KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI KİTOSAN UYGULAMA YÖNTEMLERİNİN TERE (*Lepidium sativum* L.) BİTKİSİNE OLAN ETKİLERİNİN GELİŞİMSEL ANALİZİ

MERVE ÇAKIR

KOCAELİ 2021

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI KİTOSAN UYGULAMA YÖNTEMLERİNİN TERE (*Lepidium sativum* L.) BİTKİSİNE OLAN ETKİLERİNİN GELİŞİMSEL ANALİZİ

MERVE ÇAKIR

Prof. Dr. Fazıl ÖZEN
Danışman, Kocaeli Üniv. .....

Prof. Dr. İbrahim ÖZKOÇ
Jüri, Ondokuz Mayıs Üniv. .....

Doç. Dr. ÖzlemAKSOY
Jüri, Kocaeli Üniv. .....

Tezin Savunulduğu Tarih: 01.02.2021

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Fazıl ÖZEN'e, bilgisini ve sabrını eksik etmeyen saygıdeğer hocam Dr. Arda ACEMİ'ye, analizlerime desteklerinden ötürü sevgili Günce GÖÇ'e,

Bana her zaman saygılı, hoşgörülü ve istediklerimin çalışarak ve zamanla olacağını öğreten, eğitim-öğretim hayatıma her zaman maddi ve manevi desteklerini ellerinden geldiğinin de üzerinde bir çabayla sağlayan saygıdeğer, sevgili anne ve babam Şahsine ÇAKIR, Ekrem ÇAKIR' a, sevgilerini en içten hissettiğim sevgili abim Kadir ÇAKIR ve sevgili yengem Merve ÇAKIR'a, varlığını tez çalışmamın tohumlarını ekerken öğrendiğim, sevgisini toprakta büyüttüğüm, bize mutluluk gözyaşı döktüren dünya güzeli sevgili yeğenim Hümeyra ÇAKIR'a,

Ne zaman yorulsam bana beni hatırlatan, gönlümde çiçekler açtıran sevgili nişanlım Yasin YAVAŞ'a, yüksek lisans sürecinde birlikte yol aldığım sevgili arkadaşlarım Banu DOĞAN ve Hanife ALDEMİR'e,

Bu süreçte yaşadığım zorluklara rağmen sabrımı, azmimi ve geleceğe olan umudumu kaybetmediğim için kendime ve yukarıda ismini saydığım kalbimin parçaları olan bütün bu güzel insanlara teşekkürü borç bilirim.

Şubat 2021 Merve ÇAKIR

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ……..…….....ii
ŞEKİLLER DİZİNİ ……iii
TABLOLAR DİZİNİ ……..iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ……v
ÖZET ……..vi
ABSTRACT …….……..vii
GİRİŞ ……..……..…….…1
1.GENEL BİLGİLER ……..……..……...2
1.1. *Lepidium sativum* L. Bitkisi Hakkında Bilgiler …….…….....2
1.2. Kitosan Hakkında Bilgiler ……..…4
1.3.Bitki Büyümesine Yardımcı Bakteriler Hakkında Bilgiler ……..…6
1.4. Çalışmanın Amacı …….…….....…7
1.5. Çalışma Yöntemleri ……...…9
1.5.1. Çalışmada kullanılan cihazlar …….....9
1.5.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ……..10
1.5.3. Çalışmada kullanılan besi ortamı ve içeriği …….....11
1.6. Çalışmanın Veri Eldesi ……11
1.6.1. Kitosan konsantrasyonunun belirlenebilmesi amacıyla bakteri sayımı ……..11
1.6.2. Kitosan kaynak ve uygulanacak kitosan konsantrasyonlarının belirlenmesi …….....12
1.6.3. Çalışmada kullanılacak bitkisel materyalin eldesi …….....12
1.6.4. Yaprak yüzey alanı hesaplamaları ……....14
1.6.5. Protein tayini ……14
1.6.6. Verilerin istatistiksel yönden değerlendirilmesi……..15
2. BULGULAR VE TARTIŞMA.....……..……...16
2.1.Kullanılacak Kitosan Konsantrasyonunu Belirlemede Elde Edilen Veriler …….....16
2.2. Yapraktan Kitosan ile Sulama Yönteminden Elde Edilen Veriler ……..…….....…..19
2.3. Topraktan Kitosan ile Sulama Yönteminden Elde Edilen Veriler ……..……...…….29
3. SONUÇLAR VE ÖNERİLER ……...40
3.1. Kitosan Konsantrasyonlarının Belirlenmesi Hakkında Ulaşılan Sonuçlar …...……...……..40
3.2. Yapraktan ve Topraktan Kitosan ile Sulama Yöntemlerinin Sonuçları ve Öneriler …...…….……....40
KAYNAKLAR ……..44
KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER …….……..48
ÖZGEÇMİŞ ….……..49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. : Tere bitkisinin genel görünüşü ve çiçekler……1
Şekil 1.2. : Tere bitkisinin tohumları……...3
Şekil 1.3. : Selüloz, Kitin ve Kitosanın kimyasal yapısı……...….4
Şekil 1.4. : Çalışmanın yapıldığı ekim odası ……13
Şekil 1.5. : Bradford eklenerek hazırlanan derişimler …….....…15
Şekil 2.1. : *Bacillus amyloliquefaciens* IC_{50} belirleme değer grafiği…….....16
Şekil 2.2. : *Bacillus vallismortis* IC_{50} belirleme değer grafiği…….....17
Şekil 2.3. : *Bacillus methylotrophicus* IC_{50} belirleme değer grafiği ……18
Şekil 2.4. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde gözlemlenen tere bitkisi gelişimi ……..…...19
Şekil 2.5. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak yüzey alan grafiği ……..….20
Şekil 2.6. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak sayısı grafiği ……...22
Şekil 2.7. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak ağırlık grafiği ……...…….24
Şekil 2.8. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde gözlemlenen tere bitkisi gelişimi (10 kda 2.5 mg/L konsantarsyonda gelişim gösteren tere bitkisi) …..……....26
Şekil 2.9. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde protein tayini yaş ağırlık grafiği ……..……...27
Şekil 2.10. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde gözlemlenen tere bitkisi gelişimi (10 kda 2.5 mg/L konsantarsyonda gelişim gösteren tere bitkisi) ……..……....29
Şekil 2.11. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak yüzey alan grafiği……..……..30
Şekil 2.12. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak sayısı grafiği……...…….32
Şekil 2.13. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak ağırlık grafiği……..……34
Şekil 2.14. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde 1 kda 5 mg/L en iyi gelişim gösteren bitkiler……..……...36
Şekil 2.15. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde protein tayini yaş ağırlık grafiği……..……...37

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. : Çalışmada kullanılan cihazlar…….9
Tablo 1.2. : Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler……...…..10
Tablo 1.3. : Nitsch vitamin besi ortamının içeriği……11
Tablo 2.1. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde tüm konsantrasyonlarda yaprak yüzey alanı ortalamaları ……...21
Tablo 2.2. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde tüm konsantrasyonlarda yaprak sayısı ortalamaları ……....23
Tablo 2.3. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde tüm konsantrasyonlarda yaprak ağırlığı ortalamaları …….25
Tablo 2.4. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde tüm konsantrasyonlarda protein tayini yaş ağırlık ortalamaları …….28
Tablo 2.5. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde tüm konsantrasyonlarda yaprak yüzey alanı ortalamaları ……..31
Tablo 2.6. : Topraktan kitosan ilesulama yönteminde tüm konsantrasyonlarda yaprak sayısı ortalamaları ……33
Tablo 2.7. : Topraktan kitosan ilesulama yönteminde tüm konsantrasyonlarda yaprak ağırlığı ortalamaları …….35
Tablo 2.8. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde tüm konsantrasyonlarda protein tayini yaş ağırlık ortalamaları …….38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

mg	: Miligram
ml	: Mililitre
µ	: Mikrolitre
L	: Litre
nm	: Nanometre
cm	: Santimetre
^{o}C	: Santigrat derece
g	: Gram
kda	: Kilodalton
rpm	: Dakikadaki devir sayısı

Kısaltmalar

AD	: Asetilasyon derecesi
BSA	: Bovin Serum Albümin
NM	: Nitsch Medium besi ortamı
NB	: Nutrient Broth
PGPR	: Bitki büyümesine yardımcı rizobakteriler
PD	: Polimerizasyon derecesi

FARKLI KİTOSAN UYGULAMA YÖNTEMLERİNİN TERE (*Lepidium sativum* L.) BİTKİSİNE OLAN ETKİLERİNİN GELİŞİMSEL ANALİZİ

ÖZET

Bu çalışmada *in vivo* ortamda *Lepidium sativum* bitkisinde doğal bir büyüme arttırıcı olan kitosanın bitkiye topraktan sulama ve yapraktan sulama yöntemleri ile uygulanması sonucunda bitkide meydana gelen bazı parametreler değerlendirildi. Kitosan uygulanma konsantrasyonlarını belirleyebilmek için *Bacillus* cinsine ait *Bacillus amyloliquefacieno, Bacillus methylotrophicus* ve *Bacillus vallismortis* türleri üzerinde kitosanın antimikrobiyal aktivitesi test edildi ve çalışmada kullanılacak konsantrasyonlar belirlendi. Bu çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda kitosanın her iki uygulama yönteminde de farklı sonuçlar gösterdiği ancak topraktan uygulandığında daha düşük moleküler ağırlığa sahip kitosan konsantrasyonları kullanılabilirken yapraktan uygulandığında daha yüksek moleküler ağırlığa sahip konsantrasyonların tercih edildiği görüldü. Elde edilen veriler doğrultusunda kitosanın *in vivo* ortamda uygulanmasındaki yöntemler farklı konsantrasyon ve uygulama yöntemleriyle ele alınarak literatürün bu noktadaki eksikliğine yol açıldı.

Anahtar Kelimeler: *in vivo,* Kitosan, *Lepidium sativum.*

DEVELOPMENTAL ANALYSIS OF THE EFFECT OF DIFFERENT CHITOSAN APPLICATION METHODS ON GARDEN CRESS (*Lepidium sativum* L.) PLANT

ABSTRACT

In this study, some parameters occurring in the plant as a result of application of chitosan, a natural groeth promoter in *Lepidium sativum* plant *in vivo*, by soil irrigation and leaf irrigation methods were evaluated. In order to determine chitosan application concentrations, the antimicrobial activity of chitosan was tested on *Bacillus amyloliquefacieno, Bacillus methylotrophicus* and *Bacillus vallismortis* species belonging to the genus *Bacillus* and the concentrations to be used in the study were determined. In line with the data obtained in this study, it was observed that chitosan showed different results in both application methods, but lower molecular weight chitosan concentrations could be used when applied from the soil, while higher molecular weight concentrations were preferred when applied to the leaf. In line with the data obtained, the methods of applying chitosan in vivo environment were handled with different concentration and application methods, resulting in the lack of literature at this point.

Keywords: *in vivo*, Chitosan, *Lepidium sativum*.

GİRİŞ

Bitki doku kültürü yöntemleri günümüzde oldukça popüler olmuş ve yaygınlaşmış biyoteknoloji yöntemlerinden bazılarıdır. Bitki doku kültürü yöntemleri ile genetik iyileştirmelerden organik tarım prensibine kadar birçok alanda etkili olunmaktadır. Kimyasal maddelerin bitkiler üzerindeki zehirli etkisinin araştırılması ve bu maddelere bağımlı olmadan bitki gelişimini gözlemleyebilmek, kullanılan zehirli maddelere alternatif doğal maddeler ile çalışmaları yürütmek ve çalışmalar sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda insanları doğal, zehirli olmayan maddelere yönlendirebilmek bitki doku kültürünün hedeflerinden bazılarıdır.

Kitosan günümüzde birçok zehirli maddenin yerine kullanılabilecek doğal, biyobozunur bir polimerdir. Kitosanın kullanımının artması bu polimerin öneminin anlaşılmasını sağlayacak ve gelecek nesillere daha temiz bir dünya bırakabilmek için bugünün insanlarına bir adım olacaktır. Kitosan kullanımı ile tarımında pestisitlerin, herbisitlerin kullanımı azalacak dolayısıyla topraktaki bakteri popülasyonlarının, hayvan popülasyonlarının artışı gerçekleşecek, topraktaki zehirli kimyasal madde miktarı azalacak, bitkiler daha sağlıklı büyüyecek, bu bitkilerden beslenen insanlarda zehirli madde birikimi azalacak gibi birçok basamakla gelecek nesillere vaat edeceğimiz temiz dünyanın yanı sıra bugünde kendi sağlığımız, yaşadığımız, soluduğumuz havanın temizliği için kendi adımıza da minik bir adım atmış olacağız.

1.GENEL BİLGİLER

1.1. *Lepidium sativum* L. Bitkisi Hakkında Bilgiler

Brassicaceae (Turpgiller) familyası, yaklaşık 300 cins ve 1500 türden oluşan büyük bitki ailelerinden biridir (1). Brassicaceae familyasına ait *Lepidium sativum* L. genellikle bahçe teresi olarak bilinen keskin bir tat ve aromaya sahip, yaklaşık 15-45 cm uzunluğa ulaşabilen, şekilde de görüldüğü gibi erselik yapıda bir dişi organ, altı erkek organ ve dört çanak yapraktan oluşan beyaz çiçeklere sahip, hızlı büyüyen, yıllık otsu bir bitkidir (2-3) (Şekil1.1).



Şekil 1.1. : Tere bitkisinin genel görünüşü ve çiçekleri

Tere bitkisinin yer aldığı taksonomik kategoriler hiyerarşik sırayla şu şekildedir (44);

Alem : Plantae
Şube : Magnoliophyta
Sınıf : Magnoliopsida
Takım : Brassicales
Familya : Brassicaceae (Turpgiller)
Cins : *Lepidium*
Tür : *Lepidium sativum*

Gıda amaçlı olarak tere bitkisinin genellikle yaprakları tüketilirken tıbbi amaçlı kullanımı bakımından ise tohumları kullanılmaktadır. Tere tohumları (Şekil 1.2.) yağlı tohum olarak sınıflandırılmaktadır ve bu tohumlar makro ve mikro elementlerce zengindir. İçeriğinde amino asitler, kalsiyum, magnezyum, fosfor gibi mineraller, niasin, riboflavin ve tiamin gibi vitaminler, yağ asitleri, müsilaj, antioksidanlar, tanenler ve benzil izosiyanatlar gibi birçok önemli bileşenin yer aldığı zengin bir içeriğe sahiptir. Tohumlar 25 g protein, 24 g yağ, 3 g lif ve 100 g başına 33 g karbonhidrat içermekte olup 450 kcal gibi yüksek bir kalori değerine sahiptir (4-10).

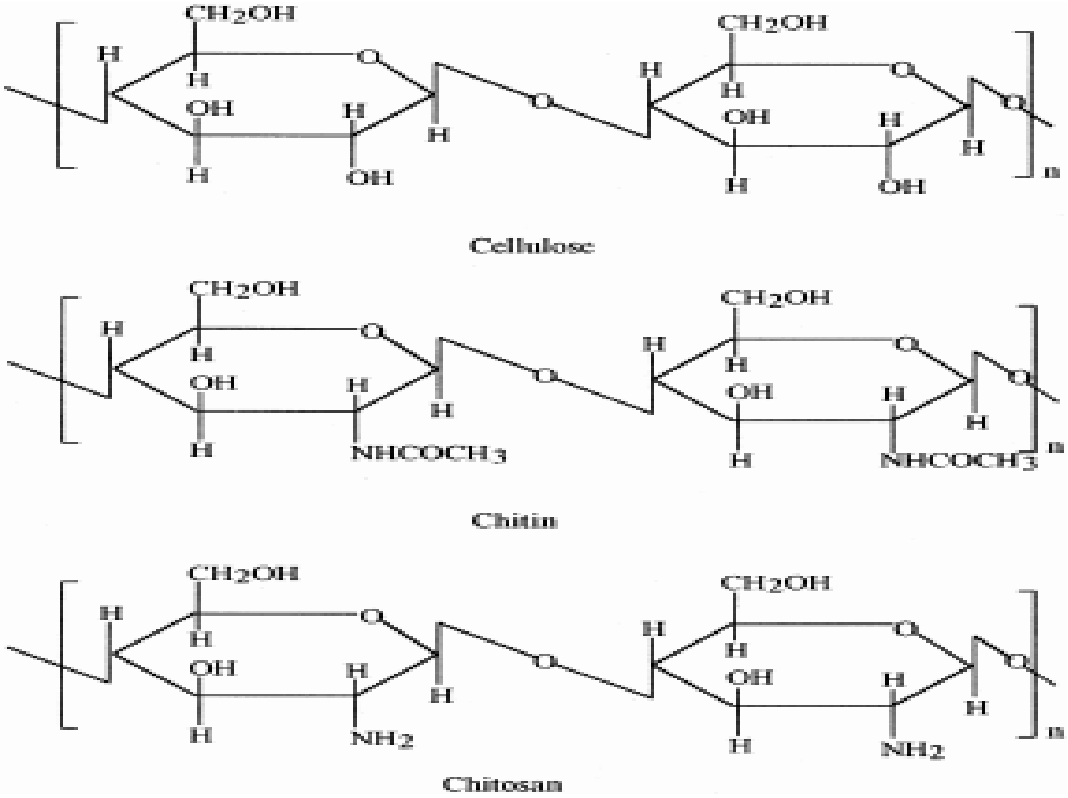


Şekil 1.2. : Tere bitkisinin tohumları

Tere antik çağlardan bu zamana kadar özellikle anavatanı olarak kabul edilen Mısır ve genel olarak Asya'da yetiştirilen tıbbi bir bitkidir. Tere üretimi ülkemizin her bölgesinde yapılmakla birlikte özellikle Eskişehir, Adana, Mersin ve Bursa'da yoğun olarak üretimi gerçekleştirilmektedir. Türkiye'de yetiştirilen tere, yaprak şekline bağlı olarak iki gruba ayrılır. Bu gruplardan parçalı yaprağa sahip olanlar maydanoz tipli; düz, parçasız ve oval bir şekle sahip olanlar ise roka tipli olarak adlandırılmaktadır. Maydanoz tipli tereler, roka tipli terelere oranla daha fazla esansiyel yağ içermektedirler. Üretimi en fazla yapılan tere çeşitleri Bahargülü, Dadaş, İzmir ve Zeybek gibi isimlerle bilinmektedir. Tere, Ocak-Şubat ayları gibi ekimi gerçekleştirilen ve hasadı ilkbahar aylarında yapılan bir bitkidir ancak yıl boyunca yetiştirilmesi mümkündür (11). Sarılık, iştahsızlık, menstrual problemler, cinsel güçsüzlük, anemi, gastrointestinal bozukluklar, astım ve daha birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (12, 13). Terenin tohumlarından elde edilen müsilaj, yenilebilir film ve kaplama imalatında kullanılmaktadır (14).

1.2. Kitosan Hakkında Bilgiler

Günümüzde organik tarım ve iyi tarım uygulamalarının bir sonucu olarak yapay bitki büyüme düzenleyicilerin yerine kullanılabilecek alternatif organik ve biyobozunur doğal maddeler üzerine yapılan araştırmalar önem kazanmıştır. Bu maddelerden biri de kitinden elde edilen doğal bir polimer olan kitosandır. Kitin yengeç, karides gibi kabuklular, böcekler, gerçek mantarların hücre duvarlarından elde edilen bir polisakkarittir. Çözünürlüğü ve düşük kimyasal aktivitesi ile selüloza benzeyen çözünmez bir madde olan kitin beyaz, sert, elastik olmayan, azotlu bir polimerdir (Şekil 1.3.). Kitin ve kitosan sentetik olarak üretilen selüloza kıyasla yüksek nitrojen yüzdesiyle (yaklaşık % 89) ticari olarak daha fazla ilgi görmektedir (15, 16).



Şekil 1.3. : Selüloz, Kitin ve Kitosanın kimyasal yapısı (42)

Kitosanın tarihi Rouget'in 1859'da kitinin deasetillenmiş formunu tartışmasıyla geçtiğimiz yüzyıla dayanmaktadır (17). Kitosan, kitinin deasetilasyonuyla elde edilen doğal, zehirli olmayan bir biyopolimerdir ve antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi nedeniyle büyük ilgi görmektedir (18, 19). Biyopolimerlerin etkileri kimyasal özelliklerine göre farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle polimerizasyon dereceleri (PD) ve asetilasyon dereceleri (AD)'leri özellikle bitki üretiminde kritik rol oynamaktadır (20). Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi, polimerizasyon derecesi, moleküler ağırlığı, pH ve viskozite gibi diğer bazı fizikokimyasal özelliklerden etkilenmektedir. Bununla birlikte biyobozunur olması nedeniyle biyolojik olarak parçalanabilir olması ve zehirli bir etkiye sahip olmaması sebebiyle bitkiler üzerinde kullanımı tercih edilen bir polimerdir (21). Kitosan, gram pozitif bakterilere karşı gram negatif bakterilere göre daha yüksek antibakteriyal aktivite gösterir. Kitosanın antibakteriyal aktivitesi aynı zamanda çözücüye de bağlıdır ve kitosan pH 6.5'un üzerinde zayıf bir çözünürlüğe sahip olduğu için antibakteriyal aktivitesini yalnızca asidik ortamda gösterebilir (22, 23). Bu biyopolimer katyonik bir davranışa sahiptir,

bu nedenle diğer bileşiklerle elektrostatik olarak bağlantı kurabilir. Aynı zamanda kitosan, yapısında bulundurduğu iki reaktif grup sayesinde (fonksiyonel grup, serbest amin ve hidroksil grupları) kimyasal olarak kolay modifiye edilebilir. Aynı zamanda biyolojik olarak parçalanabildiği için çevre kirliliğinin önlenmesinde, topraktaki mikro ekolojik ilişkinin iyileşmesinde ve film oluşturabilmesi sayesinde yenilebilir biyofilm üretiminde kullanılabileceği için ilaç endüstrisinde umut verici bir maddedir. (24, 25, 26). Kitosan ucuz, özütlenmesi kolay ve güvenilir bir biyopolimerdir. Aynı zamanda kitosan kimyasal yapısı bakımından diğer biyopolimerlerden daha avantajlıdır ve eczacılık, tıp, atık su arıtımı, kozmetik, ziraat ve gıda gibi uygulama yelpazesi geniş olan bir biyopolimerdir (27, 28, 29). Bununla birlikte kitosanın bitkiler üzerindeki gelişimsel etkilerinin analiz edildiği çalışmalarda kitosanın bitkide sürgün uzunluğunu uygulanan diğer bitki büyüme düzenleyecilere oranla arttırdığı, kök oluşumunu engellediği için kök oluşumunu sınırlandırdığı ve bazı bitki büyüme düzenleyicilere alternatif olarak kullanabileceği bulunmuştur (20). *Glycine max* (soya fasülyesi)'da yapılan bir deneyde çimlenmeyi % 6 oranında, bitki kuru ağırlığını % 8 oranında ve ürün verimini % 10 oranında arttırdığı görülmüştür (30). Düşük konsantrasyonlarında bitkilerde patojenlere karşı koruyucu etkiye sahip olduğu, *Zea mays* (mısır) ve *Corylus avellana* (fındık)'da *Aspergillus flavus'*un aflatoksin üretimini inhibe ettiği bulunmuştur (31). Kitosanın, kök patojenlerine ve küf mantarlarına karşı zehirli aktivitesi araştırılmış ve mantarların hücre duvarında spor gelişimini engelleyerek koloni oluşturmasına imkan vermediği tespit edilmiştir (32). Yapılan bir çalışmada, *Solanum lycopersicum* (domates), *Actinidia deliciosa* (kivi), *Pyrus communis* (armut) gibi birçok meyvenin hasat sonrası çürümesini azaltıcı etki gösterdiği için kitosanın hastalık direncini arttırıcı etkiye sahip en önemli polisakkarit olduğu düşünülmektedir (33). Kitosanın *in vitro* üretimde *Solanum tuberosum* (patates) yumru çürümesine sebep olan *Fusarium sulphureum*'a karşı antifungal aktivitesinin araştırılmasının sonucunda kitosanın F. *sulphuerum*'un spor çimlenmesini ve misel büyümesini inhibe ettiği görülmüştür (34). Kitosanın mikrobiyal aktivitesini araştıran bazı araştırmacılar onun var olduğu ortamda suyu bağlayıcı bir etkiye sahip olduğunu ve enzim inhibitörü olarak çalıştığını ve bu sebeplerden dolayı mikrobiyal gelişimi engellediğini iddia etmişlerdir (35). *Fragaria vesca* (çilek)'da hasat sonrasında yapılan bir çalışmada, çilekler *Botrytis cinerea* ve *Rhizopus stolonifer* adlı mantar türleriyle inoküle edilmiş ve ardından çileklerin bir

kısmı kitosan ile kaplanırken bir kısmı kitosan ile etkileşime sokulmamıştır. Ardından çilekler depolandığında kitosan ile kaplanmayan çileklerde bir gün sonra mantar gelişimi gözlenirken, kitosanla kaplanmış çileklerde beş gün sonrasında mantar gelişimi gözlemlenmiş ve 14 günlük depolama sonucunda kitosan ile kaplanmış çileklerin mantarlar tarafından bozunmasında % 60'lık bir azalma tespit edilmiştir (36). Bir çalışmada, kitosan oligomerlerinin, *in vitro* ortamında düşük konsantrasyonlarda kullanıldığında fotosentetik pigment üretimini uyararak daha etkili olduğunu ve aynı çalışmada bitkide protein üretimini etkilediği bulunmuştur (37). Başka bir çalışmada kitosanın bitkide klorofil a, klorofil b ve karatenoid miktarını arttırdığı gözlemlenmiştir (38).

1.3. Bitki Büyümesine Yardımcı Bakteriler Hakkında Bilgi

Toprakta bitki köklerinin etrafında bulunan ve rizosfer olarak adlandırılan bölgede yoğun mikroorganizma populasyonu yer almaktadır. Topraktaki fizikokimyasal süreçler bu mikroorganizmaların varlığına bağlı olarak gerçekleşmektedir. Bakteriler, rizosferde bulunan mikroorganizma populasyonunun büyük kısmını oluşturmaktadır. Bazı bakterilerin bitki gelişimini etkilediği yapılan çalışmalarla bulunmuştur. Bitki gelişimine katkı sağlayan bu bakteriler bitkilere sağladıkları faydalardan dolayı bitki büyümesine yardımcı rizobakteriler (BBYR) olarak adlandırılmışlardır. BBYR'ler azotun bağlamasında, fosfor ve ağır metallerin çözülmesinde, hormon üretiminde, su ve mineral alımının artmasında, kök gelişiminin desteklenmesinde, enzim aktivitesini arttırması gibi birçok önemli mekanizmada bitkileri teşvik edici olarak işlev görmektedir (39, 40). *Azotobacter, Bacillus, Pseudomonas* gibi bakteri cinsleri PGPR olarak kabul edilmektedir (41). Kitosan, antimikrobiyal etkiye sahiptir, aşırı ve dikkatsiz kullanımda toprağın mikrobiyal aktivitesini etkileyerek bakterilerin üremesini engelleyebilmekte, dolayısıyla bakterilerin bitkinin gelişimine olan pozitif etkisini azaltıcı rol oynayabilmektedir. Bu nedenle yaygın olarak kullanılan topraktan sulama yöntemi kitosan varlığında bitkinin gelişimi için ters yönde bir etkiye sahip olabilir. Bundan dolayı kitosanın bahçe veya tarla bitkilerine uygulanmasında hangi yöntemin tercih edileceğine karar verilmelidir. Bu çalışmada, farklı moleküler ağırlık ve farklı konsantrasyonlara sahip kitosanların hem yapraktan hem de topraktan bitkiye uygulaması yapılmıştır. Bunun sonucunda bitkide ölçülen gelişimsel

parametrelerin analizi yapılarak en ideal kitosan uygulama yöntemi ortaya konulmaya çalışılmıştır. Uygulanacak kitosan konsantrasyonları kitosanın toprakta bulunan çeşitli gram pozitif bakterilere yaptığı etki göz önünde bulundurularak belirlenmiştir. Kitosanın gram pozitif bakterilere olan etkisinden dolayı bu çalışma için seçilen gram-pozitif bakteriler *Bacillus* cinsine ait bakterilerdir. Bu çalışmada *Bacillus* cinsine ait *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus methylotrophicus* ve *Bacillus vallismortis* türleri kullanılmıştır.

1.4.Çalışmanın Amacı

Tere, ülkemiz ve dünya genelinde hem gıda hem de sağlık sektöründe oldukça sık kullanılan yüksek bir içeriğe sahip değerli bir bitkidir. Kolay yetiştirilebilir olması tercih edilmesinin en önemli sebeplerinden biridir. Tıbbi olarak öneminin yanı sıra bu çalışmada tere bitkisinin seçilme amacı genellikle yapraklarının tüketiliyor olması ve belirlenen uygulama yöntemlerinden dolayı morfolojik olarak yapraklarının net bir şekilde gözlemlenebilmesidir. Kitosan günümüzde kullanımı önerilen en popüler doğal ve biyobozunur maddelerden biridir. Artan dünya nüfusu nedeniyle tarım gittikçe önem kazanırken yapılan tarımın bugünde yer alan insan popülasyonuna ve gelecek nesillere doğal tarım olarak sunulması önemlidir. Bu çalışmanın bilimsel amacının dışında bir diğer amacı da doğamızın gittikçe kirlendiği bu yüzyılda temennimiz gelecek yüzyıllarda daha temiz bir dünya bırakmak olduğu için biyobozunur olan bir maddenin kullanılmasıyla hem dünya nüfusuna iyi tarım uygulamalarını gösterebilmek hem de doğayı kirletmeden doğadan gelenle doğal olabilmeyi gösterebilmektir.

Tarımsal açıdan yalnızca tere bitkisi üzerinde değil, birçok bitki türünün üretiminde kitosanın doğru kullanımı hem bitkinin verimini arttıracak hem dünyanın artan nüfusu dolayısıyla artan besin ihtiyacına yeterli kapasitede cevap vermek için doğal ve akılcı bir çözüm sunacaktır.

1.5. Çalışma Yöntemleri

1.5.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Kocaeli Üniversitesi Biyoloji Bölümü Bitki Doku Kültürü ve Moleküler Biyoloji ve Biyokimya Laboratuvarları'nda yer almaktadır. Çalışma süresince kullanılan cihazlar Tablo 1.1.'de verilmiştir.

Tablo 1.1. : Çalışmada kullanılan cihazlar

Elektronik Cihazlar	**Diğer Cihazlar**
Vacuubrand GMBH + CO KG	Püskürtme Su Şişesi
Christ Alpha 1-2 Plus	Mikropipet (200µL)
Distile Su Cihazı (GFL 2001/4)	
Innova 42 (Incubator Shaker Series)	
Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis (G6860A)	
CAPP CR1512 (Z 206A)	
Terazi	
Buzdolabı (Arçelik 5243 NEB)	
inoLab Ph 720	
AND GR-200	

1.5.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasallar Kocaeli Üniversitesi Biyoloji Bölümü Bitki Doku Kültürü Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan kimyasalların listesi Tablo 1.2.'de verilmiştir.

Tablo 1.2. : Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Madde Adı	**Üretici Firma**
Nitsch Vitamin Besiyeri	SIGMA-ALDRICH
Tripan Mavisi	
Bradford	MolBio HIMEDIA
TRIS Tampon Çözeltisi	Alfa Aesar
Çinko Sülfat Heptahidrat	SIGMA-ALDRICH
Mangan(II) Sülfat Monohidrat	Merck
Magnezyum Sülfat	BIO BASIC INC.
Nutrient Broth	MERCK
Potasyum Dihidrojen Fosfat	MERCK
Sodyum Molibdat Dihidrat	SIGMA-ALDRICH
Potasyum Nitrat	MERCK
Metanol	MERCK

1.5.3. Çalışmada kullanılan besi ortamı ve içeriği

Deneysel çalışmalarda Nitsch vitamin besiyeri kullanıldı. Çalışmada kullanılan Nitsch vitamin besiyerinin temin edildiği yer (1.5.2.) ve satın alındığı firma (Tablo 1.2.) bilgileri daha öncede belirtilmiştir. Nitsch vitamin besiyeri içeriği Tablo 1.3.'de belirtilmiştir.

Tablo 1.3. : Nitsch Vitamin besi ortamının içeriği

Bileşenler	**Besi Ortamlarındaki Konsantrasyon (mg/L)**
$MnSO_4.H_2O$	18.94 mg
$ZnSO_4.H_2O$	10 mg
KH_2PO_4	68 mg
$CaCl_2.2H_2O$	200 mg
KNO_3	950 mg
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25 mg
NH_4NO_3	720 mg
$CuSO_4.5H_2O$	0.025 mg
H_3PO_3	10 mg
FeNaEDTA	36.70 mg
$MgSO_4$	90.27G

1.6. Çalışmanın Veri Eldesi

1.6.1. Kitosan konsantrasyonunun belirlenebilmesi amacıyla bakteri sayımı

Kitosanın antimikrobiyal aktivitesini gözlemlemek amacı ile topraktan izole edilmiş *Bacillus amyloliquefacieno*, *Bacillus methylotrophicus* ve *Bacillus vallismortis* bakteri türleri Kocaeli Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Biyokimya Laboratuvarlarından temin edildi.

Bakteriler 40 ml Nutrient Broth (NB)'lu besiyerinde 4 saat, 100 rpm ve 37 ^{o}C'de inkübasyona tabi tutuldu. Daha sonra boyama tripan mavisi ile yapıldı. Tripan mavisi elde edebilmek için ilk önce stok solüsyon hazırlandı. Stok solüsyonu hazırlamak için 0,2 g tripan mavisi 99,8 ml distile su ile seyreltildi. Seyreltilen çözelti 0,45-0,2 µm'lik filtre ile süzüldü ve üzerine 200 µL ppm NaN_3 eklendi. Elde edilen çözeltiden çalışmak için 0,43 g NaCl 9,58 ml distile su ile çözüldükten sonra üzerine 2 ml stok çözeltiden eklendi. Bu şekilde çalışılacak çözelti hazırlanmış oldu (43). Bakteriler üzerinde kullanabilmek için 200 µL tripan mavisi ve 200 µL bakteri örneği thoma lamı üzerine damlatılarak mikroskop sayımı yapıldı.

Thoma lamında sayım için kullanılan denklem aşağıda belirtildiği gibidir:

Toplam x 5 x 50.000 = Sonuç

1.6.2. Kitosan kaynak ve uygulanacak kitosan konsantrasyonlarının belirlenmesi

Bakterilerde uygulamalarından sonra elde edilen veriler sonucunda (IC_{50} değeri) kitosanın 3 farklı oligomer ve polimer zincirlerinin kullanılmasına karar verildi. Tere tohumlarının çimlendirilme aşamasında moleküler ağırlıkları 1, 10 ve 100 kda olarak değişen kitosan oligomer ve polimer karışımları kullanıldı. Kullanılan tüm kitosan örneklerinin asetilasyon dereceleri (AD) % 10'dur. Kullanılan kitosan örnekleri Almanya Münster Üniversitesi Bitki Biyolojisi ve Biyoteknolojisi Enstitüsü'nden temin edildi ve aynı enstitüde karakterize edildi.

1.6.3. Çalışmada kullanılacak bitkisel materyalin eldesi

Çalışmada kullanılacak olan torflu toprak, viyol ve Nitsch vitamin besiyeri Kocaeli Üniversitesi Biyoloji Bölümü Bitki Doku Kültürü Laboratuvarı ve Herbaryumu'ndan temin edildi. Çalışmada kullanılan tere bitkisi tohumları Biotek Tohumculuk Ltd. Şti. 'nin üreticiliğine Makrogen Tohumculuktan temin edildi. Temin edilen tere bitkisinin çeşidi Bahargülüdür (*Lepidium sativum* ''Bahargülü''). Tohumlar hem çimlenmeyi hızlandırmak hem de tohumların üzerinde bulunan tohumun saklanma süresini

arttırmak için kullanılan kimyasallardan arındırılmak için yaklaşık bir saat suda bekletildikten sonra viyollere ekimi yapıldı. Bir viyol gözüne yaklaşık üç adet tohum ekildi. Tohum ekiminden sonra viyollerin üzeri streç filmle kaplandı ve tohumlar karanlıkta bekletildi. Yaklaşık bir hafta sonrasında çimlenme gözlemlendi. Çimlenmenin ardından fidecikler bir hafta boyunca normal su ile sulanmış ve 16/8 saat fotoperiyodunda soğuk beyaz ışık altında çalışmanın sonuna kadar tutuldu. Tohumdan hasada kadar ekim odası sıcaklığı 20±2^{o}C 'de tutuldu (Şekil 1.6.3.1).



Şekil 1.4. : Çalışmanın yapıldığı ekim odası

Çalışmada her iki yöntem içinde kullanılacak sulama planı bir haftada üç gün sulama yapılması olarak belirlendi, öncelikle iki hafta boyunca dört gün Nitsch Vitamin besiyeri içeren su ile ve iki gün kitosan içeren besiyeri ile sulama ve dört hafta boyunca dört gün Nitsch Vitamin besiyeri içeren su ile ve sekiz gün kitosan içeren besiyeri ile sulama yapıldı. Toplam hasat süresi altı hafta olarak belirlendi. Bu doğrultuda uygulanacak olan kitosan ile sulama yöntemleri ise 10 gün olarak belirlendi.

Besiyerlerinin pH derecesi 7.0-7.1 olarak belirlenerek sulama işlemleri gerçekleştirildi. Her sulamada bir bitkiye 10 ml besiyeri ve besiyeri içeren kitosan ilavesi yapıldı. Yapraktan kitosan ile sulama yöntemiçin bir bitkiye 3 kez püskürtme yapılarak sulama yapıldı.

Yapraktan kitosan ile sulama yöntemi için 750 ml'lik su püskürtme şişeleri kullanıldı ve topraktan sulamada kullanılan kitosan ile aynı değerde kullanabilmek için 750 ml'lik şişeye 2.5 mg/L'lik konsantrasyonlar için 1.8 ml, 5 mg/L'lik konsantrasyonlar için 3.6 ml ve 10 mg/L'lik konsantrasyonlar için 7.2 ml kitosan Nitsch Vitaminli besiyeri ile birlikte hazırlandı.

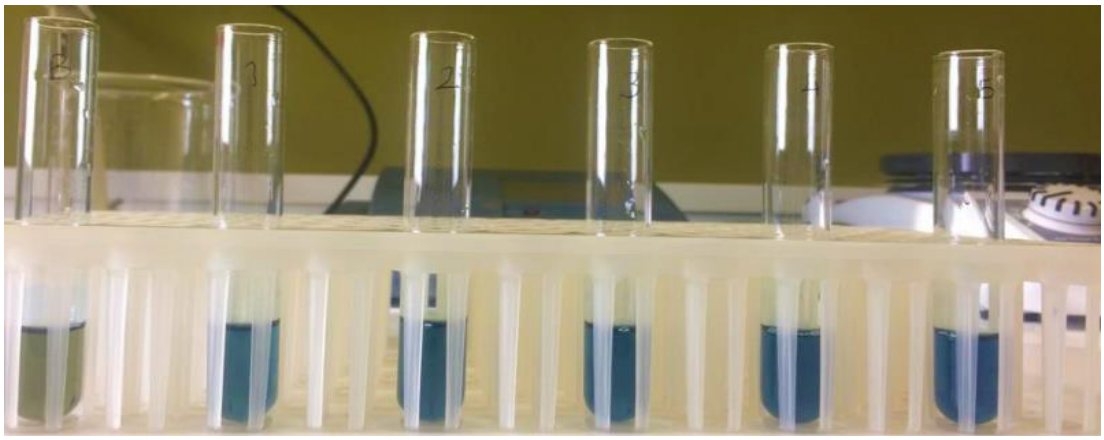
1.6.4. Yaprak yüzey alanı hesaplamaları

Tere yaprakları sürgünlerden kesilip hassas terazide tartımı yapıldıktan sonra milimetrik bir kağıt üzerine konularak tam sınırlarını çerçeveleyecek şekilde çizimi yapıldı. Yapılan çizimler milimetrik kağıttan sınırları boyunca kesildikten sonra elde edilen milimetrik kağıtların hassas terazide tartımı yapıldı. Yaprak yüzey alanı hesaplamaları için aşağıdaki formül kullanıldı:

Yaprak yüzey alanı = X/Y (cm^2)
(X= Kesilen yaprak ağırlığı (g), Y= Kağıdın 1 cm^2'sinin ağırlığı)
(Kağıdın 1 cm^2'sinin ağırlığı= 0,0081 g)

1.6.5. Protein tayini

Protein tayini için 0,3, 0,5, 0,7 ve 0,9 mg/mL derişimlere sahip Bovin Serum Albümin (BSA) hazırlandı. 0,3 mg/mL için 1 mL (1mg/mL) BSA'ya 2,33 mL distile su, 0,5 mg/mL için 1 mL (1 mg/mL) BSA'ya 1 mL distile su, 0,7 mg/mL için 1 mL(1 mg/mL) BSA'ya 0,43 mL distile su, 0,9 mg/mL için 1 ml (1mg/mL) BSA'ya 0,11 mL distile su eklendi (Şekil 1.6.5.1). Derişimlerden 100 mL alındıktan sonra 1,5 mL Bradford eklenerek 595 nm'de spektrofotometrede okunması yapıldı.



Şekil 1.5. : Bradford eklenerek hazırlanan sırasıyla yalnızca Bradford içeren, yalnızca BSA içeren ve 0,3, 0,5, 0,7 ve 0,9 mg/ml'lik derişimler

Tere yapraklarından 200 mg tartıldıktan sonra 0,05 g polivinil prolidon (PvP) ve 2 ml 0.05 M TRIS soğuk havanda ezildi. Elde edilen ürün 4^{o}C'de 14000 g'de 20 dakika boyunca santrifüje bırakıldı. Santrifüjden sonra üstte kalan ekstrattan 100 ml alınarak üzerine 1,5 ml Bradford eklendi, iki kat seyreltilerek 595 nm'de spektrofotometrede okuma yapıldı. Üç defa okuma yapıldıktan sonra elde edilen okuma sonuçları aşağıdaki denkleme uygulanarak proteinin yaş ağırlığı elde edildi.

$y=0,1024x+0,3014$

Kuru ağırlıktan protein tayini yapmak için her konsantrasyondan 10 g tere bitkisinin yapraklarından tartıldıktan sonra liyofilizatörde 24 saat bekletilerek bitkiden suyun uzaklaştırılması sağlandı.

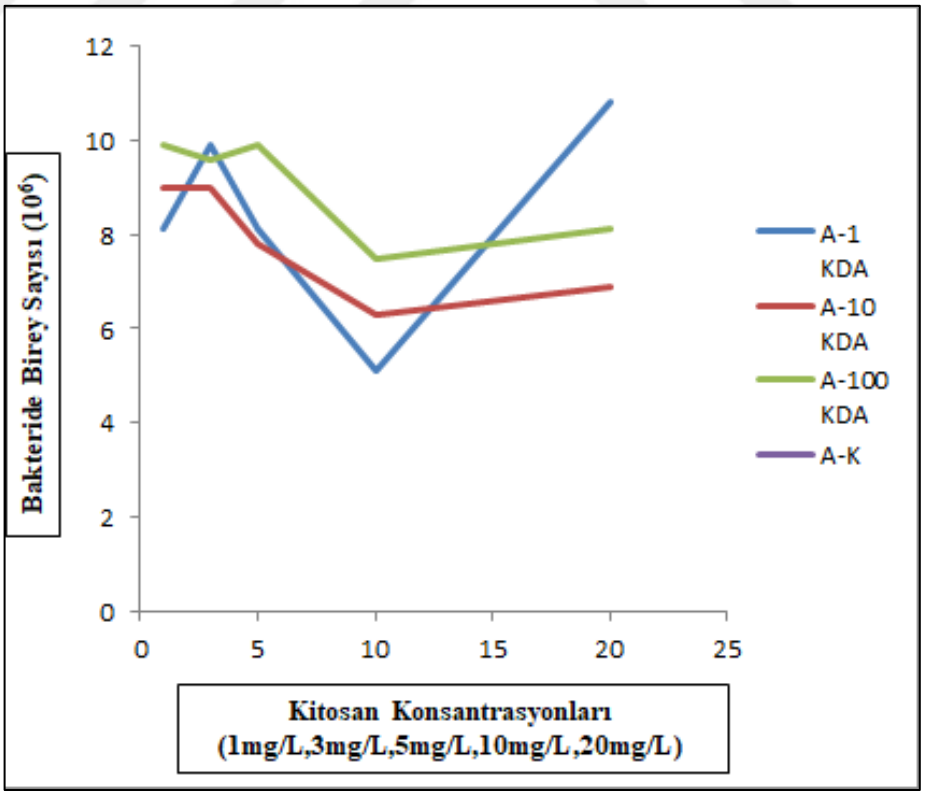
1.6.7. Verilerin istatiksel yönden değerlendirilmesi

Tohumun çimlenmesinden itibaren elde edilen bitkilerden yapılan denemeler 3 tekrarlı ve her tekrarda 15 bitki kullanılarak, *in vivo* yöntemle elde edilen bitkiler 3 tekrarla ve her tekrarda 15 bitki kullanılarak yapıldı. Elde edilen verilere istatistik olarak ANOVA testi uygulandı ve veriler arasındaki farklılığın derecesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testine göre belirlendi. Önem derecesi 0,05'tir. Bu istatistik testleri SPSS 22 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi.

2. BULGULAR VE TARTIŞMA

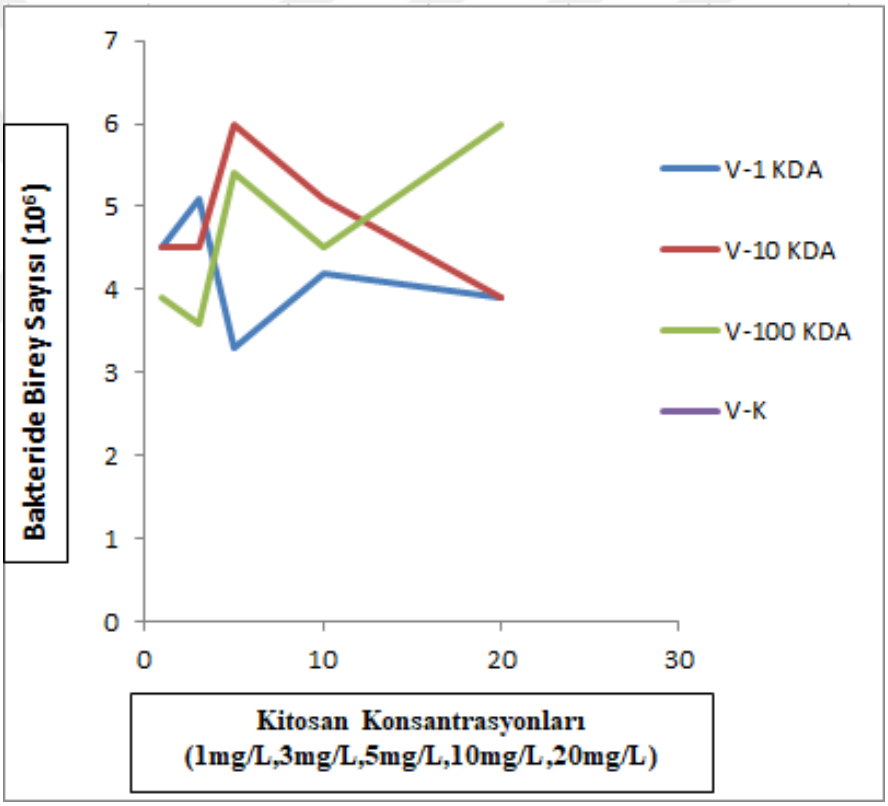
2.1. Kullanılacak Kitosan Değerini Belirlemede Elde Edilen Veriler

X ekseninde yer alan ve kullanılacak konsantrasyonu belirleyebilmek için denenmiş olan konsantrasyonlar 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'dir. *Bacillus amyloliquefaciens* türü için kontrolde $9{,}9x10^6$ ve 1 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla $8{,}1x10^6$, $9{,}9\ x10^6$, $8{,}1\ x10^6$, $5{,}1\ x10^6$ ve $10{,}8\ x10^6$ olarak belirlendi. 10 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla $9\ x10^6$, $9\ x10^6$, $7{,}8\ x10^6$, $6{,}3\ x10^6$ ve $6{,}9\ x10^6$ olarak belirlendi. 100 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla $9{,}9\ x10^6$, $9{,}6\ x10^6$, $9{,}9\ x10^6$, $7{,}5\ x10^6$ ve $8{,}1\ x10^6$ olarak belirlendi (Şekil 2.1.).



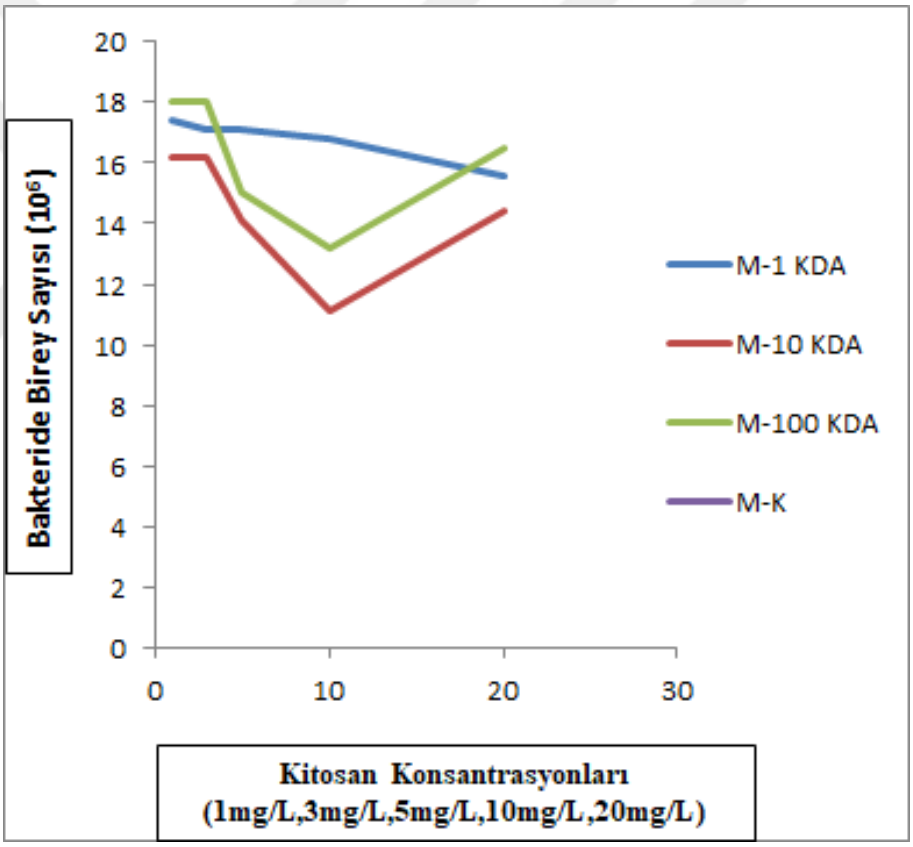
Şekil 2.1. : *Bacillus amyloliquefaciens* IC_{50} belirleme değer grafiği

X ekseninde yer alan ve kullanılacak konsantrasyonu belirleyebilmek için denenmiş olan konsantrasyonlar 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'dir. *Bacillus vallismortis* türü için kontrolde 6,6 x10^6 ve 1 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla 4,5x10^6, 5,1 x10^6, 3,3 x10^6, 4,2 x10^6 ve 3,9 x10^6 olarak belirlendi. 10 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla 4,5 x10^6, 4,5 x10^6, 6 x10^6, 5,1 x10^6 ve 3,9 x10^6 olarak belirlendi. 100 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla 3,9 x10^6, 3,6 x10^6, 5,4 x10^6, 4,5 x10^6 ve 6 x10^6 olarak belirlendi (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. : *Bacillus vallismortis* IC_{50} belirleme değer grafiği

X ekseninde yer alan ve kullanılacak konsantrasyonu belirleyebilmek için denenmiş olan konsantrasyonlar 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'dir. *Bacillus methylotrophicus* türü için kontrolde 12,6 x10^6 ve 1 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla 17,4x10^6, 17,1 x10^6, 17,1 x10^6, 16,8 x10^6 ve 15,6 x10^6 olarak belirlendi. 10 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla 16,2 x10^6, 16,2 x10^6, 14,1 x10^6, 11,1 x10^6 ve 14,4 x10^6 olarak belirlendi. 100 kda konsantrasyonda 1 mg/L, 3 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L'lik konsantrasyonlarda yaşayan bakteri sayısı sırasıyla 18 x10^6, 18 x10^6, 15 x10^6, 13,2 x10^6 ve 16,5 x10^6 olarak belirlendi (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. : *Bacillus methylotrophicus* IC_{50} belirleme değer grafiği

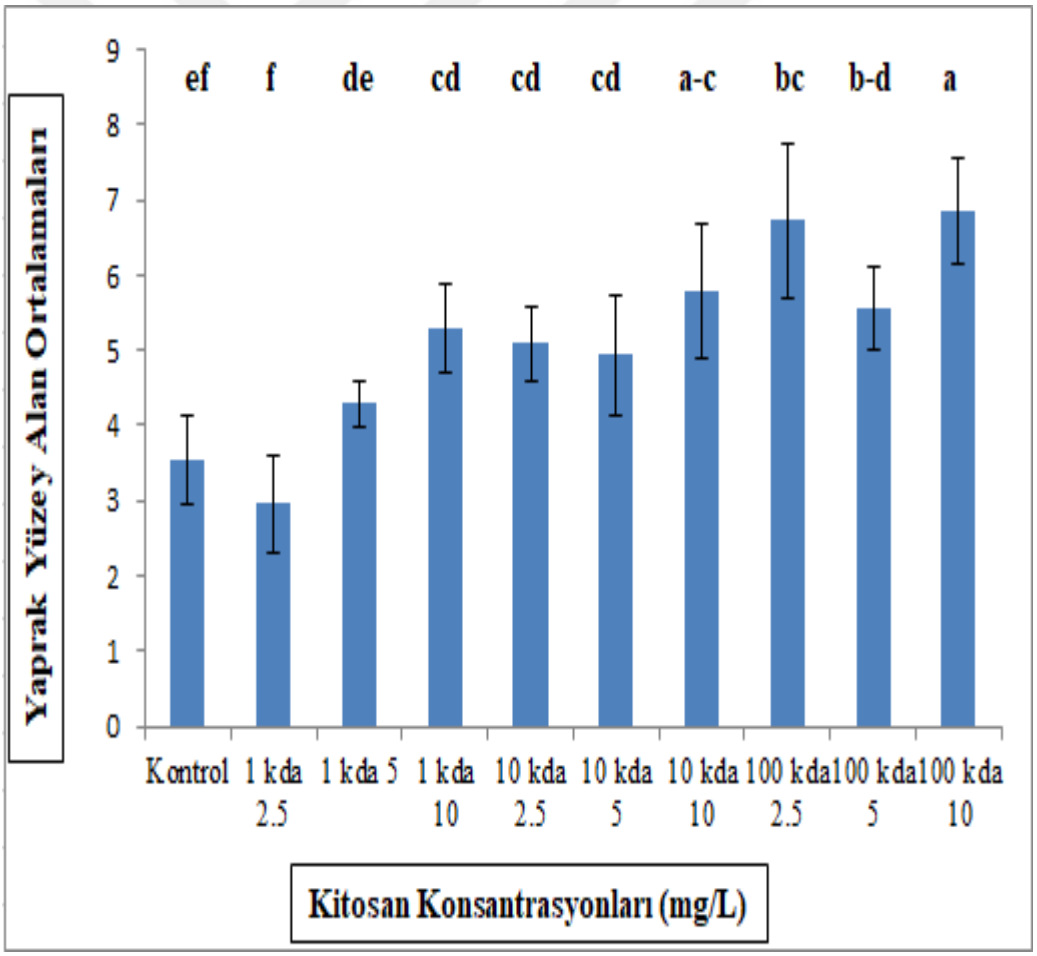
2.2. Yapraktan Kitosan ile Sulama Yönteminden Elde Edilen Veriler

Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak yüzey alanı artması ve sürgün uzaması topraktan sulama yöntemine göre daha az olarak gözlemlendi. Kitosan ile sulanmaya başladıktan yaklaşık 35 gün sonra yapraktan sulama yönteminde 100 kda 2.5 mg/L'de çiçeklenme gözlemlendi ve bunu takiben yaklaşık 39 gün sonra 10 kda 10 mg/L'de çiçeklenme gözlemlendi (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde gözlemlenen tere bitkisi gelişimi (10 kda 2.5 mg/L konsantrasyonda gelişim göstermiş tere bitkisi)

Uygulanan konsantrasyonlardan 100 kda 10 mg/L 6,3±1 cm^2 ortalama ile yaprak yüzey alanını en çok arttıran konsantrasyon olarak belirlendi. 1 kda 10 mg/L, 10 kda 2.5 mg/L ve 10 kda 5 mg/L sırasıyla ortalamaları 5,2±1 cm^2, 5±1 cm^2 ve 4,9±1 cm^2 ortalamalar ile istatistiksel olarak birbirlerine denk konsantrasyonlardır (Şekil 2.4.). Kullanılan tüm konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen ortalamalar tabloda yer almaktadır (Tablo 2.1.). Bölüm 2.2'de belirtildiği üzere çiçeklenmede gözlemlenen sıra bitkinin yaprak yüzey alanını arttırmada tercih ettiği sırayla aynı olmamıştır. Çiçeklenme ilk olarak 100 kda2.5 mg/L'lik konsantrasyonda görülürken yaprak yüzey alanı arttırımı için bitkinin tercih ettiği üçüncü konsantrasyon olmuştur. Ancak 10 kda 10 mg/L'lik konsantrasyon yaprak yüzey alanını arttırmada ikinci konsantrasyon olarak tercih edildiği görülmüştür.

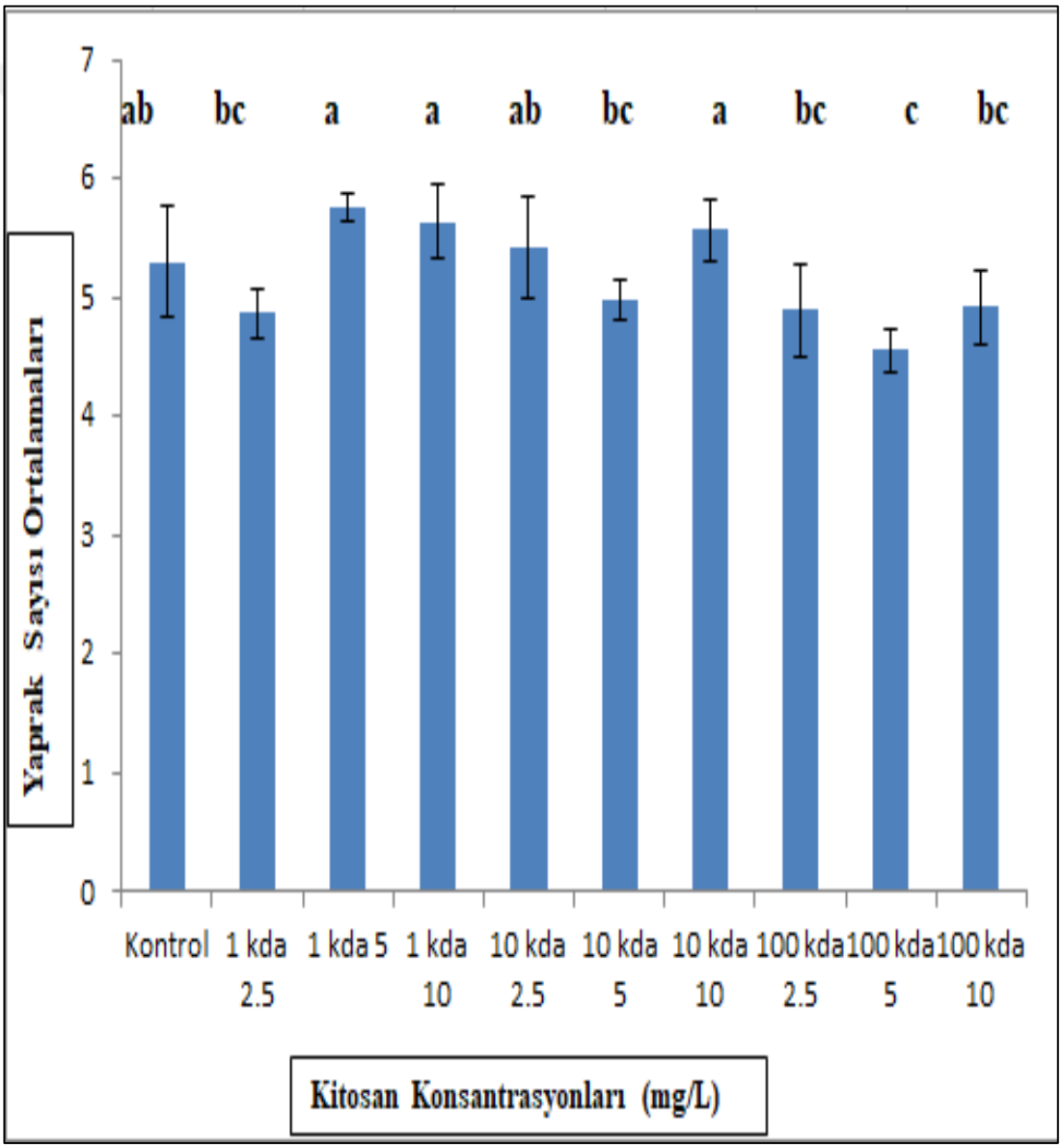


Şekil 2.5. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak yüzey alan grafiği

Tablo 2.1. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulaması yapılan tüm konsantrasyonlarda yaprak yüzey alanı ortalamaları (Konsantrasyon değerleri: mg/L) (Ortalama standart sapma değeri ±1 cm^2)

Konsantrasyonlar	**Ortalamalar**
Kontrol	$3,5^{ef}$
1 kda 2.5	$2,9^{f}$
1 kda 5	$4,2^{de}$
1 kda 10	$5,2^{cd}$
10 kda 2.5	5^{cd}
10 kda 5	$4,9^{cd}$
10 kda 10	$5,7^{abc}$
100 kda 2.5	$6,7^{bc}$
100 kda 5	$5,5^{bcd}$
100 kda 10	$6,3^{a}$

Uygulanan konsantrasyonlardan 1 kda 5 mg/L, 1 kda 10 mg/L ve 10 kda 10 mg/L sırasıyla 4,8 ±1 cm^2, 5,7±1 cm^2 ve 5,5±1 cm^2 ortalamaları ile yaprak sayısını arttıran konsantrasyonlar olarak belirlendi. Kontrol, 10 kda 2.5 mg/L ve 1 kda 2.5 mg/L, 10 kda 5 mg/L, 100 kda 2.5 mg/L ve 100 kda 10 mg/L konsantrasyonlarının sırasıyla ortalamaları 5,2-5,4±1 cm^2 ve 4,8-4,9±1 cm^2 olarak bulundu ve istatistiksel olarak birbirlerinin aynı etkiye sahip konsantrasyonlar olarak belirlendi (Şekil 2.6.). Kullanılan tüm konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen ortalamalar tabloda yer almaktadır (Tablo 2.2.).

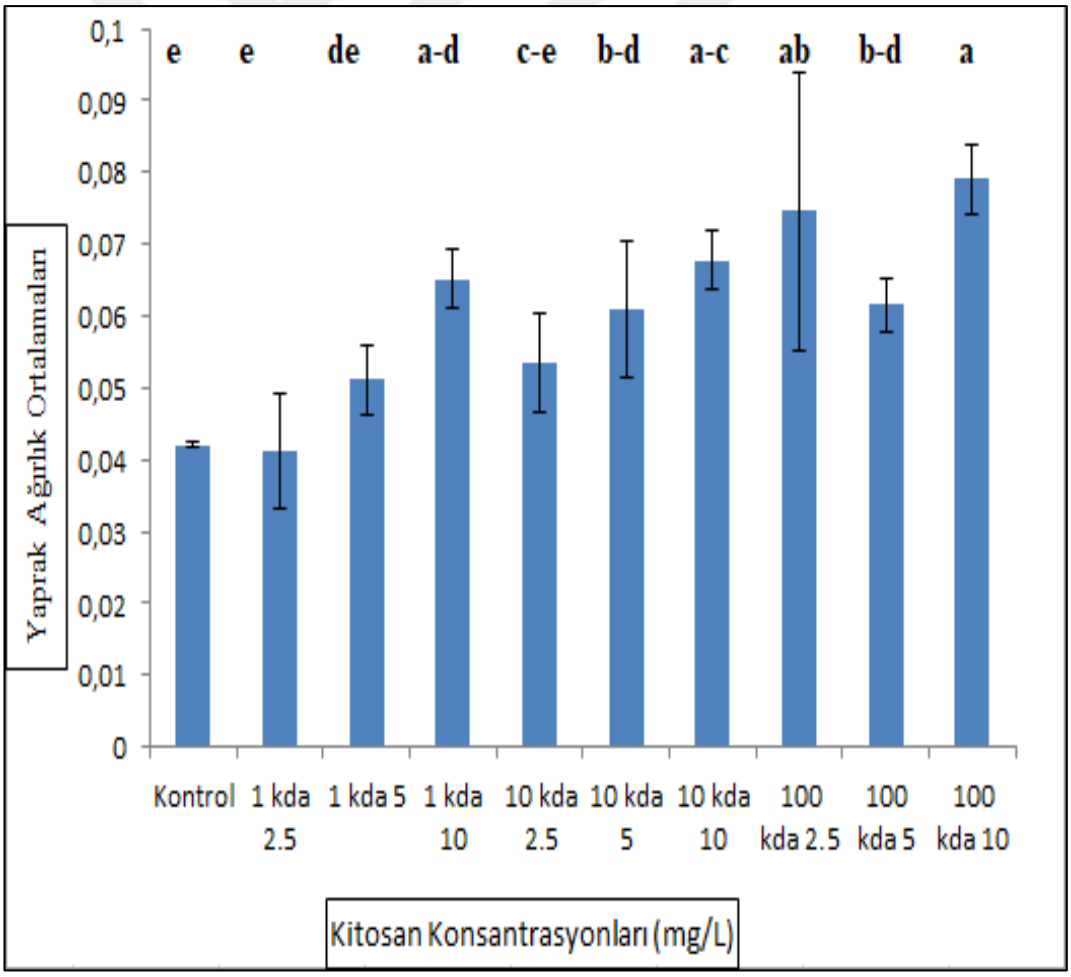


Şekil 2.6. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak sayısı grafiği

Tablo 2.2. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulaması yapılan tüm konsantrasyonlarda yaprak sayısı ortalamaları (Konsantrasyon değerleri: mg/L) (Ortalama standart sapma değeri ±1 cm^2)

Konsantrasyonlar	**Ortalamalar**
Kontrol	$5,2^{ab}$
1 kda 2.5	$4,8^{bc}$
1 kda 5	$5,7^{a}$
1 kda 10	$5,6^{a}$
10 kda 2.5	$5,4^{ab}$
10 kda 5	$4,9^{bc}$
10 kda 10	$5,5^{a}$
100 kda 2.5	$4,8^{bc}$
100 kda 5	$4,5^{c}$
100 kda 10	$4,9^{bc}$

Uygulanan konsantrasyonlardan 100 kda 10 mg/L 0,07±1 cm^2 ortalama ile yaprak ağırlığının en fazla olduğu konsantrasyon olarak belirlendi. Kontrol ve 1 kda 2.5 mg/L 0,04±1 cm^2 ortalamalar ile istatistiksel olarak birbirlerine denk konsantrasyonlar olarak belirlendi (Şekil 2.7.). Kullanılan tüm konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen ortalamalar tabloda yer almaktadır (Tablo 2.3.). Kontrol grubu ve 1 kda 2.5 mg/L'lik konsantrasyon yaprak ağırlığını arttırmak için tercih edilen son konsantrasyonlar olarak belirlendi. Şekil 2.5. ve Şekil 2.6.'da da görüleceği gibi kontrol grubu ve 1 kda 2.5 mg/L yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak yüzey alanı, yaprak sayısı ve yaprak ağırlığında aynı ya da birbirlerinden sonra tercih edilecek konsantrasyon grupları olarak belirlendi.



Şekil 2.7. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak ağırlık grafiği

Tablo 2.3. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulaması yapılan tüm konsantrasyonlarda yaprak ağırlığı ortalamaları (Konsantrasyon değerleri: mg/L) (Ortalama standart sapma değeri ±1 cm^2)

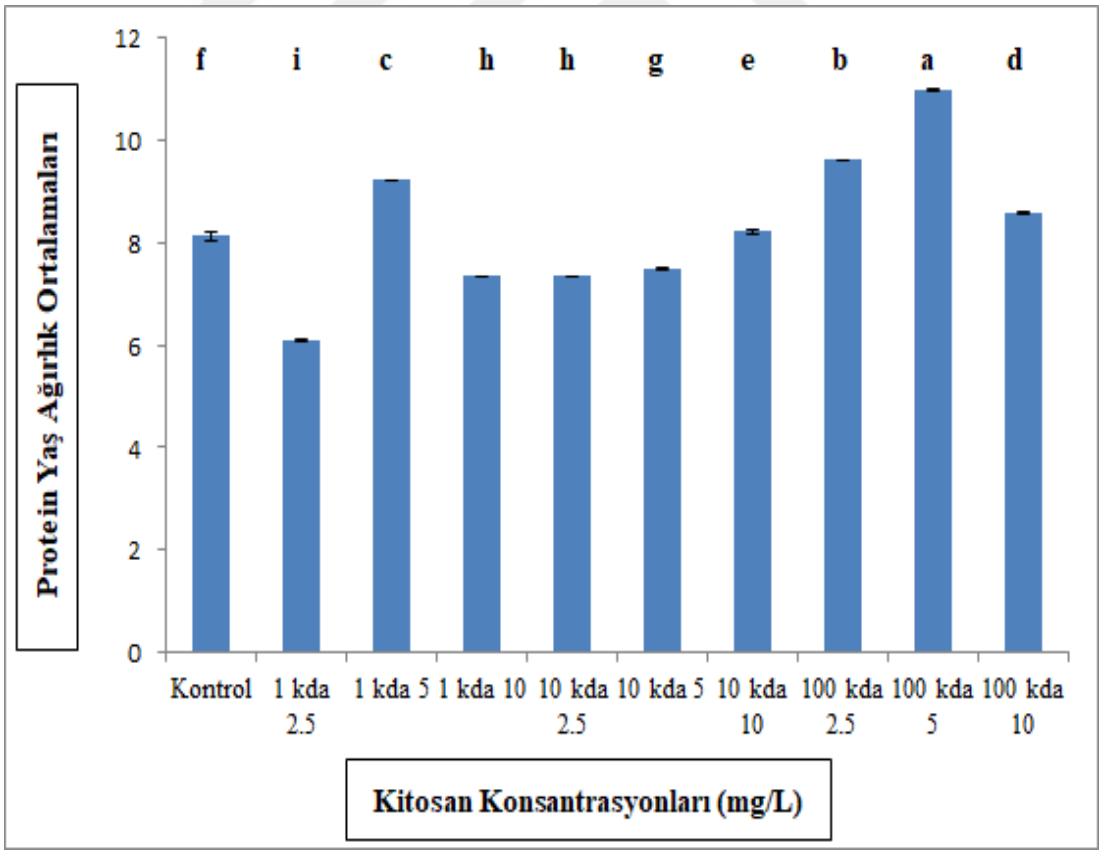
Konsantrasyonlar	**Ortalamalar**
Kontrol	$0,04^{e}$
1 kda 2.5	$0,04^{e}$
1 kda 5	$0,05^{de}$
1 kda 10	$0,06^{abcd}$
10 kda 2.5	$0,05^{cde}$
10 kda 5	$0,06^{bcd}$
10 kda 10	$0,06^{abc}$
100 kda 2.5	$0,07^{ab}$
100 kda 5	$0,06^{bcd}$
100 kda 10	$0,07^{a}$

Bu çalışma, her uygulama yönteminde kontrol de dahil olmak üzere her bir konsantrasyonu için üç tekrar olacak şekilde yapıldı. Siyah zemin üzerine yan tarafta 30 cm'lik bir cetvel koyularak çekilen bu fotoğrafta yapraktan kitosan ile sulama yönteminin istatistiksel olarak en çok tercih edilen konsantrasyonu olan 100 kda 10 mg/L'nin birinci, ikinci ve üçüncü tekrarlarından elde edilen en iyi görünüşe sahip olan tere bitkilerinin yaprak sayısı, yaprak genişliği, sürgün ve kök uzunluğu gözlemlenebilir (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde 100 kda 10 mg/L en iyi gelişme gösteren bitkiler

Uygulanan konsantrasyonlardan 100 kda 5 mg/mL' nin 10,9 ortalama ile yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yaş ağırlık olarak protein oranı en yüksek olan konsantrasyon olarak belirlendi. Bu konsantrasyonu takiben 100 kda 2.5 mg/L ortalama ve 1 kda 5 mg/L ortalama ile yapraktan kitosan ile sulama yönteminde protein tayininde yaş ağırlık olarak protein miktarı en yüksek çıkan ikinci ve üçüncü konsantrasyonlar olarak belirlenirken 1 kda 10 mg/L ve 10 kda 2.5 mg/L konsantrasyonları 7,3 ortalama ile istatistiksel olarak birbirlerinin eş değeri olan konsantrasyonlar olarak belirlendi (Şekil 2.9.). Kullanılan tüm konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen ortalamalar tabloda yer almaktadır (Tablo 2.4.). Kontrol grubu ise yapraktan kitosan ile sulama yöntemiyle sulamadan elde edilen diğer verileri gibi bitkinin tercih etmesi bakımından protein miktarını en son sıralarda yükselten grup olarak belirlendi.



Şekil 2.9. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde protein tayini yaş ağırlık

Tablo 2.4. : Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulaması yapılan tüm konsantrasyonlarda protein tayini yaş ağırlık ortalamaları (Konsantrasyon değerleri: mg/L)

Konsantrasyonlar	**Ortalamalar**
Kontrol	8,1[f]
1 kda 2.5	6[i]
1 kda 5	9,2[c]
1 kda 10	7,3[h]
10 kda 2.5	7,3[h]
10 kda 5	7,4[g]
10 kda 10	8,2[e]
100 kda 2.5	9,6[b]
100 kda 5	10[a]
100 kda 10	8,5[d]

Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde 100 kda moleküler ağırlığa sahip kitosan değeri bu uygulama yöntemi için bitkinin gelişimsel aşamasında en çok tercih ettiği konsantrasyon olmuştur.

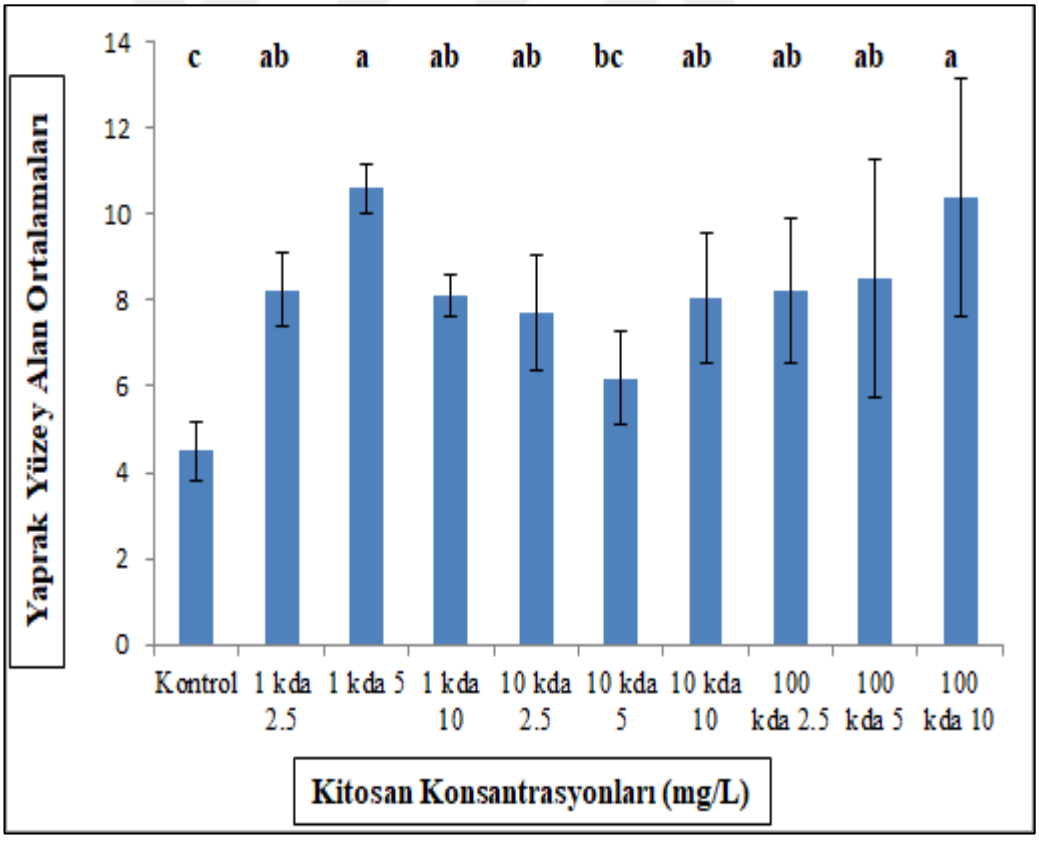
2.3. Topraktan Kitosan ile Sulama Yönteminden Elde Edilen Veriler

Tere tohumlarının çimlenmesinden yaklaşık dört hafta sonra topraktan sulama yöntemi için 10 kda 10 mg/L ve 100 kda'nın uygulanan tüm konsantrasyonlarında yaprak yüzey alanının uygulanan diğer konsantrasyonlara göre daha belirgin olduğu gözlemlendi. Topraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulanmasının ardından yaklaşık 45 gün sonra 1 kda 2.5 mg/L, 1 kda 5 mg/L, 10 kda 2.5 mg/L, 10 kda 10 mg/L ve 100 kda'nın tüm konsantrasyonlarında çiçeklenme gözlemlendi (Şekil 2.10.).



Şekil 2.10. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde gözlemlenen tere bitkisi gelişimi (10 kda 2.5 mg/L konsantrasyonda gelişim göstermiş tere bitkisi)

1 kda 5 mg/L ve 100 kda 10 mg/L konsantrasyonlarının ortalamaları sırasıyla 10,5 ±1 cm^2 ve 10,3 ±1 cm^2 olarak belirlenmiş ve bu konsantrasyonlar topraktan sulama uygulamasında yaprak kesit alanını arttıran konsantrasyonlar olarak belirlendi. 1 kda 2.5 mg/L, 1 kda 10 mg/L, 10 kda 2.5 mg/L, 10 kda 10 mg/L, 100 kda 2.5 mg/L ve 100 kda 5 mg/L konsantrasyonları sırasıyla 3,2±1 cm^2, 3,1±1 cm^2, 7,7±1 cm^2 , 3±1 cm^2, 8,2±1 cm^2 ve 3,5±1 cm^2 ortalamaları ile istatistiksel olarak birbirlerine benzer konsantrasyonlar olarak belirlendi (Şekil 2.11.). Kullanılan tüm konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen ortalamalar tabloda yer almaktadır (Tablo 2.5.). Şekil 2.11.'de ve Tablo 2.5.'de görüldüğü gibi uygulanan tüm konsantrasyonlar neredeyse istatistiksel olarak birbirinin eş değeri iken kontrol grubu yaprak yüzey alanını arttırmak için bitkinin tercih ettiği son konsantrasyon olarak belirlendi.

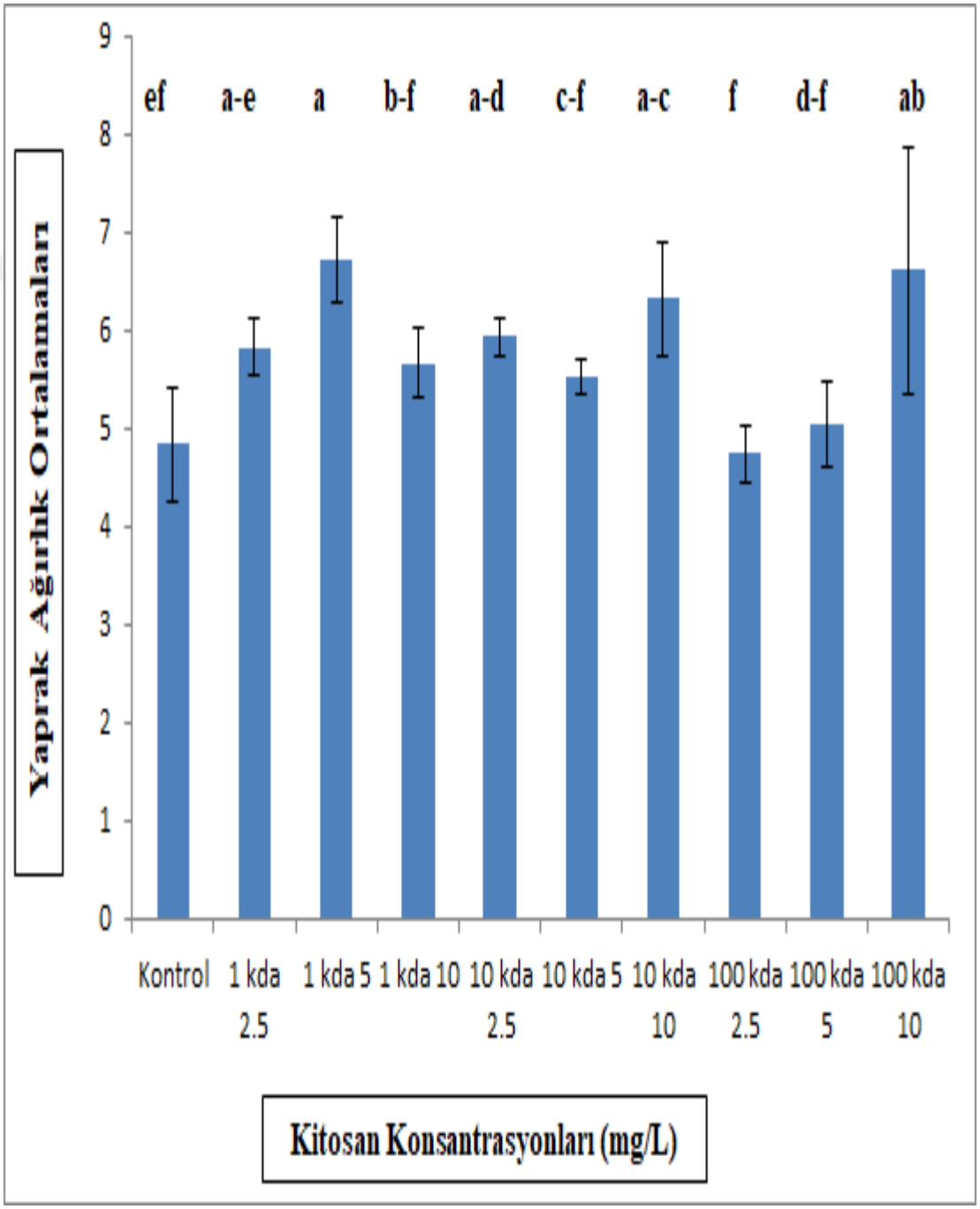


Şekil 2.11. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde yaprak yüzey alan grafiği

Tablo 2.5. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulaması yapılan tüm konsantrasyonlarda yaprak yüzey alanı ortalamaları (Konsantrasyon değerleri: mg/L) (Ortalama standart sapma değeri ±1 cm^2)

Konsantrasyonlar	**Ortalamalar**
Kontrol	$4,4^{c}$
1 kda 2.5	$8,2^{ab}$
1 kda 5	$10,5^{a}$
1 kda 10	$8,1^{ab}$
10 kda 2.5	$7,7^{ab}$
10 kda 5	$6,1^{bc}$
10 kda 10	8^{ab}
100 kda 2.5	$8,2^{ab}$
100 kda 5	$8,5^{ab}$
100 kda 10	$10,3^{a}$

Uygulanan konsantrasyonlardan 1 kda 5 mg/mL' nin 6,7±1 cm^2 ortalama ile topraktan sulama yönteminde yaprak sayısını arttırıcı etkiye sahip olduğu belirlendi (Şekil 2.12.). Kullanılan tüm konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen ortalamalar tabloda yer almaktadır (Tablo 2.6.).

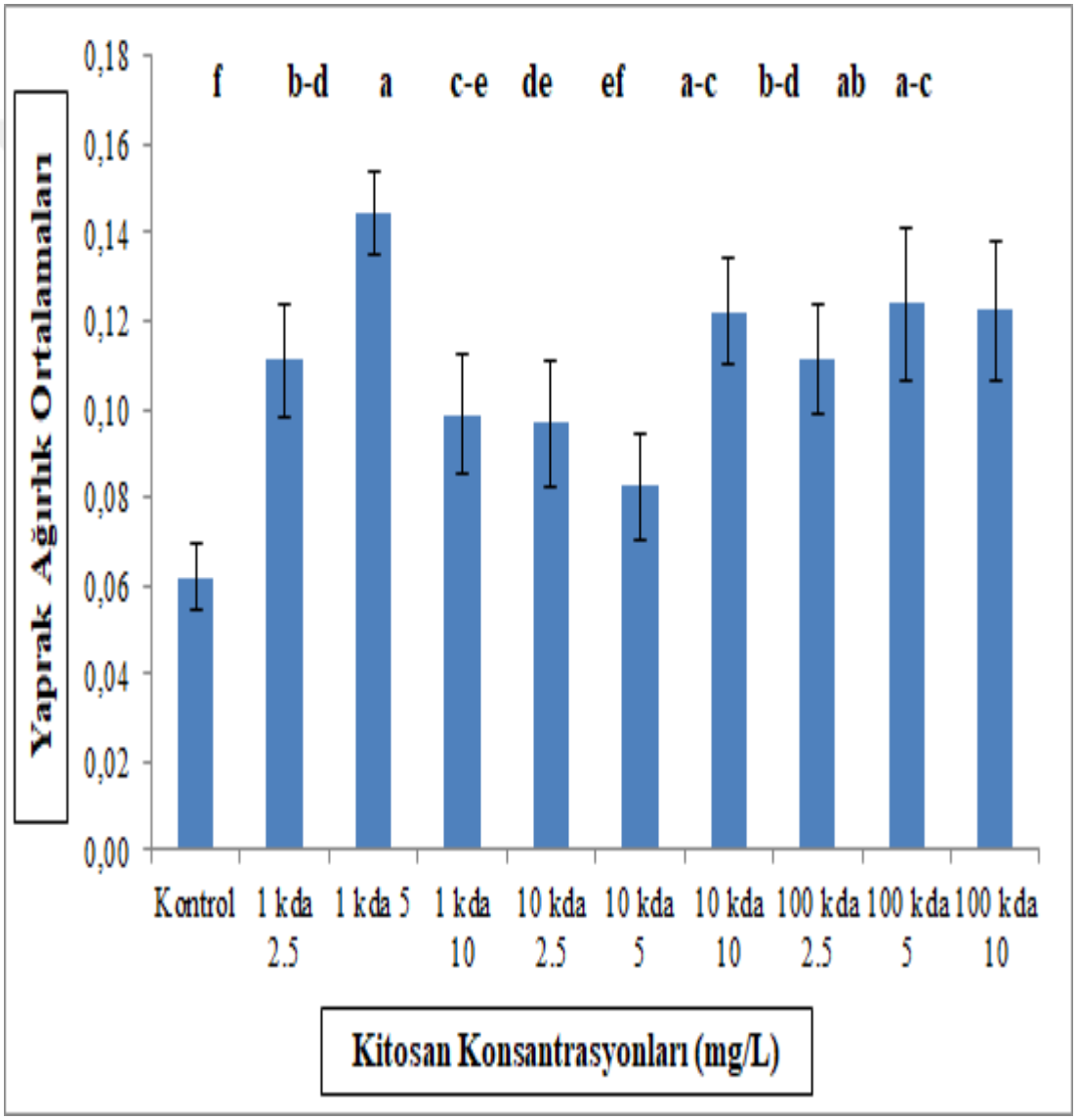


Şekil 2.12. : Topraktan kitosan ile sulama yaprak sayısı değer grafiği

Tablo 2.6.: Topraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulaması yapılan tüm konsantrasyonlarda yaprak sayısı ortalamaları (Konsantrasyon değerleri: mg/L) (Ortalama standart sapma değeri ±1 cm^2)

Konsantrasyonlar	**Ortalamalar**
Kontrol	$4,8^{ef}$
1 kda 2.5	$5,8^{abcde}$
1 kda 5	$6,7^{a}$
1 kda 10	$5,6^{bcdef}$
10 kda 2.5	$5,9^{abcd}$
10 kda 5	$5,5^{cdef}$
10 kda 10	$6,3^{abc}$
100 kda 2.5	$4,7^{f}$
100 kda 5	5^{def}
100 kda 10	$6,6^{ab}$

Uygulanan konsantrasyonlardan 1 kda 5 mg/mL' nin 0,14±1 cm^2 ortalama ile topraktan sulama yönteminde yaprak ağırlığını en çok arttıran konsantrasyon olarak belirlendi. Aynı zamanda 1 kda 2.5 mg/L ve 100 kda 2.5 mg/L' ye sahip konsantrasyonlar 0.11±1 cm^2 ortalama ile istatistiksel olarak birbirlerine benzer konsantrasyonlar olarak belirlendi (Şekil 2.13.). Kullanılan tüm konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen ortalamalar tabloda yer almaktadır (Tablo 2.7.).



Şekil 2.13. : Topraktan kitosan ile sulama yaprak ağırlığı değer grafiği

Tablo 2.7. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulaması yapılan tüm konsantrasyonlarda yaprak ağırlık ortalamaları (Konsantrasyon değerleri: mg/L) (Ortalama standart sapma değeri ±1 cm^2)

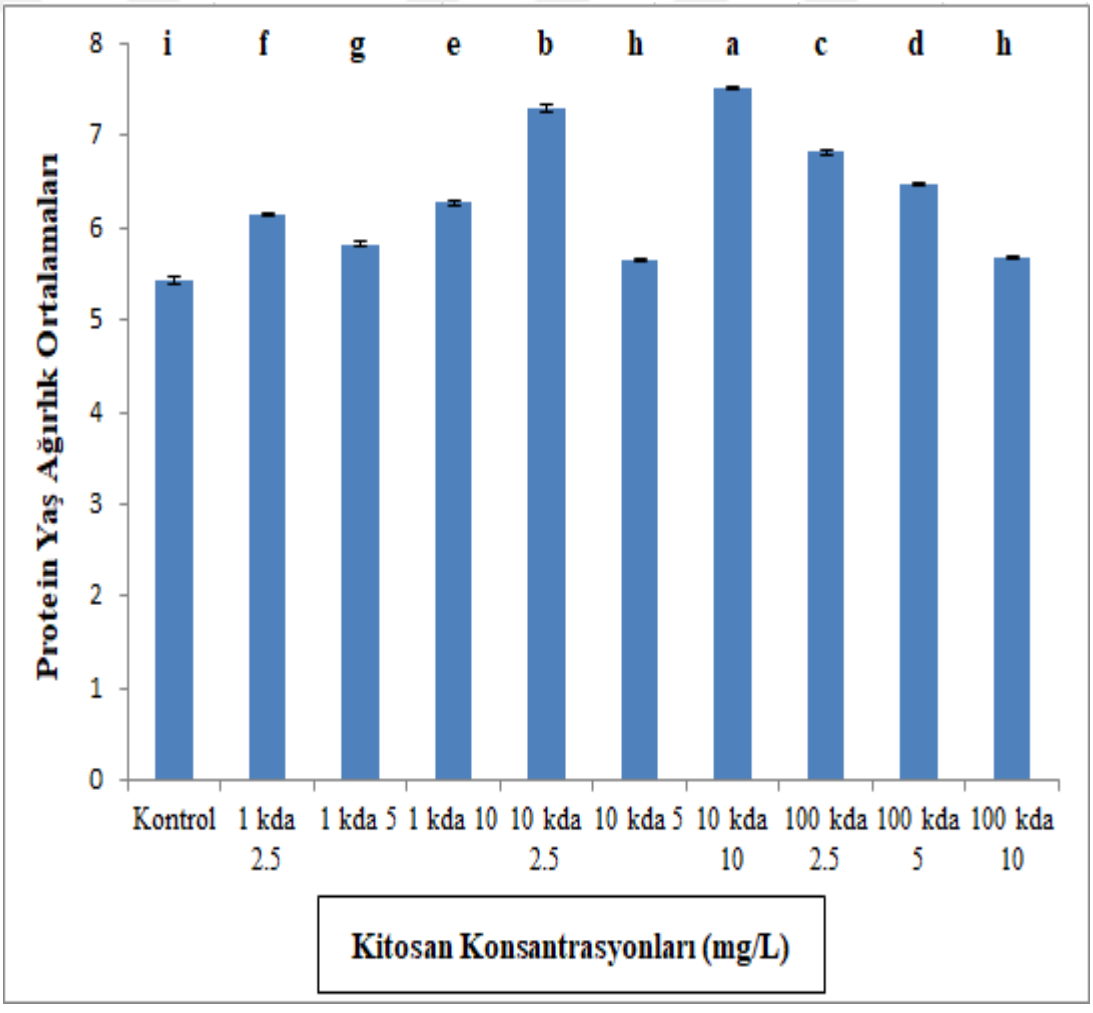
Konsantrasyonlar	**Ortalamalar**
Kontrol	$0,06^{f}$
1 kda 2.5	0.11^{bcd}
1 kda 5	$0,14^{a}$
1 kda 10	$0,09^{cde}$
10 kda 2.5	$0,09^{de}$
10 kda 5	$0,08^{ef}$
10 kda 10	$0,12^{abc}$
100 kda 2.5	0.11^{bcd}
100 kda 5	$0,12^{ab}$
100 kda 10	$0,12^{abc}$

Bu çalışma, her uygulama yönteminde kontrol de dahil olmak üzere her bir konsantrasyonu için üç tekrar olacak şekilde yapıldı. Siyah zemin üzerine yan tarafta 30 cm'lik bir cetvel koyularak çekilen bu fotoğrafta topraktan sulama yönteminin istatistiksel olarak en çok tercih edilen konsantrasyonu olan 1 kda 5 mg/L'nin birinci, ikinci ve üçüncü tekrarlarından elde edilen en iyi görünüşe sahip olan tere bitkilerinin yaprak sayısı, yaprak genişliği, sürgün ve kök uzunluğu gözlemlenebilir (Şekil 2.14.).



Şekil 2.14. : Topraktan kitosan ile sulama 1 kda 5 mg/L en iyi gelişme gösteren bitkiler

Uygulanan konsantrasyonlardan 10 kda 10 mg/L 7,5 ortalama ile topraktan sulama yönteminde protein tayini ölçümlerinde yaş ağırlıkta protein miktarı en yüksek bulunan konsantrasyon olmuştur. Bunu takiben 10 kda 2.5 mg/L 6,2 ortalama ve 100 kda 2.5 mg/L 6,8 ortalama ile ikinci ve üçüncü protein değeri yüksek çıkan konsantrasyonlardır (Şekil 2.15.). Kullanılan tüm konsantrasyonların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen ortalamalar tabloda yer almaktadır (Tablo 2.8.). Topraktan sulama yönteminde diğer verilere bakıldığında bitkinin tercih ettiği konsantrasyonlar daha düşük olsa da bitkinin protein miktarında artışa sebep olan konsantrasyonu daha yüksek bir konsantrasyon olarak belirlenmiştir.



Şekil 2.15. : Topraktan kitosan ile sulama protein tayini yaş ağırlık

Tablo 2.8. : Topraktan kitosan ile sulama yönteminde kitosan uygulaması yapılan tüm konsantrasyonlarda protein tayini yaş ağırlık ortalamaları (Konsantrasyon değerleri: mg/L)

Konsantrasyonlar	**Ortalamalar**
Kontrol	5,4[i]
1 kda 2.5	6,1[f]
1 kda 5	5,8[g]
1 kda 10	6,2[e]
10 kda 2.5	7,3[b]
10 kda 5	5,6[h]
10 kda 10	7,5[a]
100 kda 2.5	6,8[c]
100 kda 5	6,4[d]
100 kda 10	5,6[h]

Topraktan kitosan ile sulama yönteminde yapraktan kitosan ile sulama yönteminde yer aldığı gibi genel olarak bir kitosan grubunun ilk tercih edilirliği konusunda bir sonuca varılamamıştır. Bunun yerine topraktan kitosan ile sulama yönteminde ilk olarak düşük moleküler ağırlığa sahip konsantrasyon tercih edilirken ikinci ve üçüncü olarak tercih edilmesi sıralamasındaki konsantrasyonlar farklı moleküler ağırlığa sahip olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda çiçeklenmede de kitosanın topraktan uygulanmasında tüm konsantrasyonlarda neredeyse eş zamanlı olarak çiçek gelişimi gözlemlenmiştir.

Tere üzerinde yapılan çalışmalar genellikle *in vitro* besi ortamlarında ve tohumları kullanılarak yapıldığı için bu çalışmada karşılaştırma yapılacak bir yayın türü bulunamamıştır.

3. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

3.1. Kitosan Konsantrasyonlarının Belirlenmesi Hakkında Sonuçlar ve Öneriler

Çalışmanın başlangıcında üç farklı moleküler ağırlığa sahip kitosandan uygulamada kullanılması düşünülen beş farklı konsantrasyon seçildi. Bir besi ortamında seçilen konsantrasyonlar üzerinde bakteri türlerinin üremesine bakıldı ve bunun sonucunda uygulamada kullanılacak konsantrasyonlar belirlendi. Grafiklerde de görüldüğü gibi bakteri türleri 1 mg/L ve 3 mg/L'lik konsantrasyonlarda birbirlerine çok yakın değerlerde olduğundan dolayı 1 mg/L ve 3 mg/L konsantrasyonlarının ortasında 2.5 mg/L'lik konsantrasyon çalışma yöntemlerinde kullanılacak ilk konsantrasyon olarak belirlendi. 5 mg/L ve 10 mg/L'lik konsantrasyonlar ise hem grafiklerde de yer aldığı gibi elde edilen sonuçlardan dolayı hem de 2.5 mg/L'lik konsantrasyon ile belirli bir kat oluşturması sebebiyle seçildi. Bu sayede 1 kda, 10 kda ve 100 kda moleküler ağırlığa sahip kitosan değerlerinin katlı konsantrasyonlarının bitki üzerindeki uygulaması bitki büyümesine yardımcı bakteri türleri kullanılarak belirlendi (Şekil 2.1., Şekil 2.2., Şekil 2.3.).

Bu çalışmada kullanılan gram pozitif bakteri türleri dışında farklı gram pozifitf bakteri türleri denenerek de çalışmalar zenginleştirilebilir. Aynı zamanda konsantrasyon değerlerini belirlemek için gram negatif bakterilerde ayrıca eklenerek konsantrasyon değerlerinin belirlenmesi sağlanabilir.

3.2. Yapraktan ve Topraktan Kitosan ile Sulama Yöntemlerinin Sonuçları ve Öneriler

Tere bitkisiyle ilgili yapılan çalışmalarda Şubat ayı gibi yapılan ekimin Nisan-Mayıs aylarında hasadı yapıldığı gözlemlenmişti ancak bu çalışma sonucunda kitosanın topraktan sulanmasında tohum ekiminden yaklaşık 45 gün, yapraktan sulanmasında tohum ekiminden yaklaşık 35 gün sonra hasadın gerçekleşeceği belirlendi. Bu çalışma sonucunda tere hasat süresi normal bir ekim sonucunda oluşan hasat süresine göre topraktan sulama ile yaklaşık 10, yapraktan sulamada yaklaşık 5 gün uzamıştır.

Yaprak yüzey alanında 100 kda 10 mg/L konsantrasyonu 6,3 ortalama ile yaprak yüzey alanını yapraktan sulama yönteminde ve topraktan sulama yönteminde 1 kda 5 mg/L konsantrasyonu 10,5 ortalama ve 100 kda 10 mg/L konsantrasyonu 10,3 ortalama ile arttırdığı görüldü (Şekil 2.5., Şekil 2.11.). Topraktan sulama yönteminde 1 kda 5 mg/L'lik konsantrasyon moleküler ağırlığı düşük bir konsantrasyon olması sebebi ile yaprak yüzey alanı arttırılmak istendiğinde tercih edilecek konsantrasyon olabilir. Yapraktan sulama yönteminde diğer düşük konsantrasyona sahip kitosanlar düşük moleküler ağırlıkları sebebiyle bitkide taşınımasına sebep olmuş olabilir bu nedenle yüksek moleküler ağırlığa sahip konsantrasyon yaprak yüzeyinde genişlemeye sebep olmuş olabilir. Kontrol grubu ise püskürtmeyle sulama yönteminde neredeyse son sıralarda tercih edilirken topraktan sulama yönteminde ikinci sırada tercih edilecek konsantrasyon olarak belirlendi.

Bu tarz yıllık otsu bitkilerde yaprak sayısının fazla olması en önemli unsurlardan biridir. Yaprak sayısında 1 kda 5 mg/L konsantrasyonu 4,8 ortalama, 1 kda 10 mg/L konsantrasyonu 5,7 ortalama ve 10 kda 10 mg/L konsantrasyonu 5,5 ortalama ile yapraktan sulamada ve topraktan sulama yönteminde 1 kda 5 mg/L konsantrasyonu 6,7'lik ortalama ile tercih edilen konsantrasyonlar olarak bulundu (Şekil 2.6., Şekil 2.12.). Yapraktan sulama yönteminde üç farklı konsantrasyon değeri istatistiksel olarak birbirine denk ve yaprak sayısını arttırıcı konsantrasyonlar olarak belirlenmiştir ancak düşük moleküler ağırlığa sahip konsantrasyonun tercih edilebilirliği doğrultusunda 4,8 ortalamaya sahip konsantrasyon yapraktan sulama yönteminde yaprak sayısını arttırmak için uygulanması tercih edilecek konsantrasyon olarak belirlenebilir.

Yaprak yüzey alanı ve yaprak sayısı tere gibi bitkilerde tüketicinin ilk dikkat ettiği unsurlardandır. Bunların yanı sıra genel bilgiler kısmında da belirtildiği gibi tere bitkisinin gıda olarak tüketilen kısmı yapraklarıdır. Bu nedenle yaprak ağırlığını etkileyen konsantrasyonun belirlenmesi önemli bir ölçüttür. Yaprak ağırlığında 100 kda 10 mg/L konsantrasyonu 0,07 ortalama ile yapraktan sulama yönteminde ve topraktan sulama yönteminde 1 kda 5 mg/L konsantrasyonu 0,14 ortalama ile tere bitkisinde yaprak ağırlığı arttıran konsantrasyonlar olarak belirlendi (Şekil 2.7., Şekil 2.13.). Yapraktan sulama yönteminde 100 kda 10 mg/L'ye sahip konsantrasyon

yaprak yüzey alanını arttırırken yaprak ağırlığını azaltıcı konsantrasyon olarak belirlendi. Bu sebeple uygulama noktasında eğer uygulama yapraktan sulama yoluyla yapılacaksa ise yaprak yüzey alanı genişliği mi yoksa yaprak ağırlığının mı önem sırasında ilk olduğuna karar verilerek uygulanacak konsantrasyonun belirlenmesi gerekmektedir.

Topraktan sulama verilerinde hemen hemen her konsantrasyonun bitki tarafından tercih edildiği gözlemlenmiştir. Bunun sebebi kitosanın aktiflik gösterdiği pH aralığının (yaklaşık 6.5) besi içeriğinde kullanılan pH aralığından farklı olması (yaklaşık 7) sebebiyle püskürtmeyle sulama yönteminde olduğu gibi belirli bir moleküler ağırlığın konsantrasyonlarına bağlılık göstermemiş olabilir.

Proteinin yaş ağırlıktaki etkisi bakımından yapraktan sulama yönteminde 100 kda 5 mg/L konsantrasyonda 10,9 ortalama ile ve topraktan sulama yönteminde ise 10 kda 10 mg/L konsantrasyonda 7,5 ortalama ile protein miktarını arttırıcı konsantrasyonlar olarak belirlendi (Şekil 2.9., Şekil 2.15.).

Yapraktan kitosan ile sulama yönteminde bu çalışmanın genel olarak elde edilen verilerinde görüldüğü gibi en çok tercih edilen 100 kda 10 mg/L ve topraktan sulama yönteminde bu çalışmada görüldüğü gibi en çok tercih edilen 1 kda 5 mg/L konsantrasyonların bir viyol üzerindeki setlerinin en iyileri fotoğraflarda görülmektedir (Şekil 2.8., Şekil 2.14.). Fotoğraflarda da görüldüğü gibi yapraktan kitosan ile sulama yöntemindeki tere bitkisinin kök uzunluğu topraktan sulama yöntemindeki tere bitkisinin uzunluğundan daha fazladır. Kökler su ve minerallere ulaşabilmek için toprak içerisindeki uzunluğunu ve kök tüylerini arttırırlar. Kök uzunluğunun fazla olması bitkinin topraktan besin alabilmek için gelişmesinin bir göstergesi olarak sayılabilir. Aynı zamanda kök uzunluğunun bir diğer sebebi de bitkinin toprak üstü organlarının gelişmesinin fazlalığıdır. Ancak bu çalışmada topraktan sulama yönteminde hem çalışmanın gözlem aşamasında hem de verilerin değerlendirilmesi aşamasında topraktan sulama yöntemdeki bitki gelişiminin yapraktan sulama yönteminde elde edilen bitkilerin gelişimine oranla daha büyük olduğu gözlemlenirken verilerde de yer aldığı gibi topraktan sulama yönteminde

bitkiler daha düşük moleküler ağırlıkta bile yapraktan sulama yönteminde elde edilen verilere ulaşmıştır.

Bu çalışma sonucunda tere gibi birçok kullanım alanı bulunan bir bitkinin gelişiminde kitosan gibi önemli bir polimerin bu tür ya da genel olarak tüm bitkiler üzerinde nasıl doğru bir uygulama yöntemiyle bitkiye verilmesi gerektiği bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda eğer kitosan uygulaması yapraktan yapılacak ise daha yüksek moleküler ağırlığa sahip konsantrasyonlarının tercih edilmesi gerekirken topraktan uygulama yapıldığında daha düşük konsantrasyonları kullanılarak etkili bir sonuç alınabileceği bulunmuştur.

Bu çalışma ile günümüzde popüler olan bir polimerin bitkiler üzerinde kullanımı sonucunda nasıl bir gelişimin izleneceği belirlenmiş ve kitosanın deneysel kullanımı hakkında bilgi verilmeye çalışılmıştır. Bu çalışma literatür taraması sonucu üretim yapan üreticiye ve aynı zamanda bilime emek veren öğrencilere kitosan gibi bir maddenin bitkiler üzerinde kullanımında nasıl verilerle karşılaşılabileceği konusunda yol gösterici olacaktır. Bu çalışmaya benzer çalışma gerçekleştirilirken kitosanın asitlik etkisi dikkate alınabilir, bakterilerin tamamının gram pozitif bakteriler olarak belirlenmesinin yanında gram negatif bakterilerle de kitosanın aktifliği gözlemlenebilir. Bunun dışında bu çalışmadan farklı olarak farklı kitosan konsantrasyonları ya da farklı moleküler ağırlığa sahip kitosan konsantrasyonları denenebilir.

KAYNAKLAR

[1] Wealth of India. A Dictionary of Raw Materials and Industrial Products. Raw Materials. Vol. VI. New Delhi, India: *National Institute of Science and Communication*, CSIR. LeMpp.; 1998:71e72.

[2] Al-Yahya MA, Mossa JS, Ageel AM, Rafatullah S. Pharmacological and safety evaluation studies on Lepidium sativum L., seeds, *Phytomedicine*. 1994;1:155e159.

[3] Ghante MH, Badole SL, Bodhankar SL. Health benefits of garden cress (Lepidium sativum Linn.) seed extracts. In: Preedy VR, Watson RR, Patel VB, eds. Nuts & Seeds in Health and Disease Prevention. 1st ed. Academic Press, *Elsevier*; 2011:521e525. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10062-3. ISBN: 978-0-12-375688-6.

[4] Abdelghany AM, Meikhail MS, Abdelraheem GEA, Badr SI, Elsheshtawy N (2018) Lepidium sativum L. natural seed plant extract in the structural and physical characteristics of polyvinly alcohol. *Int J Environ Stud* 6:965-977. https://doi.org/10.1080/00207233.2018.1479564

[5] Matthaus B, Angelini LG (2005) Anti-nutritive constituents in oilseed crops from Italy. *Ind crops Prod* 21:89-99. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2003.12.021

[6] Tadesse L, Mekhib F, Wakjira A, Tradele Z (2018) Multivariate analysis of genetic diversity in The Etiopian garden cress (Lepidium sativum L.) genotypes. *J Exp Agric* Int 27(3):1-16. https://doi.org/10.9734/JEAI/2018/43983

[7] Williams DJ, Critchley C, Pun S, Chaliha M, Timothy JO. Differing mechanisms of simple nitrile formation on glucosinolate degradation in Lepidium sativum and Nasturtium officinale seeds. *Phytochemistry*. 2009;70:1401e1409.

[8] Jain T, Grover K, Kaur G. Effect of processing on nutrients and fatty acid composition of garden

[9] Al-Yahya et al., 1994; Al-Asmari et al., 2015; Jain et al., 2016; Alqanhtani et al., 2018

[10] Gupta S. Effect of nutrients and plant density on growth and yield of garden cress (Lepidium sativum L.). M.Sc. (Hort.) Thesis, *University of Agricultural Sciences*, Bangalore, 2006.

[11] Tuncay O, Esiyok D, Yagmur B, Bulent O. Yield and quality of garden cress affected by different nitrogen sources and growing period. *African Journal of Agricultural Research*. 2011; 6:608-617.

[12] Shail DM, Kumar N, Gupta LN. Nutritional importance of Lepidium sativum L. (Garden cress/Chandrashoor): A Review. *International Journal of Pharmacy and Analytical Research*. 2016; 5:152-160.)

[13] Gupta N, Sharma V, Getahun T. (2020) Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of oils obtained by different extraction methods from Lepidium sativum L. seeds. 156,112876. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112876

[14] Behrouzian F, Razavi SM, Phillips GO. Cress seed (Lepidium sativum) mucilage, an overview. *Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre* 3: 17-28 (2014)

[15] R.A.A. Muzzarelli (Ed.), Natural Chelating Polymers, Pergives it the ability to bond chemically with the gamon Press, New York, 1973, p. 83.

[16] J.P. Zikakis (Ed.), Chitin, Chitosan and Related Enzymes, Academic Press, Orlando, 1984, p. XVII.

[17] Rouget, C. (1859) C.R.Acad. Sci. Ser. III 48, 792–795

[18] Kendra, D. F.; Hadwiger, L. A. Exp. Mycol. 1984, 8, 276– 281.

[19] Tsai, G. J.; Su, W.-H. J. *Food. Protect*. 1999, 62, 239–243.

[20] Acemi A, Bayrak B, Çakır M, Demiryürek E, Gün E, El Gueddari NE,Özen F. Comparative analysis of the effects of chitosan and common plant growth regulators on invitro propagation of Ipomoea purpurea (L.) Roth from nodal explants. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 2018; 54:537-544

[21] El Hadrami A, Adam LR, El Hadrami I, Daayf F. Chitosan in plant protection. Mar Drugs, 2010; 30, 8(4): 968-87.

[22] Jia, Zhishen; shen, Dongfeng; Xu, Weiliang. *Carbohydr*. Res. 2001, 333, 1–6.

[23] No, Hong Kyoon; Park, Na Young; Lee, Shin Ho; Meyers, Samuel P. Int. J. *Food Microbiol*. 2002, 74, 65–72.

[24] Li, Zhi; Zhuang, Xu Pin; Liu, Xiao Fei; Guan, Yun Lin; Yao, Kang De. Polymer 2002, 43, 1541–1547.

[25] J. Liang, H. Yan, J. Zhang, W. Dai, X. Gao, Y. Zhou, X. Wan, P. Puligundla, Preparation and characterization of antioxidant edible chitosan films incorporated with epigallocatechin gallate nanocapsules, *Carbohydr. Polym*. 171 (2017) 300–306.

[26] Y.M. Tan, S.H. Lim, B.Y. Tay, M.W. Lee, E.S. Thian, Functional chitosan-based grapefruit seed extract composite films for applications in food packaging technology, *Mater. Res. Bull*. 69 (2015) 142–146.

[27] Struszczyk H, Orlikowski BL, Skrzypczak C. Chitosan in the control of soil-borne pathogens. *Chitin Enzymology*, 2001; 197-205.

[28] Park BK, Kim M-M. Applications of chitin and its derivatives in biological medicine. *Int J Mol Sci* 2010; 11: 5152-5164

[29] Das SN, Madhuprakash J, Sarma PV, Purushotham P, Suma K, Manjeet K, Rambabu S, El Gueddari NE, Moerschbacher BM, Podile AR. Biotechnological approaches for field applications of chitooligosaccharides (COS) to induce innate immunity in plants. *Crit Rev Biotechnol* 2015; 35(1): 29-43.

[30] L. Sun, J. Sun, L. Chen, P. Niu, X. Yang, Y. Guo, Preparation, and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material, *Carbohydr. Polym.* 163 (2017) 81–91.

[31] Cuero RG, Duffus E, Osuji G, Pettit R. Aflatoxin control in preharvest maize: effects of chitosan and two microbial agent. *J Agri Sci*, 1991; 117: 165-9

[32] Guerrero JP,Jansson HB, Salinas J, Lopez-Llorca LV. Effects of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *J App Microbiol*, 2008; 104(2): 541-53.

[33] Struszczyk H, Orlikowski BL, Skrzypczak C. Chitosan in the control of soil-borne pathogens. *Chitin Enzymology*, 2001; 197-205.

[34] Li YC, Sun XJ, Ge YH, Wang Y. Antifungal activity of chitosan on Fusarium sulphureum in relation to dry rot of potato tuber, *Agr Sci China*, 2009; 8(5): 597-604.

[35] Bautista-Banos S, Hernandez-Lauzardo AN, Velazquez-del Valle MG, Hernandez-Lopez M, Ait Barka E, Bosquez-Molina E, et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protect*, 2006; 25: 108-18.

[36] El Ghaouth A, Arul J, Asselin A, Benhamou N. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in Rhizopus stolonifer. *Mycol Res*, 1992; 96: 769-79.

[37] Acemi A, Kıran Acemi R, Polymerization degree-dependent changes in the effects of in vitro chitosan treatments on photosynthetic pigment, protein, and dry matter contents of Ipomea purpurea, *The EuroBiotech Journal*,2019, 3(4), DOI: 10.2478/ebtj-2019-0024

[38] Gun E., Bayrak, B., Demiryurek, E., Cakır, M., Acemi, A., Özen, F., (2018). Changes in Photosynthetic Pigment Quantities of Ipomoea purpurea Due to In vitro Chitosan Treatment . *IV. International Congress for Applied Biological Sciences*

[39] S.Y. Cheng, B.J. Wang, Y.M. Weng, Antioxidant and antimicrobial edible zein/chitosan composite films fabricated by incorporation of phenolic compounds and dicarboxylic acids, *LWT Food Sci. Technol*. 63 (2015) 115–121.

[40] S. Hirano, M. Hayashi, S. Okuno, in: W.F. Stevens, M.S. Rao, S. Chandrakranchang (Eds.), Chitin and Chitosan. *Environmental Friendly and Versatile Biomaterials*, AIT, Bangkok, 1996, p. 188.

[41] Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M. ve Scrotch, M.N., 1980. Enhanced plant growth by sideroph-ores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286, 885-886.

[42] Ravi Kumar M.N.V, A review of chitin and chitosan applications, *Reactive&Functional Polymers* (2000), 46, 1-27

[43] Greg A. Perry, Creighton University, Omaha, Ph.D

[44] URL 1: https://en.wikipedia.org/wiki/Garden_cress (02.03.2021)

KİŞİSEL YAYIN ve ESERLER

[1] Arda Acemi, Bahar Bayrak, **Merve Çakır**, Elif Demiryürek, Ece Gün, Nour Eddine El Gueddari, Fazıl Özen (2018). Comparative analysis of the effects of chitosan and common plant growth regulators on in vitro propagation of *Ipomoea purpurea* (L.) Roth from nodal explants, In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant, 54: 537–544.

[2] Ece Gün, Bahar Bayrak, Elif Demiryürek, **Merve Çakır**, Arda Acemi, Fazıl Özen (2018). Changes in photosynthetic pigment quantities of Ipomoea purpurea due to *in vitro* chitosan treatment, IV. International Congress for Applied Biological Sciences Abstract Book, IV. International Congress for Applied Biological Sciences, 3-5 Mayıs 2018, Eskişehir, Türkiye.

[3] Ruhiye Kıran Acemi, Arda Acemi, **Merve Çakır**, Ece Gün Polat, Fazıl Ozen (2020). Preliminary screening the antioxidant potential of in vitro-propagated Amsonia orientalis: An example to sustainable use of rare medicinal plants in pharmaceutical studies, Sustainable Chemistry and Pharmacy, https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100302

ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise eğitimini Kocaeli' de tamamladı ve 2014 yılında girdiği Kocaeli Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden 2018'de mezun oldu. 2018-2021 yılları arasında, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimi tamamladı.