



Effect of L-Arginine on Alleviating Salt Stress through Antioxidant Enzymes Activity in *Zea mays*

Esra Arslan Yüksel^{1,a,*}

¹Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Ataturk University, Erzurum, Türkiye

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 23.12.2023 Accepted : 23.01.2024</p> <p>Keywords: NaCl Arginine SOD POD APX</p>	<p>Arginine plays a multifaceted role in stress metabolism in plants, acting as both a precursor for various metabolites and a signaling molecule that can modulate plant responses to environmental stresses. Salinity stress remains a significant challenge for crop productivity, particularly in maize (<i>Zea mays</i>) cultivation. This study investigates the potential role of L-arginine (L-arg) in mitigating salt-induced oxidative damage by modulating lipid peroxidation, antioxidant enzymes activity and expression levels of antioxidant enzymes in maize. Our findings showed that, H₂O₂ and MDA levels increased in 200 mM NaCl was imposed while 1.5 and 3 mM L-arg treatments reduced these levels. Also, the activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX) and the expression levels of <i>ZmSOD</i>, <i>ZmPOD</i> and <i>ZmAPX</i> gradually increased in salt stress while L-arg quite increased these parameters. The highest increases were determined in SOD enzyme activity and <i>ZmSOD</i> gene expression. This research deepens our understanding of the molecular and biochemical responses to salinity stress, offering crucial knowledge that could lead to the application of L-arg to enhance plant resilience against environmental challenges.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 12(3): 447-452, 2024

Tuz Stresinin Hafifletilmesinde L-Argininin *Zea mays*'da Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 23.12.2023 Kabul : 23.01.2024</p> <p>Anahtar Kelimeler: NaCl Arjinin SOD POD APX</p>	<p>Arjinin, bitkilerde stres metabolizmasında yer alan çeşitli metabolitlerin öncülüğünü yapan bir aminoasit olmasının yanı sıra, bitkilerin çevresel streslere yanıtını modüle edebilen bir sinyal molekülüdür. Tuzluluk stresi, özellikle mısır (<i>Zea mays</i>) yetiştiriciliğinde, mahsul verimliliğini artırma açısından önemli bir zorluk oluşturmaktadır. Bu çalışma, L-argininin (L-arg) lipid peroksidasyonunu, bazı antioksidan enzim aktivitelerini ve bu enzimlerin gen ifade seviyelerini modüle ederek tuz stresinin neden olduğu oksidatif hasarı hafifletmedeki potansiyel rolünü araştırmaktadır. Bulgularımız, 200 mM tuz stresi uygulamasında H₂O₂ ve MDA seviyelerinin arttığını, ancak 1,5 ve 3 mM L-arg uygulamalarının bu seviyeleri azalttığını göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda, süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD) ve askorbat peroksidaz (APX) aktiviteleri ile <i>ZmSOD</i>, <i>ZmPOD</i> ve <i>ZmAPX</i> gen ifade seviyelerinin tuz stresi altında giderek arttığı, ancak L-arg'ın bu parametreleri arttırmada daha etkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek artışlar SOD enzim aktivitesinde ve <i>ZmSOD</i> gen ifadesinde gözlemlenmiştir. Bu araştırma, tuz stresinde bazı moleküler ve biyokimyasal yanıtların anlaşılmasını derinleştirerek, L-arg uygulamasının bitkilerin çevresel zorluklara karşı direncini arttırmada kritik bilgiler sunabileceği önemli bir literatür kaynağıdır.</p>

^a esra.arslan@atauni.edu.tr

<https://orcid.org/0000-0002-9062-6896>



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

Giriş

Abiyotik stres faktörlerinden biri olan tuzluluk hem tarım yapılan toprakları olumsuz etkilemekte hem de tuzluluk tehdidi altındaki topraklarda yetişen bitkilerde pek çok olumsuzluklara neden olmaktadır (Golldack ve ark., 2014). Tuzluluk, tohumların çimlenmesini, büyümesini, gelişmesini, çiçeklenmesini ve meyve vermesini engelleyerek bitkileri olumsuz yönde etkilemektedir (Park ve ark., 2013). Ayrıca bitkilerde çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere yol açmaktadır.

Bitkilerde tuz stresinin tetiklediği iyon stresi ve ozmotik stres, metabolizma dengesizliğine ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) toksik birikimine neden olarak oksidatif hasara neden olmaktadır. Tuz stresi altında kloroplast, peroksizom, mitokondri ve apoplast gibi birçok bitki organelinde ROT üretilmektedir. Bitki hücreleri, biriken ROT'u algılamakta ve ROT'u temizlemek için hızlı düzenleyici mekanizmalar kullanmaktadır (Park ve ark., 2016; Van zelm ve ark., 2020). ROT, düşük seviyelerde temel sinyal molekülleri olarak işlev görür. Bu nedenle ROT üretimini ve temizlenmesini dengelemek için sıkı kontrol mekanizmaları kullanılmaktadır. Bu kontrol mekanizması enzimatik ve enzimatik olmayan koruyucu sistemleri içeren stratejilerden ibarettir (Sofy ve ark., 2020; Moradbeygi ve ark., 2020). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve askorbat peroksidaz (APX) gibi antioksidan enzimler, bitkinin stres direncini yansıtan önemli göstergelerdir (Mostofal ve ark., 2015). Çeşitli çalışmalar, ROT temizleyici enzimlerin ve antioksidanların aktivitelerinin, tuz stresi uyarıcıları tarafından tetiklendiğini göstermiştir (Choudhury ve ark., 2016). SOD, APX ve CAT'ın genel olarak tüm bitkilerde tuz stresi ile aktive olduğu, tuzluluğa ve oksidatif strese karşı toleransı arttırdığı bildirilmiştir (Sofy ve ark., 2015). *ZmAPX*'in aşırı ifadesi mısırdaki tuz toleransını arttırmıştır (Trevizan ve ark., 2019).

Bitkiler tuzlu ortamlara uyum sağlamak için bir dizi sinyal iletim yollarını faaliyete geçirmektedirler. Bunlardan biri de hücre sinyal molekülü nitrik oksidin ve poliaminlerin biyosentezinin öncüsü olan L-arginindir (L-arg). L-arg işlevsel olarak en çeşitli amino asitlerden biridir ve endojen ve eksojen L-arg'nin, ROT'ları temizleyerek oksidatif hasarın üstesinden geldiği, tuzluluk gibi farklı çevresel streslerde önemli rollere sahip olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2011).

Stres altındaki bitkilerin korunmasında L-arg'nin rolünün olduğu bilgisinden hareketle, bu çalışma, tuz stresi altında mısırdaki lipid peroksidasyonunun (H_2O_2 ve MDA) belirlenmesi, bazı antioksidan enzim aktivitelerinin (SOD, POD ve APX) tayini ve *ZmSOD*, *ZmPOD* ve *ZmAPX* genlerinin ifadelerinin belirlenmesinde L-arg uygulamasının etkisini test etmeyi amaçlamıştır.

Materyal ve Yöntem

Bitki Materyali ve Uygulamaların Yapılışı

Çalışmada bitki materyali olarak strese hassas olduğu bilinen Ada-523 mısır çeşidi kullanılmıştır (Yetişsin ve Karakaya, 2022). %1 NaOCl ile 5 dakika yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlar steril saf sudan birkaç kez geçirildikten sonra $25 \pm 1^\circ C$ 16:8 saat ışık: karanlık fotoperiyot koşullarında 7 gün süreyle çimlendirilmiştir. Ardından eşit büyüklükte seçilen fideler Hoagland

solüsyonu (Hoagland ve Arnon, 1950) içeren hidroponik sisteme aktarılmıştır. Bu aşamada sistem; kontrol, 200 mM NaCl, 1,5 mM L-arg, 3 mM L-arg, 200 mM NaCl + 1,5 mM L-arg, 200 mM NaCl + 3 mM L-arg içeren deneme gruplarına ayrılmıştır. Her bir grup 3 tekrardan oluşmuştur. Üç yapraklı aşamaya gelen mısır fidelerine uygulamalar yapılmış ve 3 gün boyunca büyütülmüştür. Sürenin sonunda hasat edilen yapraklar $-80^\circ C$ 'de saklanmıştır.

Hidrojen Peroksit ve Malondialdehit İçeriğinin Belirlenmesi

Hasat edilen taze yaprak örneklerinden 0,5 g tartılarak %0,1 trikloroasetik asit ile homojenize edilmiş ve $4^\circ C$ 'de 15 dakika boyunca $12,000 \times g$ 'de santrifüj edilmiştir. Alınan süpernatant, 10 mM potasyum fosfat tamponu (pH = 7.0) ve 1 M potasyum iyodür ile karıştırılmış ve nanodrop spektrofotometre (Thermo, Multiskan Go) kullanılarak 390 nm dalga boyunda ölçülmüştür. H_2O_2 içeriği nmol/kg olarak hesaplanmıştır (Velikova ve ark., 2000). MDA içeriği ise Heath ve Packer (1968)'e göre sıcak asidik ortamda 2-tiyobarbitürik asit yöntemi ile belirlenmiştir. Örnekler 532 ve 600 nm absorban değerlerinde ölçülmüş ve nmol/kg olarak hesaplanmıştır.

Antioksidan Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

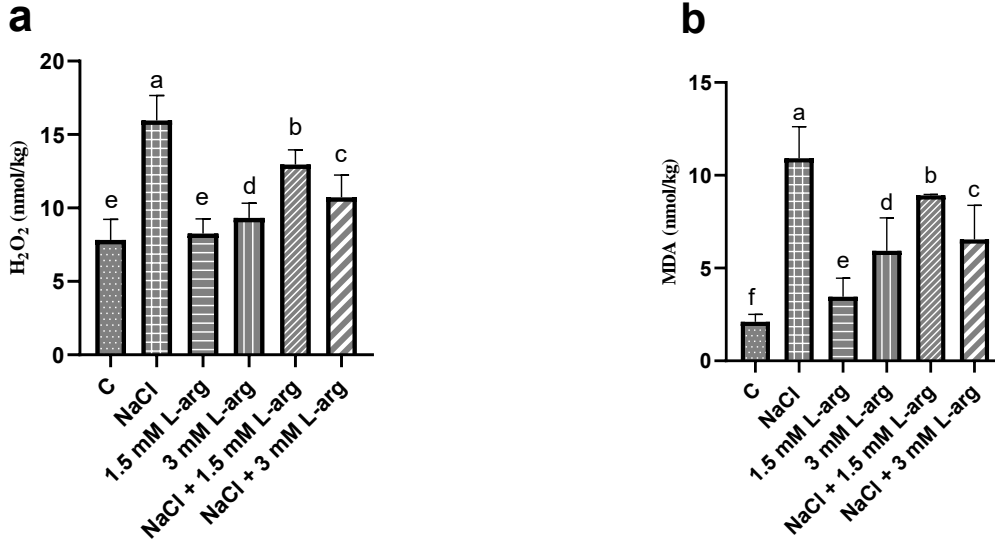
SOD enzim aktivitesi, Giannopolitis ve Ries (1977) metodolojisine göre nanodrop spektrofotometrede (Thermo, Multiskan Go) 560 nm'de NBT'nin (nitroblue tetrazolium) fotoinhibisyonu ölçülerek belirlenmiştir. Bir SOD birimi, NBT'nin fotoredüksiyonunun %50'sini inhibe etmek için gerekli olan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. POD enzim aktivitesi, Shams ve ark. (2019)'a göre guaiacolün 470 nm dalga boyunda okunması ile belirlenirken, APX enzim aktivitesi ise Murshed ve ark. (2008)'e göre askorbatın enzim ekstresindeki oksidasyonunun 290 nm'de kaydedilmesi ile belirlenmiştir.

RNA İzolasyonu, cDNA Sentezi ve Gen İfade Analizi

Toplam RNA, üretici protokolüne göre Trizol (Sigma, 93289) kullanılarak izole edilmiştir. RNA'nın saflığı nanodrop spektrofotometre ile 260 ve 280 nm dalga boylarında absorbanı ölçülerek kontrol edilmiş, ayrıca gDNA kontaminasyonunun varlığı %1,5 agaroz jel kullanılarak belirlenmiştir. cDNA sentezi için Maxima first strand cDNA Sentez Kiti (ThermoFisher, K1672, USA) kullanılmış ve elde edilen cDNA'lardan 10 kat seyreltme yapılmış, daha sonra qPCR işlemleri için her bir reaksiyon tüpüne 12,5 μL Maxima SYBR Green/ROX qPCR kiti (Thermo Scientific), 10 pM primer, 2 μL cDNA eklenmiş, toplam hacim steril su ile 25 μL 'ye tamamlanmıştır. Kullanılan primerlerin dizileri Cao ve ark. (2023)'e göre Çizelge 1'de verilmiştir. Her bir örnek için 3 tekrardan kullanılmıştır. Qiagen Rotor-Gene kullanılarak gerçekleştirilen qPCR işlemleri için sırasıyla $95^\circ C$ 'de 10 dakika, $95^\circ C$ 'de 15 saniye, $59^\circ C$ 'de 30 saniye ve $72^\circ C$ 'de 30 saniye (40 döngü) termal döngüye tabi tutulmuştur. Gen ifade seviyeleri, β -Aktin referans genine karşı normalize edilerek, karşılaştırmalı $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi ile Livak ve Schmittgen (2001)'e göre belirlenmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan genlere ait primer dizileri
Table 1. The primer sequences of the genes used in the study

	Forward (5'→3')	Reverse (5'→3')
ZmSOD	AGTTCGGTTCTGGATGGGTT	GGGTTGATGGCATTGAG
ZmPOD	GCCACTTTCCTCCGAGTCATA	CACTGTAATAAGGCCGGTTGTG
ZmAPX	CAAAGAGCGGTCTGGTTT	AAGTTCCTTGAAGTAAGAGTTGT
Zm Actin	GTTTCCTGGGATTGCCGAT	TCTGCTGCTGAAAAGTGCTGAG



Şekil 1. NaCl ve L-arg uygulamalarının H₂O₂ (a) ve MDA (b) içeriklerine etkisi
Figure 1. Effect of NaCl and L-arg treatments on H₂O₂ (a) and MDA (b) contents

İstatistiksel Analizler

Tüm analizler, SPSS 20.0 yazılımı (IBM, Armonk, NY, ABD) kullanılarak varyans analizi (ANOVA) yöntemine tabi tutulmuş ve elde edilen değerler, önem düzeyi P < 0.01 olan LSD (en az anlamlı fark) testi kullanılarak ayrıntılı bir şekilde karşılaştırılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

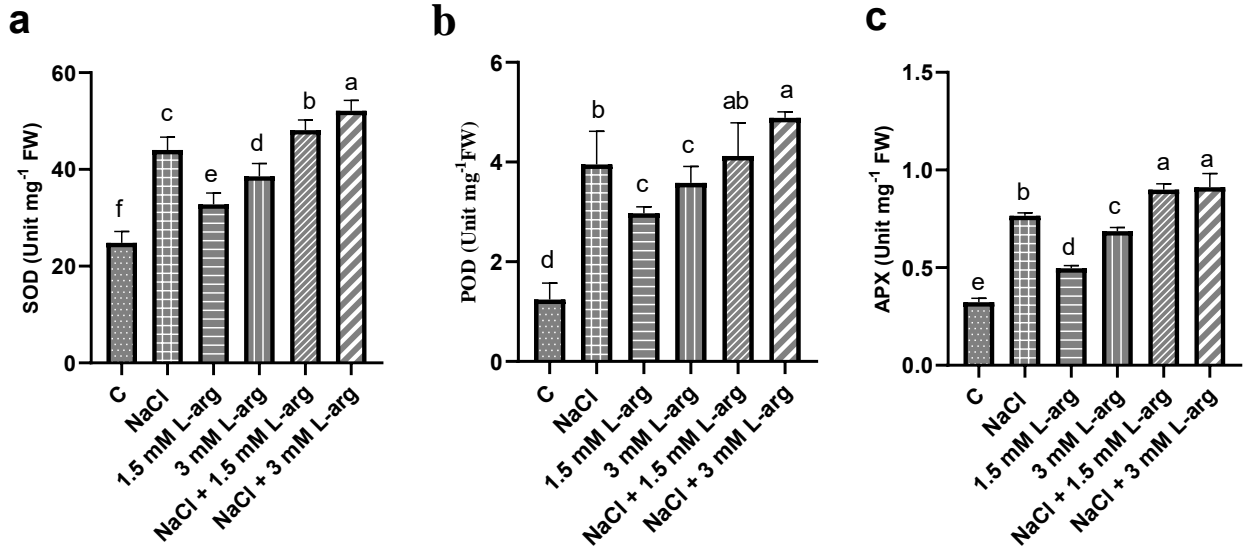
Çalışmamızda, NaCl uygulamasının H₂O₂ ve MDA içeriklerini kontrole kıyasla sırasıyla %15,96 ve %10,92 oranlarında arttırdığı gözlemlenmiştir (Şekil 1). Tuz stresinin bitkilerde ROT üretimi ve uzaklaştırılması arasındaki dengeyi bozduğu ve lipid peroksidasyonunu indüklediği bilinmektedir. Benzer şekilde, Ren ve ark. (2020), mısırda tuz stresi uygulaması ile H₂O₂ ve MDA seviyelerinin oldukça arttığını belirlemişlerdir.

Bunun yanı sıra bu araştırmada, 1,5 mM ve 3 mM L-arg uygulamalarının H₂O₂ ve MDA içeriklerini kontrole yakın değerlerde arttırdığı (sırasıyla %8,26, %9,33 ve %3,46, %5,93) tespit edilmiştir (Şekil 1). NaCl ile kombine L-arg uygulamalarında ise L-arg'nin H₂O₂ ve MDA seviyelerini azaltmada oldukça etkili olduğu, özellikle 3 mM L-arg'nin NaCl stresinin etkisini H₂O₂ ve MDA için sırasıyla %5,24 ve %4,38 oranlarında azalttığı belirlenmiştir (Şekil 1). Son çalışmalar arjininin tuz stresine maruz kalan bitkilerde koruyucu bir ajan olarak potansiyelini vurgulamaktadır. Sun ve ark. (2023), osmotik stres altında L-arg ile muamele edilen mısırda H₂O₂, O₂⁻ ve MDA içeriklerinin azaldığını belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada, Malekzadeh ve ark. (2023), brokolide L-arg uygulaması ile MDA içeriğinin

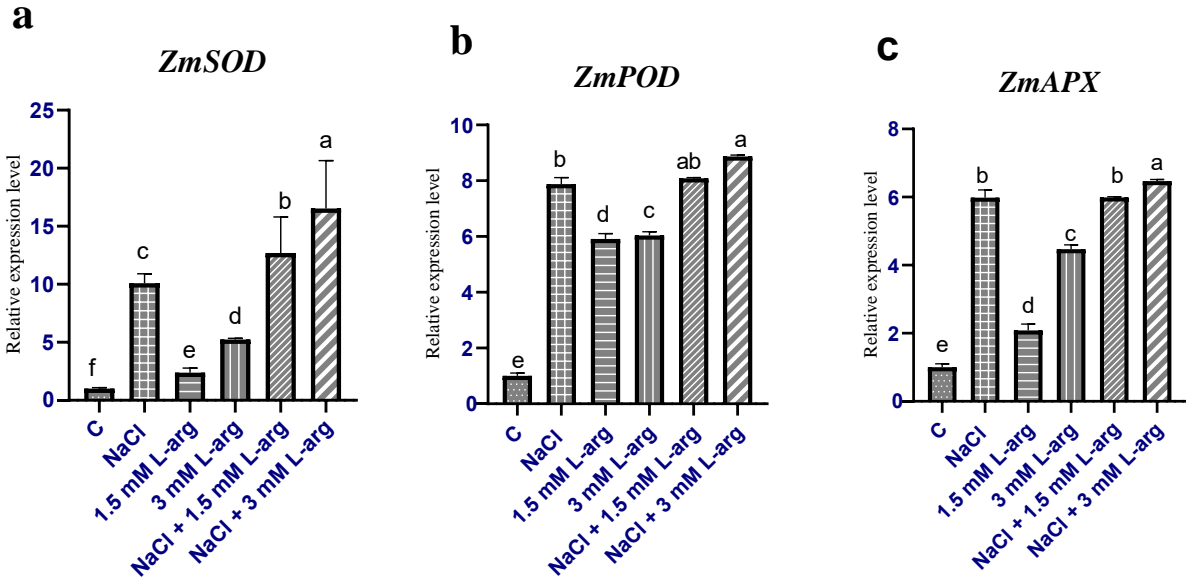
önemli ölçüde azaldığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamıza benzer şekilde, tuz stresine maruz kalan buğdayda yüksek dozda uygulanan arjininin MDA ve lipid peroksidasyonunu azaltarak oksidatif hasarı minimuma indirdiği tespit edilmiştir (Ragaey ve ark., 2022). Güçlü antioksidan özelliklere sahip bir amino asit olan arjinin, ROT'lara karşı bitki savunma mekanizmalarını güçlendirmede önemli bir rol oynamaktadır (Nasibi ve ark., 2020). Bu durum, arjininin bitkilerde tuz stresinin olumsuz etkilerini hafifletmeye yönelik stratejiler geliştirmek için umut verici bir yol olarak rolünü vurgulamaktadır.

Bitkilerde antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklikler oksidatif stresin bir sonucu olabilmektedir. Çalışmamızda, mısırda tuz stresinin SOD, POD ve APX aktiviteleri üzerindeki etkisi L-arg uygulamaları ile birlikte değerlendirilmiştir. Tuz stresi altındaki bitkilerin SOD (%44,03), POD (%3,95) ve APX (%0,766) aktiviteleri, kontrole kıyasla artmıştır (Şekil 2). Bulgularımıza benzer olarak, arpa (Noreen ve ark., 2021), mısır (Ahmad ve ark., 2021), biber (Shams ve ark., 2019), marul (Sardar ve ark., 2023) gibi birçok bitki çeşidinde tuz stresi uygulamasının antioksidan enzim içeriklerini arttırdığı kanıtlanmıştır.

Antioksidan enzim aktivitelerindeki yüksek artış, stres ile birlikte miktarları artan ROT'ların uzaklaştırılmasını hızlandırmakta, böylece membran hasarları ve oksidatif stres azalarak oksidatif strese karşı tolerans artmaktadır. Bununla birlikte, çalışmamızda tek başına L-arg uygulamalarında doz artışına bağlı olarak antioksidan enzim içeriklerinin arttığı belirlenmiştir. Bu artış, özellikle SOD aktivitesinde dikkat çekmekte olup, bu durum L-arg varlığında SOD enziminin daha yüksek etkinliğini göstermektedir (Şekil 2).



Şekil 2. NaCl ve L-arg uygulamalarının SOD (a), POD (b) ve APX (c) enzim aktivitelerine etkisi
Figure 2. Effect of NaCl and L-arg treatments on SOD (a), POD (b) and APX (c) enzyme activities



Şekil 3. NaCl ve L-arg uygulamalarının ZmSOD (a), ZmPOD (b) ve ZmAPX (c) genlerinin ifade seviyelerine etkisi
Figure 3. Effect of NaCl and L-arg treatments on ZmSOD (a), ZmPOD (b) and ZmAPX (c) gene expression levels

1,5 mM L-arg uygulamasında SOD aktivitesi kontrole kıyasla %7,94 artarken, 3 mM L-arg uygulamasında ise %13,72 oranında artmıştır. POD ve APX enzim aktivitelerinde ise SOD enzimine benzer bulgular elde edilmiştir. Her 3 enzim aktivitesi göz önüne alındığında kontrolde minimum değerler görülürken, NaCl + 3 mM L-arg uygulamasında ise en yüksek değerlere (SOD, POD ve APX için sırasıyla %52,14, %4,89 ve %0,912) ulaşılmıştır (Şekil 2). Eksojen arjinin ile muamele edilen mango meyveleri kontrole kıyasla yüksek antioksidan enzim aktivitesi göstermiştir (Pakkish ve Mohammadrezakhani, 2021). Çalışmamıza benzer şekilde arjinin ile birlikte tuz stresinin uygulandığı biberde SOD, POD, APX ve CAT enzim aktivitelerinde görülen artış tek başına arjinin uygulamasından çok daha yüksek olmuştur (Usman ve ark., 2023). Yine, ayçiçeğine uygulanan tuz stresini ve arjinin muamelesinin SOD, POD ve CAT enzim içeriklerinden en

çok SOD enzimini arttırdığı sonucuna varılmıştır (Ramadan ve ark., 2019).

Bununla birlikte çalışmamızda tuz stresini ve arjinin uygulamaları altında ZmSOD, ZmPOD ve ZmAPX gen ifade değişimleri antioksidan enzim değişimleri ile uyumluluk göstermiştir. NaCl uygulaması ile ZmSOD geninin ifadesi kontrole kıyasla 10,09-fold artarken, ZmPOD gen ifadesinde bu artış 7,88-fold, ZmAPX geninde ise 5,98-fold olmuştur (Şekil 3). Tek başına L-arg uygulamaları genlerin ifadesini artırırken, NaCl ile birlikte kombine L-arg uygulamaları ile en yüksek gen ifade seviyelerine ulaşılmıştır. NaCl + 3 mM L-arg uygulamasında kontrole kıyasla gen ifadeleri ZmSOD için 16,54-fold, ZmPOD için 8,87-fold, ZmAPX için ise 6,47-fold artış göstermiştir (Şekil 3). Benzer şekilde Cao ve ark. (2023), osmotik stres altındaki mısırdaki ZmSOD, ZmPOD, ZmAPX ve ZmCAT genlerinin ifadelerindeki artışın

antioksidan enzim aktivitelerindeki artış ile uyumluluk gösterdiğini ifade etmişlerdir. Yine, tuz stresine maruz kalan mısır çeşitlerinde *ZmSOD (Cu/Zn)*, *ZmSOD (Mn)*, *ZmSOD (Fe)*, *ZmPOD*, *ZmAPX* ve *ZmCAT* genlerinin ifadelerinin oldukça artış gösterdiği, en yüksek artışın *ZmSOD (Fe)* geninde görüldüğü tespit edilmiştir (Trevizan ve ark., 2019).

Nejadalimoradi ve ark. (2014), ayçiçeği üzerine yaptıkları çalışmada, tuz stresi altındaki bitkilerde arjininin koruyucu etkilerinin, doğrudan veya dolaylı olarak arjininden nitrik oksit salınımına bağlı olabileceğini açıklamışlardır. Normal koşullar altında bitkilerde oluşan toplam ROT miktarı, çoklu ROT üreten yollar arasındaki denge ve enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmanın bunlarla başa çıkma yeteneği tarafından kontrol edilmektedir. Stres koşulları altında aşırı ROT oluşumu ile bitkiler ROT'ları uzaklaştıramamakta ve oksidatif hasarlar meydana gelebilmektedir (Laspina ve ark., 2005). Bu durumda nitrik oksidin mitokondride antioksidan enzim üretim hızını arttırarak tuz toleransını indükleyen bir sinyal görevi gördüğü düşünülmektedir.

Sonuç

Tuz stresi ve L-arg uygulamaları altında lipid peroksidasyonu, SOD, POD ve APX enzim aktiviteleri ve *ZmSOD*, *ZmPOD* ve *ZmAPX* genlerinin ifadelerinin mısırdaki ilk kez belirlendiği bu çalışmada, L-arg'nin bitki savunma mekanizmasında yer alarak stres toleransını arttırmada rolünün olduğu ortaya çıkarılmıştır. L-arg, antioksidan savunmayı modüle ederek ve ROT'ları temizleyerek tuz stresinin olumsuz etkilerini azaltmada çok yönlü bir rol görmektedir. Bulgularımız bitkilerin tuz stresine karşı tepkilerini ve savunma mekanizmalarını yöneten moleküler mekanizmalara değerli bilgiler katmakta olup, L-arg'nin stres azaltıcı bir madde olarak kullanılması yoluyla tarımda sürdürülebilir uygulamaların geliştirilmesi için potansiyel bir kaynak sunmuştur.

Kaynaklar

Ahmad, S., Cui, W., Kamran, M., Ahmad, I., Meng, X., Wu, X., Su, W., Javed, T., El-Serehy E. A., Jia, Z., & Han, Q. (2021). Exogenous application of melatonin induces tolerance to salt stress by improving the photosynthetic efficiency and antioxidant defense system of maize seedling. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40, 1270-1283. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10187-0>

Cao, L., Ma, C., Ye, F., Pang, Y., Wang, G., Fahim, A. M., & Lu, X. (2023). Genome-wide identification of NF-Y gene family in maize (*Zea mays* L.) and the positive role of ZmNF-YC12 in drought resistance and recovery ability. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1159955. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1159955>

Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., & Mittler, R. (2016). Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant Journal*, 90, 856-867. <https://doi.org/10.1111/tbj.13299>

Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>

Golldack, D., Li, C., Mohan, H., & Probst, N. (2014). Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. *Frontiers in Plant Science*, 5, 151. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00151>

Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2022.109248>

Laspina, N. V., Groppa, M. D., Tomaro, M. L., & Benavides, M. P. (2005). Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Journal of Plant Science*, 169, 323-330. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.007>

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4), 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

Malekzadeh, P., Hatamnia, A. A., & Tiznado-Hernández, M. E. (2023). Arginine catabolism induced by exogenous arginine treatment reduces the loss of green color rate in broccoli florets. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 124, 101973. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.101973>

Moradbeygi, H., Jamei, R., Heidari, R., & Darvishzadeh, R. (2020). Investigating the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense by applying iron oxide nanoparticles in *Dracocephalum moldavica* L. plant under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 272, 109537. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109537>

Mostofal, M. G., Saegusa, D., Fujita, M., & Tran, L. S. (2015). Hydrogen sulfide regulates salt tolerance in rice by maintaining Na⁺/K⁺ balance, mineral homeostasis and oxidative metabolism under excessive salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 6, 662-676. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01055>

Murshed, R., Lopez-Lauri, F., Keller, C., Monnet, F., & Sallanon, H. (2008). Acclimation to drought stress enhances oxidative stress tolerance in *Solanum lycopersicum* L. fruits. *Plant Stress*, 2(2), 145-151.

Nasibi, F., Khodashenas, M., & Nasibi, N. (2020). Priming with L-arginine reduces oxidative damages in *Carthamus tinctorius* seedlings under the toxic levels of lead. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 10(2), 13-26. <https://doi.org/10.22034/JPPB.2020.13098>

Nejadalimoradi, H., Nasibi, F., Kalantari, K. M., & Zanganeh, R. (2014). Effect of seed priming with L-arginine and sodium nitroprusside on some physiological parameters and antioxidant enzymes of sunflower plants exposed to salt stress. *Agricultural Community*, 2(1), 23-30.

Noreen, S., Sultan, M., Akhter, M. S., Shah, K. H., Ummara, U., Manzoor, H., Ulfat, M., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2021). Foliar fertigation of ascorbic acid and zinc improves growth, antioxidant enzyme activity and harvest index in barley (*Hordeum vulgare* L.) grown under salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 158, 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.007>

Pakkish, Z., & Mohammadrezakhani, S. (2021). Quality characteristics and antioxidant activity of the mango (*Mangifera indica*) fruit under arginine treatment. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 11(1), 63-74. <https://doi.org/10.22034/JPPB.2021.13790>

Park, H. J., Kim, W. Y., & Yun, D. J. (2016). New insight of salt stress signaling in plant. *Molecules and Cells*, 39, 447-459. <https://doi.org/10.14348/molcells.2016.0083>

Park, H. J., Kim, W. Y., & Yun, D. J. (2013). A role for GIGANTEA. *Plant Signaling and Behaviour*, 8, e24820. <https://doi.org/10.4161/psb.24820>

Ragaey, M. M., Sadak, M. S., Dawood, M. F., Mousa, N. H., Hanafy, R. S., & Latef, A. A. H. A. (2022). Role of signaling molecules sodium nitroprusside and arginine in alleviating salt-induced oxidative stress in wheat. *Plants*, 11(14), 1786. <https://doi.org/10.3390/plants11141786>

Ramadan, A. A., Abd Elhamid, E. M., & Sadak, M. S. (2019). Comparative study for the effect of arginine and sodium nitroprusside on sunflower plants grown under salinity stress conditions. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0156-0>

- Ren, J., Ye, J., Yin, L., Li, G., Deng, X., & Wang, S. (2020). Exogenous melatonin improves salt tolerance by mitigating osmotic, ion, and oxidative stresses in maize seedlings. *Agronomy*, *10*(5), 663. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050663>
- Sardar, H., Khalid, Z., Ahsan, M., Naz, S., Nawaz, A., Ahmad, R., Razzak, K., Wabaidur, S. M., Jacquard, C., Siric, I., Kumar, P., & Abou Fayssal, S. (2023). Enhancement of salinity stress tolerance in lettuce (*Lactuca sativa* L.) via foliar application of nitric oxide. *Plants*, *12*(5), 1115. <https://doi.org/10.3390/plants12051115>
- Shams, M., Ekinci, M., Ors, S., Turan, M., Agar, G., Kul, R., & Yildirim, E. (2019). Nitric oxide mitigates salt stress effects of pepper seedlings by altering nutrient uptake, enzyme activity and osmolyte accumulation. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *25*, 1149-1161. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00692-2>
- Sofa, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., & Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Science*, *16*, 13561–13578. <https://doi.org/10.3390/ijms160613561>
- Sofy, A. R., Dawoud, R. A., Sofy, M. R., Mohamed, H. I., Hmed, A. A., & El-DougDoug, N. K. (2020). Improving regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants and stress-related gene stimulation in Cucumber mosaic cucumovirus-infected cucumber plants treated with glycine betaine, chitosan and combination. *Molecules*, *25*(10), 2341. <https://doi.org/10.3390/molecules25102341>
- Sun, M., Cao, Y., Xin, Y., Mu, X., Hao, Y., Yang, J., Niu, X., & Li, D. (2023). Effects of L-arginine and arginine-arginine dipeptide on amino acids uptake and α S1-casein synthesis in bovine mammary epithelial cells. *Journal of Animal Science*, *101*, skad339. <https://doi.org/10.1093/jas/skad339>
- Trevizan, C. B., Bonacina, C., Lourenceto, L., dos Santos, T. B., & de Souza, S. G. H. (2019). Salt stress in popcorn genotypes trigger changes of antioxidant enzymes. *Australian Journal of Crop Science*, *13*(10), 1607-1616. <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.10.p1830>
- Usman, S., Yaseen, G., Noreen, Z., Rizwan, M., Noor, H., & Elansary, H. O. (2023). Melatonin and arginine combined supplementation alleviate salt stress through physiochemical adjustments and improved antioxidant enzymes activity in *Capsicum annuum* L. *Scientia Horticulturae*, *321*, 112270. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112270>
- Van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. (2020). Salt tolerance mechanisms of plants. *Annual Reviews of Plant Biology*, *71*, 403–433. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005>
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. J. P. S. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, *151*(1), 59-66. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(99)00197-1)
- Yetişsin, F., & Karakaya, A. (2022). Tuz stresi altındaki mısır fidelerine aseton o-(4 klorofenilsülfonil) oksim ön uygulamasının biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin araştırılması. *Artvin Çoruh Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi*, *23*(1), 74-83. <https://doi.org/10.17474/artvinofd.980327>
- Zhang, S., Jiang, H., Peng, S., Korpelainen, H., & Li, C. (2011). Sex-related differences in morphological, physiological and ultrastructural responses of *Populus cathayana* to chilling. *Journal of Experimental Botany*, *62*(2), 675–686. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq306>