

## FASULYE TOHUMLARINA MELATONİN UYGULAMALARININ ORTA ALKALİN TOPRAK KOŞULLARINDA FİDE GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Gökçen YAKUPOĞLU\*

Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Yozgat; ORCID: 0000-0003-4921-0925  
Geliş Tarihi / Received: 25.12.2018 Kabul Tarihi / Accepted: 09.02.2020

### ÖZ

Bu çalışmada, fasulye tohumlarına melatonin (MEL) uygulamalarının orta alkalın topraklarda toleransı sağlama üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, fasulye tohumları 24 saat boyunca farklı konsantrasyonlardaki MEL (0, 1, 5 veya 25 µM) çözeltisinde bekletilmiştir. Tohumlar 3:1 oranında torf:perlit karışımı (kontrol) ve pH'sı 7.94 olan bahçe toprağına ekilmiştir. Fasulye fidelerinde, fide uzunluğu, taze ağırlık, gövde çapı, yaprak alanı, klorofil içeriğı (SPAD), antosiyanin, prolin, lipid peroksidasyon (MDA), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve elektriksel iletkenlik değerleri ölçülmüştür. Tohum aşamasında 1 µM MEL uygulaması alkalın stresinin zararlı etkilerini hafifletmiş ve fide uzunluğu, taze ağırlık, klorofil içeriğı (SPAD), prolin, MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriklerinde önemli iyileşme sağlamıştır. Gövde çapı ve yaprak alanı incelendiğinde, en iyi sonucu 25 µM MEL uygulaması vermiştir. Fasulyelerde, alkalın toprak koşullarında tohuma 1 µM MEL uygulanması, stresi ve oluşabilecek hasar ürünlerini azaltmak için önerilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), alkalın stres, melatonin, prolin, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

### THE EFFECTS OF MELATONIN APPLICATIONS ON BEAN SEEDLING DEVELOPMENT UNDER MODERATELY ALKALINE SOIL CONDITIONS

#### ABSTRACT

In this research, the effect of melatonin (MEL) applications on bean seeds to tolerance of light alkaline soils were investigated. For this purpose, seeds were treated with melatonin (0, 1, 5 or 25 µM) during 24 h. Seeds were sown at 3:1 ratio of peat: perlite mixture (control) and soil that pH 7.94. Seedling length, fresh weight, stem diameter, leaf area, chlorophyll content (SPAD), anthocyanin, proline, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and electrical conductivity values were measured in bean seedlings. Treatment with 1 µM MEL at the seed stage alleviated the harmful effects of alkaline stress and caused significant improvement in seedling length, fresh weight, chlorophyll content (SPAD), proline, MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content. The best results of stem diameter and leaf area were measured from 25 µM MEL application. The 1 µM MEL application to bean seeds in alkaline soil conditions might be a suggestion for decreasing the stress and damage products.

**Keywords:** Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), alkaline stress, melatonin, proline, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

### GİRİŞ

Tek yıllık otsu bir bitki olan fasulye yetiştiriciliğı için en uygun toprak tınlı topraktır. Yetiştiricilikte en uygun toprak pH'sı 6-6.5 arasındadır. Fasulyede tohum ekimi sıra veya ocak usulü olarak doğrudan toprağına yapılır. Besin değeri oldukça yüksek olan fasulye, dünyada taze, konserve ve kuru olarak tüketilebilen bir sebzedir [47].

Kuraklık, tuzluluk, ekstrem sıcaklıklar, su baskını, radyasyon, kirletici maddeler (ağır

metaller, pestisitler, aerosoller), toprağın besleyicilerden yoksun olması ve rüzgar gibi abiyotik stres faktörleri ve patojenler (virüsler, bakteriler ve mantarlar), hayvanlar (böcekler, herbivorlar, kemirgenler), parazit bitkiler gibi biyotik stres faktörleri dünyanın büyük bir kısmında bitki büyümesini ve gelişmesini olumsuz etkilemekte ve dolayısıyla üründe kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle bitkilerin çeşitli stres faktörlerine karşı adaptasyonun artırılmasına yönelik çalışmalar önem kazanmış durumdadır ve farklı

\*Sorumlu yazar / Corresponding author: gokcen.yakupoglu@bozok.edu.tr

yöntemlerin kullanılabilirliği araştırılması gereken konuların başında gelmektedir. Bu olumsuz çevre şartlarına karşı mücadele yöntemlerinden birisi de bitki büyüme düzenleyici niteliği taşıyan moleküller kullanılarak strese karşı tolerans sağlanmasıdır [7].

Denemede kullanılan Melatonin (MEL) ilk olarak 1958 yılında sığır beyin üstü bezinden izole edilen bir indol amindir [27]. Omurgalı canlılarda MEL beyin üstü bezinde üretilir ve kan dolaşımına katılarak tüm vücuda yayılır. İlk olarak omurgalı hayvanlarda bulunduğu için MEL yıllarca sadece hayvanlara özgü bir düzenleyici veya hormon olarak kabul edilmiştir [37]. Bitkilerde ise 1995 yılında iki ayrı araştırmacı grubun birbirinden habersiz yaptığı çalışmalarda özellikle tahıllarda, meyvelerde ve sebzelerde bulunduğu keşfedilmiştir [14, 16]. Melatonin ile ilgili araştırmalar giderek hız kazanmış, bakterilerde alglerde ve bazı yüksek bitki türlerinde varlığı kanıtlanmıştır [35]. Artan çalışmalarla birlikte MEL'in bitkilerde güçlü bir antioksidan olduğu ve peroksidaz (POX), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzim aktivitelerini düzenlediği ve teşvik ettiği bulunmuştur [2, 11, 30, 31, 38, 39, 40, 41, 48, 50].

Biber tohumlarına değişik konsantrasyonlarda (1-25  $\mu$ M) MEL uygulaması sonucu tohumların düşük sıcaklıkta çimlenme performansının olumlu etkilendiği ve elde edilen fidelerde konsantrasyonlara bağlı olarak MEL içeriklerinde artışlar olduğu belirlenmiştir [20]. İki farklı biber çeşidinde vejetasyonun farklı aşamalarında (çimlenme, fide, çiçeklenme ve hasat) ve farklı organlarında (yaprak, kök, meyve ve tohum) MEL içeriğinin belirlendiği bir araştırmada, kotiledon aşamasındaki fidelerde yüksek seyreden MEL seviyesinin bitki olgunlaştıkça düştüğü bulunmuştur. Araştırmacılar bitki gelişim evrelerinin ilerlemesiyle biber yapraklarında MEL miktarının düştüğünü, buna karşılık meyvelerin olgunlaşması (kızarması) ile meyve ve tohumlarda MEL seviyelerinin önemli ölçüde arttığını ve tüm bunların da MEL'in bu gelişim süreçlerinin kontrol edilmesinde görev aldığını belirtmişlerdir [22]. Patlıcanda MEL ve MEL'in öncü maddesi olan triptofan (Trp) konsantrasyonlarının gün

içerisindeki değişimi incelenmiş MEL ve Trp seviyelerinin ters ilişkili olduğu, MEL seviyelerinin yüksek tespit edildiği noktalarda Trp seviyelerinin düşük bir seyir izlediği görülmüştür [24].

Melatonin acı baklada indol asetik asit (IAA)'e benzer şekilde adventif ve lateral köklerin oluşumunu artırmış [3]; bu önemli etki daha sonra kırmızılahana [36], hıyar [56], kiraz [43], çeltik [34], Arabidopsis [59], nar [44] gibi diğer bitki türlerinde de gözlemlenmiştir. Son zamanlarda Arabidopsis [8, 45], soya fasulyesi [52], bermuda çimi (*Cynodon dactylon*) [46] ve Citrus [26] gibi pek çok türde dışarıdan MEL uygulamasının kök ve sürgün büyümesini teşvik ettiği ortaya konmuştur. Adventif köklerin oluşumunda elde edilen verilere dayanılarak MEL, bir bitki büyüme düzenleyicisi olarak kabul edilmeye başlanmıştır.

Bitkilerin aşırı soğuk, güneş ışığı, ağır metaller ve kimyasalların neden olduğu toprak kirliliği gibi olumsuz çevre koşullarında toksik çevresel stresörlerle başa çıkabilmek için MEL üretimini teşvik ettiği bulunmuştur [4, 6, 10, 48]. Tuzluluk, çinko fazlalığı, düşük sıcaklık ve kuraklık gibi değişik stres faktörleri altındaki arpa ve acı bakla bitkilerinde içsel MEL seviyeleri stres faktörünün şiddetine ve uygulama zamanına göre ciddi artışlar göstermiştir [5, 6].

Mercimek ve fasulye tohumları çimlenme sırasında 20  $\mu$ M MEL ilave edilmiş su ile sulanmıştır. MEL uygulaması filizlenmiş dokularda MEL, fenolik içerik ve antioksidan kapasitesini arttırmıştır. Araştırmacılara göre, MEL ile zenginleştirilmiş filizlerin tüketiminin kanda MEL seviyesini arttırarak oksidatif dengeyi sağlamak ve sağlığı geliştirmek için iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Baklagillerin çimlenmesinde dışarıdan MEL ilavesi içsel MEL seviyesini arttırdığı gibi filiz üretimini de arttırmaktadır. MEL eklenmiş bakliyat filizlerinin insan sağlığına faydaları nedeniyle sağlıklı beslenme diyetlerimize eklenerek önemli besinsel etkiye sahip olabilecekleri düşünülmektedir [1]. MEL uygulanmış biber tohumlarının üşüme stresi koşullarında çimlenme ve çıkış performanslarında artış gözlenmiştir. Bu artışın nedeninin antioksidan enzim aktivitesinin teşvikinden kaynaklandığı bildirilmiştir [25].

Bitki gelişimini önleyecek düzeyde çeşitli tuzları içeren topraklar çorak topraklar olarak adlandırılır. Bu topraklar; tuzlu, alkali ve tuzlu-alkali olmak üzere üç grupta incelenebilir [42]. Toprakta alkalilik bitki gelişimini olumsuz etkiler veya topraktan su alımını engelleyerek fiziksel koşulların bozulmasına sebep olur [32].

Alkalin stresine karşı dışarıdan 0.5  $\mu\text{M}$  MEL ilave edilmiş domates bitkileri kontrolle karşılaştırıldığında alkalin stresine maruz kalan fidelerde fide boyu, taze ve kuru ağırlık, fotosentez hızı ve klorofil içeriği azalmış bununla birlikte EC ve prolin miktarının arttığı tespit edilmiştir. Dışarıdan MEL uygulanan bitkilerde büyüme parametrelerinin iyileştiği ve elektriksel iletkenlik (EC) sızıntılarının azaldığı tespit edilmiştir [29]. *Malus hupehensis* Rehd.'te alkalin stresine (hidroponik sistemde pH 8.5-8.8) karşı 5  $\mu\text{M}$  MEL uygulanmış fidelerde 15 gün sonra ölçüm yapılmıştır. MEL ile muamele edilmemiş fidelerde sararmalar tespit edilirken, MEL uygulanmış fidelerde sürgün yüksekliği, sürgün çapı, yaprak sayıları, taze ve kuru ağırlık ile klorofil a ve b içerikleri uygulanmayanlara göre daha yüksek ölçülmüştür [15].

Yozgat ili toprak reaksiyonu nötr veya alkali özelliktedir [12]. Denemede kullanılan toprak 7.94 pH ile orta alkalin sınıfta yer almaktadır. Bu değer fasulye yetiştiriciliği için uygun olan 6-6.5 pH'nın üzerindedir. Bu çalışmada, orta alkalin toprak koşullarında fasulye bitkisinin strese karşı dayanımı arttırmak amacıyla MEL'in antioksidan özelliğinden yararlanılması düşünülmüştür. Bu amaçla fasulye tohumlarına farklı dozlarda MEL uygulanarak alkalin stresine toleransın artırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Bu çalışma Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümüne ait ısıtmasız sera ve laboratuvarlarda yürütülmüştür. Araştırmada özel bir tohum firmasından (Semini) alınan Bourgondia (taze ve sanayiye uygun, oturak tipi) çeşidine ait ticari fasulye tohumu kullanılmıştır.

Denemede kullanılan toprak Bozok Üniversitesi, Gedik Hasanlı Uygulama Bahçesine aittir. Toprak özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Kontrol olarak ifade edilen bitkiler 3:1 oranında torf:perlit karışımında yetiştirilmiştir. Toprak analizleri, Avanos Ziraat Odası Başkanlığı Toprak Analiz Laboratuvarında yapılmıştır.

Çizelge 1. Denemede kullanılan toprağın bazı özellikleri

Table 1. Some properties of soil used in the experiment

Analiz Analysis	Birim Unit	Yöntem Method	Sonuç Result	Açıklama Instruction
% İşba	%	Saturasyon	55	Killi-tınlı
pH		Saturasyon	7.94	Orta derecede alkalin
% Toplam Tuz	%	Saturasyon	0.01	Tuzsuz
Kireç (CaCO <sub>3</sub> )	%	Kalsimetrik	24.5	Fazla kireçli
Organik Madde	%	Walkey-Black	1.44	Az
Fosfor (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	kg/da	Olisen	1.78	Çok az
Potasyum (K <sub>2</sub> O)	kg/da	A. Asetat-AAS	61.15	Yeterli

### Metot

Denemede farklı dozlarda MEL uygulanmış tohumlar orta alkalin toprak doldurulan viyollere (100 cm<sup>3</sup>) ekilmiştir. Kontrol olarak 3:1 oranında torf:perlit ortamı kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan fasulye tohumlarına daha önce yürüttüğümüz çalışmalarda (biber ve patlıcan) uyguladığımız 0-1-5-25  $\mu\text{M}$  MEL uygulanmıştır [23, 53]. Uygulamalar MEL ışıktan etkilendiği için loş bir ortamda yapılmıştır. Fasulye tohumları oda koşullarında 0-1-5-25  $\mu\text{M}$  MEL (200 ml) çözeltisi ile ıslatılarak kurutma kâğıtları içerisinde 24 saat bekletilmiş, kontrol ve 0 MEL uygulamalarına aynı miktarda saf su uygulanmıştır. Tohumlar tekrar kurutma işlemine tabi tutulmadan viyollere ekilmiştir.

Fideler yeterli büyüklüğe (6-8 yapraklı) ulaştığında; fide boyu (cm), gövde çapı (mm), taze ağırlık (gr), yaprak alanı (ADC BioScientific Area Meter AM300), yaprakların klorofil içeriği (Konica Minolta SPAD-502 Plus Marka Chlorophyll Meter), antosiyanin içeriği (Opti Science ACM-200 Plus

Anthocyanin Meter) belirlenmiştir. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) analizi Özden ve ark. [33]'de belirtilen yöntem kullanılarak yapılmıştır. Prolin değeri, Bates ve ark. [9]'nın metoduna göre yapılarak sonuçlar  $\mu\text{mol prolin/g}$  (taze ağırlık) olarak belirtilmiştir. Malondialdehid (MDA) miktarı, Zhang ve ark. [55]'na göre analiz edilerek hesaplanmış ve sonuçlar  $\mu\text{mol}^{-1}$  olarak verilmiştir. Doku elektriki iletkenliği (EC) tesadüfen seçilen 2 bitkiden 1 cm çapında yaprak diskleri alınarak içerisinde 20 mL saf su bulunan ependorf tüplere koyulmuştur. Bu tüpler çalkalayıcıda 24 saat çalkalanarak ıslatma suyunun elektriki iletkenliği ölçülmüştür (EC1). Daha sonra örnekler otoklavda 121°C'de 15 dk bekletilip oda sıcaklığına geldiğinde tekrar ölçüm yapılmıştır (EC2). İlk ölçüm/son ölçüm arasındaki oran (EC1/EC2) elektriki iletkenlik değerleri (%) hesaplanmıştır [21].

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrür ve her tekerrürde 9 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Deneme süresince elde edilen verilerin istatistiki değerlendirilmesinde SPSS 20.0 paket programı kullanılmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesi için Duncan çoklu karşılaştırma testi (Duncan Multiple Range Test) uygulanmıştır. Sonuçların, istatistiki değerlendirilmesinde farklar arasındaki önemlilik düzeyi 0.05 olarak tespit edilmiştir.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### *Fide Uzunluğu, Gövde Çapı, Taze Ağırlık ve Yaprak Alanı*

Tohum aşamasında MEL uygulanmış ve alkalın toprakta yetiştirilen fidelerde ölçülen fide uzunluğu, gövde çapı, taze ağırlık ve yaprak alanı değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Kontrol ve alkalın koşullarda yetiştirilen fideler incelendiğinde taze ağırlık (4.16 gr) istatistiki olarak önemli olmamakla birlikte fide uzunluğu (51.75 cm) açısından en iyi sonucu 1  $\mu\text{M}$  MEL uygulaması verirken, gövde çapı (3.34 mm) ve yaprak alanı (199.7 cm<sup>2</sup>) parametreleri için en yüksek değerler 25  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında ölçülmüştür. Dışsal MEL uygulanmış ve strese maruz bırakılmış fidelerde yaprak alanı, gövde ve kök yaş ve kuru ağırlıklarının MEL uygulamaları ile daha

iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. MEL uygulanan bitkilerde fide uzunluğu, taze ağırlık ve kök uzunluğunda uygulanmayanlara göre artışlar görülmüştür. Diğer yandan yürütülen farklı çalışmalarda fotosentez hızı gibi fotosentetik parametreler bakımından MEL uygulananların uygulanmayanlara oranla daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir [8, 53]. Denemede elde edilen veriler literatürlerle karşılaştırıldığında benzer sonuçlar vermiştir. Melatonin ve indol asetik asit (IAA) arasında yapısal benzerlikler ve biyosentez yolunun ortak olması MEL'in oksin benzeri hareket edebileceği fikrini akla getirmektedir. Bitkilerde MEL'in üstlendiği en temel rollerden biri muhtemel bir bitki büyüme düzenleyicisi olarak görev almasıdır. Acı bakla (*Lupinus albus* L.) ile yapılan bir çalışmada hipokotillerde aktif büyümeyi uyardığı, yüksek konsantrasyonlarda ise büyümeyi engellediği belirlenmiştir [17, 18].

### *Klorofil, Yaprak Antosiyenin İçeriği ve Doku Elektriki İletkenliği*

Denemede elde edilen fidelerde klorofil, antosiyenin ve doku elektriki iletkenliği (EC<sub>1</sub>/EC<sub>2</sub>) değerleri Çizelge 3'de sunulmuştur. Fidelerin klorofil içeriği değerleri incelendiğinde en yüksek klorofil birikiminin 33.3 ile 1  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında, en düşük ise 29.0 ile 0  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında olduğunu görülmektedir. Kuraklık stresine karşı dışarıdan MEL uygulanmış elma yapraklarında klorofil bozulmasının azaldığı ve yaprak yaşlanmasının gecikmesinde rol aldığı bildirilmiştir [51]. Benzer şekilde 0.1  $\mu\text{M}$  MEL uygulanmış elma fidanları tuz stresine maruz bırakılmış klorofil içeriği ve elektriki iletkenlik değerlerinin olumlu etkilendiği ve strese toleransın arttığı bildirilmiştir [28]. Önceki çalışmalara benzer şekilde fasulye bitkisine MEL uygulaması ile klorofil bozulmasını engellemiş ve elektrolit sızıntısının önüne geçerek strese toleransı arttırmıştır. Benzer şekilde mısır bitkisinde tuz stresine karşı 1  $\mu\text{M}$  MEL içeren yarım güçlü (½) Hogland çözeltisi uygulanmış ve MEL uygulanan bitkilerde fotosentez miktarında %19 artış belirlenmiştir [19]. Diğer bir araştırmada ise patlıcan bitkisinde üşme stresine karşı MEL uygulamasında en yüksek net fotosentez hızı (3.82  $\mu\text{mol-2 s}^{-1}$ ) 5  $\mu\text{M}$

MEL uygulanan fidelerde ölçülmüştür [53]. Fidelerin antosiyanin içeriği incelendiğinde en yüksek (3.9), kontrol uygulaması olan torf:perlit ortamında en az ise 3.3 ile yine 0  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında ölçülmüştür.

Benzer şekilde beyaz ve kırmızılahana tohumlarına 12 saat boyunca farklı dozlarda MEL uygulanıp çimlendirildiği çalışmada MEL'in antosiyonin üretimini arttırdığı ve lahana gelişimini hızlandırdığı tespit edilmiştir [58]. Doku elektrik iletkenliği açısından incelenen fidelerde en fazla bozulma %29.7 ile MEL uygulanmamış (0  $\mu\text{M}$  MEL) fidelerde tespit edilmiştir. En az bozulma ise MEL uygulanmış fidelerde gözlenmiştir.

### ***Prolin, Malondialdehid (MDA) ve Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)***

Strese maruz kalmış fasulye tohumlarına MEL uygulamasının prolin, MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içerikleri Çizelge 4'de verilmiştir. Prolin içeriği açısından fideleri incelediğimizde en

fazla prolin birikimi 0.019  $\mu\text{M}^{-1}$  TA ile 1  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında en az birikim ise 0.015  $\mu\text{M}^{-1}$  TA ile kontrol uygulaması olan torf:perlit ortamında ve 25  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında görülmüştür. Araştırmaya benzer olarak soğuk stresine maruz kalan domates fidelerinde yapılan bir çalışmada MEL uygulamasının prolin miktarını yükselttiği bildirilmiştir [13]. Çalışmada en az MDA (0.174  $\mu\text{M}^{-1}$  TA) birikimi 1  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında ölçülmüştür. En fazla MDA (0.323  $\mu\text{M}^{-1}$  TA) birikimi ise 0  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında gözlenmiştir. Ayrıca istatistiki açıdan önemli olmamakla birlikte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı 1  $\mu\text{M}$  MEL uygulamasında en düşük olarak belirlenmiştir. Biber fidelerinde yürütülen bir çalışmada MEL uygulamasının strese karşı toleransı arttırdığı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA içeriklerini azalttığı belirlenmiştir [23]. Bu bağlamda fasulye yetiştiriciliğinde MEL uygulamalarının alkalın stresi üzerine etkisi incelendiğinde farklı çalışmalarla paralel sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 2. Melatonin (MEL) uygulamasının fide uzunluğu, gövde çapı, taze ağırlık ve yaprak alanı üzerine etkileri

Table 2. *Effects of MEL applications on seedling length, stem diameter, fresh weigh and leaf area*

Uygulamalar Applications	Fide uzunluğu (cm) Seedling length (cm)	Gövde çapı (mm) Stem diameter (mm)	Taze ağırlık (gr) Fresh weight (gr)	Yaprak alanı (cm <sup>2</sup> ) Leaf area (cm <sup>2</sup> )
Torf (Kontrol)	50.69±11.5 öd/ns	2.78±0.2 bc	3.26±0.15 c	159.5±49.1 öd/ns
0 $\mu\text{M}$ MEL	44.88±5.1	2.50±0.2 c	2.93±0.25 c	147.3±33.7
1 $\mu\text{M}$ MEL	51.75±5.5	2.99±0.1 b	4.16±0.72 a	180.8±39.6
5 $\mu\text{M}$ MEL	40.25±12.2	2.73±0.3 bc	3.42±0.22 bc	145.3±20.8
25 $\mu\text{M}$ MEL	45.94±13.3	3.34±0.3 a	3.99±0.38 ab	199.7±43.7

<sup>2</sup>Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında Duncan testine göre %5 düzeyinde farklılık vardır. öd: Önemli değil.

<sup>3</sup>Values with different letters in the same column are significantly different at 5% from the Duncan test. ns: Non-significant.

Çizelge 3. Melatonin (MEL) MEL uygulamasının klorofil, antosiyanin içeriği ve elektrik iletkenlik üzerine etkileri

Table 3. *Effects of MEL applications on chlorophyll, anthocyanin content and electrical conductivity*

Uygulamalar Applications	Klorofil içeriği (SPAD) Chlorophyll content (SPAD)	Antosiyanin (ACI) Anthocyanin (ACI)	Elektrik iletkenlik (%) Electrical conductivity (%)
Torf (Kontrol)	30.3±1.44 bc	3.9±0.2 a	26.4±0.9 ab
0 $\mu\text{M}$ MEL	29.0±3.22 c	3.3±0.3 b	29.7±2.2 a
1 $\mu\text{M}$ MEL	33.3±0.90 a	3.7±0.4 ab	22.3±2.5 b
5 $\mu\text{M}$ MEL	32.4±0.70 ab	3.5±0.1 ab	24.4±4.1 b
25 $\mu\text{M}$ MEL	32.1±1.60 ab	3.7±0.2 ab	22.3±2.6 b

<sup>2</sup>Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında Duncan testine göre %5 düzeyinde farklılık vardır. öd: Önemli değil.

<sup>3</sup>Values with different letters in the same column are significantly different at 5% from the Duncan test. ns: Non-significant.

Çizelge 4. Melatonin (MEL) uygulamasının prolin, MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üzerine etkileri  
 Table 4. Effects of MEL applications on proline, MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Uygulamalar Applications	Prolin (μmol g <sup>-1</sup> TA) Proline (μmol g <sup>-1</sup> FW)	MDA (μmol g <sup>-1</sup> TA) MDA (μmol g <sup>-1</sup> FW)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol g <sup>-1</sup> TA) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol g <sup>-1</sup> FW)
Torf (Kontrol)	0.015±0.003 b	0.204±0.07 bc	0.124±0.005 öd/ns
0 μM MEL	0.018±0.002 ab	0.323±0.05 a	0.135±0.003
1 μM MEL	0.019±0.003 a	0.174±0.03 c	0.120±0.004
5 μM MEL	0.017±0.001 ab	0.270±0.05 ab	0.130±0.021
25 μM MEL	0.015±0.003 b	0.312±0.02 a	0.128±0.012

<sup>z</sup>Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında Duncan testine göre %5 düzeyinde farklılık vardır. öd: Önemli değil.

<sup>v</sup>Values with different letters in the same column are significantly different at 5% from the Duncan test. ns: Non-significant.

## SONUÇ

Melatoninin bitkilerde keşfinden itibaren günümüze kadar bitkilerde MEL ile ilgili çalışmalar artarak devam etmiştir. Son zamanlarda bir bitki büyüme düzenleyicisi olarak kabul edilen MEL pek çok stres faktörüne karşı (yüksek ve düşük sıcaklık, kuraklık, tuz, alkalilik, kimyasal kirleticiler vb.) toleransı arttırmada antioksidan olarak görev almaktadır. Bitkilerde antioksidan, sirkadiyen ritim ve büyüme düzenleyici olarak görev alan MEL tarımsal üretimde yadsınamaz derecede önemlidir. Çevresel stres faktörlerine karşı bitkilerin toleransını arttırması, oksidatif strese karşı klorofili koruması, fotosentezi arttırması, büyümeyi teşvik etmesi özelliklerinden yola çıkarak fasulye tohumlarına orta alkalın koşullarda MEL uygulaması yapılmıştır [54].

Sonuç olarak orta alkalın topraklarda fasulye tohumuna dışarıdan MEL uygulamasının strese karşı toleransın arttırılmasında kullanılabileceği görülmüştür. Fide uzunluğu, taze ağırlık klorofil içeriği, prolin, MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği açısından 1 μM MEL uygulamasının en iyi sonuçları verdiği, gövde çapı ve yaprak alanı bakımından 25 μM MEL uygulamasının en iyi sonucu verdiği ortaya konmuştur. Tüm konsantrasyonlar dikkate alındığında fasulye bitkisinde orta alkalın toprak koşullarında tohuma 1 μM MEL uygulaması oluşabilecek stresi ve zararlanma ürünlerini azaltmak için önerilebilir. Bu sonuçlar ışığında ileriki çalışmalarda MEL uygulanan fasulye tohumları alkalın toprak koşullarında arazide yetiştirilerek MEL'in verim ve kaliteye etkileri incelenebilir.

## TEŞEKKÜR

Proje (Proje No: 6602a-ZF/18-162), Yozgat Bozok Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Aguilera, Y., T. Herrera, R. Liébana, M. Rebollo-Hernanz, C. Sanchez-Puelles, M.A. Martín-Cabrejas, 2015. Impact of melatonin enrichment during germination of legumes on bioactive compounds and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63:7967-7974.
2. Allegra, M., R.J. Reiter, D.X. Tan, C. Gentile, L. Tesoriere, M.A. Livrea, 2003. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *Journal of Pineal Research* 34(1):1-10.
3. Arnao, M.B., J. Hernández-Ruiz, 2009. Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. *Journal of Pineal Research* 46(1):58-63.
4. Arnao, M.B., J. Hernandez-Ruiz, 2009. Chemical stress by different agents affects the melatonin content of barley roots. *Journal of Pineal Research* 46:295-299.
5. Arnao, M.B., J. Hernandez-Ruiz, 2007. Melatonin promotes adventitious and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research* 42:147-152.
6. Arnao, M.B., J. Hernandez-Ruiz, 2013. Growth conditions determine different melatonin levels in *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research* 55:149-155.

7. Ashraf, M., M.R. Foolad, 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental Experimental Botany*, 59:206-216.
8. Bajwa, V.S., M.R. Shukla, S.M. Sherif, S.J. Murch, P.K. Saxena, 2014. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Pineal Research*, 56:238-245.
9. Bates, L., R.P. Waldren, I.D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39:205-207.
10. Byeon, Y., K. Back, 2014. Melatonin synthesis in rice seedlings *in vivo* is enhanced at high temperatures and under dark conditions due to increased serotonin N-acetyltransferase and N-acetylserotonin methyl transferase activities. *Journal of Pineal Research* 56:189-195.
11. Cardinali, D.P., P. Pevet, 1998. Basic aspects of melatonin action. *Sleep Medicine Reviews*, 2:175-190.
12. Çetin, E.S., S. Daler, 2018. Yozgat ili bağcılığının değerlendirilmesi. *Bahçe 47 (Özel Sayı 1)*:209-218.
13. Ding, F., B. Liu, S. Zhang, 2017. Exogenous melatonin ameliorates cold induced damage in tomato plants. *Scientia Horticulturae* 219:264-271.
14. Dubbels, R., R.J. Reiter, E. Klenke, A. Goebel, E. Schnakenberg, C. Ehlers, 1995. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pineal Research* 18:28-31.
15. Gong, X., S. Shi, F. Dou, Y. Song, F. Ma, 2017. Exogenous melatonin alleviates alkaline stress in *Malus hupehensis* Rehd. by regulating the biosynthesis of polyamines. *Molecules* 22:1542. 1-20.
16. Hattori, A., H. Migitaka, I. Masayaki, M. Itoh, K. Yamamoto, R. Ohtani-Kaneko, M. Hara, T. Suzuki, R.J. Reiter, 1995. Identification of melatonin in plant seed its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 35:627-634.
17. Hernandez-Ruiz, J., A. Cano, M.B. Arnao, 2004. Melatonin: growth stimulating compound present in lupin tissues. *Planta* 220:140-144.
18. Hernandez-Ruiz, J., M.B. Arnao, 2008. Distribution of melatonin in different zones of lupin and barley plants at different ages in the presence and absence of light. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:10567-10573.
19. Jiang, C., Q. Cui, K. Feng, D. Xu, C. Li, Q. Zheng, 2016. Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38:82.
20. 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 Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Kahramanmaraş*, 53s.
21. Korkmaz, A., M. Uzunlu, A.R. Demirkıran, 2007. Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 29:503-508.
22. Korkmaz, A., G. Yakupoğlu, Ş. Köklü, Y. Cuci, F. Kocaçınar, 2017a. Determining diurnal and seasonal changes in tryptophan and melatonin content of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Turkish Journal of Botany* 41:356-366.
23. Korkmaz, A., A. Karaca, F. Kocaçınar, Y. Cuci, 2017b. The effect of seed treatment with melatonin on germination and emergence performance of pepper seeds under chilling stress. *Tarım Bilimleri Dergisi* 23(2):167-176.
24. Korkmaz, A., Ö. Değer, F. Kocaçınar, Y. Cuci, 2016. Biber fidelerinde yaprakтан yapılan melatonin uygulamalarıyla üşüme stresine karşı toleransın artırılması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi* 19(3):348-354.
25. Korkmaz, A., Ö. Demir, Y. Cuci, 2014. Profiling the melatonin content in organs of the pepper plant during different growth stages. *Scientia Horticulturae* 172:242-247.
26. Kostopoulou, Z., I. Therios, E. Roumeliotis, A.K. Kanellis, A. Molassiotis, A., 2015. Melatonin combined with ascorbic acid provides salt adaptation in *Citrus aurantium*

- L. seedlings. *Plant Physiology Biochemistry* 86:155-65.
27. Lerner, A.B., J.D. Case, Y. Takahashi, T.H. Lee, W. Mori, 1958. Isolation of melatonin, the pineal factor that lightness melanocytes. *Journal of American Chemical Society* 80:2587-2592.
  28. Li, C., P. Wang, Z. Wei, D. Liang, C. Liu, L. Yin, D. Jia, M. Fu, F. Ma, 2012. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. *Journal of Pineal Research* 53(3):298-306.
  29. Liu, N., B. Gong, Z. Jin, X. Wang, M. Wei, F. Yang, Y. Li, Q. Shi, 2015. Sodic alkaline stress mitigation by exogenous melatonin in tomato needs nitric oxide as a downstream signal. *Journal of Plant Physiology* 186-187, 68-77.
  30. Maldonado, M.D., F. Murillo-Cabezas, M.P. Terron, D.X. Tan, L.C. Manchester, R.J. Reiter, 2007. The potential of melatonin in reducing morbidity-mortality after craniocerebral trauma. *Journal of Pineal Research* 42(1):1-11.
  31. Manchester, L.C., D.X. Tan, R.J. Reiter, W. Park, K. Monis, W.B. Qi, 2000. High levels of melatonin in the seeds of edible plants: possible function in germ tissue protection. *Life Sciences* 67(25):3023-3029.
  32. Munsuz, N., G. Çaycı, S. Sözüdoğru Ok, 2001. Toprak ıslahı ve düzenleyiciler (tuzlu ve alkali toprakların ıslahı). *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 1518, Yardımcı Ders Kitabı No: 471*.
  33. Özden, Ö., N. Erkan, M.C. Deval, 2009. Trace mineral profiles of the bivalve species *Chamelea gallina* and *Donax trunculus*. *Food Chemistry* 113:222-226.
  34. Park, S., K. Back, 2012. Melatonin promotes seminal root elongation and root growth in transgenic rice after germination. *Journal of Pineal Research* 53:385-389.
  35. Posmyk, M.M., K.M. Janas, 2009. Melatonin in plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 31:1-11.
  36. Posmyk, M.M., H. Kuran, K. Marciniak, K.M. Janas, 2008. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. *Journal of Pineal Research* 45:24-31.
  37. Reiter, R.J., 1991. Pineal melatonin: cell biology of its physiological interactions. *Endocrine Reviews* 12:151-181.
  38. Reiter, R.J., L.C. Manchester, D.X. Tan, 2005. Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition* 21:920-924.
  39. Reiter, R.J., D.X. Tan, 2002. Melatonin: an antioxidant in edible plants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 957:341-344.
  40. Reiter, R.J., D.X. Tan, L.C. Manchester, A.P. Simopoulos, M.D. Maldonado, L.J. Flores, M.P. Terron, 2007. Melatonin in edible plants (phytomelatonin); identification, concentrations, bioavailability and proposed functions. *World Review of Nutrition and Dietetics* 97:211-230.
  41. Rodriguez, C., J.C. Mayo, R.M. Sainz, I. Antolin, F. Herrera, V. Martin, R.J. Reiter, 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research* 36(1):1-9.
  42. Saltalı, K., 2015. Çorak toprakların oluşumu, ıslahı ve kullanımı. *Toprak amenajmanı*. (Ed.: Erşahin, S., Öztaş, T., Namli, A., Karahan, G.) *Gazi Yayınevi, Ankara*.
  43. Sarropoulou, V., K. Dimassi-Therrioru, I. Therios, M. Koukourikou-Petridou, 2012. Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* × *Prunus cerasus*). *Plant Physiology and Biochemistry* 61:162-168.
  44. Sarrou, E., I. Therios, K. Dimassi-Theriou, 2014. Melatonin and other factors that promote rooting and sprouting of shoot cuttings in *Punica granatum* cv. wonderful. *Turkish Journal of Botany* 38:293-301.
  45. Shi, H., Z. Chan, 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.
  46. Shi, H., C. Jiang, T. Ye, D.X. Tan, R.J. Reiter, H. Zhang, R. Liu, Z. Chan, 2015. Comparative physiological, metabolomics and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress



- resistance in Bermuda grass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] by exogenous melatonin. *Journal of Experimental Botany* 66:681-694.
47. Şalk, A., L. Arın, M. Deveci, S. Polat, 2008. Özel sebzecilik. *Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ISBN:978-9944-0786-0-3, 488s.*
48. Tal, O., A. Haim, O. Harel, Y. Gerchman, 2011. Melatonin as an antioxidant and its semi-lunar rhythm in green macro alga *Ulva* v sp. *Journal of Experimental Botany* 62:1903-1910.
49. Teixeira, A., M.P. Morfim, C.A.S. De Cordova, C.C.T. Charão, V.R. De Lima, T.B. Creczynski-Pasa, 2003. Melatonin protects against prooxidant enzymes and reduces lipid peroxidation in distinct membranes induced by the hydroxyl and asorbyl radicals and by peroxyxynitrite. *Journal of Pineal Research* 35(4):262-268.
50. Terrón, M.P., J.M. Marchena, F. Shadi, S. Harvey, R.W. Lea, A.B. Rodríguez, 2001. Melatonin: an antioxidant at physiological concentrations. *Journal of Pineal Research* 31:95-96.
51. Wang, P., X. Sun, C. Li, Z. Wei, D. Liang, F. Ma, 2013. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. *Journal of Pineal Research* 54:292-302.
52. Wei, W., Q.T. Li, Y.N. Chu, R.J. Reiter, X.M. Yu, D.H. Zhu, W.K. Zhang, B. Ma, Q. Lin, J.S. Zhang, S.Y. Chen, 2015. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal Experimental Botany* 66:695-707.
53. Yakupoğlu, G., 2016. Patlıcan (*Solanum melongena* L.)'da melatonin içeriğinin ve üşüme stresine karşı etkisinin belirlenmesi (Doktora Tezi). *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Bölümü, 103s.*
54. Yakupoğlu, G., Ş. Köklü, A. Korkmaz, 2018. Bitkilerde melatonin ve üstlendiği görevler. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* 21(2):264-276.
55. Zhang, H.J., W.D. Huang, Y.P. Liu, Q.H. Pan, 2005. Effects of temperature acclimation pretreatment on the ultrastructure of mesophyll cells in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. *Jingxiu*) under cross-temperature stresses. *Journal of Integrative Plant Biology* 47:959-970.
56. Zhang, N., B. Zhao, H.J. Zhang, S. Weeda, C. Yang, Z.C. Yang, S. Ren, Y.D. Guo, 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research* 54:15-23.
57. Zhang, Y., H. Guo, H. Kwan, J.W. Wang, J. Kosek, B. Lu, 2007. PAR-1 kinase phosphorylates DLG and regulates its postsynaptic targeting at the drosophila neuromuscular junction. *Neuron* 53(2):201-215.
58. Zhang, N., Q. Sun, H. Li, X. Li, Y. Cao, H. Zhang, S. Li, L. Zhang, Y. Qi, S. Ren, B. Zhao, Y.D. Guo, 2016. Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Frontiers in Plant Science* 7.197 pp:1-17. (doi:10.3389/fpls.2016.00197).
59. Zuo, B., X. Zheng, P. He, L. Wang, Q. Lei, C. Feng, J. Zhou, Q. Li, Z. Han, J. Kong, 2014. Overexpression of MzASMT improves melatonin production and enhances drought tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants. *Journal of Pineal Research* 57:408-417.