



Araştırma Makalesi

L-Triptofan ve Melatonin'in Düşük ve Yüksek Sıcaklık Koşullarında Turp ve Ispanağın Tohum Çimlenme Performansına Etkileri

Fatih Hancı*, Harun Ünal, Ali Arslan

Erciyes Üniversitesi, Seyrani Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Kayseri

Geliş tarihi (Received): 27.05.2019

Kabul tarihi (Accepted): 12.07.2019

Anahtar kelimeler:

L-Triptofan, melatonin, çimlenme, turp, ıspanak

Özet. Bu çalışmanın amacı L-Triptofan ve Melatonin uygulamalarının farklı sıcaklık koşullarında turp ve ıspanak tohumlarının çimlenme özellikleri üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Farklı konsantrasyonlarda L-Triptofan (125, 250, 375 ppm) ve Melatonin (5, 10, 25 µM) ile muamele edilmiş tohumlar, optimum (21 °C), üşüme stresi (7 °C) ve yüksek sıcaklık (35 °C) koşullarında çimlenme testlerine tabi tutulmuştur. Distile su ile muamele edilmiş tohumlar kontrol olarak kabul edilmiştir. Denenen hormonlar, düşük sıcaklıkta (7 °C) turp tohumlarının ortalama çimlenme süresi, %50 çimlenme oranına ulaşma süresi ve taze ağırlık sonuçları üzerine önemli etkiler oluşturmuştur. Bu sıcaklık derecesinde, 10 µM melatonin uygulaması, ortalama çimlenme süresini ve tohumların %50 çimlenme oranına ulaşma süresini, hormon uygulanmamış tohumlara göre uzatmıştır. 125 ppm ve 250 ppm L-Triptofan uygulaması yaş ağırlık değerlerini artırmıştır. Ispanak tohumlarında düşük sıcaklık koşulunda (7 °C) hormon uygulamalarının en büyük etkisi %50 çimlenmeye ulaşmak için gerekli süre özelliğinde gözlenmiştir. L-Triptofan'ın 375 ppm dozu bu süreyi kontrole göre kısaltırken, 25 µM melatonin uygulaması ise uzatmıştır.

*Sorumlu yazar

fatihhanci@erciyes.edu.tr

Effects of L-Tryptophan and Melatonin on Seed Germination Performance of Radish and Spinach in Low and High Temperature Conditions

Keywords:

L-Tryptophan, melatonin, germination, radish, spinach

Abstract. The aim of this study was to evaluate the effects of L-Tryptophan and Melatonin treatments on germination of radish and spinach seeds under different temperature conditions. Treated with different concentrations of L-Tryptophan (125, 250, 375 ppm) and Melatonin (5, 10, 25 µM) seeds were subjected to germination tests at optimum (21 °C) chilling stress (7 °C) and high temperature (35 °C) conditions. Treated with distilled water seeds were considered as control. The tested hormones had significant effects on the average germination time; the time to reach 50% germination rate; and the fresh weight results of the radish seeds at low temperature (7 °C) condition. At this temperature, the treatment of 10 µM melatonin prolonged the mean germination time and the time to reach 50% germination rate of the seeds compared to the hormone untreated seeds. 125 ppm and 250 ppm L-Tryptophan treatments increased the fresh weight values. The greatest effect of the hormone treatment in spinach seeds was observed in the time to reach 50% germination rate at low temperature condition (7 °C). The 375 ppm dose of L-Tryptophan shortened this it as compared to the control, while 25 µM melatonin treatments prolonged this period.

GİRİŞ

Tohum çimlenmesi birçok bitki türünde yaşam döngüsünün ilk aşamasıdır. Bu dönem bitkilerin doğal koşullara karşı en hassas olduğu aşama olarak belirtilmektedir. Bu nedenle çimlenme dönemi, güçlü bir seleksiyon basamağı olarak da kabul edilebilmektedir (Donohue *et al.*, 2010). Tohum çimlenmesi sıcaklık, su kapsamı ve çevrede gazlar gibi çeşitli faktörlerle kuvvetli bir şekilde etkileşim halindedir (Benech-Arnold *et al.*, 2000). Sıcaklık ve su, enzim aktivitesini, hormonların sentezini, tohumun dormansisini ve depo besin maddelerinin yer değiştirmesini doğrudan etkileyen faktörlerdir (Copelvé and McDonald, 2012).

Dormant olmayan veya derin dormansi durumunda olmayan tohumlar, alt ve üst sınırı belli olan geniş bir sıcaklık aralığında çimlenebilir. Bu alt ve üst eşik değerlerin altında veya üstündeki sıcaklıklarda çimlenme gerçekleşmez. Ayrıca bu sınır değerler arasında kalan, optimum çimlenme sıcaklığı olarak isimlendirilen daha dar bir aralıkta en hızlı ve sağlıklı sonuçlar elde edilir. Bu üç sıcaklık değeri (maksimum, minimum ve optimum) "kardinal sıcaklıklar" olarak isimlendirilir ve çoğu durumda türe özgüdür (Batlla and Benech-Arnold, 2015; Dürr *et al.*, 2015).

Sıcaklıkla ilişkili diğer bir kavram da, "termal zaman" veya "ısı toplamı" dır. Termal zaman, bazı fizyolojik süreçleri tamamlamak için gerekli olan, belirli bir zaman biriminde geçirilmesi gereken sıcaklık değerleridir ve gün-derece (° Cd) cinsinden ifade edilir (Trudgill *et al.*, 2005).

Üretici koşullarında "ispanak tohumu" olarak isimlendirilen yapı aslında perisperm adı verilen canlı olmayan bir doku ile spiral olarak sarılmış embriyoya sahip bir meyvedir. Ispanak tohumlarına etki eden çeşitli dışsal ve içsel faktörler, çimlenmenin sekteye uğramasından veya dormansiden sorumlu olabilir (Katzman, 1999). Leskovar and Esensee (1999), Ispanak tohumlarında çimlenmenin 35°C'de tamamen durduğu bildirilmiştir. Heydecker *et al.*, (1969), ispanak tohumlarında yüksek sıcaklıkların embriyo solunum hızını ve metabolik ihtiyacı artırırken, suda çözülmüş oksijen miktarını azaltarak çimlenmeyi engelleyebileceğini bildirmiştir. Turp tohumlarının çimlenme sıcaklık değerleri ispanağa göre biraz daha geniştir. Lindgren and Browning, (2011) turp tohumlarının 4°C ile 35°C arasında çimlenebildiğini, ideal çimlenme sıcaklığının ise 27°C olduğunu bildirmiştir.

Melatonin (*N*-acetyl-5-methoxytryptamine) (MEL), bakterilerden memelilere kadar birçok farklı organizmada bulunan, yüksek orvea korunmuş bir moleküldür (Hardelvé *et al.*, 2011). 1990'lı yılların sonlarında vasküler bitkilerde de tanımlanmıştır. (Dubbels *et al.*, 1995; Hattori *et al.*, 1995). Serotonin ve melatonin, triptofvean türetilen 2 ana indolamindir. Triptofan seviyelerinin modülasyonu yoluyla oksin ve serotonin biyosentezinin kesin bir regülasyonu, stres sinyalleriyle ilişkilidir (Ramakrishna, 2011). MEL, yüksek sıcaklıklar, bakır toksititesi, tuzluluk ve kuraklık gibi çeşitli abiyotik streslere karşı bitki savunmasında önemli düzenleyici rollere sahiptir (Tan ve ark., 2012; Zhang *et al.*, 2015). Ayrıca antioksidan karakteri nedeniyle toksik serbest radikalleri temizleyerek hücreleri oksidatif / nitrosatif streslere karşı korumaktadır (Zhang and Zhang, 2014).

MEL' in antioksidan aktivitesi şu şekillerde olabilmektedir: (i) serbest radikalleri doğrudan temizlemesi, (ii) antioksidan enzimleri uyarması, (iii) diğer antioksidanların faaliyetlerini artırması, (iv) antioksidan enzimleri oksidatif hasara karşı koruması, (v) mitokondrial elektron taşıma zincirinin etkinliğini yükseltmesi (Wang *et al.*, 2012). Doğal bir elektron donörü olan MEL molekülü, özellikle hidrosil radikaline (OH) karşı yüksek çekim gücüne ve seçiciliğe sahip olması ve bunun yanında çeşitli reaksiyonlar sırasında oluşturulan birincil ve ikincil ürün radikallerin yok edilmesine katkıda bulunan temizleyici molekülleri üretme yeteneği sayesinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonunda oldukça etkilidir (Rosen *et al.*, 2006). MEL, triptofvean enzimatik dönüşüm yoluyla sentezlenmektedir. Doğal oksine benzer yapısal bölgelere sahiptir ve bu nedenle sentez bölgesinden uzak dokulara belirli bir mesafe boyunca taşınabilmektedir (Arnao and Hernveez-Luiz, 2006). Çeşitli çalışmalar optimal konsantrasyonlardaki dışsal MEL uygulamalarının *Arabidopsis*, *Triticum aestivum* L., *Capsicum annum* L., ve *Citrullus lunatus* L. gibi bazı türlerde soğuk toleransını artırabildiğini göstermiştir (Bajwa *et al.*, 2014; Shi and Chan, 2014; Turk ve ark., 2014; Korkmaz ve ark., 2017)

İlk olarak 1901 yılında İngiliz kimyager Frederick Gowllve Hopkins tarafından keşfedilen L-triptofan (3-indolylalanine) (L-tr), yalnızca bitkiler için değil, hayvanlar, insanlar ve bazı bakteriler için de esansiyel bir amino asittir (Frankenberger and Arshad, 1991). Bir indol halkası taşıyan L-tr, benzersiz bir amino asittir (Palego ve ark., 2016). Biyolojik olarak oksinin aktif bir öncül molekülüdür ve bu nedenle eksojen olarak uygulandığında bitki dokularındaki oksinin seviyesini artırır. L-tr uygulamasının çeşitli bitkilerin çimlenme ve büyüme performansındaki olumlu etkileri, çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiş olmasına rağmen (Antony *et al.*, 2017) bu alandaki çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin ve tohum ön uygulamalarının ispanak ve turp tohumlarındaki etkilerini araştıran çeşitli çalışmalar yayınlanmış olmasına rağmen, L-tr veya MEL uygulamalarının, bu türlerde stres koşulları altında çimlenme özellikleri üzerindeki rolünü araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle, bu

çalışmanın temel amacı, farklı L-tr ve MEL konsantrasyonlarının, düşük ve yüksek sıcaklık koşullarında, ispanak ve turp tohumlarının çimlenme parametreleri üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

MATERYAL VE METOT

Çalışma 2019 yılında Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi laboratuvarlarında yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak ispanak (*Spinacia oleraceae* L. cv. Matador) ve turp tohumları (*Raphanus sativus* L. cv. Kadirli) kullanılmıştır. Tohumlar, 20 saniye boyunca % 70 etanolde bekletilmiş, % 20 ticari Clorox (% 5.25 sodyum hipoklorit) ile 2 dakika boyunca aseptik koşullar altında sterilizasyona tabi tutulmuştur ardından distile su ile durulanmıştır. Çimlenme testleri, ISTA (1999) kurallarına göre tasarlanmıştır. Dezenfekte edilen tohumlar 20 mL hacmindeki 0 (distile su), 125, 250, 375 ppm L-triptofan (L-tr); ve 5, 10 ve 25 µM melatonin (MEL) çözeltilerinde, 20°C' de 24 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir (Karaca, 2013). Ardından tohumlar 2 dakika akan su altında durulanmış ve 4 saat boyunca kâğıt havlularda kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra, 50 adet tohum 5 mL distile su ile nemlendirilmiş iki tabaka filtre kâğıdı serili 10 cm ebatlarında petri kaplarına yerleştirilmiştir. Petri kapları çeşitli sıcaklıklarda (7°C, 21°C ve 35°C) ve karanlık koşullarda çimlenme dolabında bekletilmiştir. Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak düzenlenmiştir. Her ne kadar ISTA kurallarında çimlenme süreleri daha kısa belirtile de, özellikle düşük sıcaklığın çimlenme süresini uzatacağı varsayıldığından deneme 21 gün sürdürülmüştür. Çimlenmiş tohumlar (2 mm uzunluğunda radisil oluşturan) günlük sayılmış ve denemenin sonuna kadar muhafaza edilmiştir. Çalışmanın sonunda, L-tr ve MEL'in tohumların çimlenmesi üzerindeki etkilerini belirlemek için aşağıdaki denklemler kullanılmıştır (Li *et al.*, 2007; Mercedes *et al.*, 2007): verilmiştir.

$$F.Ç.O. = \text{Final çimlenme oranı (\%)} = (G / T) \times 100 \quad (1)$$

$$Ç\text{-indeksi} = \text{Çimlenme İndeksi} = (1. \text{ gün } F.Ç.O. / Dt1) + \dots + (n. \text{ Gün } F.Ç.O. / Dtn) \quad (2)$$

$$Ç\text{-50 (gün)} = \% 50 \text{ tohumun çimlenme süresi} \quad (3)$$

$$O.Ç.S. = \text{Ortalama çimlenme süresi (Gün)} = [(1. \text{ gün } G \times 1) + \dots + (N. \text{ Gün } G \times n)] / \text{Toplam } G \quad (4)$$

Formüllerdeki T toplam tohum sayısını; G sayım günündeki çimlenmiş tohumların sayısı; Gt sayımın yapıldığı gün sayısını belirtmektedir. Ortalamalar arasındaki farklılıkların önem düzeylerini belirleyebilmek amacıyla LSD karşılaştırma testi kullanılmıştır. Sonuçların istatistiksel analizi PAST3 yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Varyans analizi sonuçlarına göre, sıcaklığın etkisi ölçülen tüm parametreler için her iki türde de istatistiki açıdan önemlidir (Tablo 1). Bunun yanında hormon uygulamaları ve sıcaklık arasındaki ilişki, ispanak tohumlarının sadece %50 çimlenme oranına ulaşması için gerekli süre değerlerine, turp tohumların da ise %50 çimlenme oranına ulaşması için gerekli süre değerlerine ek olarak, ortalama çimlenme süresi, sürgün uzunluğu, sürgün taze ağırlığı parametrelerine de istatistiki olarak önemli etki ettiği anlaşılmıştır ($p < 0.01$).

Hormon çeşidi ve konsantrasyonu farketmeksizin 21 °C'de inkübe edilen turp tohumları %100 oranında çimlenmiştir (Çizelge 2). Ortam sıcaklığı 35 °C olduğunda bu oran % 90.48' e düşmüştür. Bu sıcaklık derecesinde en yüksek çimlenme oranı 5 µM MEL uygulamasından elde edilmiştir. 7 °C'de çimlenme oranları daha da düşmüş ve L-tr uygulamasıyla, kontrole göre daha düşük sonuçlar elde edilmiştir (%55.00). Turp tohumlarının çimlenme indeksi değerleri incelendiğinde, 21 °C ve 35 °C' de elde edilen sonuçlar arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz olduğu $p < 0.05$) anlaşılmaktadır. Ancak 7 °C' de bu değerler oldukça sert bir şekilde düştüğü görülmüştür (5.93). Değerlendirilen diğer parametrelerde, hormon uygulamaları ve sıcaklık interaksyonunun sonuçlara önemli derecede tesir ettiği anlaşıldığından, karşılaştırma her bir değer için ayrı ayrı yapılmıştır. Bu bağlamda, en uzun ortalama çimlenme süresi, 10 µM MEL uygulanmış ve 7 °C de bekletilmiş tohumlarda izlenmiştir. Bu sıcaklıkta, 10 µM MEL uygulaması dışındaki tüm hormon uygulamaları ve kontrol grubu birbirine yakın sonuçlar vermiştir. Genel olarak, çimlenme indeksi değerlerinde olduğu gibi, ortalama çimlenme süresi değerleri de sıcaklığın artışına paralel olarak kısalmıştır. Turp tohumlarının ortalama çimlenme süresi ile ilgili ilginç olan nokta, 21 ve 35 °C'de, L-tr 'in artan dozlarının, bu süreyi uzatması; MEL' in ise böyle bir etki göstermemesidir. Çimlenme sonrasında sürgün uzunluğu verileri incelendiğinde, 7 ve 35 °C'de elde edilen bulgular istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. 35°C' de bir miktar uzayan sürgünler sonrasında kurumuşlardır. 7 °C'de ise, uzamaları yaklaşık 2

cm'den sonra durmuştur. Sürgün ağırlıklarına ilişkin sonuçlar analiz edilirken, 35 °C' den elde edilen veriler dikkate alınmamıştır. Çünkü bu sıcaklık derecesinde oluşan kısımlar, maksimum uzunluklarına eriştiklerinde (< 2 cm) hızlı bir şekilde kurumaya başlamıştır. Bu nedenle tartımlar sadece 7 ve 21 °C'de çimlenen tohumlarda yapılmıştır. 7 °C'de çimlendirilen tohumların yaş ağırlıkları, 21°C' dekilerle göre genel olarak daha fazla olup, en yüksek değerler ise 125 ppm L-tr (26.31 mg) ve 250 ppm L-tr (26.62 mg) uygulamasından elde edilmiştir.

Çavuşoğlu (2006), yüksek sıcaklık stresinin, (38 °C) turp tohumlarının çimlenmesini ve fide büyümesini büyük ölçüde engellediğini bildirmiştir. Bakhshveeh and Gholamhossieni (2019), turp tohumlarının çimlenme sıcaklıklarıyla ilgili yaptıkları bir modelleme çalışmasında, kardinal sıcaklık değerlerini sırasıyla 9.64 °C, 21.30 °C ve 33.00°C olarak bulmuştur. Çalışmamızda elde edilen bulgular, bu sonuçlarla uyumlu bulunmuştur. Denenen 21 °C değeri, turp tohumları için en yüksek çimlenme oranını vermiş, artan veya azalan sıcaklıklar bu oranı düşürmüştür. Ancak Abdel *et al.*, (2016), yaptığı çalışmada, turp tohumlarının çimlenme oranları 5 °C, 15 °C, 25 °C, ve 35 °C'de birbirine oldukça yakın bulmuş ve %93'ün altına düşmemiştir. Bu nedenle, bizim çalışmamızda elde edilen bulgularla uyumsuzdur.

Çizelge 1. Varyans analizi sonuçları.

Table 1. Results of the variance analysis.

	SD	F Değerleri						
		F.Ç.O.	Ç-İndeks	Ç.50	O.Ç.S.	S.U.	T.A.	
Ispanak	Hormon	6	0.74	0.46	2.40*	0.28	1.71	30.31*
	Sıcaklık	3	270.27*	102.07*	201.50*	68.24*	466.15*	11.44*
	Hormon x Sıcaklık	18	0.39	0.40	2.237*	1.00	1.26	1.01
Turp	Hormon	6	0.92	1.71	11.96*	1.89*	3.20*	61.22*
	Sıcaklık	3	83.71*	952.11*	1086.51*	642.69*	501.06*	45.64*
	Hormon x Sıcaklık	18	0.84	1.48	17.27*	2.19*	3.77*	5.37*
Toplam	83							
Hata	56							

P <0,01, S.D: Serbestlik Derecesi, F.Ç.O.: Final çimlenme oranı, Ç-İndeks: Çimlenme indeksi; O.Ç.S.: Ortalama çimlenme süresi, Ç-50: 50% çimlenme oranına ulaşmak için gerekli süre; S.U.: Sürgün uzunluğu, T.A.: Taze ağırlık.

Ispanak tohumlarından elde edilen veriler incelendiğinde, sıcaklık artışının maksimum çimlenme oranına (%) negatif etki yaptığı, 7 °C'de %97.14 olan çimlenme oranının, 21 °C'de %76.67'ye, 35 °C'de ise %17.38'e düştüğü anlaşılmaktadır (Çizelge 3). 35 °C sıcaklık derecesinde, L-tr'in en düşük, MEL'in ise en yüksek dozu diğer hormon dozlarına göre daha yüksek sonuçlar vermiştir. Çimlenme indeksi değerlerinde ise en yüksek sonuç 21 °C'de elde edilmiştir (16.38). Ortam sıcaklığının artması çimlenme indeksi değerini oldukça düşürmüştür (4.09). Maksimum çimlenme oranına benzer şekilde, L-tr'in en düşük dozu 35 °C'de indeks değeri bakımından en büyük değeri vermiş ancak doz artışına bağlı olarak bu değer azalmıştır. Ispanak tohumlarının ortalama çimlenme süresi ile ilgili bulgularda, 21 °C ve 35 °C'de elde edilen sonuçlar arasında istatistiki açıdan fark bulunamamıştır. Sürgün uzunluğu değerlerine sıcaklığın etkisi, maksimum çimlenme oranı ve çimlenme indeksi değerleriyle paralel olmuştur. En yüksek değer 21 °C'de (7.95 cm), en düşük değer ise 35 °C'de (0.25 cm) elde edilmiştir. Tohumların %50 çimlenme oranına ulaşmaya kadar geçirdikleri süreler incelendiğinde sıcaklık ve hormon interaksiyonunun istatistiki açıdan önemli sonuçlar verdiği anlaşılmıştır (p<0.01). Bu özellik bakımından en yüksek değer 25 µM MEL uygulamasından elde edilmiştir (12.67 gün). Sadece 7°C ve 21°C' deki denemelerden elde edilen yaş ağırlık değerleri kıyaslandığında, düşük sıcaklık derecesinin daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür.

Atherton and Farooque, (1983) yürüttükleri bir çalışma sonunda ıspanak tohumlarının 5 °C ile 30 °C arasında çimlenebildiğini, ideal çimlenme sıcaklığının ise 20 °C olduğunu bildirmiştir. 25 °C'nin üzerindeki değerlerde çimlenme oranlarında ani düşüşler gözlenmiştir. Katzman *et al.*, (2001) dört farklı ıspanak çeşidi ile yaptıkları bir çalışmada, çeşitli ön uygulamaların 18 °C ve 30 °C'de çimlenme özelliklerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre, çeşitlere bağlı olarak değişik oranlarda artan sıcaklığın çimlenme oranını düşürdüğü anlaşılmıştır. Chitwood (2016) yapmış olduğu bir çalışmada, sekiz farklı ıspanak çeşidine ait tohumları, yedi farklı sıcaklık koşulunda çimlendirme testlerine tabi tutmuştur. Çalışma sonucunda, en yüksek çimlenme oranlarının 15 °C de elde edildiği (%89.9), 20 °C'den elde edilen oranın da istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı (%83.5) bildirilmiştir. 10 °C'de ve artan sıcaklık değerlerinde çimlenme oranlarının önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Bu sonuçlar, bizim çalışmamızdan elde edilen bulgularla uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 2. Turp tohumlarına ait sonuçlar.

Table 2. Results of radish seeds.

Sıcaklık	Hormon	F.Ç.O. (%)	Ç-İndeks	O.Ç.S.(gün)	S.U. (cm)	Ç-50 (gün)	T.A. (mg)
7	Kontrol	71.67	7.42	9.99 c	2.17 e	9.33 c	22.14 fg
	125 ppm L-tr	55.00	5.17	11.76 b	1.90 e	9.67 c	26.31 a
	250 ppm L-tr	55.00	6.60	11.22 bc	1.83 e	9.67 c	26.62 a
	375 ppm L-tr	55.00	4.76	12.25 b	1.60 e	11.33 b	22.95 ef
	5 µM MEL	70.00	6.35	12.07 b	2.07 e	11.67 ab	22.45 fg
	10 µM MEL	73.33	5.55	14.31 a	1.00 e	12.67 a	22.49 fg
	25 µM MEL	63.33	5.64	12.22 b	2.13 e	11.33 b	22.92 ef
	Ortalama	65.48 c	5.93 b	11.97	1.81	10.81	23.70
21	Kontrol	100.00	52.15	3.20 de	11.00 a	1.67 d	21.55 gh
	125 ppm L-tr	100.00	53.67	2.67 de	9.00 bc	2.00 d	24.48 cd
	250 ppm L-tr	100.00	51.09	3.23 d	8.00 cd	2.00 d	25.37 bc
	375 ppm L-tr	100.00	49.37	3.50 d	11.00 a	2.00 d	20.99 hi
	5 µM MEL	100.00	55.88	2.78 de	6.67 d	2.00 d	20.58 hi
	10 µM MEL	100.00	50.87	2.92 de	9.67 ab	2.33 d	20.20 i
	25 µM MEL	100.00	56.36	2.62 de	8.67 bc	2.00 d	23.91 de
	Ortalama	100 a	52.77 a	2.99	9.14	2.00	22.44
35	Kontrol	88.33	50.56	2.04 e	1.77 e	2.00 d	
	125 ppm L-tr	90.00	58.89	1.79 e	1.50 e	2.00 d	
	250 ppm L-tr	88.33	46.99	2.99 de	1.30 e	2.00 d	
	375 ppm L-tr	90.00	52.62	2.65 de	1.83 e	2.00 d	
	5 µM MEL	96.67	50.34	1.87 e	2.03 e	2.00 d	
	10 µM MEL	90.00	55.20	2.02 e	1.40 e	2.00 d	
	25 µM MEL	90.00	57.00	1.85 e	2.03 e	2.00 d	
	Ortalama	90.48 b	53.09 a	2.17	1.70	2.00	

L-tr: L-Triptofan MEL: Melatonin; F.Ç.O.: Final çimlenme oranı, Ç-İndeksi: Çimlenme indeksi; O.Ç.S.: Ortalama çimlenme süresi, Ç-50: 50% çimlenme oranına ulaşmak için gerekli süre; S.U.: Sürgün uzunluğu, T.A.: Taze ağırlık.

Yürütülen bu çalışmanın sonuçları, L-tr ve MEL ile yapılan tohum ön uygulamalarının farklı sıcaklıklarda turp ve ıspanak tohumlarının belli çimlenme özelliklerini etkileyebileceğini göstermiştir. Genel bir kuram olarak tohumların çimlenmesi düşük sıcaklıkta yavaşlamakta ve dolayısıyla çimlenme süresi uzamaktadır (Grime *et al.*,1981). Bu durumun, tohum kabuğundaki oksijen geçirgenliğinin azalması (Come and Tissaoui, 1973) veya sıcaklığın su alımı üzerindeki etkisi ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (Gulliver and Heydecker, 1973). Bunun yanında yüksek sıcaklığın çimlenmeyi engelleyip termodormansiye neden olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Hsiao, 1993; Bewley and Black, 1994; Carter and Stevens, 1998; Gonai *et al.*, 2004).

Bu çalışmada, turp ve ıspanak tohumlarının, farklı çimlenme sıcaklıklarında L-tr ve MEL konsantrasyonlarına farklı tepkileri olduğu anlaşılmıştır. Denenen hormonlar, düşük sıcaklıkta (7 °C) turp tohumlarının ortalama çimlenme süresi, %50 çimlenme oranına ulaşma süresi ve taze ağırlık verileri üzerine önemli etkiler doğurmuştur. Bu sıcaklık derecesinde, 10 µM MEL uygulaması, ortalama çimlenme süresini ve tohumların %50 çimlenme oranına ulaşma süresini hormon uygulanmamış tohumlara göre uzatmıştır. 125 ppm L-tr ve 250 ppm L-tr uygulaması ise yaş ağırlık üzerine olumlu etki yapmıştır. Bu bağlamda MEL ve L-tr uygulamalarının 7 °C'de turp tohumlarının çimlenme özelliklerine etkilerinin farklı yönde olduğu sonucuna varılmıştır. Yüksek sıcaklık koşullarında ise, hormon uygulamalarında elde edilen en belirgin sonuç, turp tohumlarına yapılan 250 ppm ve 375 ppm L-tr uygulamasının, ortalama çimlenme süresini uzatması şeklindedir.

Ispanak tohumlarında, düşük sıcaklık koşulunda (7 °C), hormon uygulamalarının en büyük etkisi %50 çimlenmeye ulaşmak için gerekli süre özelliğinde gözlenmiştir. 375 ppm L-tr uygulaması bu süreyi kontrole göre kısaltırken; 25 µM MEL uygulaması bu süreyi uzatmıştır.

Her ne kadar istatistiki analizlerde, hormon uygulamalarının maksimum çimlenme oranına etkileri arasındaki farklar önemsiz bulunsa da, bundan sonraki çalışmalarda, farklı dozların denenebilmesi açısından elde edilen bulgular karşılaştırılmıştır. Buna göre, turp tohumlarının düşük sıcaklık değerlerinde çimlenmesi aşamasında, L-tr uygulamalarının tamamı çimlenme oranına negatif yönde etki etki yapmıştır. MEL uygulamasında ise, ara doz (10

μM) kontrole göre çimlenme oranını bir nebze yükseltmiştir. Yüksek sıcaklık koşulunda ise ($35\text{ }^{\circ}\text{C}$) $5\text{ }\mu\text{M}$ MEL uygulamasının çimlenme oranını % 83.33'den % 96.67'ye yükseltmesi kayda değer bulunmuştur.

Genel olarak ıspanak tohumları düşük sıcaklıktan çimlenme oranı bakımından ciddi anlamda etkilenmemiştir. Hatta hiç hormon uygulanmamış tohumlarda, bu sıcaklıkta elde edilen maksimum çimlenme oranı (%96.67), $21\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye göre (%71.67) daha yüksektir. Ispanak tohumlarına yapılan hormon uygulamalarının maksimum çimlenme oranına en belirgin etkileri yüksek sıcaklık ($35\text{ }^{\circ}\text{C}$) koşullarında daha belirgindir. Ancak burada L-tr ile MEL dozları arasında zıt yönlü bir etki mevcuttur. $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, hormon uygulanmamış ıspanak tohumları %13.33 oranında çimlenirken, L-tr' in en düşük dozu (125 ppm), MEL' in ise en yüksek dozu ($10\text{ }\mu\text{M}$) bu değeri sırasıyla %26.67 ve %23.33'e çıkarmıştır.

Posmyk *et al.*, (2009), hıyar tohumlarında, soğuk stresi altında çimlenme özelliklerinin belirlenmesi amacıyla osmo ve hydropriming ile birlikte MEL uygulamışlardır. Hormon uygulanmamış tohumlar $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de ise sadece %4 oranında çimlenirken osmopriming sonrasında $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de çözeltiye ilave edilen $50\text{ }\mu\text{M}$ MEL sonrasında bu oranının %83'e ulaştığını bildirmişlerdir. Bajwa *et al.*, (2014), dış kaynaklı MEL' in, *Arabidopsis*' te soğuk stresine toleransı artırdığını bildirmiştir. Li *et al.*, (2017), karpuz bitkilerine yapraktan uygulanan MEL' in, üşüme stresine karşı pozitif etki yaptığını ayrıca bu etkinin hormon uygulanan bölge ile sınırlı kalmayarak bitkinin diğer aksamalarında da olumlu sonuçlar doğurduğunu bildirmiştir. Hormon uygulamalarının çimlenme özellikleri üzerine etkisi bitki türlerine bağlı olarak değişebilir. Tüm bu çalışmaların aksi yönünde birtakım çalışmalarda melatoninin tohum çimlenmesi üzerindeki etkisinin konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir. Hernveez-Ruiz *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2009; Wei *et al.*, 2015 yürüttükleri çalışmalar sonrasında yüksek melatonin konsantrasyonlarının, tohum çimlenme oranlarına etki etmediğini veya düşürdüğünü bildirmiştir.

Çizelge 3. Ispanak tohumlarına ait sonuçlar.

Table 3. Results of spinach seeds.

Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Hormon	F.Ç.O.(%)	Ç-İndeks	O.Ç.S.(gün)	S.U. (cm)	Ç.50 (gün)	T.A. (mg)
7	Kontrol	96.67	7.75	13.30	3.70	11.66 ab	21.09
	125 ppm L-tr	98.33	8.86	11.94	4.00	11.00 ab	24.92
	250 ppm L-tr	98.33	8.19	13.33	3.47	11.00 ab	26.37
	375 ppm L-tr	100.00	9.26	11.57	3.47	10.33 b	22.24
	$5\text{ }\mu\text{M}$ MEL	95.00	8.64	11.93	3.77	11.33 ab	22.15
	$10\text{ }\mu\text{M}$ MEL	96.67	8.11	13.04	3.53	11.33 ab	22.32
	$25\text{ }\mu\text{M}$ MEL	95.00	8.79	13.07	3.80	12.67 a	24.97
	Ortalama	97.14 a	8.51 b	12.59 a	3.68 b	11.33	23.44 a
21	Kontrol	71.67	17.58	5.79	8.33	5.33 d-f	20.72
	125 ppm L-tr	80.00	16.66	6.77	8.67	6.00 c-e	24.65
	250 ppm L-tr	80.00	15.99	6.77	6.33	6.00 c-e	25.06
	375 ppm L-tr	83.33	14.76	8.31	9.00	7.67 c	21.59
	$5\text{ }\mu\text{M}$ MEL	68.33	16.30	7.04	8.00	5.67 d-f	20.75
	$10\text{ }\mu\text{M}$ MEL	80.00	17.54	6.52	7.00	6.00 c-e	20.04
	$25\text{ }\mu\text{M}$ MEL	73.33	15.83	6.79	8.33	5.33 d-f	24.62
	Ortalama	76.67 b	16.38 a	6.86 b	7.95 a	6.00	22.49 b
35	Kontrol	13.33	2.75	5.53	0.23	2.67 g	
	125 ppm L-tr	26.67	6.52	4.27	0.23	4.00 fg	
	250 ppm L-tr	18.33	2.85	7.47	0.20	5.33 d-f	
	375 ppm L-tr	11.67	2.53	6.92	0.23	5.00 d-f	
	$5\text{ }\mu\text{M}$ MEL	11.67	4.72	1.97	0.30	2.67 g	
	$10\text{ }\mu\text{M}$ MEL	16.67	4.73	6.33	0.27	4.67 ef	
	$25\text{ }\mu\text{M}$ MEL	23.33	4.52	6.54	0.30	6.67 cd	
	Ortalama	17.38 c	4.09 c	5.58 b	0.25 c	4.43	

L-tr: L-Triptofan MEL: Melatonin; F.Ç.O.: Final çimlenme oranı, Ç-İndeksi: Çimlenme indeksi; O.Ç.S.: Ortalama çimlenme süresi, Ç-50: 50% çimlenme oranına ulaşmak için gerekli süre; S.U.: Sürgün uzunluğu, T.A.: Taze ağırlık.

SONUÇ

Literatürde tohumlara yapılan melatonin (MEL) ön uygulamasının, stres koşulları altında çimlenmeyi ve bitki kalitesini iyileştirici etkilerini kanıtlayan çeşitli raporlar bulunmasına rağmen, L-Triptofan'ın (L-tr) bu yöndeki etkilerini gösteren çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Bu çalışma, L-tr ve MEL' in turp ve ıspanak tohumlarının yüksek ve düşük sıcaklık stresi koşullarında etkisini araştıran ilk çalışmadır. Genel olarak 35 °C'de inkübe edilmiş turp ve ıspanak tohumları diğer sıcaklıklara göre daha hızlı çimlenmiştir. Hormon uygulamaları, düşük ve yüksek sıcaklıktaki maksimum çimlenme oranlarını bir miktar artırmıştır. Turp tohumları daha çok düşük sıcaklık stresinden etkilenmiş, burada 10 µM MEL uygulaması maksimum çimlenme oranına olumlu etki yapmıştır. Bu uygulama %50 çimlenmeye ulaşınca kadar gerekli süreyi ve ortalama çimlenme süresini de artırmıştır. Ispanak tohumları ise daha çok yüksek sıcaklıktan etkilenmiş, burada da 125 ppm L-tr ve 25 µM MEL uygulaması olumlu etki yapmıştır. Çalışmada elde edilen bu bulgular, L-tr ve MEL'in etkilerinin değerlendirilen bitki türleri ve ölçülen parametreler üzerinde farklı olduğunu göstermektedir. Bundan sonraki çalışmalarda tuzluluk, kuraklık, ışık, nem gibi diğer çevresel faktörleri de dahil ederek bu hipotezin tüm yönleriyle araştırılmaya ihtiyacı vardır. Ek olarak, bu çalışmada denenen hormon dozları, farklı türler esas alınarak seçilmiştir. Bu nedenle, ileri çalışmalarda dozların daha ayrıntılı şekilde incelenmesi isabetli olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FLO-2018-8572 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdel, C. G., Asaad, S. S. & Mohammad, D. S. (2016). Minimum, optimum, and maximum temperatures required for germination of Onion, Radish, Tomato, and Pepper, *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 5, 26-45.
- Antony, E., Sridhar, K. & Kumar, V., (2017). Effect of chemical sprays and management practices on *Brachiaria ruziziensis* seed, production. *Field Crops Research*, 211, 19-26.
- Atherton, J. G. & Farooque, A. M. (1983). High temperature and germination in spinach. I. The role of the pericarp. *Scientia Horticulturae*, 19, 25-32.
- Arnao, M. B. & Hernández-Ruiz, J. (2006). The physiological function of melatonin in plants. *Plant Signal Behavior*, 1, 89-95.
- Bajwa, V. S., Shukla, M. R., Sherif, S. M., Murch, S. J. & Saxena, P. K. (2014). Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Pineal Research*, 56, 238-245.
- Bakhshandeh, E. & Gholamhossieni, M. J. (2019). Modelling the Effects of Water Stress and Temperature on Seed Germination of Radish and Cantaloupe, *Journal of Plant Growth Regulation*, 1, 1-10.
- Batlla D., & Benech-Arnold R. L. (2015). A framework for the interpretation of temperature effects on dormancy and germination in seed populations showing dormancy. *Seed Science Research*, 25, 147-158.
- Benech-Arnold, R. L., Sanchez, R. A., Forcella, F., Kruk, B. C., & Ghersa, C. M. (2000). Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research*, 67, 105-122.
- Bewley, J. D. & Black, M. (1994). *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York, London.
- Carter, A. K. & Stevens, R. (1998). Using ethaphon and GA₃ to overcome thermoinhibition in 'Jalopeno M' pepper seed, *Scientia Horticulturae*, 33, 1026-1027.
- Chen, Q., Qi, W. B., Reiter, R. J., Wei, W., & Wang, B. M. (2009). Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. *Journal of Plant Physiology*, 166, 324-328.
- Chitwood, J. (2016). Spinach (*Spinacia oleracea* L.) seed germination and whole plant growth response to heat stress and association mapping of bolting, tallness and erectness for use in spinach breeding, Yüksek Lisans Tezi, University of Arkansas Fort Smith, Bachelor of Science in Biology, USA.
- Come, D. & Tissaoui, T., (1973). Interrelated effects of imbibition, temperature and oxygen on seed germination. In W. Heydecker, *Seed Ecology* (pp. 157-167). Butterworths, London

- Copeland, L. O., & McDonald, M. F. (2012). *Principles of Seed Science and Technology*, Springer Press, USA.
- Çavuşoğlu, K. (2006). *Arpa ve turp tohumlarının normal şartlar altındaki çimlenme ve fide büyümesine bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Donohue, K., Rubio de Casas, R., Burghardt L., Kovach K., & Willis, C. G. (2010). Germination, postgermination adaptation and species ecological ranges. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41, 293-319.
- Dubbels, R., Reiter, R., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., Schiwara, H. & Schloot, W. (1995), Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pineal Research*, 18, 28-31.
- Dürr, C., Dickie, J. B., Yang, X. Y., & Pritchard, H. W. (2015). Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of seeds worldwide: contribution to a seed trait database. *Agricultural and Forest Meteorology*, 200, 222-232.
- Frankenberger, W. & Arshad, M. (1991). Yield response of watermelon and muskmelon to L-tryptophan applied to the soil. *Horticultural Science*, 26, 35-37.
- Gonai, T., Kawahara, S., Tougou, M., Satoh, S., Hashiba, T., Hirai, N., Kawaide, H., Kamiya, Y. & Yoshioka, T., (2004). Abscisic acid in the thermoinhibition of lettuce seed germination and enhancement of its catabolism by gibberellin, *Journal of Experimental Botany*, 55, 111-118.
- Grime, J. P., Mason, G, Curtis, A. V., Rodman, J., Band, S. R., & Mowforth, M.A.G. (1981). A comparative study of germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology*, 69, 1017-1059.
- Gulliver, R.L., Heydecker, W., 1973. Establishment of seedlings in a changeable environment. In: *Seed Ecology* (Ed. W. Heydecker), pp. 433-461. Butterworths, London.
- Hardeland, R., Cardinali, D. P. & Srinivasan, V. (2011). Melatonin-A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Progress in Neurobiology*. 93, 350-384.
- Hattori, A., Migitaka, H., Iigo, M., Itoh, M., Yamamoto, K., Ohtani-Kaneko, R., Hara, M., Suzuki, T., & Reiter, R. J. (1995). Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochemistry And Molecular Biology International*, 35, 627-634.
- Hernandez-Ruiz, J., Cano, A., & Arnao, M. B. (2005). Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species. *Journal of Pineal Research*, 39, 137-142.
- Heydecker, W., Orphanos, P. I. & Chetram, R. S. (1969). The importance of air supply during seed germination. *Processing International Seed Testing Association*. 34, 297-303.
- Hsiao, A. I. (1993). Actions of acid immersion, red light and gibberellin A₃ treatments on germination of thermodormant lettuce seeds, *Environmental and Experimental Botany*, 33, 397-404.
- Karaca, A. (2013). *Dışarıdan yapılan melatonin uygulamaları ile biberde çimlenme sırasında üşüme stresine karşı toleransın artırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Katzman, L. S. (1999). *Developing a system to germinate and grow hydroponic spinach, Spinacia oleracea*. Yüksek Lisans Tezi, Cornell University, Ithaca, USA.
- Katzman, L. S., Taylor, A., & Langhans, R. (2001). Seed enhancements to improve spinach germination. *HortScience*, 36, 979-981.
- Korkmaz, A., Karaca, A., Kocaçınar, F., & Cuci, Y. (2017). The effects of seed treatment with melatonin on germination and emergence performance of pepper seeds under chilling stress. *Journal of Agricultural Sciences*, 23, 167-176.
- Li, C. X., Feng, S. L., Shao, Y., Jiang, L. N., Lu, X. Y., & Hao, X. L. (2007). Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. *Journal of Environmental Sciences*, 19, 725-732.
- Li, H., Dong, Y., Chang, J., He, J., Chen, H., Liu, Q., Wei, C., Ma, J., Zhang, Y., Yang, J., & Zhang, X. (2017). High-Throughput microrna and mrna sequencing reveals that micrnas may be involved in melatonin-mediated cold tolerance in *Citrullus lanatus* L., *Frontiers in Plant Science*, 157, 1-12.
- Lindgren D. T., & Browning, S. J. (2011). Vegetable Garden Seed Storage and Germination Requirements. *Index Lawn & Gardens*, 1, 1-6.

- Leskovar, D. I. & Esensee, V. (1999). Pericarp, leachate, and carbohydrate involvement in thermoinhibition of germinating spinach seeds. *HortScience* 34, 301-306.
- Mercedes, F., Carbonell, M. V. & Martinez, E. (2007). Exposure of maize seeds to stationary magnetic fields: Effects on germination and early growth. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 68-75.
- Palego, L., Betti, L., Rossi, A. & Giannaccini, G., (2016). Tryptophan biochemistry: Structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in human. *Journal of Amino Acids*, ID: 8952520.
- Posmyk, M., Balabusta, M., Wieczorek, M., Sliwinska, E. & Janas, K. M. (2009). Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research*, 46, 214-223.
- Ramakrishna, A., Giridhar, P. & Ravishankar, G.A. (2011). Phyto-serotonin: a review. *Plant Signal Behavior*, 6, 800-809.
- Rosen, J., Than, N. N., Koch, D., Poeggeler, B., Laatsch, H., & Hardeland, R. (2006). Interactions of melatonin and its metabolites with the ABTS cation radical: extension of the radical scavenger cascade and formation of a novel class of oxidation products, C2-substituted 3-indolinones. *Journal of Pineal Research*, 41, 374-381.
- Shi, H. & Chan, Z. (2014). The cysteine²/histidine²-type transcription factor zinc finger of *Arabidopsis thaliana* 6-activated c-repeat-binding factor pathway is essential for melatonin-mediated freezing stress resistance in *Arabidopsis*. *Journal of Pineal Research*, 57, 185-191.
- Tan, D. X., Hardeland, R., Manchester, L. C., Korkmaz, A., Ma, S., Rosales-Corral, S., & Reiter, R. J. (2012). Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science, *Journal of Experimental Botany*, 63, 577-597.
- Trudgill, D. L., Honek, A., Li D., & Van Straalen, N. M. (2005). Thermal time – concepts and utility. *Annals of Applied Biology*, 146, 1-14.
- Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y., & Yanmis, D. (2014). The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation*, 74, 139-152.
- Wang, P., Yin, L., Liang, D., Li, C., Ma, F. & Yue, Z. (2012). Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. *Journal of Pineal Research*, 53, 11-20.
- Wei, W., Li, Chu, Q. T., Reiter, Y. N., Yu, R. J., Zhu, X. M., Zhang, D. H., Ma, W. K., Lin, B., Zhang, Q., & Chen, J. S. (2015). Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*, 66, 695-707.
- Zhang, H. M. & Zhang, Y. (2014). Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *Journal of Pineal Research*, 57, 131-146.
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S. M., Ren, S., & Guo, Y. (2015). Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of experimental botany*, 3, 647-56.