

Article Arrival Date

30.11.2020

Article Type

Research Article

Article Published Date

15.12.2020

Doi Number: <http://dx.doi.org/10.38063/ejons.364>**TUZ STRESİNE MARUZ BIRAKILAN *Raphanus sativus* L.'DE EMBRİYONİK YAPRAK (KOTİLEDON) GELİŞİMLERİ**EMBRYONIC LEAF (COTYLEDON) DEVELOPMENTS IN *Raphanus sativus* L. EXPOSED TO SALT STRESS**Güler ÇOLAK**

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

Sorumlu Yazar: gulercolak029@gmail.com**Öznur KESER**Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mezun Öğrenci,
Eskişehir, Türkiye**Ercan ÇATAK**

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

ÖZET

987

Geçmişte daha az kaygı uyandıran; günümüzde dünyanın birçok bölgesinde bitkisel üretimin geleceği açısından önemli bir tehdit olarak algılanan toprak tuzluluğu, bitki büyüme ve ürün verimliliğini sınırlandıran en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Kurak ve yarı kurak bölge toprakları başta olmak üzere yeryüzü topraklarının büyük bir bölümünde bitkiler tuz stresine maruz kalmaktadır. Farklı ıslah işlemleri uygulanarak tuzlu toprakların fizikokimyasal özelliklerinin iyileştirilebilmesine yönelik olarak sarf edilen yoğun çabaların yanı sıra, özellikle kültür bitkilerinin tuzluluğa karşı olan hassasiyet veya mukavemetlerindeki varyasyonu belirlemeye yönelik olarak da çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bu araştırmaların büyük çoğunluğu da genotipler seviyesindedir. Bizim araştırmamızda ise "Epigeik çimlenen tohumlarda çimlenmeyi ardışık gelişen çok genç fideciklerde tuzdan etkilenen yapısal özellikler içinde kotiledon açılma frekans pozitifliği bir stres parametresi olarak algılanabilir mi?" sorusuna tuza hassas olarak bilinen *Raphanus sativus* L. (turp) bitkisinin iki farklı genotipinde, Na⁺ katyonu kaynaklı tuzlar kullanılarak cevap aranmıştır. Epigeik çimlenen tohumlarda kotiledon açılma frekans pozitifliği, tuz tipi ve miktarı ile inkübasyon şartlarına bağlı olarak bazı bitki genotiplerinin tuz stresine reaksiyonlarının değerlendirilmesinde bir stres parametresi olarak algılanabilir sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Tuzluluk, tuz stresi, kotiledon, *Raphanus sativus* L.**ABSTRACT**

Soil salinity, which used to raise less concern in the past, and is perceived as an important threat to the future of plant production in many parts of the world today, is one of the most important abiotic stress factors that inhibit plant growth and crop productivity. Plants are exposed to salt stress in a large part of the earth's soil, especially in arid and semi-arid lands. In addition to intensive efforts to improve the physicochemical properties of saline soils by applying different reclamation

procedures, a high number of studies have been carried out in order to determine the variation in the salt tolerance of cultivated plants in particular. The majority of these studies are at genotype level. By using different types of salt of Na^+ cation origin in the two different genotypes of *Raphanus sativus* L. (turnip) plant, which is known to have low salt tolerance, our study attempts to find the answer to the following question: "Is it possible to perceive the positivity of cotyledon opening frequency as a stress parameter in structural properties affected by salt in very young seedlings that develop following the germination in epigeal germinating seeds?" The conclusion reached was that the positivity of cotyledon opening frequency can be perceived as a stress parameter in the evaluation of the responses of certain plant genotypes to salt stress depending on the salt type and amount and incubation conditions in epigeal germinating seeds.

Keywords: Salinity, salt stress, cotyledon, *Raphanus sativus* L.

1. GİRİŞ

Bitkiler için en önemli abiyotik stres faktörlerinden biri olarak kabul edilen toprak tuzluluğu: "toprakta sodyum, kalsiyum ve magnezyum tuzlarının klorürler, sülfatlar ve karbonatlar halinde birikimi" olarak tanımlanmaktadır [1]. Taban suyu seviyesinin yüksek, drenajın zayıf olduğu yerlerde, tuzlu yer altı sularıyla yapılan bilinçsiz sulama işlemleri, toprakta tuz birikimiyle sonuçlandığı gibi [2]; modern tarımsal tekniklerin bilinçsiz kullanımı da tuz stresini tarımın belli başlı en büyük problemlerinden biri haline getirmiştir [3]. Dünya üzerindeki toplam karasal alanların yaklaşık % 6-7'sinin [4, 5], sulama yapılan karasal alanların yaklaşık yarısının tuzdan etkilendiği bildirilmektedir [6]. Toprak tuzluluğu, toprak tuz içeriğinin doğal olarak yüksek ve yağışların filtrasyon için yetersiz olduğu kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde çok daha kritik bir öneme sahiptir [7]. Nitekim; Munns ve arkadaşlarının bir çalışmalarında, 2050 yılına kadar Avustralya'da 17 milyon hektar alanın tuzlanabileceğine veya tuzluluk riski altına girebileceğine işaret edilmektedir [4]. Aynı görüşe göre, bu boyutlardaki bir yüzölçümü, Avustralya'nın tarıma uygun karasal alanlarının yaklaşık üçte birini temsil etmektedir [4]. Avustralya ve Pakistan gibi ülkeler, tuzluluğu ulusal bir sorun olarak değerlendirmektedir [8]. Türkiye'deki tarımın geleceği açısından da bilinçsiz sulamanın beraberinde getirdiği tuzlanma olgusu, özellikle GAP bölgesi için; "deniz sularının yer altı sularına girişi" sahil şeridi için büyük bir tehdit oluşturmaktadır [9-12]. Nitekim Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nün bir çalışmasına göre [12]: "Türkiye şartlarında drenaj problemlili toprakların yarıdan fazlasının, toplam arazinin en az % 2 kadarının veya yaklaşık olarak 1.5 milyon hektar arazinin tuz ve/veya alkalilik sorunundan etkilenmiş olduğu" kabul edilmektedir ("hafif tuzlu: 615000 hektar, tuzlu: 505000 hektar, hafif tuzlu-alkali: 126000 hektar, tuzlu alkali: 265000 hektar"). Ancak aynı çalışma, gerçekte Türkiye için sorunun çok daha büyük boyutlarda olduğuna dikkatleri çekmektedir [12]. Nitekim fidanlıklardaki ve sera topraklarındaki tuzlanma problemi, açık tarım arazilerindeki tuzlanmaya göre çok daha sık ve çok daha çabuk meydana gelebilen bir olgu olarak tanımlanmaktadır [13, 14]. Günay ve Okur'un, "Sera Toprağı" adlı çalışmalarında, bu kritik olgunun mekanizmalarına açıklık getirilmiştir [14].

Tuzun, yüksek tuz konsantrasyonlarının, toprak çözeltisinde yaratmış olduğu olağanüstü düşük osmotik potansiyel ve bunun doğal sonucu olan fizyolojik kuraklık etkileri nedeniyle, bazı genotiplerde osmotik bazı genotiplerde toksik olabilen etkilerinden söz edilmektedir [6, 15-18]. Bununla birlikte; çoğu çalışmada, çimlenme ve başlangıç büyüme (ilk fide gelişimi) dönemi, bitkinin toplam hayat döngüsü içinde tuzluluğa en hassas dönem olarak kabul edilmektedir [19, 20].

"Tohum çimlenmesi, tohum içindeki embriyonun yeniden büyümeye başlaması" olarak tanımlanmaktadır [18]. Epigeik çimlenen tohumlarda, suyun imbibisyonunu ardışık kök ve gövde taslaklarının büyümesi, embriyo kotiledonlarının toprak yüzeyine çıkmasını sağlamaktadır [18]. "Embriyonik yapraklar" ya da "bitkilerin ilk oluşan yaprakları" olarak da tanımlanabilen kotiledonlar, epigeik çimlenen tohumlarda, uzayan embriyo eksenini ile toprak yüzeyine taşıyıcılar [21]. Toprak yüzeyine taşınan kotiledonlar, zamanla yeşillenirler ve epikotilden ilk gerçek yapraklar ortaya çıkıncaya dek çok etkili bir fotosentez fonksiyonu görürler [22].

Toprakta yüksek milimolar konsantrasyonlarda sodyum, bitkisel üretimde verimliliği özellikle hassas genotiplerde şiddetle azaltmaktadır [15, 23]. Çalışmamızda, "Epigeik çimlenen tohumlarda çimlenmeyi ardışık gelişen çok genç fideciklerde tuzdan etkilenen yapısal özellikler içinde kotiledon açılma frekans pozitifliği bir stres parametresi olarak algılanabilir mi?" sorusuna, tuza hassas olarak bilinen *Raphanus sativus* L. (turp) bitkisinin iki farklı genotipinde, Na⁺ katyonu kaynaklı farklı tuzlar kullanılarak cevap aranmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

Çalışmamızın araştırma materyalini *Brassicaceae* (*Cruciferae*) familyası üyelerinden olan ve tuza hassas olarak tanımlanan [24] *Raphanus sativus* L. (turp) oluşturmıştır. Türün iki farklı kültür varyetesi inceleme kapsamına alınmıştır. Araştırma materyalimizi oluşturan bitki tohumları (*Raphanus sativus* L. cv. 8TR-17 ve *Raphanus sativus* L. cv. 8TR-18), Geçit Kuşağı Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmişlerdir.

Klasik doku kültürü işlem ve uygulamaları için önerilen teknikler esas alınarak [25, 26], bitki tohumları, öncelikle bir seri yüzeysel sterilizasyon işlemlerinden geçirilmişlerdir. Bu amaçla, uzun süreli musluk suyunda yıkanıp ardından % 96'lık etil alkol içinde 1 dakika, % 5'lik sodyum hipoklorit içinde 20-25 dakika bekletilmişlerdir. Sterilizasyon süreleri sona erdiğinde, steril saf su banyolarından geçirilerek sodyum hipokloritten arındırılmışlardır.

Steril tohumlar, içlerinde steril filtre kağıtları bulunan steril petri kaplarına, steril bir ortamda, steril pensler yardımıyla 50'şer adet olmak üzere ekilmişlerdir. Çalışmada, her genotip ve her uygulama için 50'şerli gruplar halinde 400'er adet tohumun ekimi sağlanmıştır. Ancak inkübasyon süreleri sona erdiğinde, her genotip ve her uygulama için tamamen tesadüfi olarak seçilen 50'şerli gruplar halinde toplam 200'er adet tohum, fotoperiyot ve karanlık uygulamaları bünyesinde değerlendirme kapsamına alınmıştır.

Sodyum katyonu kaynaklı tuzluluk oluşturabilmek için iki farklı tuz tipi tercih edilmiştir. Bu tuzlar, NaCl ve Na₂CO₃'dür. Her bir tuz tipi için de 7 farklı konsantrasyon belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar 5, 20, 50, 200, 500, 2000 ve 5000 ppm olarak seçilmiştir. Ayrıca bütün serilerde bir de kontrol grup bulundurulmuştur. Kontrol grubu oluşturan bitki tohumlarına araştırma süresince sadece steril saf su (0 ppm) verilmiştir. Böylelikle her bir seri için 8 farklı uygulama gerçekleştirilmiştir. İlk ekim esnasında, her bir petri kabı için 3'er ml tuz çözeltisi kullanılması yeterli olmuştur. Ancak inkübasyon periyodu boyunca, her gün yapılan gözlemlerde, gerektiğinde petri kaplarına eşit miktarlarda çözelti ilaveleri yapılmıştır.

Sterilizasyon ve ekim işlemleri tamamlanan bitki tohumları için iki farklı inkübasyon ortamı tercih edilmiştir. Bu tercih doğrultusunda, aynı genotipe ait olan ve her bir seri için 50'şerli gruplar halinde 400'er adet olarak ekimi yapılan tohumların yarısı 25 ± 1 °C sıcaklığı olan bir kültür odasında, 16 saat ışık / 8 saat karanlık şeklinde düzenlenen bir fotoperiyodik indüksiyona maruz bırakılmışlardır. Petri kapları seviyesindeki ışık şiddetinin 11000 lüks civarında olmasına özen gösterilmiştir (11000 ± 100 lüks). Aynı genotipe ait olan ve aynı deneysel işlemlerden geçen bitki tohumlarının diğer yarısı ise 25 °C sıcaklığı olan bir etüvde karanlık şartlarda inkübasyona alınmışlardır.

Raphanus sativus cv. 8TR-17 ve *Raphanus sativus* cv. 8TR-18 için on ikişer gün olarak tespit edilen inkübasyon süreleri sonunda, tohumlarda, öncelikle çimlenme açısından bir değerlendirme yapılmıştır. Çimlenme, inkübasyon periyodu boyunca her 24 saatte bir kaydedilmiştir. Standart çimlenme fizyolojisi çalışmaları için önerilen: "tohum içindeki embriyonun yeniden büyümeye başlaması" [18], "tohumun testasından radikulanın kendini göstermesi" [21, 22] çimlenme için yeterli kriter olarak değerlendirilmiştir. Sonraki aşamalarda, fideciklerin kökçük, hipokotil ve kotiledonlarında makromorfolojik gözlemler gerçekleştirilerek kotiledonların testadan çıkış frekansları belirlenmiştir. Na₂CO₃ tipi tuz stresinin tohum çimlenme oranları üzerindeki etkileri daha önceki bir çalışmamızda yayınlanmıştır [27].

Çimlenen tohumlarda kotiledon açılma frekans pozitifliğini belirlemeye yönelik fizyolojik çalışmalarda istatistiksel bir değerlendirme yapabilmek için, çeşitli konsantrasyon değerlerindeki çimlenme sayılarına ve kotiledon açılma frekans tablolarına kontenjans tabloları yapılarak non-parametrik testlerden X^2 testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

Fotoperiyodik indüksiyon altında inkübasyona alınan *Raphanus sativus* cv. 8TR-17 fideciklerinin kotiledon açılma frekans pozitifliği artan NaCl konsantrasyonlarına bağlı olarak incelendiğinde, 5000 ppm NaCl uygulanan fideciklerin kotiledon açılma frekans pozitifliğinde anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Kontrol grup dahil 5000 ppm'e kadar olan diğer serilerin kotiledon açılma frekans pozitifliği yüksek olmuştur ($p=0,000$) (Tablo 1).

Tablo 1: Fotoperiyodik indüksiyon altında NaCl tipi tuz stresine maruz bırakılan *Raphanus sativus* L. fideciklerinde kotiledonların açılma frekansları (%)

Genotip	Parametre	Tuz (NaCl) Konsantrasyonu (ppm)							
		0	5	20	50	200	500	2000	5000
8TR-17	Açılan Kotiledon Sayısı	90	83	88	86	81	84	47	15
	Kotiledon Açılma Frekansı	100	100	94,6	100	100	95,5	97,9	83,3
8TR-18	Açılan Kotiledon Sayısı	88	99	83	86	79	85	47	19
	Kotiledon Açılma Frekansı	100	100	98,8	100	98,8	97,7	100	76,0

990

Tablo 2: Karanlık şartlar altında NaCl tipi tuz stresine maruz bırakılan *Raphanus sativus* L. fideciklerinde kotiledonların açılma frekansları (%)

Genotip	Parametre	Tuz (NaCl) Konsantrasyonu (ppm)							
		0	5	20	50	200	500	2000	5000
8TR-17	Açılan Kotiledon Sayısı	39	47	42	41	39	43	14	11
	Kotiledon Açılma Frekansı	83,0	97,9	100	100	92,9	97,7	100	91,7
8TR-18	Açılan Kotiledon Sayısı	70	73	59	74	77	66	42	22
	Kotiledon Açılma Frekansı	98,6	98,6	100	100	100	98,5	95,5	100

R. sativus cv. 8TR-17, karanlık şartlarda inkübasyona alındığında, kontrol grup değerinin NaCl uygulanan tüm serilerden anlamlı olarak düşük olduğu tespit edilmiştir. Nitekim tuz uygulanan fidelikler içinde en düşük ortalamanın elde edildiği 5000 ppm NaCl konsantrasyonunda dahi kotiledon açılma frekans pozitifliği % 91,7'dir ($p = 0,002$) (Tablo 2).

R. sativus cv. 8TR-17 fideliklerinin, fotoperiyodik indüksiyon altında ve karanlık şartlardaki kotiledon açılma frekans pozitifliği, artan NaCl konsantrasyonlarına bağlı olarak karşılaştırıldığında, fotoperiyodik indüksiyon altında çimlenen toplam 587 tohumdan 574'ünde kotiledon gelişimleri izlenebilmiştir (% 97,8). Karanlık uygulamalarında ise çimlenen toplam 290 tohumdan 276'sı (% 95,2) kotiledon açılma frekans pozitifliği sergileyebilmiştir.

Artan Na_2CO_3 konsantrasyonlarının etkilerine maruz bırakılan *R. sativus* cv. 8TR-17 fideliklerinin kotiledon açılma frekans pozitifliği de fotoperiyot uygulamalarında (% 98,3) karanlık şartlarda elde edilen değerden (% 89,6) yüksek bulunmuştur. Fotoperiyot ve Na_2CO_3 uygulamalarında çimlenen 516 tohumdan 507'sinde; karanlık ve Na_2CO_3 uygulamalarında çimlenen 269 tohumdan 241'inde kotiledon gelişimleri izlenebilmiştir. Fotoperiyot şartlarında inkübasyona alınan 8TR-17 fidelikleri, 2000 ve özellikle 5000 ppm Na_2CO_3 konsantrasyonlarında anlamlı düşüşler sergilemişlerdir ($p = 0,000$). Kontrol grup dahil inceleme kapsamına alınan diğer tüm serilerde fideliklerin kotiledon açılma frekansları yüksek olup birbirine benzer değerler vermiştir. Karanlık şartlardaki 5000 ppm Na_2CO_3 uygulamasında, tohumlarda çimlenme olmamıştır [27]. Diğer serilerin kotiledon açılma frekans pozitifliği, Na_2CO_3 uygulamalarına bağlı olarak anlamlı farklılıklar oluşturamamıştır ($p = 0,211$) (Tablo 3 ve Tablo 4).

Tablo 3: Fotoperiyodik indüksiyon altında Na_2CO_3 tipi tuz stresine maruz bırakılan *Raphanus sativus* L. fideliklerinde kotiledonların açılma frekansları (%)

Genotip	Parametre	Tuz (Na_2CO_3) Konsantrasyonu (ppm)							
		0	5	20	50	200	500	2000	5000
8TR-17	Açılan Kotiledon Sayısı	90	90	77	78	75	49	30	18
	Kotiledon Açılma Frekansı	100	100	98,7	100	98,7	100	93,8	78,3
8TR-18	Açılan Kotiledon Sayısı	88	86	78	75	79	81	45	30
	Kotiledon Açılma Frekansı	100	96,6	98,7	100	97,5	96,4	95,7	90,9

Fotoperiyodik indüksiyon altında inkübasyona alınan *Raphanus sativus* cv. 8TR-18 fidelikleri, 5000 ppm'e kadar olan NaCl konsantrasyonlarında çok yüksek kotiledon açılma frekans pozitifliği değerleri vermişlerdir. 5000 ppm'e kadar olan serilerle elde edilen ortalama değerler, kontrol grup değerine benzerdir (Tablo 1). Bu gruptaki anlamlı tek farklılık, 5000 ppm NaCl konsantrasyonundaki düşüşle elde edilmiştir. Ancak 5000 ppm NaCl konsantrasyonunda dahi kotiledon açılma frekans pozitifliği % 76 seviyesindedir ($p = 0,000$).

R. sativus cv. 8TR-18 fidelikleri, karanlık şartlarda inkübasyona alındığında, 0-5000 ppm NaCl konsantrasyonlarında elde edilen ortalama değerler istatistiki açıdan benzerdir (Tablo 2). NaCl uygulamalarına bağlı olarak fideliklerin kotiledon açılma frekans pozitifliğinde anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p = 0,323$). Tüm konsantrasyon değerlerinde kotiledon açılma frekans pozitifliği yüksek olmuştur.

NaCl tipi tuz stresi ve fotoperiyodik indüksiyon altında çimlenen 596 tohumdan 586'sında kotiledon gelişimleri izlenebilirken (% 98,3); karanlık şartlarda ve NaCl tipi tuz stresi altında çimlenen 488 tohumun 483'ünde kotiledon açılma frekans pozitifliği elde edilebilmiştir (% 99).

Artan konsantrasyonlarda Na₂CO₃ uygulanıp fotoperiyodik indüksiyona maruz bırakılan *R. sativus* cv. 8TR-18'de kotiledon açılma frekans pozitifliği açısından anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p= 0,096). İnceleme kapsamına alınan tüm serilerde kotiledonlar, çok yüksek düzeylerde açılmalar göstermişlerdir. Grubun genel kotiledon açılma frekans pozitifliği ise % 97,6'dır. Bir başka ifade ile Na₂CO₃ tipi tuz stresi altında çimlenebilen toplam 576 tohumdan 562'si kotiledon açılma frekans pozitifliği göstermiştir (Tablo 3).

R. sativus cv. 8TR-18, karanlık şartlarda inkübasyona alındığında, kotiledonların açılma frekanslarında 2000 ve özellikle 5000 ppm Na₂CO₃ konsantrasyonlarında anlamlı düşüşler saptanmıştır. 50 ppm'de düzensiz de olsa bir düşme eğilimi vardır. Kontrol grup dahil inceleme kapsamına alınan diğer tüm serilerde kotiledon açılma frekansları yüksektir ve birbirlerine benzer değerler vermiştir. Na₂CO₃ + karanlık uygulanan serilerin genel kotiledon açılma frekans pozitifliği ise % 93,8 olmuştur (p= 0,000). Na₂CO₃ + karanlık uygulamalarında çimlenebilen toplam 450 tohumun 422'si kotiledon açılma frekans pozitifliğine sahiptir (Tablo 4).

Tablo 4: Karanlık şartlar altında Na₂CO₃ tipi tuz stresine maruz bırakılan *Raphanus sativus* L. fideciklerinde kotiledonların açılma frekansları (%)

Genotip	Parametre	Tuz (Na ₂ CO ₃) Konsantrasyonu (ppm)							
		0	5	20	50	200	500	2000	5000
8TR-17	Açılan Kotiledon Sayısı	39	36	50	36	36	29	15	-
	Kotiledon Açılma Frekansı	83,0	83,7	90,9	90,0	94,7	100	88,2	
8TR-18	Açılan Kotiledon Sayısı	70	59	58	60	52	67	40	16
	Kotiledon Açılma Frekansı	98,6	96,7	95,1	87,0	96,3	98,5	93,0	69,6

Çalışmamızda, fotoperiyodik indüksiyon altında ve 5 ppm NaCl konsantrasyonunda inkübasyona alınan *R. sativus* cv. 8TR-18 tohumlarının çimlenme oranlarında anlamlı bir artış tespit edilmiştir. 2000 ppm'e kadar olan NaCl konsantrasyonlarında kontrol grup değerine benzer değerler elde edilmiştir. Tohumların çimlenme oranlarında 2000 ppm NaCl konsantrasyonuyla başlayan anlamlı düşüş, 5000 ppm'de belirginleşerek devam etmiştir (p= 0,000). Karanlık şartlarda ve NaCl tipi tuz stresi altında çimlenmeye terk edilen tohumların çimlenme oranlarında da sadece 2000 ve 5000 ppm'lerdeki düşüşler istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (p= 0,000). NaCl tipi tuz stresi uygulanan *R. sativus* cv. 8TR-17 tohumlarının çimlenme oranlarında da 2000 ve özellikle 5000 ppm NaCl konsantrasyonlarında anlamlı düşüşler tespit edilmiştir (fotoperiyot ve karanlık uygulamaları için sırasıyla p= 0,000 ve p= 0,000).

Çalışmamızda, fotoperiyodik indüksiyon altında NaCl ve Na₂CO₃ uygulanan tüm gruplarda maksimum çimlenme oranlarına erişilebilmesi için ihtiyaç duyulan süreler, kontrol grup değerine benzer olmuştur.

Fotoperiyodik indüksiyon altında inkübasyona alınan *R. sativus* cv. 8TR-17'nin kontrol gruplarında tohum çimlenmesi, 2. günde başlarken; maksimum çimlenmeye 8. günde ulaşılmıştır. 2000 ve 5000 ppm NaCl uygulanan serilerde çimlenme, ilk kez 4. günde başlamış; 5-500 ppm değerleri ise kontrol grup değerine benzer olmuştur. Karanlık şartlarda inkübasyona alınan *R. sativus* cv. 8TR-17'nin 0-50 ppm NaCl uygulanan serileri, çimlenmeye 2. gün; 200 ve 500 ppm NaCl uygulanan serileri, 4. gün; 2000 ve 5000 ppm NaCl uygulanan serileri, 6. günde başlamıştır. Maksimum çimlenme için ihtiyaç duyulan süreler tüm gruplarda kontrol grup değerine benzer olmuştur.

Aynı genotipin Na₂CO₃ uygulanan serilerinde, 0-200 ppm serileri benzer reaksiyonlar gösterirken; 500-5000 ppm Na₂CO₃ uygulanan serilerde, çimlenmenin gerçekleşebilmesi için ilave iki güne ihtiyaç duyulmuştur.

Karanlık şartlarda inkübasyona alınan *R. sativus* cv. 8TR-17'nin, 0-20 ppm Na₂CO₃ uygulanan serileri benzer sonuçları vermiştir. 50-500 ppm Na₂CO₃ uygulanan serilerde çimlenme, 2 gün gecikmiştir. 2000 ppm'de çimlenme, ilk kez 6. günde tespit edilebilirken; 5000 ppm'de çimlenme olmamıştır. Maksimum çimlenme, 0-20 ppm aralığında 8. gün, 50-2000 ppm aralığında 10. günde sağlanmıştır.

Fotoperiyot uygulanan ve karanlık şartlarda yetiştirilen *R. sativus* cv. 8TR-18'in kontrol gruplarında çimlenme, 2. günde başlamış; maksimum çimlenmeye 8. günde ulaşılmıştır. Fotoperiyot ve artan konsantrasyonlarda NaCl uygulanan tüm gruplarda da maksimum çimlenmeye ulaşılabilmesi için 8 günlük bir inkübasyon süresi yeterli olmuştur. 0-500 ppm aralığı, çimlenmeye aynı gün başlayabilirken; 2000 ve 5000 ppm NaCl uygulanan tohumlarda çimlenmenin görülebilmesi için ilave 2 güne ihtiyaç olmuştur. Aynı genotipin karanlık uygulanan serileri de fotoperiyot uygulanan serileriyle benzer sonuçları vermiştir.

Fotoperiyodik indüksiyon altında Na₂CO₃ uygulanan *R. sativus* cv. 8TR-18 tohumları, NaCl uygulanan tohumlara benzer cevaplar oluşturmuştur. Aynı genotip, karanlık şartlarda inkübasyona alındığında, 0-50 ppm değerleri benzer olmuş; 50 ppm'den daha yüksek Na₂CO₃ konsantrasyonlarında çimlenmenin başlayabilmesi için ilave iki güne ihtiyaç duyulmuştur. Karanlık şartlarda 5000 ppm Na₂CO₃ uygulanan tohumlarda maksimum çimlenme, 10. günde sağlanmıştır. Daha düşük Na₂CO₃ konsantrasyonları, kontrol grup değerine benzer cevaplar vermiştir.

4. TARTIŞMA

Ayers'e göre: "Birçok bitki türünde çimlenen tohumlar üzerinde tuzun toksik etkileri sadece çimlenme yüzdelerindeki düşüşlerle sınırlı kalmaz. Çimlenme için ihtiyaç duyulan süreler de uzamaktadır" [28]. Nitekim bir çalışmada, *Lycopersicon esculentum* tohumları, 80 mM NaCl konsantrasyonunda çimlenebilmek için kontrol grup değerinden yaklaşık % 50 daha fazla ilave güne ihtiyaç duymuşlardır. 190 mM NaCl konsantrasyonunda çimlenebilmek için ihtiyaç duyulan ilave gün sayısı % 100'ün üzerine çıkmıştır [20]. Sera şartlarında saksı denemeleri şeklinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada da tuz konsantrasyonlarındaki artışlar (25-100 mmol NaCl), *L. esculentum* tohumlarının çıkış sürelerini geciktirmiştir. Kontrol uygulamasında ortalama 9.78 gün olan çıkış zamanı, 25 mmol NaCl konsantrasyonunda 11.07 güne, 50 mmol NaCl konsantrasyonunda 14.44 güne, 100 mmol NaCl konsantrasyonunda 21.58 güne ertelenmiştir [29]. *Chenopodium quinoa* tohumları, 0.1-0.4 M NaCl konsantrasyonlarının etkilerine maruz bırakıldıklarında [30], tohumların çimlenme hızlarında 0.2 ve 0.3 M NaCl konsantrasyonlarıyla şiddetli düşüşler başlamış; 0.1 M NaCl konsantrasyonunun, çimlenme hızları üzerinde anlamlı bir etkisi olmamış; maksimum gecikme ise 0.4 M NaCl konsantrasyonuyla sağlanmıştır [30]. Bu ve benzeri sorunlar genellikle çimlenmenin imbibisyon fazında tohumların topraktan su alınımlarının engellenmesiyle açıklanmıştır [20]. Spesifik iyon etkilerini tümüyle saf dışı bırakmamakla birlikte tuz stresi çalışan pek çok araştırmacı gibi biz de gözlemlediğimiz gecikmelerin yüksek tuz

konsantrasyonlarının neden olduğu düşük osmotik potansiyeller ve doğal sonucu olan fizyolojik kuraklık etkilerinden kaynaklandığını düşünüyoruz.

Her ne kadar “bitkilerin tuz stresine maruz kalması genellikle köklerin strese maruz kalmasıyla” başlasa da [20] stres, bitkilerin hem toprak altı hem de toprak üstü organlarında farklı etkiler oluşturabilmektedir [15, 31]. Tuzdan etkilenen bitki organlarından biri de yapraklardır. Nitekim, *Persea americana*'nın çok sayıda vegetatif sürgün büyüme parametresi üzerine NaCl tipi tuz stresi (4 mM Na⁺ ve 6 mM Cl⁻ ile 18 mM Na⁺ ve 20 mM Cl⁻) etkilerini inceleyen bir çalışmada, 4 vegetatif klonda yaprak büyüklüğü tuz stresi yoluyla farklı şekillerde etkilenirken, bunlardan özellikle 2 tanesinde maksimal yaprak büyüklüğündeki azalmayı işaret eden görünümle karşılaşmıştır [15]. *Vigna radiata*'nın 4 farklı genotipini tuzluluk (4-12 dSm⁻¹ NaCl) toleransı açısından değerlendiren bir başka çalışmada, bitki başına düşen toplam fotosentetik yaprak alanı genotipler arasında en az % 63, en fazla % 82 düzeylerinde azalma eğilimleri gösterirken; yeşil trifoliat yaprak sayıları, tüm genotiplerde tuz stresinden en çok etkilenen parametre olarak belirlenmiştir [32]. Tuz stresi (2.6-20.0 dSm⁻¹ NaCl) uygulanan *Vigna unguiculata*'nın yaprak alanı ve yaprak kuru ağırlıklarında anlamlı azalmalar tespit edilmiş ancak test edilen 12 genotip arasında önemli tuz tolerans farklılıkları da gözlenmiştir [33]. NaCl ve CaCl₂'ün eşdeğer miktarlarının ilavesiyle hazırlanan elektriksel iletkenlik değerleri 0.9-3.6 dSm⁻¹ arasında değişen tuz çözeltilerinde inkübasyona alınan *L. esculentum*'da ise tuzluluk, bitkilerin toplam yaprak alanını etkilemiş ancak etkisi şiddetli olmamış ve zamanla azalmıştır [34].

Tohumlu bitkiler, yapısal ve işlevsel olarak farklı yaprak tiplerine sahiptirler. Bilindiği gibi kotiledonlar, bitkilerin ilk oluşan yapraklarıdır [21]. Epigeik çimlenen tohumlarda epikotilden ilk gerçek yapraklar oluşuncaya dek fotosentetik açıdan aktiftirler. Böylelikle ilk gerçek yaprakların ortaya çıkışına hizmet eder; hatta ilk gerçek yaprakların ortaya çıkış sürelerini de etkileyebilirler. Endospermi olmayan kimi bitki tohumlarında rezerv besin kaynağı olarak da düşünülebilirler. Bu yüzden kanaatimizce epigeik çimlenen tohumlarda kotiledon açılma frekans pozitifliği, tuz tipi ve miktarı ile inkübasyon şartlarına bağlı olarak bazı bitki genotiplerinin tuz stresine reaksiyonlarının değerlendirilmesinde bir stres parametresi olarak düşünülebilir. Nitekim *Solanum melongena* ile yapılan bir çalışmada da bitki tohumları, 35-140 mM NaCl etkilerine maruz bırakıldıklarında; NaCl tipi tuzluluğa fide evresinin çimlenme evresinden çok daha hassas olduğu tespit edilmiş; tuzluluk, fide büyümesini toplam çimlenme yüzdesinden çok daha şiddetle etkilerken; 70 ve 140 mM gibi yüksek NaCl konsantrasyonlarında, fide gelişimindeki gerilemeden sorumlu iki temel anomaliden birisi "kotiledon açılmasındaki başarısızlık" olarak kaydedilmiştir [35]. Tohumlarına NaCl tipi tuz stresi uygulanan *L. esculentum*'da, uygulanan NaCl konsantrasyonlarındaki artışlara (25-100 mM) koşut olarak kotiledon gelişimlerinde düşüşlerle karşılaşmıştır. Artan NaCl konsantrasyonları, genç fideciklerde ilk gerçek yaprakların görünme süreleri üzerine anlamlı etkiler yaparak ilk gerçek yaprakların ortaya çıkış sürelerini uzatmıştır. Kontrol uygulamasında 14.18 gün olarak tespit edilen ilk gerçek yaprak görünme zamanı, 25 mmol NaCl uygulanmasında 15.15 güne, 50 mmol NaCl uygulamasında 20.28 güne, 100 mmol NaCl uygulamasında 35.33 güne kadar ertelenebilmiştir [29]. Görüldüğü gibi, kotiledonların testadan kendini gösterebilmesi, fotosentetik aktivitenin başlaması için elzemdir.

Bizim çalışmamızda, fotoperiyodik indüksiyon altında artan konsantrasyonlarda NaCl uygulanan *R. sativus* cv. 8TR-17 fideciklerinin kotiledon açılma frekans pozitifliğinde 5000 ppm NaCl uygulamasında anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. Buna rağmen 5000 ppm NaCl uygulamasındaki kotiledon açılma frekans pozitifliği % 83,3'dür. Aynı genotip, 5000 ppm NaCl konsantrasyonunda ve karanlık şartlarda inkübasyona alındığında, kotiledon açılma frekans pozitifliği % 91,7 olmuştur. Karanlık şartlarda, kontrol grup değeri, NaCl uygulanan tüm serilerden anlamlı şekilde düşüktür. Karanlık şartlarda Na₂CO₃ tipi tuz stresi uygulanan *R. sativus* cv. 8TR-17 fideciklerinin kotiledon açılma frekanslarında anlamlı farklılıklar olmamıştır. Çimlenebilen tüm tohumların kotiledon açılma frekansları yüksektir. Fotoperiyodik indüksiyon altında Na₂CO₃ tipi tuz stresi uygulanan fideciklerin kotiledon açılma frekanslarında 2000 ve özellikle 5000 ppm'lerde gözlenen düşüşler ise anlamlı bulunmuştur.

NaCl ve karanlık uygulanan; Na₂CO₃ ve fotoperiyodik indüksiyon uygulanan *R. sativus* cv. 8TR-18 fideciklerinin kotiledon açılma frekanslarında da tuzların toksik etkileri görülmemiştir. Fotoperiyodik indüksiyon altında NaCl uygulanan serilerdeki anlamlı tek farklılık, 5000 ppm NaCl konsantrasyonundaki düşüştür. Karanlık şartlarda inkübasyona alınan tohumlara Na₂CO₃ tipi tuz stresi uygulandığında, 2000 ve 5000 Na₂CO₃ konsantrasyonlarında anlamlı düşüşler tespit edilmiştir. 50 ppm'deki düşüş ise düzensiz düşme eğilimi olarak değerlendirilmiştir. En düşük kotiledon açılma frekans pozitifliği 5000 ppm Na₂CO₃ konsantrasyonundan elde edilmiştir

Bilindiği gibi, epigeik çimlenen tohumlarda kotiledonların uzayan embriyo eksenini ile toprak yüzeyine taşınması, toprak yüzeyine çıkan fideciklerin ışıkla karşılaşmasına, bunun doğal sonucu olarak da hızla fotosentetik sistemlerinin gelişmesine; epikotil ucundan ilk gerçek yaprakların, nodyum ve internodyumların oluşmasına neden olmaktadır [21]. Bu durum, kotiledonların ve ilk gerçek yaprakların çok etkili bir fotosentez aktivitesi göstermesiyle sonuçlanmaktadır. Bu nedenle tuza hassas bir genotipin kotiledon açılma frekans pozitifliğinin yüksek olmasını, söz konusu genotipin başlangıç büyüme dönemi için önemli bir avantaj olarak değerlendiriyoruz.

TEŞEKKÜR:

Araştırma materyalimizi oluşturan bitki tohumlarını temin ettiğimiz Eskişehir Geçit Kuşağı Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne, istatistiki analizlerdeki desteğinden dolayı Sayın Prof. Dr. Selma Metintaş'a, tuz çözeltileri konsantrasyonlarının hesaplanmasındaki desteğinden dolayı Sayın Prof. Dr. Necmettin Caner'e en kalbi şükranlarımızı sunarız.

KAYNAKLAR

- [1] Kantarcı, M. D. 2000. Toprak ilmi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- [2] Neumann, P. 1997. Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant Cell and Environment*. 20/9: 1193-1198.
- [3] Rivero, R. M., Ruiz, J. M., Romero, L. 2003. Role of grafting in horticultural plants under stress conditions. *Food, Agriculture and Environment*. 1/1: 70-74.
- [4] Munns, R., Husain, S., Rivelli, A. R., James, R. A., Condon, A. G., Lindsay, M. P., Lagudah, E. S., Schachtman, D. P., Hare, R. A. 2002. Avenues for increasing salt tolerance of crops and the role of physiologically based selection traits. *Plant and Soil*, 247/1: 93-105.
- [5] Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance bringing them together. *New Phytologist*, 167/3: 645-663.
- [6] Sosa, L., Llanes, A., Reinoso, H., Reginato, M., Luna, V. 2005. Osmotic and specific ion effects on the germination of *Prosopis strombulifera*. *Annals of Botany*. 96/2: 261-267.
- [7] Qian, Y. L., Wilhelm, S. J., Marcum, K. B. 2001. Comparative responses of two Kentucky bluegrass cultivars to salinity stress. *Crop Science*. 41/6: 1895-1900.
- [8] Serrano, R., Rodriguez, P. L. 2002. Plants, genes and ions. *EMBO Reports*. 3/2: 116-119.
- [9] Aksoy, U., Hepaksoy, S., Can, H. Z., Anaç, D., Okur, B., Kılıç, C. C., Anaç, S., Ul, M. A., Kukul, Y. 1998. Akdeniz havzasında çölleşme ve tuzlanma problemine karşı yeni tekniklerin geliştirilmesi. *Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu*, 22-26 Haziran 1998-İzmir, 126-137.
- [10] Ashraf, M. M., Açıkgöz, N. 1998. Arpada tuza dayanıklı genotiplerin seleksiyonu için uygun yöntem saptanması üzerine bir araştırma. *Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu*, 22-26 Haziran 1998-İzmir, 55-59.

- [11] Johnson, G. V., Dizdar, M. Y., Raun, W. R. 1998. Soil Management Report, GAP-Şanlıurfa Harran plains on farm and village development project. In: Türkiye Toprak Su Kaynakları ve Çölleşme. 2003. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara.
- [12] Türkiye Toprak Su Kaynakları ve Çölleşme. 2003. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara.
- [13] Ürgenç, S. 1992. Ağaç ve süs bitkileri fidanlık ve yetiştirme tekniği. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- [14] Günay, A., Okur, B. 1999. Sera toprağı. Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir.
- [15] Bernstein, N., Ioffe, M., Zilberstaine, M. 2001. Salt stress effects on avocado rootstock growth. I. Establishing criteria for determination of shoot growth sensitivity to the stress. Plant and Soil. 233/1: 1-11.
- [16] Tobe, K., Zhang, L., Omasa, K. 2003. Alleviatory effects of calcium on the toxicity of sodium, potassium and magnesium chlorides to seed germination in three non halophytes. Seed Science Research. 13/1: 47-54.
- [17] Tobe, K., Li, X., Omasa, K. 2004. Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae). Seed Science Research. 14/4: 345-353.
- [18] Kadioğlu, A. 2007. Bitki fizyolojisi. Esen Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- [19] Özdemir, S., Engin, M. 1994. Nohut (*Cicer arietinum* L.) bitkisinin çimlenme ve fide büyümesi üzerine NaCl konsantrasyonlarının etkisi. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 18: 323-328.
- [20] Cuartero, J., Munoz, R. F. 1999. Tomato and salinity. Scientia Horticulturae. 78/(1-4): 83-125.
- [21] Yentür, S. 1995. Bitki anatomisi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- [22] Başaran, D. 1990. Modern genel botanik. Dicle Üniversitesi Yayınları, Diyarbakır.
- [23] Rubio, F., Gassmann, W., Schroeder, J. I. 1995. Sodium driven potassium uptake by the plant potassium transporter HKT1 and mutations conferring salt tolerance. Science. 270/5242: 1660-1663.
- [24] Ellialtıoğlu, Ş., Tıprıdamaz, R. 1998. Doku kültürünün tuz stresine dayanıklılıkta kullanımı. Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu, 22-26 Haziran 1998-İzmir, 70-81.
- [25] Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. 2001. Bitki biyoteknolojisi: Doku kültürü ve uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya.
- [26] Başaran, D. 1990. Bitki doku kültürü. Dicle Üniversitesi Yayınları, Diyarbakır.
- [27] Keser, Ö., Çolak, G., Caner, N. 2009. Tuza toleransı farklı iki kültür bitkisinde bazı fizyolojik ve makromorfolojik parametreler üzerine Na₂CO₃ tipi tuz stresi etkileri. BAÜ FBE Dergisi. 11/2: 64-80.
- [28] Ayers, A. D. 1952. Seed germination as affected by soil moisture and salinity. Agronomy Journal. 44/2: 82-84. In: Cuartero, J., Munoz, R. F. 1999. Tomato and salinity. Scientia Horticulturae. 78/(1-4): 83-125.
- [29] Türkmen, Ö., Şensoy, S., Erdal, İ., Kabay, T. 2002. Kalsiyum uygulamalarının tuzlu fide yetiştirme ortamlarında domateste çıkış ve fide gelişimi üzerine etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi. 12/2: 53-57.

- [30] Prado, F. E., Boero, C., Gallardo, M., Gonzales, J. A. 2000. Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* Willd. seeds. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 41: 27-34.
- [31] Van Zandt, P. A., Tobler, M. A., Mouton, E., Hasenstein, K. H., Mopper, S. 2003. Positive and negative consequences of salinity stress for the growth and reproduction of the clonal plant, *Iris hexagona*. Journal of Ecology. 91/5: 837-846.
- [32] Ahmad, S., Wahid, A., Rasul, E., Wahid, A. 2005. Comparative morphological and physiological responses of green gram genotypes to salinity applied at different growth stages. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 46/2: 135-142.
- [33] Wilson, C., Liu, X., Lesch, S. M., Suarez, D. L. 2006. Growth response of major U.S. cowpea cultivars. I. Biomass accumulation and salt tolerance. HortScience. 41/1: 225-230.
- [34] Katerji, N., Van Hoorn, J. W., Hamdy, A., Mastrorilli, M. 1998. Response of tomatoes a crop of indeterminate growth to soil salinity. Agricultural Water Management, 38/1: 59-68.
- [35] Demir, İ., Mavi, K., Özçoban, M., Okçu, G. 2003. Effect of salt stress on germination and seedling growth in serially harvested aubergine (*Solanum melongena* L.) seeds during development. Israel Journal of Plant Sciences. 51/2: 125-131.