

## 41 B ASMA ANACI ÇEKİRDEKLERİNDE GÜMÜŞ NANO PARÇACIK UYGULAMALARININ ÇİMLENME VE VEJETATİF GELİŞMEYE ETKİLERİ

**Kevser YAZAR<sup>1\*</sup>, Zeki KARA<sup>2</sup>, Ahmet AVCI<sup>3</sup>, Osman DOĞAN<sup>4</sup>, Heydem EKİNCİ<sup>5</sup>, Nazlı DEMİR<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Dr. Öğr. Üyesi, Selçuk Üniversitesi, Konya; ORCID: 0000-0002-0390-0341

<sup>2</sup>Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi, Konya; ORCID: 0000-0003-1096-8288

<sup>3</sup>Prof. Dr., Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya; ORCID: 0000-0003-3434-1711

<sup>4</sup>Dr. Arş. Gör., Selçuk Üniversitesi, Konya; ORCID: 0000-0002-3264-5925

<sup>5</sup>Arş. Gör., Harran Üniversitesi, Şanlıurfa; ORCID: 0000-0002-1828-7367

<sup>6</sup>Zir. Müh., Selçuk Üniversitesi, Konya; ORCID: 0000-0002-6550-8214

### ÖZ

Üzüm çeşitlerinde farklı amaçlara yönelik olarak yapılan ıslah çalışmalarında çekirdeklerin seçimi ve çimlenme oranları ıslah sürecini etkileyen önemli faktörler arasında yer almaktadır. Nano partiküllerin (NPs) optimize edilmiş oranlarda uygulanması, tohum çimlenmesini, çimlenme sonrası büyümeyi ve verimliliği iyileştirdiği gibi bitki yaşam döngüsünde çeşitli çevresel streslerle başa çıkılmasında moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik yolları modüle ederek destek sağlamaktadır. Bu çalışmada; üzüm (*Vitis vinifera* L. cv Öküzgözü) çekirdeği ekstresi ve gümüş nitrat (AgNO<sub>3</sub>)'tan yeşil sentez yöntemiyle üretilen gümüş nanoparçacıklar (AgNPs) ve GA<sub>3</sub> uygulamalarının 41 B asma anacı çekirdeklerinin çimlenmesi ve vejetatif gelişmeleri üzerine etkilerine bakılmıştır. Çekirdekler çimlenmeyi teşvik etmek amacıyla +4°C'de 90 gün katlanmıştır. Katlanmış çekirdeklere AgNPs (1 gL<sup>-1</sup>-24s, 1 gL<sup>-1</sup>-48s) ve GA<sub>3</sub> (1 gL<sup>-1</sup>-24s) uygulanmıştır. AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s (%100) ve GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s (%100) uygulamaları çimlenme oranını kontrole (%84.85) göre artırırken, uzun süreli AgNPs (1gL<sup>-1</sup>-48s) uygulaması çimlenme oranı ve vejetatif gelişme parametrelerini olumsuz etkilemiştir. Sonuçta, tohum çimlenme oranının çok önemli olduğu ıslah ürünü çekirdeklerin çimlenme oranlarının artırılmasında AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s uygulamasının kullanımı önerilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Asma, nano parçacık, yeşil sentez, enkapsülasyon, çimlenme

### THE EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLE APPLICATIONS ON GERMINATION AND VEGETATIVE DEVELOPMENT IN 41 B ROOTSTOCK SEEDS

#### ABSTRACT

Seed selection, and seed germination rates are among the important factors affecting the breeding process in breeding studies for different purposes in grape varieties. Applying nanoparticles (NPs) at optimized rates improves seed germination, post-germination growth, and productivity and copes with various environmental stresses in the plant life cycle. It provides support by modulating molecular, biochemical, and physiological pathways. In this study, the effects of silver nanoparticle (AgNPs) and GA<sub>3</sub> applications produced from grape (*Vitis vinifera* L. cv Öküzgözü) seed extract and silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) by green synthesis method were investigated on the germination and vegetative growth of 41 B rootstocks seeds. The seeds were stratified for 90 days at +4°C to promote germination. AgNPs (1 gL<sup>-1</sup>-24s, 1 gL<sup>-1</sup>-48s) and GA<sub>3</sub> (1 gL<sup>-1</sup>-24s) were applied to seed after stratification. AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s (100%) and GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s (100%) applications increased the germination rate compared to the control (84.85%), while long-term AgNPs (1gL<sup>-1</sup>-48s) application germination rate and vegetative growth parameters negatively affected. As a result, the use of AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s application has been suggested to increase the germination rate of breeding product seeds, where the seed germination rate is very important.

**Keywords:** Grapevine, nanoparticle, green synthesis, encapsulation, germination

### GİRİŞ

Üzüm çeşitlerinde biyotik ve abiyotik stres direncinin artırılması, pazar taleplerinin karşılanması gibi farklı amaçlar için yapılan ıslah çalışmalarında çekirdeklerin elde edilmesi, seçimi ve çimlendirilmesi ıslah sürecini etkileyen önemli faktörlerdendir [16, 2, 19]. Asma çekirdeklerinin

çimlenmesi üzerine yapılan çalışmalarda, çimlenmenin diğer türlere kıyasla daha zor olduğu belirtilmiştir [3]. Üzüm çekirdeklerinde görülen dormansiye kırmak ve çimlenme oranını artırmak için çeşitli fiziksel ve kimyasal işlemler yapılmaktadır [37, 6]. Gibereellik asit (GA<sub>3</sub>) bu amaç doğrultusunda en çok kullanılan kimyasallar arasında yer almaktadır [14, 7, 18, 6]. Etkili GA<sub>3</sub> dozları uygulama yapılan

\*Sorumlu yazar / Corresponding author: kyazar@selcuk.edu.tr

çeşitlere göre değişiklik gösterebilmektedir. Sabır ve Kara [31] tarafından yapılan çalışmada  $1 \text{ gL}^{-1}$  GA<sub>3</sub> dozunun çimlenme için olumlu sonuçlar verdiği kaydedilirken, Çelik [12] tarafından yapılan çalışma sonucunda  $0.75 \text{ gL}^{-1}$  GA<sub>3</sub> dozu önerilmiştir. GA<sub>3</sub> uygulamaları çimlenmeyi teşvik ederek çimlenme oranlarını artırmasına rağmen çimlenmeden sonra gelişen bitkilerde hipokotil uzunluğunda artışa neden olarak [7] fide gelişimini olumsuz etkileyebilmektedir [30]. Bu sebeple, asma çekirdeklerinde çimlenmenin teşviki için GA<sub>3</sub> uygulamalarına alternatif olma niteliğinde farklı uygulamalar üzerinde durulmaktadır [31, 19].

Nanoteknoloji küçük boyutlarda (1-100 nm) yüksek biyolojik potansiyele sahip materyaller üretilmesini sağlayan bir bilim dalıdır. Son yıllarda fiziksel, kimyasal özellikleri ve geniş aktivite seçenekleri sebebiyle AgNPs üzerinde sıklıkla çalışılmaktadır [4, 36]. AgNPs birçok endüstriyel ve biyomedikal uygulamada yaygın olarak kullanılan ticarileştirilmiş nanomalzemelerdir [10]. Bitkilerde; tohum çimlenmesi, büyüme, gelişme, fotosentetik kuantum etkinliğinin iyileştirilmesi ve hastalıkların kontrolünde kullanılmaktadırlar [4]. Bitki kaynakları kullanılarak yeşil sentez teknolojileri ile elde edilen nanomalzemeler, toksik kimyasallar kullanılarak sentezlenen NP'lere kıyasla ekonomik, biyoyumlu ve umut verici yaklaşımlardır. Bu sebeple üzerinde çalışmalar yapılmaktadır [33, 1]. Ancak, AgNPs yeşil sentezinde farklı bitki parçalarının nanopartikülleri sentezleme potansiyelinin ve uygulandıkları bitkilere etkilerinin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır [11].

Günümüz koşullarında iklim değişikliğiyle mücadele stratejileri kapsamında anaç ıslahı çalışmalarına odaklanmak zorunluluk haline gelmiştir [27, 39]. Poliploidi ıslahı gibi farklı ıslah çalışmalarıyla [22] abiyotik ve biyotik stres kaynaklarına dayanıklılık sağlanmasıyla bitkisel üretimde artış sağlanması hedeflenmektedir. Bu amaçla ıslah çalışmaları sonrasında çekirdeklerin çimlenme gücü ve çimlenme sonrası bitkiye dönüşme oranını artırmaya yönelik uygulamaların test edilmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada, yüksek fenolik içeriğe sahip üzüm (*Vitis vinifera* L. cv Öküzgözü) çekirdeği ekstresi ve gümüş nitrat (AgNO<sub>3</sub>)'tan yeşil sentez yöntemiyle üretilen AgNPs ve GA<sub>3</sub> uygulamalarının 41 B asma anacının çekirdeklerinin çimlenme oranları ve vejetatif gelişmeleri üzerine etkileri belirlenmiştir.

## MATERYAL VE METOT

### *Bitkisel Materyal*

Çalışmada kullanılan 41 B [Chasselas (*Vitis vinifera* L.) × *Vitis berlandieri* Planch.] asma anacına

ait çekirdekler Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi anaç parselinde yetiştirilen ve açık tozlanan anaçlardan elde edilmiştir.

### *Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Hazırlanması ve AgNPs Sentezi*

Yeşil sentez yöntemiyle nano ürün elde edilmesi amacıyla “Öküzgözü” üzüm çeşidi kullanılmıştır. Çeşide ait çekirdekler Tokat ilinde yerleşik Dimes firmasından temin edilmiştir. 10 g “Öküzgözü” üzüm çekirdeği öğütülerek toz haline getirildikten sonra oda sıcaklığında 24 saat süreyle 100 ml’de-iyonize su içerisinde bekletilmiştir. Bu süre sonrasında (200 devir/dakika) filtre edilmiştir. Filtrasyonla elde edilen ekstraktan 7 ml’si 100 ml’lik bir behere konularak, manyetik karıştırıcıda çalkalanırken üzerine 2 ml 0.1 M AgNO<sub>3</sub> yavaş yavaş ilave edilmiştir. Karışım deiyonize su ile 10 ml’ye tamamlanarak, manyetik karıştırıcıda 5 dakika süreyle (200 devir/dakikada) karıştırılmıştır. Bu işlemi takiben ışık görmeyecek şekilde 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiş ve ardından çalışmada kullanılmak üzere amber şişeye konularak buzdolabında muhafaza edilmiştir [21].

### *AgNPs Karakterizasyonu*

Üzüm çekirdeği ekstraktının gümüşle kaplanmasıyla elde edilen enkapsüle ürünün ölçümleri Taramalı Elektron Mikroskopu (TEM) görüntüleme yöntemiyle nm olarak belirlenmiştir. Gümüş ile kaplanmış üzüm çekirdeği enkapsüllerinin olduğu sıvı, ultrasonik karıştırıcıyla 15 dk süreyle karıştırılarak görüntülenmiştir. Sonrasında cihazda tarama yapılarak, uygun görüntüler 10-500 nm aralığında kaydedilmiştir. Ag yoğunluğu ise Enerji dağıtıcı X-ışını analizi (EDX) spektrumu ile belirlenmiştir [21].

### *Toplam Fenol Oranının Belirlenmesi*

Üzüm çekirdeği ekstraktında, enkapsülasyon sonrası fenolik madde miktarındaki değişimin tespiti amacıyla, Thaipong ve ark. [38] tarafından belirtilen metoda göre taze üzüm çekirdeği ekstraktında enkapsülasyondan önce ve sonrasında toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden (mg GAE/100 g) belirlenmiştir.

### *Çekirdeklere Çimlenmeyi Teşvik Edici Uygulamaların Yapılması*

41 B asma anacı çekirdekleri çimlenmeyi teşvik etmek amacıyla +4°C’de 90 gün katlanmıştır. Katlanmış çekirdeklere AgNPs ( $1 \text{ gL}^{-1}$ -24s,  $1 \text{ gL}^{-1}$ -48s) ve GA<sub>3</sub> ( $1 \text{ gL}^{-1}$ -24s) uygulanmıştır. Kontrol sadece saf suyla muamele edilmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü ve her

tekerrürde 100 çekirdek olacak şekilde kurulmuş ve çekirdekler petriyeler içine yerleştirilmiştir.

#### Çekirdek Çimlenme Oranlarının Belirlenmesi

Çimlenme oranı, petride 1-2 mm'lik kökçük oluşumu gerçekleşen çekirdeklerin toplam çekirdeklere oranı ile yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Çekirdeklerde çimlenme gerçekleştikten sonra torf/perlit (1:1) karışımı içeren viyollere ekim yapılmıştır.

#### Vejetatif Gelişme Oranlarının Belirlenmesi

Uygulamaların vejetatif gelişime etkileri; ekim işlemini takiben 70 gün sonra, her tekerrür için seçilen 30 bitki üzerinde yapılan ölçümlerle [bitkiye dönüşüm oranı, sürgün uzunluğu (cm), boğum arası çapı (cm), yaprak yaş ve kuru ağırlığı, yaprak alanı (cm<sup>2</sup>) ve SPAD değeri] belirlenmiştir [19, 20].

#### İstatistiksel Analiz

Uygulamalara ait ortalamalar arasındaki farklar SPSS 17.0 paket programında Duncan testine göre saptanarak, çizelgeler içinde ayrı harflerle belirtilmiştir [21].

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Gümüş Nano Parçacıkların Üretimi ve Karakterizasyonu

AgNPs, polifenol içeriği 444.087 mg 100 g<sup>-1</sup> düzeyinde olan üzüm çekirdeği ekstrasının gümüş nitrat ile yeşil senteziyle üretilmiştir. AgNPs'in karakterizasyonu TEM ve EDX görüntüleri ile incelenmiştir. Enkapsüle ürün boyutlarının 10-50 nm aralığında olduğu belirlenmiştir. Enkapsülasyon sonrası nano ürünün toplam fenol içeriğinin 144 mg 100 g<sup>-1</sup> olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).

Castangia ve ark. [8] tarafından, üzüm cibre ekstraktının gümüşle (Ag) doğrudan enkapsülasyonunun çalışıldığı araştırmada, NPs'in küçük boyutlu ve fosfolipidlerle kombinasyonlarının çok katmanlı ve ~100 nm boyutlarında vezikül oluşumunu engellemediği ve NPs'in heterojen dağılım gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız nano ürünle benzerlik göstermektedir.

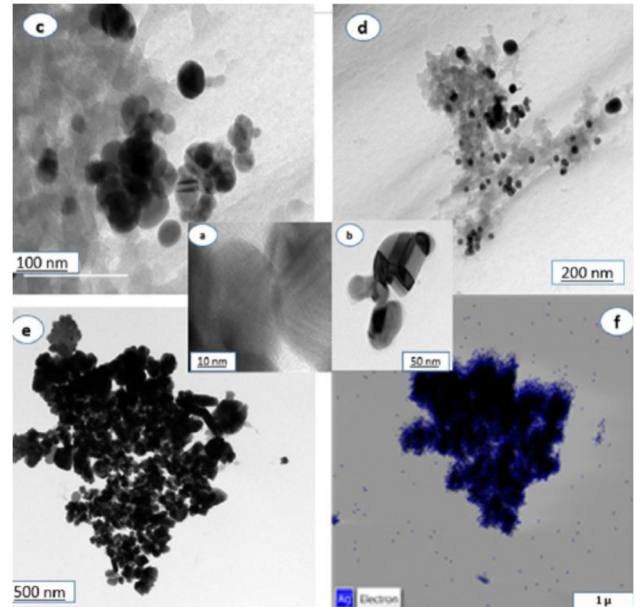
### Çekirdek Çimlenme ve Bitki Dönüşüm Oranları (%)

Çekirdek çimlenme oranları ve bitkiye dönüşüm oranları uygulamalardan önemli şekilde etkilenmiştir. AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s (%100) ve GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s (%100) uygulamaları çimlenme oranını kontrole (%84.85) göre artırırken, uzun süreli AgNPs (1gL<sup>-1</sup>-48s) uygulaması çimlenme oranını olumsuz yönde etkilemiştir (Çizelge 1). GA<sub>3</sub> uygulaması yapılan

çekirdeklerin çimlenme oranları 30. günde %100'e ulaşırken, AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s uygulaması yapılan çekirdekler 35. günde ulaşmıştır.

Çimlenme oranlarına benzer şekilde, çimlenen çekirdeklerde bitkiye dönüşüm oranları da kontrole (%90.48) göre en yüksek GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s (%98.99) ve AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s (%97.98) uygulamalarında tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Tohumlarda çimlenme ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda çimlenme aşamasında GA<sub>3</sub> oranının artış gösterdiği ve absisik asit oranının azaldığı ve baskılandığı belirtilmiştir. Çimlenmeyi teşvik etmek amacıyla yapılan GA<sub>3</sub> uygulamalarının çimlenme oranını artırdığı kaydedilmiştir [24, 35]. GA<sub>3</sub> uygulaması sonucu elde edilen değerler literatür çalışmalarıyla benzerlik göstermektedir.



Şekil 1. AgNPs ürün boyutları a) 10 nm, b) 50 nm, c) 100 nm, d) 200 nm, e) 500 nm, f) EDX mavi renkte Ag yoğunluğu [20]

Figure 1. AgNPs product sizes a) 10 nm, b) 50 nm, c) 100 nm, d) 200 nm, e) 500 nm, f) Ag density in EDX blue [20]

Çizelge 1. Uygulamaların çekirdek çimlenme ve bitkiye dönüşüm oranları üzerine etkileri<sup>z</sup>

Table 1. Effects of applications on seed germination and plant transformation rates<sup>z</sup>

Uygulamalar Applications	Çimlenme oranı (%) Germination rate (%)	Bitkiye dönüşüm oranı (%) Plant transformation rate (%)
Kontrol / Control	84.85±0.53 b	90.48±2.06 b
AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -24s) AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -24h)	100.00±0.00 a	97.98±1.75 a
AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -48s) AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -48h)	72.73±0.47 c	90.28±2.41 b
GA <sub>3</sub> (1 gL <sup>-1</sup> -24s) GA <sub>3</sub> (1 gL <sup>-1</sup> -24h)	100.00±0.00 a	98.99±1.00 a

<sup>z</sup>Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında %5 düzeyinde farklılık vardır (Duncan)

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan multiple test at, 0.05 level

Nano ön uygulama yapılmış tohumlarda; nano partikülün diğer ön uygulamalara (PEG, Su, vitaminler) kıyasla tohum kabuğuyla daha sıkı bir bağlantı kurduğu belirtilmiştir [25, 26, 5]. Genel olarak, tohum kabuğu üzerindeki nanopartiküllerin içselleştirilmesi, birkaç akış aşağı olay zincirini aktive ederek reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimini indüklemektedir [15]. Tohumlarda dormansinin kırılması, GA sentezinin aktivasyonu ve depolama proteinlerinin mobilizasyonu yoluyla çimlenmenin uyarılması için ROS sinyali gerekmektedir [13, 9]. Bu mekanizmalar doğrultusunda AgNPs çekirdeklerde çimlenmeyi teşvik ettiği düşünülmektedir. Ancak nanopartiküllerin artan dozlarda toksik etki yapması nedeniyle çimlenmeyi ve vejetatif gelişimi baskıladığını belirten çalışmalarda mevcuttur [4]. Çalışmamız literatürdeki verilerle paralellik göstermektedir.

### Uygulamaların Sürgün Gelişme Parametrelerine Etkileri

Sürgün uzunluğu değerleri, yapılan uygulamalardan önemli bir şekilde etkilenmiştir. En yüksek sürgün uzunluğu değeri, GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s (21.70 cm) uygulamasında belirlenirken bu değeri AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s (19.27) uygulaması takip etmiştir. AgNPs (1 gL<sup>-1</sup>-48s) uygulamasından alınan sürgün parametreleri değerlerinin kontrole kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s uygulaması sonrasında gelişen bitkilerde boğum arası uzunluğunun artış gösterdiği gözlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Uygulamaların sürgün gelişme oranlarına etkileri<sup>z</sup>

Table 2. Effects of applications on shoot growth rates<sup>z</sup>

Uygulamalar Applications	Sürgün uzunluğu (cm) Shoot length	Boğum arası uzunluk (cm) Length of Internodes	Sürgün çapı (mm) Diameter of Internodes
Kontrol / Control	17.58±0.52 c	0.55±0.05 b	1.01±0.01 c
AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -24s) AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -24h)	19.27±0.28 b	0.68±0.03 a	1.15±0.03 a
AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -48s) AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -48h)	16.87±0.13 d	0.51±0.03 b	1.00±0.04 c
GA <sub>3</sub> (1 gL <sup>-1</sup> -24s) GA <sub>3</sub> (1 gL <sup>-1</sup> -24h)	21.70±0.26 a	0.74±0.06 a	1.08±0.02 b

<sup>z</sup>Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında %5 düzeyinde farklılık vardır (Duncan)

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan multiple test at, 0.05 level

AgNP uygulamalarına bitkilerin göstermiş olduğu, büyümede artış ya da baskılanma gibi tepkilerin AgNP dozajıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir [4]. Spesifik konsantrasyonlarda yapılan AgNP uygulamalarının kontrol bitkilere kıyasla bitkilerde büyüme oranını artırabildiği, daha yüksek

ve daha düşük konsantrasyonlarda bitki büyümesini olumsuz etkileyebileceğini belirten çalışmalar mevcuttur [32, 23, 28]. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda artan süreyle AgNP uygulaması yapılması sürgün gelişim parametrelerini olumsuz etkilemiştir.

### Uygulamaların Yaprak Parametreleri Üzerine Etkileri

Yaprak yaş ağırlığı değerlerinde uygulamalara ait ortalamalar arasındaki farklılık önemsiz bulunurken, yaprak kuru ağırlığı değerlerinde GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s (0.04 g) ve AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s (0.04 g) uygulamaları öne çıkmıştır. Yaprak alanı değerlerinde kontrole göre en yüksek oran GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s uygulamasında (13.11) kaydedilmiştir (Çizelge 3).

İqbal ve ark. [17] tarafından yüksek sıcaklık stresine karşı AgNP'lerin etkilerinin belirlendiği bir çalışmada, AgNP uygulamalarının stres koşullarında yaprak kuru ağırlığını ve yaprak alanını kontrole göre olumlu bir şekilde etkilediği belirtilmiştir. Salama [32] tarafından yapılan bir diğer çalışmada da AgNP uygulamaları sonucunda yaprak yaş ve kuru ağırlığı ve yaprak alanı değerlerinde artış sağlandığı ancak yüksek dozlarda yapılan uygulamalarda yaprak parametrelerinin azalış gösterdiği kaydedilmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgularımız literatür bilgilerini doğrular niteliktedir.

Çizelge 3. Uygulamaların yaprak parametrelerine etkileri<sup>z</sup>

Table 3. Effects of applications on leaf parameters<sup>z</sup>

Uygulamalar Applications	Yaprak yaş ağırlığı (g) Leaf fresh weight	Yaprak kuru ağırlığı (g) Leaf dry weight	Yaprak alanı (cm <sup>2</sup> ) Leaf area
Kontrol Control	0.11±0.015 a Ö.D.N.S.	0.03±0.006 b	11.36±0.85 b
AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -24s) AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -24h)	0.12±0.010 a Ö.D.N.S.	0.04±0.003 a	12.59±0.36 a
AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -48s) AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -48h)	0.11±0.012 a Ö.D.N.S.	0.03±0.005 b	11.18±0.32 b
GA <sub>3</sub> (1 gL <sup>-1</sup> -24s) GA <sub>3</sub> (1 gL <sup>-1</sup> -24h)	0.10±0.009 a Ö.D.N.S.	0.04±0.008 a	13.11±0.50 a

<sup>z</sup>Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında %5 düzeyinde farklılık vardır (Duncan)

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan multiple test at, 0.05 level  
Ö.D.: Önemli değil, N.S.: Nonsignificant

SPAD değerlerinde uygulamalara ait ortalamalar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemlidir. Kontrole (24.14) kıyasla en yüksek değer GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s (27.94 g) uygulamasında belirlenirken bu değere en yakın sonuç AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s (27.94 g) uygulamasında kaydedilmiştir (Çizelge 4).

Nanopartikül uygulamalarının klorofil miktarına etkileriyle ilgili yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Racuciu ve Creanga [29] tarafından yapılan çalışmada NP konsantrasyonu düşük olduğunda klorofil oranlarında artış, yüksek

konsantrasyonlarda ise azalış kaydedilmiştir. Bu çalışmadan farklı olarak yüksek konsantrasyonlarda AgNP'lere maruz kalan *Brassica juncea* bitkilerinde daha yüksek klorofil içeriği ve daha yüksek fotosentetik sistem verimliliği gözlemlenmiştir [34]. Çalışmamızda AgNP ve GA<sub>3</sub> uygulamalarının SPAD değerini kontrole göre önemli bir şekilde artırdığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4. Uygulamaların SPAD (yaprak klorofil içeriği) değerine etkileri<sup>z</sup>

Table 4. Effects of applications on SPAD (leaf chlorophyll content) value<sup>z</sup>

Uygulamalar / Applications	SPAD değerleri / SPAD values
Kontrol / Control	24.14±0.14 d
AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -24s) / AgNP(1 gL <sup>-1</sup> -24h)	26.47±0.46 b
AgNP (1 gL <sup>-1</sup> -48s) / AgNP(1 gL <sup>-1</sup> -48h)	25.72±0.18 c
GA <sub>3</sub> (1 gL <sup>-1</sup> -24s) / GA <sub>3</sub> (1 gL <sup>-1</sup> -24h)	27.94±0.27 a

<sup>z</sup>Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında %5 düzeyinde farklılık vardır (Duncan)

<sup>z</sup>Mean separation within columns by Duncan multiple test at, 0.05 level

## SONUÇ

Çalışma kapsamında çimlenmenin teşvik edilmesi amacıyla uygulanan GA<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup>-24s uygulamasının çimlenme oranını aynı doz ve sürede uygulanan AgNPs (1 gL<sup>-1</sup>-24s) kadar artırmasına karşın ilk vejetasyon döneminde bitkilerde boğum arasının daha uzun olmasına ve daha otsu gelişmeye neden olduğu kaydedilmiştir. Sonuçta, tohum çimlenme oranının çok önemli olduğu ıslah ürünü çekirdeklerin çimlenme oranlarının artırılmasında AgNPs 1 gL<sup>-1</sup>-24s uygulamasının kullanımı önerilmektedir. Ancak AgNPs etkilerinin daha iyi belirlenebilmesi amacıyla farklı tür ve çeşitlere ait çekirdeklere farklı doz ve sürelerle uygulamaların yapılması ve toksikoloji testleriyle uygun doz aralıklarının belirlenmesi yararlı olabilecektir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya desteklerinden (TÜBİTAK 2209-A) dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Acharya, P., Jayaprakasha, G., Crosby, K.M., Jifon, J.L., Patil, B.S. 2019. Green-synthesized nanoparticles enhanced seedling growth, yield, and quality of onion (*Allium cepa* L.). ACS Sustainable Chemistry & Engineering 7(17):14580-14590.
2. Adam-Blondon, A.F., Martinez-Zapater, J.M., Kole, C., 2016. Genetics, genomics, and breeding of grapes, CRC Press, p:361.

3. Ağaoğlu, Y.S., 2002. Bilimsel ve uygulamalı bağcılık (Asma Fizyolojisi I). Kavaklıdere Eğitim Yayınları, Ankara, 444s.
4. Almutairi, Z.M., Alharbi, A. 2015. Effect of silver nanoparticles on seed germination of crop plants, International Journal of Nuclear and Quantum Engineering, 9(6):689-693.
5. Anand, A., Kumari, A., Thakur, M., Koul, A. 2019. Hydrogen peroxide signaling integrates with phytohormones during the germination of magneto primed tomato seeds. Scientific Reports 9(1):1-11.
6. Borges do Val, A.D., Motoike, S.Y., Alvarenga, E.M., Cecon, P.R. 2010. Breaking the dormancy of Niagara rosada seeds without stratification. Revista Ceres, 57:234-238.
7. Burrows, G. 1994. Seed propagation of grapevines-a comparison of GA<sub>3</sub> and K-GA<sub>3</sub> [gibberellic acid]. Australian Grapegrower and Winemaker (Australia) (370):16-17.
8. Castangia, I., Marongiu, F., Manca, M.L., Pompei, R., Angius, F., Ardu, A., Fadda, A.M., Manconi, M., Ennas, G. 2017. Combination of grape extract-silver nanoparticles and liposomes: A totally green approach. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 97:62-69.
9. Chandrasekaran, U., Luo, X., Wang, Q., Shu, K. 2020. Are there unidentified factors involved in the germination of nanoprimered seeds? Frontiers in Plant Science, 11:832.
10. Chen, X., Schluesener, H.J. 2008. Nanosilver: a nanoproduct in medical application. Toxicology letters, 176(1):1-12.
11. Chung, I.M., Park, I., Seung-Hyun, K., Thiruvengadam, M., Rajakumar, G. 2016. Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: their characteristic properties and therapeutic applications. Nanoscale Research Letters 11(1):1-14.
12. Çelik, M. 2014. The effects of stratification periods and GA<sub>3</sub> (gibberellic acid) applications on germination of seeds of some grape cultivars. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 1(Özel Sayı-1):1118-1122.
13. Dietz, K.J., Mittler, R., Noctor, G. 2016. Recent progress in understanding the role of reactive oxygen species in plant cell signaling. Plant Physiology, 171(3):1535-1539.
14. Ellis, R., Hong, T., Roberts, E. 1983. A note on the development of a practical procedure for promoting the germination of dormant seed of grape (*Vitis* spp.). Vitis 22(3):211-219.
15. Guha, T., Ravikumar, K., Mukherjee, A., Mukherjee, A., Kundu, R. 2018. Nanoprimering with zero valent iron (nZVI) enhances

- germination and growth in aromatic rice cultivar (*Oryza sativa* cv. Gobindabhog L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 127:403-413.
16. Holdsworth, M.J., Bentsink, L., Soppe, W.J. 2008. Molecular networks regulating Arabidopsis seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. *New Phytologist*, 179(1):33-54.
  17. Iqbal, M., Raja, N.I., Mashwani, Z.U.R., Hussain, M., Ejaz, M., Yasmeen, F. 2019. Effect of silver nanoparticles on growth of wheat under heat stress. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science* 43(2):387-395.
  18. Jacobsen, J.V., Pearce, D.W., Poole, A.T., Pharis, R.P., Mander, L.N. 2002. Abscisic acid, phaseic acid and gibberellin contents associated with dormancy and germination in barley. *Physiologia Plantarum* 115(3):428-441.
  19. Kara, Z., Yazar, K., Doğan, O., Vergili, E. 2020. Sodium nitroprusside and gibberellin effects on seed germination and seedling development of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cvs. Ekşi Kara and Göküzüm. *Erwerbs-Obstbau*, 62(1):61-68.
  20. Kara, Z., Sabır, A., Koç, F., Sabır, F.K., Avcı, A., Koplay, M., Doğan, O. 2021. Silver nanoparticles synthesis by grape seeds (*Vitis vinifera* L.) extract and rooting effect on grape cuttings. *Erwerbs-Obstbau*, 63(1):1-8.
  21. Kara, Z., Yazar, K. 2021. Effects of shoot tip colchicine applications on some grape cultivars. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(1):78-84.
  22. Kara, Z., Doğan, O. 2022. Reactions of some grapevine rootstock cuttings to mutagenic applications. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 36(2):238-246.
  23. Kaveh, R., Li, Y.S., Ranjbar, S., Tehrani, R., Brueck, C.L., Van Aken, B. 2013. Changes in Arabidopsis thaliana gene expression in response to silver nanoparticles and silver ions. *Env. Sci. & Technology* 47(18):10637-10644.
  24. Lorrai, R., Boccaccini, A., Ruta, V., Possenti, M., Costantino, P., Vittorioso, P. 2018. Abscisic acid inhibits hypocotyl elongation acting on gibberellins, DELLA proteins and auxin. *AoB Plants*, 10(5):ply061.
  25. Mahakham, W., Theerakulpisut, P., Maensiri, S., Phumying S., Sarmah A.K. 2016. Environmentally benign synthesis of phytochemicals-capped gold nanoparticles as nanopriming agent for promoting maize seed germination. *Science of the Total Environment* 573:1089-1102.
  26. Mahakham, W., Sarmah, A.K., Maensiri, S., Theerakulpisut, P. 2017. Nanopriming technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using phytosynthesized silver nanoparticles. *Scientific Reports*, 7(1):1-21.
  27. Ollat, N., Bordenave, L., Tandonnet, J.P., Boursiquot, J.M., Marguerit, E. 2014. Grapevine rootstocks: origins and perspectives. I Int. Symposium on Grapevine Roots 1136:11-22.
  28. Qian, H., Peng, X., Han, X., Ren, J., Sun, L., Fu, Z. 2013. Comparison of the toxicity of silver nanoparticles and silver ions on the growth of terrestrial plant model Arabidopsis thaliana. *J. of Environmental Sciences* 25(9):1947-1956.
  29. Racuciu M., Creanga D.E. 2007. TMA-OH coated magnetic nanoparticles internalized in vegetal tissue. *Romanian Journal of Physics*, 52(3/4):395.
  30. Reynolds, A.G. 2015. Grapevine breeding programs for the wine industry. Elsevier, p:475.
  31. Sabır, A., Kara, Z. 2011. Giberellik asit ve nanoteknolojik kalsit uygulamalarının asma tohumlarının çimlenmeleri üzerine etkileri. *Türkiye 6. Ulusal Bahçe Bitkileri Kon. s:135-139.*
  32. Salama, H.M. 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *Int. Res. J. Biotechnol.* 3(10):190-197.
  33. Sharma, A., Pawar, C., Prasad, N., Yewale, M., Kamble, D. 2018. Antimicrobial efficiency of green synthesized iron oxide nanoparticles. *Materials Research Express*, 5(7):075402.
  34. Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M., Saradhi, P.P., Khanna, P., Arora, S. 2012. Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(8):2225-2233.
  35. Shu K., Zhou W., Chen F., Luo X., Yang W. 2018. Abscisic acid and gibberellins antagonistically mediate plant development and abiotic stress responses. *Frontiers in Plant Science*, 9:416.
  36. Skonieczna M., Hudy D. 2018. Biological activity of silver nanoparticles and their applications in anticancer therapy. In: *Silver Nanoparticles Fabr. Charact. Appl.*, Eds: Intech Open London, p:131.
  37. Spiegel-Roy, P., Shulman, Y., Baron, I., Ashbel, E. 1987. Effect of cyanamide in overcoming grape seed dormancy. *HortScience* 22(2):208-210.
  38. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7):669-675.
  39. Vahdati, K., Sarikhani S., Arab M.M., Leslie C.A., Dandekar A.M., Aletà N., Bielsa B., Gradziel T.M., Montesinos Á., Rubio-Cabetas M.J. 2021. Advances in rootstock breeding of nut trees: objectives and strategies. *Plants* 10(11):2234.