

Araştırma Makalesi / Research Article

Domateste Tuz Stresi ile Mücadelede Potansiyel Bir Organik Madde Olan Kitosanın Rolü

Hüseyin BULUT^{1*}, Halil İbrahim ÖZTÜRK¹¹ Erzinan Binali Yıldırım Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Erzinan, TürkiyeSorumlu yazar e-posta*: huseyinbulut@erzinan.edu.tr
e-posta: hiozturk@erzinan.edu.trORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3424-7012>
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8977-0831>

Geliş Tarihi: 25.04.2023

Kabul Tarihi: 01.09.2023

Öz

Domates yetiştiriciliğinde verim kayıplarına neden olan kritik faktörlerden birisi toprak tuzluluğudur. Tuzluluğun neden olduğu stres ile mücadele son zamanlarda küresel bir konu haline gelmiştir. Kitosanın abiyotik streslerin bitkiler üzerinde neden olduğu zararlı etkilerini azaltmada rolü olduğu bilinmektedir. Toksik olmayan, biyolojik olarak uyumlu, biyolojik olarak parçalanabilen ve organik bir takviye olarak kullanılan kitosan, tarımsal üretimde son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Bu çalışmada, tuz stresi altındaki domates fidelerinde kitosanın morfolojik büyüme parametrelerine etkisi ve çekirdek hasarını iyileştirmedeki rolü incelenmiştir. Domates fidelerinde tuz hasarının boyutu ve kitosanın buna karşı etkisi morfolojik parametreler ve Comet assay ile DNA hasarı değerlendirilmiştir. Tuz stresinin fideler üzerindeki morfolojik etkisi bitki boyu, gövde yüksekliği, gövde çapı, yaprak alanı ve yaprak sapı uzunluğu verilerinden elde edilmiştir. Stres etkisiyle oluşan DNA hasar düzeyi, DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilen kuyruk uzunluğu, kuyruk DNA % değeri ve kuyruk momenti ile belirlenmiştir. Uygulanan kitosanın domates fidelerinin morfolojik özellikleri üzerinde olumlu etkisi olduğu saptanmıştır. Kitosan takviyesinin bazı dozlarda DNA hasarını azaltmada etkili olmuştur. Çalışma sonuçlarımız uygulanan tuzun domates fidelerinde doz miktarına bağlı olarak strese neden olduğunu ve kitosanın domates fidelerini tuz stresinin yıkıcı etkilerinden korumak için etkin bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler

Comet assay; Domates;
Kitosan; Tuzluluk stresi

The Role of Chitosan, a Potential Organic Substance, in Combating Salt Stress in Tomato

Abstract

Soil salinity is one of the critical factors that cause yield losses in tomato cultivation. Dealing with stress caused by salinity has recently become a global issue. It is known that chitosan has a role in reducing the harmful effects of abiotic stresses on plants. Chitosan, which is used as a non-toxic, biocompatible, biodegradable, and organic supplement, has attracted great interest in agricultural production in recent years. In this study, the effect of chitosan on morphological growth parameters and its role in healing seed damage in tomato seedlings under salt stress was investigated. The extent of salt damage in tomato seedlings and the effect of chitosan against it was evaluated by morphological parameters and DNA damage by Comet assay. The morphological effect of salt stress on seedlings was obtained from plant height, stem height, stem diameter, leaf area, and petiole length data. The level of DNA damage caused by stress was determined by the tail length, tail DNA % value, and tail moment, which are considered as indicators of DNA damage. It was determined that the applied chitosan had a positive effect on the morphological characteristics of tomato seedlings. It was determined that chitosan supplementation was effective in reducing DNA damage at some doses. Our study results determined that the applied salt caused stress in tomato seedlings depending on the dose and chitosan could be used effectively to protect tomato seedlings from the destructive effects of salt stress. It can also be used to detect DNA damage in future studies with the comet assay technique.

Keywords

Chitosan; Comet assay;
Salinity stress; Tomato

1. Giriş

Toprak tuzluluğu, karmaşık etkileşim mekanizmalarıyla bitkilerin beslenme durumlarına müdahale ederek büyüme ve verimliliği etkileyen kurak ve yarı kurak alanlardaki temel sorunlardan biridir. Tipik tuza maruz kalan bitkiler, azaltılmış besin emilimi, besinlerin köklerden sürgünlere zayıf bir şekilde taşınması, azalmış kuru yaprak ve bodur kök büyümesi, indirgenmiş klorofil ve karotenoit miktarı fotosentez metabolizmasını etkiler ve genel büyümede bir azalmaya neden olur (Zayed vd. 2017, Safikhan vd. 2018, Ashour vd. 2020, Mosavikia vd. 2020, Sen vd. 2020). Reaktif oksijen türleri (ROS), stres koşullarında aşırı birikerek lipid peroksidasyonunu tetikleyen (malondialdehit-MDA), antioksidant enzimleri etkisizleştirerek proteinlere ve nükleik asitlere zarar veren ve sonuçta hücre ölümüne neden olan reaktif moleküllerdir (Sheikhalipour vd. 2021). Bundan dolayı hücre sinyali ve doku homeostazında önemli bir rol oynarlar (Su vd. 2019). Ayrıca, tuz stresine maruz kalan bitkiler, hücreleri oksidatif stresten korurken ROS'u uzaklaştırmak için fenolik bileşikler ve flavonoidler, askorbat (C vitamini), klorofiller, karotenoitler, glutatyon oluşumu ve α -tokoferoller gibi enzimatik olmayan bileşikler de kullanırlar (Gerami vd. 2020, Sen vd. 2020, Sheikhalipour vd. 2021). Ek olarak, tuz stresi, H^+ -ATPase aktivitesini, klorofil biyosentezini, osmolit birikimini indükleyerek gen ekspresyonu ve protein fonksiyonu üzerindeki nitrik oksit (NO) modülasyonunu aktive edebilir (Oliveira vd. 2016). Genomda dolayısıyla gen ekspresyonunda meydana gelen etkileşimler çekirdek hasarına neden olabilmektedir (Gerami vd. 2020, Hassan vd. 2021).

Kitosan, kendisini nükleofilik davranışa sahip kılan ve çeşitli kimyasal reaksiyonlar için kolayca bulunabilen amin (NH_2) ve hidroksil (OH) grupları sayesinde tarım dahil olmak üzere çeşitli biyolojik alanlarda geniş bir uygulama alanına sahiptir (Rabêlo vd. 2019). Mısır (Turk 2019), fasulye (Sen ve Mandal 2016), pirinç (Garude vd. 2019), aspir (Golkar vd. 2019), stevia (Gerami vd. 2020), ayçiçeği (Bakhroum vd. 2020), ve domates (Hernández-Hernández vd. 2018, Ullah vd. 2020) bitkilerinde rapor edildiği gibi kitosanın doğru şekilde ve uygun

konsantrasyonda uygulanması, yüksek tuzluluk seviyelerinin zararlı etkilerini azaltabilir ve bitki büyümesini ve/veya verimini artırabilir (Safikhan vd. 2018). Ullah vd. (2020) yaptıkları çalışmada doğru şekilde ve uygun konsantrasyonda kitosan uygulanmasının, daha yüksek tuzluluk seviyelerinin tehlikeli etkisini etkili şekilde azaltabileceğini morfolojik parametrelerden elde edilen veriler ile ifade etmişlerdir. Örneğin kitosan uygulamasının bitki boyu, yaprak alanı, kök çapı ve ortalama bileşik yaprak sayısı gibi domatesin morfolojik yönlerini ve klorofil kalitesini iyileştirerek bitkilerin büyümesini ve verimini iyileştirebileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmaya dayanarak, tuzlu koşullarda yetiştirilen domatesin daha iyi büyümesi ve üretimi için 150 mg L^{-1} kitosan uygulama dozunu önermişlerdir. Bununla beraber kitosanın antioksidan (Jabeen ve Ahmad 2013, Safikhan vd. 2018), anti-mikrobiyal (Gerami vd. 2020), biyolojik olarak parçalanabilir (Ullah vd. 2020), biyoaktif (Bakhroum vd. 2020, Turk, 2019), biyoyumlu (Hassan vd. 2021, Safikhan vd. 2018), suda çözünebilmesi (Golkar vd. 2019) ve toksik olmaması (Sen vd. 2019) gibi özelliklerinden dolayı kullanımı tercih edilmektedir. Stres toleransını teşvik etmek ve bitki performansını iyileştirmek için yapraktan sprey veya toprak uygulaması yoluyla uygulanabilirler. Ayrıca tohum kaplama (Garude vd. 2019) ve katı matris astarlama (SMP) veya matris şartlandırma olarak da uygulanabilir. SMP'de tohumlar katı veya yarı katı maddelerle belirli bir miktar su ile karıştırılarak katıların kimyasal ve fiziksel özelliklerinden yararlanılarak tohumların su emmesi sınırlandırılır (Sen ve Mandal, 2016).

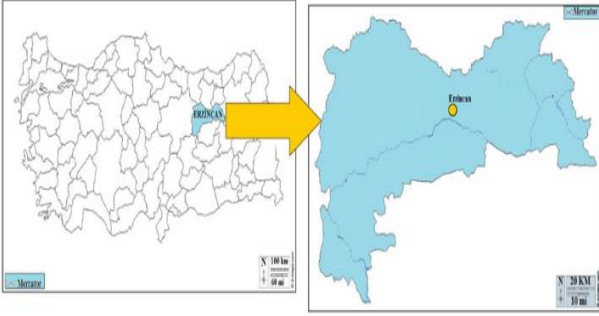
Bu çalışma da önemli bir besin kaynağı olan domateste tuz stresinin neden olduğu olumsuz etkileri gidermek için kitosan uygulaması yapılmıştır. Tuz stresinin etkileri morfolojik parametreler ve çekirdek hasarı üzerinden değerlendirilmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1 Materyal

Çalışma, 39.78856100289532, 39.3538486672705 lokasyonunda sera koşullarında Mart-Temmuz 2022 tarihlerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın yapıldığı

bölge Şekil 1’de belirtilmiştir. Denemede Kayra F1 (Anamas Seed Company) domates çeşidi (*Solanum lycopersicum* L.) kullanılmıştır. Fideler, her biri 40 x 40 mm olan 128 oyuklu viollerde büyütülmüştür. Fide yetiştirme ortamı olarak turba (Klasmann TS 1®) ve perlit (Agrobit®) (%60 turba, %40 perlit) karışımı kullanılmıştır. İstenilen büyüklüğe ulaşan fideler Mayıs ayında 20x25 cm ebatlarındaki turba ve perlit içeren saksılara aktarılmıştır.



Şekil 1. Uygulama yapılan bölgenin konumu

2.2 Tuz ve Kitosan Uygulamaları

Bu çalışmada Adaga firmasından temin edilen %95 deasetilasyon dereceli %2 Chitosan® kullanılmıştır. Çalışmada uygulanan tuz ve kitosan dozları Ullah vd. (2020) yaptıkları çalışma referans alınarak belirlenmiştir. Fideler, farklı dozlarda NaCl (0, 100 ve 200 mM) içeren su ile sulanmış ve tuzluluk uygulamalarına fidelerin aktarımından 2 gün sonra başlamıştır. NaCl konsantrasyonları, bitkilere ozmotik şoku önlemek için 50 mM’lik artışlarla ilgili seviyeye ayarlanmıştır. Çalışma boyunca NaCl uygulamasına devam edilmiştir. Kitosan solüsyonu değerleri 0, 50, 100 ve 150 ppm’lik dozlar olmak üzere 4 farklı konsantrasyonda saf su ile hazırlanmıştır. Yaprakların üst ve alt taraflarına ekimden bir gün önce başlanmış ve fide örnekleri toplanana kadar her hafta düzenli olarak (bitki başına 15 ml) püskürtülmüştür. Uygulamalar tamamlandıktan sonra analiz çalışmaları için fidelerden yaprak örnekleri alınmış ve -80° C de stoklanmıştır. Kontrol grubuna 0 ppm tuz ve 0 ppm kitosan uygulanmıştır. Domates fidelerinin uygulamalardan sonraki durumu Şekil 2.’de verilmiştir.

2.3 Morfolojik parametreler

Domates bitkisinin tuz stresi ve kitosan uygulaması sonrası gelişimini belirlemek için fide boyu (cm), gövde yüksekliği (cm), gövde çapı (mm), yaprak alanı, yaprak sapı uzunluğu ve yaprak klorofil içeriği (SPAD) ölçülmüştür. Metre ile bitki boyu (cm) ve gövde yüksekliği (cm), gövde çapı (mm) ise dijital kumpas yardımıyla belirlenmiştir. Yaprak klorofil içeriği SPAD (Chlorophyll Meter SPAD-502Plus, Konica Minolta) kullanılarak belirlenmiştir. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 22.0 istatistik programı kullanılmıştır.

2.4 Comet assay ile DNA hasar analizi

Comet testi ile çekirdekte meydana gelen fiziksel hasarlar tespit edilmiştir. Çekirdekler, uygulama ve kontrol gruplarından tesadüfi seçilen 5’er domates bitkisinin yapraklarından izole edilmiştir. Mukherjee ve Gichner (2009) tarafından belirtilen yöntem uygun olarak grup başına üç slayt hazırlanmıştır. Slaytlar, 80 µl etidyum bromür (20 ug/ml) ile boyanmış ve puanlama için bir floresan mikroskopuna (Leica, Wetzlar, Almanya) bağlı görüntü analiz sistemi (Kinetic görüntüleme; Andor Technology, Nottingham, UK) kullanılmıştır. DNA hasarının boyutu, kuyruktaki kuyruk DNA (%) değeri DNA fragmanları tarafından puanlanmıştır. Muamele grubu başına üç slayttan her biri için elli çekirdek (toplam 150 çekirdek), Comet 5.5 yazılımı ile analiz edilmiş ve yüzde kuyruk DNA’sının medyan değerlerinin ortalaması, istatistiksel analiz için temsil edilmiştir. Deney üç tekerrürlü olarak uygulanmış ve her grup için değerlerin ortalaması analiz edilmiştir. Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prism 5 (Windows için) programı kullanılarak yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlar için elde edilen DNA hasarlarının birbirlerinden istatistiksel olarak farklı olup olmadığını belirlemek için parametrik olmayan Kruskal Wallis H testi kullanılmıştır. DNA hasarı bakımında uygulanan konsantrasyonların istatistiksel olarak farklılığı ise Dunn testi ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar negatif kontrol ile karşılaştırılmış ve pozitif kontrolün negatif kontrole göre anlamlılığı Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır.

3. Bulgular

Çalışmada tuz ve kitosan uygulamaları sonrasında incelenen tüm morfolojik parametreler arasında %1 önem düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi. Uygulama sonucu elde edilen fidelerin son halleri Şekil 2' de verilmiştir.

3.1 Bitki Boyu (cm)

Tuz stresinin dozu arttıkça bitki boyunda baskılanma tespit edildi. Uygulanan kitosanın tuz stresine karşı etkinlik gösterdiği boy ölçümlerinde tespit edildi. Ancak Tuz stresini azaltmada en etkili kitosan dozunun 150 ppm uygulaması olduğu belirlendi. Kontrol ve uygulama gruplarına ait fidelere ait boy verileri Çizelge 1'de verilmiştir.

3.2 Gövde Uzunluğu (cm)

Çalışmada tuz stresinin fide gövde uzunluğunda önemli derecede azalmaya neden olduğu tespit edildi. Özellikle 200 mM tuz uygulamasının gövde boyu büyümesini baskıladığı belirlendi. Tuz streslerine karşı uygulanan her üç doz kitosanın tuz stresine karşı etki gösterdiği belirlendi. Bununla beraber 100 mM tuz konsantrasyonunun neden olduğu stresi azaltmada 100 ppm ve 150 ppm dozlarının daha etkili olduğu belirlendi. 200 mM tuz konsantrasyonunda ise 150 ppm kitosan uygulamasının gövde uzunluğundaki olumlu etkisinin daha bariz olduğu tespit edildi (Çizelge 1; Şekil 2).

3.3 Yaprak Alanı (cm²)

Çalışmada tuz stresinden dolayı yaprak alanında önemli azalmalar tespit edildi. Her iki tuz konsantrasyonunda da tuz stresinin etkisini azaltmak için en etkili kitosan dozunun 150 ppm uygulaması olduğu ölçümler sonucunda belirlendi (Çizelge 1; Şekil 2).

3.4 Yaprak Sap Uzunluğu (cm)

Yaprak sapı uzunluğu açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uygulamalar arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Her iki tuz konsantrasyonunda da tuz stresinin etkisini azaltmada en etkili kitosan dozunun 100 ppm uygulaması olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1; Şekil 2).

3.5 Gövde Çapı (mm)

Uygulamalar arasında gövde çapı açısından önemli farklılıklar bulunmuştur. 100 mM tuz konsantrasyonunun ve 200 mM tuz konsantrasyonunun neden olduğu olumsuz etkiyi azaltmada en etkili dozun 150 ppm kitosan uygulamasının olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1; Şekil 2).

3.6 SPAD (Yaprak Klorofil İçeriği)

SPAD değerleri açısından uygulamalar arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Her iki tuz konsantrasyonunda da SPAD değerine olumlu etki yapan en etkili kitosan uygulamalarının 150 ppm uygulamaları olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1; Şekil 2).

Çizelge 1. Tuz stresi altındaki domates bitkilerinin morfolojik özellikleri üzerine kitosanın etkisi

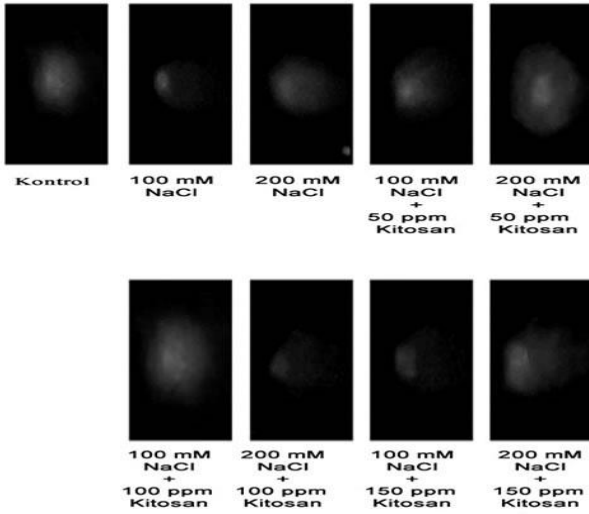
NaCl (mM)	Kitosan (ppm)	BB	GU	YA	YS	GÇ	YK
0	0	31.833a	6.167a	19.243a	6.833a	7.733a	56.033d
100	0	16.833e	4.167f	11.273f	4.333f	5.900ı	48.500h
	50	17.000d	4.333e	12.067d	5.167c	6.400d	57.900c
	100	20.000c	5.167b	12.420c	6.100b	6.500c	62.500b
	150	20.333b	5.167b	13.710b	5.000d	7.233b	68.167a
200	0	14.000h	3.333h	9.560h	3.667g	6.067h	40.833ı
	50	14.667g	3.833g	10.230h	4.500f	6.200g	50.200g
	100	14.667g	4.667d	10.750g	4.833e	6.267f	52.267f
	150	15.000f	4.700c	11.453e	3.667g	6.233e	53.133e

BB: Bitki Boyu (cm); GU: Gövde uzunluğu (cm); YA: Yaprak Alanı (cm²); YS: Yaprak Sap Uzunluğu (cm); GÇ: Gövde Çapı (mm), YK: Yaprak Klorofil İçeriği



Şekil 2. Tuz stresi altındaki kitosan ile muamele edilmiş domates bitkileri

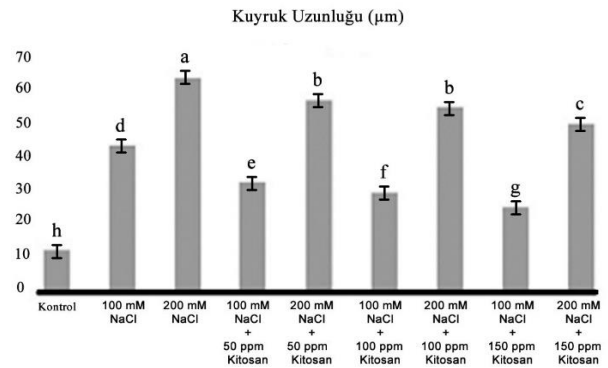
Tuz stresinin domates fidelerinin çekirdek düzeyinde fiziksel hasarını belirlemek için comet testi yapıldı. DNA iplikçiklerindeki tek ve çift iplik kopmalarının seviyesini belirlemek için kuyruk uzunluğu, kuyruk DNA yüzdesi ve kuyruk momenti parametreleri ile değerlendirildi. Kontrol grubu, tuz stresi uygulanmış ve kitosan uygulanmış örneklerle ait comet assay görüntüleri Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3. Kontrol grubu, tuz stresi ve tuz stresi ve kitosan ile muamele edilmiş numunelerin comet analizi görüntüleri

Tuz uygulamalarının neden olduğu çekirdek hasarı ve bu hasarın boyutunun tespitinde DNA tek ve çift sarmal kırılmalarının göstergesi olan kuyruk uzunlukları değerlendirildi. Kontrol grubu örnekleri ile karşılaştırıldığında tuz stresinin her iki dozunda da (100 mM ve 200 mM) kuyruk uzunluklarının dozla

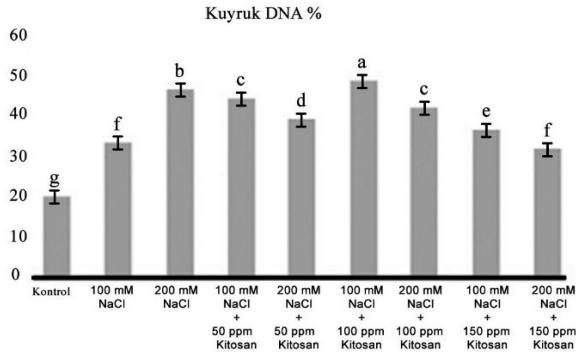
doğru orantılı olarak arttığı saptandı. 62.71 μm ile elde edilen en uzun kuyruk uzunluğu 200 mM tuz ile muamele edilen numunelerin ortalamalarından tespit edilmiştir. 50 ppm, 100 ppm ve 150 ppm kitosan uygulamalarının domates fidelerinde tuz stresinden kaynaklanan kuyruk uzunluğunu önemli oranda azalttığı gözlemlendi. Özellikle 100 mM NaCl uygulaması sonucu oluşan kuyruk uzunluğunu her üç doz kitosan uygulamasının (50 ppm, 100 ppm ve 150 ppm) azalttığı kaydedildi. Kitosan uygulamaları 200 mM NaCl uygulamasında kuyruk uzunluğunu azalttığı ancak 100 mM NaCl + kitosan uygulamaları kadar etkili olmadığı belirlenmiştir. Kontrol, tuz ve tuz-kitosan ile muamele edilmiş numunelerin kuyruk uzunlukları Şekil 4'de verilmiştir.



Şekil 4. Kontrol grubu, tuz ve tuz-kitosan uygulanmış örneklerin kuyruk uzunlukları

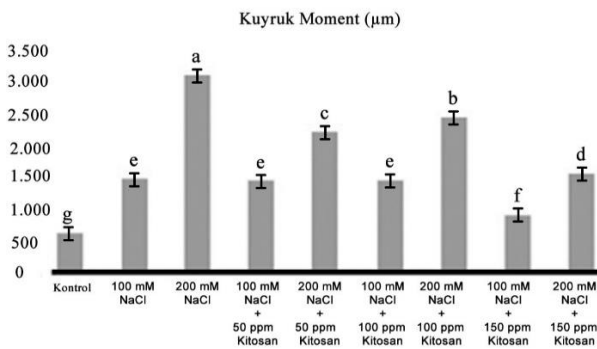
Yapılan diğer bir analizde tuz stresine maruz kalan domates fidelerinin kontrol grubu örneklerinden daha yüksek kuyruk DNA % değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Artan tuz dozlarıyla (100 mM ve 200 mM) kuyruk DNA % değerinin orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Kitosan uygulamalarının her üç dozda

da kuyruk DNA % değerini azalttığı tespit edilmiştir. Kitosanın 200 mM NaCl ile muamele edilen fidelerde kuyruk DNA % değerini daha etkili bir şekilde düşürdüğü belirlenmiştir. 100 mM NaCl ile muamele edilen fidelerde kitosanın daha az etkili olduğu belirlendi. Kontrol, tuz ve tuz-kitosan ile muamele edilen numunelerin % kuyruk DNA değerini ifade eden grafik Şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5. Kontrol, tuz ve tuz-kitosan gruplarına ait kuyruk DNA % değerleri

Çalışmada hücrelerin kuyruk momentleri de hesaplanmıştır. Kuyruk momenti yüzde kuyruk x kuyruk uzunluğu olarak ifade edilmektedir. Yapılan hesaplamalarda fidelere uygulanan tuz dozundaki (100 mM ve 200 mM) artış ile kuyruk momentinin doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. En yüksek kuyruk momentinin 200 mM tuz dozu uygulanan domates fidelerinde olduğu belirlenmiştir. Kitosanın her üç doz uygulamasının (50 ppm, 100 ppm ve 150 ppm) kuyruk moment değerlerini azalttığı belirlenmiştir. Kontrol, tuz ve tuz-kitosan ile muamele edilen numunelerin kuyruk momentlerinin grafiği Şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 6. Kontrol, tuz ve tuz-kitosan ile muamele edilen numunelerin kuyruk momenti değerleri

4. Tartışma ve Sonuç

Domates, dünyada en çok üretilen ve tüketilen sebzelerden biridir. Ancak domates üretimi diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi biyotik ve abiyotik stres faktörlerinden olumsuz etkilenmektedir. Abiyotik stres grubuna dâhil olan tuzluluk stresi de bu faktörlerden biridir. Toprakta bulunan tuz iyonları bitkilerin çimlenme, büyüme ve gelişme dönemlerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bitkiler, karmaşık ve değişken çevresel stresler altında büyüme ve gelişmeyi sürdürmek için morfolojik, fizyolojik, hücreler ve moleküler bir dizi tepki oluştururlar (Li vd.2016, Zhou vd.2016, Kang vd. 2017). Bundan dolayı son zamanlarda bitkilerin strese toleranslarının artırılması ve bitki savunma mekanizmalarını desteklemek için farklı organik maddeler tercih edilmektedir (Bulut 2020). Bu organik maddelerden birisi de kitosandır. Kitosan bitki büyüme düzenleyicisi ve abiyotik streslere karşı bitkiyi korumak amacıyla da kullanılmaktadır. Bitki hücre veya doku kültürlerinde hızlı bir şekilde üretimin sağlanmasında, verimin artırılmasında ve sekonder metabolitlerin üretilmesinde abiyotik elisitör (uyarıcı) olarak kullanılmaktadır (Hidangmayum vd. 2019). Örneğin, *Linum usitatissimum* L. (keten) hücre kültürlerinde kullanılan kitosan (10 mg/L) farmakolojik olarak önemli bir polifenol olan lignan üretimini artırmıştır (Ahmad vd. 2019). Yapılan bir diğer çalışmada ise *Solanum tuberosum* L. (patates) bitkisinde kitosanın yapraktan uygulanmasının büyümeye ve kuraklık stresine karşı olan etkileri analiz edilmiş ve sürgün yüksekliğinde gelişme, klorofil, karetoidler, prolin ve total şeker miktarlarında önemli oranda artış olduğu ifade edilmiştir (Muley vd. 2019). *Triticum aestivum* L. (buğday) ve *Zea mays* L. (mısır) bitkilerinde tuzluluk stresine karşı, tohumların 3 saat kitosan çözeltisi ile muamele edildikten sonra yetiştirilmeleri, antioksidan enzim aktivitesini ve prolin içeriğini artırarak bitkilerin strese karşı iyileştirici etki göstermiştir (Shams 2018).

Bu çalışmada farklı dozda tuz uygulamaları sonrasında domates fidelerinin morfolojik özellikleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit

edildi. Çalışmada tuz stresi koşullarının, domates fidelerinin tüm morfolojik özelliklerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında negatif etkiye neden olduğu belirlendi. Tuz stresinin olumsuz etkilerinin azaltılması için uygulanan kitosanın, fidelere olumlu katkıda bulunduğu saptandı. Çalışma verileri 100 mM tuz konsantrasyonunda tuz stresinin bitki boyu, gövde uzunluğu, yaprak alanı ve gövde çapı parametreleri üzerindeki olumsuz etkisini azaltmada en etkili dozun 150 ppm kitosan olduğu gösterdi. 200 ppm tuz stresi altında gövde kalınlığı ve yaprak sapı uzunluğu dışındaki tüm morfolojik parametrelere göre tuz stresinin etkisini azaltmada en etkili doz 150 ppm kitosan oldu. Ayrıca 200 mm tuz stresinde gövde kalınlığı ve yaprak sapı uzunluğu parametreleri dikkate alındığında stresi azaltmada en etkili dozun 100 ppm kitosan uygulaması olduğu belirlendi.

Çevresel stres faktörlerinin canlılar üzerindeki toksik etkileri hem *in vivo* hem de *in vitro* biyobelirteç yöntemleri kullanılarak izlenebilir. Tek Hücre Jel Elektroferez tekniği, sitogenetik etkileri ve DNA hasarlarını tespit etmedeki hızı ve duyarlılığı nedeniyle günümüzde popülerlik kazanmıştır (Tice vd. 2000). Comet tekniği, ekotoksikoloji, biyoizleme, beslenme ve kanser çalışmaları gibi birçok alanda DNA hasarını ve onarımını ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Gyori vd. 2014). Comet testi, zarar görmüş DNA'nın elektroferez ile çekirdekten salınmasına dayanır (Kurtulmuş ve Aydın 2007). Tuz stresi sonucu domates fidelerinde DNA çift ve tek sarmal kopmalarında meydana gelen fiziksel hasarın boyutu Comet assay analizi ile kuyruk uzunluğu, kuyruk DNA % değeri ve kuyruk moment parametreleri ile değerlendirildi. Tuz dozunun DNA'da oluşturduğu hasarın boyutuna bağlı olarak bu parametrelerin değerinin arttığı belirlendi. Uygulanan kitosanın DNA'daki fiziksel hasarı azalttığı kuyruk uzunluğu, kuyruk DNA % değeri ve kuyruk momentindeki değişimden saptandı. 150 ppm Kitosanın etkinliği daha fazla olduğu belirlendi. Ancak tuz stresinin çok yoğun olmadığı durumlarda her üç dozun da hücre hasarını azalttığı saptandı.

Bu çalışmadan elde edilen morfolojik ve DNA hasarı değerlendirildiğinde kitin bileşenlerinden elde edilen kitosan organik takviyesinin özellikle tuz stresini azaltmak için kullanılabileceği öngörülmektedir. Çalışma sonuçlarımız, kitosanın tuz stresinin olumsuz etkilerine karşı koymak için makul bir çözüm olabileceğini göstermektedir. Ancak kitosanın etkinliğinin tuz konsantrasyonu arttıkça azaldığı çalışmamızın verilerinden elde edildi. Uygulanan tuz stresi sonucunda domates fidelerinin morfolojik yapılarında meydana gelen değişim ile DNA hasar düzeyi arasında uyum olduğu saptandı. Tuz stresi ile mücadelede 150 ppm kitosan biyopolimerinin kullanımı bitki büyüme ve gelişmesi için önerilmektedir. Çalışmamız iyi tarım uygulamaları açısından üreticilere rehberlik edecektir.

Teşekkür

Bu çalışma Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklenen FBA-2021-765 kodlu projeden elde edilmiştir. Yazarlar Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederler.

5. Kaynaklar

- Ahmad, W., Zahir, A., Nadeem, M., Garros, L., Drouet, S., Renouard, S., . Abbasi, B. H., 2019. Enhanced production of lignans and neolignans in chitosan-treated flax (*Linum usitatissimum* L.) cell cultures. *Process biochemistry*, 79, 155-165.
- Ashour, H.A., Esmail, S.E.A., Kotb M.S., 2020. Ornamental horticulture. *Ornamental Horticulture*, 27 (1), pp. 88-102
- Bakhroum, G.S., Sadak, M.S., Badr, E.A.E.M., 2020. Mitigation of adverse effects of salinity stress on sunflower plant (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of chitosan. *Bulletin of the National Research Centre*, 44 (1), 10.1186/s42269-020-00343-7
- Bulut, H., 2020. Arpada Tuz Stresine Karşı Zingeronun Koruyucu Etkisi. *Journal of the Institute of Science and*

- Technology, 10 (4) , 2932-2942. DOI: 10.21597/jist.686577
- Garude, N.R., Vemula, A.N., 2019. Seed priming with chitosan for enhanced plant growth under salt stress. Retrieved from, 9 (3), pp. 6-11
- Gerami, M., Majidian, P., Ghorbanpour, A., Alipour Z., 2020. Stevia rebaudiana bertonii responses to salt stress and chitosan elicitor. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26 (5), pp. 965-974, 10.1007/s12298-020-00788-0
- Golkar, P., Taghizadeh, M., Yousefian, Z., 2019. The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under in vitro salinity stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 137 (3), pp. 575-585, 10.1007/s11240-019-01592-9
- Gyori, B. M., Venkatachalam, G., Thiagarajan, P. S., Hsu, D., Clement M.V., 2014. an automated tool for comet assay image analysis. *Redox Biology*, 9 (2) :457-65. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.020. eCollection 2014.
- Hassan, F.A.S., Ali, E., Gaber, A., Fetouh, M.I., Mazrou, R. 2021. Chitosan nanoparticles effectively combat salinity stress by enhancing antioxidant activity and alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, pp. 291-300, 10.1016/j.plaphy.2021.03.004
- Hernández-Hernández, H., Juárez-Maldonado, A., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Sánchez-Aspeytia, D., González-Morales, S., 2018. Chitosan-PVA and copper nanoparticles improve growth and overexpress the SOD and JA genes in tomato plants under salt stress. *Agronomy*, 8 (9), 10.3390/agronomy8090175
- Hidangmayum, A., Dwivedi, P., Katiyar, D., and Hemantaranjan, A., 2019. Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. *Physiology and molecular biology of plants*, 25 (2), 313-326.
- Jabeen, N., Ahmad, R., 2013. The activity of antioxidant enzymes in response to salt stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings raised from seed treated with chitosan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (7), pp. 1699-1705, 10.1002/jsfa.5953
- Kang, L.Y. Lu, Q.S. Shao, H.B. Shi, P., 2017. Effects of drought on NDVI of winter wheat growth in Binzhou irrigation region. *Jiangsu J. Agric. Sci.*, 33, pp. 83-93
- Li, X.X., Huang, P. Zhuang, Du H.D., 2016. Research advances of stress tolerance in sweet sorghum. *Jiangsu J. Agric. Sci.*, 32, pp. 1429-1433
- Mosavikia, A.A., Mosavi, S.G., Seghatoleslami, M., Baradaran R., 2020. Chitosan nanoparticle and pyridoxine seed priming improves tolerance to salinity in milk thistle seedling [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48 (1), pp. 221-233, 10.15835/NBHA48111777
- Mukherjee, A., Gichner, T., 2009. Plant bioassays: comet assay in higher plants. *Research Methods Plant Sciences*, 1 (), pp. 97-108
- Muley, A.B., Shingote, P.R., Patil, A.P., Dalvi, S.G., Suprasanna, P., 2019. Gamma radiation degradation of chitosan for application in growth promotion and induction of stress tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Carbohydrate polymers*, 210, 289-301.
- Oliveira, H.C., Gomes, B.C.R., Pelegrino, M.T., Seabra, A.B., 2016. Nitric oxide-releasing chitosan nanoparticles alleviate the effects of salt stress in maize plants. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, 61, pp. 10-19, 10.1016/j.niox.2016.09.010
- Rabêlo, V.M., Magalhães, P.C., Bressanin, L.A., Carvalho, D.T., dos Reis, C.O., Karam, D., de Souza, T.C., 2019. The foliar application of a mixture of semisynthetic chitosan derivatives induces tolerance to water deficit in maize, improving the antioxidant system and increasing photosynthesis and grain yield. *Scientific Reports*, 9 (1), pp. 1-13, 10.1038/s41598-019-44649-7
- Safikhani, S., Khoshbakht, K., Chaichi, M.R., Amini, A., Moteszarehadeh, B., 2018. Role of chitosan on the growth, physiological parameters and enzymatic activity of milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) in a pot experiment. *Journal of Applied Research on*

- Medicinal and Aromatic Plants*, 10, pp. 49-58, 10.1016/j.jarmap.2018.06.002
- Sen, S.K., Chouhan, D., Das, D., Ghosh, R., Mandal, P., 2020. Improvisation of salinity stress response in mung bean through solid matrix priming with normal and nano-sized chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, pp. 108-123, 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.170
- Sen, S.K., Mandal, P., 2016. Solid matrix priming with chitosan enhances seed germination and seedling invigoration in mung bean under salinity stress. *Journal of Central European Agriculture*, 17 (3), pp. 749-762, 10.5513/JCEA01/17.3.1773
- Shams P.L., 2018. Effect of chitosan on antioxidant enzyme activity, proline, and malondialdehyde content in *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L. under salt stress condition. *Plant Physiology*, 9 (1), 2661-2670.
- Sheikhalipour, M., Esmailpour, B., Behnamian, M., Gohari, G., Giglou, M.T., Vachova, P., Skalicky, M., 2021. Chitosan-selenium nanoparticle (Cs-Se np) foliar spray alleviates salt stress in bitter melon. *Nanomaterials*, 11 (3), pp. 1-23, 10.3390/nano11030684
- Su, L.J., Zhang, J.H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., Peng, Z.Y. 2019. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 10.1155/2019/5080843
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C., Sasaki, Y.F., 2000. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen*, 35 (3) :206-21. doi: 10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j.
- Turk, H. 2019. Chitosan-induced enhanced expression and activation of alternative oxidase confer tolerance to salt stress in maize seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141, pp. 415-422, 10.1016/j.plaphy.2019.06.025
- Ullah, N., Basit, A., Ahmad, I., Ullah, I., Shah, S.T., Mohamed, H.I., Javed, S., 2020. Mitigation the adverse effect of salinity stress on the performance of the tomato crop by exogenous application of chitosan. *Bulletin of the National Research Centre*, 44 (1), 10.1186/s42269-020-00435-4
- Zayed, M., Elkafafi, S., Zedan, A., Dawoud, S., 2017. Effect of Nano chitosan on growth, physiological and biochemical parameters of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. *Journal of Plant Production*, 8 (5), pp. 577-585,
- Zhou, J., Wu, J.C., Du, B.M., Li, P.L., 2016. A comparative study on drought resistances of four species of lianas. *Jiangsu J. Agric. SCI*, 32, pp. 674-679