

AKÜ FEMÜBİD 15 (2015) 031002 (18-27)
DOI: 10.5578/fmbd.10187

AKU J. Sci. Eng. 15 (2015) 031002 (18-27)

Araştırma Makalesi / Research Article

24-Epibrassinolid Ön Uygulaması Yapılmış Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Tohumlarının NaCl Stresi Koşullarında Çimlenmesi ve Fide Gelişimi

Emel YILMAZ GÖKDOĞAN*, Betül BÜRÜN

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla.

*e-posta: emelyilmaz@mu.edu.tr

Geliş Tarihi: 15.06.2015; Kabul Tarihi: 03.09.2015

Özet

Bu çalışmada, NaCl stresine karşı tohuma kısa süreli dışsal 24-epibrassinolid (24-epiBL) ön uygulamasının etkisi, domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) M-28 hibrit çeşidinde araştırılmıştır. Yüzey sterilizasyonundan sonra tohumlar, farklı konsantrasyonlarda (0, 0.5, 1, 1.5 ve 2 µM) 24-epiBL çözeltilerine 10-15 saniye batırılıp çıkarılmıştır. Tohumlar, artan NaCl konsantrasyonlarını (0, 20, 40 60, 80 ve 100 mM) içeren ½ Murashige-Skoog (MS) ortamına alınmış ve 17 gün sonunda NaCl stresine karşı 24-epiBL ön uygulamasının etkisi tohum çimlenmesi, fide gelişimi ve fotosentetik pigment içerikleri değerlendirilerek belirlenmiştir. Tohum çimlenme yüzdesi, fide taze ağırlığı, fide kuru ağırlığı, fidelerin ortalama yaprak sayısı ve köklenme NaCl'den olumsuz etkilenmiştir. Buna karşılık belirli NaCl konsantrasyonlarında tohuma kısa süreli 24-epiBL ön uygulaması ile bu parametrelerde iyileşme gözlenmiştir. Klorofil a ve karotenoid içeriği 80 mM NaCl konsantrasyonuna kadar artış göstermiş oysa, yüksek NaCl konsantrasyonunda (100 mM) genel olarak azalmıştır. 24-epiBL ön uygulamaları ile pigment içeriklerinde artış sağlanmıştır. Sonuç olarak, M-28 hibrit domates çeşidinde fide gelişimi ve pigment içeriğine göre, tohuma kısa süreli 24-epiBL ön uygulamasının NaCl stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler

Domates;
Çimlenme;
Büyüme;
Klorofil;
NaCl Stresi;
24-Epibrassinolid

Development of Seedling and Germination of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Seeds Pre-applied 24-Epibrassinolide Under NaCl Stress Conditions

Abstract

In this study, the effect of pretreatment with short term exogenous 24-epibrassinolide (24-epiBL) on seed against NaCl stress in M-28 hybrid tomato cultivar (*Lycopersicon esculentum* Mill.) was investigated. After surface sterilization, seeds was soaking (10-15 seconds) in 24-epiBL solutions of different concentrations (0, 0.5, 1, 1.5 and 2 µM). Seeds were sowed to ½ Murashige-Skoog (MS) medium supplemented with increasing NaCl concentrations (0, 20, 40 60, 80 and 100 mM) and effect of pretraetment with 24-epiBL against NaCl stress was determined evaulating seed germination, seedling development and photosynthetic pigment contents of plants at the end of 17-days. Germination percentage of seeds, seedling fresh weight and dry weight, the average number of leaves per seedling and rooting were negatively affected by NaCl stress. Whereas these parameters were observed to improvement in pretreatment with short term 24-epiBL on seed in certain concentrations of NaCl. Chlorophyll a and carotenoid contents increased until the 80 mM NaCl concentration, whereas they generally decreased at the high salt concentration (100 mM). Pigment contents were increased by pretreatments with 24-epiBL. As a result pretreatment with short term 24-epiBL on seeds is determined to alleviate the deleterious effects of salt stress according to plant growth and pigment content at M-28 hybrid tomato cultivar.

Keywords:

Tomato;
Seed Germination;
Growth;
Chlorophyll;
NaCl Stress;
24-Epibrassinolide

1. Giriş

Toprak tuzluluğu, en önemli stres faktörlerinden biri olup kurak ve yarı kurak alanlarda verimliliği büyük ölçüde sınırlandırmaktadır (Ashraf and Harris 2004). Tuzlu koşullar, tohum çimlenmesi başta olmak üzere bitkilerin gelişimini ve polen canlılığını olumsuz etkilemektedir (Yaman et al. 2009). Tarımı yapılan pek çok kültür bitkisinde ve özellikle domateste çimlenme ve erken fide gelişimi çevresel streslere en duyarlı dönemler olarak kabul edilmektedir (Amini and Ehsanpour 2006). Dolayısı ile tuz stresinin derecesini ve bitki toleransını belirlemek üzere sözü edilen bu parametreler oldukça güvenilirdir (Yaman et al. 2009).

Domates, Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere dünya genelinde ekonomik olarak büyük öneme sahip tarımsal bir bitkidir (Amini and Ehsanpour 2005, 2006). Tuza orta derecede toleranslı olan domates (1.3 dS/m < doymuş toprak çözeltisinin elektriksel iletkenliği (EC) < 6 dS/m), toprak tuzluluğunun görüldüğü alanlarda yetiştirilmektedir (Yokaş et al. 2008).

Bitkiler ortamdaki yüksek tuz konsantrasyonlarına karşı canlılıklarını devam ettirebilmek için çeşitli stratejiler geliştirmektedirler (Parida and Das 2005). Bitkilerde tuz toleransı, çeşitli morfolojik ve biyokimyasal prosesleri gerektiren kompleks bir süreçtir (Turhan ve Şeniz 2010). Son yıllarda bitkilerde tuz toleransı mekanizmaları üzerine oldukça yoğun çalışmalar yapılmaktadır ve toleransı arttırmak amacı ile çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı ön plana çıkmıştır (Javid et al. 2011). Kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinden biri olan brassinosteroidler (BR), çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı bitki toleransının artırılmasında önemli rol oynamaktadırlar. Stres koşullarında verimliliği arttırmak amacı ile BR'lerin tarımsal uygulamaları, tohumu ıslatma, yaprakdan spreyleme ve köklerin geliştiği ortama ilave şeklinde yapılabilmektedir (Ashraf et al. 2010). Çeltikte (Anuradha and Rao

2001, 2003; Nunez et al. 2003; Özdemir et al. 2004), turpta (Çavuşoğlu ve Kabar 2007) ve buğdayda (Shahbaz and Ashraf 2007; Ali et al. 2008) tuz stresine karşı BR'lerin tohum çimlenmesi ve bitki gelişimini iyileştirdiği ve antioksidan enzim aktivitesinin artışı gibi çeşitli biyokimyasal prosesleri indükleyerek bitkilerin tuz toleransını arttırdığı belirtilmektedir.

Tuza toleransı arttırmak üzere kullanılan bitki türüne bağlı olarak BR'lerin uygulama konsantrasyonu ve süresinin belirlenmesi büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle çalışmamızın amacı, NaCl stresi koşullarında kısa süreli dışsal 24-epiBL ön uygulamasının domates M-28 hibrit çeşidinde tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerindeki etkisini araştırmaktır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal: Çalışmada, domates M-28 hibrit çeşidine ait tohumlar, Agrotek Tohumculuk Tarım Sanayi ve Ticaret Ltd. Şirketi'nden temin edilmiştir.

2.2. Tohumların Yüzeysel Sterilizasyonu: Tohumlar, %2.25 NaOCl'de (%50 sulandırılmış ticari klorak) 5 dakika bekletildikten sonra 3 kez steril distile sudan geçirilmiştir (Yokaş et al. 2008).

2.3. Tohumlara 24-EpiBL Ön Uygulaması ve Kültüre Alma: Yüzeysel sterilizasyonu yapılan tohumlar, %70'lik asetonla hazırlanan 0.5, 1, 1.5 ve 2 µM konsantrasyonlarda 24-epibrassinolid (24-epiBL, SİGMA E1641) çözeltilerine batırılıp çıkarılarak (10-15 saniye) ön uygulama yapılmıştır. Kontrolde ise tohumlar sadece %70'lik asetonla muamele edilmiştir. Ön uygulamalı tohumlar, pH 5.8'e ayarlanmış, 20 g/L sükröz ve 7 g/L agar ilaveli ½ Murashige-Skoog (½ MS) (1962) ortamında kültüre alınmıştır. Tuz stresi için NaCl tuzu kullanılmış ve yarı katı ½ MS ortamına 20, 40, 60, 80 ve 100 mM NaCl ilave edilmiştir.

2.4. Kültür Koşulları: Kültür kapları, 16:8 saat ışık-karanlık fotoperiyotta, 25°C±2 sıcaklıkta, 45 µmol/m²/s foton akış yoğunluğundaki kültür odasında 17 gün tutulmuşlardır. Bu süre sonunda tohum çimlenme yüzdesi, fidelerin gelişimleri [fide uzunluğu (cm/fide), fide taze ağırlığı (mg/fide), fide kuru ağırlığı (mg/fide), yaprak sayısı (adet/fide), kök uzunluğu (cm/fide), kök taze ağırlığı (mg/fide), kök kuru ağırlığı (mg/fide)] ve fotosentetik pigment içerikleri [klorofil a (µg/ml), klorofil b (µg/ml) ve karotenoid (µg/ml)] belirlenmiştir.

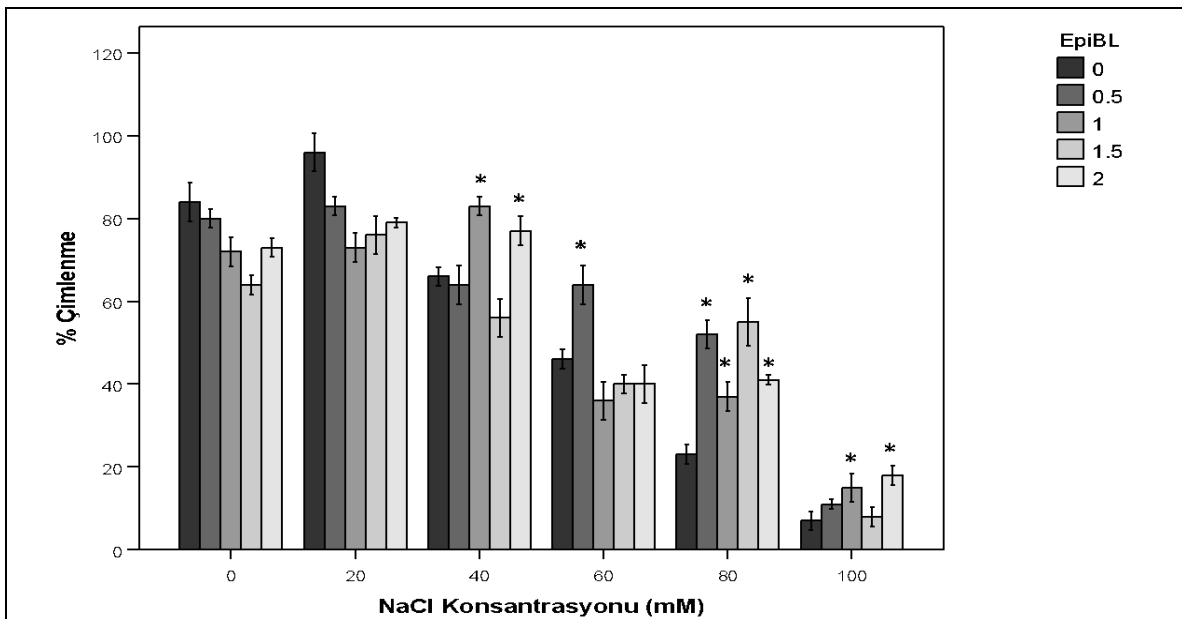
2.5. Kuru Ağırlığın Belirlenmesi: Fidelerin sürgün ve kök örnekleri etüvde 48 saat 70°C'de bekletildikten sonra tartılmış ve kuru ağırlıkları alınmıştır (Yakıt ve Tuna 2006).

2.6. Fotosentetik Pigment İçeriğinin Belirlenmesi: Fidelerin 0.05 g yaprak örnekleri %80'lik aseton ile havanda ezilmiştir. Süzüntü filtre kağıdından geçirilmiş ve ekstrakt 4730 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant başka tüpe alındıktan sonra üzeri %80'lik aseton ile tamamlanmıştır ve okuma 450, 645 ve 663 nm dalga boylarında yapılmıştır (Strain and Svec 1966).

2.7. Verilerin Değerlendirilmesi: Çimlenme ve fide gelişimi ile ilgili veriler, SPSS 14.0 istatistik paket programında değerlendirilmiş ve ortalamalar arasındaki önemli düzeydeki (P≤0.05) farklılıklar One-way Anova ve non-parametrik testler kullanılarak belirlenmiştir.

3. Bulgular

Tohumların kültüre alınmasından 17 gün sonraki çimlenme yüzdelere göre 24-epiBL ön uygulaması yapılmayan tohumların 20 mM NaCl koşullarında çimlenme en yüksek (%96) iken, 100 mM NaCl koşullarında ise en düşük belirlenmiştir (%7). Tuz stresine karşı kullanılan 24-epiBL'in etkisini değerlendirdiğimizde; 40 mM NaCl'lü ortamda 1 ve 2 µM 24-epiBL; 60 mM NaCl'lü ortamda 0.5 µM 24-epiBL; 80 mM NaCl'lü ortamda tüm 24-epiBL ve 100 mM NaCl'lü ortamda 1 ve 2 µM 24-epiBL çimlenme yüzdesini arttırmış ve bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P≤0.05) (Şekil 1). Çalışmamızda tohumun kısa süreli olarak 24-epiBL'le ön uygulamasında genel olarak 1 ve 2 µM konsantrasyonları çimlenme üzerine etkili bulunmuştur. Sonuç olarak tuz stresi koşullarında azalan çimlenme yüzdesi, 24-epiBL ön uygulaması ile artış göstermiştir.



Şekil 1. NaCl ilaveli ½MS ortamında 24-epiBL ön uygulamalı tohumların çimlenme yüzdeleri

Tohum çimlenmesinden sonra gelişim gösteren fidelerin uzunluğu artan NaCl stresi koşullarından olumsuz şekilde etkilenmiştir. NaCl stresine karşı kullanılan 24-epiBL'nin etkisi değerlendirildiğinde; tuzsuz ortamda (kontrol koşulları) 1 ve 1.5 μM 24-

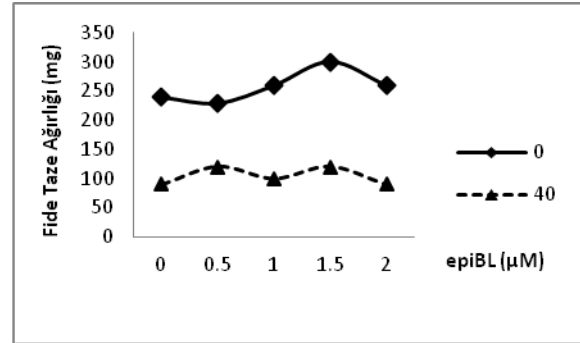
epiBL; 20 mM NaCl'de 1 ve 1.5 μM 24-epiBL; 40 mM NaCl'de 0.5 μM 24-epiBL ve 100 mM'lık NaCl konsantrasyonunda 2 μM 24-epiBL ön uygulaması fide uzunluğunu önemli derecede arttırmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. NaCl ilaveli ½ MS ortamında 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin uzunluğu

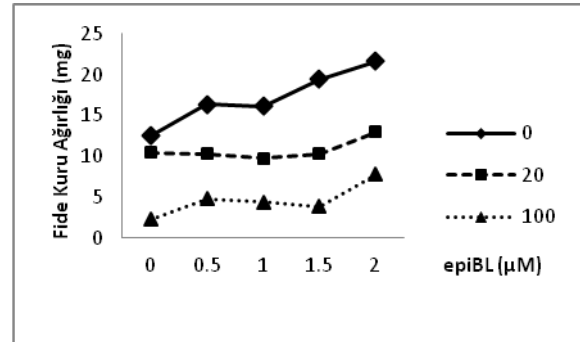
24-epiBL (μM)	NaCl (mM)					
	0	20	40	60	80	100
0	9.14±0.59 ^c	8.38±0.29 ^b	7.33±0.67 ^b	6.13±0.65 ^a	6.50±0.47 ^a	2.90±0.10 ^b
0.5	10.77±0.50 ^{bc}	8.75±0.24 ^b	9.42±0.75 ^a	6.42±0.56 ^a	5.33±0.39 ^a	3.63±0.17 ^b
1	11.69±0.78 ^{ab}	9.21±0.40 ^a	7.20±0.36 ^b	5.16±0.64 ^a	5.36±0.51 ^a	3.85±0.87 ^b
1.5	13.28±0.52 ^a	9.14±0.29 ^a	7.82±0.49 ^b	4.88±0.55 ^a	5.41±0.41 ^a	3.75±0.25 ^b
2	10.43±0.60 ^{bc}	8.61±0.33 ^b	6.29±0.35 ^b	5.41±0.69 ^a	5.51±0.40 ^a	5.90±0.33 ^a

Değerler, ortalama±standart hatadır. Aynı sütundaki değerler bakımından, harflendirmeler $P \leq 0.05$ 'de kontrole göre 24-epiBL ön uygulamaları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir.

Fidelerin taze ağırlığı NaCl stresi altında azalmıştır. 24-epiBL uygulanmamış fidelerin kontrol koşullarında 240 mg olan fide taze ağırlığı, 100 mM NaCl'de 20 mg'a inmiştir. Buna karşılık her bir NaCl konsantrasyonu için 24-epiBL ön uygulamasının etkisi değerlendirilmiş ve tuzsuz ortamda 1.5 ve 2 μM 24-epiBL ile 40 mM NaCl'de 0.5 ve 1.5 μM 24-epiBL'nin taze ağırlığı arttırıcı etkisi istatistiksel olarak önemli olmuş fakat, diğer NaCl konsantrasyonlarında 24-epiBL, istatistiksel olarak önemli bir fark oluşturmamıştır (Şekil 2). Fide kuru ağırlığı ise, 24-epiBL uygulamasızlarda kontrolden en yüksek NaCl konsantrasyonuna kadar 12.51 mg'dan 2.30 mg'a düşmüştür. Dolayısı ile kontrole göre 100 mM NaCl konsantrasyonu kuru ağırlıkta %82'lik azalmaya neden olmuştur. Kontrol koşullarında 1.5 ve 2 μM 24-epiBL ön uygulaması kuru ağırlıkta önemli seviyede artışa neden olmuştur ve bu artışın taze ağırlık sonuçları ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Buna ilaveten 2 μM 24-epiBL ön uygulaması 20 ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarında kuru ağırlıkta önemli artışa neden olmuştur (Şekil 3).



Şekil 2. Kontrol ve 40 mM NaCl'lü ortamlarda 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin taze ağırlıkları

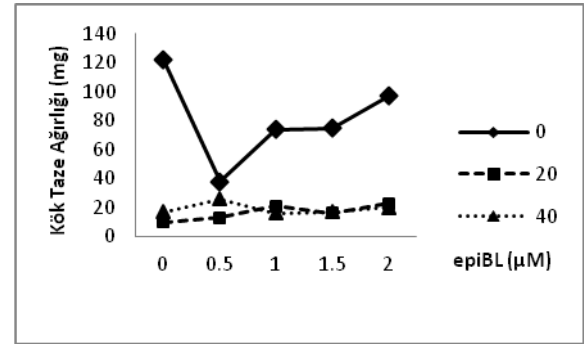


Şekil 3. Kontrol, 20 ve 100 mM NaCl'lü ortamlarda 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin kuru ağırlıkları

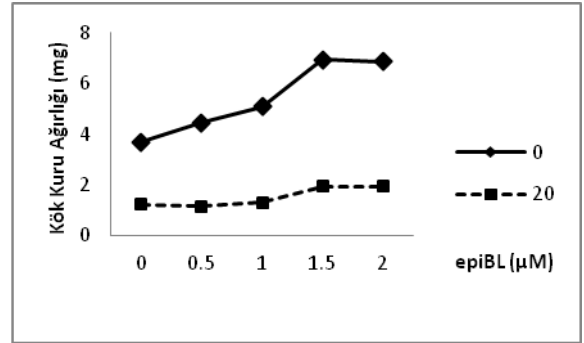
Artan tuz konsantrasyonu fidelerin yaprak sayısında da azalmaya neden olmuştur. Yaprak sayısı üzerine sadece 100 mM tuz dozunda, 1 ve 2 μ M 24-epiBL ön uygulaması istatistiksel önemli bulunmuştur.

Fidelerin sürgün gelişiminin yanı sıra kök gelişimi de tuz stresinden olumsuz etkilenmiştir. Kontrol koşullarında sadece 1.5 μ M 24-epiBL ve 20 mM NaCl'lü ortamda ise sadece 2 μ M 24-epiBL ön uygulamasının kök uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kök taze ağırlığı, kontrol koşullarında 24-epiBL ön uygulaması ile azalırken; tuz stresi altında artmıştır. 20 mM NaCl'de 1 μ M, 1.5 μ M ve 2 μ M 24-epiBL ve 40 mM NaCl'de 0.5 μ M 24-epiBL ön uygulamaları kök taze ağırlığında önemli artışa neden olmuştur. Diğer NaCl konsantrasyonlarında kısa süreli 24-epiBL ön uygulamasının etkileri önemsiz bulunmuştur (Şekil 4). Kök kuru ağırlığı üzerine ise sadece kontrol ve 20 mM NaCl içeren koşullarda 1.5 ve 2 μ M 24-epiBL'in etkisi istatistiksel olarak anlamlı olmuştur (Şekil 5).

Çalışmamızda, tohum çimlenmesi ve fide gelişiminin yanında 17 günlük fidelerin fotosentetik pigment içerikleri de belirlenmiştir. Ön uygulama yapılmamış tohumlardan gelişen fidelerde klorofil a içeriği kontrole göre 20, 40 ve 60 mM NaCl konsantrasyonlarında artmış, daha yüksek NaCl konsantrasyonlarda (80 ve 100 mM NaCl) ise azalmıştır. Kontrol koşullarında 1.5 ve 2 μ M 24-epiBL; 80 mM NaCl konsantrasyonunda tüm 24-epiBL ön uygulamaları ve 100 mM NaCl



Şekil 4. Kontrol, 20 ve 40 mM NaCl'lü ortamlarda 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin kök taze ağırlıkları



Şekil 5. Kontrol, 20 ve 40 mM NaCl'lü ortamlarda 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin kök kuru ağırlıkları

konsantrasyonunda ise 2 μ M 24-epiBL ön uygulamaları klorofil a içeriğinde önemli farklılıklara neden olmuştur (Çizelge 2). Kontrole göre artan NaCl konsantrasyonları klorofil b içeriğinde de artışa neden olmuştur. Sadece kontrol koşullarında 1.5 μ M 24-epiBL ön uygulamasının klorofil b içeriği üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Ancak NaCl stresi altındaki fidelerde 24-epiBL ön uygulaması klorofil b içeriğinde önemli farklılıklara neden olmamıştır (Çizelge 3).

Çizelge 2. NaCl ilaveli ½ MS ortamında 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin klorofil a içeriği (μ g/ml)

24-epiBL (μ M)	NaCl (mM)					
	0	20	40	60	80	100
0	7.24±0.76 ^{cd}	8.37±0.99 ^{ab}	8.25±0.65 ^a	8.87±0.27 ^a	7.14±0.33 ^b	5.53±0.13 ^b
0.5	5.81±0.63 ^d	8.52±0.92 ^{ab}	8.10±0.21 ^a	7.84±0.77 ^a	9.12±0.80 ^a	7.06±0.27 ^{ab}
1	8.52±0.41 ^{bc}	9.12±0.89 ^{ab}	7.92±0.36 ^a	7.53±0.20 ^a	9.15±0.57 ^a	6.66±1.15 ^{ab}
1.5	11.41±0.43 ^a	10.50±0.04 ^a	8.31±1.20 ^a	7.31±0.17 ^a	9.74±0.33 ^a	6.39±0.64 ^b
2	9.85±0.88 ^{ab}	6.98±0.78 ^b	7.54±0.65 ^a	9.77±1.83 ^a	8.82±0.17 ^a	8.65±0.46 ^a

Değerler, ortalama±standart hatadır. Aynı sütundaki değerler bakımından, harflendirmeler $P \leq 0.05$ 'de kontrole göre 24-epiBL ön uygulamaları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir.

Çizelge 3. NaCl ilaveli ½ MS ortamında 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin klorofil b içeriği (µg/ml)

24-epiBL (µM)	NaCl (mM)					
	0	20	40	60	80	100
0	1.44±0.42 ^b	2.94±0.41 ^{ab}	2.72±0.21 ^a	3.04±0.24 ^a	2.73±0.15 ^a	3.19±0.48 ^a
0.5	1.02±0.39 ^b	2.68±0.24 ^{ab}	2.78±0.08 ^a	2.55±0.31 ^{ab}	2.89±0.25 ^a	3.21±0.34 ^a
1	1.15±0.29 ^b	3.02±0.32 ^{ab}	2.86±0.05 ^a	1.74±0.27 ^b	2.69±0.14 ^a	2.21±0.38 ^a
1.5	2.67±0.01 ^a	3.44±0.05 ^a	3.09±0.28 ^a	2.49±0.16 ^{ab}	3.02±0.08 ^a	2.42±0.25 ^a
2	1.66±0.49 ^{ab}	2.24±0.34 ^b	2.84±0.08 ^a	3.06±0.63 ^a	3.50±0.44 ^a	3.16±0.09 ^a

Değerler, ortalama±standart hatadır. Aynı sütundaki değerler bakımından, harflendirmeler P≤0.05'de kontrole göre 24-epiBL ön uygulamaları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir.

24-EpiBL uygulamasız fidelerin toplam klorofil içeriği tuz stresi koşullarında artış göstermiştir. Kontrol koşullarında 1.5 µM 24-epiBL ön uygulaması ile 80 mM NaCl stresinde ise tüm konsantrasyonlardaki ön uygulamaların toplam klorofil içeriğini önemli seviyede arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4). Karotenoid içeriğinin,

kontrol koşullarında 1 µM, 1.5 µM ve 2 µM 24-epiBL ön uygulamaları ile artış göstermesi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bununla birlikte sadece 100 mM NaCl koşullarında tüm 24-epiBL ön uygulamaları karotenoid içeriğinde önemli artışa neden olmuştur (Çizelge 5).

Çizelge 4. NaCl ilaveli ½ MS ortamında 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin toplam klorofil içeriği (µg/ml)

24-epiBL (µM)	NaCl (mM)					
	0	20	40	60	80	100
0	8.63±1.18 ^{bc}	10.77±1.54 ^{ab}	10.98±0.87 ^a	11.89±0.51 ^a	9.33±0.04 ^b	8.78±0.33 ^{ab}
0.5	6.96±1.03 ^c	10.91±0.94 ^{ab}	10.89±0.22 ^a	10.49±1.09 ^{ab}	11.99±1.05 ^a	10.34±0.63 ^{ab}
1	9.54±0.42 ^{bc}	12.14±1.21 ^{ab}	10.79±0.39 ^a	7.39±1.23 ^b	11.68±0.68 ^a	8.78±1.50 ^{ab}
1.5	14.03±0.42 ^a	13.96±0.10 ^a	11.40±1.48 ^a	9.75±0.01 ^{ab}	12.54±0.38 ^a	8.56±0.84 ^b
2	11.63±1.17 ^{ab}	9.24±1.12 ^b	10.38±0.73 ^a	12.36±2.39 ^a	12.25±0.61 ^a	11.66±0.53 ^a

Değerler, ortalama±standart hatadır. Aynı sütundaki değerler bakımından, harflendirmeler P≤0.05'de kontrole göre 24-epiBL ön uygulamaları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir.

Çizelge 5. NaCl ilaveli ½ MS ortamında 24-epiBL ön uygulamalı tohumlardan gelişen fidelerin karotenoid içeriği (µg/ml)

24-epiBL (µM)	NaCl (mM)					
	0	20	40	60	80	100
0	1.50±0.14 ^b	1.74±0.22 ^{ab}	1.74±0.15 ^a	1.81±0.01 ^{ab}	1.78±0.09 ^a	0.77±0.23 ^b
0.5	1.48±0.03 ^b	1.70±0.12 ^{ab}	1.64±0.08 ^a	1.66±0.12 ^{ab}	1.96±0.17 ^a	1.44±0.01 ^a
1	2.11±0.15 ^a	1.19±0.23 ^{ab}	1.51±0.09 ^a	1.28±0.19 ^b	1.94±0.12 ^a	1.40±0.20 ^a
1.5	2.44±0.04 ^a	2.15±0.02 ^a	1.60±0.25 ^a	1.46±0.11 ^{ab}	2.02±0.04 ^a	1.31±0.13 ^a
2	2.17±0.19 ^a	1.45±0.16 ^b	1.32±0.19 ^a	1.90±0.29 ^a	1.72±0.07 ^a	1.83±0.13 ^a

Değerler, ortalama±standart hatadır. Aynı sütundaki değerler bakımından, harflendirmeler P≤0.05'de kontrole göre 24-epiBL ön uygulamaları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Çalışmamızda, genelde düşük konsantrasyondaki NaCl (20 mM), tohum çimlenmesini indüklerken (kontrolde %84 iken 20 mM NaCl'lü ortamda %96); 40 mM NaCl ve üzerindeki konsantrasyonlar

çimlenme yüzdesini kademeli olarak azaltmıştır. Yarı katı ve sıvı kültürlerde kontrole göre 50 mM NaCl'ün aynı domates çeşidinde çimlenme oranını arttırdığı, 100 mM NaCl'ün çimlenmede azalmaya neden olduğu ve 150 mM NaCl 'ün çimlenmeyi

engellediği bildirilmiştir (Yılmaz ve Bürün, 2014). Buna karşılık Doğan et al. (2008), *L. esculentum*, *L. pennellii*, *L. peruvianum*, *L. hirsutum* türlerine ait çimlenme testlerinde tuz stresinin tohum çimlenmesini olumsuz etkilediğini belirterek tuz toleransı yüksek olan yabancı *L. peruvianum* tohumlarının çimlenme yüzdesini 150 mM NaCl dozunda %65 (kontrolde %95); *L. hirsutum*'da %69 (kontrolde %98); *L. pennellii* türünde ise %64 (kontrolde %93) olduğunu belirlemişlerdir. *L. esculentum* TR-61697 genotipinde ise kontrolden en yüksek NaCl dozuna (150 mM) doğru çimlenmenin %98'den %58'e düştüğünü belirtmişlerdir. Turhan ve Şeniz (2010), 33 domates çeşidinde kontrole göre 8 ve 16 dS/m NaCl (yaklaşık 60 ve 120 mM NaCl) dozlarında çimlenmenin azaldığını belirtmişlerdir. Amini ve Ehsanpour (2006), farklı domates çeşitlerinde (Isfahani, Shirazy, Khozestani ve Khorasani) tohum çimlenmesinin kontrolde yüksek olduğunu (%70-100), 40 mM tuzda çimlenmenin düştüğünü (%40-100) ve 80, 120 ve 160 mM tuz dozlarında çimlenmenin olumsuz etkilendiğini (%0-40) belirterek Shirazy'nin en toleranslı çeşit olduğunu ifade etmişlerdir. Yapılan tüm bu çalışmaların sonucunda tuz stresi altında tohum çimlenmesinin bitki türü, bitki çeşidi ve genotipine bağlı olarak farklılık gösterdiği açık şekilde görülmüştür.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, tuz stresine karşı tohum çimlenmesini ve fide gelişimini arttıracak ve bitki tolerans mekanizmalarını devreye sokacak farklı kimyasal maddelerin kullanımı ön plana çıkmıştır. Bitkilerde abiyotik stres faktörlerine ve özellikle tuz stresine karşı bitki toleransını geliştirmek için BR'lerin kullanımı üzerine çalışmalar oldukça artmıştır. Çalışmamızda NaCl stresi altında %96'dan %7'ye düşüş gösteren tohum çimlenme yüzdesinin 24-epiBL ön uygulamaları ile iyileştiği belirlenmiştir. Anuradha ve Rao (2001), çeltik tohumlarını tuz stresine (150 mM NaCl) karşı 3 µM 24-epiBL ve 28-homoBL çözeltilerinde 24 saat bekletmişler ve çeltik tohumlarında kontrolde (0 mM NaCl ve 24-epiBL uygulamasız tohumlarda) 24 saat sonraki çimlenme yüzdesinin %66, 36 saat sonraki çimlenme yüzdesinin %95 olduğunu tespit

etmişlerdir. NaCl stresi altında çimlenme yüzdesini 24 saat sonra gözlemezken, 36 saat sonra %4 bulmuşlardır. 24-epiBL ön uygulaması ile çimlenme yüzdelilerinin 24 ve 36 saat sonra sırası ile %40 ve %78'e, 28-homoBL uygulaması ile %46 ve %88'e çıktığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak tuz stresi altındaki çeltik tohumlarındaki çimlenme, BR ön uygulamaları ile artmış ve strese karşı toleransı sağladığı ifade edilmiştir. Çavuşoğlu ve Kabar (2007), 0.25, 0.30, 0.35 M tuz stresine karşı 3 µM 24-epiBL ve diğer bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin turp tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisini araştırmışlardır. 0.25 ve 0.30 M tuz stresi altında 24-epiBL ile çimlenmenin arttığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, 0.35 M tuz konsantrasyonunda 24-epiBL'nin tek başına ve diğer büyüme düzenleyicileri ile kombinasyonlarının etkisini araştırmışlar ve stres koşullarında 24-epiBL (3µM) + GA₃ (900 µM), 24-epiBL (3µM) + Kin (100 µM) ve 24-epiBL (3 µM) + kadaverin (bir poliamin çeşidi, 10µM) kombinasyonlarının istatistiksel olarak çimlenme yüzdesini arttırdığını belirlemişlerdir.

Çalışmamızda, çimlenmeyi takiben gelişim gösteren fidelerin uzunluğu tuzlu koşullardan olumsuz etkilenmiştir. Çolak et al. (2008) ve Keser et al. (2009) çalışmamıza benzer şekilde çimlenen tohumlardan gelişen domates fidelerinin hipokotil uzunluğunun artan tuz stresi altında azaldığını belirlemişlerdir. Smolik et al. (2011), artan tuz dozlarında (0-125 mM NaCl), *L. esculentum* Malinowy Ozarowski, Pokusa, Awizo F₁ çeşitleri ve yabancı *L. chmielewski* türüne ait fidelerin uzunluğunun azaldığını ve genotipin önemli olduğunu belirterek bu parametre bakımından Awizo F₁ çeşidinin en toleranslı çeşit olduğunu belirlemişlerdir. Anuradha ve Rao (2001), çeltik fidelerinde uzunluğun tuz stresi (150 mM) ile azaldığını buna karşılık 3 µM 24-epiBL ve 28-homoBL uygulamasının fide uzunluğunu arttırdığını ve böylelikle BR'lerin tuz stresine karşı çimlenme ve fide gelişimini iyileştirdiğini ifade etmişlerdir.

NaCl stresi bitki gelişiminde önemli bir parametre olan fide taze ağırlığında da önemli azalmalara

neden olmuş ve tohuma 24-epiBL ön uygulaması fide taze ağırlığında artış sağlamıştır. Benzer olarak bitki kuru ağırlığı da, 24-epiBL ön uygulamaları ile artış göstermiştir. Anuradha ve Rao (2001), Anuradha ve Rao (2003) ve Özdemir et al. (2004) çeltik üzerinde yaptıkları çalışmalarda, fide taze ağırlığının tuz stresinden olumsuz etkilendiğini ve kullanılan BR'lerin bu olumsuz etkiyi ortadan kaldırdığını gözlemişlerdir. Çavuşoğlu ve Kabar (2007), turp fidelerinin taze ağırlığı üzerine tuz stresinin olumsuz etkilerinin 24-epiBL ve 24-epiBL+Kin kombinasyonu ile iyileştirildiğini bildirmişlerdir.

Fide uzunluğuna benzer şekilde kök uzunluğu da tuz stresinden olumsuz etkilenmiştir. Smolik et al. (2011), yabancı domates çeşidinde kontrole göre 100 mM NaCl'ün kök uzunluğunu azalttığını, 125 mM NaCl'ün çok hafif arttırdığını gözlemişlerdir. *L. esculentum*'da Awizo F₁ çeşidi hariç yüksek tuz dozlarında kök uzunluğu artmış ve araştırmacılar kök uzunluğu üzerine genotipin, tuzluluğun ve genotip x tuzluluğun istatistiksel olarak önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Diğer taraftan, Özdemir et al. (2004), tuz stresi altındaki çeltik fidelerinde 24-epiBL'nin kök uzunluğu üzerine önemli bir etkisi olmadığını bildirmelerine karşın çalışmamızda, 20 mM NaCl stresine karşı 2 µM 24-epiBL ön uygulamasının kök uzunluğu üzerine olumlu etkileri belirlenmiştir.

Çalışmamızda tohum çimlenmesi ve fide gelişimi tuz stresinden olumsuz etkilenmiş ve 24-epiBL ön uygulamaları ile bazı NaCl konsantrasyonlarında (20, 40 ve 100 mM NaCl) olumlu ve iyileştirici etki gözlenmiştir. Tuz stresinin temel biyokimyasal parametrelerinden olan ve fotosentez etkinliği hakkında bilgi veren pigment içerikleri, çalışmamızda tuz stresi altında artış göstermiştir. Genel olarak pigment içeriği tuz stresi koşullarında azalma göstermektedir. Kuşvuran et al. (2008), farklı kavun genotiplerinde tuz stresinin klorofil içeriğini azalttığını ancak bazı genotiplerde içeriğin arttığını gözlemişlerdir. Bu durum, tuzlu koşullarda büyüyen bitkilerin yapraklarının küçük, renginin de koyu yeşil olması ile açıklanmıştır. Dölek (2009),

farklı karpuz genotiplerinde klorofil içeriklerinin tuz stresinden önemli düzeyde etkilendiğini ve 150 mM NaCl'de klorofilin daha konsantre hale gelmesi sebebi ile klorofil içeriğinin arttığını gözlemişlerdir. Bu durum, fotosentetik alanların küçülmesi, Kuşvuran et al. (2008)'nin de belirttiği gibi tuzlu koşullarda büyüyen bitkilerin küçük yapraklı ve koyu yeşil renkte olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Heidari et al. (2014), tuz stresi altındaki ayçiçeğinde klorofil içeriğinin artmasını bitkilerin yapraklarındaki kloroplast sayısının artması ile olabileceğini belirtmişlerdir. Baran ve Doğan (2014), soya fasulyesi fidelerinde 100 mM NaCl konsantrasyonuna kadar klorofil a içeriğinin arttığını, 150 mM'de ise azaldığını belirlemişlerdir. Buna karşılık, MS ortamında yetiştirilen 21 günlük Isfahani ve Shirazy domates çeşitlerinde (Amini ve Ehsanpour, 2006) ve ½ MS ortamında yetiştirilen 21 günlük *Trifolium alexandrinum* L. fidelerinde (Aly et al., 2012) klorofil a içeriğinin tuz stresine cevap olarak azaldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, fotosentetik etkinlikte önemli rolü olan klorofil içeriğindeki azalmayı, klorofil sentezinin azalması ya da degradasyonunun artmasına bağlamışlardır. Yokaş et al. (2008) domates Target NF₁ çeşidinde ve Akça ve Samsunlu (2012) cevizde artan tuz stresi koşullarında klorofil içeriğinin önemli seviyede azaldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, tuz stresi altında klorofil a içeriğindeki azalmanın iyon birikiminden veya stoma açılıp kapanmasındaki düzensizlikten kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca, klorofil içeriğindeki azalma, yaprakların hızlı gelişmesi ile de ilişkilendirilmiştir. Bunun yanı sıra stres şartlarında klorofili parçalayan klorofillaz enzimi aktivitesindeki artışın klorofil içeriğini azalttığı da belirtilmektedir (Yıldıztekin 2012). Sonuç olarak bu çalışmada domates M-28 hibrit çeşidinde NaCl stresinin tohum çimlenmesi, fide gelişimi ve fidelerin pigment içeriğini olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Buna karşılık tuz stresine karşı tohuma yapılan kısa süreli 24-epiBL ön uygulamasında özellikle 1 ve 2 µM konsantrasyonlarının sözü edilen parametreleri iyileştirdiği ve domatesin tuz toleransı üzerine olumlu etkisinin olabileceği belirlenmiştir.

Teşekkür

Bu çalışma, 24.7.2014 tarihinde kabul edilen doktora tezinin bir kısmını içermekte olup, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2011/17 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

Akça, Y. and Samsunlu, E., 2012. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline and nutrient accumulation, and K/Na ratio in walnut. *Pakistan Journal of Botany*, **44(5)**, 1513-1520.

Ali, Q., Athar, H-U-R. and Ashraf, M. 2008. Modulation of growth, photosynthetic capacity and water relations in salt stressed wheat plants by exogenously applied 24-epibrassinolide. *Plant Growth Regulation*, **56**, 107-116.

Aly, A.A., Khafaga, A.F. and Omar, G.N., 2012. Adverse effect of salt stress in egyptian clover (*Trifolium alexandrinum* L.) by asa application through some biochemical and RT-PCR markers. *Journal of Applied Phytotechnology in Environmental Sanitation*, **1(2)**, 91-102.

Amini, F. and Ehsanpour, A.A. 2005. Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na⁺/K⁺ changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under *in vitro* salt stress. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, **1(4)**, 204-208.

Amini, F. and Ehsanpour, A.A., 2006. Response of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to MS, water agar and salt stress in *in vitro* culture. *Asian Journal of Plant Science*, **9(1)**, 170-175.

Anuradha, S. and Rao, S.S.R., 2001. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regulation*, **33**, 151-153.

Anuradha, S. and Rao, S.S.R., 2003. Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa* L.) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity. *Plant Growth Regulation*, **40**, 29-32.

Ashraf, M. and Harris, P.J.C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, **166**, 3-16.

Ashraf, M., Akram, N.A., Arteca, R.N., Foolad, M.R., 2010. The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **29**,162-190.

Baran, A. and Doğan, M., 2014. Tuz stresi uygulanan soyada (*Glycine max* L.) salisilik asidin fizyolojik etkisi. *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **18(1)**, 78-84.

Çavuşoğlu, K. and Kabar, K., 2007. The effects of pretreatments of some plant growth regulators on germination and seedling growth of radish seeds under saline conditions. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **14**, 27-36.

Çolak, G., Keser, Ö., and Caner, N., 2008. *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Raphanus sativus* L. bitkilerinde çimlenme ve sonrası büyüme aşamalarında Na₂SO₄ tipi tuz stresinin etkileri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **24(1-2)**, 17 - 38.

Çolak, G., Keser, Ö. and Caner, N., 2011. The effects of NaCl, Na₂SO₄ and Na₂CO₃ type salt stress some macromorphological parameters about *Lycopersicon esculentum* (tomato) and *Raphanus sativus* (radish) which in first seedling growth period. *Biological Diversity and Conservation*, **4(2)**, 29-48.

Doğan, M., Avu, A., Can, E.N. and Aktan, A., 2008. Farklı domates tohumlarının çimlenmesi üzerine tuz stresinin etkisi. *SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, **3(2)**, 174-182.

Dölek, M.N., 2009. Değişik karpuz genotiplerinin tuz stresine tolerans düzeylerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Anabilim Dalı, Adana.

Heidari, A., Bandehagh, A. and Toorchi, M., 2014. Effects of NaCl stress on chlorophyll content and chlorophyll fluorescence in sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines. *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi*, **24(2)**, 111-120.

Javid, M.G., Sorooshzadeh, A., Moradi, F., Sanavy, S.A.M.M. and Allahdadi, I., 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Australian Journal of Crop Science*, **5(6)**, 726-734.

Keser, Ö., Çolak, G. and Caner, N., 2009. Tuza toleransı farklı iki kültür bitkisinde bazı fizyolojik ve

- makromorfolojik parametreler üzerine Na₂CO₃ tipi tuz stresi etkileri. *BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **11(2)**, 64-80.
- Kuşvuran, Ş., Yaşar, F., Abak, K. and Ellialtıoğlu, Ş., 2008. Tuz stresi altında yetiştirilen tuza tolerant ve duyarlı *Cucumis sp.*'nin bazı genotiplerinde lipid peroksidasyonu, klorofil ve iyon miktarlarında meydana gelen değişimler. *YYÜ Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, **18(1)**, 11-18.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, **15**, 473-497.
- Nunez, M., Mazzafera, P., Mazorra, L.M., Siqueira, W.J. and Zullo, M.A.T. 2003. Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. *Biologia Plantarum*, **47(1)**, 67-70.
- Öz, M. and Karasu, A., 2007. Pamuğun çimlenmesi ve erken fide gelişimi üzerine tuz stresinin etkisi. *UÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, **21(1)**, 9-21.
- Özdemir, F., Bor, M., Demiral, T. and Türkan, İ., 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Plant Growth Regulation*, **42**, 203-211.
- Parida, A.K. and Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **60**, 324-349.
- Shahbaz, M. and Ashraf, M. 2007. Influence of exogenous application of brassinosteroid on growth and mineral nutrients of wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline conditions. *Pakistan Journal of Botany*, **39(2)**, 513-522.
- Smolik, M., Kram, P., Krupa-Malkiewicz, M., Smolik, B. and Malinowska, K., 2011. Response of tomato genotypes to salinity stress assessed at the seedling stage. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, **14(4)**, 1-7.
- Strain, H.H. and Svec, W.A. 1966. *Extraction, separation, estimation and isolation of chlorophylls*, pp. 21-66, Bernon, V.P., Seely, G.R., (Eds), In the chlorophylls, Academic Pres, New York.
- Surgun, Y., Yılmaz, E., Çöl, B. and Bürün, B., 2012. Altıncı grup bitki hormonu: brassinosteroidler. *CBÜ Fen Bil Dergisi*, **8(1)**, 27-46.
- Turhan, A. ve Şeniz, V., 2010. Salt tolerance of some tomato genotypes grown in Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, **8(3&4)**, 332-339.
- Yakıt, S. ve Tuna, A.L. 2006. Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine Ca, Mg ve K'nın etkileri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **19(1)**, 59-67.
- Yaman, S.T., Çolak, G. and Caner, N., 2009. *Lycopersicon esculentum* Mill.'de bazı morfometrik parametreler üzerine Ca(NO₃)₂ ve MgSO₄ tuzluluğunun etkileri. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, **12 (1)**, 29-39.
- Yıldıztekin, M., 2012. Bazı bor bileşiklerinin ve yaygın kullanılan pestisitlerin domates bitkisinin (*L. esculentum*) fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla.
- Yılmaz, E. and Bürün, B., 2014. Domates (*Lycopersicon esculentum*) *in vitro* tohum kültürlerinde tuz stresine karşı 24-epibrassinolid uygulamasının etkileri. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran, Eskişehir.
- Yokaş, İ., Tuna, A.L., Bürün, B., Altunlu, H., Altan, F. and Kaya, C., 2008. Responses of the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant to exposure to different salt forms and rates. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **32**, 319-329.