiş farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bitki örneklerinden 40 µl eklenerek karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiş, 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm alındıktan sonra (Şekil 3.10 ve Şekil 3.11) aşağıdaki eşitlik kullanılarak serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) hesaplanmıştır.

ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlenmiştir. ABTS, $K_2S_2O_8$, MnO_2 , H_2O_2 gibi güçlü yükseltgenler ile tepkimeye sokulup $ABTS^{+•}$ oluşturulur. 7 mM ABTS çözeltisi üzerine $K_2S_2O_8$ eklenmiş, oda sıcaklığında karanlıkta 16 saat bekletilmiş ve 734 nm dalga boyunda absorbansı 0.7 olacak şekilde etanol ile seyreltilmiştir. 160 µl $ABTS^{+•}$ reaktifine farklı konsantrasyonlardaki örneklerden eklenerek karanlıkta bekletilmiş, 734 nm dalga boyunda ölçüm alınmıştır. Aşağıdaki eşitlik kullanılarak ABTS katyon radikali giderim aktivitesi (% inhibisyon) hesaplanmıştır (Ree ve ark., 1999).

CUPRAC yönteminde ise, örneklerdeki antioksidan bileşikler varlığında $Cu(II)$ -Neokuproin (Nc) kompleksi, renkli $Cu(I)$ -Nc kelatına indirgenir ve bu kelatın 450 nm dalga boyunda absorbansı ölçülür (Apak ve ark., 2004). Çalışmada her bir örnek üzerine $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, neokuprin ve amonyum asetat tamponu eklenmiş, 1 saat sonra 450 nm dalga boyunda absorbans ölçülmüş ve kontrole karşı değerlendirilmiştir.

Her üç antioksidan aktivite yöntemi ölçümlerinde örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirilmiş olup, standart olarak; Askorbik asit, BHA ve BHT kullanılmıştır. DPPH ve ABTS yöntemleri için elde edilen absorbans değerleri Formül (3.4)'e göre yerleştirilerek inhibisyon yüzdesi (%I) hesaplanmıştır.

$$\%I = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (3.4)$$

Burada;

A_{kontrol} kontrol tüpünün (test bileşikleri dışında tüm ayıraçları içeren tüp) absorbans değeri,

$A_{\text{örnek}}$ her bir konsantrasyon için hazırlanan tüpün absorbans değerini ifade etmektedir.



Şekil 3.10. DPPH ve ABTS yöntemlerine ait örneklerin inkübasyon sonrası görünüşü



Şekil 3.11. Örneklerin spektrofotometrik ölçümü

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

4.1. Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi

S.nemorosa bitkilerinde 100 mM NaCl uygulamasının fotosentetik pigment içeriğindeki değişimlerin belirlenmesi amacıyla *klorofil-a* için 663, *klorofil-b* için 645 ve *toplam karotenoid* için 480 nm'deki absorbanslar spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Kontrol, 100 mM NaCl, 100 mM NaCl+50 µM MeJA, 100 mM NaCl+10 µM AgNP ile 100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA uygulamalarına ait bitkiler *klorofil-a* ve *klorofil-b* içerikleri bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en düşük değere sadece NaCl'nin olduğu (100 mM NaCl) uygulamada, 100 mM NaCl+50 µM MeJA ile 100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA uygulamalarında ise en yüksek değerlere ulaşılmıştır ve yüksek değerlerin elde edildiği uygulama sonuçları istatistiki olarak da benzer bulunmuştur.

Çizelge 4.1. *S. nemorosa* bitki ekstrelerinin fotosentetik pigment içerikleri*

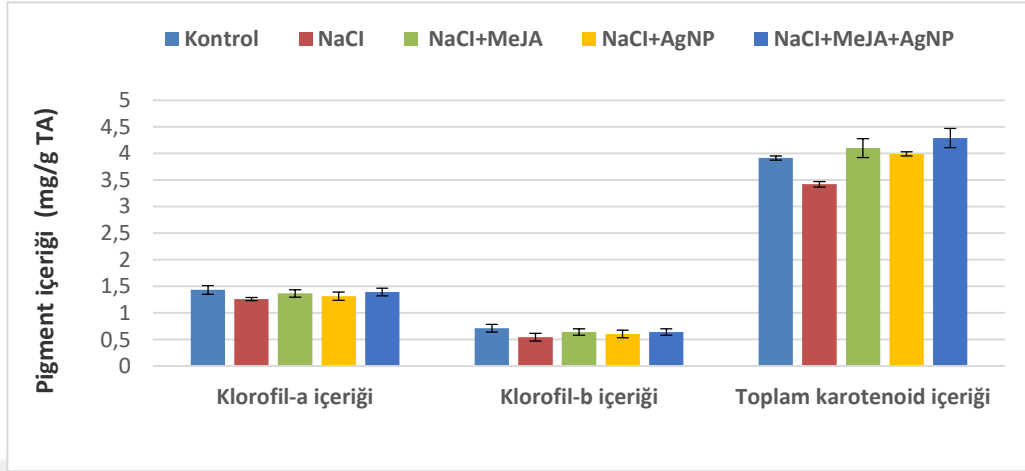
Ekstreler	Klorofil-a (mg/g TA)	Klorofil-b (mg/g TA)	Toplam Karotenoid (mg/g TA)
Kontrol	1,43±0,08 ^a	0,71±0,03 ^a	3,91±0,07 ^{ba}
100 mM NaCl	1,25±0,07 ^b	0,54±0,07 ^c	3,41±0,06 ^b
100 mM NaCl+50 µM MeJA	1,36±0,04 ^{ba}	0,64±0,05 ^b	4,09±0,28 ^a
100 mM NaCl+10 µM AgNP	1,31±0,05 ^{ba}	0,60±0,07 ^{cb}	3,98±0,14 ^a
100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA	1,39±0,03 ^{ba}	0,64±0,02 ^b	4,28±0,04 ^a

*Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiş olup, aynı sütunda yer alan farklı harfler ortalamalar arasındaki önemi ifade etmektedir ($p \leq 0.05$).

Uygulamalar *toplam karotenoid* içerikleri bakımından değerlendirildiğinde en yüksek değer 4,28 mg/g TA ile 100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA uygulamasında, en düşük değer 3,41 mg/g TA ile 100 mM NaCl uygulamasında olduğu belirlenmiştir. Uygulamalar *toplam karotenoid* bakımından azalan içeriğe göre sıralandığında sıralama “100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA > 100 mM NaCl+50 µM MeJA > 100 mM NaCl+10 µM AgNP > Kontrol > 100 mM NaCl” şeklinde olmuştur.

Sonuç olarak *klorofil-a*, *klorofil-b* ve *toplam karotenoid* olmak üzere her üç pigment içeriği bakımından da uygulamalar kıyaslandığında en yüksek değerler 100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA uygulamasından elde edilmiştir. Toplam

karotenoid kontrol grubuna göre yüksek iken klorofil a ve b ise kontrol grubuna yakın bulunmuştur.



Şekil 4.1. *S. nemorosa* bitki ekstrelerinin fotosentetik pigment içerikleri

4.2. MDA İçeriklerinin Belirlenmesi

Tuz stres faktörüne maruz kalan bitkilerin hücre membranlarında meydana gelen hasar, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan MDA miktarının ölçülmesi ile belirlenmektedir. Tüm uygulamalar gruplarında (100 mM NaCl, 100 mM NaCl+50 μ M MeJA, 100 mM NaCl+10 μ M AgNP ile 100 mM NaCl+10 μ M AgNP+50 μ M MeJA) gözlemlenen MDA miktarındaki artış istatistiksel olarak birbirinden tamamen farklı bulunmuştur (Çizelge 4.2).

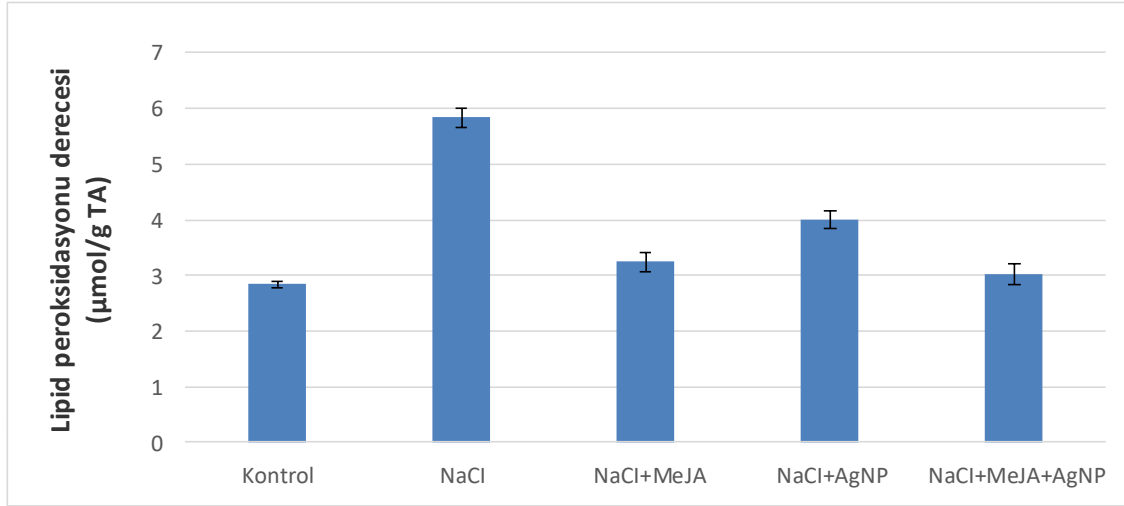
Çizelge 4.2. *S. nemorosa* bitki ekstrelerinin MDA içerikleri*

Ekstreler	MDA içeriği (μ mol/g TA)
Kontrol	2,833 $\pm$ 0,062 ^e
100 mM NaCl	5,841 $\pm$ 0,749 ^a
100 mM NaCl+50 μ M MeJA	3,244 $\pm$ 0,168 ^c
100 mM NaCl+10 μ M AgNP	3,992 $\pm$ 0,531 ^b
100 mM NaCl+10 μ M AgNP+50 μ M MeJA	3,024 $\pm$ 0,397 ^d

* Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiş olup, farklı harfler ortalamalar arasındaki önemi ifade etmektedir ($p \leq 0.05$).

Sonuçlar değerlendirildiğinde MDA miktarında meydana gelen artış sıralaması yüksekten düşüğe “100 mM NaCl > 100 mM NaCl+10 μ M AgNP > 100 mM NaCl+50 μ M MeJA > 100mM NaCl+10 μ M AgNP+50 μ M MeJA > Kontrol” şeklinde olmuştur. Tüm uygulama gruplarından alınan veriler kontrol grubundan elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında en yüksek MDA değeri sadece NaCl içeren uygulamadan, en düşük

MDA değeri ise AgNP ile MeJA'nın birlikte olduğu uygulamadan elde edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *S. nemorosa* bitki ekstraktlarının MDA içerikleri

4.3. Prolin İçeriklerinin Belirlenmesi

Çeşitli abiyotik stres koşullarına yanıt olarak miktarı artan ve bir ozmolit olan prolin, stres faktörüne karşı oluşturulan savunma yanıtının değerlendirilmesi açısından kullanılan en yaygın parametrelerden biridir.

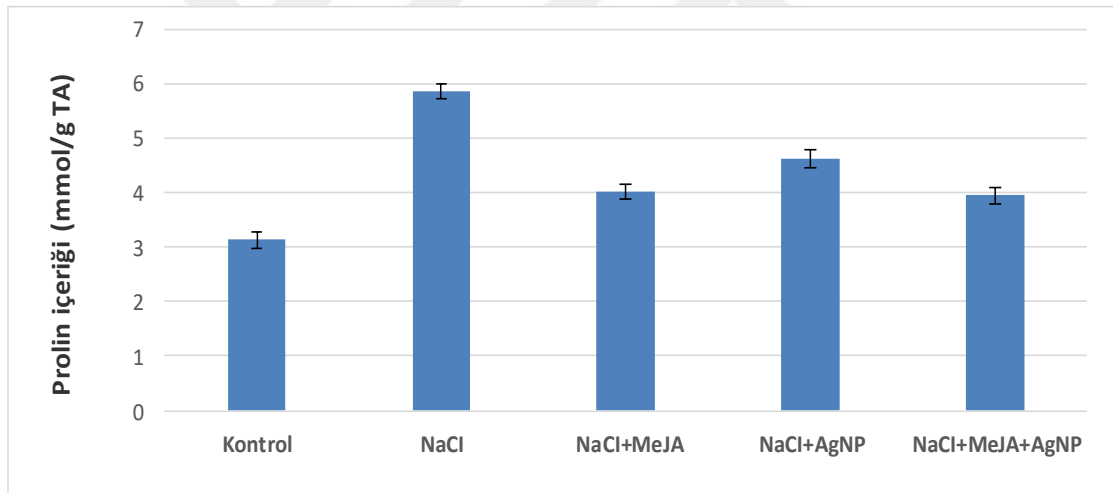
Bu tez çalışmasında, oluşturulan tuz stres faktörüne yanıt olarak *S. nemorosa* bitkilerine ait 5 ayrı uygulamada (Kontrol, 100 mM NaCl, 100 mM NaCl+50 μM MeJA, 100 mM NaCl+10 μM AgNP, 100 mM NaCl+10 μM AgNP+50 μM MeJA) prolin içeriğinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. *S. nemorosa* bitki ekstralarının prolin içerikleri*

Ekstreler	Prolin içeriği (mmol/g TA)
Kontrol	3,136±0,602 ^e
100 mM NaCl	5,874±0,566 ^a
100 mM NaCl+50 µM MeJA	4,025±0,740 ^c
100 mM NaCl+10 µM AgNP	4,629±0,464 ^b
100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA	3,954±0,318 ^d

*Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiş olup, farklı harfler ortalamalar arasındaki önemi ifade etmektedir ($p \leq 0.05$).

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, tüm uygulamalarda prolin içeriği artış göstermiş ve bu artış istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur. En düşük değer 3,954 mmol/g TA ile 100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA da gözlemlenirken en yüksek değer ise 5,874 mmol/g TA ile 100 mM NaCl ekstresinde meydana gelmiştir. Stres koşullarında genellikle strese yanıt olarak miktarı artan prolin, çalışmamızda da tuz stresinin yalnız başına uygulandığı 100 mM NaCl ekstresinde en yüksek artış kaydedilmiştir (Şekil 4.3).

Şekil 4.3. *S. nemorosa* bitki ekstralarının prolin içerikleri

4.4. Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Madde İçeriklerinin Belirlenmesi

100 mM NaCl stres uygulamasına maruz bırakılan *S. nemorosa* bitkilerinde MeJA ve AgNP elisitörlerinin ayrı ayrı ve birlikte yarattığı etkiyi gözlemlemek için belirlenen toplam fenolik madde içeriği gallik aside eşdeğer olarak, toplam flavonoid madde içeriği ise kersetine eşdeğer olarak Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4'te verilmiştir. Kontrol, 100 mM NaCl, 100 mM NaCl+50 µM MeJA, 100 mM NaCl+10 µM AgNP ile 100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA bitki gruplarına ait etanol ekstraları hazırlanmış ve tuz stresine cevap olarak toplam fenolik ile toplam flavonoid madde

içeriğinde, ekstrelelere göre değişen, önemli farklar olduğu ve bu farkların istatistiksel olarak da önemli olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. *S. nemorosa* bitki ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleriⁱ

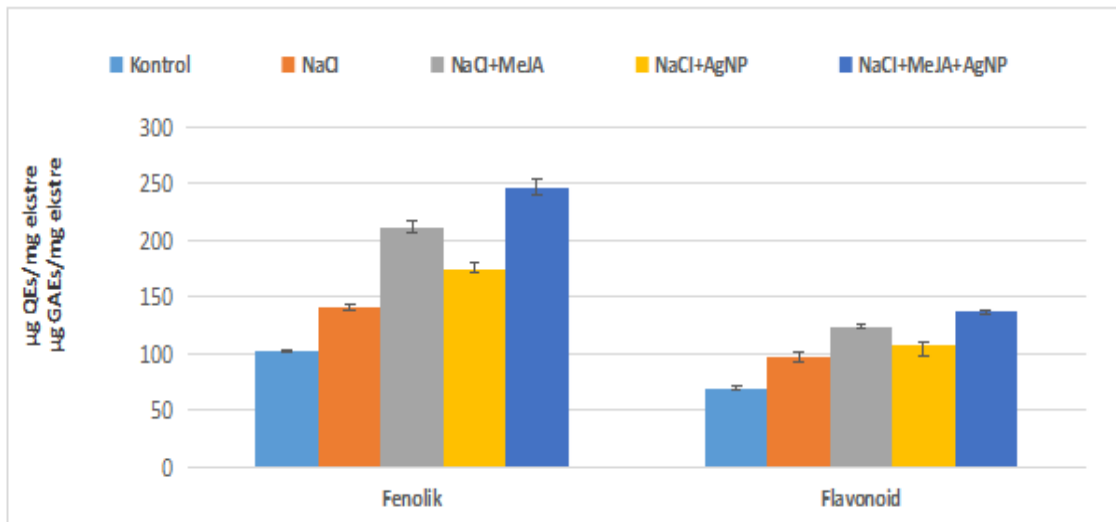
Ekstre	Fenolik içeriği (μg GAEs/mg ekstre) ⁱⁱ	Flavonoid içeriği (μg QEs/mg ekstre) ⁱⁱⁱ
Kontrol	102,52 $\pm$ 0,101 ^e	69,93 $\pm$ 0,021 ^e
100 mM NaCl	141,24 $\pm$ 0,254 ^d	97,16 $\pm$ 0,040 ^d
100 mM NaCl+50 μM MeJA	211,94 $\pm$ 0,532 ^b	124,16 $\pm$ 0,019 ^b
100 mM NaCl+10 μM AgNP	174,91 $\pm$ 0,257 ^c	107,96 $\pm$ 0,097 ^c
100 mM NaCl+10 μM AgNP+50 μM MeJA	247,30 $\pm$ 0,649 ^a	136,83 $\pm$ 0,019 ^a

ⁱ Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

ⁱⁱ Gallik asite eşdeğer toplam fenolik madde miktarı

ⁱⁱⁱ Kersetine eşdeğer toplam flavonoid madde miktarı

Kontrol ile karşılaştırıldığında; hem toplam fenolik hem de flavonoid madde bakımından en yüksek içerik 100 mM NaCl+10 μM AgNP+50 μM MeJA ekstresinde (sırasıyla 247,30 μg GAEs/mg ekstre; 136,83 μg QEs/mg ekstre) bulunurken; en düşük içerik iki aktivite için de kontrol dışında 100 mM NaCl ekstresinde (sırasıyla 141,24 μg GAEs/mg ekstre; 97,16 μg QEs/mg ekstre) tespit edilmiştir. Şekil 4.1’de görüldüğü üzere hem toplam fenolik hem de toplam flavonoid madde içeriği açısından ekstratlar kendi aralarında kıyaslandığında azalan sıralama “100 mM NaCl+10 μM AgNP+50 μM MeJA > 100 mM NaCl+50 μM MeJA > 100 mM NaCl+10 μM AgNP > 100 mM NaCl > Kontrol” şeklinde olmuştur.



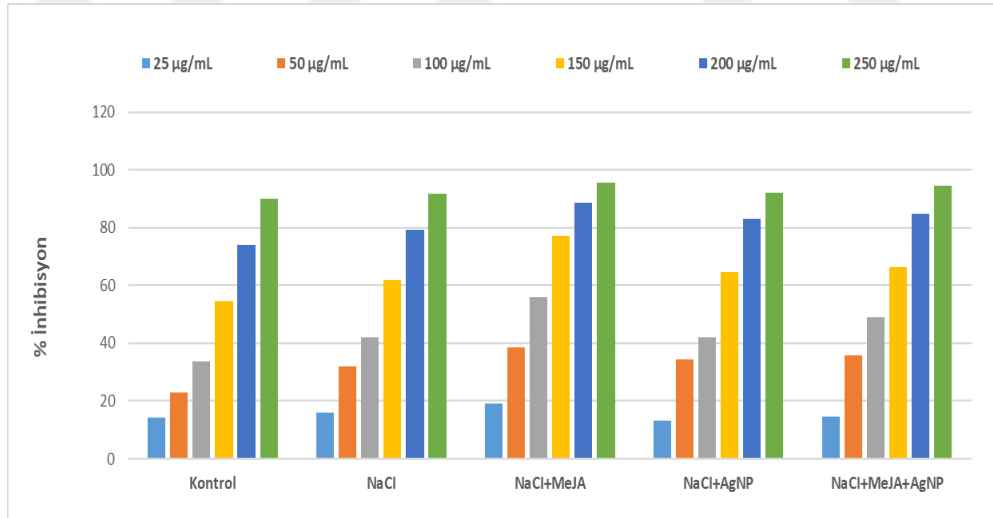
Şekil 4.4. *S. nemorosa* bitki ekstrelerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri

4.5. Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Bu tez çalışmasında *S. nemorosa* bitkilerine ait uygulamalardan elde edilen ekstrelerdeki toplam antioksidan aktivite tayini DPPH, ABTS ve CUPRAC olacak şekilde üç farklı yöntem ile belirlenmiş olup, her bir yöntemden elde edilen veriler, pozitif kontroller ve uygulamalar ile uygulamaların kendi aralarında karşılaştırmalı bir biçimde değerlendirilmesi şeklinde gösterilmiştir.

4.5.1. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

Bitki ekstrelerinin DPPH yöntemiyle toplam antioksidan aktivitesi farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100, 150, 200 ve 250 µg/mL) belirlenmiş olup, pozitif kontrol olarak BHT, BHA ve AA kullanılmıştır. Kontrol, NaCl, NaCl + MeJA, NaCl + AgNP ile NaCl + MeJA + AgNP uygulamaları için 25, 50, 100, 150, 200, 250 µg/mL konsantrasyonlarda; pozitif kontrollerden AA için 1-2-3-4-5-6 µg/mL, BHT için 25-50-100-150-200-250 µg/mL, BHA için ise 5-10-20-30-40-50 µg/mL konsantrasyonlar çalışılmış olup bitki ekstrelerinin aktiviteleri kendi içerisinde ve pozitif kontrollerle karşılaştırılmıştır (Şekil 4.5 ve Çizelge 4.5).



Şekil 4.5. *S. nemorosa* bitki ekstrelerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi

Çizelge 4.5. *S. nemorosa* bitki ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi (%I)*

		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	150 µg/mL	200 µg/mL	250 µg/mL
Ekstreler	Kontrol	14,31±0,79	22,84±0,85	33,68±1,09	54,73±1,43	74,00±0,71	89,91±0,59
	NaCl	16,10±0,74	32,00±1,10	42,23±0,63	61,73±0,98	79,37±0,14	91,89±0,32
	NaCl+MeJA	18,94±0,49	38,71±0,91	56,00±1,07	77,26±1,67	88,88±1,91	95,47±1,57
	NaCl+AgNP	13,15±0,18	34,41±0,82	42,00±1,56	64,63±1,60	83,26±1,0	92,27±0,83
	NaCl+MeJA+AgNP	14,52±0,49	35,83±1,50	48,94±0,41	66,42±0,18	84,94±1,39	94,73±1,02
Pozitif Kontroller		1 µg/mL	2 µg/mL	3 µg/mL	4 µg/mL	5 µg/mL	6 µg/mL
	AA	18,00±1,19	40,10±0,29	54,63±1,96	77,21±0,19	85,05±0,74	90,36±0,22
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	150 µg/mL	200 µg/mL	250 µg/mL
	BHT	27,10±0,07	44,57±0,81	57,42±0,51	69,52±0,74	86,21±0,81	94,10±0,47
		5 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	30 µg/mL	40 µg/mL	50 µg/mL
	BHA	35,78±1,33	45,84±0,07	61,68±0,44	79,52±0,52	90,00±0,79	94,31±0,61

*Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

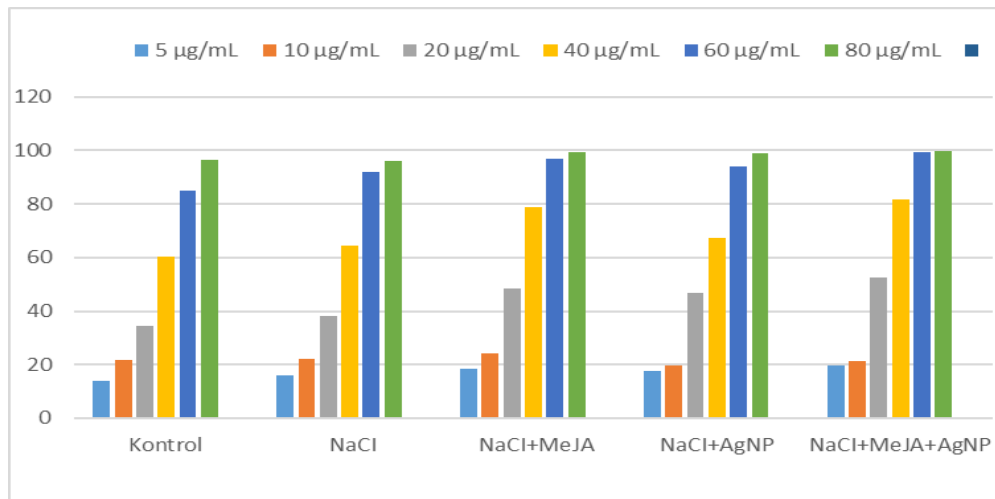
Tüm uygulama gruplarının aktivite değerleri genel olarak kontrole göre artış göstermekle birlikte en yüksek artışın 100 mM NaCl + 50 μ M MeJA uygulamasına ait olduğu gözlenmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan elisitör uygulamaları antioksidan aktiviteyi sadece tuz uygulanan gruba göre de genel olarak daha da arttırmıştır (Şekil 4.5).

Pozitif kontrollerde AA için en yüksek değer 6 μ g/mL, BHT için 250 μ g/mL ve BHA için ise 50 μ g/mL konsantrasyonda (sırasıyla; 90,36; 94,10; 94,31) elde edilmiştir. Dolayısıyla DPPH radikali süpürme aktivitesi bakımından en yüksekten en düşüğe sıralama yapıldığında “AA > BHA > BHT” şeklinde olduğu söylenebilir.

100 μ g/mL konsantrasyonda 100 mM NaCl + 50 μ M MeJA uygulamasının aktivite değeri pozitif kontrol AA’dan, 150 ile 200 μ g/mL’deki konsantrasyonda yine aynı uygulamaya ait etanol ekstrelerinin DPPH radikali bakımından süpürme aktivitesi hem AA hem de BHT’den yüksek bulunmuştur. Ayrıca en yüksek konsantrasyon olan 250 μ g/mL’de kontrol hariç tüm uygulama gruplarının aktivite değeri AA’dan ve MeJA ile iki elisitörün birlikte uygulandığı ekstrele ait aktivite tüm pozitif kontrollerden yüksek bulunmuştur.

4.5.2. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

ABTS katyon radikali giderim yöntemi ile *S. nemorosa* bitkilerinde toplam antioksidan aktivite tayini yapılırken farklı konsantrasyonlardaki (5, 10, 20, 40, 60, 80 μ g/mL) ekstreler hazırlanmış, yüzde inhibisyon (% I) değerleri belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.6 ile Şekil 4.6’da verildiği gibidir. Pozitif kontrol olarak kullanılan AA ve BHT için 0.5-5 μ g/mL ve BHA için 5-50 μ g/mL konsantrasyon aralığında çalışılmıştır.



Şekil 4.6. *S. nemorosa* bitki ekstrelerinin ABTS serbest radikali giderim aktivitesi

Çizelge 4.6. *S. nemorosa* bitki ekstralarının ABTS serbest radikali giderim aktivitesi (%I) *

	5 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	60 µg/mL	80 µg/mL
Ekstreler	Kontrol	13,88±0,19	21,66±1,49	34,62±1,08	60,37±0,57	85,11±0,89
	NaCl	15,92±1,29	22,22±1,10	37,96±0,91	64,44±0,33	91,38±0,65
	NaCl+MeJA	18,33±0,37	24,07±1,02	48,51±1,26	78,74±1,37	96,85±1,58
	NaCl+AgNP	17,59±0,91	19,62±1,40	46,66±0,74	67,22±0,91	94,07±0,39
	NaCl+MeJA+AgNP	19,81±0,51	21,29±0,14	52,59±1,03	81,51±1,29	99,25±1,90
Pozitif Kontroller	0.5 µg/mL	1 µg/mL	2 µg/mL	3 µg/mL	4 µg/mL	5 µg/mL
	AA	11,48±0,39	34,90±0,91	54,16±1,0	77,68±0,26	84,25±0,63
	BHT	13,88±0,78	16,75±1,96	39,35±0,13	67,87±0,65	82,77±1,04
	5 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	30 µg/mL	40 µg/mL	50 µg/mL
	BHA	24,72±0,62	45,37±1,04	65,55±0,78	76,66±1,43	91,85±0,13

*Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Tüm uygulama gruplarından elde edilen ekstrelere ait tüm parametreler kontrol ile kıyaslandığında, genel olarak en düşük inhibisyon yüzdelere sadece NaCl içeren uygulamada ve en yüksek inhibisyon yüzdelere ise NaCl+MeJA+AgNP uygulamasından elde edilmiştir (10 µg/mL hariç).

Ekstrelerin aktivite değerleri karşılaştırıldığında; en düşük konsantrasyon olan 5 µg/mL’de elde edilen sonuçlar AA ve BHT pozitif kontrollerinden, 10 µg/mL’de tüm uygulamalar BHT’den yüksek bulunmuştur. 20 µg/mL konsantrasyonda elisitör uygulamaları hem ayrı ayrı hem de birlikte uygulandığında ABTS radikali süpürme aktivitesi bakımından BHT’den, 40 µg/mL’de MeJA ile MeJA+AgNP uygulamaları AA ve BHT’den yüksek sonuçlar göstermiştir.

60 µg/mL konsantrasyonda tüm uygulamalara ait etanol ekstreleri AA ile BHT’den ve elisitörlerin birlikte ve ayrı ayrı uygulamaları da tüm pozitif kontrollerden yüksek aktivite göstermiştir. En yüksek konsantrasyon olan 80 µg/mL’de tüm uygulamalar pozitif kontrol BHT’den ve elisitör uygulamaları da tüm pozitif kontrollerden yüksek derecede radikal söndürme aktivitesi göstermiştir.

4.4.3. CUPRAC (Cu⁺² İyonu İndirgeme Kapasitesi) Yöntemi

NaCl stres faktörü uygulamasına maruz bırakılan bitkilerin etanol ekstralarının CUPRAC radikali giderim aktiviteleri 10-200 µg/mL konsantrasyon aralığında belirlenmiş ve ortamdaki radikallerin süpürülme yüzdesine (% I) göre değerlendirilerek sonuçlar Çizelge 4.7 ile Şekil 4.7 gösterilmiştir.

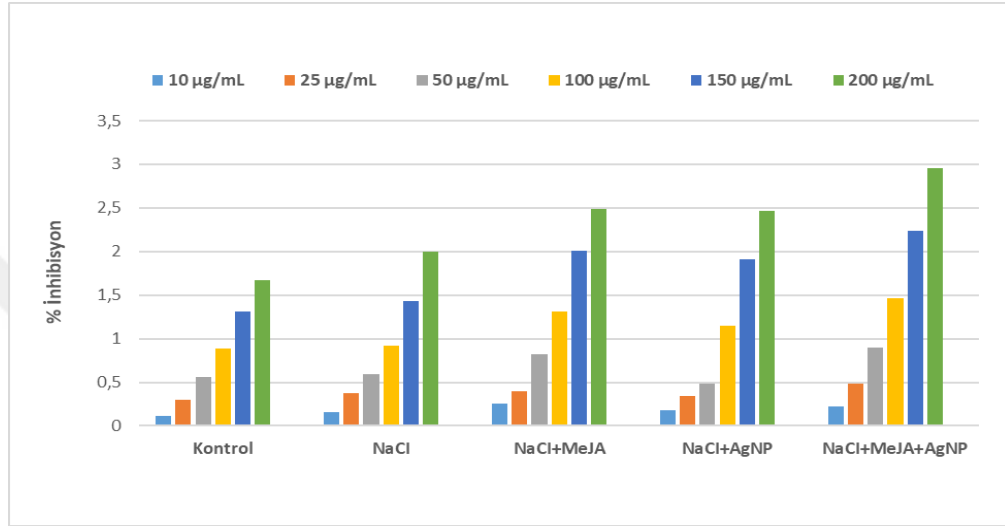
CUPRAC yönteminde, bitkilerin NaCl, MeJA ve AgNP uygulamalarının etanol ekstraları ve pozitif kontrollerin (BHT, BHA, AA) radikal giderme aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Pozitif kontrollerden AA için 2-50 µg/mL, BHT için 1-15 µg/mL, BHA için ise 10-200 µg/mL konsantrasyon aralıkları çalışılmıştır. Pozitif kontrollerde genel olarak en yüksek aktivite değerleri BHT’de gözlenirken en düşük değerler BHA’da gözlenmiştir.

Çizelge 4.7. *S. nemorosa* bitki ekstralarının CUPRAC serbest radikali giderim aktivitesi(%I)*

		10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	150 µg/mL	200 µg/mL
Ekstreler	Kontrol	0,10±0,07	0,29±0,03	0,56±0,02	0,89±0,09	1,30±0,05	1,67±0,05
	NaCl	0,15±0,03	0,37±0,02	0,59±0,03	0,91±0,06	1,42±0,08	1,99±0,07
	NaCl+MeJA	0,25±0,01	0,39±0,01	0,81±0,06	1,30±0,07	2,00±0,06	2,48±0,08
	NaCl+AgNP	0,18±0,03	0,33±0,05	0,48±0,01	1,14±0,04	1,91±0,02	2,46±0,03
	NaCl+MeJA+AgNP	0,21±0,03	0,48±0,04	0,89±0,07	1,46±0,09	2,23±0,07	2,95±0,09
Pozitif Kontroller		2 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	50 µg/mL
	AA	0,24±0,001	0,59±0,02	1,03±0,021	1,98±0,01	2,84±0,06	3,08±0,04
		1 µg/mL	3 µg/mL	6 µg/mL	9 µg/mL	12 µg/mL	15 µg/mL
	BHT	0,41±0,03	0,73±0,03	1,36±0,04	1,89±0,05	2,67±0,01	3,30±0,07
		10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	150 µg/mL	200 µg/mL
	BHA	0,23±0,07	0,42±0,08	0,97±0,01	1,69±0,06	2,15±0,08	2,83±0,04

*Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

Ekstrelerin CUPRAC radikali için giderme aktivitesi sonuçları incelendiğinde, tüm uygulama gruplarının aktivite değerleri kontrole göre artış göstermekle birlikte (NaCl+AgNP uygulamasının 50 µg/mL ekstresi hariç), en yüksek artışın tüm ekstrelerde (en düşük uygulama hariç) NaCl+MeJA+AgNP'nin birlikte kullanıldığı uygulamaya ait olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.7. *S. nemorosa* bitki ekstralarının CUPRAC serbest radikali giderim aktivitesi

Çalışmamızda uygulamalarda CUPRAC radikali söndürme aktivitesi bakımından çalışılan en düşük konsantrasyonda (10 µg/mL) NaCl + MeJA uygulamasına ait ekstraların aktivite değeri pozitif kontroller olan AA ve BHA'dan yüksek aktivite göstermiştir. Ayrıca, pozitif kontrollerle karşılaştırıldığında NaCl+MeJA+AgNP uygulamasının 25, 150 ile 200 µg/mL ekstralarının giderme aktivitesi pozitif kontrol olarak kullanılan BHA'dan yüksek bulunmuştur.

Elisitörlerin (NP, JA ve türevleri, ABA, SA, vb.) çeşitli fizyolojik süreçlerde yer aldığı bilinmektedir. Özellikle tuzluluk, kuraklık ve sıcaklık (düşük/yüksek) gibi abiyotik stres koşulları altında farklı bitkiler üzerinde şimdiye kadar test edilen JA'ların eksojen uygulamasının, bitki stres toleransını iyileştirmede etkili olduğu kanıtlanmıştır (Ahmad ve ark., 2016). Eksojen olarak uygulanan SA ve JA elisitörlerinin farklı tuz stresi seviyeleri altında soya fasulyesi hücrelerinde Na⁺ konsantrasyonunu azalttığı ve JA'nın SA'ya göre daha fazla etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Farhangi-Abriz ve Ghassemi-Golezani 2018). Arabidopsis, arpa, buğday, mısır ve inci darı üzerinde yürütülen çeşitli araştırmalar, hem ABA'nın hem de JA'nın kuraklık stresine karşı bitki

toleransını pozitif olarak kontrol ettiğini ve JA'nın ABA'dan daha etkili olduğunu göstermiştir (Awan ve ark., 2021; Wang ve ark., 2021).

Kuraklık ve tuz stresi gibi olumsuz çevresel koşullar, bitkilerde su kaybını önlemek amacıyla stoma kapanmasına neden olur. Bu koşullar stoma boyutu ve yoğunluğu üzerinde zararlı bir etkiye sahiptir, bu da transpirasyonu yavaşlatır (Khosropour ve ark., 2022). Bu şekildeki koşullar altında, klorofildeki düşüş fotosentetik pigmentlerde artan oksidasyon ile ilişkilendirilmiştir (Hussain ve ark., 2021). Abiyotik stres koşullarına maruz bırakılan çeşitli bitkilerde yapılan çalışmalarda klorofil içeriğinde azalmalar kaydedilmiştir (Özfıdan-Konakçı ve ark., 2018; Kuru ve ark., 2021). Çalışmamızda da tuz stresi uygulaması klorofil içeriğinde düşüşe neden olurken, AgNP ve MeJA'nın ayrı ayrı veya birlikte uygulanması sonucunda olumlu bir şekilde fotosentetik pigment içeriğinde artış gözlenmiştir. Benzer şekilde Si (Memari-Tabrizi ve ark., 2021; El-Saadony ve ark., 2021), Se (Sardar ve ark., 2022; Qi ve ark., 2021), ve Zn (Bashir ve ark., 2021) neden olduğu olumsuz etkiler NP'lerin olumlu yöndeki etkisi araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Morteza ve ark. (2013), TiO₂-NP'lerin mısır bitkisinde fotosentetik pigmentler (klorofil a, klorofil b, toplam klorofil içeriği ve karotenoid içerikleri) üzerinde olumlu etkisi bildirilmiştir. Kadmiyum (Cd) stresi faktörü altındaki buğday bitkisinde yapılan başka bir çalışmada, silikon nanopartikülleri kloroplastları Cd'nin zararlı etkilerinden koruyarak gaz değişimini ve fotosentetik pigment içeriklerini artırmış ve kökler tarafından temel besin alımını kolaylaştırmıştır (Ali ve ark., 2019). Çalışmamızda da elisitör uygulamasına bağlı olarak fotosentetik pigment içeriğinde kontrole göre meydana gelen artış, fotosentezin biyokimyasal süreçlerinin olumlu yönde etkilenmesine bağlı olabileceği sonucunu ifade etmemiz mümkündür.

Bitki organizmalarında meydana gelen stresin derecesi MDA ve elektrolit sızıntısı düzeyi gibi hücre zarı göstergeleri tarafından belirlenmektedir. Protein ve lipitlere benzer şekilde artan MDA, stres koşulları altında ROT miktarını yükseltir (Rizwan ve ark., 2019; Huang ve ark., 2019). Çalışmamızda 100 mM NaCl stres faktörüne yanıt olarak *Salvia nemorosa* bitkisinde MDA miktarında artış gözlenmiş ve NP ve MeJA uygulamalarına bağlı olarak azalış göstererek hasar derecesini azaltmıştır. Dolayısıyla, sadece NaCl'nin olduğu uygulama ekstresinde MDA miktarının diğer grublara göre daha yüksek çıkması ve MeJA ile AgNP'nin ayrı ayrı veya birlikte uygulandığı ekstrelerde ise daha düşük çıkması; çalışmada kullanılan her iki elisitörün

de *S. nemorosa* bitkisinde tuz stresine karşı iyileşme sağladığı sonucunun çıkarılmasına yol açmıştır. Eksojen olarak uygulanan ABA ve JA, Arabidopsis'te (de Ollas ve ark., 2015), buğdayda (Siddiqi ve Husen, 2019) ve inci darısında (Awan ve ark., 2020) kuraklık stresini iyileştirerek MDA ve H₂O₂ içeriklerini düşürmüştür. *Brassica napus*'ta yapraklara uygulanan JA, Cd alımını en aza indirmiş, bu da zar hasarında ve dolayısıyla MDA içeriğinde bir azalma sağlamıştır. 150 mM NaCl stres koşulları altında karbon nanopartiküllerinin farklı konsantrasyonları (10, 40, 80 ve 120 nM) ile ön muameleye tabi tutulan buğday (*T. aestivum*) bitkisinde MDA ve H₂O₂ seviyelerindeki düşüş antioksidan aktivitedeki artış ile ilişkilendirilmiştir (Shafiq ve ark., 2019).

Elisitörler, özellikle de MeJA, sinyal iletim yolunda flavonoidler, terpenoidler, fenilpropanoidler ve alkaloidler dahil olmak üzere ikincil metabolitlerde yer alan biyosentetik genleri aktive eder ve bitki savunma yanıtlarında önemli bir rol oynar (Cappellari ve ark., 2019; Miladinova-Georgieva ve ark., 2023). Bu nedenle elisitör uygulanmış bitkilerde fenolik ve flavonoid madde miktarının belirlenmesi önem arz etmektedir. Çalışmamızda da tuzluluk koşullarına maruz bırakılan *Salvia* türünde elisitörlerin, stres faktörünün yarattığı durumu gözlemlemek için toplam fenolik ile flavonoid miktarları incelenmiş ve tuz stres faktörüne karşı NP ve MeJA'nın ayrı ayrı uygulandığı ekstrelelere kıyasla birlikte uygulamaları toplam fenolik ve flavonoid miktarlarında önemli artışlara yol açmıştır ($p \leq 0.05$).

ROT'lar, normal oksijen metabolizmasının yan ürünleridir ve hücre sinyalleme ile homeostazisinde çeşitleri rolleri mevcuttur. Bitkilerde ROT'lar, normal hücrelerde düşük ve durağan seviyede bulunurken, çeşitli stres koşullarına karşı toleransla ilgili metabolik süreçlerde yer alıp, bazı hücrel bileşenleri oksitleyerek orijinal işlevlerini yerine getirmelerini engellediğinden DNA'da geri dönüşü olmayan hasarlara da neden olabilmektedir. Bu nedenle ROT'un, koruyucu veya sinyal faktörü olarak ikili bir rolü olduğu söylenebilir. Bu rolleri ROT'un üretimi ile doğru zamanda süpürülmesi arasındaki dengeye bağlıdır. Bu dengeyi sağlayan, antioksidan savunma sistemidir ve bitkiler de ROT'un zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan savunma sistemlerini etkinleştirirler (da Silva ve ark., 2014). Yapılan çalışmalar SA, MeJA ve NP'ler gibi elisitörlerin ROT ile ilgili sinyal yollarından sorumlu olduğunu göstermiştir (Waszczak ve ark., 2018; Herb ve ark., 2021). Çalışmamızda ekstrelerdeki toplam antioksidan aktivite üç ayrı metod (DPPH, CUPRAC ve ABTS) ve radikallerin süpürülme aktiviteleri (% inhibisyon) şeklinde belirlenmiştir. Ekstreler antioksidan aktivite

bakımından kıyaslandığında; DPPH serbest radikali bakımından en yüksek aktivite NaCl+MeJA uygulamasından elde edilirken CUPRAC ile ABTS radikalleri bakımından ise NaCl+MeJA+AgNP uygulamalarından en yüksek süpürülme aktiviteleri elde edilmiştir. Benzer şekilde MeJA uygulanan *Ocimum basilicum* (fesleğen) bitkisinde daha yüksek seviyede rapor edilen toplam fenolik bileşikler daha yüksek DPPH serbest radikal süpürme aktivitelerine yol açmıştır (Kim ve ark., 2006). Khan ve ark. (2020), *Pennisetum glaucum* tohumlarını AgNP ile ön muamele ettikten sonra yetiştirdikleri bitkilerin antioksidan aktivite göstermelerinden dolayı tuz stresi koşullarına karşı daha düşük oksidatif hasar gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda da elisitör uygulamalarıyla beraber yüksek seviyelerdeki antioksidan aktivite ile düşük MDA içeriğinin serbest radikalleri inhibe etme ve oksidatif hasarı azaltma yönünde önemli bir rol oynadığı sonucu çıkarılabilir. Yapılan başka bir çalışmada, MeJA, SA ve TiO₂-NP'ler uygulanan bitkilerde, DPPH serbest radikali süpürme aktivitesini önemli ölçüde iyileştirebildiği ancak antioksidan aktivitelerin, NP'lerin tipine ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişebildiği rapor edilmiştir. Aşırı ROT üretiminin antioksidan mekanizmaların indüklenmesine neden olabileceği ve bu nedenle TiO₂-NP uygulamasının, antioksidan savunma sisteminin bir bileşeni olarak prolin içeriğinde bir artışa yol açarak ROT üretimini azalttığı bildirilmiştir (Castiglione ve ark., 2014). Bitkilere AgNP uygulaması çok sayıda fizyo-biyokimyasal özelliği modüle ederek çimlenme ve büyüme dahil çoklu büyüme özelliklerini iyileştirdiği bilinmektedir (Soliman ve ark., 2020). Mohamed ve ark. (2017), AgNP'lerle tohum ön muamelenin tuz stresi altındaki buğday fidelerinin büyümesini, prolin, çözünür şekerleri ve POD aktivitesini geliştirdiğini göstermiştir. Çalışmamızda ise en düşük prolin içeriği NaCl+MeJA+AgNP uygulamasında belirlenirken, sadece NaCl uygulanan bitkilerde strese yanıt olarak en yüksek değerler kaydedilmiştir.

Diğer taraftan yapılan bir çok araştırma, çevresel streslerin yokluğunda MeJA ve JA gibi bitki hormonlarının kullanılmasının bitkinin büyümesi üzerinde engelleyici bir etki yaptığını göstermiştir (Pessarakli, 1994; Ueda ve Saniewski, 2006; Zhao ve ark., 2007). JA ile muamele edilen *Hypericum hirsutum* (Wang ve ark., 2015) ve *Hypericum maculatum*'un (Coste ve ark., 2011) kuru sürgün ağırlığında önemli bir düşüş gözlenmiş ve biyokütledeki azalmanın, elisitör uygulamaları tarafından uyarılan membran lipoksidasyonuna bağlı olabildiği ifade edilmiştir. Birçok olumlu etkisi olmasına rağmen Ag NP'lerin de çevreye gümüş iyonu (Ag⁺) salabilmeleri ve doğada oldukça

toksik olan bu iyonun organizmalar için tehlikeli olabilmesi nedeniyle birçok araştırmacı bunların büyük bir dikkat ve özenle kullanılması gerektiğini savunmaktadır (de Souza ve ark., 2019; Tortella ve ark., 2020). Bununla birlikte, Ag NP'lerin bitki büyümesini nasıl etkilediğini ve çevreye ve organizmalara yönelik herhangi bir olası riske ne ölçüde neden olduklarını bilmek önemlidir (Yan ve Chen, 2019), tüm bu nedenler göz önüne alındığında hem biyotik hem de abiyotik elisitörler (JA, SA, NP'ler, vb.) ile ilgili yapılmış ve gelecekte yapılacak araştırmalar büyük önem arz etmekte olup, mevcut tez çalışmamıza ait verilerin literatüre önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu tez çalışmasındaki veriler genel olarak değerlendirildiğinde, aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Çalışmada, *Salvia nemorosa* L.'ye ait olgun tohumlar başlangıç materyali olarak kullanılmıştır.
- Literatür taramaları sonucu tuz çeşidi olarak NaCl'ye ve konsantrasyon olarak da 100 mM seçilmiştir.
- 100 mM NaCl stres faktörüne maruz bırakılan *Salvia nemorosa* L. bitkisinde stresin olumsuz etkilerinin giderilip giderilmediğini belirlemek amacıyla biyotik ve abiyotik elisitörler (AgNP ve MeJA) ayrı ayrı ve birlikte olacak şekilde uygulanmıştır.
- Kontrol, 100 mM NaCl, 100 mM NaCl+50 µM MeJA, 100 mM NaCl+10 µM AgNP ile 100 mM NaCl+10 µM AgNP+50µM MeJA uygulama gruplarına ait bitkilerde fotosentetik pigment içerikleri değerlendirildiğinde; *klorofil-a*, *klorofil-b* ve *toplam karotenoid* bakımından kontrol grubuna göre en yüksek değerler 100 mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA uygulamasından elde edilmiştir.
- Membran hasarının bir göstergesi olarak lipid peroksidasyonu derecesi açısından (MDA içeriği) sonuçlar değerlendirildiğinde artış sıralaması yüksekten düşüğe “100 mM NaCl > 100 mM NaCl+10 µM AgNP > 100 mM NaCl+50 µM MeJA > 100mM NaCl+10 µM AgNP+50 µM MeJA > Kontrol” şeklinde olmuştur.
- Stres koşullarında genellikle strese yanıt olarak miktarı artan prolin, çalışmamızda da tuz stresinin yalnız başına uygulandığı 100 mM NaCl ekstresinde en yüksek artışı göstermiştir.
- Uygulama gruplarına ait bitkilerden elde edilen etanol ekstratları; toplam fenolik madde içeriği için gallik aside, toplam flavonoid madde içeriği için ise kersetine eşdeğer olacak şekilde değerlendirilmiştir. Toplam fenolik ile toplam flavonoid madde içeriği açısından ekstratlerde azalan sıralama “100 mM NaCl+10 µM

AgNP+50 μ M MeJA > 100 mM NaCl+50 μ M MeJA > 100 mM NaCl+10 μ M AgNP > 100 mM NaCl > Kontrol” şeklinde olmuştur.

- Üç ayrı yöntem ile değerlendirilen toplam antioksidan aktivite bakımından bitkiler incelendiğinde; DPPH yönteminde 100 mM NaCl+50 μ M MeJA uygulamasına ait ekstrelerin 150 μ g/mL, 200 μ g/mL ve 250 μ g/mL’de toplam antioksidan aktivite değerleri pozitif kontrol olarak kullanılan BHT’ye göre daha yüksek bulunmuştur. ABTS yönteminde 60 ile 80 μ g/mL konsantrasyonlarında NaCl+MeJA, NaCl+AgNP ve NaCl+MeJA+AgNP uygulamalarına ait bitkilerdeki aktivite pozitif kontrol olarak kullanılan BHA’dan yüksek bulunmuştur. CUPRAC yönteminde ise NaCl+MeJA+AgNP’nin uygulandığı bitkilere ait 150 ile 200 μ g/mL ekstrelerinin giderme aktivitesi BHA’dan yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak çalışmada kullanılan elisitör uygulamaları toplam antioksidan aktiviteyi sadece tuz uygulanan gruba göre genel olarak daha da arttırmıştır. Dolayısıyla iki ayrı elisitörün birlikte uygulanmasının, genel olarak olumlu sonuçlar vermesi, stres koşullarının yarattığı olumsuz etkiyi gidermede etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

5.2. Öneriler

Modern genetik yöntemler (biyo-işleme teknikleri), bitkilerde stres toleransını geliştirme potansiyeline sahip olmasına rağmen araştırma altyapısı, zaman ve maliyet açısından büyük bir yatırım gerektiren tekniklerdir. Ayrıca, genetiği değiştirilmiş mahsullerin, insanların tüketimi için sosyal olarak kabul görmemiş olması modern çağda gıda, sağlık, tarım da dahil olmak üzere birçok farklı sektörde sürekli olarak yoğun ve entegre hale gelmiş olan NP'lerin kullanımı, benimsenebilecek potansiyel bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda, NP'lerin bitkiler üzerinde pek çok avantajlı etki sağladığı açıktır, ancak uygulanan daha yüksek konsantrasyonlar sıklıkla fitotoksik etkiler göstermiştir. Bununla birlikte, bu tür tepkiler, test edilen bitki türleri ve stres seviyelerine göre de değişiklik göstermektedir. Bu belirsizlikler nedeniyle, NP elisitörlerinin ticarileştirilmesi için, bitkilerde stresi yönetmeye yönelik rollerininin tam olarak anlaşılması ve yaygın kullanımının çevresel etkisinin kapsamlı bir şekilde incelenmesi gerekmektedir. Bu da, araştırmacıların belirli bir ürün için belirli bir NP türünü daha iyi önermelerini ve gelecekteki kullanımı için çevre dostu ve uygun maliyetli NP'ler geliştirmelerini sağlayacaktır. Ayrıca, bitkilerin maruz kaldığı yaygın

çoklu doğal stresler göz önüne alındığında, gelecekteki çalışmalar çoklu stres altında NP'lerin rolünü değerlendirme üzerine olmalıdır. Böylece yapılacak çalışmalar abiyotik stresfaktörlerinin olumsuz etkilerini azaltmak için etkili nanoteknolojik uygulamayı kolaylaştıracaktır. Özellikle NP'lerin canlı organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri göz ardı edilmemelidir. Dolayısıyla bu konuda yapılan ya da yapılacak çalışmalar ile nanoteknolojinin geliştirilmesi mükemmel bir araç olarak kabul edilebilir.

JA ve türevleri gibi alternatif diğer elisitörler, çevresel uyaranlara yanıt olarak bitki savunması ve direncinin oluşturulmasında çok önemli rollere sahiptir. JA, çevresel streslere uyum sağlamak için ABA, etilen, SA ve diğer bitki hormonları ile sinerjistik ve antagonistik olarak işlev görür. Abiyotik stres varlığında JA, bitkinin savunma sistemini uyararak, fitohormonlar ve antioksidan enzimler gibi savunma bileşiklerini içeren bitki stres yanıtlarını düzenler. MeJA'nın çevresel stres yokluğunda kullanılmasının bitkinin büyümesi üzerinde engelleyici etki yapabildiği düşünüldüğünde, yapılacak çalışmalar arttıkça ve çeşitlendikçe JA'nın hem bu ikili durumu hem de diğer fitohormonlarla karışması aydınlatılabilecektir.

Önceki çalışmalar, bitki büyüme düzenleyicilerinin (MeJA veya SA) ve NP'lerin uygulamalarını kapsamlı bir şekilde araştırmıştır. NP'lerin SA veya MeJA ile beraber etkilerini değerlendiren çalışmalar oldukça sınırlı sayıda olup, *Salvia* türlerinde AgNP+SA/MeJA birlikte etkilerini değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada, NaCl stres faktörüne maruz bırakılmış *S. nemorosa* bitkisinde AgNP ve MeJA'nın ayrı ayrı ve birlikte etkisi incelenmiştir. AgNP ile MeJA'nın birlikte uygulanmasıyla toplam fenolik ile flavonoid ve toplam antioksidan aktivite gözle görülür şekilde iyileşme göstermiştir. Dolayısıyla mevcut çalışmanın sonuçları, NP ve MeJA'nın bitkilerde uygulanmasının bitkilerde biyokimyasal ve morfolojik özellikleri iyileştirme üzerindeki olumlu etkileri olabileceğini doğrulamıştır.

KAYNAKLAR

- Abdel Latef, A., 2010, Changes of antioxidative enzymes in salinity tolerance among different wheat cultivars, *Cereal Research Communications* 38 (1), 43-55.
- Abdel Kareem S.H.M., Qayyumb, M.F., Abdel-Hadia, A., Rehman, R.A., Alic, S. and Rizwanc, M., 2017, Interactive effect of salinity and silver nanoparticles on photosynthetic and biochemical parameters of wheat, *Archives of Agronomy and Soil Science*, DOI: 10.1080/03650340.2017.1300256.
- Abdoli S., Ghassemi-Golezani K. and Alizadeh-Salteh S., 2020, Responses of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) to exogenous salicylic acid and iron oxide nanoparticles under salt stress. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 36939–36953.
- Abou-Zeid, H. and Ismail, G., 2018, The role of priming with biosynthesized silver nanoparticles in the response of *Triticum aestivum* L to salt stress. *Egypt. J. Bot.* 58, 73–85.
- Acosta-Motos, JR., Ortuño M.F., Bernalvicente A.A., Diazvivancos P., Sanchezblanco M.J., Hernandez J.A., 2017, Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7(1): 18.
- Ahanger, M.A. and Agarwal R.M., 2017, Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L.) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiol. Biochem.*, 115: 449-460.
- Ahmad, I. and Akhtar, M.S., 2019, Use of Nanoparticles in Alleviating Salt Stress. In: Akhtar, M.S. (Ed.), *Salt Stress, Microbes, and Plant Interactions: Causes and Solution*. Springer, pp. 199–215. Singapore.
- Ahmad, P., Rasool, S., Gul, A., Sheikh, S.A., Akram, N.A., Ashraf, M., Kazi, A.M. and Gucel, S., 2016, Jasmonates: multifunctional roles in stress tolerance. *Front Plant Sci* 7:813. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00813>
- Akkol, E.K., Goger, F., Kosar, M. and Baser, K.H.C., 2008, Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chem.* 108, 942–949
- Alabdallah, N.M. and Alzahrani, H.S., 2020, The potential mitigation effect of ZnO nanoparticles on [*Abelmoschus esculentus* L. Moench] metabolism under salt stress conditions. *Saudi J Biol Sci.*, 27 (11): 3132-3137.
- Ali, S., Rizwan, M., Hussain, A., ur Rehman M.Z., Ali B, Yousaf B. and Ahmad, P., 2019, Silicon nanoparticles enhanced the growth and reduced the cadmium accumulation in grains of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiol Biochem.*, 140:1–8.
- Altundağ, E., 2009, Iğdır İlinin (Doğu Anadolu Bölgesi) Doğal Bitkilerin Halk Tarafından Kullanımı. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. (230, 232, 234).
- Arnon, D.I., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, 24 (1): 1-15.
- Ashraf, M., Shahzad, S.M., Imtiaz, M. and Rizwan, M.S., 2018, Salinity effects on nitrogen metabolism in plants-focusing on the activities of nitrogen metabolizing enzymes: a review. *J. Plant Nutr.*, 41, 1065–1081.
- Assaf, M., Korkmaz, A., Karaman, Ş. and Kulak, M., 2022, Effect of plant growth regulators and salt stress on secondary metabolite composition in Lamiaceae species. *South African Journal of Botany*, 144 : 480-493.

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. and Karademir, S.E., 2004, A novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols, vitamin C and E using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7970-7981.
- Attaran-Dowom, S., Abrishamchi, P., Radjabian, T. and Salami, S.A., 2017, Enhanced phenolic acids production in regenerated shoot cultures of *Salvia virgata* Jacq. after elicitation with Ag⁺ ions, methyl jasmonate and yeast extract. *Ind. Crops Prod.*, 103, 81– 88.
- Avestan, S., Ghasemnezhad, M., Esfahani, M. and Byrt, C.S., 2019, Application of nanosilicon dioxide improves salt stress tolerance in strawberry plants. *Agronomy*, 9, 246.
- Awan, S.A., Khan, I., Rizwan, M., Zhang, X., Brestic, M., Khan, A., El-Sheikh, M.A., Alyemeni, M.N., Ali, S., Huang, L. and Huang, L., 2020, Exogenous abscisic acid and jasmonic acid restrain polyethylene glycol induced drought by improving the growth and antioxidative enzyme activities in pearl millet. *Physiol Plant.*, <https://doi.org/10.1111/ppl.13247>
- Awan, S.S., Khan, I., Rizwan, M., Zhang, X., Brestic, M., Khan A., El-Sheikh, M.M., Alyemeni, M.N., Ali, S. and Huang, L., 2021, Exogenous abscisic acid and jasmonic acid restrain polyethylene glycol-induced drought by improving the growth and antioxidative enzyme activities in pearl millet. *Physiol Plant*, 172(2):809-819.
- Bahadori, M.B., Valizadeh, H. and Farimani, M.M., 2016,. Chemical composition and antimicrobial activity of the volatile oil of *Salvia santolinifolia* Boiss. from Southeast of Iran. *Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 42e48.
- Barrios, A.C., Medina-Velo, I.A., Zuverza-Mena, N., Dominguez, O.E., Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L., 2017, Nutritional quality assessment of tomato fruits after exposure to uncoated and citric acid coated cerium oxide nanoparticles, bulk cerium oxide, cerium acetate and citric acid. *Plant Physiol. Biochem.* 110, 100–107.
- Bashir, A., ur Rehman, M.Z., Hussaini, K.M., Adrees, M., Qayyum, M.F., Sayal, A.U. and Alyemeni, M.N., 2021, Combined use of zinc nanoparticles and co-composted biochar enhanced wheat growth and decreased Cd concentration in grains under Cd and drought stress: a field study. *Environ Technol Innov.*, 23:101518.
- Bates, L.S., Wladren, P.R. and Tear, D.T., 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil.*, 39:205–207.
- Batıbay, H., 2017, Bazı Salvia (Adaçayı) Türlerinin Biyolojik Ve Kimyasal Yönden İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi Kimya Anabilim Dalı. Dicle Üniversitesi, Diyarbakır.
- Bautista, E., Toscano, A., Calzada, F., Diaz, E., Yopez-Mulia, L. and Ortega, A., 2013, Hydroxyclerodanes from *Salvia shannoni*. *Journal of Natural Products*, 76(10), 1970e1975.
- Bayat, F., Shafie, B. and Shahraki, B., 2022, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran. Salinity effects on growth, chlorophyll content, total phenols, and antioxidant activity in *Salvia lavandulifolia* Vahl. *Adv. Hort. Sci.*, 36(2): 145153.
- Bayan, Y. and Genç, N., 2017, *Salvia tomentosa* Mill'in Antifungal ve Antioksidant Aktivitesinin Belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(4): 17-21.

- Bayat H. and Moghadam, A.N., 2019, Drought effects on growth, water status, proline content and antioxidant system in three *Salvia nemorosa* L. cultivars. *Acta. Physiol. Plant*, 41(9): 149.
- Baz, H., Creech, M., Chen, J., Gong, H., Bradford, K. and Huo, H., 2020, Water-soluble carbon nanoparticles improve seed germination and post-germination growth of lettuce under salinity stress. *Agronomy*, 10, 1192.
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Cappellari, L.D.R., Santoro, M.V., Schmidt, A., Gershenzon, J. and Banchio, E., 2019, Induction of essential oil production in *Mentha x piperita* by plant growth promoting bacteria was correlated with an increase in jasmonate and salicylate levels and a higher density of glandular trichomes. *Plant Physiol Biochem.*, 141:142–153.
- Castiglione, M.R., Giorgetti, L., Cremonini, R., Bottega, S. and Spanò, C., 2014, Impact of TiO₂ nanoparticles on *Vicia narbonensis* L.: potential toxicity effects. *Protoplasma*, 251(6):1471–1479. [https:// doi. org/ 10. 1007/ s00709- 014- 0649-5](https://doi.org/10.1007/s00709-014-0649-5).
- Chakhchar, A., Lamaoui, M., Wahbi, S., Ferradous, A., EL Mousadik, A., Ibnsouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A. and Modafar, C.E., 2015, Leaf water status, osmoregulation and secondary metabolism as a model for depicting drought tolerance in *Argania spinosa*. *Acta. Physiol. Plant*, 37(4): 8096.
- Chang, J., Cheong, B.E., Natera, S. and Roessner, U., 2019. Morphological and metabolic responses to salt stress of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars which differ in salinity tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 144, 427–435.
- Chaves, M.M., Flexas, J. and Pinheiro, C., 2009, Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 103, 551–560.
- Cele, T., 2020, Preparation of Nanoparticles. In *Silver Nanoparticles-Health and Safety*. IntechOpen.
- Coste, A., Vlase, L., Halmagyi, A., Deliu, C. and Coldea, G., 2011 Effects of plant growth regulators and elicitors on production of secondary metabolites in shoot cultures of *Hypericum hirsutum* and *Hypericum maculatum*. *Plant Cell Tissue Organ Culture (PCTOC)*, 106(2):279–288. [https:// doi. org/ 10. 1007/ s11240- 011- 9919-5](https://doi.org/10.1007/s11240-011-9919-5).
- da Silva, S., Moreira, C.B., Esquibel, M.A., San Gil RAdS, da Silva Riehl, C.A., Sato, A., 2014, Effect of salicylic acid on essential oil compounds of *Melissa officinalis* in vitro plants. *Agropecuária Técnica.*, 35(1):178–184. [https:// doi. org/ 10. 3390/ micro organ isms8 020215](https://doi.org/10.3390/microorganisms8020215).
- Daskalova, T., 2004, On some specificities of seed formation in *Salvia nemorosa* (Lamiaceae). *Phytologia Balcanica*, 10, 79e84.
- de Souza, T.A.J., Souza, L.R.R. and Franchi, L.P., 2019, Silver nanoparticles: an integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and toxicity. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 171, 691–700.
- Den, g Y., Feng, Z., Yuan, F., Guo, J., Suo, S., Wang, B., 2015, Identification and functional analysis of the autofluorescent substance in *Limonium bicolor* salt glands. *Plant Physiol. Biochem.*, 97: 2027.
- de Ollas, C., Arbona, V. and Gómez-Cadenas, A., 2015, Jasmonic acid interacts with abscisic acid to regulate plant responses to water stress conditions. *Plant Signal Behav.*10(12):e1078953.
- El-Saadony, M.T., Desoky, E.S.M., Saad, A.M., Eid, R.S., Seleem, E. and Elrys, A.S., 2021, Biological silicon nanoparticles improve *Phaseolus vulgaris* L. yield and

- minimize its contaminant contents on a heavy metals-contaminated saline soil. *J Environ Sci.*, 106:1–14 El-Tayeb 2005.
- Es-sbıhı, F.Z., Hazzoumi, Z., Aasfar, A., Amrani Jouteı, K., 2021, Improving salinity tolerance in *Salvia officinalis* L. by foliar application of salicylic acid. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 8(1): 112.
- Fatemi, F., Abdollahi, M.R., Mirzaie asl, A., Dastan, D., Garagounis, C. and Papadopoulou, K., 2019, Identification and expression profiling of rosmarinic acid biosynthetic genes from *Satureja khuzistanica* under carbon nanotubes and methyl jasmonate elicitation. *Plant Cell Tissue and Organ Cult.*, 136 (3), 561–573. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-01537-8>.
- Farhangi-Abriş, S. and Ghassemi-Golezani, K., 2018, How can salicylic acid and jasmonic acid mitigate salt toxicity in soybean plants? *Ecotoxicol Environ Saf.*, 147:1010-1016.
- Farmer, E.E. and Ryan, C.A., 1992, Octadecanoid Precursors of Jasmonic Acid Activate the Synthesis of Wound-inducible Proteinase Inhibitors. *The Plant Cell*, 4(1992): 129-134.
- Farimani, M.M., Ebrahimi, S.N., Salehi, P., Bahadori, M. B., Sonboli, A., Khayasi, H. R. and Hamburger, M., 2013, Antitrypanosomal triterpenoid with an epsilon-lactone E-ring from *Salvia urmiensis*. *Journal of Natural Products*, 76(9), 1806e1809.
- Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M.S., 2011, Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi, Kastamonu Üni., *Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52 – 67
- Gengmao, Q.S., Yu, H., Shihui, L. and Changhai, W., 2014, The physiological and biochemical responses of a medicinal plant (*Salvia miltiorrhiza* L.) to stress caused by various concentrations of NaCl. *PloS one*, 9(2): e89624.
- Ghimire, B.K., Thiruvengadam, M. and Chung, I.M., 2019, Identification of elicitors enhances the polyphenolic compounds and pharmacological potential in hairy root cultures of *Aster scaber*. *S. Afr. J. Bot.* 125, 92–101.
- Ghorbanpour, M. and Hatami, M. 2015, Changes in growth, antioxidant defense system and major essential oils constituents of *Pelargonium graveolens* plant exposed to nano-scale silver and thidiazuron. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20, 116123.
- Ghorbel, M., Faıçal Brini, F., Sharma, A. and Landi, M., 2021, Role of jasmonic acid in plants: the molecular point of view, *Plant Cell Reports*, 40:1471–1494.
- Ghoulam, C., Foursy, A. and Fares, K. 2002, Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *EEB*, 47 (1): 39-50.
- Goncalves, S., Mansinhosa, I., Rodríguez-Solana, R.P., Erez-Santín, E., Coelho, N. and Romano, A., 2019, Elicitation improves rosmarinic acid content and antioxidant activity in *Thymus lotocephalus* shoot cultures. *Ind. Crops Prod.* 137, 214–220.
- Gundlach, H., Muller, M. J., Kuchan, T. M. and Zenk, M. H., 1992, Jasmonic Acid is a Signal Transducer in Elicitor-induced Plant Cell Cultures. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 89(6): 2389-2393.
- Guo, B., Liang, Y., Zhu, Y. and Zhao, F., 2007, Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress. *Environ Pollut.*, 147(3):743–749. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.09.007>.

- Hassan, M.J., Ali Raza, M., Khan, I. and Ahmad-Meraj, T., 2020, Selenium and salt interactions in black gram (*Vigna mungo* L): ion uptake, antioxidant defense system, and photochemistry efficiency. *Plants*, 9: 467.
- Herb, M., Gluschko, A. and Schramm, M., 2021, Reactive Oxygen Species: Not Omnipresent but Important in Many Locations, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9 (716406): 716406.
- Hiraga, S., Ito, H., Yamakawa, H., Ohtsubo, N., Seo, S., Mitsuhashi, I., Matsui, H., Honma, M. and Ohashi, Y., 2000, An HR-induced Tobacco Peroxidase Gene is Responsive to Spermine, But Not to Salicylate, Methyl Jasmonate and Ethephon. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 13(2): 210-216.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., 1938, The water-culture method for growing plants without soil. *Calif. Agr. Exp. Sta. Circ.*, 347: 1910-1994.
- Hofmann, T., Lowry, G.V., Ghoshal, S., 2020. Technology readiness and overcoming barriers to sustainably implement nanotechnology-enabled plant agriculture. *Nat Food* 1, 416–425.
- Huang, B., Chen, Y.E., Zhao, Y.Q., Ding, C.B., Liao, J.Q., Hu, C. and Yuan, M., 2019, Exogenous melatonin alleviates oxidative damages and protects photosystem II in maize seedlings under drought stress. *Front Plant Sci.*, 10:677.
- Hussain, F., Hadi, F. and Rongliang, Q., 2021, Effects of zinc oxide nanoparticles on antioxidants, chlorophyll contents, and proline in *Persicaria hydropiper* L. and its potential for Pb phytoremediation. *Environ Sci Pollut Res.*, 28:34697–34713.
- Karakas, O., 2020, Effect of Silver Nanoparticles on Production of Indole Alkaloids in *Isatis constricta*. *Iran. J. Sci. Technol. Trans. A Sci.* 44: 621–627.
- Karimian, Z., Samiei, L. and Nabati, J., 2019, Alleviating the salt stress effects in *Salvia splendens* by humic acid application. *Acta. Sci. Pol. Hortorum Cultus.*, 18: 73–82.
- Kaya, A. and Inan, M., 2017, Tuz (NaCl) Stresine Maruz Kalan Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) Bitkisinde Bazı Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Salisilik Asidin Etkileri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(3): 332-342.
- Khan, I., Raza, M.A., Awan, S.A. and Shah, G.A., 2020, Amelioration of salt induced toxicity in pearl millet by seed priming with silver nanoparticles (AgNPs): the oxidative damage, antioxidant enzymes and ions uptake are major determinants of salt tolerant capacity. *Plant Physiol. Biochem.*, 156, 221–232.
- Khanam, D. and Mohammad, F., 2018, Plant growth regulators ameliorate the ill effect of salt stress through improved growth photosynthesis antioxidant system yield and quality attributes in *Mentha piperita* L. *Acta Physiol Plant*, 40(11):188. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2769-6>.
- Khosropour, E., Weisany W, Tahir N.A.R. and Hakimi, L., 2022, Vermicompost and biochar can alleviate cadmium stress through minimizing its uptake and optimizing biochemical properties in *Berberis integerrima* bunge. *Environ Sci Pollut Res.*, 29:17476–17486.
- Kim, H.J., Chen F, Wang, X. and Rajapakse, N.C., 2006, Effects of methyl jasmonate on secondary metabolites of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *J Agric Food Chem.*, 54(6):2327–2332.
- Kim, J., Chang, C. and Tucker, M.L., 2015, To grow old: regulatory role of ethylene and jasmonic acid in senescence. *Front Plant Sci.*, 6:20. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00020>

- Kuru, İ.S., Işıksalan, Ç., Akbaş, F., 2021, Physiological and Biochemical Responses of Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties Against Drought Stress. *Bangladesh Journal of Botany*, 50(2): 335-342.
- Lowry, G.V., Avellan, A. and Gilbertson, L.M., 2019, Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. *Nat. Nanotechnol.*, 14, 517–522.
- Lu, Y. and Foo, L.Y., 2002, Polyphenolics of *Salvia* - a review. - *Phytochemistry*, 59(2): 117140.
- Mahmoud, A.W.M., Abdelaziz, S.M., El-mogy, M.M. and Abdeldaym, E.A., 2019, Effect of foliar zno and feo nanoparticles application on growth and nutritional quality of red radish and assessment of their accumulation on human health. *Agric. Pol'nohospodarstvo*, 65, 16–29.
- Malamy, J. and Klessing, D. F., 1992. Salicylic Acid and Plant Disease Resistance. *The Plant Journal*, 2: 643-654.
- Mallahi, T., Saharkhiz, M.J. and Javanmardi, J., 2018, Salicylic acid changes morpho-physiological attributes of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.) under salinity stress. *Acta. Ecol. Sin.*, 38: 351355 .
- Mazarie, A., Mousavi-nik, S.M., Ghanbari, A. and Fahmideh, L., 2019, Effect of titanium dioxide spraying on physiological characteristics of sage (*Salvia ofcinalis* L.) under water stress. *Environ Stress Crop Sci.*, 12:539–553. <https://doi.org/10.22077/ESCS.2019.1369.1304>
- Memari-Tabrizi, E.F., Yousefpour-Dokhanieh, A. and Babashpour-Asl, M., 2021, Foliar-applied silicon nanoparticles mitigate cadmium stress through physio-chemical changes to improve growth, antioxidant capacity, and essential oil profile of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Plant Physiol Biochem.*, 165:71–79.
- Mohamed, A.K.S., Qayyum, M.F., Abdel-Hadi, A.M., Rehman, R.A., Ali, S. and Rizwan, M., 2017, Interactive effect of salinity and silver nanoparticles on photosynthetic and biochemical parameters of wheat. *Arch. Agron Soil Sci.*, 63, 1736–1747.
- Mora, O., Le Mouëel, C., de Lattre-Gasquet, M. and Donnars, C., 2020, Exploring the future of land use and food security: A new set of global scenarios. *PloS one*. 15, e0235597
- Moreno, C.E., 2000, *Métodos para medir la biodiversidad, Volumen I*. Manualesy tesis SEA.
- Munns, R. and Tester, M., 2008, Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651–681
- Miladinova-Georgieva, K., Geneva, M., Stancheva, I., Petrova, M., Sichanova, M. and Kirova, E., 2023, Effects of different elicitors on Micropropagation, Biomass and secondary Metabolite production of *Stevia rebaudiana* Bertoni—A. *Rev Plants*, 12(1):153.
- Morteza, E., Moaveni, P., Farahani, H.A. and Kiyani, M., 2013, Study of photosynthetic pigments changes of maize (*Zea mays* L.) under nano TiO₂ spraying at various growth stages. *Springerplus*, 2(1):1–5. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-247>.
- Naik, P.M. and Al-Khayri, J.M., 2016, Abiotic and biotic elicitors role in secondary metabolites production through in vitro culture of medicinal plants. In: Shanker, A.K., Shanker, C. (Eds.), *Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives*. *IntechOpen*, pp. 247–277.

- Narayani, M. and Srivastava, S., 2017, Elicitation: a stimulation of stress in in vitro plant cell/tissue cultures for enhancement of secondary metabolite production. *Phytochem. Rev.*, 16, 1227–1252.
- Negrão, S., Schmockel, S.M. and Tester, M., 2017, Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Ann. Bot. (Lond.)*, 119, 1–11.
- Obayes, A.R. and Naji, H.F., 2020, Department of Biology, College of Science, University of Babylon, Iraq.
- Odabaşoğlu, M., Demirtaş, G., Yıldırım, K. and Gürsöz, S., 2018, Salt Stress on Grapes (*Vitis spp.*)1. International Gap Agriculture & Livestock Congress. 25-27 April. Harran University. Şanlıurfa/Turkey.
- Oğuz, C., 2019, Buğday (*Triticum aestivum* L.) Fideleri Üzerine Jasmonik Asit Tuzluluk Etkileşimlerinin Gen İfadesi ve Antioksidant Enzimleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Biyoloji Anabilim Dalı. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi. Hatay.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K., 1979, Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.*, 95(2): 351-358.
- Ohtsubo, N., Mitsuhashi, I., Koga, M., Seo, S. and Ohashi, Y., 1999, Ethylene Promotes the Necrotic Lesion Formation and Basic PR Gene Expression in TMV-infected Tobacco. *Plant Cell Physiology*, 40(8): 808-817
- Özfidan-Konakçı, C., Yildiztugay, E., Bahtiyar, M. and Kucukoduk, M., 2018, The humic acid-induced changes in the water status, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense systems of wheat leaves with cadmium stress. *Ecotoxicol Environ Saf* 155:66–75.
- Qi, W.Y., Li, Q., Chen, H., Liu, J., Xing, S.F., Xu, M. and Wang, S.G., 2021, Selenium nanoparticles ameliorate *Brassica napus* L. cadmium toxicity by inhibiting the respiratory burst and scavenging reactive oxygen species. *J Hazard Material*, 417:125900.
- Park, W.T., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., Yeo, S.K., Jeon, J., Park, J.S., Lee, S.Y. and Park, S.U., 2016, Yeast extract and silver nitrate induce the expression of phenylpropanoid biosynthetic genes and induce the accumulation of rosmarinic acid in *Agastache rugosa* cell culture. *Molecules*, 21, 426. <https://doi.org/10.3390/molecules21040426>.
- Patel, H. and Krishnamurthy, R., 2013, Elicitors in Plant Tissue Culture. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(2): 60-65.
- Pesaraklu, A., Radjabiana, T. and Salami, S.A., 2021, Methyl jasmonate and Ag⁺ as effective elicitors for enhancement of phenolic acids contents in *Salvia officinalis* and *Salvia verticillata*, as two traditional medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 141(11):105-115.
- Pessarakli, M., 1994, Handbook of plant and crop stress. *Dekker*, p 697.
- Pinedo-Guerrero, Z.H., Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., Gonzalez Morales, S., Benavides-Mendoza, A., Vald'es-Reyna, J. and Ju'arez-Maldonado, A., 2020, Form of silica improves yield, fruit quality and antioxidant defense system of tomato plants under salt stress. *Agriculture* 10, 367.
- Rehman, S., Abbas, G., Shahid, M., Saqib, M., Farooq, A.B.U., Hussam, M., Murtaza, B., Amjad, M., Naeem, M.A. and Farooq, A., 2019, Effect of salinity on cadmium tolerance, ionic homeostasis and oxidative stress responses in conocarpus exposed to cadmium stress: Implications for phytoremediation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 171: 146153.
- Rai, P.K., Kumar, V., Lee, S., Raza, N., Kim, K.H., Ok, Y.S. and Tsang, D.C., 2018. Nanoparticle-plant interaction: implications in energy, environment, and agriculture. *Environ. Int.*, 119, 1–19.

- Raimondi, G., Rouphael, Y., Di Stasio, E., Napolitano, F., Clemente, G., Maiello, R., Giordano, M. and De Pascale, S., 2017, Evaluation of *Salvia hispanica* performance under increasing salt stress conditions. *Acta Horticulturae*, 1170: 703708.
- Rastogi, A., Tripathi, D.K., Yadav, S., Chauhan, D.K., Zivcak, M., Ghorbanpour, M., ElSheery, N.I. and Brestic, M., 2019, Application of silicon nanoparticles in agriculture. *3 Biotech.*, 9, 90.
- Ree, M., Bae, J. Y., Jung, J.H. and Shin, T.J., 1999, A new copolymerization process leading to poly (propylene carbonate) with a highly enhanced yield from carbon dioxide and propylene oxide. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 37(12), 1863-1876.
- Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A. and Waris, A.A., 2019, Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat. *Chemosphere*, 214:269–277.
- Rossi, L., Zhang, W., Lombardini, L. and Ma, X., 2016, The impact of cerium oxide nanoparticles on the salt stress responses of *Brassica napus* L. *Environ. Pollut.*, 219, 28–36.
- Ruan, J., Zhou, Y., Zhou, M., Yan, J., Khurshid, M. and Weng, W., 2019, Jasmonic acid signaling pathway in plants. *Inter J Mol Sci* 20(10):2479.
- Sahar, K., Amin, B. and Taher, N.M., 2011, The salicylic acid effect on the *Salvia officinalis* sugar, protein and proline contents under salinity(NaCl) stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(4).
- Sardar, R., Ahmed, S., Shah, A.A. and Yasin, N.A., 2022, Selenium nanoparticles reduced cadmium uptake, regulated nutritional homeostasis and antioxidative system in *Coriandrum sativum* grown in cadmium toxic conditions. *Chemosphere*, 287:132332.
- Shafiq, F., Iqbal, M., Ali, M., Ashraf, M.A., 2019, Seed Pre-treatment with Polyhydroxy Fullerene nanoparticles confer salt tolerance in wheat through upregulation of H₂O₂ neutralizing enzymes and phosphorus uptake. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 19, 734–742.
- Sheng, Z., Nostrand, Van, D, J., Zhou, J. and Liu, Y., 2018. Contradictory effects of silver nanoparticles on activated sludge wastewater treatment. *J. Hazard Mater.*, 341, 448–456.
- Shoja, A.A., Çirak, C. and Ganjeali, A., 2022, Monireh Cheniany Stimulation of phenolic compounds accumulation and antioxidant activity in in vitro culture of *Salvia tebesana* Bunge in response to nano-TiO₂ and methyl jasmonate elicitors. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 149(2).
- Shu, K., Qi, Y., Chen, F., Meng, Y., Luo, X., Shuai, H. and Zhou, W., 2017, Salt stress represses soybean seed germination by negatively regulating GA biosynthesis while positively mediating ABA biosynthesis. *Front. Plant Sci.*, 8, 1372.
- Shu, S., Yuan, L.Y., Guo, S.R., Sun, J. and Yuan, Y.H., 2013, Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress. *Plant Physiol. Biochem*, 63: 209–216.
- Siddiqi, K.S. and Husen, A., 2019, Plant response to jasmonates: current developments and their role in changing environment. *Bull Nat Res Centre*, 43(1):1–11. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0195-6>
- Silva-Santos, L., Neto, L.P., Corte Real, N., Sperandio, M.V.L., Camara, C.A.G., Moraes, M.M. and Ulisses, C. 2023, Elicitation with Methyl Jasmonate and

- Salicylic Acid Increase Essential Oil Production and Modulate Physiological Parameters in *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown (Verbenaceae). *Journal of Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s00344-023-10976-3>.
- Slinkard, J. and Singleton, V.L., 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Vitic.* 28, 49–55.
- Singh, O.S., Pant, N.C., Laishram, L., Tewari, M., Dhoundiyal, R., Joshi, K. and Pandey, C., 2018, Effect of CuO nanoparticles on polyphenols content and antioxidant activity in Ashwagandha (*Withania somnifera* L. Dunal). *J. Pharmacogn. Phytochem.*, 7: 3433–3439.
- Skala, E. and Wysokinska, H., 2004, In vitro regeneration of *Salvia nemorosa* L. from shoot tips and leaf explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 40(6), 596e602.
- Soliman, M., Qari, S.H. and Abu-Elsaoud, A., 2020, Rapid green synthesis of silver nanoparticles from blue gum augment growth and performance of maize, fenugreek, and onion by modulating plants cellular antioxidant machinery and genes expression. *Acta Physiol. Plant.*, 42, 148
- Şanlı, A., Karadoğan, T., Erçabuk, H. and Dağlı, H., 2021, Kimyon (*Cuminum cyminum* L.) Bitkisinde Yapraktan GA3 ve Metil Jasmonat Uygulamalarının Meyve Verimi ve Uçucu Yağ Kalitesi Üzerine Etkileri. *Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 16 (2); 255-262.
- Takeda, Y., Zhang, H. J., Matsumoto, T., Otsuka, H., Oosio, Y., Honda, G. and Yesilada, E., 1997, Megastigmane glycosides from *Salvia nemorosa*. *Phytochemistry*, 44 (1), 117e120.
- Tepe, B., 2008, Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia virgata* (Jacq.), *Salvia staminea* (Montbret & Aucher ex Benth) and *Salvia verbenaca* (L.) from Turkey. *Bioresour. Technol.*, 99, 1584–1588.
- Theis, N. and Lerchau, M., 2003, The Evolution of Function in Plant Secondary Metabolites. *International Journal Plant Science*, 164(3): 93-102.
- Thulke, O. and Conrath, U., 1998, Salicylic acid has a dual role in the activation of defence-related genes in parsley. *Plant J.*, 14(1):35–42. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113.1998.00093.x>.
- Tortella, G.R., Rubilar, O., Dur'an, N., Diez, M.C., Martínez, M., Parada, J. and Seabra, A.B., 2020, Silver nanoparticles: toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. *J. Hazard Mater.* 390, 121974.
- Tripathi, D.K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D.K. and Dubey, N.K.(Eds.), 2017, Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms: Concepts and Controversies, vol. 1. Academic Press, New York, NY, USA.
- Tura, A., 2019, Salisilik Asidin Soya (*Glycine max*. L. merr.) Tohumlarının Çimlenme Ve Gelişimine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. Harran Üniversitesi. Şanlıurfa.
- Ueda, J. and Saniewski, M., 2006, Methyl jasmonate-induced stimulation of chlorophyll formation in the basal part of tulip bulbs kept under natural light conditions. *J Fruit Ornamental Plant Res.*, 14(199):210.
- Ulubelen, A., Birman, H., Oksuz, S., Topcu, G., Kolak, U. and Barla, A., 2002, Cardioactive diterpenes from the roots of *Salvia eriophora*. *Planta Medica*, 68(9), 818e821.
- Ulubelen, A., 2003, Cardioactive and antibacterial terpenoids from some *Salvia* species. *Phytochemistry*, 64(2), 395e399.

- Valiard M., Mohsenzadeh S., Kholdebarin B. and Rowshan V., 2014, Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. *S. Afr. J. Bot.*, 93: 9297
- Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Kumar, N., Tripathi, D.K., Chauhan, D.K., Sharma, S. and Sahi, S., 2018, Potential Applications and Avenues of Nanotechnology in Sustainable Agriculture. In: Tripathi, D.K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D.K., Dubey, N.K. (Eds.), *Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms*. Academic Press, New York, NY, USA, pp. 473–500.
- Yadegari, M., 2018, Foliar application effects of salicylic acid and jasmonic acid on the essential oil composition of *Salvia officinalis* [*Salvia officinalis*'in uçucu yağ bileşimi üzerinde Salisilik asit ve Jasmonik asidin yapraktan uygulama etkileri]. *Turk J Biochem*; 43(4): 417–424.
- Yan, A. and Chen, Z., 2019, Impacts of silver nanoparticles on plants: a focus on the phytotoxicity and underlying mechanism. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1003.
- Yan, Q., Shi, M., Ng, J. and Wu, J.Y., 2006, Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Plant Sci.* 170, 853–858.
- Yılar, M., Kadioğlu, G. and Telci, G., 2017, Tokat İlinde Doğal Olarak Yetişen *Salvia virgata* Jacq. ve *Salvia candidissima* subsp. *candidissima* Vahl. Bitkilerinin Uçucu Yağ Kompozisyonlarının Belirlenmesi, *Turk J Weed Sci.*, 20(1), 70-77.
- Yang, Y. and Guo, Y., 2018, Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt stress responses. *New Phytol.* 217, 523–539. cancer through PTEN-mediated inhibition of PI3K/Akt pathway. *J. Ethnopharmacol.* 200, 107–116.
- Zhang, S., Yan, Y., Wang, B., Liang, Z., Liu, Y., Liu, F. and Qi, Z.M., 2013, Selective responses of enzymes in the two parallel pathways of rosmarinic acid biosynthetic pathway to elicitors in *Salvia miltiorrhiza* hairy root cultures. *J. Biosci. Bioeng.* 117 (5), 645– 651.
- Zhang, Y., Kaiser, E., Marcelis, L.F., Yang, Q. and Li, T., 2020, Salt Stress and Fluctuating Light Have Separate Effects on Photosynthetic Acclimation, but Interactively Affect Biomass. *Plant Cell Environ.*
- Zhao, C., Zhang, H., Song, C., Zhu, J.K. and Shabala, S., 2020, Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. *Innovation* 1, 100017.
- Zhao, L., Hu, J., Huang, Y., Wang, H., Adeleye, A., Ortiz, C. and Keller, A.A., 2017, 1H NMR and GC–MS based metabolomics reveal nano-Cu altered cucumber (*Cucumis sativus*) fruit nutritional supply. *Plant Physiol. Biochem.*, 110, 138–146.
- Zhao, T.J., Liu, Y., Yan, Y.B., Feng, F., Liu, W.Q. and Zhou, H.M., 2007, Identification of the amino acids crucial for the activities of drought responsive element binding factors (DREBs) of *Brassica napus*. *FEBS Lett.*, 581(16):3044–3050.
- Zulfiqar, F., Navarro, M., Ashraf, M., Akram, N.A. and Munn'e-Bosch, S., 2019. Nanofertilizer use for sustainable agriculture: advantages and limitations. *Plant Sci.* 289, 110270.
- Wang J, Qian J, Yao L, Lu Y., 2015, Enhanced production of flavonoids by methyl jasmonate elicitation in cell suspension culture of *Hypericum perforatum*. *Bioresour Bioprocess* 2(1):5.
- Wang, X., Li, Q., Xie, J., Huang, M., Cai, J., Zhou, Q., Dai, T. and Jiang, D., 2021, Abscissic acid and jasmonic acid are involved in drought priming induced tolerance to drought in wheat. *Crop J.*, 9:120–132.

- Wasternack, C. and Hause, B., 2007, Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in Annals of Botany. *Ann Bot.*, 111:1021–1058.
- Waszczak, C., Carmody, M. and Kangasjärvi, J., 2018, Reactive Oxygen Species in Plant Signaling, *Annual Review of Plant Biology*. 69 (1): 209–236.
- Wen, C., Zhang, Z., Shi, Q., Duan, X., Du, J., Wu, C. and Li, X., 2023, Methyl Jasmonate-and Salicylic Acid-Induced transcription factor ZjWRKY18 regulates Triterpenoid Accumulation and Salt stress tolerance in Jujube. *Int J Mol Sci* 24(4):3899.
- Xing, B., Yang, D., Liu, L., Han, R., Sun, Y., Liang, Z., 2018, Phenolic acid production is more effectively enhanced than tanshinone production by methyl jasmonate in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 134, 119–129.

