



**BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK
STRESİNE TOLERANSTA KİTOSAN ETKİSİNİN
FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
DÜZEYDE BELİRLENMESİ**

Ahmet İNAN

Danışman: Doç. Dr. Murat AYDIN
Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı
2022
(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

**BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK STRESİNE TOLERANSTA
KİTOSAN ETKİSİNİN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
DÜZEYDE BELİRLENMESİ**

(Determination of Chitosan Effect on Drought Stress Tolerance in Wheat (*Triticum aestivum* L.) at Physiological, Biochemical, and Molecular Levels)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet İNAN

Danışman: Doç. Dr. Murat AYDIN

Erzurum
Nisan, 2022



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Natural and
Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK STRESİNE TOLERANSTA
KİTOSAN ETKİSİNİN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
DÜZEYDE BELİRLENMESİ**

Doç. Dr. Murat AYDIN danışmanlığında, Ahmet İNAN tarafından hazırlanan bu çalışma, 22/04/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak oybirliği (3/3) ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Doç. Dr. Murat AYDIN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Emre İLHAN <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof.Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü
Aslı Islak İmzalıdır

Bu çalışma Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi (BAP) projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2020-8522

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Graduate School of Natural and
Applied Sciences.

T.C.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Doç. Dr. Murat AYDIN danışmanlığında sunulan “Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Kuraklık Stresine Toleransta Kitosan Etkisinin Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Düzeyde Belirlenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	5	30
Kuramsal Temeller	1	30
Materyal ve Yöntem	22	35
Bulgular	2	20
Tartışma	2	20
Tezin Geneli	6	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Ahmet İNAN	Doç. Dr. Murat AYDIN
1.4.2022	1.4.2022
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarları Koordinatörlüğünde yürütülmüştür. Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarları Koordinatörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından FYL-2020-8522 nolu proje olarak desteklenmiştir. Finansal desteklerinden dolayı BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında engin bilgi ve tecrübesiyle yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda engin fikirleriyle yetişmeme ve gelişmeme katkıda bulunan saygıdeğer hocalarım tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Murat AYDIN başta olmak üzere, Sayın Prof. Dr. Güleray AĞAR'a, Sayın Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR'a, Sayın Doç. Dr. Emre İLHAN'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince danıştığım ve çalışmalarına yardımcı olan değerli hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Esra ARSLAN'a, Sayın Araş. Gör. Esmâ YİĞİDER'e, Doktora öğrencisi Burcu SİĞMAZ'a ve değerli arkadaşlarım Doktora öğrencisi Sümeyra UÇAR'a, Doktora öğrencisi Muhammed ALDAAEF'e, Doktora öğrencisi Esra YAPRAK'a, Ziraat Yüksek Mühendisi İlyas ASAN'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Yunus Emre DURMUŞ'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Gülşah ÖZDEMİR'e, Yüksek Lisans öğrencisi Betül BAYRAKTAR'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca tüm eğitim hayatım süresince bana vermiş oldukları desteklerinden dolayı İNAN ailesine en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ahmet İNAN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK STRESİNE TOLERANSTA KİTOSAN ETKİSİNİN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ

Ahmet İNAN

Danışman: Doç. Dr. Murat AYDIN

Amaç: Kuraklık stresi, bitki verimini ve kalitesini etkileyen önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Kuraklık stresi altındaki buğdayda kitosan uygulamasının bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ile bitkilerde su taşınımında önemli görevleri bulunan *PIP1*, *PIP2* ve *TIP2* genlerinin mRNA ifade seviyesine olan etkisinin incelendiği bu çalışmanın amacı, kitosanın kuraklık stresindeki rolünün aydınlatılmasıdır.

Yöntem: Kuraklığa toleranslı (Kırkpınar 79) ve hassas (Kırmızı Kılçık) buğday genotiplerinin tohumları çimlendirilerek ele edilen buğday fideleri, Hogland çözeltisi içeren hidroponik ortamda 4 yapraklı döneme kadar büyütülmüş ve PEG6000 (0, -6 bar ve -8 bar) ve kitosanın (0, 50, 100 ve 150 mg/L) farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Uygulamadan 7 gün sonra, fizyolojik [hücre membran hasarı (%), yaprak nispi su içeriği (%), klorofil miktarı (SPAD), klorofil floresans verimi (F_0 , F_v , F_m , F_v/F_m)] ve biyokimyasal [malondialdehit (MDA), hidrojen peroksit (H_2O_2), süproksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD) ve askorbat peroksidaz (APX)] parametreler ile *PIP1*, *PIP2* ve *TIP2* akuaporin genlerinin mRNA ifade seviyeleri tespit edilmiştir.

Bulgular: Kuraklık stresi her iki genotipte de fizyolojik özellikleri olumsuz etkilemiş; klorofil miktarında, klorofil floresans veriminde ve yaprak nispi su içeriğinde azalışa; hücre membran hasarında ise artışa neden olmuştur. Yine, kuraklık stresi biyokimyasal parametrelerden SOD, POD ve APX enzimlerinin aktivitesini ve malondialdehit (MDA) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarlarında artışa neden olduğu belirlenmiştir. Kuraklık stresinin fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki bu olumsuz etkisi, kitosan uygulamasıyla azalmıştır. Gen ifadesi analizi sonuçlarına göre, *PIP1*, *PIP2* ve *TIP2* genlerinin ifade seviyelerinin genotipe, stresin şiddetine ve doku tipine göre farklılık gösterdiği ve kitosan uygulamasının bu genlerin ifade seviyelerini etkilediği belirlenmiştir.

Sonuç: Araştırmada elde edilen bulgulara göre kitosan uygulamasının buğdayda kuraklık stresinin neden olduğu zararlı etkilerine karşı iyileştirici etki gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: PEG6000, antioksidan enzim, klorofil floresans, akuaporin

Nisan 2022, 103 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION of CHITOSAN EFFECT on DROUGHT STRESS TOLERANCE IN WHEAT (*Triticum aestivum* L.) AT PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL, AND MOLECULAR LEVELS

Ahmet İNAN

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat AYDIN

Purpose: Drought stress is one of the important abiotic stress factors affecting crop yield and quality. The aim of this study, in which the effect of chitosan application in wheat under drought stress on some physiological and biochemical parameters as well as the mRNA expression level of *PIP1*, *PIP2* and *TIP2* genes that have important roles in water transport in plants and, is to elucidate the role of chitosan in drought stress.

Method: Wheat seedlings obtained by germinating the seeds of drought tolerant (Kırkpınar 79) and sensitive (Kırmızı Kılçık) wheat genotypes were grown in hydroponic medium containing Hogland solution until the 4-leaf stage and treated with PEG6000 (0, -6 bar and -8 bar) and chitosan (0, 50, 100 and 150 mg/L). 7 days after treatment, physiological [cell membrane damage (%), leaf relative water content (%), chlorophyll content (SPAD), chlorophyll fluorescence efficiency (F_0 , F_v , F_m , F_v/F_m)] and biochemical [malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX)] parameters and mRNA expression levels of *PIP1*, *PIP2* and *TIP2* aquaporin genes were recorded.

Findings: Drought stress negatively affected physiological characteristics in both genotypes; led to a decrease in chlorophyll amount, chlorophyll fluorescence efficiency and leaf relative water content whereas increased cell membrane damage. Again, it was determined that drought stress caused an increase in the activity of biochemical parameters SOD, POD and APX enzymes and in the amounts of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2). These negative effects of drought stress on physiological and biochemical parameters decreased with chitosan application. According to the results of gene expression analysis, it was determined that the expression levels of *PIP1*, *PIP2*, and *TIP2* genes differ according to genotype, severity of stress, tissue type, and chitosan application affect the expression levels of these genes.

Result: According to the findings obtained in the study, it was determined that chitosan application had a healing effect against the harmful effects of drought stress on wheat.

Keywords: PEG6000, antioxidant enzymes, chlorophyll fluorescence, aquaporin

April 2022, 103 pages

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ	x
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	13
MATERYAL VE YÖNTEM	27
Materyal	27
Bitki materyali.....	27
Kullanılan alet ve cihazlar.....	27
Kullanılan çözeltiler	28
Sterilizasyon işlemleri için kullanılan çözeltiler	28
Yöntem.....	30
Çalışmada kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	30
Tohum çimlendirme ve bitki büyütme besin çözeltisinin hazırlanması.....	30
Tohum sterilizasyonu, çimlendirilmesi, bitkilerin yetiştirilmesi ve kimyasal ajanların uygulanması	32
Araştırmada incelenen konular	33
Gen ifadesinin analizi.....	36
ARAŞTIRMA BULGULARI	40
Fizyolojik Parametreler.....	40
Hücre membran hasarı (HMH), yaprak nispi su içeriği (NSİ) ve klorofil miktarı (KM).....	40
Klorofil floresans parametreleri	44
Biyokimyasal Parametreler	49
MDA ve H ₂ O ₂ miktarı.....	49
Antioksidan enzimler	53
mRNA İfade Analiz Sonuçları	58

TARTIşMA VE SONUÇ.....	65
Sonuç ve Öneriler.....	73
KAYNAKLAR.....	74
ÖZGEÇMİş.....	90



TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Araştırmada Kullanılan Alet ve Cihazlar	27
Tablo 2. Hoagland ve Arnon (H2395) Ortamında Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları	28
Tablo 3. Enzim Aktivitesinde Kullanılan Kimyasallar	29
Tablo 4. mRNA İfade Seviyelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Kimyasal ve Çözeltiler	29
Tablo 5. Kitosan Çözeltilerinin İçeriği	31
Tablo 6. Araştırmada incelenen PEG6000 ve Kitosan Konsantrasyonları ve Miktarları	33
Tablo 7. cDNA Analizi İçin Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları	37
Tablo 8. qRT-PCR Analizinde Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları	38
Tablo 9. Kullanılan Primerlerin Baz Dizilimi ve Tm Sıcaklıkları	39
Tablo 10. Hücre Membran Hasarına (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları	40
Tablo 11. Farklı Kuraklık Stresi Şiddetine ve Kitosan Konsantrasyonlarına Göre Genotiplerin HMH (%), NSİ (%) ve KM'si (SPAD)	41
Tablo 12. Yaprak Nisbi Su İçeriğine (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları	43
Tablo 13. Klorofil Miktarına (SPAD) Ait Varyans Analiz Sonuçları	44
Tablo 14. Minimum Floresans Verimine (F_0) Ait Varyans Analiz Sonuçları	45
Tablo 15. Farklı Kuraklık Stresi Şiddetine ve Kitosan Konsantrasyonlarına Göre Genotiplerin Yaprak Klorofil Floresans Parametreleri (F_0 , F_m , F_v ve F_v/F_m)	46
Tablo 16. Maksimum Floresans Verimi (F_m) Ait Varyans Analiz Sonuçları	47
Tablo 17. Değişken Floresans Verimi (F_v) Ait Varyans Analiz Sonuçları	48
Tablo 18. PSII Maksimum Enerji Verimine (F_v/F_m) Ait Varyans Analiz Sonuçları	49
Tablo 19. Kök ve Yaprak Dokularında MDA Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	50
Tablo 20. Farklı Kuraklık Stresi Şiddetine ve Kitosan Konsantrasyonlarına Göre Genotiplerin Kök ve Yaprak Dokularındaki MDA ve H_2O_2 Miktarları	51
Tablo 21. Kök ve Yaprak Dokularında H_2O_2 Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	52
Tablo 22. Kök ve Yaprak Dokularında SOD Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	54
Tablo 23. Farklı Kuraklık Stresi Şiddetine ve Kitosan Konsantrasyonlarına Göre Genotiplerin Kök ve Yaprak Dokularındaki SOD, POD ve APX (U/g TA) Miktarları	55
Tablo 24. Kök ve Yaprak Dokularında POD Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	56
Tablo 25. Kök ve Yaprak Dokularında APX Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. FAO 2020 verilerine göre buğday üretiminin kıtalara göre dağılımı	2
Şekil 2. Biyotik ve abiyotik stres etmenleri	3
Şekil 3. Bitkilerde kuraklık stresine karşı fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yanıtlar	7
Şekil 4. Çevresel uyarılara yanıt olarak bitki akuaporinlerinin genelleştirilmiş bir özeti	10
Şekil 5. Kitosanın kimyasal yapısı	11
Şekil 6. Biyotik ve abiyotik stres altında kitosanın sinyal yolu	12
Şekil 7. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin köklerinde <i>PIP1</i> geninin ifade değişimleri	59
Şekil 8. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin yapraklarında <i>PIP1</i> geninin ifade değişimleri	60
Şekil 9. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin köklerdeki <i>PIP2</i> geninin ifade değişimleri	61
Şekil 10. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin yapraklardaki <i>PIP2</i> geninin ifade değişimleri	62
Şekil 11. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin köklerindeki <i>TIP2</i> geninin ifade değişimleri	63
Şekil 12. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin yapraklarında <i>TIP2</i> geninin ifade değişimleri	64

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
¹ O ₂	Tekli oksijen
ABA	Absisik asit
APX	Askorbat peroksidaz
AQP	Akuaporinler
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
cm	Santimetre
CO ₂	Karbondioksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotit trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
FAO	Food and Agriculture Organisation
g	Gram
GR	Glutasyon redüktaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
JA	Jasmonik asit
K	Potasyum
L	Litre
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
mg/L	Miligram/Litre
ml	Mililitre
mM	Milimolar
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum Klorür
NO	Nitrik oksit
O ₂ ⁻	Süperoksit anyon
OH•	Hidroksil radikal
PAL	Fenilalanin amonyum liyaz
POD	Peroksidaz

ppm	Part Per Million (Milyonda Bir Birim)
PSII	Fotosistem II
qRT-PCR	Kantitatif RT-PCR
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RT-PCR	Real Time PCR
RT-PCR	Real Time PCR
SOD	Süperoksit Dismutaz
UV-B	Ultraviyole-B
w/v	Ağırlık/Hacim
μl	Mikrolitre
μM	Mikromolar

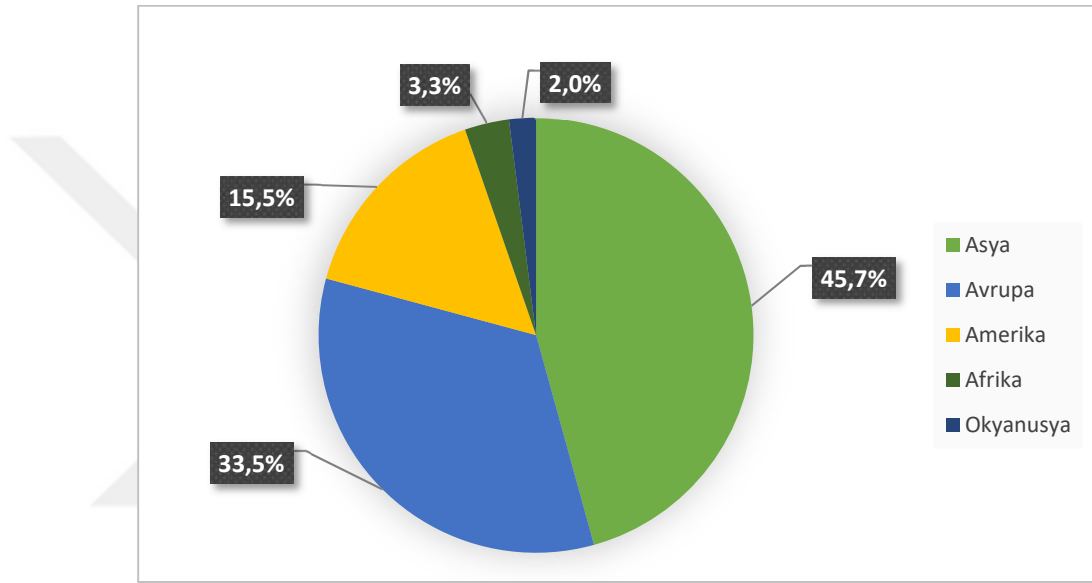
GİRİŞ

İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan buğday, buğdaygiller olarak bilinen *Poaceae* familyasına ait olup, bu familya, çeltik (*Oryza sativa* L.), buğday (*Triticum aestivum* L.), arpa (*Hordeum vulgare* L.), çavdar (*Secale cereale* L.), yulaf (*Avena sativa* L.), mısır (*Zea mays* L.) ve sorgum (*Sorghum bicolor* L.) gibi iyi bilinen türleri içermektedir (Xu and Messing 2009). Tahıllar içerisinde en yaygın olarak kullanılan ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), ülkelerin gıda ihtiyacını karşılayan ve yüksek ekonomik değere sahip olan önemli bir kültür bitkisidir (Rashid *et al.* 2012; Emiroğlu 2017).

Buğday grubu (*Aegilops* ve *Triticum* cinsi), temel kromozom sayısı $x=7$ olan diploit, tetraploit ve hekzaploit türleri içeren bir allopoloidi serisi oluşturmaktadır (Biswas *et al.* 2008). Kültüre alınmış buğday türlerinin ploidi seviyeleri diploit (*Triticum monococcum*, $2n = 14$, AA), tetraploit (*Triticum turgidum*, $2n = 28$, AABB) ve hekzaploittir (*Triticum aestivum* L, $2n = 42$, AABBDD) (Sood *et al.* 2009). Ekmeklik buğday, yüksek derecede ilişkili üç genom setinden (A, B ve D) oluşan bir alloheksaploid türdür (Gu *et al.* 2006).

Buğday, insanlar için temel enerji, protein ve lif kaynağıdır. Yaklaşık iki milyar insanın (dünya nüfusunun %36'sı) temel gıda maddesi olan (Jan *et al.* 2018) buğday, insanoğlu için gereken kalorisinin yaklaşık %60'ını ve proteinlerin %50'sini sağlamaktadır (Rashid *et al.* 2012). Buğday tanesi, genotiplere ve yetiştirme şartlarına göre farklılık göstermekle beraber, ortalama %12 su, %70 karbonhidrat, %12 protein, %2 yağ, %2,2 selüloz ve %1,8 kül içermektedir (Anonim 2016). Bu içeriğiyle buğday, insanlar için temel besin maddelerini (proteinler, vitaminler, mineraller) içeren ve karbonhidrat açısından oldukça zengin önemli bitkisel gıda (Engert and Honermeier 2012) olup, lipid ve bazı fitokimyasalları da bünyesinde barındırmaktadır (Khan *et al.* 2017). Diğer taraftan, buğday tanesindeki protein ve amino asit içeriği dengesi buğdayın besin kalitesini belirlemektedir (Jiang *et al.* 2008; Saini *et al.* 2021). Buğdayın protein içeriği, genotip ve çevresel faktörlere bağlı olarak %8-16 arasında değişim göstermektedir (Bulisani and Warner 1980). Ayrıca, dünyada ve Türkiye'de buğday tarımı, insanların besin zincirindeki temel halkasını oluşturan ham madde olması nedeniyle diğer tarımsal ürünlere kıyasla çok daha büyük bir öneme sahiptir. Buğday farklı tür gıda ürünlerinin (ekmek, bulgur, makarna, bisküvi ve irmik vb.) yapımı yanında işlenmesi sonucu oluşan kepek ve diğer yan ürünler de hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Çeri ve Acar 2019; Rashid *et al.* 2019).

Buğday, ekim alanı bakımından tahıllar arasında ilk sırada yer almaktadır. FAO 2020 yılı verilerine göre, dünyada buğday üretimi yaklaşık 219,0 milyon hektar (ha) alanda 760,9 milyon ton olarak gerçekleşmiş, ortalama verimi ise 347,4 kg/da'dır. Küresel buğday üretiminin %45,7'si Asya, %33,5'i ise Avrupa kıtasında gerçekleşmiştir (Şekil 1). Diğer taraftan, ülke bazında buğday üretiminde ilk sırada Çin yer almakta bunu sırasıyla Hindistan, Rusya, Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Fransa, Pakistan, Ukrayna, Almanya ve Türkiye izlemektedir. Türkiye'de buğday ekim alanı 2020 yılı itibariyle dünya buğday ekim alanının %3,2'sini oluşturmuş ve ülkemizde 2020 yılında buğday üretimi yaklaşık 6,9 milyon ha ekim alanında 20,5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (FAO 2022).



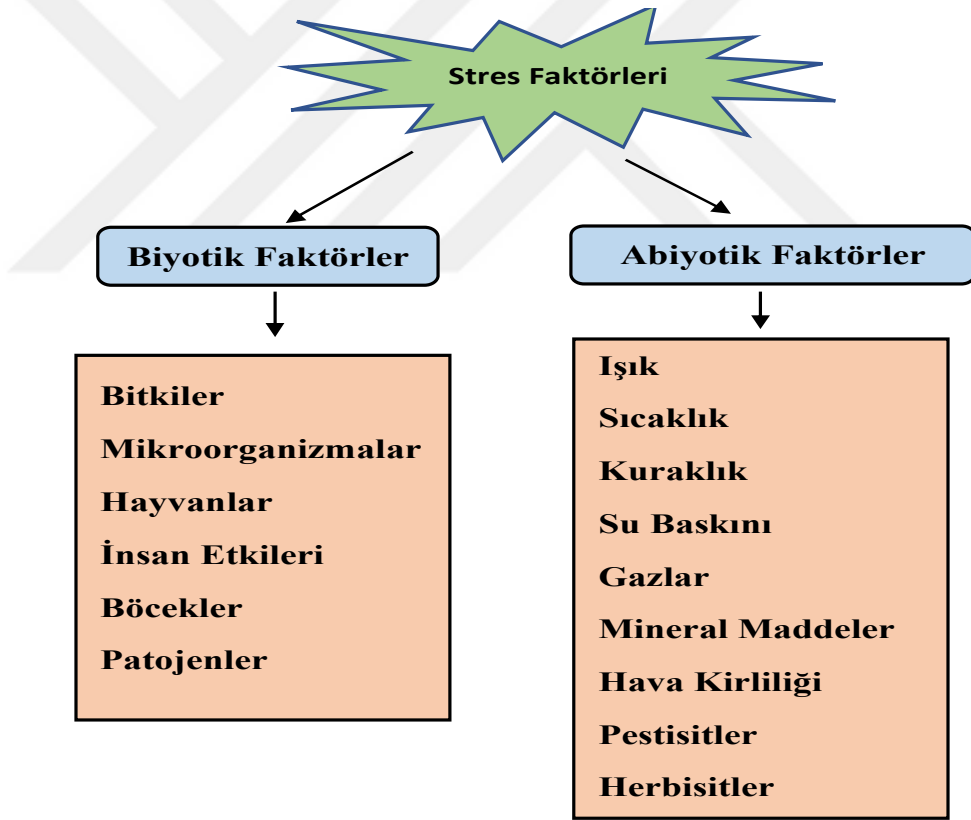
Şekil 1. FAO 2020 verilerine göre buğday üretiminin kıtalara göre dağılımı (FAO 2022)

Buğdayın en geniş ekilen türü ekmeklik buğdaydır (Marcussen *et al.* 2014; Müller *et al.* 2018). Ekmeklik buğday, dünyada yıllık buğday üretiminin en az %95'ini oluştururken (Tadesse *et al.* 2019), geriye kalan kısmını ise makarnalık ya da durum buğdayı (*Triticum turgidum* var. *durum*) oluşturmaktadır (Jankielsohn and Miles 2017). Tropikal iklimden ılıman iklime kadar çok çeşitli ortamlarda yetiştirilebilen ve ilk çağlardan beri kültürü yapılan bitkiler arasında bulunmaktadır (Narayanan *et al.* 2014; Tadesse *et al.* 2019; Haider 2013; Hemdane *et al.* 2016; Ahmad *et al.* 2016).

Dünya nüfusunun 2050 yılında yaklaşık dokuz milyara yükseleceği tahmin edilmektedir (Jurossek and von Tiedemann 2013). Giderek artan insan nüfusunun beslenmesi için küresel gıda üretiminin genişletilmesi ve tarımsal verimliliğin artırılması gerekmektedir (Börner *et al.* 2000). Bu talebi karşılamak için buğday veriminin 2050 yılına kadar %50 oranında artırılması gerektiği ön görülmektedir (Allen *et al.* 2017). Bu sebeplerden dolayı buğday verimini arttırmak, ıslahçılar için büyük bir amaç niteliğindedir (Youssef *et al.* 2018). Diğer taraftan

buğday, iklim değişikliği ve küresel ısınma nedeniyle tarımsal üretimin bozulması karşısında gıda güvenliğini sürdürmek için sürekli iyileştirilmesi gereken bir besin ürünü olarak karşımıza çıkmaktadır (Montenegro *et al.* 2017).

Bitkiler doğal yaşam alanlarında onların verimini azaltan çeşitli biyotik ve abiyotik streslere maruz kalmaktadır (Fujita *et al.* 2006) (Şekil 2). Kuraklık, tuzluluk, soğuk ve ağır metal gibi abiyotik stresler ürün verimliliğini, kalitesini ve sürdürülebilirliğini olumsuz yönde etkileyen ana faktörlerdir (Waqas *et al.* 2019; Sharma *et al.* 2019). Bu faktörlerden bir veya daha fazlası ekilebilir alanların yaklaşık %90'ında, önemli besin ürünlerinin ise %70 oranına varan kısmında verim kayıplarına neden olmaktadır (Waqas *et al.* 2019). Su ya da kuraklık stresi ürün verimliliğinde ağır kayıplara neden olan en kapsamlı abiyotik stres faktörlerinden biridir (Dubey *et al.* 2016; Shehzad *et al.* 2020). Buğday, geniş kapsamlı iklim adaptasyonuna sahip olmasına rağmen, kuraklık stresi buğday verimliliğini önemli ölçüde sınırlandıran en yaygın stres faktörüdür (Narayanan *et al.* 2014).



Şekil 2. Biyotik ve abiyotik stres etmenleri (Kaçar ve Öztürk 2006)

Tarımsal uygulamalar iklim değişikliğinden kaynaklanan kuraklığın yaygınlaşmasıyla önemli ölçüde etkilenmektedir. Kuraklık stresinin olumsuz etkileri bitkilerin tüm büyüme safhalarında ortaya çıkmaktadır (Iwuala *et al.* 2019). Bu durum bitkilerde fizyolojik, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere sebep olmaktadır (Nabi *et al.* 2019).

Kuraklık, biyokütle birikimini azaltarak bitkilerin büyümesini, gelişimini ve verimini önemli ölçüde sınırlayan ana çevresel faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Kuraklık stresi, yağmur suyu ya da sulama eksikliği nedeniyle topraktaki su miktarının azalmasıyla birlikte transpirasyon devam ettiğinde ortaya çıkmaktadır (Liu *et al.* 2018). Transpirasyon sadece yaprak sıcaklığının korunmasının yanı sıra, su ve besin alımını da yönetmektedir (Aroca 2012). Kurak şartlarda, bitki yapraklarından transpirasyon ile kaybedilen su oranı, kökler ile absorbe edilen su alım oranını aşmaktadır (Seleiman *et al.* 2021). Kurak koşullarda önce toprağın, ardından bitkinin su potansiyeli azalır ve daha ileri safhalarda turgor basıncında düşüş, stomalarda kapanma, yaprak büyümesinde azalma ve fotosentez oranında düşüş meydana gelmektedir (Öztürk 1999; Anjum *et al.* 2011; Salehi-Lisar 2016; Liu *et al.* 2018). Diğer taraftan, yaprak kıvrılması, yapraklarda sararma ve kalıcı solma kuraklığın meydana getirdiği diğer etkilerdir (Seleiman *et al.* 2021). Yine, kuraklık stresi bitkiler tarafından besinlerin alımını, translokasyonunu ve metabolizmasını azaltmaktadır (Salehi-Lisar 2016). Su stresi tarafından azalan transpirasyon hızı, besin alımını ve kullanım etkinliğini olumsuz etkilemektedir. Toprakta su miktarının azalması, toprakta bulunan bitki besin maddelerinin difüzyon oranını etkiler, toprak matrisi ve kök yüzeyi arasındaki bitki besin maddelerinin difüzyon hızını yavaşlatır ve bu nedenle kökler tarafından besin alımı azalır (Aroca 2012). Kuraklık stresi altında meydana gelen tüm bu etkiler, bitkilerin büyüme ve gelişmesini engelleyip, verim ve kalitesinin azalmasına yol açmaktadır (Aroca 2012; Farooq *et al.* 2009).

Bitkilerde hücre büyümesi ve hücre bölünmesi su eksikliğinden etkilenir. Özellikle kurak koşullarda bitkide meydana gelen turgor azalması, hücre genişlemesini ve büyümesini baskılamaktadır (Aroca 2012; Salehi-Lisar and Bakhshayeshan-Agdam 2016). Kuraklık stresi hücresel dehidrasyona neden olur, bu da sitozolik ve vakuolar hacmin azalmasıyla sonuçlanan osmotik strese ve suyun sitoplazmadan ekstraselüler alana çıkarılmasına yol açar (Bartels and Sunkar 2005). Hücre hacminde belirgin bir azalma ve sonrasında oluşan hücre büzülmesi, dehidrasyonun neden olduğu ani bir semptom olarak belirgin hale gelir (Joshi *et al.* 2016).

Kuraklık stresi plazma zarının seçici geçirgenliğine zarar vermekte ve bu nedenle hücre içi kompozisyonu bozulmaktadır. Bu hasar bitki büyüme ve gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir (Elbasyoni *et al.* 2017). Diğer taraftan, kuraklığa maruz kalan bitkiler, yaprak sıcaklığındaki artışla birlikte yaprak su potansiyelini, yaprak nispi su içeriğini (YNSİ) ve transpirasyon oranını önemli ölçüde azaltmaktadır. YNSİ, yaprak gelişiminin ilk aşamalarında yüksektir ancak kuru madde birikimi arttıkça YNSİ’de azalma meydana gelmektedir (Anjum *et al.* 2011). YNSİ, kanopi sıcaklığı, stoma direnci, osmotik potansiyel, turgor potansiyeli, yaprak su potansiyeli, transpirasyon hızı ve yaprak sıcaklığı, bitki su ilişkilerini etkileyen

önemli özelliklerdir (Farooq *et al.* 2009; Aroca 2012). YNSİ, dokulardaki metabolik aktiviteyi yansıtan ve dehidrasyon toleransı için yaprak su içeriğinin bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır.

Klorofil, fotosentez için kloroplastın temel bileşenlerinden biridir ve klorofil içeriği, fotosentez hızı ile pozitif bir ilişkiye sahiptir. Bu nedenle klorofil içeriğinde azalma ile birlikte fotosentez hızı da azalmaktadır (Anjum *et al.* 2011; Siddiqui *et al.* 2011; Salehi-Lisar 2016). Kuralık stresi klorofil degradasyonuna yol açarak, klorofil içeriğinde azalmaya sebep olmaktadır. Diğer taraftan, kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin ilk tepkisi olan stoma kapanması, transpirasyon ile su kaybını önlemek amacıyla CO₂ girişini engeller ve fotosentetik karbon asimilasyonunu ve de fotorespirasyonun azalmasına sebep olmaktadır. Aynı zamanda karboksilasyon enzimlerinin aktivitelerinin bozulması ve fotosentetik bileşenlerin yıkımı karbon fiksasyonunu azaltmaktadır (Anjum *et al.* 2011). Kuraklık stresi altında tüm bu olaylar su potansiyelinin azalmasının bir sonucu olarak ortaya çıkmakta ve fotosentez olaylarını önemli ölçüde etkilemektedir (Farooq *et al.* 2009; Salehi-Lisar 2016). Bu durum, fotosentetik ölçümleri bitki stres çalışmalarının önemli bir bileşeni yapmaktadır.

Klorofil floresansı, fotosentez ile olan ilişkisi nedeniyle fotosentetik sistemin işlevsel durumunun değerlendirilmesinde doğrudan kullanılabilir (Meroni *et al.* 2009). Kloroplastların tilakoid membranlarından yayılan klorofil floresansı fotosistem II (PSII)'ye verilen hasarı ve olası bir fotoinhibisyonu belirlemede kullanılan bir parametredir (Meroni *et al.* 2009; Iwuala *et al.* 2019; Baker 2008; Rapacz *et al.* 2019; Rahbarian *et al.* 2011; Kocheva *et al.* 2004). PSII, tilakoid membranlarda hasar görmeye en duyarlı bileşendir. Bu nedenle abiyotik stresler PSII'yi fotoinhibisyona eğilimli hale getirir (Guidi *et al.* 2019). Maksimum floresans seviyesi (F_m) ve minimum klorofil floresans yoğunluğu (F_0) arasındaki fark, değişken floresans (F_v) olarak adlandırılır (Murchie and Lawson 2013; Baker and Rosenqvist 2004; Gorbe and Calatayud 2012). PSII reaksiyon merkezlerinde enerji yakalamanın verimliliğini tanımlayan F_v/F_m oranı ise PSII fotokimyasının maksimum kuantum verimini temsil etmektedir (Rapacz *et al.* 2019). Bitkiler abiyotik ve biyotik streslere maruz kaldıklarında (kuraklık, yüksek ışık şiddeti ve yüksek sıcaklık), F_v/F_m 'de azalmalar sıklıkla gözlenmektedir (Van der Tol *et al.* 2009).

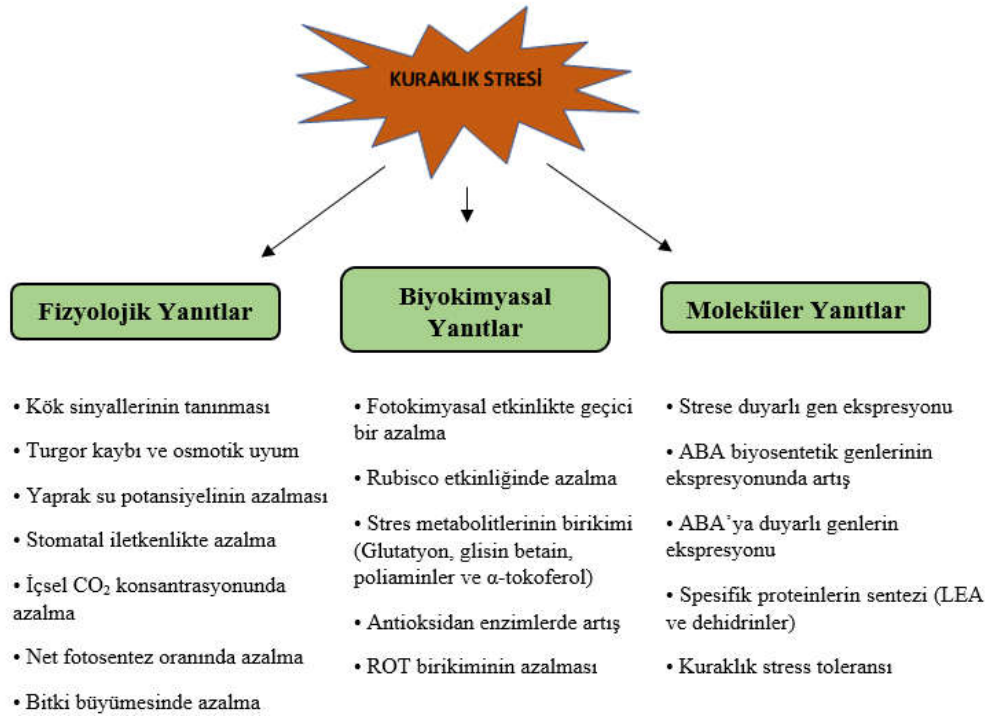
Kurak koşullarda PSII aktivitesi, reaktif oksijen türleri (ROT) ve bozulan lipid metabolizması tarafından azalmaktadır ve bu durum hücre membranı hasarı ile bağlantılıdır (Rapacz *et al.* 2019). ROT'lar normal süreçlerde kloroplast, mitokondri ve peroksizomlar gibi farklı hücresel bölmelerde lokalize olan çeşitli metabolik yolların yan ürünleri olarak üretilmektedir (Bhaduri and Fulekar 2012). Ancak abiyotik stresler ROT'ların fazla miktarda üretilmesine sebep olmaktadır (Gill and Tuteja 2010). Artan ROT üretimi hidrolitik enzimlerin

aktivasyonunu, proteinleri, nükleik asitleri, membran lipidlerini, tilakoid membranları ve fotosentetik pigmentleri parçalayan oksidatif hasara neden olmaktadır (Farooq *et al.* 2009; Gill and Tuteja 2010; Siddiqui *et al.* 2011; Moustafa-Farag *et al.* 2020). ROT'un, hidroksil radikaller ($\text{OH}\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyon (O_2^-) ve tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) formları bulunmaktadır. ROT'ların bu formları, proteinlere, lipidlere ve nükleik asitlere karşı oldukça reaktiftir ve ciddi hasarlara neden olarak, hücre ölümüne yol açmaktadırlar (Bhaduri and Fulekar 2012; Choudhury *et al.* 2013; You and Chan 2015; Shehzad *et al.* 2020; Godoy *et al.* 2021). Diğer taraftan, ROT'un hücre membranında meydana getirdiği hasar sonucu, membran lipidlerinin oksitlenmiş bir ürünü olan MDA ürünü üretilmektedir. MDA içeriğindeki artış lipid peroksidasyonunun ve hücre membran hasarının göstergesi olarak kabul edilmektedir (Bistgani *et al.* 2017; Wang *et al.* 2018; Laxa *et al.* 2019; Godoy 2021).

Bitkiler hayatta kalmalarını ve çoğalmalarını sağlamak amacıyla geçici su stresıyla başa çıkmak için uygun mekanizmalar geliştirmişlerdir. Kuraklığa karşı bitki dayanıklılığı; kuraklıktan kaçış, dehidrasyondan kaçınma ve dehidrasyona tolerans stratejileri olarak gruplandırılmaktadır. Kuraklıktan kaçış, şiddetli stresin başlangıcından önce, kısa bir yaşam döngüsü, yüksek bir büyüme oranı ya da tohum üretimi için rezervlerin verimli bir şekilde depolanması ve kullanılması ile yeniden üretimin gerçekleşebilmesidir (Fang and Xiong 2015; Barnabás *et al.* 2008). Dehidrasyondan kaçınma, kuraklık koşullarında bitkinin yüksek doku su potansiyelini sürdürme yeteneğidir. Bitkilerde bu durum genellikle morfolojik değişikliklerle sağlanır. Su kaybının azaltılması (stomatal iletkenliğin ve yaprak alanının azalması, yaprak olgunlaşması vb.) ya da su alımının artırılması (kök sistemlerinin gelişimi ve kök/sürgün oranının artması) bu duruma örnek olarak verilebilir. Dehidrasyon toleransı ise bir bitkinin düşük doku su potansiyellerinde bile normal metabolik işlevlerini sürdürme yeteneğidir (Fang and Xiong 2015; Barnabás *et al.* 2008; Reddy *et al.* 2004).

Bitkiler kuraklık stresine moleküler, hücresel ve fizyolojik seviyelerde yanıt vermektedirler (Şekil 3). Bu yanıt, türe ve genotipe, su kaybına, gelişimin dönemine ve aşamasına, organ ve hücre tipine göre değişmektedir (Barnabás *et al.* 2008; Lamhamdi *et al.* 2011; Basu *et al.* 2016; Godoy *et al.* 2021). Kuraklık toleransı, bozulmuş metabolizmanın bir sonucu olarak oluşan ROT'ların etkili bir şekilde temizlenmesiyle de ilişkilidir (Barnabás *et al.* 2008; Basu *et al.* 2016). Özellikle bitkiler stresten dolayı artan ROT üretimine karşı oksidatif hasardan korunmak için çeşitli antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptirler (Gratão *et al.* 2005; Mroczek-Zdyrska and Wójcik 2012). Bitki hücrelerinde normal şartlar altında ROT üretimi ve detoksifikasyonu arasında bir denge söz konusudur. ROT üretimi ve detoksifikasyonu arasındaki bu denge enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar

tarafından sürdürülmektedir (Caverzan *et al.* 2016). Enzimatik antioksidanlar, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GPX), askorbat monodehidro askorbat redüktaz (MDHAR), dehidro askorbat redüktaz (DHAR), glutatyon-S-transferaz (GST) olup oksitadif hasarın etkilerini azaltarak hücrel hasarı önlemektedir (Jaleel *et al.* 2009; Caverzan *et al.* 2012; Xing *et al.* 2015). Diğer taraftan askorbat (AsA), glutatyon (GSH), prolin, flavonoidler, fenolik bileşikler, alkaloidler, α - tokoferol ve karotenoidler ise enzimatik olmayan antioksidanlardır (Caverzan *et al.* 2016). Özellikle enzimatik olmayan antioksidanlardan biri olan prolinin bitki dokularında birikimi çoğu bitkinin kuraklık stresine verdiği birincil tepki olarak bilinir ve bitkinin kuraklık koşullarında su kaybını önlemelerine ve/veya topraktan su almaya devam etmelerine olanak sağlamaktadır (Bistgani *et al.* 2017).



Şekil 3. Bitkilerde kuraklık stresine karşı fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yanıtlar (Reddy *et al.* 2004)

Stres şartlarında bitkilerde antioksidanlardan farklı olarak koruma mekanizmaları geliştirilmektedir. Genel olarak kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde, köklerde sürgünlere göre daha fazla büyüme gerçekleşmektedir (Seleiman *et al.* 2021). Böylece bitkinin su alım potansiyeli artarak, stres durumunda büyüme ve gelişmesi için hem içsel hemde dışsal metabolik işlevlerini sürdürmektedir. Diğer taraftan bitkiler, özellikle kuraklığa karşı hücrel membranları ve diğer proteinleri koruyan fonksiyonel proteinlere [Late embryogenesis abundant (LEA) proteinleri, prolin sentetaz, betain sentetaz, protein kinazlar, protein fosfatlar] sahiptirler (Fang and Xiong 2015; Dubey *et al.* 2016).

Fitohormon olan ABA, çevresel streslere yanıt veren ve ‘stres hormonu’ olarak da bilinmektedir (Sah *et al.* 2016; Vishwakarma *et al.* 2017). ABA genel olarak, tohum gelişimi, vejetatif büyüme ve bitki filizlenmesi gibi çeşitli işlevlere sahiptir. Aynı zamanda ABA, bitki büyüme ve gelişiminde birçok fonksiyona sahiptir. ABA, kuraklık stresinde ilk sentez yeri olan köklerde çok fazla üretilmektedir ve sırasıyla gövde ve yapraklara taşınarak, stomaların kapanmasına sebep olmaktadır (Vishwakarma *et al.* 2017). Ek olarak ABA, kuraklık stresinden birçok genin indüklenmesine neden olmaktadır. Genel olarak bitki su dengesini ve ozmotik stres toleransını (hücrel dehidrasyon toleransı) düzenlemektir (Şekil 3) (Zhu 2002; Seki *et al.* 2007; Vishwakarma *et al.* 2017; Banks 2018).

Osmotik regülasyon, hücrenin çevresinin su potansiyelinin azalmasına yanıt olarak bir hücrede inorganik ve organik çözünen maddelerin aktif olarak birikmesini içerir. Genellikle, osmotik uyum, bitkiler su eksikliği yaşadıklarında hem sürgünlerde hem de köklerde turgor potansiyelinin korunmasını sağlar. Bu durum bitkilerde, büyüme ve stomatal aktivite gibi turgora bağlı süreçlerin giderek yaprak su potansiyelini düşürmesine neden olur. Sonuç olarak, hücrenin osmotik potansiyeli azalır ve bu da hücrenin içine su çekerek turgor potansiyelinin sürdürülmesine neden olmaktadır (Sánchez *et al.* 2004). Su stresi altındaki bitki hücrelerinde osmotik uyum, kuraklık koşullarına da yaygın bir fizyolojik adaptasyon olarak bilinir (Bistgani *et al.* 2017). Bu metabolitler kuraklık stresi altında birikir ve bitkilerin stresi önlemesine ve/veya tolere etmesine yardımcı olan ozmolitlerdir (antioksidanlar olarak fonksiyon gösterir). Kuraklık stresi altında biriken rafinoz ailesi (oligosakaritler, sukroz, trehaloz ve sorbitol gibi şekerler) ve mannitol gibi şeker alkolleri, prolin gibi amino asitler ve glisin betain gibi aminler, kuraklık stresinde hücre turgorunu korumak, hücre proteinlerini ve yapılarını dengede tutmak için ozmolitler olarak fonksiyon göstermektedir (Seki *et al.* 2007). Bitkilerin en iyi şekilde büyümesi, hasara karşı korunması, gelişimi, transpirasyonu ve fotosentetik aktiviteler için yeterli miktarda su gerektirmektedir (Shehzad *et al.* 2020).

Su taşınımı, bitkilerin hem normal yaşam koşullarında hem de stres şartlarında hayati önem taşımaktadır. Bu su taşınımı sıkı bir şekilde hücre membranlarında (hücrelerinin plazma membranlarında ve vakuelleri çevreleyen tonoplast membranlarında) bulunan akuaporinlerin (AQP’ler) aktivitesi tarafından kontrol edilmektedir (Zupin *et al.* 2017; Shekoofa and Sinclair 2018). AQP’ler intraselüler ve plazma membranlarda su taşınımını kolaylaştırmak için kanallar oluşturan karakteristik bir yapıya sahip major intrinsik proteinlerdir ve bitkinin neredeyse tüm organlarında (kökler, yapraklar, çiçekler, meyveler ve tohumlar) mevcuttur (Kaplan *et al.* 2018; Zhuang *et al.* 2015). AQP’ler, transpirasyon esnasında iç yaprak dokuları ile bitki boyunca köklerden su taşınımını sağlamaktadır. Diğer taraftan, AQP’lerin hücre farklılaşması

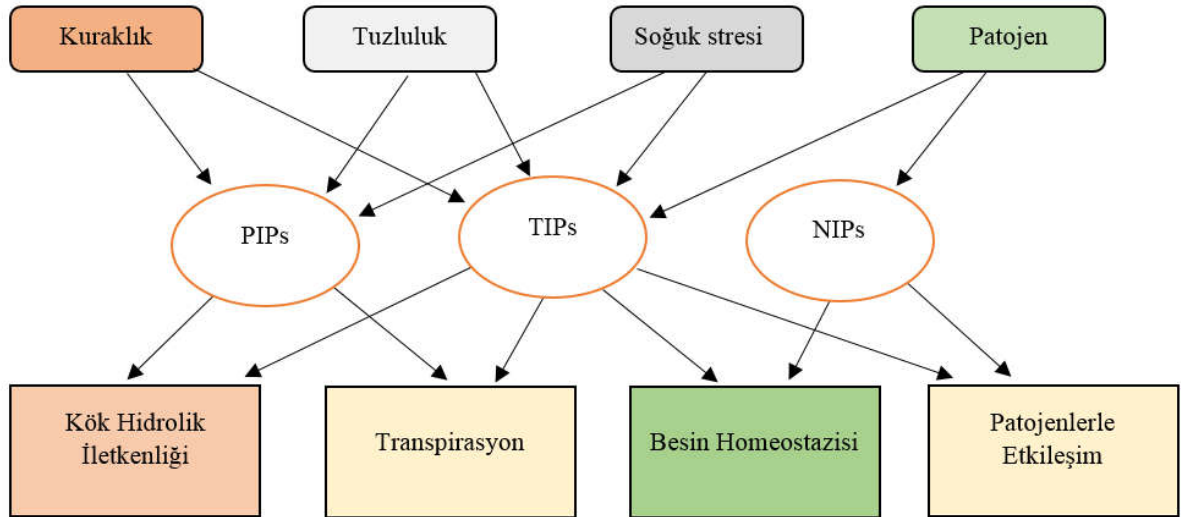
ve uzaması, hücre membran homeostazisi dengesinin düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik süreçlerde görevleri de bulunmaktadır (Zupin *et al.* 2017; Iwuala *et al.* 2019). Bu yönleriyle, AQP'ler, kuraklık stres toleransının yanı sıra kuraklık stresinde de önemli bir rol oynamaktadır (Kurowska *et al.* 2019). Kurak şartlarda, bitkilerde düşen su akışı AQP'lerin transmembran su taşınımını düzenlemesiyle artmaktadır (Kapilan *et al.* 2018).

AQP'ler (Şekil 4), membran lokalizasyonu ve aminoasit dizisine göre beş gruba [plazma membran intrinsik proteinleri (PIP), tonoplast intrinsik proteinleri (TIP), nodulin 26-benzeri intrinsik proteinleri (NIP), ve X intrinsik proteinleri (XIP), küçük temel intrinsik proteinleri (SIP)] ayrılmaktadır (Zupin *et al.* 2017).

PIP'lar en geniş bitki AQP'ler alt ailesini oluşturmaktadır. PIP'ların çoğusu plazma membranlarında tanımlanmıştır. Dizi benzerliklerine bağlı olarak PIP'lar iki alt gruba (PIP1 ve PIP2'ler) ayrılmaktadır. PIP1 ve PIP2'lerin farklı izoformları kökler ve yapraklar dahil neredeyse tüm bitki kısımlarında konumlanmıştır (Kapilan *et al.* 2018). PIP'lar, bitkinin kök ve yaprak protoplastlarında osmotik hidrolik iletkenlik aktivitesini ve transselüler su taşınımını kontrol eden ve düzenleyen faktörler arasında yer almaktadır (Zupin *et al.* 2017; Kapilan *et al.* 2018) (Şekil 4). PIP'ların kuraklık stresine tepkileri, dokuya ve stres seviyesine göre önemli ölçüde değişmektedir. Kuraklık stresi altında PIP akuaporinleri, toprak su potansiyeli azalırken kökten toprağa su akışını önleyerek kök hidrolik iletkenliğini azaltmaktadır (Şurbanovski *et al.* 2013).

AQP'lerin bir diğer alt ailesini oluşturan TIP'lar, dizi homolojilerine göre beş alt gruptan (*TIP1*, *TIP2*, *TIP3*, *TIP4* ve *TIP5*) oluşmaktadır. Genel olarak TIP'lar vakuol membranında (tonoplast) yüksek oranda bulunup, osmotik dengeyi sağlamada ve hücre içi taşımada (su, çözünen maddeler ve gazların taşınması) önemli fonksiyona sahiptir (Kapilan *et al.* 2018) (Şekil 4). Ayrıca TIP'lar köklerden su alımını kolaylaştırmasının yanında, sitozolik ve vakuolar bölmeler arasında su değişimini kontrol ederek, hücre turgorunu düzenlemektedir (Kurowska *et al.* 2019).

Nodulin 26 (Nod26), simbiyozom zarının önemli bir bütünleyici proteini olarak kabul edilir. NIP'ler, bakteri ve konukçu bitki arasında suyun taşınmasında önemli bir rol oynar (Şekil 4). SIP alt ailesi ise yapısal ve işlevsel olarak iyi karakterize edilmemiştir. Bu ailenin proteinleri, TIP'lar gibi küçüktür, ancak TIP'lerle karşılaştırıldığında çok basittirler (Kapilan *et al.* 2018).

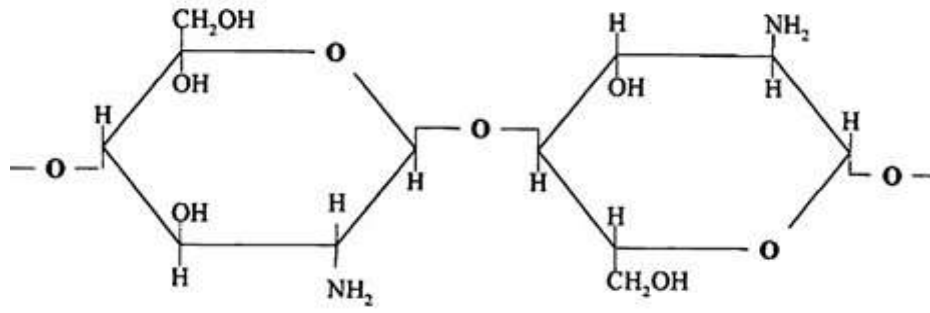


Şekil 4. Çevresel uyarılara yanıt olarak bitki akuaporinlerinin geliştirilmiş bir özeti (Afzal *et al.* 2016)

Bitkilerin su akışı gibi doğal işleyişlerini gerçekleştirmeleri ve stresten güvenli bir biçimde kurtulmaları oldukça önemlidir. Bitki biyostimulantları bitki büyümesini yararlı bir şekilde düzenleyebilmektedir. Bir bitki biyostimulantı ürün verimi ve kalitesi, abiyotik stres tolerans vb özelliklerini artırmak amacıyla bitkilere uygulanan bir madde ya da mikroorganizma olarak tanımlanabilir. Başka bir ifadeyle, bitki biyostimulantları solunum, fotosentez, nükleik asit sentezi ve iyon alımı gibi birkaç metabolik süreci etkilediği görünen ve az miktarlarda uygulandığında bitki büyüme ve gelişimini artıran organik maddelerdir. Çevresel streslere karşı bitki biyostimulantların uygulanması stresin etkilerini azaltmaktadır. Bu nedenle son yıllarda tarımda geniş çapta kullanılmaya başlanmıştır (Rafiee *et al.* 2016).

Bitki biyostimulantlarından biri olan kitosan ve oligomerleri, toksik olmayan özellikleri, biyoyuumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve biyoaktivitesi nedeniyle tarımsal uygulamalarda, biyotıpta ve biyoteknolojide kullanılmaktadır (Hidangmayum *et al.* 2019; Almeida *et al.* 2020).

Polisakkarit kitosan, rastgele dağılmış b-(1-4)-bağlı D-glukozamin (deasetillenmiş ünite) ve N-asetil-D-glukozamin (asetillenmiş ünite)'den oluşan lineer bir polisakkarittir ve çevre dostu bir üründür (Şekil 5). Kitin kabuklu deniz hayvanlarının atıklarından kolaylıkla elde edilebilmektedir.

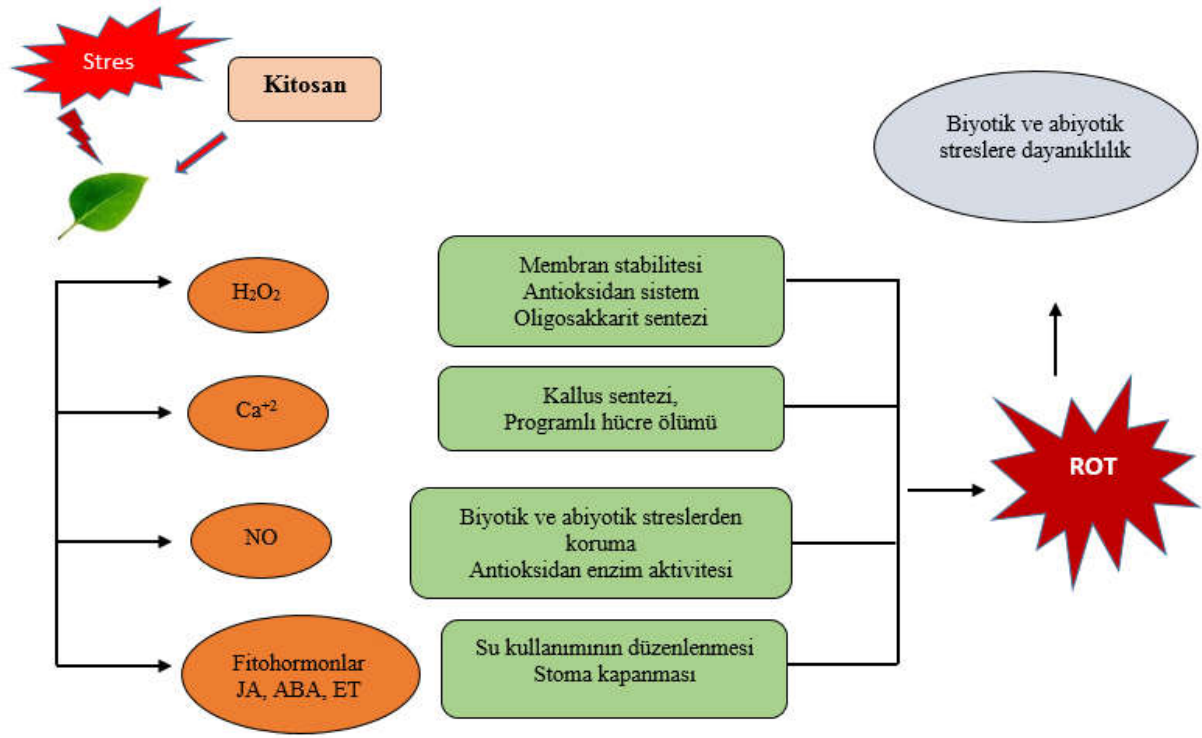


Şekil 5. Kitosanın kimyasal yapısı (Hadwiger 2013)

Biyotik ve abiyotik streslere karşı toleransta kullanılan (Hidangmayum *et al.* 2019; Rafiee *et al.* 2016) kitosan, tarımsal üretimde bir antitranspirant olarak kullanımı ekonomik katkı sağlamaktadır (Bittelli *et al.* 2001). Diğer taraftan, antiviral, antibakteriyel ve antifungal özellikleri de bulunan kitosan hem monokotiledonlarda hem de dikotiledonlarda bitki savunma tepkilerini uyarmaktadır. Patojenlerin bitkilere ulaşmasını engelleyerek, bitki hastalıklarının yayılmasını önleme ve bitki iç savunma yanıtlarını artırmaktadır (El Hadrami *et al.* 2010; Katiyar *et al.* 2015). Aynı zamanda bitki hücre kültürü ya da doku kültüründe hızlı bir şekilde üretimin sağlanmasında, verimin artırılmasında ve sekonder metabolitlerin üretilmesinde abiyotik uyarıcı olarak kullanılmaktadır (Kurtuluş ve Vardar 2020).

Kurak şartlarda kitosan, bitki yüzeyini bir film şeklinde kaplayarak, stoma kapanmasını sağlamaktadır. Böylece yapraktan suyun buharlaşarak azalmasını önleyerek, bitkinin su kullanım verimliliğini iyileştirmektedir (Bittelli *et al.* 2001; Ludwig *et al.* 2010; Almeida *et al.* 2020). Aynı zamanda kitosan antioksidan özelliği nedeniyle de eksojen olarak uygulandığında bitkilerin kuraklık toleransını artırmaktadır (Zhao *et al.* 2019).

Kuraklık stresi altında, çeltik (*Oriza sativa* L.), fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), biber (*Capsicum* sp.) gibi bitkilerde kitosanın etkileri çeşitli çalışmalarla incelenmiştir (Hadwiger 2013; Pichyangkura and Chadchawan 2015; Hidangmayum *et al.* 2019). Kuraklık stresi altında kitosanın, klorofil içeriğini arttırdığı ve buna bağlı olarak fotosentez aktivitesinin de arttığı belirlenmiştir (Hidangmayum *et al.* 2019; Zhao *et al.* 2019). Diğer taraftan bitki savunma mekanizmasında görev alan SOD, POD ve CAT gibi antioksidan enzim aktivitelerini artırıp, MDA üretimini azaltarak, ROT'lara karşı etkili temizleme yaptığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Sharp 2013; Yang *et al.* 2009; Pichyangkura and Chadchawan 2015). Aynı zamanda kitosan, jasmonik asit (JA) sentezini içeren metabolik yolları da etkilemektedir. Jasmonatlar, bitkilerin su kullanımının düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir bitki hormonu olan ABA'ya benzer aktiviteler göstermektedirler. Kitosan aracılı sinyal yolunda Ca^{+2} , nitrik oksit (NO), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve fitohormonlar görev almaktadır (Şekil 6).



Şekil 6. Biyotik ve abiyotik stres altında kitosanın sinyal yolu (Hidangmayum *et al.* 2019).

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada kitosanın abiyotik strese karşı antioksidan özellik gösterdiği, bunun yanı sıra özellikle kuraklık çalışmalarında etkili bir antitranspirant bir madde olarak bitkideki su değişimini düzenlediği bildirilmiştir. Tüm bu çalışmalara rağmen kitosanın bitkilerdeki mekanizması hala tam olarak anlaşılamamıştır (Hidangmayum *et al.* 2019). Yapılan bu çalışmada, kitosanın kuraklık stresi altında buğdayda oluşturması muhtemel morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal etkileri ile su taşınmasında önemli rolleri bulunan bazı AQP genlerinin (*PIP1*, *PIP2* ve *TIP2*) ifade seviyelerine etkisi belirlenmesi hedeflenmiştir.

KURAMSAL TEMELLER

Temel bir gıda maddesi olarak buğday, başlangıçta kültüre alma, seleksiyon ve ıslah yoluyla tarih boyunca ıslah çalışmaları için önemli bir hedef olmuştur (Ofek-Lalzar *et al.* 2016). Bitkiler tüm yaşamları boyunca büyüme, gelişim ve verimliliği üzerine negatif etkiye sahip olan birçok biyotik ve abiyotik stresle karşılaşmaktadır. Kuraklık stresi bitki verimliliğini azaltan en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir (Dubey *et al.* 2016; Shehzad *et al.* 2020). Buğday, geniş bir adaptasyona sahip olmasına rağmen, kuraklık stresi buğday verimliliğini önemli ölçüde sınırlandıran en yaygın stres faktörüdür (Narayanan *et al.* 2014).

Toprak nemindeki düşüş, topraktaki besin maddelerinin emici kök yüzeyine doğru difüzyon hızında da bir azalmaya neden olur (Hu and Schmidhalter 2005). Şiddetli kuraklık stresi plazma membranında hasara ve membran bütünlüğünün kaybına yol açmaktadır. Kuraklık stresindeki ROT üretimindeki artış, membran lipidlerinde oksidatif hasara neden olur ve membran akışkanlığını azaltır. Bu durum hücre membranının fonksiyonuna hasar vermektedir. Kuraklığa toleranslı bitki türleri, kuraklık stresinde membran stabilitesini, akışkanlığını ve bütünlüğünü koruyabilmesine rağmen kuraklığa hassas bitki türlerinde önemli seviyede membran hasarı görülebilmektedir (Rawat *et al.* 2021).

Simova-Stoilova *et al.* (2009), kuraklığa toleranslı (Yantar ve Zlatitsa) ve hassas (Miziya ve Dobrudjanka) kışlık buğday çeşitlerinde yapmış oldukları çalışmalarında, kuraklık stresinin hassas çeşitlerde daha fazla oksidatif hasara neden olarak membran bütünlüğüne zarar verdiğini tespit etmişlerdir. Yine, Abid *et al.* (2018), ekmeklik buğday çeşitlerinde (kuraklığa toleranslı ve hassas) kuraklık stresinin ve yeniden sulamanın fizyolojik, biyokimyasal ve agronomik tepkilerini araştırdıkları çalışmalarında, kuraklık stresinin, membran stabilitesinde ve fotosentetik aktivitede (tersine çevrilebilir) bir azalışa, ROT miktarındaki artışın, lipid peroksidasyonuna ve membran hasarına yol açtığını belirtmişlerdir.

Karami *et al.* (2013), arpa (*Hordeum vulgare* L.) varyatelerinin kuraklık stresi altında YNSİ, stomatal iletkenlik, klorofil a ve b içeriklerini karşılaştırmış ve hassas (Moroco) çeşide göre toleranslı çeşitte (Yousef) bu parametrelerin daha yüksek olduğu ve bunun ozmotik uyum ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Yine çalışmalarında elektrolit sızıntı ve MDA seviyelerinin stres altında iki çeşitte de önemli ölçüde arttığını ancak artışın hassas çeşitte daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durumun hassas çeşitte hücre membranının ve sitoplazmik membranın zayıf bir şekilde korunması ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Su stresi, esas olarak bitki hücrelerinin su durumu bileşenlerinde bir düşüşe neden olan turgor kaybı nedeniyle hücre bölünmesi ve genişleme oranını yavaşlatarak bitki büyümesini azaltır (Kiani *et al.* 2007). YNSİ, kuraklık stresinin önemli bir göstergesi olup YNSİ’de azalma, kuraklığa verilen en erken tepkilerden biridir ve genellikle, yaprak su potansiyeli azalması ve stoma kapanması ile sonuçlanmaktadır (Farooq *et al.* 2021).

Karimpour (2019), yaptığı çalışmasında buğday genotiplerinde kuraklık stresinin YNSİ, klorofil içeriği ve mineral elementler üzerine olan etkisini incelemiştir. Klorofil içeriğinin, YNSİ’nin, potasyum (K^+) ve Sodyum (Na^+) iyon konsantrasyonları bakımından dayanıklı ve hassas genotipler arasında farklılıklar olduğunu gözlemlemiştir. Araştırmada kuraklık stresinin buğday genotiplerinin yaprak klorofil içeriği üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur. YNSİ ve klorofil içeriğinin dayanıklı genotiplerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine, Ahmed *et al.* (2020), yaptıkları çalışmalarında ekmeklik buğday genotiplerinde kontrol grubuna göre kuraklık stresinde yaprak membran stabilite indeksi, YNSİ, klorofil içeriği, yaprak alanı, yaprak su içeriği ve yaprak ozmotik potansiyelinde önemli ölçüde azalma tespit etmişlerdir.

Kuraklık stresinde, bitki hücrelerindeki fotosentez ile ilişkili hücre membranı, nem, besin ve enerji eksikliği nedeniyle hasar görmekte ve böylece fizyolojik süreçler bozulmaktadır. Bu faktörler klorofil içeriğini etkilemektedir. Bitkilerde klorofil içeriği, toprak su içeriği azaldıkça önemli ölçüde azalmaktadır (Fang and Xiong 2014).

Arjenaki *et al.* (2012), kuraklık stresi uygulanan farklı buğday çeşitlerinde YNSİ, klorofil içeriği, K^+ ve Na^+ iyon konsantrasyonlarının dayanıklı ve hassas genotipler arasında farklılık gösterdiğini belirlemişlerdir.

Saeidi *et al.* (2017), Zagros (kuraklığa toleranslı) ve Marvdasht (kuraklığa hassas) buğday genotiplerini normal koşullarda (tarla kapasitesinin %100’ü) ve kuraklık stresinde (tarla kapasitesinin %50’si) yetiştirmişlerdir. Su stresinin, hassas genotipte stoma iletkenliği, net fotosentez hızı, YNSİ, klorofil a, b ve çözünür protein içeriğinde daha fazla azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

He *et al.* (2011), buğday (*Triticum aestivum* L.) fidelerinin ultraviyole-B (UV-B), kuraklık ya da her iki strese karşı büyüme ve fizyolojik-biyokimyasal tepkilerini araştırmak için kontrollü koşullar altında deneyler yapmışlardır. Klorofil içeriği ve YNSİ’nin streslerden sırasıyla UV-B ve kuraklıktan önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. SOD, CAT ve prolin ve askorbat asit geçici ekspresyonunun, iki genotipte test edilen stresli koşullara göre farklılıklar sergilediğini ve bu streslere karşı bitki tepkilerinde önemli roller oynadıklarını belirtmişlerdir.

Klorofil floresansı, fotosentetik sistemin işlevsel durumunun bir göstergesidir ve fotosistem II (PSII)'nin durumu hakkında bilgi verir (Meroni *et al.* 2009; Aasen *et al.* 2019; Maxwell and Johnson 2000). Kuraklık gibi stresli koşullar altında klorofil floresansı azalmaktadır (Van der Tol *et al.* 2009). Kuraklık koşullarında azalan PSII aktivitesi, ROT ve bozulan lipid metabolizması tarafından neden olunan hücre membranı hasarı ile bağlantılıdır (Rapacz *et al.* 2019).

Zlatev (2009), kuraklık stresinin iki kışlık buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidinin klorofil floresans parametreleri üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda stresin yapraklarda minimum klorofil floresansını (F_0) arttırdığını; maksimum (F_m) ve değişken floresansı (F_v) ve de PSII'nin fotokimyasal verimini (F_v/F_m) azalttığını belirlemişlerdir. Yine, Öztürk and Aydın (2017), buğdayda geç kuraklığın F_m , F_v ve F_v/F_m değerlerinde azalışa neden olduğunu ve bu azalışın genotiplere göre farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Li *et al.* (2006), kuraklık stresindeki arpada (*Hordeum vulgare* L.) klorofil içeriği, F_0 , PSII'nin maksimum birincil fotokimyasal verim (F_v/F_0) ve F_v/F_m değerini incelemişlerdir. Bu özelliklerin tümünün (çiçeklenme sonrası) kuraklık stresinin farklı seviyelerinde tüm genotiplerde olumsuz etkilediğini, ancak bu durumun (azalmanın) kuraklığa hassas genotiplerde daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, fotosentetik bileşenlerin kuraklığa hassas genotiplerde önemli ölçüde zarar görebileceği, kuraklığa toleranslı genotiplerde ise nispeten daha az olduğunu tespit etmişlerdir. Yine arpada Mamnoei and Sharifi (2010), su stresi şartlarında F_0 değerinde bir artış; F_m ve F_v/F_m değerlerinde ise önemli ölçüde azalma olduğunu tespit etmişlerdir.

Norouzi *et al.* (2008), kolza (*Brassica napus* L.) genotiplerinin su stresine tepkisini değerlendirmişlerdir. Denemeler, iyi sulanan ve su stresli koşullarda tarlada gerçekleştirilmiş ve her iki koşulda da fizyomorfolojik özellikler ölçülmüştür. F_v/F_m değerlerinin, su eksikliği durumunda, iyi sulanmış duruma kıyasla azaldığını tespit etmişlerdir.

Rahbarian *et al.* (2011), nohutta kuraklığa toleranslı ve hassas genotiplerde fide, erken çiçeklenme ve bakla dönemlerindeki kuraklığın büyüme, bitki-su ilişkisi, fotosentez, klorofil floresans ve klorofil içeriği üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Araştırmada, kuraklık stresinin tüm genotiplerde sürgün kuru ağırlığını, CO_2 asimilasyon oranını, transpirasyon oranını ve F_v/F_m 'yi önemli ölçüde azalttığını, fide ve tohum tutma aşamalarındaki stres altında toleranslı genotiplerde, hassas genotiplere göre PSII fotokimyasal veriminin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) hatlarında çiçeklenme döneminde kuraklığa tolerans açısından morfolojik ve fizyolojik özelliklerin etkinliği araştırılmıştır. Araştırmadaki toleranslı

hattın hassas hatta göre daha yüksek F_v/F_m oranına sahip olduğu tespit edilmiştir (Ghaffari *et al.* 2012).

Bitkilerin büyümesini ve fotosentetik yeteneklerini engelleyen bir diğer önemli etki, ROT üretimi ile antioksidan savunma arasındaki dengenin kaybolması ve proteinlerde, membran lipidlerinde ve diğer hücresel bileşenlerde oksidatif strese neden olan ROT'ların birikmesidir (Farooq *et al.* 2009).

Sairam *et al.* (1997), kloroplast antioksidan sistemlerinin, stres toleransı ile ilişkisini incelemek için nem ve/veya sıcaklık stresine duyarlılıkları bakımından farklılık gösteren üç buğday genotipi ile bir araştırma yapmışlardır. Su stresi ve sıcaklık stresinin, tüm buğday genotiplerinde GR ve POD aktivitesini arttırırken; membran stabilitesini, klorofil içeriğini ve klorofil stabilize indeksini azalttığını belirlemişlerdir. Genotipin su stresine ve/veya sıcaklık stresine toleransının antioksidan enzim sistemi ile yakından ilişkili olabileceğini ifade etmişlerdir. Yine, Sairam *et al.* (1998), çiçeklenme evresinin ardından iki farklı aşamada uygulanan kuraklığın H_2O_2 ve MDA miktarında artışa ve askorbik asit içeriğinde azalmaya neden olduğunu, su stresinin SOD, APX ve CAT antioksidan enzimlerinde önemli ölçüde artırdığını belirtmişlerdir.

Esfandiari *et al.* (2007), üç buğday çeşidini hidroponik ortamda 10 gün süreyle PEG8000 (-4, -8 ve -12 bar) uygulamasına maruz bırakmışlardır. SOD, APX, CAT ve GR'nin farklı stres seviyelerinde farklı aktiviteler gösterdiğini, ayrıca stresin artan seviyelerine bağlı olarak membran hasarının da arttığını belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre SOD, CAT ve APX'in yüksek aktivitesinin, farklı su potansiyeli seviyelerinde üç buğday çeşidinde MDA seviyelerini azalttığını göstermişlerdir.

Valifard *et al.* (2012), kuraklığa maruz bırakılan buğday bitkileri üzerine yaptıkları çalışmada hassas çeşitteki lipid peroksidasyon oranının, toleranslı çeşide göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Chakraborty and Pradhan (2012), farklı buğday çeşitlerine (*Triticum aestivum* L.), (Mohan Wonder, Kedar, Gayetri ve Gandhari) 3, 6 ve 9 gün boyunca kuraklık stresi uygulamışlardır. Kuraklık stresinin artan şiddeti ile H_2O_2 birikiminin ve lipid peroksidasyonunun artış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Bouchemal *et al.* (2017), kuraklık, sıcaklık ve parakuat stresi altında farklı buğday genotiplerinin yapraklarında enzimatik antioksidanlardaki değişiklikleri ve oksidatif hasarı araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, üç stres uygulamasının hücre membran stabilitesini ve

klorofil içeriğini azalttığını, MDA ve H₂O₂ miktarını, CAT ve GPX aktivitelerini ise arttırdığını belirtmişlerdir.

Qayyum *et al.* (2018), yaptıkları çalışmalarında buğday genotiplerinde (GA-2002, Chakwal-97, Uqab-2000, Chakwal-50 ve Wafaq-2001) PEG6000'in neden olduğu osmotik stresin etkisini incelemişlerdir. Osmotik stresin toleranslı genotiplere (Chakwal-50, GA-2002 ve Chakwal-97) kıyasla hassas genotiplerde YNSİ ve yaprak membran stabilitesinde azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir. SOD, POD aktivitesi ve MDA içeriğinin stresin şiddetinin artmasına bağlı olarak tüm genotiplerde artış gösterdiği ve özellikle -8 barda daha belirgin olduğunu tespit etmişlerdir.

Danyali *et al.* (2019), kuraklığa toleranslı ve hassas buğday çeşitlerinin kuraklığın neden olduğu oksidatif strese tepkisini değerlendirmişlerdir. Toleranslı çeşitlerde, hassas çeşitlere kıyasla daha yüksek bir YNSİ, POD aktivitesi, prolin içeriği, daha düşük MDA miktarı ve su kaybı oranını tespit etmişlerdir.

Aliyeva *et al.* (2020), iki ekmeklik buğday genotipinde (kuraklığa toleranslı Gobustan ve hassas Tale 38) kuraklık stresinde H₂O₂ içeriğinin her iki genotipte de arttığını tespit etmişlerdir.

Gholamin and Khayatnezhad (2020), sulama ve stres koşullarının ekmeklik buğday genotiplerinin bazı fizyolojik parametreler ve enzim (POD, CAT ve SOD) aktiviteleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Kuraklık stresinin CAT aktivitesini artırırken, POD ve SOD seviyelerini önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir. Kontrol grubuna göre, F_v/F_m'nin önemli olarak değişiklik göstermediği fakat strese tepki olarak bitki yapraklarındaki klorofil içeriğini ve YNSİ'nin azaldığını belirlemişlerdir.

Sairam and Saxena (2000), farklı buğday genotiplerinde uygulanan su stresinin MDA içeriğinde bir artışa, membran stabilitesinde ve klorofil ve karotenoid içeriklerinde azalmaya neden olduğu belirtmişlerdir. Yine, APX, GR ve POD aktivitelerinin su stresi altında önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak strese karşı genotipler arası görülen farklılığın yüksek antioksidan enzim aktivitesi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Nasirzadeh *et al.* (2021), kuraklığa toleranslı, orta derecede toleranslı ve hassas genotipler üzerinde farklı stres seviyelerinde tarla kapasitesi (%80), orta derecede tarla kapasitesi (%40) ve yüksek şiddette tarla kapasitesinde (%25) çalışma yapmışlardır. Araştırmalarında kuraklığın YNSİ'de azalmaya neden olduğu ancak MDA, H₂O₂, prolin içeriği ve antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, CAT, APX) artırdığını belirlemişlerdir. Ayrıca kuraklık stresinde CAT, APX ve SOD gen ifade seviyelerinde bir artış gözlemlemişlerdir.

Buğday genotiplerinin stresin hem orta hem de yüksek şiddetine verdiği yanıtların genotipe özgü olduğunu ve bu durumun ise stresin şiddetine bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Dünyanın kurak ve yarı kurak alanlarında sürdürülebilir bir bitkisel üretim hem araştırmacılar hem de üreticiler tarafından yerine getirilmesi gereken bir ihtiyaçtır (Miransari and Smith 2019). İklim krizi ve dünyadaki değişen çevre koşulları nedeniyle, kuraklığa dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi, modern tarımın önemli bir sorunudur. Tanımlanan genler, kuraklığa toleranslı tahıllar elde etmeye yönelik gen manipülasyonu için hedef olarak kullanılmalarını sağlayan daha ayrıntılı çalışmalar için kullanılabilir (Kurowska *et al.* 2019). AQP'ler, plazma ve hücre içi membranlarında bulunan kanal proteinleridir. AQP'ler, membran hidrolik iletkenliğini, ozmotik potansiyel ve su geçirgenliğindeki değişiklikleri düzenleyerek bitki su ilişkilerinde hayati bir rol oynar. Su eksikliğinde, akuaporin gen ekspresyonu, bitki su dengesini korumasında düzenlenebilir (Aroca 2012; Hassan *et al.* 2020).

Madrid-Espinoza *et al.* (2018) yaptıkları çalışmalarında, su stresine maruz bırakılan ekmeklik buğday genotiplerinde akuaporin genlerinin transkripsiyonel düzenlenmesini ve genom düzeyinde belirlenmesini araştırmışlardır. Su stresine karşı toleranslı ve hassas genotiplerin ekspresyon analizleri sonuçlarına göre, köklerde *TIP1* ve *TIP2* ve *PIP1* ve *PIP2*; yapraklarda ise *TIP1* ve *PIP1* alt üyelerinin yüksek ifade seviyelerine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Şiddetli kuraklık stresinde, toleranslı genotipin yapraklarındaki 4 *TIP* geninin, hassas genotipteki ekspresyon seviyelerinden daha fazla olduğu ve bunun ise kuraklık toleransı ile ilişkili olabileceğini rapor etmişlerdir.

Kurowska *et al.* (2019), kuraklık stresine yanıt olarak arpa (*Hordeum vulgare*) tonoplast akuaporin genlerinin (*HvTIP*) ifade seviyelerini araştırmışlardır. Araştırmada, *HvTIP* genlerinin 11'inden 7'sinin (*HvTIP1;1*, *HvTIP1;2*, *HvTIP2;1*, *HvTIP2;2*, *HvTIP2;3*, *HvTIP3;1*, *HvTIP4;1*) arpa bitkisinin kuraklık stresine adaptasyonunda önemli bir fonksiyona sahip olduğunu bunlardan beş *HvTIP* geninin farklı derecelerde ifade seviyelerinin azaldığı, iki genin ise (*HvTIP3;1* ve *HvTIP4;1*) ifade seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir. Yine, *HvTIP3;1*'in, bitkilerin strese uyum sağlamasına veya stresi tolere etmesine yardımcı olabileceğini tespit etmişlerdir.

Pawłowicz *et al.* (2017), çeşitli abiyotik streslerin, bazı *Festuca* türlerinde, *PIP* ve *TIP* akuaporin genlerinin ifade seviyesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmalarında, kuraklık stresinde, *PIP1;2* ve *TIP1;1* akuaporinlerinin ifade seviyesinin, her iki *Festuca arundinacea* genotipinde azaldığı, *PIP2;1*'in ise sadece kuraklığa toleranslı genotipte azaldığı belirlenmiştir. Tuz stresinde, toleranslı genotipte *PIP1;2* ifade seviyesinde azalma görüldüğü ve her iki genotipte *TIP1;1*'in ifade seviyesinde bir artış olduğu, ancak *PIP2;1*'in ifade

seviyesinin etkilenmediği belirlenmiştir. Diğer taraftan, soğuk stresine maruz bırakılan düşük ve yüksek toleranslı *Festuca pratensis* genotiplerinde *PIP1;2*, *PIP2;1* ve *TIP1;1* akuaporin ifade seviyelerinde azalma belirlenmiştir. Sonuç olarak, çeşitli abiyotik streslere karşı genotiplerin farklı yanıtlar gösterdikleri tespit edilmiştir.

Qian *et al.* (2015), osmotik veya tuz stresine maruz bırakılan salatalık fidelerinde bitki su taşınımında AQP'lerin fonksiyonunu ve düzenlenmesini araştırmışlardır. Bu streslerin kısa süreli muamelesinin köklerde PIP genlerinin (*CsPIP1;2* ve *CsPIP2;4*) ekspresyonlarında önemli bir etkiye sahip olmadığını tespit etmişlerdir. Yaprakların ve yaprak hücrelerinin hidrolik iletkenliğindeki azalışın *CsPIP1;2* ve *CsPIP2;4* genlerinin ifade seviyelerinin azalışı ile ilişkilendirileceğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak, *CsPIP* genlerinin salatalık fidelerinde su taşınımında yer aldığı ve bu mekanizmaların stresin tipine, süresine ve bitkinin organına göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Iwuala *et al.* (2019), kuraklık koşulları altında *Pennisetum glaucum* L. bitkisinin kuraklığa toleranslı iki farklı genotipinde (IP14222 ve IP14599), AQP genlerinin (*PIP1;5* ve *PIP2;3*) ifadelerini ve bu genlerin su taşınımındaki rollerini araştırmışlardır. Araştırmada, *PIP1;5* geninin kuraklık stresi altında IP14599 genotipinin yapraklarında suyun taşınımını artırarak su taşınımında önemli bir role sahip olduğu; IP14599 genotipinde yapraklara kıyasla köklerde *PIP2;3* gen ekspresyonunun önemli bir artış gösterdiğini ve bu artışın kuraklık stresinde su absorpsiyonunu sürdürmede önemli bir role sahip olduğu belirlenmiştir. Yine, dağ çileği (*Fragaria vesca* L.) bitkisinde yapılan bir çalışmada (Šurbanovski *et al.* 2013), *PIP* genlerinin ifadesi üzerine farklı seviyelerdeki kuraklık stresinin günlük etkisi incelenmiş, köklerde *FvPIP1;1* ve *FvPIP2;1* genlerinin transkripsiyon seviyesinin toprak nem içeriğindeki azalmayla ilişkili olduğunu ve yapraklardaki akuaporin ifadesinin kuraklığa bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Lian *et al.* (2006), kuraklık stresi altında kır çeltiğinin köklerinde *OsPIP1;2*, *OsPIP1;3*, *OsPIP2;1* ve *OsPIP2;5* genlerinin; yapraklarda ise *OsPIP1;2* ve *OsPIP1;3* genlerinin ifade seviyelerinin arttığını bu genlerin ise ova çeltiğinde ya azaldığını ya da değişmeden kaldığını belirlemişlerdir. Yine araştırmada, kuraklıkta *PIP* genlerinin düzenlenmesinin hem ABA'ya bağımlı hem de ABA'dan bağımsız sinyal yolları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Mahdieh *et al.* (2008), tütün bitkisinde (*Nicotiana tabacum*) *PIP* tipi su kanal proteinlerinin fonksiyonlarını araştırmışlardır. PEG uygulamasından 24 saat sonra *Nicotiana tabacum* köklerinde su akış oranının ve ozmotik hidrolik iletkenliğin azaldığını ve *NtPIP1;1* ve *NtPIP2;1* mRNA seviyelerinin önemli ölçüde ifade seviyeleri azaldığını bildirmişlerdir. Kuraklık stresinden sonra sulama işleminin üç *NtPIP* geninin ifade seviyesini kontrol koşullarına benzer seviyelere çıkardığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, *NtPIP1;1* ve

NtPIP2;1'in kuraklık stresinde köklerde su taşınmasında önemli bir rol oynadığını ve bu genlerin ifade seviyelerinin azaldığını ve bu nedenle bitki köklerinde ozmotik hidrolik iletkenliğinin azaldığını bildirmişlerdir.

Zhuang *et al.* (2015), *FaPIP2;1*'in (çok yıllık bir çim türünden izole edilen bir AQP geni), *Arabidopsis*'te aşırı ifadesini araştırmışlar ve *FaPIP2;1*'in orta dereceli su stresi sırasında ifade olduğunu ve osmotik potansiyel azaldıkça bu genin ifade seviyesinin azaldığını tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda, *FaPIP2;1*'in aşırı ifadesinin, yaprak su ve klorofil içeriğini ve fotosentetik oranını artırarak ve ayrıca yabancı tip bitkilerine göre gelişmiş hücrel membran stabilitesini koruyarak kuraklık stresine karşı bitki toleransını artırabileceği gösterilmiştir. Yine Jang (2004), transgenik *Arabidopsis* ve tütünde *PIP1* ve *PIP2* genlerinin ifadesindeki artış ile birlikte kuraklık, tuzluluk ve soğuk stresinde hem bitki büyüme ve gelişmesinde artışın olduğu hem de strese toleransın arttığını belirlemiştir.

Zupin *et al.* (2017) yaptıkları çalışmaların kuraklığa toleranslı iki fasülye çeşidinde akuaporin genlerinin ifade seviyelerini araştırmışlardır. Kuraklık stresindeki bitkilerde *PvPIP1;2*, *PvPIP2;7*, *PvTIP1;1* ve *PvTIP4;1* genlerinin ifadesinin azaldığını belirlemiştir. Rehidrasyondan sonra bu genlerin ekspresyon seviyelerinin kontrol bitkilerinin seviyesine ulaştığını ya da daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. YNSİ ve yaprak su potansiyeli bakımından genotiplerin farklılık gösterdiğini ve bu durumun akuaporin genlerinin hızlı ve yeterli bir ifade azalışıyla ilişkili olabileceğini rapor etmişlerdir.

Çevresel streslere karşı bitki biyostimulantların uygulanması stresin etkilerini azaltmaktadır. Biyotik ve abiyotik streslere karşı toleransta kullanılan (Hidangmayum *et al.* 2019; Rafiee *et al.* 2016) kitosan eksojen olarak uygulandığında bitkilerin kuraklık toleransını arttırmaktadır (Zhao *et al.* 2019). Kitosan hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak kullanılabilir ve biyoaktif sekonder metabolitlerin birikmesini indüklemek için bitkinin toprak üstü organlarına uygulanabilir (Bistgani *et al.* 2017).

Zeng and Luo (2012), kuraklık stresi altında kitosanın buğday fideleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Araştırmada, tohumların kitosanla kaplamanın, kuraklık stresi altındaki kontrol grubuna göre çimlenme oranı, yaş ağırlık, kök uzunluğu gibi büyüme parametrelerini önemli ölçüde iyileştirdiğini, SOD, POD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini ve klorofil içeriğini artırdığını ve MDA miktarını azalttığı belirlenmiştir. Yine, Behboudi *et al.* (2019), kuraklık stresi altındaki buğdayda (*Triticum aestivum* cv.) kardeşlenme, sapa kalkma ve başaklanma döneminde topraktan ve yapraktan uygulanan kitosan nanopartiküllerinin etkisini araştırmışlardır. Araştırmada, kitosan nanopartikül uygulamasının (özellikle 90 ppm), kontrol grubuna kıyasla yaprak alanını, YNSİ'yi, klorofil içeriğini, fotosentez oranını, CAT ve

SOD aktivitelerinin yanı sıra verimi ve biyokütleyi arttırdığı tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda kuraklık stresine maruz kalan buğdayda kitosan nanopartiküllerinin, stresin olumsuz etkilerini azaltabileceği belirtilmiştir.

Quitadamo *et al.* (2021), tuzluluk stresine (NaCl) maruz bırakılan makarnalık buğdayın (*Triticum durum* Desf.) büyümesi üzerine farklı moleküler ağırlıktaki (düşük, orta ve yüksek) kitosanın etkisini araştırmışlardır. Araştırmada, bitkilere 200 mM NaCl uygulamasının kuru sürgün ve kök biyokütlesini sırasıyla %38 ve %59 oranında azalttığı, bununla birlikte tuzluluk stresinin $O_2^{\cdot-}$ üretiminde (5 kat), H_2O_2 içeriğinde (2 kat) ve MDA miktarındaki (4 kat) artışa neden olduğu belirlenmiştir. Buna karşın düşük ve orta moleküler ağırlıktaki kitosan uygulamalarının $O_2^{\cdot-}$ üretimini, H_2O_2 ve MDA içeriğini azalttığı ve toplam fenolik ve flavanoid içeriğini, antioksidan ve CAT aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, tuz stresi kaynaklı oksidatif hasara karşı kitosanın koruyucu rolünün, antioksidan savunma sistemini artırarak sağladığı gösterilmiştir.

Hafez *et al.* (2020), kuraklık stresinde biyokömür ve kitosanın arpa bitkileri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Araştırmalarında, kuraklık stresinin bitki boyu, yaprak sayısı, klorofil konsantrasyonu ve YNSİ gibi morfolojik ve fizyolojik büyüme özelliklerini olumsuz etkilediği; strese maruz kalan bitkilere kitosan ve biyokömür uygulamalarının bitki boyunda, yaprak sayısında, klorofil konsantrasyonlarında ve YNSİ’de önemli artışlara yol açtığı; elektrolit sızıntısını ve MDA miktarını önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir.

Boonlertnirun *et al.* (2007), kuraklık koşullarında çeltik bitkisinin (*Oryza sativa* L.) tane verimi üzerine kitosanın etkisini araştırmışlardır. Araştırmada, kuraklıktan önce kitosan uygulanan bitkilerin en yüksek verim ve verim öğelerine sahip olduğu ve kitosan uygulamasının kuraklık hasarını azalttığı rapor edilmiştir. Yine aynı araştırmada çeltik bitkilerinin kuraklıktan önce kitosan uygulamasının stoma kapanması nedeniyle kuraklık stresine dayanıklılık gösterebileceğini ve bunun daha az su kullanımına neden olabileceği tespit edilmiştir.

Guan *et al.* (2009), düşük sıcaklık stresinde (15°C), farklı kitosan çözeltileri [(%0,25, %0,50 ve %0,75 (w/v))] ile tohum ön uygulamasının HuangC (soğuğa toleranslı) ve Mo17 (soğuğa hassas) mısır hatlarının büyümesi ve fizyolojik değişimleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada, her iki mısır hattında da kitosan ile tohum ön uygulamasının, çimlenme indeksini, sürgün ve kök uzunluğunu, sürgün ve kök kuru ağırlığını arttırdığı; ortalama çimlenme süresini azalttığı tespit edilmiştir. Kitosanın tüm konsantrasyonlarının toleranslı ve hassas mısır hatlarında membran bütünlüğünü koruyarak MDA miktarında ve

plazma membranının geçirgenliğinde azalmaya; CAT ve POD aktiviteleri, çözünebilir şekerler ve prolin konsantrasyonlarında artışa neden olduğu belirlenmiştir.

Turk (2019), mısır fidelerinin tuz stresine maruziyetinde kitosanın rolünü araştırdığı çalışmada tuz stresinin kök uzunluğunu ve bitki boyunu önemli ölçüde azalttığını ancak kitosanın yapraktan uygulamasının bu olumsuz etkileri belirli bir dereceye kadar hafiflettiğini bildirmiştir. Bununla birlikte araştırmada tek başına kitosan ya da tuz uygulamasının antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, APX ve guaikol peroksidaz) üzerine uyarıcı etkileri olduğunu ancak tuz ve kitosanın birlikte uygulamasının bu enzim aktiviteleri üzerinde daha etkili olduğu saptanmış ve kitosanın O_2^- , H_2O_2 miktarını ve lipid peroksidasyon seviyesini azalttığı rapor edilmiştir.

Almeida *et al.* (2020), hibrit mısır (*Zea mays* L.) çeşitlerinde yaptıkları çalışmalarında kuraklık toleransını indüklemek için kitosanın farklı dozlarını uygulamışlardır. Araştırmada bitkilere çiçeklenme öncesi büyüme aşamasında su stresi ve farklı kitosan dozları (60, 100, 140 ve 180 mg/L) yapraklara uygulanmış ve 15 günlük stres periyodu boyunca değerlendirilmiştir. Kitosan (140 mg/L) uygulanan mısır bitkileriyle, uygun sulama koşulları altında olan bitkiler arasında benzer davranışsal yanıtlar tespit edilmiş ve bu tür tepkilerin antioksidan enzimlerin [(SOD, CAT, APX ve fenilalanin amonyum liyaz (PAL)] yüksek derecedeki aktivitesi, MDA ve H_2O_2 içeriğinin azalması ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Yine mısırdaki, Younas *et al.* (2021), kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin gelişimi, verimi ve fizyolojik özellikleri üzerine silisyum (Si) ve kitosanın, etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada, stresin bitkilerde MDA miktarını artırırken, membran stabilite indeksini, besin birikimini, klorofil sentezini ve fotosentezi azaltarak tane veriminde kontrole göre %41,17 oranında bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Yine, Si ve/veya kitosan uygulamalarının bitki büyümesi, verimi ve fizyolojik özelliklerini iyileştirmesinin yanı sıra antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı belirlenmiştir.

Bittelli *et al.* (2001), biberde (*Capsicum* sp.) kitosanın bitki transpirasyonunu azaltmadaki potansiyelini araştırdıkları çalışmalarında, kitosanın stomalarının kapanmasına neden olduğu ve böylece transpirasyonun azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca, kitosan uygulanan bitkilerin biyokütle üretimi ve verimlerini koruduğu ve su kullanımlarının %26-43 oranında azaldığını belirlemişlerdir. Sonuç olarak kitosanın tarımda su kullanımını azaltmak için etkili bir antitranspirant olabileceğini bildirmişlerdir.

Jiao *et al.* (2012), patatesten kuraklık stresinden önce kitosanın sprey olarak uygulanmasının (50, 100 ve 200 mg/L), yapraklarda membran nispi geçirgenliğini ve MDA miktarını azaltırken; prolin ve çözünür proteinlerin konsantrasyonunu yükselttiğini ve kuraklık

stresinde SOD ve POD aktivitelerini arttırdığını tespit etmişlerdir. Araştırmada, 100 mg/L kitosanın kuraklık stresinin olumsuz etkilerini en iyi şekilde azalttığı tespit edilmiştir.

Farouk and Amany (2012), börülcede (*Vigna unguiculata* (L) Walp) su stresinin bitki büyümesine zarar vererek bitki verimini ve kalitesini azalttığı bununla birlikte sürgündeki iyon yüzdesini, klorofil ve karbonhidrat konsantrasyonunu azalttığını rapor etmişlerdir. Yaprğa uygulanan kitosan (özellikle 250 mg/L), muamele edilmemiş bitkilere kıyasla stresli veya stressiz koşullarda bitki büyümesini, verimini ve kalitesini ve ayrıca bitki sürgünündeki fizyolojik bileşenleri arttırmıştır. Araştırma sonucunda, su stresinden oluşan bitki hasarının kitosan uygulaması ile azaldığı gösterilmiştir.

Abu-Muriefah (2013), kitosanın su stresine maruz kalan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fideleri üzerindeki stresi hafifletici etkilerini araştırdıkları çalışmada, yapraktan uygulanan kitosanın bitki büyümesini, verimini ve kalitesini stres altındaki bitkilere göre artırdığını belirlemişlerdir. Sonuç olarak kitosan uygulamasının su stresinin zararlı etkilerini azaltmak için kullanılabileceğini önermiştir.

Jabeen and Rafiq Ahmad (2013), ayçiçeği ve asperde yaptıkları araştırmalarında tuz stresinin, çimlenme yüzdesini, çimlenme oranını, kök ve sürgünün uzunluğunu ve ağırlığını ve protein içeriğini önemli ölçüde azalttığını belirlemişlerdir. Yine tuz stresinde prolin içeriğinin, MDA miktarının, CAT ve POD aktivitesinin artış gösterdiği belirlemişlerdir. Buna karşın tuz stresinde, düşük konsantrasyonlardaki kitosanın çimlenme yüzdesini arttırdığı; MDA miktarını, prolin içeriğini, CAT ve POD aktivitesini azalttığını belirlemişlerdir.

Mahdavi and Rahimi (2013), yaptıkları çalışmalarında tuz stresi altında *Carum copticum*'un çimlenme ve büyümesi üzerine kitosanın etkisini araştırmışlardır. Araştırmalarında kitosanın tuzluluk stresi altında sürgün uzunluğunu, kök uzunluğunu, sürgün kuru ağırlığını ve YNSİ'yi arttırdığını belirlemişlerdir. Kitosan uygulaması ile bitkilerdeki artan tuzluluk stresi toleransının, kısmen YNSİ üzerine olan etkisinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir.

Singh (2016), ıspanakta (*Spinacia oleracea* L.) fitokimyasal içeriğini artırmak için bir elisitör molekül olarak kitosanı kullanmıştır. Yaprak spreyi olarak uygulanan (0.01 mg/ml) kitosanın ıspanak yapraklarının toplam antioksidan aktivitesini artırmasıyla birlikte enzimatik (POD, CAT ve PAL) ve enzimatik olmayan (toplam fenolikler, flavonoidler ve proteinler) savunma metabolitlerinde artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Bistgani *et al.* (2017), orta ve şiddetli kuraklık stresinde yetiştirilen kekikte (*Thymus daenensis*) kitosan uygulaması (0, 200 ve 400 µL/L) yaptıkları çalışmalarında, stresin

şiddetindeki artışa bağlı olarak kuru madde veriminde önemli ölçüde azalma görülürken, hafif kuraklık stresi altındaki bitkilerin en yüksek uçucu yağ verimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Kitosanın yapraktan uygulanmasının, stres altında bitkilerin kuru madde ve uçucu yağ içeriğinin azalmasını bir dereceye kadar önlediğini bildirmişlerdir. Kuraklık stresinde kitosan uygulamasının lipid peroksit seviyesinin düşürülmesinde minimal interaktif bir etkisi olduğunu bulmuşlardır.

Zhang *et al.* (2018), ak üçgülde (*Trifolium repens* L.) kuraklık toleransını artırmada kitosan ve spermin uygulamasının fitohormonlar, poliaminler ve antioksidan metabolizma üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada, eksojen kitosan ve spermin uygulamasının kuraklık stresinde poliamin seviyesini, enzim aktivitesini, gen ekspresyonunu ve askorbat ve glutatyon bileşiklerinin içeriğinin yanı sıra antioksidan savunma mekanizmasını arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, kitosan ve sperminin O_2^- , H_2O_2 ve MDA miktarlarında bir düşüşe yol açarak kuraklığın neden olduğu oksidatif hasarı etkili bir şekilde azalttığı gözlemlenmiştir.

Zhao *et al.* (2019), tek yıllık çimde (*Lolium multiflorum* Lam.) kuraklık stresinde kitosan uygulamasının etkisini inceledikleri çalışmalarında, kitosanın osmotik stres altında MDA ve prolin içeriğinin yanı sıra elektrolit sızıntısı seviyesini azalttığını; SOD, CAT, POD ve APX aktivitelerini artırdığını rapor etmişlerdir. Ayrıca, kitosanın, osmotik strese tepki olarak bitkilerde çözünür şekerleri ve klorofil içeriğini, net fotosentetik oranı, stomatal iletkenliği, su kullanım verimliliğini ve transpirasyon hızını artırdığını gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak kitosanın kuraklıkla ilişkili genleri uyarabileceğini bu durumunda antioksidan enzimleri artırarak, hücre membranını ve fotosentetik oranları koruyarak osmotik strese karşı direnç sağlayabileceğini belirtmişlerdir.

Golkar *et al.* (2019), farklı konsantrasyonlarda kitosan (25 ve 50 mg/L) ve salisilik asitin (50 and 100 mg/L), tuzluluk stresi altında aspir (*Carthamus tinctorius*) kallusunun fizyolojik özellikleri, sekonder metabolitlerin biyosentezi ve antioksidan aktivitesi üzerindeki potansiyel elisitör olarak yararlılığını değerlendirmişlerdir. Tuzluluk stresinde, en yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin 50 (mg/L) salisilik asit ve 25 (mg/L) kitosan dozlarında gözlemlenmiştir.

Hassnain *et al.* (2020), domates bitkilerine (*Lycopersicon esculentum* L.) ekimden 15 gün sonra çeşitli su stresi aralıklarında (3, 6, 9 ve 12 gün) farklı konsantrasyonlarda kitosan (0, 50, 100, 150 mg/L) uyguladıkları çalışmalarında, su stresi koşullarında 100 mg/L kitosanın spreysel uygulamasının domates bitkilerinin büyümesi ve kalitesi üzerine olumlu etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir.

ALKahtani *et al.* (2020), biberde farklı tuz konsantrasyonlarında (34 ve 68 mM) rizobakteri (*Bacillus thuringiensis*) ve kitosanın etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada, tuzluluk stresinde F_v/F_m değerinin, klorofil a ve b konsantrasyonlarının, YNSİ ve meyve veriminin önemli seviyede azaldığı; elektrolit sızıntısı, MDA, H_2O_2 ve O_2^- miktarının ise yüksek oranda arttığı tespit edilmiştir. Buna karşın, kitosan ve *Bacillus thuringiensis* uygulamalarının YNSİ, klorofil miktarı, F_v/F_m değeri ve meyve verimini önemli seviyede attırdığı; elektrolit sızıntısı, MDA, O_2^- ve H_2O_2 miktarında önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir.

Shehzad *et al.* (2020), kuraklık stresine maruz kalan ayçiçeği bitkisine (*Helianthus annuus* L.) çeşitli dozlarda uygulanan K^+ ve kitosanın (yapraktan sprey uygulaması) koruyucu etkisini incelemişlerdir. K^+ ve kitosanın birlikte uygulamasının çözünür proteinleri, serbest aminoasitleri ve prolin içeriği ile antioksidan enzim aktivitelerini (CAT, POD, APX ve SOD) arttırdığı ve su içeriğinin devamlılığını sağladığını tespit etmişlerdir.

Liu *et al.* (2020), *Agrostis stolonifera*'da kitosanın eksojen uygulamasının kuraklık toleransı üzerine etkilerini ve kitosan ile düzenlenen kuraklık toleransı mekanizmalarını araştırmışlardır. Araştırmada, kitosanın, YNSİ, hücre membran stabilitesi, fotosentetik verim ve fotosentezi artırarak bitkilerin kuraklık toleransını önemli ölçüde artırdığı bununla birlikte SOD, POD, CAT ve APX aktive ederek toplam antioksidan kapasiteyi artırdığı ve kuraklığın neden olduğu oksidatif hasarı önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir.

Faizan *et al.* (2021), domateste yaptıkları çalışmada kadmiyum (Cd) (0.8 mM) stresinin olumsuz etkilerine karşın kitosan nanopartiküllerini (100 $\mu\text{g/mL}$) kullanmışlardır. Araştırmada, kadmiyum toksisitesinin bitkilerde fotosentetik verim, antioksidan enzim aktivitesi ve protein içeriğinin yanı sıra bitki morfolojisini ve klorofil floresansı önemli ölçüde azalttığı buna karşın kitosan nanopartiküllerinin Cd'nin toksik etkilerini azalttığı bildirilmiştir.

Abdelaal *et al.* (2021), kitosan (300 mM) ve maya özütünü (8 g/L) kuraklık koşullarında iki sezon boyunca sarımsak (*Allium sativum* L.) bitkilerinin verimlerini iyileştirmek için ayrı ayrı ya da kombinasyon halinde uygulamışlardır. Her iki mevsimde de sarımsakta bitki başına yaprak sayısında, bitki boyunda, bitki kuru ağırlığında, YNSİ oranı ve klorofil a ve b konsantrasyonlarında önemli azalmalar gözlemlenmiştir. H_2O_2 , MDA, O_2^- ve elektrolit sızıntı yüzdeleri önemli derecede yükselmiş ve bu durumun oksidatif hasardan kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Stres altındaki bitkilere maya özütü (8 g/L) ve kitosan (300 mM) kombinasyonunun uygulanmasının bitki boyunu (%44), askorbik asit seviyelerini (%30,2), YNSİ'yi (%36,8) ve ayrıca klorofil a (%50,7) ve b (%79) konsantrasyonlarını artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca (%75)

sulama yapılan bitkilerde prolin içeriğini ve antioksidan enzim seviyelerini artırarak hücrelerde elektrolit sızıntısı yüzdesi, MDA, O_2^- ve H_2O_2 seviyelerini azalttığını gözlemlemişlerdir.

Ali *et al.* (2021) yaptıkları çalışmada, *Catharanthus roseus* bitkisinde kontrol ve kuraklık stresinde kitosan nanopartiküllerinin etkilerini araştırmışlardır. Kuraklık stresinin bitki büyümesini, YNSİ'yi, stoma iletkenliğini ve toplam klorofil miktarını önemli ölçüde azalttığını; kitosan nanopartiküllerinin bu olumsuz etkileri azalttığını tespit etmişlerdir. Araştırmada, kitosan nanopartiküllerinin prolin birikimini, CAT ve APX aktivitesini artırdığı ve böylece H_2O_2 ve MDA miktarında azalmanın meydana geldiği ve membran bütünlüğünü koruduğu belirtilmiştir.



MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bitki materyali

Çalışmada bitki materyal olarak kuraklığa hassas Kırmızı Kılçık ve toleranslı Kırkpınar 79 ekmeklik buğday genotipleri kullanılmıştır (Arslan *et al.* 2021). Genotipler Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü stoklarından temin edilmiştir.

Kullanılan alet ve cihazlar

Araştırmada kullanılan alet ve cihazlar Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Araştırmada Kullanılan Alet ve Cihazlar

Malzeme	Markası
Elektroforez Tankı (Yatay)	Thermo
Elektroforez Akım Sağlayıcı	Thermo
Destile Su Cihazı	Milipore
Steril Kabin	Hedlab X-Pro EN 14175
Su Banyosu	Memmert WB-14
Derin Dondurucu (-20 °C)	Uğur
Derin Dondurucu (-80 °C)	NUAIRE
Hassas Terazı	Electronic Balance BL-320 H
Kar Üretme Makinesi	Scotsman, AF-80
Otoklav	WiseClave WAC-47
Buzdolabı (2-8°C)	Arçelik 2395 CNMY
Jel Görüntüleme Sistemi	PopBio Vü-F Floresans
Mikrodalga Fırın	Arçelik, MD 891 I
pH Metre	Ohaus Starter 3000
PCR	Thermo Scientific 5020
Realtime PCR	QIAGEN Rotor-Gene Q
Mikropipet Takımı	Eppendorf G15519D
Santrifüj	Beckman Coulter Allegra X-30R
İklimlendirme Dolabı	Sanyo CFC Free Versatile
Mini Santrifüj	Labnet C1301
Isıtmalı Manyetik Karıştırıcı	Heidolph MR-Hei Standart
NanoDrop Spektrofotometre	Thermo Multiskan Go
Kuru Hava Sterilizatörü	Memmert UN55
Tezgah Üstü Blok Isıtıcı	Thermo-Shaker TS-100C

Kullanılan çözeltiler

Araştırmada kullanılan çözeltilerin kimyasal içerikleri aşağıda verilmiştir.

Sterilizasyon işlemleri için kullanılan çözeltiler

- %10'luk Sodyum hipoklorit (NaOCl)
- %70'lik Etil alkol (EtOH)
- 0,1'lik Dietilpirokarbonat (DEPC)

Bitki çimlendirmesinde ve büyümesinde kullanılan kimyasallar

Denemede besi ortamı olarak ticari olarak temin edilen Hoagland ve Arnon (1938) (Sigma H2395-1L) besin çözeltisi kullanılmıştır. Hoagland ve Arnon (1938) ortamının içerdiği kimyasallar ve miktarları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Hoagland ve Arnon (H2395) Ortamında Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları (Hoagland and Arnon 1938)

Kimyasal Bileşimi	Miktarı (mg/L)
İnorganikler	
H ₃ BO ₃	2,86
Ca (NO ₃) ₂	656,4
CuSO ₄ •5H ₂ O	0,08
Fe ₂ (C ₄ H ₄ O ₆) ₃	5,32
MgSO ₄	240,76
MoO ₃	0,016
MgCl ₂ •4H ₂ O	1,81
NH ₄ H ₂ PO ₄	115,03
KNO ₃	606,6
ZnSO ₄ •7H ₂ O	0,22

Stres ajanı ve iyileştirici olarak kullanılan kimyasallar

- 0, 50, 100, 150 mg/L kitosan (BLDpharm)
- 0, -6 bar ve -8 bar PEG6000 (Sigma, 1546580)

Enzim aktivitesinde kullanılan kimyasallar

Enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan kimyasallar Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Enzim Aktivitesinde Kullanılan Kimyasallar

Enzim aktivitesinde kullanılan kimyasallar
L-metiyonin (Isolab)
Gayakol (Acros Organics)
Disodyum fosfat (Na_2HPO_4) (Introgen)
Nitro mavi tetrazolyum klorür (Sigma)
Riboflavin (BLDpharm)
Trikloroasetik asit (Isolab)
2-tiyobarbitürik asit (Isolab)
Potasyum hidroksit (KOH) (Isolab)
Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4) (Sigma)
Potasyum iyodid (KI) (Sigma)
Polivinilpirolidon (PVP) (Sigma)
Potasyum fosfat dibazik (K_2HPO_4) (Sigma)
Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) (Sigma)
L-askorbik asit (Sigma)
Hidrojen peroksit (H_2O_2) (Isolab)

mRNA ifade seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal ve çözeltiler

mRNA seviyesinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal ve çözeltiler Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. mRNA İfade Seviyelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Kimyasal ve Çözeltiler

RNA izolasyonunda kullanılan kimyasal ve çözeltiler
Sodyum hipoklorit (NaOCl) (ACE®)
Diethyl pyrocarbonate (DEPC) (Sigma)
Trizol reagent (Ambion)
Kloroform (Amresco)
Isopropanol (Sigma)
Etil alkol (Isolab)
RNase free water (Alfa Easar)
cDNA sentezi için kullanılan kimyasal ve çözeltiler
Sodium hipoklorit (ACE®)
Etil alkol (Isolab)
DEPC (Sigma)
High-Capacity cDNA Reverse Transcription Sentez Kiti (Thermo)
Nuclease free water (Alfa Easar)
qRT-PCR için kullanılan kimyasal ve çözeltiler
Sodyum hipoklorit (ACE®)
Etil alkol (Isolab)
DEPC (Sigma)
İleri-geri primer (Oligomer)
SYBR Green master mix (Bio-Rad)
Nuclease free water (Alfa Easar)

Yöntem

Çalışmada kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

Tohum ve ortam sterilizasyonunda kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

%1'lik Sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinin hazırlanışı

%5 NaOCl içeren ticari ACE® marka çamaşır suyundan 200 ml alınarak son hacim saf su ile 1000 ml'ye ile tamamlanmıştır.

%70'lik etil alkol hazırlanışı

Etil alkol (EtOH)'den (%99,8) (Isolab) 700 ml alınarak, toplam hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

%0,1'lik Dietilpirokarbonat (DEPC) çözeltisi

Dietilprokarbonat (DEPC) (Sigma, D5758) kimyasalından 1000 µl alınarak son hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanarak 121 °C'de 20 dk otoklavlanmıştır.

Tohum çimlendirme ve bitki büyütme besin çözeltisinin hazırlanması

Hazır olarak temin edilen Hoaglang ve Arnon (1938)'dan (Sigma H2395-1L) 1,6 g tartılmış ve 1 L saf su içerisinde çözündürülmüştür.

Stres ajanı ve iyileştirici olarak kullanılan kimyasalların hazırlanışı

PEG6000 çözeltisinin hazırlanışı

Kuraklık stresi oluşturmak için osmotik potansiyeller Michel and Kaufmann (1973)'a göre PEG6000 (Sigma, 1546580) kullanılarak oluşturulmuştur. -6 bar PEG6000 çözeltisi hazırlamak için 223,7 g/l, -8 bar PEG6000 çözeltisi hazırlamak için 262 g/l PEG6000 tartılmıştır. Ardından 700 ml saf su içerisinde çözündürülerek toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

Kitosan stok çözeltisinin hazırlanışı

1 g/L kitosan stok solüsyonu hazırlamak için 1 g kitosan tartılmış ve %1'lik asetik asit içeren 500 ml saf suda çözündürülmüş ve sonrasında toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Araştırmada kullanılan kitosan konsantrasyonları için kitosan stok çözeltisinden alınan miktarlar Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Kitosan Çözeltilerinin İçeriği

Kitosan (mg)	1 g kitosan / 1 L
0	-
50	5 ml
100	10 ml
150	15 ml

Biyokimyasal analizleri belirlemede kullanılan çözeltilerin hazırlanışı***0,2 M Potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi***

0,2 M KOH çözeltisi için 11,22 g/l KOH tartılıp, bir miktar saf suda çözündürülmüştür. Ardından son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

0,1 M Potasyum fosfat (KH₂PO₄) çözeltisi

Enzim aktivitesi ölçümü için bitki örneklerinin ezilmesinde kullanılmak üzere örnek sayısına göre hazırlanan bu çözelti 0,1 M KH₂PO₄, %0,3'lük polivinilpirolidon (PVP) ve 0,1 mM Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) içermektedir. 50 ml çözelti için 0,68 g KH₂PO₄ bir miktar saf su içerisinde çözündürülüp, KOH (0,2 M) ile pH: 6,75'e ayarlanmıştır. Karışıma 0,15 g PVP ve 0,014 g EDTA ilave edilerek çözündürülmüştür. Ardından son hacim saf su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır.

%5 Trikloroasetikasit (TCA) çözeltisi

5 g TCA bir miktar saf suda çözündürülerek, son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

%0,5 Tiyobarbitirik asit (TBA) + %20 TCA çözeltisi

0,5 g TBA ve 20 g trikloroasetikasit (TCA) bir miktar saf suda çözündürülmüş ve hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Riboflavin (100 µM) çözeltisi

SOD enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan 2 µM riboflavin çözeltisi için 0,038 g riboflavin tartılarak 1000 ml saf suda çözündürülmüştür. Kullanılmak üzere ışıık almayacak şekilde +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Hidrojen peroksit (H₂O₂) reaksiyon çözeltisi

H₂O₂ analizi için 10 mM KH₂PO₄ ve 1M potasyum iyodür (KI) içeren çözelti hazırlanmıştır. 0,0272 g KH₂PO₄ bir miktar saf suda çözündürülerek, KOH ile pH: 7,0'a ayarlanmıştır. Sonrasında çözeltiye 3,32 g KI eklenerek son hacim 10 ml'ye tamamlanmıştır. H₂O₂ ölçümünde blank olarak kullanılmak üzere 290, 580, 870 µM H₂O₂ çözeltileri (100 ml'de sırasıyla 2,5, 5 ve 7,5 µl) hazırlanmış ve kullanılmıştır.

Süperoksit dismutaz (SOD) reaksiyon çözeltisi

Reaksiyon çözeltisi 13 mM L-Metiyonin, 50 mM potasyum fosfat dibazik (K₂HPO₄), 75 µM nitro mavi tetrazolyum (NMT) ve 0,1 mM EDTA içermektedir. 2,61 g K₂HPO₄ tartılıp, bir miktar saf suda çözündürülmüştür. KOH (0,2 M) ile pH:7,8'e ayarlanmıştır. Ardından bu karışıma 0,018 g NMT, 0,58 g L-metiyonin ve 0,0087 g EDTA ilave edilerek çözeltinin son hacmi 300 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti daha sonra kullanılmak için ışık almayacak şekilde +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Peroksidaz (POD) reaksiyon çözeltisi

Reaksiyon çözeltisi 0,1 M sodyum fosfat dibazik (Na₂HPO₄), 1mM 0,014 EDTA, 4 mM H₂O₂, 6 mM gayakol, %0,3 PVP içermektedir. 0,89 g Na₂HPO₄ tartılarak bir miktar saf suda çözündürülmüştür. Ardından pH:5,5'e ayarlanmıştır. Sırasıyla 0,15 g PVP ve 0,014 g EDTA eklenerek çözündürülmüştür. Son hacim 50 ml'ye tamamlanıp +4°C'de saklanmıştır.

Askorbat peroksidaz (APX) reaksiyon çözeltisi

APX enzim aktivitesi için reaksiyon çözeltisi 100 mM K₂HPO₄, 0,5 mM L-askorbik asit, 0,1 mM EDTA, 2,5 mM %35'lik H₂O₂ içermektedir. Çözelti hazırlanırken 0,87 g K₂HPO₄ bir miktar saf suda çözündürülerek 0,2 M KOH ile pH:7,0'a ayarlanmıştır. Ardından 0,0044 g L-askorbik asit ve 0,0029 g EDTA eklenerek son hacim 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Tohum sterilizasyonu, çimlendirilmesi, bitkilerin yetiştirilmesi ve kimyasal ajanların uygulanması

Eşit büyüklükte ve sağlıklı tohumlar seçilerek musluk suyu altında 5-10 dk süreyle yıkandıktan sonra tohumlar 1 dk süreyle %70'lik etil alkolde karıştırılmış ve 3 kez steril saf sudan geçirilmiştir. Devamında %1'lik sodyum hipokloritte 10 dakika süre boyunca bekletilmiş olan tohumlar yine steril saf su ile iyice durulanarak steril filtre kağıdında kurutulmuştur. Tohumların çimlendirilmesinde 219x155x85 mm boyutlarında kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. Her genotip için 4 tekrar olacak şekilde steril edilen kapların içerisine Hoagland solüsyonu ile nemlendirilen filtre kağıtları yerleştirilmiş ve içlerine 50 adet steril tohum

bırakılmış $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 16 saat ışık (floresans lambası- $300\text{ }\mu\text{mol/ m}^2\text{s}^{-1}$) 8 saat karanlık şartlarda 7 gün çimlendirilmiştir. Bu süre sonunda aynı gelişim dönemine sahip fideler plastik kutulara aktarılıp yine aynı çevresel şartlarda Hoagland solüsyonu içeren hidroponik sistemde 4 yapraklı döneme kadar büyütülmüştür (Zadoks 14 dönemi). Bu dönemde kuraklık stresinden 24 saat önce (Boonlertnirun *et al.* 2007) farklı kitosan konsantrasyonları (0, 50, 100, 150 mg/L) yapraktan spreysel şekilde uygulanmıştır (Yang *et al.* 2009). Ardından, bitkiler farklı konsantrasyonlarda PEG6000 (0, -6 bar ve -8 bar) içeren (Arslan *et al.* 2021), Hoagland çözeltisinde hidroponik sistemde aynı çevre şartlarında 7 gün süreyle (Molnár *et al.* 2004) strese maruz bırakılmıştır (Tablo 6). Hidroponik sistemde ortamın oksijeni hava pompası ile sağlanmış ve köklerin ışık almaması için kaplar alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Araştırma tam şansa bağlı deneme planına göre 4 tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Her bir kap bir tekerrür olarak kabul edilmiş ve her bir kapta 20 adet bitki yer almıştır. Araştırmada stres sonunda bitkilerde fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler incelemeler yapılmıştır.

Tablo 6. Araştırmada incelenen PEG6000 ve Kitosan Konsantrasyonları ve Miktarları

PEG6000 (g)	Kitosan (mg)
0	0
	50
	100
	150
-6 bar	0
	50
	100
	150
-8 bar	0
	50
	100
	150

Araştırmada incelenen konular

Fizyolojik parametreler

Araştırmada incelenen fizyolojik parametreler aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

Hücre membran hasarı (HMH) (%)

Yaprak örneklerinin orta kısmından 2 cm alınarak saf ile yıkanmıştır (Dhanda *et al.* 2004). Ardından yaprak örnekleri 15 ml saf su bulunan tüplere alınarak 25°C 'de 24 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda EC metre (Mettler-Toledo, İsviçre) kullanılarak EC_1 değeri

ölçülmüştür. Daha sonra yaprak örnekleri 120 °C’de 20 dk otoklavlamıştır. Sıcaklık 25 °C’ye ulaştığında, EC₂ değeri yine EC metre ile ölçülerek elde edilmiştir.

Elde edilen EC₁ ve EC₂ değerleri kullanılarak hücre membran hasarı aşağıdaki formül ile belirlenmiştir.

$$\text{Hücre Membran Hasarı} = (\text{EC}_1/\text{EC}_2) \times 100$$

Yaprak nispi su içeriği (YNSİ)(%)

Her uygulama için her tekerrürden 5 bitkiden yaprak örnekleri alınmıştır. Yaş ağırlıkları (YA) (g) belirlenen yaprak örnekleri, kapaklı petri kaplarına yerleştirilerek turgorlu hale gelmeleri için oda sıcaklığında saf suda 4 saat bekletilmiş ve bu süre sonunda turgor ağırlıkları (TA) (g) ölçülmüştür. Bu işlemin devamında yaprak örnekleri 80°C’de etüvde 48 saat bekletilmiş ve kuru ağırlıkları (KA) (g) ölçülmüştür.

Bu ağırlıklar kullanılarak yaprak nispi su içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Barr and Weatherley 1962).

$$\text{Yaprak Nispi Su İçeriği (\%)}: [(YA - KA) / (TA - KA)] \times 100$$

Klorofil miktarı (SPAD)

Her uygulama her tekerrürden şansa bağlı olarak seçilen 5 bitkinin üst yaprağının orta damarına gelmeyecek şekilde tam orta kısımlarında (Soil Plant Analysis Development) klorofil metre aleti ile (SPAD-502 Chlorophyll Meter; Konica Minolta, Japonya) yapılan okumaların ortalaması alınarak hesaplanmıştır (Rodriguez *et al.* 2004).

Yaprak klorofil floresans ölçümleri

Minimum floresans (F₀), maksimum floresans (F_m), değişken floresans (F_v= F_m-F₀) ve PSII maksimum enerji verimi (F_v/F_m) parametreleri ölçülmüştür. Her tekerrür için şansa bağlı 5 bitkinin yaprak ayası ışığı tutan klipsler ile kapatılarak 20-30 dakika karanlığa alıştırılmış, taşınabilir klorofil floresans sistemi (Handy Pea, Hansatech Instruments Kink’s Lynn, UK) ile yaprak ayasının orta kısımlarında ölçümler yapılmıştır. Bu ölçümlerin ortalaması alınarak klorofil floresans parametreleri belirlenmiştir (Guo *et al.* 2008).

Biyokimyasal analizler

Lipid peroksidasyon (Malondialdehid (MDA)) ölçümü

Her bir tekerrürden alınan toplam 0,2 g taze bitki örnekleri soğutulmuş havan içerisinde sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiş ve ardından 2 ml %0,1’lik TCA ile homojenize

edilmiştir. Bu homojenatlar, ependorf tüplere aktararak 4°C 15.000 rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. Örneklerin süpernatant kısımlarından 1 ml alınarak cam tüplere aktarılmıştır. Ardından tüplere 1 ml %20 TCA ve %0,5 TBA içeren çözeltiden eklenmiştir. Tüpler 95°C’de 45 dk su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra örnekler 1-2 dk oda sıcaklığında, 10 dk buzlu su içerisinde soğutulularak ependorf tüplere alınmıştır. Örneklerin absorbans değerleri sırasıyla 450, 532 ve 600 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Blank olarak %5 TBA + %20 TCA çözeltisi kullanılmıştır (Shams 2019).

Hidrojen peroksit (H₂O₂) ölçümü

Her bir tekerrürden alınan toplam 0,2 g taze bitki örnekleri, soğutulmuş porselen havan içerisinde 2 ml %5’lik TCA çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Bu homojenatlar, ependorf tüplere aktararak 4°C 15.000 rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. Örneklerin üst fazı yeni ependorf tüplerine alınarak +4 °C’de bekletilmiştir. Ardından plate kuyularına 50 µl süpernatant ve 150 µl H₂O₂ reaksiyon çözeltisi eklenmiştir. Blank olarak hazırlanan H₂O₂ çözeltilerinin farklı konsantrasyonları (290, 580, 870 µM) 3 tekrar halinde plate sonuna 200 µl yüklenerek 390 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Değişik yoğunlukta H₂O₂ içeren çözeltilerin yardımıyla standart eğri oluşturularak örneklerin H₂O₂ içerikleri hesaplanmıştır (Shams 2019).

Antioksidan enzimlerin (SOD, POD ve APX) ekstraksiyonu

Antioksidan enzimlerin analizi için homojenat tamponu olarak hazırlanan 0,1 M KH₂PO₄ çözeltisi kullanılmıştır. Taze bitki örneklerinden 0,2 g alınmış ve havan içerisinde sıvı azot ile öğütülmüştür. Toz haline gelen örneklerin üzerine hazırlanan homojenat tamponundan her bir örnek için 2 ml eklenerek homojenizasyon sağlanmıştır. Homojenatlar, 4°C 15.000 rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. Yapılan bu işlemin sonucundan elde edilen süpernatant kısımları yeni bir tüpe alınmıştır. Bu süpernatant kısımları kullanılarak antioksidan enzim (SOD, POD, APX) aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Shams 2019).

SOD enzim aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesi, NMT fotokimyasal reaksiyonunun inhibisyonunun izlenmesi ile analiz edilmiştir. Yapılan ölçümde SOD enzim aktivitesi reaksiyon çözeltisi ve 100 µM Riboflavin çözeltisi kullanılmıştır. Plate kuyularına sırasıyla 20 µl örnek, 170 µl SOD reaksiyon çözeltisi ve 10 µl riboflavin çözeltisi yüklenmiştir. Blank olarak ise 190 µl SOD reaksiyon çözeltisi ve 10 µl riboflavin çözeltisi yüklenmiştir. Plate 10 dakika boyunca beyaz ışığa (40 W floresan lamba kaynağı) maruz bırakılmıştır. Ardından, 560 nm dalga boyunda absorbans değerleri

ölçülmüştür. 560 nm dalga boyunda gözlenen NMT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna sebep olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiştir. Değerler enzim ünitesi (U/g) olarak verilmiştir (Shams 2019).

POD enzim aktivitesinin belirlenmesi

Enzim ölçümü için hazırlanan 0,1 M Na₂HPO₄ çözeltisine 21 µl H₂O₂ %35'lik ve 30 µl gayakol eklenmiştir. POD aktivitesi 470 nm absorbans değerinde 1 dk boyunca 15 sn aralıklarla ölçülmüştür. Reaksiyon ölçümünde 5µl örnek ve 145µl POD reaksiyon çözeltisi 3 tekerrür halinde yüklenmiş ve ölçüm yapılmıştır. 1 enzim ünitesi 1 dk boyunca absorbansı 0,01 artıran miktar olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar U/g olarak hesaplanmıştır (Shams 2019).

APX enzim aktivitesinin belirlenmesi

APX enzim ölçümü için hazırlanan APX reaksiyon çözeltisi kullanılmıştır. Plate kuyularına 20 µl örnek ve 180 µl reaksiyon çözeltisi eklenmiştir. 290 nm absorbans değerinde 1 dk aralıklar ile 3'er dakika ölçüm yapılmıştır. Yapılan bu ölçüm süresince meydana gelen absorbans değerlerindeki azalma (askorbatın oksidasyonu nedeniyle askorbat miktarında azalma), askorbat ekstinksiyon katsayısı (2,8 mM cm⁻¹) olarak kabul edilmiş ve sonuçlar U/g olarak tespit edilmiştir (Shams 2019).

Fizyolojik ve biyokimyasal parametrelere ait verilerin analizi

Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametrelere ait veriler tam şansa bağlı deneme planına göre 2 (genotip) x 3 (kuraklık stresi) x 4 (kitosan konsantrasyonu) faktöriyel düzende PROC GLM ile SAS 9.3 programı (SAS Institute 1999) ile varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar %5 önem seviyesinde Fisher's Least Significance Difference (LSD) çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

Gen ifadesinin analizi

Araştırmada mRNA ifade seviyesinin analizi için bulk RNA örnekleme stratejisi uygulanmıştır. Her uygulamanın her tekerrüründe şansa bağlı olarak seçilen bitki örneklerinin kök ve yaprak kısımları ayrı ayrı izole edilmiş ve her iki dokuda da ilgili gen ifade analizi gerçekleştirilmiştir. Gen ifade analizi için aşağıda ayrıntılı olarak verilen basamaklar sırasıyla uygulanmıştır.

RNA izolasyonu

Buğdaydan RNA izolasyonu için Trizol® reaktifi (Invitrogene, USA) kullanılarak yapılmıştır. RNA izolasyonu için aşağıda verilen işlem basamakları sırası ile uygulanmıştır.

- Çalışmada ilk olarak, kullanılan alet ve ekipmanlar EtOH (%70) ve DEPC (%1) kullanılarak steril edilmiştir.
- Yaprak ve kök örneklerinden 100 mg alınarak havan içerisinde sıvı azot ile öğütölüp toz haline getirilmiştir. Ardından steril ependorf tüplerine alınarak sıvı azot içerisinde bekletilmiştir.
- Ependorf tüplerin içerisine 1 ml trizol reaktifi eklenmiştir.
- Daha sonra 5 dk oda sıcaklığında bekletilerek, 30 saniye boyunca vortekslenmiştir.
- Her bir ependorf tüpüne 0,2 ml kloroform eklenmiştir.
- Tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak 15 saniye boyunca elle hızlı bir şekilde çalkalanmış ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu işlem sonrasında tüpler 4 °C 10 dk 15000 rpm’de santrifüj edilmiştir.
- Üstteki sıvı faz yeni bir steril ependorf tüpe aktarılıp, üzerine isopropanol (RNA’nın çökmesi için) eklendikten sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- Ardından örnekler 15000 rpm’de 4°C’de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve üst faz atılmıştır. Tüp dipinde kalan RNA örnekleri üzerine 1 ml EtOH (%75) konularak vortekslenmiş ve 5 dakika 1000 rpm’de 4°C’de santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası üst faz dökülmüştür ve RNA örnekleri oda sıcaklığında yaklaşık 45 dk kurutulmuştur.
- Kurutulan RNA örnekleri 30 µl RNase free water ile çözündürülmüştür.
- İzolasyon işlemi sonucu elde edilen RNA’lar bir sonraki çalışmaya kadar -80 °C de muhafaza edilmiştir.

cDNA Analizi

cDNA sentezi için üretici firma High-Capacity cDNA Reverse Transcription cDNA Sentez Kiti (K1621, Thermo Scientific) protokolüne göre şu işlemler uygulanmıştır (Tablo 7)

Tablo 7. cDNA Analizi İçin Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları

Kullanılan Malzemeler	Miktarlar
10X RT Buffer	2.0 µL
25X dNTP Mix (100 mM)	0.8 µL
10X RT Random Primers	2.0 µL
MultiScribe™ Reverse Transcriptase	1.0 µL
Nuclease-free H ₂ O	4.2 µL
RNA miktarı	10 µL
Total	20 µL

Örnekler kısa süre ile santrifüj edildikten sonra PCR cihazına yerleştirilmiştir. Ardından PCR döngüsü (25 °C’de 10 dk, 37 °C’de 120 dk ve 85 °C’de 5 dk) ayarlanarak, cihaz çalıştırılmıştır. Elde edilen cDNA’lar qRT-PCR’da kullanılmak üzere -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

qRT-PCR analizi

qRT-PCR işlemi için SYBR Green Master Mix (Bio-Rad) qRT-PCR kiti kullanılmıştır. Protokol üretici firmanın talimatları esas alınarak uygulanmıştır. Stok master mix Tablo 8’de verilen miktarlara göre hazırlanmıştır.

Tablo 8. qRT-PCR Analizinde Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları

Kullanılan Kimyasallar	Miktarlar
SYBR Green Master Mix	10 µl
İleri Primer (0,3 µM)	3 µl
Geri Primer (0,3 µM)	3 µl
cDNA	4 µl
Son Hacim	25 µl

Hazırlanan stok master mix strip tüplerine eşit oranda dağıtılmıştır. Daha sonra strip tüpler, Qiagen Rotor Gene cihazına yerleştirilmiştir. PCR döngüsü; 95°C’de 20 sn, 40 döngü olacak şekilde 95°C’de 15 sn, 60°C’de 30 saniye, primerlerin bağlanma sıcaklıklarına göre 30 sn, 72°C’de 2 dk ayarlandıktan sonra cihaz çalıştırılmıştır.

Primerlerin hazırlanması

Triticum aestivum L. cv. genomunda PIP2 ve TIP2 hedef genleri için primer tasarımı biyoinformatik veri tabanları kullanılarak yapılmıştır. Araştırmada kullanılan genler için NCBI veritabanı ile genlerin erişim numaraları elde edilmiştir. Daha sonra bitki genomik kaynağı olan Phytozom (<https://phytozome.jgi.doe.gov/>) veri tabanında *Triticum aestivum* L. bitki türü seçilmiş ve erişim numarası girilerek genlerin sekans dizilerine ulaşılmıştır. Ardından Primer3 (<http://frodo.wi.mit.edu/>) programı yardımıyla primerler oluşturulmuştur. PIP1 (Özdemir 2019) ve β -actin (Özdemir 2019) genlerinin dizilimleri ise yapılan literatür araştırmaları ile belirlenmiştir. Hedef genler ile referans genlere ait ileri ve geri primer dizilimleri Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Kullanılan Primerlerin Baz Dizilimi ve Tm Sıcaklıkları

Primerler	İleri (5'→3')	Geri (3'→5')	Tm Sıcaklığı (°C)	NCBI Erişim No
PIP1	GAGCACACCCAACTGTCACA	ACAATGCCTGGAACGACCAATGG	60	-
PIP2	CCACGCTCCTCTTCCTCTAC	ATCTACACTTCAGTCCGGCC	59	XP_044420070.1
TIP2	CCATTCTAAGCCACCATGCC	GCTGCTTAGTAGTCGTTGCC	59	XP_044438546.0
β -AKTİN	ACCTTCAGTTGCCAGCAAT	CAGAGTCGAGCACAACTACTG	57	-

Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi

Gen ifadesinin analizi sonucunda örneklerin eşik (threshold) değerleri elde edilmiştir. qRT-PCR analiz sonuçlarına göre örneklerin elde edilen Ct değerlerine ait standart sapmalar Microsoft Excel programı kullanılarak hesaplanmıştır. Her bir uygulama 4 tekerrür üzerinden değerlendirilmiş ve her bir tekerrür iki teknik kopya halinde analiz edilmiştir. qRT-PCR analizinde genlerin (*PIP1*, *PIP2* ve *TIP2*) ifadesi referans genin (β -actin) ifadesine göre gerçekleştirilmiştir. Genlerin ifade oranları Livak and Schmittgen (2001)'e göre $2^{-\Delta\Delta C_t}$ oransal hesaplama algoritmasıyla tespit edilmiştir. Kuraklık stresi ve kitosan uygulamalarının her bir kombinasyonu bir uygulama olarak değerlendirilmiş ve veriler tam şansa bağlı deneme planına göre 2 (genotip) x 12 (uygulama) faktöriyel düzeninde varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi sonucunda genotip x uygulama interaksyonu önemli bulunmuş ve her bir genotip için uygulamalar (basit ana etki) arasındaki farklar LSD çoklu karşılaştırma testiyle %5 önem seviyesinde karşılaştırılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu araştırmada erken gelişme döneminde toleranslı (Kırkpınar 79) ve hassas (Kırmızı Kılçık) olduğu bilinen iki farklı buğday genotipinde PEG6000 ile oluşturulan farklı kuraklık şiddetine (0 bar, -6 bar ve -8 bar) karşı uygulanan kitosanın (0, 50, 100 ve 150 mg/L) fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ile bazı akuaporin genlerinin ifadesine olan etkileri incelenmiştir. Bu parametrelere ait bulgular aşağıda verilmiştir.

Fizyolojik Parametreler

Hücre membran hasarı (HMH), yaprak nispi su içeriği (NSİ) ve klorofil miktarı (KM)

Çalışmada hücre membran hasarına genotipin, kuraklık stresinin ve kitosan konsantrasyonunun ana etkilerinin önemli ($p < 0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 10). Genotipin ana etkisi değerlendirildiğinde Kırmızı Kılçık genotipinin HMH'si (%40,4) Kırkpınar 79 (%23,2) genotipine göre oldukça yüksek olmuştur. Diğer taraftan kuraklık stresinin ve kitosan konsantrasyonlarının ana etkileri değerlendirildiğinde kuraklık stresi şiddetindeki artışa paralel olarak HMH artarken, kitosan konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak azalma tespit edilmiştir (Tablo 11).

Tablo 10. Hücre Membran Hasarına (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Genotip (G)	1	7072,760	17403,059	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	3127,373	7695,137	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	77,708	191,206	0,000
G x S	2	24,342	59,897	0,000
G x K	3	6,515	16,032	0,000
S x K	6	17,968	44,212	0,000
G x S x K	6	4,964	12,215	0,000
Hata	72	0,406		
Toplam	96			

Tablo 11. Farklı Kuraklık Stresi Şiddetine ve Kitosan Konsantrasyonlarına Göre Genotiplerin HMH (%), NSİ (%) ve KM'si (SPAD)

VK	Genotip	Kuraklık stresi (bar)	Kitosan (mg/L)	HMH (%)	NSİ (%)	KM (SPAD)	
GxSxK	Kırkpınar 79	0	0	14,9	87,6	37,6	
			50	14,2	90,7	37,0	
			100	14,2	91,4	37,2	
			150	14,3	90,5	39,2	
		-6	0	24,4	75,5	32,5	
			50	24,0	83,5	35,1	
			100	22,8	85,6	36,6	
			150	20,2	88,5	37,5	
		-8	0	35,7	57,7	30,5	
			50	32,4	63,1	35,2	
			100	32,7	70,4	36,7	
			150	29,2	70,5	36,6	
	Kırmızı Kılçık	0	0	29,7	86,4	31,5	
			50	29,9	88,5	31,0	
			100	29,7	89,8	31,3	
			150	29,2	94,0	32,2	
		-6	0	44,2	75,7	28,8	
			50	39,3	77,8	29,4	
			100	39,4	80,3	30,5	
			150	39,2	81,7	29,8	
		-8	0	56,6	49,0	25,6	
			50	51,2	55,3	25,9	
			100	48,8	59,7	26,9	
			150	47,7	61,1	27,2	
	LSD0.05			0,9	1,0	-	
GxS	Kırkpınar 79	0	-	14,4	90,1	37,8	
		-6	-	22,8	83,3	35,4	
		-8	-	32,5	65,4	34,8	
	Kırmızı Kılçık	0	-	29,6	89,7	31,5	
		-6	-	40,5	78,9	29,6	
		-8	-	51,1	56,3	26,4	
	LSD0.05			0,4	0,5	0,9	
GxK	Kırkpınar 79	-	0	25,0	73,6	33,5	
			50	23,5	79,1	35,8	
			100	23,2	82,5	36,8	
			150	21,2	83,2	37,8	
	Kırmızı Kılçık	-	0	43,5	70,3	28,6	
			50	40,1	73,9	28,8	
			100	39,3	76,6	29,6	
			150	38,7	78,9	29,7	
	LSD0.05			0,5	0,6	1,1	
SxK	-	0	0	22,3	87,0	34,6	
			50	22,1	89,6	34,0	
			100	22,0	90,6	34,3	
			150	21,7	92,2	35,7	
		-6	0	34,3	75,6	30,7	
			50	31,7	80,6	32,2	
			100	31,1	83,0	33,6	
			150	29,7	85,1	33,7	
		-8	0	46,2	53,4	28,0	
			50	41,8	59,2	30,5	
			100	40,8	65,0	31,8	
			150	38,4	65,8	31,9	
	LSD0.05			0,6	0,7	1,3	
S	-	0	-	22,0	89,9	34,6	
		-6	-	31,7	81,1	32,5	
		-8	-	41,8	60,8	30,6	
	LSD0.05			0,3	0,4	0,7	
K	-	-	0	34,3	72,0	31,1	
			50	31,8	76,5	32,3	
			100	31,3	79,5	33,2	
			150	30,0	81,0	33,8	
	LSD0.05			0,4	0,4	0,8	
G	Kırkpınar 79	-	-	23,2	79,6	36,0	
	Kırmızı Kılçık	-	-	40,4	74,9	29,2	
	LSD0.05			0,3	0,3	0,5	
GENEL ORTALAMA				31,8	77,3	32,6	
Varyasyon Katsayısı (%)				2,0	1	4,1	

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre her iki genotipte de kuraklık stresi şiddetindeki artışa bağlı olarak HMH oranında önemli bir artış meydana gelmiş ve bu artışın

kuraklığa hassas olan Kırmızı Kılçık genotipinde daha yüksek olması (Tablo 11) GxS interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 10). Diğer taraftan, kuraklık stresinin ortalamasına göre her iki çeşitte de kitosan konsantrasyonuna bağlı olarak HMH’de azalma tespit edilmiş, kontrole göre en az HMH 150 mg/L kitosanda Kırkpınar 79’da meydana gelmiş (Tablo 11) ve genotiplerin tepkisinin kitosan konsantrasyonuna göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 10). Yine, stres şartlarındaki HMH’nin, kitosan konsantrasyonuna bağlı olarak değişmesi SxK interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur. Stres şiddetlerinin tamamında kitosan konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak HMH’de azalma belirlenmiştir (Tablo 11).

Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde en yüksek HMH, -8 bar ve 0 mg/L kitosan uygulamasında sırasıyla %35,7 ve %56,6 olarak tespit edilmiştir. En düşük HMH ise Kırkpınar 79 genotipte (%14,2) 0 bar’da 50 ve 100 mg/L kitosan uygulamalarında belirlenirken; Kırmızı Kılçık genotipinde (%29,2) ise 0 bar ve 150 mg/L kitosan uygulamasında belirlenmiştir (Tablo 11). Kırkpınar 79 genotipinin kuraklık ve kitosan konsantrasyonlarının tamamında Kırmızı Kılçık genotipine göre daha az HMH’ye sahip olması GxSxK interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 10).

HMH’de olduğu gibi araştırmada yaprak nispi su içeriğine genotipin, kuraklık stresinin ve kitosan konsantrasyonunun ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 12). Genotipin ana etkisi değerlendirildiğinde Kırkpınar 79 genotipinde %79,6 olarak belirlenen YNSİ; Kırmızı Kılçık’ta %74,9 olarak belirlenmiştir. Genotip ve kuraklık stresinin ortalamasına göre kitosan konsantrasyonundaki artış YNSİ’de artışına neden olmuştur (Tablo 11). 0 mg/L kitosonda %72,0 olan YNSİ, 150 mg/L’de %81,0 olarak kaydedilmiştir. Diğer taraftan genotip ve kitosan uygulamasının ortalaması dikkate alındığında kuraklık stres artışı YNSİ’yi düşürmüş, 0 barda %89,9 olan YNSİ -8 bar’da %60,8 olarak belirlenmiştir (Tablo 11).

Tablo 12. Yaprak Nisbi Su İçeriğine (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Genotip (G)	1	522,678	963,773	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	7084,079	13062,417	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	383,717	707,540	0,000
G x S	2	155,124	286,036	0,000
G x K	3	7,880	14,530	0,000
S x K	6	28,304	52,190	0,000
G x S x K	6	14,131	26,055	0,000
Hata	72	0,542		
Toplam	96			

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre, kuraklık stresinde genotiplerin YNSİ'si ele alındığında stres şiddetindeki artış her iki çeşitte de önemli bir azalışa neden olmuştur (Tablo 11). Bu azalışın Kırmızı Kılçık'ta daha yüksek olması GxS interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 12). Diğer taraftan, kuraklık stresi ortalamasına göre genotiplerin YNSİ'si, her iki çeşitte de kitosan konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır (Tablo 11). YNSİ bakımından kitosan uygulamasına Kırkpınar 79'un tepkisinin daha yüksek olması GxK interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 12). Yine YNSİ üzerine, SxK interaksiyonunun etkisi önemli ($p<0,01$) olmuş (Tablo 12), stresin YNSİ üzerine olan olumsuz etkisi kitosan konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak azalmıştır (Tablo 11).

Genotiplerin YNSİ'lerinin kuraklık stresi ve kitosan konsantrasyonlarına göre değişim göstermesi GxKxS interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 12). Her iki genotipte de en düşük YNSİ, -8 bar ve 0 mg/L kitosan uygulamasında Kırkpınar 79 için %57,7, Kırmızı Kılçık için ise %49,0 olarak tespit edilmiştir (Tablo 11). En yüksek YNSİ ise Kırkpınar 79'da (% 91,4) 0 bar ve 100 mg/L kitosanda belirlenirken, Kırmızı Kılçık'ta (%94,0) 0 bar ve 150 mg/L kitosanda tespit edilmiştir (Tablo 11).

Klorofil miktarına (KM) ait (SPAD) varyans analiz tablosu, Tablo 13'te verilmiştir. İlgili tablo incelendiğinde KM üzerine genotipin, kuraklık stresinin ve kitosan konsantrasyonlarının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu görülmektedir. Genotipin ana etkisi değerlendirildiğinde Kırkpınar 79'da 36,0 olarak belirlenen SPAD değeri, Kırmızı Kılçıkta 29,2 olarak tespit edilmiştir. Diğer taraftan, kitosan ve kuraklık stresinin ana etkileri değerlendirildiğinde, kitosan konsantrasyonundaki artış KM'yi artırırken, stres şiddetindeki artış KM'yi azaltmıştır (Tablo 11).

Tablo 13. Klorofil Miktarına (SPAD) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Genotip (G)	1	1109,760	651,629	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	132,292	77,679	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	33,114	19,444	0,000
G x S	2	15,312	8,991	0,000
G x K	3	10,699	6,282	0,001
S x K	6	6,707	3,938	0,002
G x S x K	6	2,945	1,729	0,127
Hata	72	1,703		
Toplam	96			

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre her iki genotipte de stres artışı KM’de önemli bir azalışa neden olmuş, bu azalışın kuraklığa hassas olan Kırmızı Kılçık’ta daha fazla olması (Tablo 11) GxS interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 13). Diğer taraftan, kuraklık stresinin ortalamasına göre genotiplerin SPAD değeri her iki genotipte de kitosan konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı gözlenmiştir (Tablo 11). KM bakımından genotiplerin kitosan uygulamasına tepkisi değerlendirildiğinde Kırkpınar 79’un tepkisi diğer genotipe göre daha fazla olması GxK interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 13). Araştırmada, SxK interaksiyonunun KM’ye etkisi önemli ($p<0,01$) olurken; GxSxK interaksiyonunun etkisinin önemsiz olduğu tespit edilmiştir (Tablo 13). Genotiplerin stres ve kitosan uygulamalarına göre tepkileri değerlendirildiğinde Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde en düşük SPAD değeri, -8 bar ve 0 mg/L kitosan uygulamasında sırasıyla 30,5 ve 25,6 olarak tespit edilmiştir. En yüksek ise her iki genotipte stressiz şartlarda (0 bar) uygulanan 150 mg/L kitosan uygulamasında belirlenmiştir. Bu uygulamada SPAD değerleri Kırkpınar 79 için 39,2 Kırmızı Kılçık için ise 32,2 olarak belirlenmiştir (Tablo 11).

Klorofil floresans parametreleri

Minimum floresans verimine (F_0) genotipin, kuraklık stresinin ve kitosan konsantrasyonunun ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu Tablo 14’te görülmektedir. Genotipin ana etkisi dikkate alındığında Kırmızı Kılçık genotipinin F_0 değeri 327,8, Kırkpınar 79’un ise 311,8 olarak kaydedilmiştir. Genotip ve kitosan konsantrasyonlarının ortalamasına göre stres şiddetinin artışına paralel olarak F_0 değerinde artış; genotip ve kuraklık konsantrasyonlarının ortalamasına göre ise kitosan konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak F_0 değerinde azalma görülmüştür (Tablo 15).

Tablo 14. Minimum Floresans Verimine (F_0) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Genotip (G)	1	6104,065	366,607	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	3463,940	208,042	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	1285,746	77,221	0,000
G x S	2	283,768	17,043	0,000
G x K	3	171,885	10,323	0,000
S x K	6	190,725	11,455	0,000
G x S x K	6	51,421	3,088	0,010
Hata	72	16,650		
Toplam	96			

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre her iki genotipte de kuraklık stresi şiddetindeki artış F_0 değerinde artışa neden olmuştur (Tablo 15) ve genotiplerin bu parametreye tepkisinin farklılık göstermesi GxS interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 14).

Diğer taraftan, kuraklık stresinin ortalamasına göre her iki genotipin F_0 değeri, kitosan konsantrasyonundaki artışı ile birlikte azaldığı kaydedilmiş (Tablo 15) ve Kırmızı Kılçık'ın kitosana tepkisinin daha yüksek olması GxK interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 14). F_0 üzerine SxK interaksiyonun etkisinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiş (Tablo 14), 0 ve -6 bar'larda F_0 değeri kitosan konsantrasyonuna göre değişkenlik gösterirken, -8 bar'da kitosan konsantrasyonundaki artışa paralel olarak F_0 değerinde azalma meydana gelmiştir (Tablo 15). Araştırmada, GxSxK interaksiyonunun etkisi önemli ($p<0,05$) bulunmuş (Tablo 14) ve her iki genotipte de en yüksek F_0 değeri -8 bar ve 0 mg/L kitosan uygulamasından elde edilmiştir. En düşük F_0 değeri ise her iki genotipte de 0 bar ve 150 mg/L kitosanda görülmüştür (Tablo 15).

Tablo 15. Farklı Kuraklık Stresi Şiddetine ve Kitosan Konsantrasyonlarına Göre Genotiplerin Yaprak Klorofil Floresans Parametreleri (F₀, F_m, F_v ve F_v/F_m)

VK	Genotip	Kuraklık stresi (bar)	Kitosan (mg/L)	F ₀	F _m	F _v	F _v /F _m
GxSxK	Kırkpınar 79	0	0	296,3	1389,3	1093,0	0,787
			50	296,6	1395,3	1098,6	0,787
			100	304,5	1395,7	1091,2	0,782
			150	293,9	1391,2	1097,4	0,789
		-6	0	320,6	1371,0	1050,4	0,766
			50	319,6	1380,8	1061,1	0,769
			100	305,4	1380,1	1074,7	0,779
			150	309,5	1384,9	1075,4	0,776
		-8	0	334,9	1329,6	994,8	0,748
			50	325,0	1334,7	1009,7	0,756
			100	320,6	1337,8	1017,2	0,760
			150	315,3	1338,5	1023,3	0,764
	Kırmızı Kılçık	0	0	330,1	1337,8	1007,6	0,753
			50	321,0	1345,5	1024,5	0,761
			100	320,3	1355,3	1035,0	0,764
			150	311,1	1365,7	1054,5	0,772
		-6	0	340,8	1289,4	948,6	0,735
			50	335,0	1299,8	964,8	0,742
			100	315,9	1311,5	995,6	0,759
			150	315,0	1311,9	996,9	0,759
		-8	0	344,1	1173,3	829,1	0,707
			50	345,3	1178,7	833,5	0,707
			100	330,5	1187,4	856,9	0,721
			150	324,5	1190,5	866,0	0,727
LSD0.05			5,8	-	-	-	
GxS	Kırkpınar 79	0	297,8	1392,8	1095,0	0,786	
		-6	313,8	1379,2	1065,4	0,772	
		-8	323,9	1335,2	1011,2	0,757	
	Kırmızı Kılçık	0	320,6	1351,0	1030,4	0,763	
		-6	326,7	1303,1	976,5	0,749	
		-8	336,1	1182,5	846,4	0,715	
LSD0.05			2,9	26,2	26,5	0,006	
GxK	Kırkpınar 79	-	0	317,3	1363,3	1046,0	0,767
			50	313,8	1370,2	1056,5	0,771
			100	310,2	1371,2	1061,0	0,774
			150	306,2	1371,6	1065,4	0,776
	Kırmızı Kılçık	-	0	338,3	1266,8	928,5	0,732
			50	333,8	1274,6	940,9	0,737
			100	322,2	1284,7	962,5	0,748
			150	316,9	1289,4	972,5	0,753
LSD0.05			3,3	-	-	0,006	
SxK	-	0	0	313,2	1363,5	1050,3	0,770
			50	308,8	1370,4	1061,5	0,774
			100	312,4	1375,5	1063,1	0,773
			150	302,5	1378,4	1075,9	0,780
		-6	0	330,7	1330,2	999,5	0,751
			50	327,3	1340,3	1013,0	0,755
			100	310,6	1345,8	1035,2	0,769
			150	312,3	1348,4	1036,2	0,768
		-8	0	339,5	1251,4	911,9	0,727
			50	335,1	1256,7	921,6	0,732
			100	325,6	1262,6	937,1	0,741
			150	319,9	1264,5	944,6	0,746
LSD0.05			4,1	-	-	-	
S	-	0	309,2	1371,9	1062,7	0,774	
		-6	320,2	1341,2	1021,0	0,761	
		-8	330,0	1258,8	928,8	0,736	
LSD0.05			2,0	18,6	18,8	0,004	
K	-	-	0	327,8	1315,0	987,3	0,749
			50	323,8	1322,4	998,7	0,754
			100	316,2	1328,0	1011,8	0,761
			150	311,5	1330,5	1018,9	0,765
LSD0.05			2,4	-	21,7	0,004	
G	Kırkpınar 79	-	-	311,8	1369,1	1057,2	0,772
	Kırmızı Kılçık	-	-	327,8	1278,9	951,1	0,742
LSD0.05			1,7	15,1	15,3	0,003	
GENEL ORTALAMA				319,8	1324,0	1004,2	0,757
Varyasyon Katsayısı (%)				1,3	2,8	3,8	1,03

Araştırmada maksimum floresans verimine (F_m), genotip ve kuraklık stresinin ana etkilerinin önemli olduğu ($p<0,01$), kitosan konsantrasyonunun ise ana etkisinin önemsiz ($p>0,05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 16). Diğer iki faktörün ortalamasına göre genotipler karşılaştırıldığında Kırmızı Kılçık genotipinin F_m değerinin (1278,9) Kırkpınar 79'a (1369,1) göre daha az olduğu belirlenmiştir. Kuraklık stresinin ana etkileri değerlendirildiğinde ise kuraklık stres şiddetindeki artışa bağlı olarak F_m değerinde azalma meydana gelmiştir. En yüksek F_m değeri 1371,9 ile 0 bar'da; en düşük ise 1258,8 ile -8 bar'da tespit edilmiştir. Genotip ve kuraklık stresinin ortalamasına göre artan kitosan konsantrasyonundaki artış F_m değerinde artışa sebep olmuş (Tablo 15) ancak aralarındaki farklılıklar önemsiz ($p>0,05$) olmuştur (Tablo 16).

Tablo 16. Maksimum Floresans Verimi (F_m) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Genotip (G)	1	195221,098	140,981	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	109472,952	79,057	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	1120,821	0,809	0,493
G x S	2	25789,824	18,624	0,000
G x K	3	293,094	0,212	0,888
S x K	6	12,678	0,009	1,000
G x S x K	6	51,851	0,037	1,000
Hata	72	1384,729		
Toplam	96			

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre her iki genotipte kuraklık stresi şiddetindeki artışa bağlı olarak F_m değerinde önemli bir azalma görülmüş (Tablo 15) ve bu azalışın kuraklığa hassas olan Kırmızı Kılçık genotipinde daha belirgin olması GxS interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur. Diğer taraftan, F_m değerleri üzerine GxK ve SxK, GxSxK interaksiyonlarının etkisinin önemsiz ($p>0,05$) olduğu bulunmuştur (Tablo 16).

Araştırmada değişken floresans verimi (F_v) üzerine genotipin, kuraklık stresi ve kitosan uygulamasının ayrı ayrı ana etkileri incelendiğinde varyans değerlerinin değişken olduğu tespit edilmiştir. Genotip ve kuraklık stresinde varyans etki değerinin 0,01'den ($p<0,01$), kitosan uygulamasının ana etkisinde ise 0,05'ten ($p<0,05$) düşük olduğu ve her üç ana etkinin de önemli olduğu sonucuna varılmıştır (Tablo 17). Araştırmada genotipin ana etkisi değerlendirildiğinde, Kırkpınar 79 genotipinin F_v değeri 1057,2 iken; Kırmızı Kılçık'ta 951,1 olarak tespit edilmiştir. Genotip ve kuraklık stresinin ortalamasına göre kitosan konsantrasyonundaki artışa paralel olarak F_v değerinde önemli bir artış meydana gelmiştir.

Diğer taraftan genotipin ve kitosan uygulamasının ortalamasına göre kuraklık stresindeki artışa bağlı olarak F_v değerleri azalma göstermiştir (Tablo 15).

Tablo 17. Değişken Floresans Verimi (F_v) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Genotip (G)	1	270365,508	190,925	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	150247,861	106,101	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	4733,434	3,343	0,024
G x S	2	21868,458	15,443	0,000
G x K	3	908,822	0,642	0,591
S x K	6	225,598	0,159	0,987
G x S x K	6	112,947	0,080	0,998
Hata	72	1416,086		
Toplam	96			

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre her iki genotipin F_v değeri kuraklık stresi şiddetindeki artışa bağlı olarak azalış göstermiştir (Tablo 15). Bu azalış, Kırmızı Kılçık genotipinde daha yüksek olmuş ve GxS interaksyonu önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Tablo 17). Diğer taraftan, kuraklık stresinin ortalamasına göre genotiplerin F_v değeri her iki çeşitte kitosan konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterse de (Tablo 15) GxK interaksyonu önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Yine, SxK ve GxSxK interaksyonları önemsiz bulunmuştur (Tablo 17).

Araştırmada PSII maksimum enerji verimine (F_v/F_m) ait varyans analiz sonuçları Tablo 18’de verilmiştir. İlgili tabloda genotipin, kuraklık stresinin ve kitosan uygulamasının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu bulunmuştur. Diğer faktörlerin ortalamasına göre, Kırkpınar 79 genotipinde 0,772 olarak belirlenen F_v/F_m değeri Kırmızı Kılçık genotipinde 0,742 olarak belirlenmiştir (Tablo 15). Diğer taraftan, F_v/F_m değeri üzerine kitosan uygulamasının ve kuraklık stresinin ana etkileri değerlendirildiğinde, kuraklık stres şiddetindeki artış bu değerde azalmaya neden olurken, kitosan konsantrasyonundaki artış ise artmasına neden olmuştur (Tablo 15).

Tablo 18. PSII Maksimum Enerji Verimine (F_v/F_m) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Genotip (G)	1	0,021	342,94	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	0,012	193,23	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	0,001	18,67	0,000
G x S	2	0,001	14,51	0,000
G x K	3	0,000	3,37	0,023
S x K	6	0,000	1,93	0,088
G x S x K	6	0,000	0,44	0,848
Hata	72	0,000		
Toplam	96			

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre her iki çeşitte kuraklık stres şiddetindeki artış, F_v/F_m değerinde azalmaya yol açmıştır. Bu azalmanın Kırmızı Kılçık'ta Kırkpınar 79 genotipine göre daha belirgin olması GxS interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına sebep olmuştur (Tablo 18). Diğer taraftan, kuraklık stresinin ortalamasına göre her iki genotipte de F_v/F_m değeri kitosan konsantrasyonlarındaki artışa paralel olarak artış göstermiş ve GxK interaksiyonu önemli ($p<0,05$) olmuştur. Araştırmada, SxK ve GxSxK interaksiyonunun etkisinin ise önemsiz ($p>0,05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 18).

Biyokimyasal Parametreler

MDA ve H_2O_2 miktarı

MDA içeriğine ait varyans analiz sonuçları Tablo 19'da verilmiştir. İlgili tablo incelendiğinde kök ve yaprak dokularındaki MDA miktarına genotipin, kuraklık stresinin ve kitosan konsantrasyonunun etkisi önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Genotipin ana etkisi değerlendirildiğinde MDA miktarı kök dokusunda Kırkpınar 79 genotipinde 4,0 $\mu\text{mol/g}$, Kırmızı Kılçık genotipinde 4,2 $\mu\text{mol/g}$ olarak belirtilmiştir. Yaprak dokusunda ise Kırkpınar 79 genotipinde 10,7 $\mu\text{mol/g}$, Kırmızı Kılçık'ta 9,5 $\mu\text{mol/g}$ olarak belirlenmiştir. Kitosan uygulamasının ana etkisine bakıldığında her iki dokuda konsantrasyona bağlı olarak MDA miktarı azalma göstermiş, en yüksek kitosan konsantrasyonunda bu azalma daha fazla olmuştur. Kuraklığın ana etkisine bakıldığında ise MDA miktarı her iki doku tipinde artış göstermiş, kök dokusuna kıyasla konsantrasyon artışına bağlı olarak yaprak dokusundaki artış daha fazla olmuştur. Kuraklık stresinin ana etkisi incelendiğinde her iki doku tipinde de en yüksek MDA miktarı -8 bar'da sırasıyla 5,8 ve 15,1 $\mu\text{mol/g}$ olarak tespit edilmiştir (Tablo 20).

Tablo 19. Kök ve Yaprak Dokularında MDA Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	Kök			Yaprak		
		KO	F	p	KO	F	p
Genotip (G)	1	0,467	30,164	0,000	31,782	223,891	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	98,354	6356,583	0,000	714,383	5032,529	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	83,604	5403,272	0,000	534,896	3768,120	0,000
G x S	2	6,251	403,994	0,000	51,325	361,564	0,000
G x K	3	12,570	812,370	0,000	86,115	606,642	0,000
S x K	6	19,442	1256,561	0,000	250,783	1766,664	0,000
G x S x K	6	6,810	440,101	0,000	37,676	265,410	0,000
Hata	72	0,015			0,142		
Toplam	96						

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre her iki doku tipinde de stresteeki artışa bağlı olarak iki genotipte de MDA miktarında önemli bir artış gözlenmiştir, genotiplerin stres şiddetine göre MDA miktarının farklılık göstermesi GxS interaksiyonun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 19). Diğer taraftan kuraklık stresinin ortalamasına göre her iki dokuda genotiplerin MDA miktarları artan kitosan konsantrasyonuna paralel olarak azalmış, Kırkpınar 79 genotipinde daha belirgin bir azalma meydana gelmesi (Tablo 20), GxK interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 19).

Tablo 20. Farklı Kuraklık Stresi Şiddetine ve Kitosan Konsantrasyonlarına Göre Genotiplerin Kök ve Yaprak Dokularındaki MDA ve H₂O₂ Miktarları

VK	Genotip	Kuraklık stresi (bar)	Kitosan (mg/L)	MDA (μmol/g TA)		H ₂ O ₂ (μmol/g TA)		
				Kök	Yaprak	Kök	Yaprak	
GxSxK	Kırkpınar 79	0	0	2,1	6,6	881,5	1479,8	
			50	2,1	4,4	864,9	1458,9	
			100	1,8	6,1	831,0	1423,7	
			150	1,4	4,2	822,7	1300,6	
		-6	0	7,4	14,9	1152,8	2324,9	
			50	4,4	8,3	1078,6	1863,5	
			100	2,5	8,1	963,6	1526,8	
			150	2,1	7,4	908,9	1493,6	
		-8	0	13,0	39,9	1163,4	2433,5	
			50	7,1	12,8	1083,8	2055,1	
			100	2,5	8,2	974,4	1626,8	
			150	2,1	7,6	933,6	1526,0	
	Kırmızı Kılçık	0	0	3,1	6,6	1725,9	1828,0	
			50	2,7	6,3	1723,6	1804,9	
			100	2,6	5,5	1696,2	1683,7	
			150	2,5	5,8	1416,7	1674,1	
		-6	0	6,6	11,4	1854,7	2518,3	
			50	4,7	10,3	1846,2	2170,7	
			100	3,4	8,6	1748,8	2107,1	
			150	3,1	7,7	1734,9	1965,9	
		-8	0	7,2	23,0	1895,7	2861,0	
			50	6,3	12,2	1854,4	2216,8	
			100	4,5	8,8	1774,6	2149,2	
			150	3,4	8,2	1743,1	2003,6	
			LSD0.05		0,2	0,5	9,4	13,8
GxS	Kırkpınar 79	0	-	1,8	5,3	850,0	1415,7	
		-6	-	4,1	9,7	1026,0	1802,2	
		-8	-	6,2	17,1	1038,8	1910,4	
	Kırmızı Kılçık	0	-	2,7	6,0	1640,6	1747,7	
		-6	-	4,4	9,5	1796,1	2190,5	
		-8	-	5,4	13,1	1817,0	2307,6	
		LSD0.05		0,1	0,3	4,7	6,9	
GxK	Kırkpınar 79	-	0	7,5	20,5	1065,9	2079,4	
			50	4,5	8,5	1009,1	1792,5	
			100	2,3	7,5	923,0	1525,8	
			150	1,9	6,4	888,4	1440,0	
	Kırmızı Kılçık	-	0	5,6	13,7	1825,4	2402,4	
			50	4,6	9,6	1808,1	2064,1	
			100	3,5	7,7	1739,9	1980,0	
			150	3,0	7,2	1631,6	1881,2	
			LSD0.05		0,1	0,3	5,4	8,0
SxK	-	0	0	2,6	6,6	1303,7	1653,9	
			50	2,4	5,3	1294,3	1631,9	
			100	2,2	5,8	1263,6	1553,7	
			150	2,0	5,0	1119,7	1487,3	
		-6	0	7,0	13,2	1503,7	2421,6	
			50	4,5	9,3	1462,4	2017,1	
			100	3,0	8,4	1356,2	1817,0	
			150	2,6	7,5	1321,9	1729,7	
		-8	0	10,1	31,4	1529,6	2647,3	
			50	6,7	12,5	1469,1	2135,9	
			100	3,5	8,5	1374,5	1888,0	
			150	2,8	7,9	1338,4	1764,8	
	LSD0.05		0,1	0,4	6,6	9,8		
	S	-	0	-	2,3	5,7	1245,3	1581,7
-6			-	4,3	9,6	1411,1	1996,4	
-8			-	5,8	15,1	1427,9	2109,0	
LSD0.05			0,1	0,2	3,3	4,9		
K	-	-	0	6,6	17,1	1445,7	2240,9	
			50	4,6	9,0	1408,6	1928,3	
			100	2,9	7,6	1331,4	1752,9	
			150	2,4	6,8	1260,0	1660,6	
			LSD0.05		0,1	0,2	3,8	5,6
G	Kırkpınar 79	-	-	4,0	10,7	971,6	1709,4	
	Kırmızı Kılçık	-	-	4,2	9,5	1751,2	2081,9	
	LSD0.05		0,1	0,2	2,7	4,0		
GENEL ORTALAMA				4,1	10,1	1361,4	1895,7	
Varyasyon Katsayısı (%)				3,0	3,37	0,5	0,5	

Genotiplerin ortalamasına göre iki doku tipinde stres şartlarında elde edilen MDA miktarı genelde azalmış (Tablo 20) ve SxK interaksyonu önemli ($p<0,01$) olmuştur (Tablo 19). Araştırmada genotiplerin, kuraklık stresi ve kitosan konsantrasyonlarına göre MDA miktarında değişim göstermesi GxSxK interaksyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 19). Her iki genotipin, kök ve yaprak dokularında en yüksek MDA miktarı -8 bar ve 0 mg/L kitosan uygulamasında tespit edilmiştir. En düşük MDA miktarı ise iki genotipin kök ve yaprak dokularında 0 bar ve 150 mg/L kitosanda tespit edilmiştir (Tablo 20).

Hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarına ait varyans analizi tablosu Tablo 21’de verilmiştir. İlgili tablo incelediğinde hem yaprak hem de kök dokusunda H_2O_2 miktarına genotipin, kuraklık stresinin ve kitosan konsantrasyonlarının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir. Kuraklık ve kitosan uygulamasının ortalamalarına göre her iki doku tipinde Kırmızı Kılçık genotipinin H_2O_2 miktarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. H_2O_2 miktarı kök ve yaprak dokusunda sırasıyla Kırkpınar 79’da 971,6 ve 1709,4 $\mu\text{mol/g}$ olarak, Kırmızı Kılçık’ta ise 1751,2 ve 2081,9 $\mu\text{mol/g}$ olarak tespit edilmiştir (Tablo 20). Kitosanın ana etkisi değerlendirildiğinde kök ve yaprak dokularında kitosan konsantrasyonundaki artış H_2O_2 miktarını düşürmüş, en düşük H_2O_2 miktarı 150 mg/L kitosan konsantrasyonunda kökte 1260,0 $\mu\text{mol/g}$, yaprak dokusunda ise 1660,6 $\mu\text{mol/g}$ olarak kaydedilmiştir. Genotip ve kitosanın ortalaması dikkate alındığında kuraklık stres şiddetinin etkisine bakıldığında H_2O_2 miktarı her iki doku tipinde de artmış ve en yüksek H_2O_2 miktarı -8 bar’da kök dokusunda 1427,9 $\mu\text{mol/g}$, yaprak dokusunda ise 2109,0 $\mu\text{mol/g}$ olarak tespit edilmiştir. Yaprak dokusundaki H_2O_2 miktarının kök dokusuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 20).

Tablo 21. Kök ve Yaprak Dokularında H_2O_2 Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	Kök			Yaprak		
		KO	F	p	KO	F	p
Genotip (G)	1	14588296,213	331237,554	0,000	3330194,959	34778,493	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	325768,363	7396,800	0,000	2467442,089	25768,437	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	164070,593	3725,339	0,000	1567165,179	16366,502	0,000
G x S	2	847,356	19,240	0,000	10030,605	104,753	0,000
G x K	3	6993,896	158,801	0,000	48055,216	501,859	0,000
S x K	6	7287,518	165,468	0,000	229369,008	2395,388	0,000
G x S x K	6	17630,839	400,321	0,000	34104,175	356,163	0,000
Hata	72	44,042			95,754		
Toplam	96						

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre iki doku tipinde de stresteki artışa bağı olarak her iki genotipte önemli bir artış meydana gelmiş ve GxS interaksyonu önemli ($p<0,01$) olmuştur (Tablo 21). Aynı şekilde, GxK interaksyonun önemli ($p<0,01$) bulunmuş, genotiplerin H_2O_2 miktarında, artan kitosan konsantrasyonuna bağı olarak azalma meydana gelmiştir (Tablo 20). Stres şiddetlerinin tamamında kitosan konsantrasyonunun artışına bağı H_2O_2 miktarının azaldığı ve SxK interaksyonunun önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 21).

Araştırmada genotiplerin H_2O_2 miktarının kuraklık şiddetine ve kitosan konsantrasyonuna göre değişmesi GxSxK interaksyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 21). Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde en yüksek H_2O_2 miktarı her iki doku tipinde de -8 bar ve 0 mg/L kitosan uygulamasında elde edilmiş. Bu uygulamada Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinin H_2O_2 miktarı sırasıyla kök dokusunda 1163,46 $\mu\text{mol/g}$ ve 1895,7 $\mu\text{mol/g}$; yaprak dokusunda ise 2433,5 $\mu\text{mol/g}$ ve 2861,0 $\mu\text{mol/g}$ olarak belirlenmiştir. En düşük H_2O_2 miktarı Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde sırasıyla kök dokusunda 822,7 ve 1416,7 $\mu\text{mol/g}$; Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde yaprak dokusunda sırasıyla H_2O_2 miktarı 1300,6 ve 1674,1 $\mu\text{mol/g}$ olarak 0 bar kuraklık ve 150 mg/L kitosan uygulamasında tespit edilmiştir (Tablo 20).

Antioksidan enzimler

Antioksidan SOD enzim miktarı üzerine kuraklık stresi, genotip ve kitosan uygulamalarının ana etkilerinin hem kök hem de yaprak örneklerinde önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$) (Tablo 22). Çalışılan doku tipi örnekleri açısından SOD enzim miktarı genotiplere ve doku tipine göre farklılık göstermiştir. Genotipin ana etkisi kök dokusunda incelendiğinde taze ağırlıkta 1 g bitki örneğinde SOD miktarı Kırkpınar 79'da 51,4 U/g, Kırmızı Kılçık'ta ise 15,0 U/g; yaprak dokusunda ise sırasıyla 66,3 ve 43,4 U/g olarak belirlenmiştir. Genotip ve kitosan uygulamalarının ortalamasına göre stresin ana etkisi incelendiğinde kuraklık stresi konsantrasyonlarına bağı olarak her iki dokuda SOD miktarının arttığı ve bu artışın dokular arasında en fazla yaprakta gözleendiği belirlenmiştir. Her iki doku tipinde doza bağı olarak azalma gözleendiğinden kök dokusunda 0 bar'a kıyasla -8 bar'da SOD miktarının 27,9 U/g'dan 42,8 U/g'a ve yaprak dokusunda ise 43,8'den 71,7 U/g'a kadar yükseldiği tespit edilmiştir. Kitosanın ana etkisine bakıldığında ise artan kitosan konsantrasyonlarına paralel olarak her iki dokuda SOD miktarının arttığı kaydedilmiştir (Tablo 23).

Tablo 22. Kök ve Yaprak Dokularında SOD Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	Kök			Yaprak		
		KO	F	p	KO	F	p
Genotip (G)	1	31863,173	44215,656	0,000	12574,258	30177,969	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	2252,912	3126,305	0,000	7064,624	16954,956	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	376,934	523,061	0,000	2574,319	6178,314	0,000
G x S	2	556,420	772,129	0,000	86,101	206,641	0,000
G x K	3	62,323	86,484	0,000	275,268	660,637	0,000
S x K	6	39,193	54,388	0,000	222,221	533,326	0,000
G x S x K	6	8,553	11,869	0,000	216,385	519,320	0,000
Hata	72	0,721			0,417		
Toplam	96						

Kök ve yaprak dokusunda SOD miktarına GxS, GxK ve SxK ikili interaksiyonlarının ve GxSxK üçlü interaksiyonunun etkisinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 22). Kitosan konsantrasyon uygulamalarının ortalamalarına göre kuraklık stresine bağlı olarak genotiplerin SOD miktarının her iki dokuda da artış gösterdiği ve bu artışın kök dokusuna kıyasla yaprak dokusunda daha fazla olduğu belirlenmiştir. Genotipler arasında Kırkpınar 79'un kök dokusunda en yüksek SOD miktarı -8 bar'da 65,9 U/g, yaprak dokusunda ise aynı strese 82,0 U/g; Kırmızı Kılçık'ta ise kök dokusunda 19,8 U/g ve yaprak dokusunda 61,4 U/g olarak ölçülmüştür. Stresin ortalamasına göre her iki dokuda kitosan uygulamasındaki konsantrasyon artışına bağlı olarak her iki genotipte genel olarak SOD miktarında bir artış meydana gelmiştir. Yine, her iki doku tipinde genotiplerin ortalamasına göre genel olarak stres şartlarında kitosan konsantrasyonundaki artışa bağlı SOD miktarında artış tespit edilmiştir. Genotiplerin kuraklık ve kitosan uygulamalarına göre SOD miktarları değerlendirildiğinde her iki genotipte de iki doku tipinde en düşük SOD miktarı 0 bar ve 0 mg/L kitosanda elde edilmiştir. Bu uygulamadaki genotiplerin kök dokusu için SOD değerleri Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotipleri için sırasıyla 37,4 ve 10,8 U/g, yaprak dokusu için ise 32,0 ve 22,3 U/g olarak belirlenmiştir. Genotiplerin uygulamalara göre SOD miktarı değerlendirildiğinde en yüksek SOD miktarı her iki genotipte kök dokusunda -8 bar ve 100 mg/L konsantrasyonunda elde edilmiş, bu değer Kırkpınar 79 için 72,8 U/g, Kırmızı Kılçık için 25,0 U/g olarak kaydedilmiştir. Yaprak dokusunda ise genotiplerin en yüksek SOD miktarı Kırkpınar 79'da 84,5 U/g ile ve Kırmızı Kılçık'ta 77,9 U/g ile -8 bar ve 150 mg/L kitosan uygulamasından elde edilmiştir (Tablo 23).

Tablo 23. Farklı Kuraklık Stresi Şiddetine ve Kitosan Konsantrasyonlarına Göre Genotiplerin Kök ve Yaprak Dokularındaki SOD, POD ve APX (U/g TA) Miktarları

VK	Genotip	Kuraklık stresi (bar)	Kitosan (mg/L)	SOD (U/g TA)		POD (U/g TA)		APX (U/g TA)	
				Kök	Yaprak	Kök	Yaprak	Kök	Yaprak
GxSxK	Kırkpınar 79	0	0	37,4	32,0	22,3	4,6	1,6	2,9
			50	42,2	46,1	26,5	11,1	2,0	3,4
			100	45,3	63,8	34,8	12,0	2,4	3,7
			150	48,7	76,1	37,9	14,2	2,6	4,9
		-6	0	38,2	44,1	24,4	9,4	1,8	3,2
			50	43,8	51,9	26,8	11,7	2,3	3,5
			100	45,5	74,3	36,9	13,2	2,5	4,3
			150	52,0	79,1	39,8	14,8	2,6	4,9
		-8	0	58,0	79,1	43,3	15,9	2,8	5,3
			50	62,4	82,4	53,4	19,3	2,8	5,7
			100	72,8	82,2	56,3	20,4	2,9	5,9
			150	70,3	84,5	56,2	20,1	2,9	6,4
	Kırmızı Kılçık	0	0	10,8	22,3	10,8	2,3	0,9	1,5
			50	12,1	32,9	16,1	4,1	1,4	2,1
			100	13,0	35,8	18,2	5,7	1,1	2,3
			150	13,5	41,4	23,0	7,4	1,8	2,7
		-6	0	11,4	26,6	11,8	3,9	1,1	1,7
			50	12,7	34,3	16,9	5,5	1,5	2,2
			100	13,2	36,5	22,8	5,8	2,0	2,4
			150	13,5	45,4	25,6	10,0	2,0	2,7
		-8	0	14,4	52,8	28,6	10,5	2,2	3,1
			50	16,0	61,5	30,1	13,1	2,6	3,2
			100	25,0	53,5	37,2	11,3	2,9	3,8
			150	23,9	77,9	33,2	18,4	2,7	4,4
	LSD0.05			1,20	0,9	1,1	0,5	0,06	0,3
GxS	Kırkpınar 79	0	-	43,4	54,5	30,4	10,5	2,1	3,8
		-6	-	44,9	62,3	32,0	12,3	2,3	4,0
		-8	-	65,9	82,0	52,3	18,9	2,8	5,8
	Kırmızı Kılçık	0	-	12,3	33,1	17,0	4,9	1,3	2,1
		-6	-	12,7	35,7	19,3	6,3	1,6	2,3
		-8	-	19,8	61,4	32,3	13,3	2,6	3,6
	LSD0.05			0,60	0,5	0,5	-	0,03	0,1
GxK	Kırkpınar 79	-	0	12,2	51,7	30,0	5,6	2,1	3,8
			50	13,6	60,1	35,6	7,5	2,3	4,2
			100	17,0	73,4	42,7	7,6	2,6	4,6
			150	17,0	79,9	44,6	11,9	2,7	5,4
	Kırmızı Kılçık	-	0	44,5	33,9	17,1	10,0	1,4	2,1
			50	49,5	42,9	21,0	14,0	1,8	2,5
			100	54,5	41,9	26,1	15,2	2,0	2,8
			150	57,0	54,9	27,3	16,4	2,2	3,3
	LSD0.05			0,69	0,5	0,6	0,3	0,04	0,2
SxK	-	0	0	24,1	27,2	16,5	3,5	1,2	2,2
			50	27,1	39,5	21,3	7,6	1,7	2,7
			100	29,2	49,8	26,5	8,8	1,7	3,0
			150	31,1	58,7	30,4	10,8	2,2	3,8
		-6	0	24,8	35,3	18,1	6,6	1,4	2,5
			50	28,3	43,1	21,8	8,6	1,9	2,8
			100	29,4	55,4	29,9	9,5	2,2	3,3
			150	32,7	62,3	32,7	12,4	2,3	3,8
		-8	0	36,2	65,9	36,0	13,2	2,5	4,2
			50	39,2	72,0	41,8	16,2	2,7	4,5
			100	48,9	67,8	46,8	15,9	2,9	4,9
			150	47,1	81,2	44,7	19,2	2,8	5,4
	LSD0.05			0,85	0,6	0,8	0,3	0,04	-
S	-	0	-	27,9	43,8	23,7	7,7	1,7	2,9
		-6	-	28,8	49,0	25,6	9,3	2,0	3,1
		-8	-	42,8	71,7	42,3	16,1	2,7	4,7
	LSD0.05			0,42	0,3	0,4	0,2	0,02	0,1
K	-	-	0	28,4	42,8	23,5	7,8	1,7	3,0
			50	31,5	51,5	28,3	10,8	2,1	3,3
			100	35,8	57,7	34,4	11,4	2,3	3,7
			150	37,0	67,4	35,9	14,1	2,4	4,3
	LSD0.05			0,49	0,4	0,4	0,2	0,03	0,1
G	Kırkpınar 79	-	-	51,4	66,3	38,2	13,9	2,4	4,5
	Kırmızı Kılçık	-	-	15,0	43,4	22,9	8,2	1,8	2,7
	LSD0.05			0,35	0,3	0,3	0,1	0,02	0,1
GENEL ORTALAMA				33,2	54,8	30,5	11,0	2,1	3,6
Varyasyon Katsayısı (%)				2,6	1,17	2,5	2,9	2,0	5,7

POD içeriğine ait varyans analiz tablosu, Tablo 24'te verilmiştir. İlgili tablo incelendiğinde POD miktarı üzerine kuraklık stresi, genotip ve kitosan uygulamalarının ana etkilerinin her iki dokuda da önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Genotipin ana etkisi değerlendirildiğinde, kök ve yaprak dokularında Kırkpınar 79 genotipinin POD miktarı sırasıyla 38,2 U/g ile 13,9 U/g olurken; Kırmızı Kılçık genotipinde ise doku tipine göre sırasıyla 22,9 U/g ve 8,2 U/g olarak tespit edilmiştir. Kitosanın ana etkisi değerlendirildiğinde kitosan konsantrasyonundaki artışa paralel olarak her iki doku tipinde POD miktarının arttığı ve en yüksek artışın 150 mg/L kitosan konsantrasyonunda kök ve yaprak dokularında sırasıyla 35,9 ve 14,1U/g olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, kuraklık şiddeti ile birlikte her iki dokuda POD miktarının artış gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 23).

Tablo 24. Kök ve Yaprak Dokularında POD Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	Kök			Yaprak		
		KO	F	p	KO	F	p
Genotip (G)	1	5663,375	9648,349	0,000	786,536	7524,735	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	3348,974	5705,444	0,000	643,039	6151,911	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	783,793	1335,300	0,000	164,056	1569,513	0,000
G x S	2	130,018	221,504	0,000	0,233	2,231	0,115
G x K	3	24,365	41,509	0,000	15,128	144,725	0,000
S x K	6	28,181	48,010	0,000	3,674	35,153	0,000
G x S x K	6	16,436	28,002	0,000	7,918	75,751	0,000
Hata	72	0,587			0,105		
Toplam	96						

Araştırmada POD miktarı üzerine GxS, GxK, SxK ve GxSxK interaksiyonlarının tamamının kök dokusunda önemli ($p<0,01$) olduğu, yaprak dokusunda ise GxS interaksiyonu dışındaki diğer interaksiyonların önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 24). Kitosan konsantrasyonu ortalamasına göre özellikle yaprak dokusunda her iki genotipte de strese bağlı olarak POD miktarının arttığı tespit edilmiştir. Kuraklık stresi ortalamasına göre genotiplerin POD miktarı her iki çeşitte de kitosan konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır. Özellikle bu artış her iki doku tipinde de en yüksek konsantrasyonda (150 mg/L) 0 mg/L kitosan uygulamasına göre Kırkpınar 79'da daha fazla olmuştur. Ayrıca araştırmada, her iki doku tipinde tüm stres şartlarında kitosan konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak POD miktarının arttığı tespit edilmiştir. Genotiplerin kuraklık şiddeti ve kitosan konsantrasyonlarına göre POD miktarları değerlendirildiğinde iki doku tipi için en düşük POD miktarı iki genotipte de 0 bar ve 0 mg/L kitosan uygulamasından elde edilirken; Kırkpınar 79'da her iki doku tipinde de en

yüksek POD miktarı -8 bar ve 100 mg/L kitosan uygulamasında, Kırmızı Kılçık'ta ise kök ve yaprak dokularında sırasıyla -8 bar ve 100 mg/L ile -8 bar ve 150 mg/L kitosan uygulamalarında tespit edilmiştir (Tablo 23).

APX miktarı üzerine iki dokuda da genotipin, kuraklık stresinin ve kitosan konsantrasyonlarının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 25). Genotipin ana etkisi değerlendirildiğinde Kırkpınar 79 genotipinin APX miktarı kök dokusunda 2,4 U/g iken yaprakta 4,5 U/g; Kırmızı Kılçık genotipinin kök dokusunda 1,8 U/g, yaprakta ise 2,7 U/g olarak tespit edilmiştir. Diğer taraftan kuraklık ve kitosanın ana etkileri değerlendirildiğinde hem kitosan konsantrasyonundaki hem de stres şiddetindeki artış APX miktarında artışa neden olmuştur (Tablo 23).

Tablo 25. Kök ve Yaprak Dokularında APX Miktarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	Kök			Yaprak		
		KO	F	p	KO	F	p
Genotip (G)	1	7,592	4014,328	0,000	80,938	1902,145	0,000
Kuraklık stresi (S)	2	8,805	4656,174	0,000	31,429	738,626	0,000
Kitosan konsantrasyonu (K)	3	2,163	1143,961	0,000	8,285	194,696	0,000
G x S	2	0,714	377,555	0,000	0,734	17,245	0,000
G x K	3	0,025	13,090	0,000	0,242	5,685	0,001
S x K	6	0,219	116,035	0,000	0,090	2,113	0,062
G x S x K	6	0,157	83,079	0,000	0,297	6,977	0,000
Hata	72	0,002			0,043		
Toplam	96						

Kitosan uygulamasının ortalamasına göre her iki doku ve genotipte kuraklık şiddetindeki artış APX miktarında önemli bir artışa neden olmuş (Tablo 23) ve GxS interaksyonu önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Tablo 25). Diğer taraftan kuraklık stresinin ortalamasına göre her iki doku ve genotipte kitosan konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak APX miktarı artmıştır ve GxK interaksyonu önemli bulunmuştur (Tablo 23).

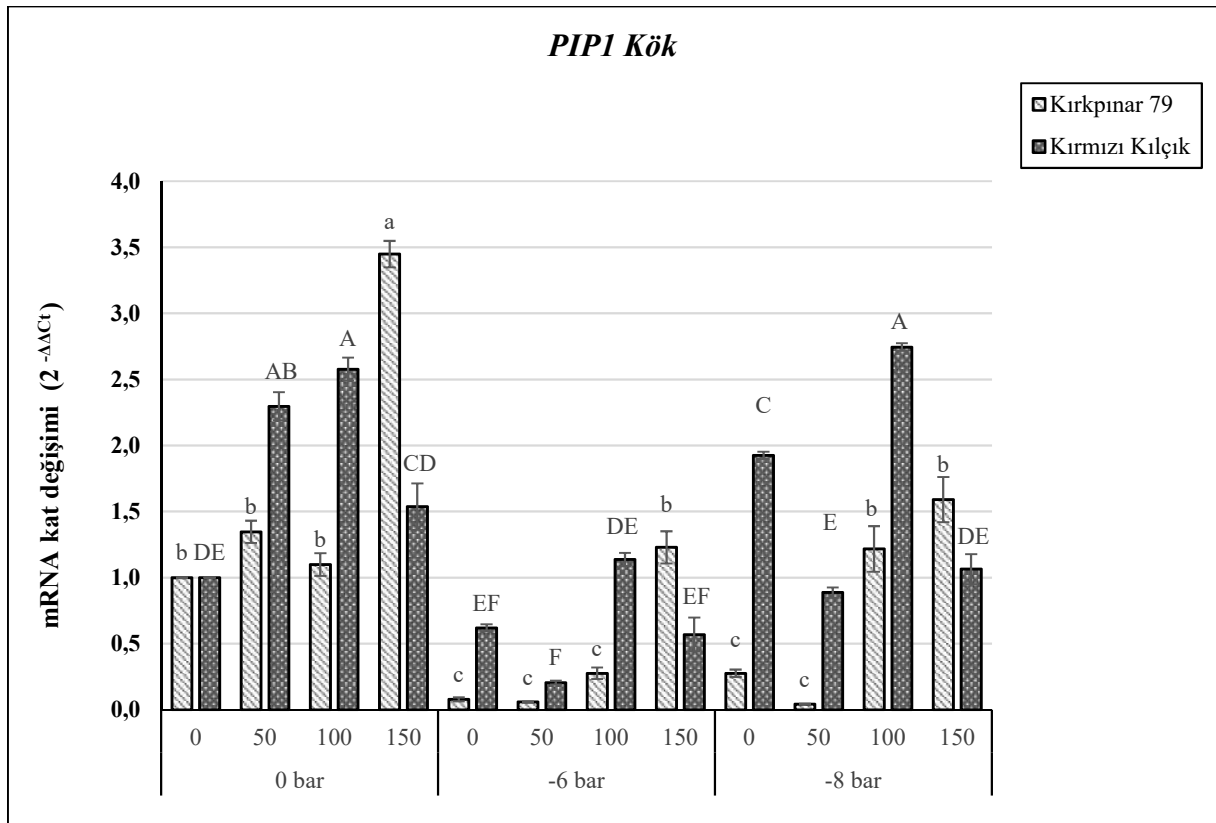
Araştırmada SxK interaksyonun APX miktarına etkisi kök ve yaprak dokusunda farklılık göstermiş, kök dokusundaki etki önemli ($p<0,01$) bulunurken, yaprak dokusunda önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Tablo 25). Stres şartlarında uygulanan kitosan konsantrasyon artışı APX miktarını arttırmıştır. Kitosan konsantrasyon uygulamalarının stres şiddetine etkisi incelendiğinde kök dokusunda en yüksek APX miktarı -8 bar ve 100 mg/L kitosan konsantrasyonunda 2,9 U/g; yaprak dokusunda ise -8 bar ve 150 mg/L kitosan konsantrasyonunda 5,4 U/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 23).

Araştırmada, APX miktarına GxSxK interaksyonu her iki doku tipi içinde önemli ($p<0,01$) olmuştur (Tablo 25). Bu interaksyona göre APX miktarları değerlendirildiğinde her iki genotip ve doku tipi için en düşük APX miktarı 0 bar ve 0 mg/L kitosan uygulamasında elde edilmiştir. Bu uygulamadaki genotiplerin kök dokusu için APX değerleri Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotipleri için sırasıyla 1,6 ve 0,9 U/g, yaprak için ise 2,9 ve 1,5 U/g olarak belirlenmiştir. En yüksek değer ise Kırkpınar 79 genotipinin kök dokusunda -8 bar'da 100 ve 150 mg/L kitosan uygulamalarında 2,9 U/g, yaprak dokusunda ise -8 bar ve 150 mg/L kitosan uygulamasında 6,4 U/g olarak belirlenirken; Kırmızı Kılçık genotipinin kök dokusunda -8 bar ve 100 mg/L kitosan uygulamasında 2,9 U/g, yaprak dokusunda ise -8 bar ve 150 mg/L kitosan da 4,4 U/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 23).

mRNA İfade Analiz Sonuçları

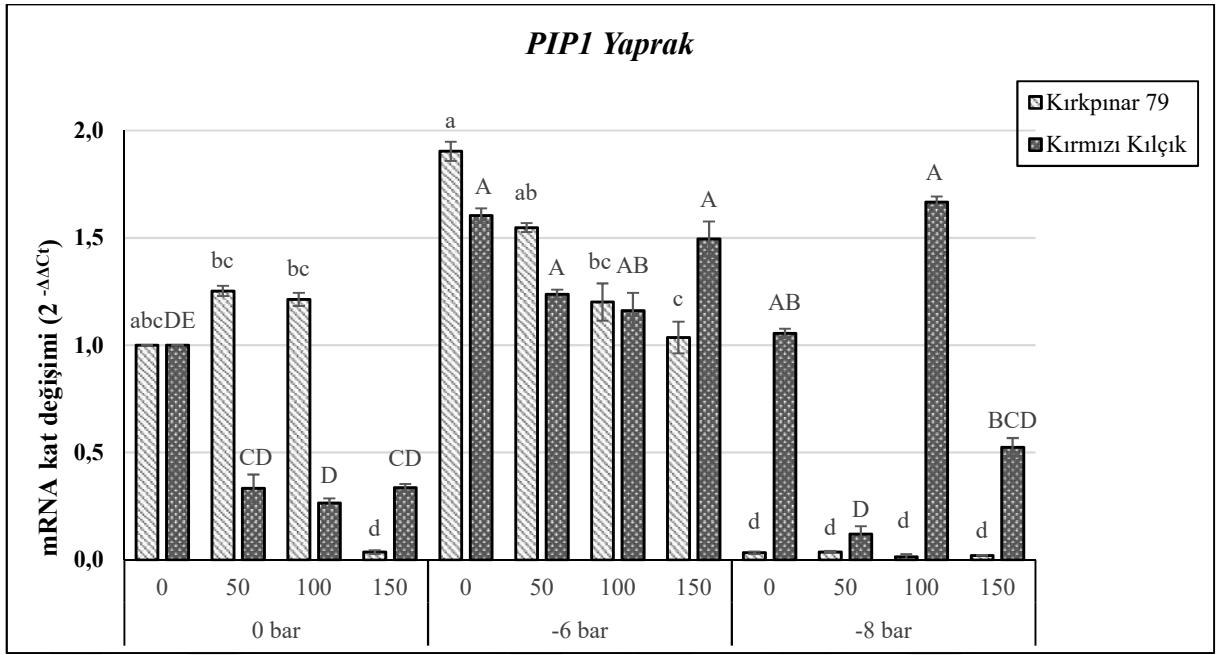
Araştırmada yapılan *PIP1*, *PIP2* ve *TIP2* genlerinin ifade analizinde, PEG6000 ve kitosan konsantrasyonlarının her bir kombinasyonu bir uygulama olarak değerlendirilmiş ve genotiplerin bu uygulamalara ait *PIP1*, *PIP2* ve *TIP2* ifade seviyeleri aşağıda açıklanmıştır.

PIP1 geninin Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde kök dokusundaki ifade analiz sonucuna göre, PEG6000 ve kitosan uygulamalarının tek başına etkisi ayrı ayrı değerlendirildiğinde, PEG6000 uygulamasında *PIP1* geninin ifade seviyesinin Kırmızı Kılçık genotipinde -6 bar'da azalırken, -8 bar'da arttığı; Kırkpınar 79 genotipinde ise PEG6000 konsantrasyonlarının tümünde azaldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan tek başına kitosan uygulamalarında (0 bar) *PIP1* geninin ifade seviyesinin her iki genotipte kitosan uygulamalarının tümünde arttığı tespit edilmiştir. Yine kitosan uygulamalarında *PIP1* geninin ifade seviyesindeki en yüksek artış Kırkpınar 79 genotipinde 150 mg/L kitosan (3,44) uygulamasında gözlenmiştir. Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde *PIP1* geninin ifade seviyesine PEG6000 ve kitosan konsantrasyonlarının kombinasyonlarından oluşan uygulamalarının etkisi değerlendirildiğinde, Kırkpınar 79 genotipinde *PIP1* geninin en yüksek ifade seviyesi -8 bar ve 150 mg/L kitosan (1,59) uygulamasında, en düşük ise -8 bar ve 50 mg/L kitosan (0,04) uygulamasında belirlenmiştir. Kırmızı Kılçık genotipinde ise en yüksek ifade seviyesi -8 bar ve 100 mg/L kitosan (2,74) uygulamasında, en düşük ise -6 ve 50 mg/L kitosan (0,20) uygulamasında tespit edilmiştir (Şekil 7).



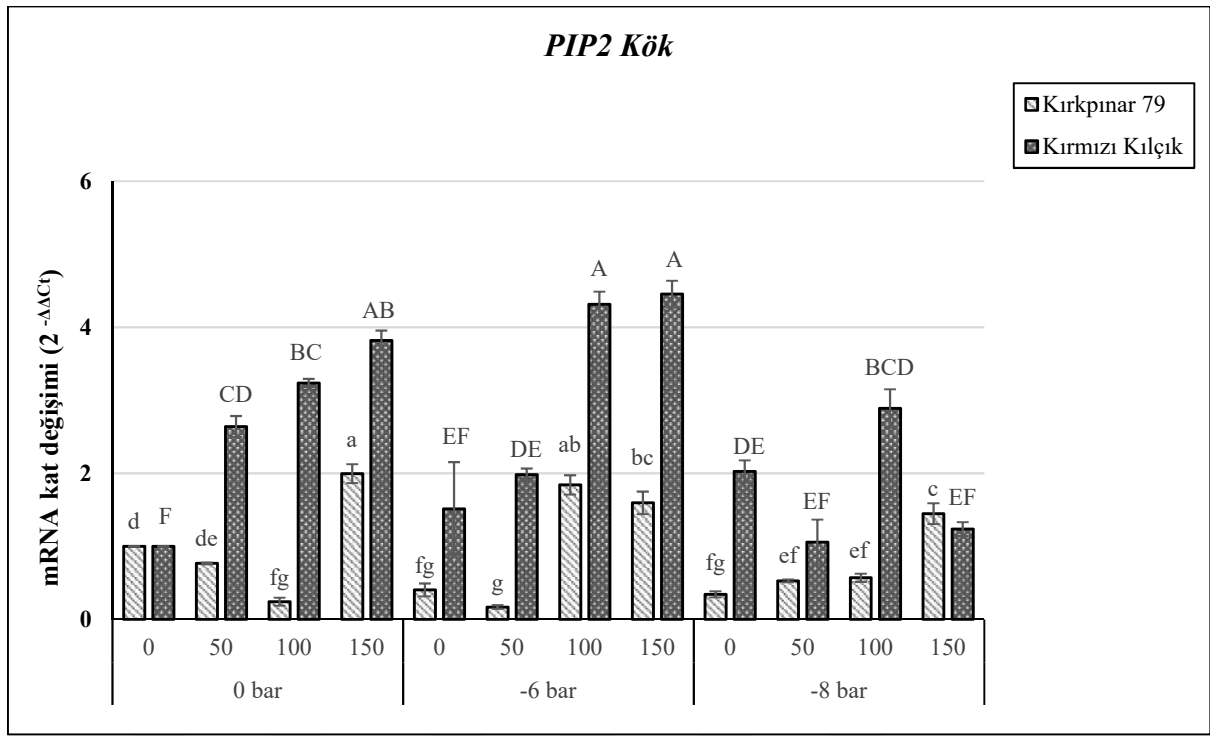
Şekil 7. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin köklerinde *PIP1* geninin ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

PIP1 geninin Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde yaprak dokusundaki ifade analiz sonucuna göre, PEG6000 ve kitosan uygulamalarının tek başına etkisi değerlendirildiğinde, PEG6000 uygulamasında *PIP1* geninin ifade seviyesi her iki genotipte -6 bar'da arttığı, bu artışın -8 bar'da sadece Kırmızı Kılçık genotipinde olduğu belirlenmiştir. Yine PEG6000 uygulamalarında, *PIP1* geninin en yüksek ifade seviyesi Kırkpınar 79 genotipinde -6 bar (1,90) uygulamasında belirlenmiştir. Kitosan uygulamaları (0 bar) ele alındığında, *PIP1* geninin ifade seviyesi Kırkpınar 79 genotipinde 50 ve 100 mg/L kitosan uygulamalarında artarken, 150 mg/L kitosan (0,03) uygulamasında azaldığı, Kırmızı Kılçık genotipinde ise tüm kitosan uygulamalarında azaldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan *PIP1* geninin ifadesi üzerine PEG6000 ve kitosan uygulamalarının kombinasyonlarının etkisi değerlendirildiğinde, *PIP1* geninin ifade seviyesi Kırkpınar 79 genotipinde -6 bar'da kitosan konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azaldığı, yine Kırmızı Kılçık genotipinde tüm kitosan konsantrasyonlarında azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 8).



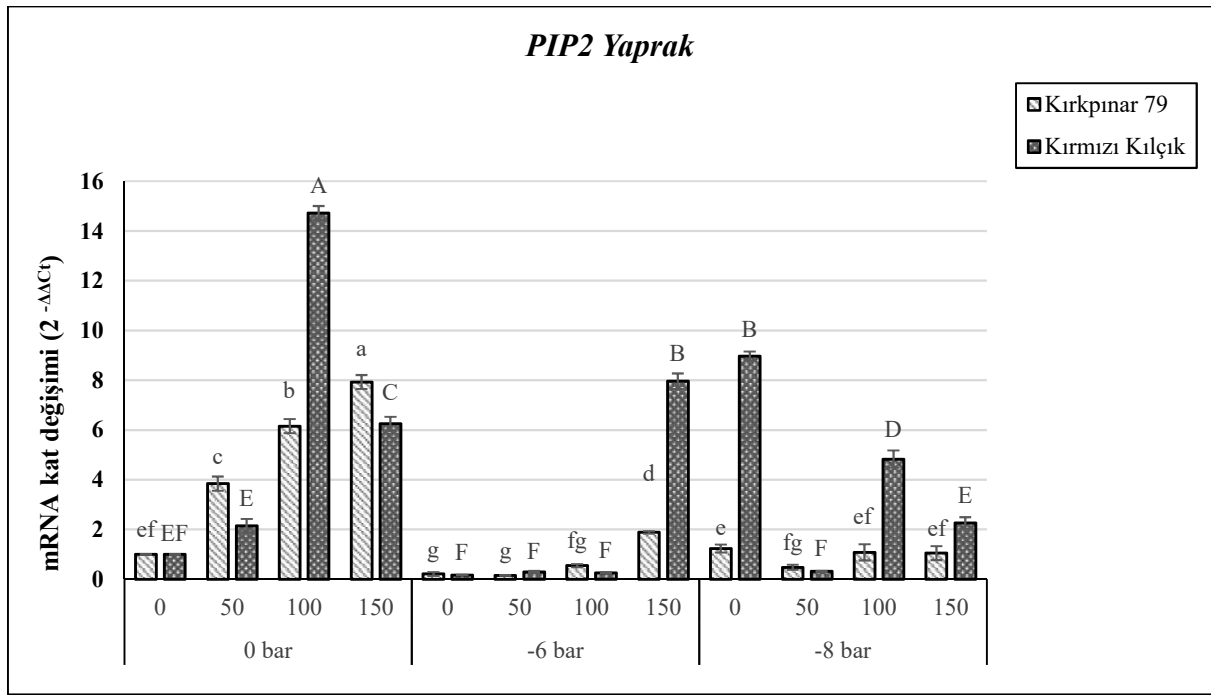
Şekil 8. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin yapraklarında *PIP1* geninin ifade değişimleri (2^{-ΔΔCt})

PIP2 geninin Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde kök dokusundaki ifade analiz sonucuna göre, PEG6000 ve kitosan uygulamalarının tek başına etkisi değerlendirildiğinde, PEG6000 uygulamalarında, Kırmızı Kılçık genotipinde *PIP2* geninin ifade seviyesinin her iki uygulamada da (-6 ve -8 bar) azaldığı, bu azalışın Kırkpınar 79 genotipinde -8 bar'da olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan *PIP2* geninin ifade seviyesine tek başına kitosan uygulamalarının (0 bar) etkisi değerlendirildiğinde, Kırkpınar 79 genotipinde *PIP2* geninin ifade seviyesinin tüm kitosan uygulamalarında değişkenlik gösterdiği belirlenirken, Kırmızı Kılçık genotipinde kitosan konsantrasyonunun artışına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Yine aynı uygulamada *PIP2* geninin ifade seviyesindeki en yüksek artış Kırmızı Kılçık genotipinde 150 mg/L kitosan (3,82) uygulamasında tespit edilmiştir. *PIP2* geninin ifadesi üzerine PEG6000 ve kitosan uygulamalarının kombinasyonlarının etkisi değerlendirildiğinde, *PIP2* geninin ifade seviyesi Kırkpınar 79 genotipinde PEG6000 ve kitosan uygulamalarının tüm kombinasyonlarında değişkenlik göstermiştir. Kırmızı Kılçık genotipinde *PIP2* geninin ifade seviyesi -6 bar'da, kitosan uygulamalarının artışına bağlı olarak artarken -8 bar ile kitosan uygulamalarında değişkenlik göstermiştir. Kırkpınar 79 genotipinde tüm uygulamalar içerisinde en yüksek *PIP2* geninin ifade seviyesi 150 mg/L kitosan (1,99) uygulamasında belirlenirken, Kırkpınar 79 genotipinde ise -6 bar ve 150 mg/L kitosan (4,45) uygulamasında belirlenmiştir. Genel olarak genotiplere göre *PIP2* geninin ifade seviyesindeki artışın Kırmızı Kılçık genotipinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Şekil 9).



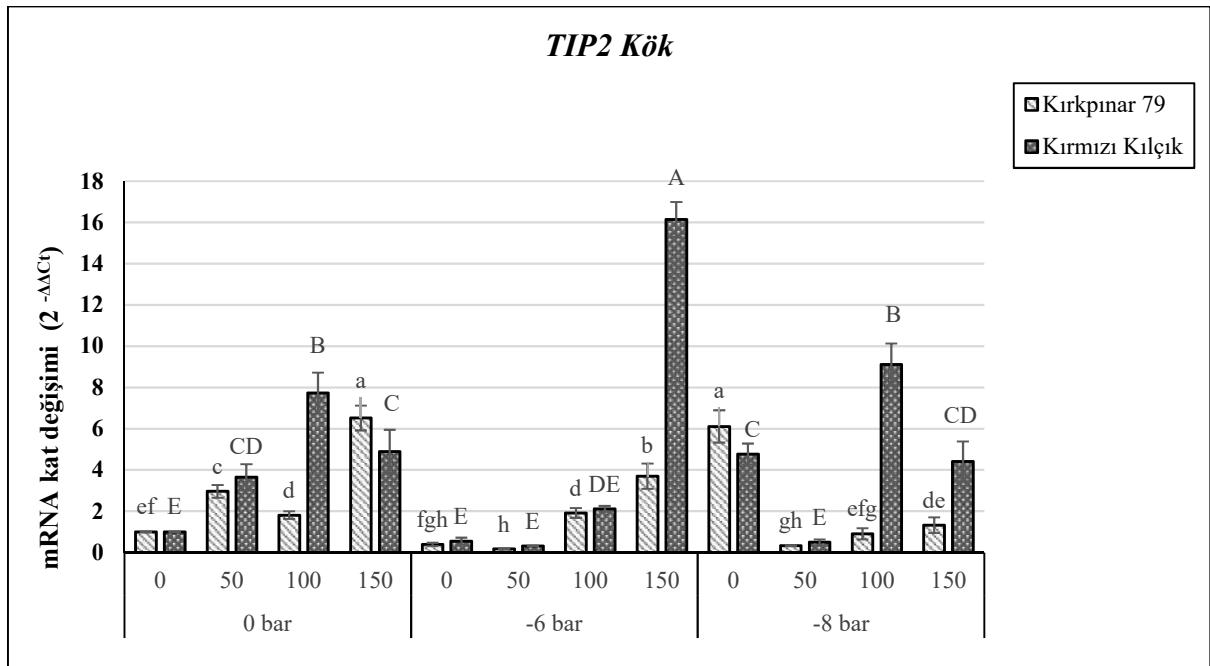
Şekil 9. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin köklerdeki *PIP2* geninin ifade değişimleri (2^{-ΔΔCt})

PIP2 geninin Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde yaprak dokusundaki ifade analiz sonucuna göre, PEG6000 ve kitosan uygulamalarının tek başına etkisi değerlendirildiğinde, PEG6000 uygulamalarında, *PIP2* geninin ifade seviyesinin her iki genotipte -6 bar'da azaldığı belirlenirken, -8 bar'da arttığı ve bu artışın Kırmızı Kılçık genotipinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde *PIP2* geninin ifade seviyesine tek başına kitosan (0 bar) uygulamaların etkisi ele alındığında, Kırkpınar 79 genotipinde *PIP2* geninin ifadesinin kitosan konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak arttığı belirlenirken, Kırmızı Kılçık genotipinde değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde tüm uygulamalar içinde *PIP2* geninin en yüksek ifade seviyesi 100 mg/L kitosan (14,72) uygulamasında Kırmızı Kılçık genotipinde belirlenirken, en düşük -6 bar ve 50 mg/L kitosan (0,15) uygulamasında Kırkpınar 79 genotipinde tespit edilmiştir (Şekil 10).



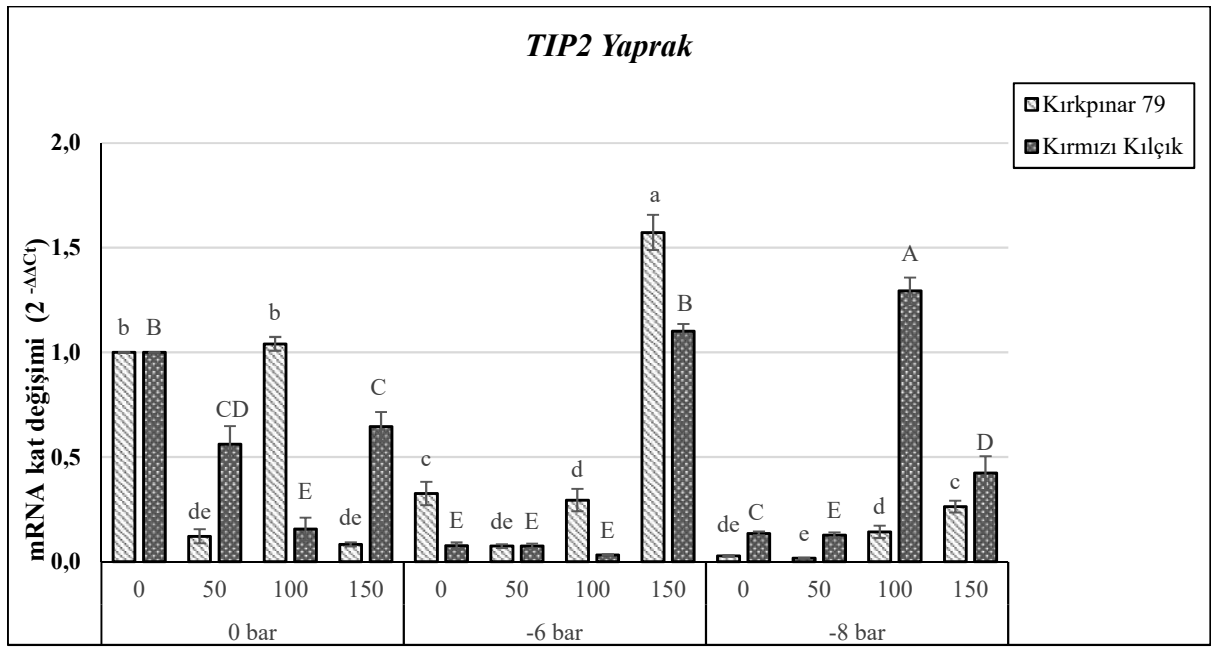
Şekil 10. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin yapraklardaki *PIP2* geninin ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

TIP2 geninin Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde kök dokusundaki ifade analiz sonucuna göre, PEG6000 ve kitosan uygulamalarının tek başına etkisi değerlendirildiğinde, PEG6000 uygulamalarında, *TIP2* geninin ifade seviyesinin her iki genotipte -6 bar'da azaldığı belirlenirken, -8 bar'da arttığı ve bu artışın Kırmızı Kılçık genotipinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Tek başına kitosan (0 bar) uygulamalarının *TIP2* geninin ifadesine etkisi değerlendirildiğinde, her iki genotipte *TIP2* geninin ifade seviyesinin kitosan uygulamasının tüm konsantrasyonlarında arttığı ve bu artışın uygulamalara göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde *TIP2* geninin ifade seviyesine PEG6000 ve kitosan konsantrasyonlarının kombinasyonlarından oluşan uygulamalarının etkisi değerlendirildiğinde, *TIP2* geninin en yüksek ifade seviyesi hem Kırkpınar 79 hem de Kırmızı Kılçık genotipinde -6 bar ve 150 mg/L kitosan (sırasıyla 3,69-16,14) uygulamasında belirlenirken, en yüksek azalış ise yine her iki genotipte -6 bar ve 50 mg/L kitosan (sırasıyla 0,17-0,31) uygulamasında tespit edilmiştir (Şekil 11).



Şekil 11. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin köklerindeki *TIP2* geninin ifade değişimleri (2^{-ΔΔCt})

TIP2 geninin Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde yaprak dokusundaki ifade analiz sonucuna göre, PEG6000 ve kitosan uygulamalarının tek başına etkisi değerlendirildiğinde, PEG6000 uygulamalarında, her iki genotipte *TIP2* geninin ifade seviyesinin tüm PEG6000 uygulamalarında azaldığı görülmüştür. Yine tek başına kitosan uygulamalarında (0 bar) *TIP2* geninin ifade seviyesinin sadece Kırkpınar 79 genotipinde 100 mg/L kitosan (1,04) uygulamasında arttığı belirlenirken, diğer tüm kitosan uygulamalarında her iki genotipte azaldığı tespit edilmiştir. Kırkpınar 79 ve Kırmızı Kılçık genotiplerinde *TIP2* geninin ifade seviyesine PEG6000 ve kitosan konsantrasyonlarının kombinasyonlarından oluşan uygulamalarının etkisi değerlendirildiğinde, *TIP2* geninin en yüksek ifade seviyesi hem Kırkpınar 79 hem de Kırmızı Kılçık genotipinde -6 bar ve 150 mg/L kitosan (sırasıyla 1,57-1,10) uygulamasında, sadece Kırmızı Kılçık genotipinde -8 bar ve 100 mg/L kitosan (1,29) uygulamasında tespit edilmiştir (Şekil 12).



Şekil 12. Kuraklık stresi ve kitosan uygulaması altındaki genotiplerin yapraklarında *TIP2* geninin ifade değişimleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan beslenmesinde ilk sırada tahıllar yer almaktadır (Emiroğlu 2017). Tahıllardan biri olan buğday dünyada önemli gıda ürünüdür ve ekonomik olarak büyük öneme sahiptir (Rashid *et al.* 2012). Abiyotik stres faktörleri kültür bitkilerinin verimliliğini azaltan en önemli çevresel faktörler olup, bitkilerin büyümelerini ve gelişimlerini olumsuz yönde etkilemektedir (Kaur and Gupta 2005). Aynı zamanda abiyotik stresler bitkilerde morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimlere neden olmaktadır (Ahmad *et al.* 2009). Abiyotik streslerden biri olan kuraklık stresi bitkilerde büyüme, verim, membran bütünlüğü, pigment içeriği, ozmotik uyum, su ilişkileri ve fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkilemektedir (Anjum *et al.* 2011).

Bitki hücre membranları, stresin ilk olarak etki gösterdiği yerlerden biridir ve kuraklık stresi genellikle hücre membranlarına hasar vermektedir (Mahajan and Tuteja 2005; He *et al.* 2011). Ashraf *et al.* (1992), hücre membran stabilitesinin yaprak dokusunun ozmotik potansiyelinden etkilendiğini bildirmişlerdir. Geravandi *et al.* (2011), yaptıkları çalışmada, kuraklığa toleranslı genotiplerin, duyarlı genotiplere kıyasla daha yüksek hücre membran stabilitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bulgularımızda, her iki genotipte de kuraklık stresine bağlı olarak hücre membran hasarının meydana geldiği ve kontrole kıyasla oldukça yüksek değerlere ulaştığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda meydana gelen hasarın toleranslı genotipe (Kırkpınar 79) kıyasla hassas genotipte (Kırmızı Kılçık) daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bunun muhtemel nedeninin yüksek kuraklık stresindeki bitkilerde su azalmasıyla birlikte meydana gelen turgor kaybının membran yapısında değişikliğe sebep olması ve stresin şiddetiyle artan reaktif oksijen türlerinin (ROT) lipid peroksidasyonuna yol açıp hücre membran hasarına neden olduğu düşünülmektedir (Kutlu 2010). Bulgularımıza benzer olarak Singh *et al.* (1992) kuraklık stresinin buğday genotiplerinde hücre membran hasarına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Bitkiler büyüme, gelişme ve verim için yeterli miktarda suya ihtiyaç duymaktadırlar (Mittler 2006). Bu nedenle bitkilerde emilen ve transpirasyon ile tüketilen su arasındaki denge oldukça önemlidir. Kuraklık stresi altında yaprak su potansiyelinin azalması sonucunda stomaların kapanması, YNSİ, su alınımlı ve kullanım etkinliğini büyük ölçüde azaltmaktadır (Keyvan 2010; Ghahfarokhi *et al.* 2015; Hassan *et al.* 2020; Abdelaal *et al.* 2021). Araştırmamızda artan kuraklık şiddetine göre değişmekle birlikte kuraklık stresinde her iki genotipte YNSİ’de azalma meydana gelmiş ve bu azalmanın hassas genotipte (Kırmızı Kılçık) daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Chandrasekar *et al.* (2000), yaptıkları çalışmada kuraklık

stresinin tüm buğday genotiplerinde YNSİ’de azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yine yapılan başka bir çalışmada (Siddique *et al.* 2000), buğdayda kuraklık stresinin, YNSİ’de önemli ölçüde düşüşe neden olduğu, buna eş zamanlı olarak yaprak sıcaklığının arttığı bildirilmiştir. Arjenaki *et al.* (2012), kuraklık stresi uygulanan farklı buğday genotiplerinde YNSİ’nin dayanıklı ve hassas genotipler arasında farklılık gösterdiğini ve YNSİ’nin, kontrol grubuna kıyasla iki genotipte de önemli ölçüde düştüğünü ancak, hassas genotiplerin yapraklarında azalmanın daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Saeidi *et al.* (2017), su stresinin, hassas buğday genotipinin YNSİ’de daha fazla azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Marček *et al.* (2019), kuraklık stresinin farklı buğday genotiplerinin YNSİ’de azalmaya yol açtığını ve bununla birlikte kuraklığa en dayanıklı genotipin, diğer genotiplere göre YNSİ’yi daha fazla koruduğunu tespit etmişlerdir. Tüm bu çalışmalar sonuçlarımız ile paralellik göstermektedir.

Kuraklık stresi, besinlerin köklerden alınmasını ve sürgünlere taşınmasını azaltmaktadır (Silva *et al.* 2011; Rouphael *et al.* 2012). Özellikle kurak şartlarda bitki hücrelerindeki fotosentez ile ilişkili tilakoid membran, besin (azot, kalsiyum, potasyum vb.), nem ve enerji eksikliği nedeniyle hasar görmektedir. Bu hasar sonucunda fizyolojik süreçler devamlılığını sağlayamayıp bozulmaktadır. Bu faktörler bitkilerde klorofil içeriğinin azalmasına sebep olmaktadır (Fang and Xiong 2014). Klorofil içeriği azot miktarı ile ilişkilidir. Kuraklığın neden olduğu azot eksikliği, yaprak alanının, klorofil pigmentinin azalmasına yol açarak fotosentezi olumsuz yönde etkilemektedir (Samborski *et al.* 2009; Fang and Xiong 2014; Hikosaka 2004; Bojović and Marković 2009). Kuraklık stresi altında buğday genotiplerinde yapılan birçok çalışma sonucunda klorofil miktarının azaldığı belirlenmiştir (Ziska *et al.* 1990; Qiuying *et al.* 2005; Fotovat *et al.* 2007). Bu çalışmalara paralel bir şekilde araştırmamızda kuraklık konsantrasyonunun artışına bağlı olarak iki genotipte de klorofil miktarının azaldığı, bu azalışın hassas genotipte (Kırmızı Kılçık) daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Yine farklı bir çalışmada (Basal *et al.* 2020), soya fasulyesinde şiddetli kuraklık şartlarında klorofil miktarının azaldığı belirlenmiştir.

Bitkilerde fotosentezin önemli bir bileşeni olan fotosistem II (PSII), kuraklık stresinden en çok etkilenen fotosentetik reaksiyon merkezidir ve kloroplastlarda artan ROT üretimi, PSII reaksiyon merkezlerine hasar vermektedir (Mundree *et al.* 2002; Guo *et al.* 2008; Ngara and Ndimba 2014; Guidi *et al.* 2019; Rapacz *et al.* 2019; Alemu 2020). Kloroplastın tilakoid membranından yayılan klorofil floresans genellikle PSII’deki fotosentetik reaksiyonun çok hassas bir göstergesi olup kuraklık stresinde azalmaktadır (Baker 2008; Guo *et al.* 2008; Van der Tol *et al.* 2009; Rahbarian *et al.* 2011; Guidi *et al.* 2019). F_v/F_m , PSII’ye verilen hasarı ve

fotoinhibisyonu belirlemek için kullanılan bir parametredir (Kocheva *et al.* 2004; Rahbarian *et al.* 2011; Rungrat *et al.* 2016). Nyachiro *et al.* (2001), su stresinin farklı buğday çeşitlerinde F_v/F_m %44,5 ile %55,7 arasında bir azalmaya yol açtığını belirlemişlerdir. Yine Bogale *et al.* (2011), su eksikliğinde buğday genotiplerinin F_v , F_m ve F_v/F_m değerlerini azaldığını, F_0 değerinin ise arttığını belirlemişlerdir. Li *et al.* (2006), arpada kuraklık stresinde hassas ve toleranslı genotiplerde F_0 değerinin arttığını, F_m , F_v ve F_v/F_m değerlerinin ise azaldığını belirtmişlerdir. Pirdashti *et al.* (2009), benzer şekilde çeltik çeşitlerinin farklı büyüme dönemlerinde uygulanan kuraklık stresinin F_v , F_m , F_v/F_m değerlerini azalttığını tespit etmişlerdir. Miyashita *et al.* (2005), kuraklık stresinin barbunya yapraklarında F_v/F_m değerini azaltarak fotosentetik hızı azalttığı belirlenmiştir. Bu çalışmalara paralel olarak araştırmamızda kuraklık şiddetinin artışına bağlı olarak iki genotipte F_m , F_v ve F_v/F_m değerlerinin azaldığı belirlenmiştir.

Kuraklık stresi bitkilerde ROT'ların ($O_2^{\bullet-}$, 1O_2 , $OH^{\bullet}$ ve H_2O_2) üretimini artırarak hücrel redoks homeostasisini bozmaktadır (Siddiqui *et al.* 2011; Caverzan *et al.* 2012). Artan ROT üretimi hidrolitik enzimlerin aktivasyonuna, proteinlere, nükleik asitlere, membran lipidlerine zarar vermektedir (Fang and Xiong 2015). ROT'un hücre membranında meydana getirdiği hasar sonucu, membran lipidlerinin oksitlenmiş bir ürünü olan MDA ürünü üretilmektedir. MDA içeriğindeki artış lipid peroksidasyonunun ve hücre membran hasarının göstergesidir (Bistgani *et al.* 2017; Godoy 2021; Ahmad *et al.* 2008; Bistgani *et al.* 2017; Morsy *et al.* 2007). Araştırmamızda her iki genotipte farklı kuraklık şiddetlerinde kontrole göre MDA miktarının artış gösterdiği ve bu artışın hassas genotipte (Kırmızı Kılçık) daha fazla olduğu belirlenmiştir. Araştırma bulgularımıza benzer olarak Tatar ve Gevrek (2008), çalışmalarında su stresinin buğday yapraklarındaki MDA içeriğinde bir artışa sebep olduğunu bildirmişlerdir. Yine bulgularımıza benzer şekilde Chakraborty and Pradhan (2012), su stresinin toleranslı buğday çeşitlerine göre hassas çeşitlerde MDA içeriğinin üç kat daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Chakraborty and Pradhan (2012), farklı çalışmalarında H_2O_2 ve lipid peroksidasyonunun kuraklık stresi nedeniyle önemli ölçüde arttığını belirtmişlerdir. Hasheminasab *et al.* (2012), kuraklık stresinin buğday genotiplerinin lipid peroksidasyonu ve H_2O_2 içeriğinde önemli bir artışa neden olduğunu, bununla birlikte bu artışın toleranslı genotiplerde daha düşük iken hassas genotiplerde daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Aliyeva *et al.* (2020), su stresinin kuraklığa toleranslı ve hassas genotiplerde H_2O_2 içeriğinin artırdığını bildirmişlerdir. Araştırmamızda her iki buğday genotipinde artan kuraklık şiddetine paralel olarak H_2O_2 miktarının artış ancak bu artışın hassas genotipte daha fazla olduğu görülmüştür.

Bitkiler stres sonucunda oksidatif hasardan korunmak için enzimatik (SOD, POD, CAT, APX, GR) ve enzimatik olmayan (karotenoidler, a-tokoferol ve askorbat vb.) antioksidan savunma sistemine sahiptirler (Ahmad *et al.* 2008; Lamhamdi *et al.* 2011; Caverzan *et al.* 2016; Pandhair and Sekhon 2006). Aynı zamanda APX, POD ve CAT enzimleri, SOD aktivitesi ile birlikte ROT'ların temizlenmesinde rolleri mevcuttur (Khan *et al.* 2015). Araştırmamızda kuraklık şiddetinin artışına bağlı olarak her iki genotipte de SOD ve POD miktarlarının artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bulgularımıza benzer olarak Qayyum *et al.* (2018) dehidrasyon stresinin toleranslı ve hassas buğday genotiplerinde SOD, POD, CAT aktivitelerinin stresin şiddetinin artmasına bağlı olarak artış gösterdiğini ve bu artışın özellikle -8 bar kuraklık stresinde daha belirgin olduğunu tespit etmişlerdir.

APX, askorbatı kullanarak H₂O₂'yi temizleyen antioksidan enzimler arasındadır. Farklı bitki türlerinde, çeşitli biyotik ve abiyotik streslere yanıt olarak APX aktivitesi artmaktadır. Sheoran *et al.* (2015), kuraklığa toleranslı buğday genotiplerinde yaptıkları çalışmada ozmotik potansiyelin azalmasıyla birlikte bazı antioksidan enzim aktivitelerinin (SOD ve POD) artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Tabarzad *et al.* (2017), kuraklık stresinin buğdayda CAT ve SOD enzim aktivitelerini artırdığı ve bu artışın buğdayda tane verimi pozitif ilişkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırma bulgularımıza göre kuraklık şiddetindeki artışa paralel olarak APX miktarında artış meydana geldiğini ve toleranslı genotipteki (Kırkpınar 79) APX miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bulgularımıza benzer olarak Naderi *et al.* (2014), buğdayda ozmotik stresin POD, CAT, GR ve APX miktarları üzerine önemli bir etkiye sahip olduğunu ve şiddetli stres koşullarında genel olarak en yüksek enzimatik aktivitenin toleranslı gruba ait olduğunu bildirmişlerdir.

Bitkilerde su taşınımı özellikle stres şartlarında önemli rol oynamaktadır. Kurak şartlarda köklerden yapraklara su taşınımı, hücre membranlarında bulunan AQP'lerin aktivitesi yoluyla düzenlenmektedir (Anjum *et al.* 2011; Kurowska *et al.* 2019; Hassan *et al.* 2020; Aroca 2012). PIP ve TIP'lar bitki hücrelerinin membranlarında (plazma membranında ve tonoplastlarda) en yaygın bulunan ve stres koşullarında su taşınımında önemli rolleri bulunan akuaporinlerdir. *Festuca arundinacea*'da kuraklık stresinde, her iki genotipte de *PIP1;2* ve *TIP1;1* ifade seviyelerinin azaldığı, *PIP2;1*'in ise sadece kuraklığa toleranslı genotipte azaldığı belirlenmiştir (Pawłowicz *et al.* 2017). Qian *et al.* (2015), salatalıkta kısa süreli kuraklık stresinin köklerde *CsPIP1;2* ve *CsPIP2;4* genlerinin ifade seviyelerinde önemli bir etkiye sahip olmadığını ve yaprak hidrolik iletkenliğindeki azalışın *CsPIP1;2* ve *CsPIP2;4* genlerinin ifade seviyelerinin azalması ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Transgenik *Arabidopsis* ve tütünde kuraklık ve tuz stresinde *PIP1* ve *PIP2* geninin ifade seviyesinin artışı ile birlikte strese

toleransın arttığı belirlenmiştir (Jang 2004). Mahdieh *et al.* (2008), tütünde kuraklık stresinde *NtPIP1;1* ve *NtPIP2;1*'in genlerinin ifade seviyelerinin azaldığını ve bu nedenle bitki köklerinde ozmotik hidrolik iletkenliğinin azaldığını bildirmişlerdir.

Zupin *et al.* (2017), kuraklık stresine toleranslı iki fasülye çeşidinde *PvPIP1;2*, *PvPIP2;7*, *PvTIP1;1* ve *PvTIP4;1* genlerinin ifadesinin azaldığını belirlemişlerdir. Araştırmamızda *PIP1* geninin ifadesinin kök dokusunda -6 bar'da her iki genotipte de azaldığı, -8 bar'da ise sadece Kırmızı Kılçık genotipinde arttığı tespit edilmiştir. Yine, *PIP1* geninin ifadesinin yaprak dokusunda -6 bar'da her iki genotipte de arttığı, -8 bar'da ise bu artışın yalnızca Kırmızı Kılçık genotipinde olduğu görülmüştür. *PIP2* geninin ifade seviyesinin ise -8 bar'da Kırmızı Kılçık genotipinde her iki doku tipinde de arttığı belirlenmiştir. Iwuala *et al.* (2019), *Pennisetum glaucum* L.'de kuraklık stresinde *PIP1;5* ve *PIP2;3* gen ifade seviyesinin genel olarak artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Madrid-Espinoza *et al.* (2018) su stresinin buğday genotiplerinde köklerde *TIP1* ve *TIP2* ve *PIP1* ve *PIP2*; yapraklarda ise *TIP1* ve *PIP1* akuaporinlerinin yüksek ifade seviyelerine sahip olduğu belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık stresinde, toleranslı genotipin yapraklarındaki 4 *TIP* geninin, hassas genotipteki ifade seviyelerine göre daha fazla olmasını kuraklık toleransı ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Kurowska *et al.* (2019), arpada kuraklık stresinde tonoplast akuaporin genlerinin (*HvTIP2;1*, *HvTIP2;2* ve *HvTIP2;3*) ifade seviyesinin azaldığını ve bu genlerin arpada kuraklık stresine adaptasyonunda önemli bir fonksiyona sahip olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda kuraklık stresinin (-8 bar'da) her iki genotipte de kök dokularında *TIP2* geninin ifade seviyesinde artışa neden olduğu belirlenmiştir.

Bitkiler çeşitli biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar aracılığıyla çevresel streslere yanıt vermektedirler (Miller *et al.* 2010; Suzuki *et al.* 2012; Zandalinas *et al.* 2020; Bailey-Serres *et al.* 2019). Bitkilerde abiyotik stresin, olumsuz etkilerinin hafifletilmesine yardımcı olabilecek spesifik bileşikler kullanılarak bitki tedavileri üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda yapılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bitki biyostimülantları abiyotik streslere karşı bitki toleransının artırılması için kullanılan çeşitli maddeler ya da mikroorganizmalardır. Bitki biyostimülantları bitkilerde verimi ve ürün kalitesini artırmak ve etkin su kullanımını için uygulanmaktadır (Calvo *et al.* 2014; Du Jardin 2015; Povero *et al.* 2016). Bitki biyostimülantlarından birisi olan kitosan, kitinin deasetillenmiş bir türevidir ve katyonik bir polisakkarittir. Bitkilerde, biyotik ve abiyotik stresler ile ilişkili birçok savunma mekanizmalarında etkin rollerinin olduğu yapılan birçok çalışmada (Sharp 2013; De Pascale *et al.* 2017; Hidangmayum *et al.* 2019) bildirilmiştir. Kitosan, bitki savunma yanıtında yer alan çeşitli genlerin ifade edilmesine ve bazı durumlarda bitki sekonder metabolitlerinin sentezine

neden olmaktadır (Katiyar *et al.* 2014). Kitosan aracılı sinyalizasyon yolunda H_2O_2 , Ca^{+2} nitrik oksit (NO) ve fitohormonlar gibi moleküller rol almaktadır (Iriti and Faoro 2009; Hadwiger 2013; Katiyar *et al.* 2014; Hidangmayum *et al.* 2019).

Kuraklık stresi hücresel dehidrasyona neden olur, bu da sitozolik ve vakuolar hacmin azalmasıyla sonuçlanan osmotik strese ve suyun sitoplazmadan ekstraselüler alana çıkarılmasına yol açar (Bartels and Sunkar 2005). Hücre membranının bütünlüğünün ve stabilitesinin korunması, bitkilerde kuraklık toleransının önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir (He *et al.* 2011). Araştırmamızda kuraklık stresinde farklı konsantrasyonlarda kitosan uygulamalarının tek başına stres uygulamasına göre her iki genotipte de hücre membran hasarını azalttığı belirlenmiştir. Mısırdaki düşük sıcaklık stresinde kitosanın tüm konsantrasyonlarının toleranslı ve hassas mısır hatlarında membran bütünlüğünü koruyarak MDA miktarında ve plazma membranının geçirgenliğinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (Guan *et al.* 2009). Diğer taraftan, YNSİ bitkilerde kuraklık toleransının önemli bir göstergesidir (Pask *et al.* 2012; Raza *et al.* 2017). Kurak şartlarda kitosan yaprak yüzeyini bir film gibi kaplayarak stomal kapanmayı sağlamaktadır. Bunun sonucunda yapraklardan transpirasyonu önleyerek bitki su kullanım verimliliğini iyileştirmektedir (Bittelli *et al.* 2001; Ludwig *et al.* 2010; Almeida *et al.* 2020). Bulgularımızda YNSİ'nin kitosan uygulamalarının gerek stressiz şartlarda ve gerekse stres şartlarında her iki genotipte de konsantrasyon artışına bağlı olarak artırdığı tespit edilmiştir. Bulgularımıza benzer olarak Behboudi *et al.* (2019), buğdayda kuraklık stresinde kitosanın YNSİ'nde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmamızda kuraklık stresinde kitosan konsantrasyonlarının her iki genotipte klorofil miktarında artışa neden olduğu ve stresin etkisini azalttığı belirlenmiştir. Hafez *et al.* (2020), kuraklık stresinde kitosan uygulamasının klorofil miktarı ve YNSİ'nde önemli artışa yol açtığını bildirmişlerdir. Zou *et al.* (2015), buğdayda kitooligosakkaritlerin abiyotik stres şartlarında klorofil içeriğini artırdığını tespit etmişlerdir. Bitkilerde kitosanın su ve yaprak transpirasyon hızı arasında dengeyi sağlamakla birlikte osmotik stres altındaki klorofil sentezini de onarmaktadır. Ayrıca, kitosanın yapısında bulunan amino bileşiklerinin yüksek mevcudiyeti, klorofil sentezinin uyarılmasını sağlamaktadır (Hidangmayum *et al.* 2019; Zhao *et al.* 2019). Araştırmamızda gerek stres şartlarında ve gerekse stressiz şartlarda uygulanan kitosan klorofil floresans parametrelerini (F_v , F_m , F_v/F_m) artırdığı saptanmıştır. ALKahtani *et al.* (2020), tuzluluk stresinde azalan F_v/F_m değerinin kitosan uygulaması ile önemli seviyede arttığını tespit etmişlerdir. Bu artışın sebebi kitosanın ROT'lar ($O_2^{\cdot-}$, $OH^{\cdot}$ ve H_2O_2) ile reaksiyona girebilecek çok sayıda hidroksil ve amino grubu içeren yapısı nedeniyle antioksidan özellik gösterebilmesidir (Yang *et al.* 2009; Sharp 2013).

Araştırmamızda her iki genotipte de artan kuraklık şiddetine bağlı olarak MDA ve H₂O₂ miktarlarının artış gösterdiği, ancak stres şartlarında (-6 ve -8 bar) uygulanan kitosan ile MDA ve H₂O₂ miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Zeng and Luo 2012), kuraklık stresinde kitosanın buğdayda tohumların kitosan ile kaplanması stres uygulanan gruba göre MDA içeriğini azalttığı bildirilmiştir. Zhang *et al.* (2018), ak üçgülde (*Trifolium repens* L.) kitosanın O₂^{•-}, H₂O₂ ve MDA miktarlarında bir düşüşe yol açarak kuraklığın neden olduğu oksidatif hasarı etkili bir şekilde azalttığını gözlemlemişlerdir.

Kitosan bitkinin türü ve gelişim aşamasına bağlı olarak biyokimyasal tepkiyi indükleyen doğal bir biyopolimer olduğu bilinmektedir (Kurtuluş ve Vardar 2020). Aynı zamanda kuraklık stresinde kitosan uygulaması SOD, POD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin üretimini artırarak hücrelerde oksidatif hasara karşı membran bütünlüğünü korumaktadır (Pichyangkura and Chadchawan 2015; Hidangmayum *et al.* 2019). Araştırmamızda, gerek stressiz şartlarda kitosan uygulamalarında ve gerekse tek başına stres uygulamalarına göre stres şartlarında uygulanan kitosanın her iki doku tipinde de (kök ve yaprak) SOD, POD ve APX enzim miktarlarını önemli düzeyde arttırdığı ve bu artışın hassas genotipe göre toleranslı genotipte daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durum kitosanın antioksidan özellik göstermesinden kaynaklanmaktadır (Yang *et al.* 2009; Sharp 2013). Bulgularımıza benzer olarak Jiao *et al.* (2012), patatesten kuraklık stresinden önce uygulanan kitosanın (50, 100 ve 200 mg/L), yapraklarda SOD ve POD aktivitelerini arttırdığını tespit etmişlerdir. Zhao *et al.* (2019), tek yıllık çimde (*Lolium multiflorum* Lam.) kuraklık stresinde kitosanın MDA içeriğini azalttığı, SOD, CAT, POD ve APX aktivitelerini artırdığını rapor etmişlerdir. Yine farklı bir çalışmada (Shehzad *et al.* 2020), kuraklık stresi altında ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.) potasyum (K⁺) ve kitosan kombinasyonunun antioksidan enzim aktivitelerini (CAT, POD, APX ve SOD) arttırdığı ve bitkinin su içeriğinin korunduğu belirlenmiştir. Liu *et al.* (2020), *Agrostis stolonifera*'da kitosanın SOD, POD, CAT ve APX miktarlarını artırarak kuraklığın neden olduğu oksidatif hasarı önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Ali *et al.* (2021) yaptıkları çalışmada kuraklık stresinde *Catharanthus roseus*'ta kitosan nanopartiküllerinin prolin birikimini, CAT ve APX aktivitesini artırdığı, H₂O₂ ve MDA miktarını azalttığı ve membran bütünlüğünün korunduğunu bildirmişlerdir.

Su stresi altındaki bitki hücrelerinde osmotik uyum, kuraklık koşullarına yaygın bir fizyolojik adaptasyon olarak bilinir (Bistgani *et al.* 2017). Kuraklığa tepki olarak, turgorun korunmasına yardımcı olan polisakkaritlerin parçalanması nedeniyle toplam çözünür şeker birikimi artarak kuraklık toleransı gelişir. Kitosan bitkilerde, çeşitli karbonhidratları (glukoz, fruktoz, mannoz, trehaloz, sorbitol ve miyoinositol) arttırmaktadır. Bu karbonhidratlar, su

stresine yanıt olarak ozmotik uyumdaki artış ve karbon dengesinin korunması yoluyla kuraklık direncinin artmasına katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle kitosan ozmotik uyumda pozitif düzenleyici olarak işlev görürerek kuraklık stresinin olumsuz etkisini ortadan kaldırmaktadır (Hidangmayum *et al.* 2009). Osmotik uyum maddelerinin biyosentezini ve metabolizma yollarını kontrol eden genlerin daha fazla karakterizasyonunu sağlamaktadır (Fang and Xiong 2015).

Kuraklık stresinde, bitkilerin su dengelerini korunması önemlidir ve bu denge AQP proteinlerinin gen ifadeleri ile düzenlenebilir (Hassan *et al.* 2017). Bitki hücrelerinde AQP'lerin önemli bir hücresel işlevi osmoregülasyondur (Maurel *et al.* 2015; Fang and Xiong 2015). Kuraklık stresi, AQP genlerinin ifadesini ve işlevini etkilemektedir. Bitkilerde AQP'lerin fitohormonlar tarafından düzenlenmesi, bitkilerde su alımını ve hareketini koruyarak çevresel streslere verilen tepkilerde rol oynamaktadır. Genel olarak AQP'ler, gibberellinler, ABA, sitokininler, metil jasmonat ve oksinler (indol asetik asit) tarafından düzenlenmektedir. Jasmonik asit (JA) birikimi, kuraklıktan etkilenen dokularda ABA seviyesini uyarır ve stoma hareketini düzenler (Ahmed *et al.* 2021). Kuraklığa bağlı hormon ABA sadece stoma kapanmasını indüklemekle kalmaz, aynı zamanda tüm bitkide bitki AQP fonksiyonunu da düzenlemektedir (Li *et al.* 2014). Kitosan, bitkilerde JA ve ABA biyosentezine neden olarak su kullanım etkinliğini artırmaktadır (Hawiger 2013; Katiyar *et al.* 2014; Hidangmayum *et al.* 2019). Yapılan çalışmalar tarafından kitosanın stomatal kapanma yoluyla transpirasyonu azaltan etkili bir antitranspirant olduğu öne sürülmektedir (Hidangmayum *et al.* 2019).

Araştırmamızda tek başına kitosan uygulamalarında (0 bar) PIP1'in ifadesinin iki genotipte ve kök dokusunda artarken, yaprak dokusunda genel olarak azaldığı belirlenmiştir. PIP2 geninin ifadesinin ise iki genotipte de kök dokusuna kıyasla yaprak dokusunda arttığı belirlenmiştir. TIP2 geninin ifadesinin ise iki genotipte kök dokusunda arttığı, bunun aksine genel olarak yaprak dokusunda azaldığı görülmüştür. AQP gen ifadeleri kuraklık stresi tepkisine, stresin seviyelerine, akuaporin izoformuna, dokuya, türlere, simbiyontların varlığına ve dehidrasyona neden olan uyaranlara bağlı olarak oldukça değişken olduğu Afzal *et al.* (2016) tarafından bildirilmiştir. Bulgularımızda farklı kuraklık şiddetleri (-6 bar ve -8 bar) ile birlikte kitosan uygulamalarının AQP genlerin ifade seviyelerinde değişmekte olup genel olarak artırdığı tespit edilmiştir. Bunun muhtemel nedeninin bu antitranspirant maddeler yaprak yüzeyinin bir kısmını kaplayarak ve stoma kapanmasını sağlayarak kuraklık koşulları altında su kaybını azaltıp bitkinin su kullanım verimliliğini artırdığı düşünülmektedir (Ludwig *et al.* 2010). Araştırmamızda farklı kuraklık şiddetlerinde (-6 ve -8 bar) uygulanan kitosanın genel olarak tek başına kuraklık stresi uygulamalarına göre *PIP1*, *PIP2* ve *TIP2* ve genlerinin

ifadesinin toleranslı genotipe kıyasla hassas genotipte genel bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç ve Öneriler

1. Kuraklık stresinin, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri olumsuz yönde etkilediği bu etkinin yüksek kuraklık konsantrasyonlarında daha fazla olduğu ve bu etkinin genotiplere göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.
2. Kitosan uygulamasının kuraklık stresinin neden olduğu olumsuz etkileri azalttığı özellikle en yüksek kuraklık konsantrasyonunda (-8 bar) 150 mg/L kitosanın en iyi konsantrasyon olduğu belirlenmiştir.
3. Araştırmada, kuraklık stresi altında *PIP1*, *PIP2* ve *TIP2* geninin ifade seviyesinin değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.
4. Gerek kuraklık stresinde gerekse stressiz şartlarda kitosan uygulamasında her iki genotipte *PIP1*, *PIP2* ve *TIP2* genlerinin ifadelerinin genel olarak kök dokusunda arttığı, yaprak dokusunda ise değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Yine bu genlerin ifade seviyelerinin toleranslı genotipe kıyasla hassas genotipte daha fazla artış olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuca göre bu genlerin stres koşullarında önemli rollerinin olduğu düşünülmektedir.
5. Kurak ve yarı kurak alanlarda bitkiler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla kitosanın eksojen olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aasen, H., Van Wittenberghe, S., Sabater Medina, N., Damm, A., Goulas, Y., Wieneke, S., ... & Cendrero-Mateo, M. P. (2019). Sun-induced chlorophyll fluorescence II: Review of passive measurement setups, protocols, and their application at the leaf to canopy level. *Remote Sensing*, 11(8), 927.
- Abdelaal, K., AlKahtani, M., Attia, K., Hafez, Y., Király, L., & Künstler, A. (2021). The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. *Biology*, 10(6), 520.
- Abdelaal, K., Attia, K. A., Niedbała, G., Wojciechowski, T., Hafez, Y., Alamery, S., ... & Arafa, S. A. (2021). Mitigation of Drought Damages by Exogenous Chitosan and Yeast Extract with Modulating the Photosynthetic Pigments, Antioxidant Defense System and Improving the Productivity of Garlic Plants. *Horticulturae*, 7(11), 510.
- Abid, M., Ali, S., Qi, L. K., Zahoor, R., Tian, Z., Jiang, D., ... & Dai, T. (2018). Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific reports*, 8(1), 1-15.
- Abu-Muriefah, S. S. (2013). Effect of chitosan on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown under water stress conditions. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 3(6), 192-199.
- Afzal, Z., Howton, T. C., Sun, Y., & Mukhtar, M. S. (2016). The roles of aquaporins in plant stress responses. *Journal of developmental biology*, 4(1), 9.
- Ahmad, I., Mahmood, N., Khaliq, I., Khan, N., & Secretariat, E. F. (2016). Genetic analysis for five important morphological attributes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 26(3), 725-730.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Azooz, M. M., & Nabi, G. (2009). Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Botany Research International*, 2(1), 11-20.
- Ahmad, P., Sarwat, M., & Sharma, S. (2008). Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *Journal of Plant Biology*, 51(3), 167-173.
- Ahmad, Z., Waraich, E. A., Akhtar, S., Anjum, S., Ahmad, T., Mahboob, W., ... & Rizwan, M. (2018). Physiological responses of wheat to drought stress and its mitigation approaches. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(4), 1-13.
- Ahmed, K., Shabbir, G., Ahmed, M., & Shah, K. N. (2020). Phenotyping for drought resistance in bread wheat using physiological and biochemical traits. *Science of The Total Environment*, 729, 139082.
- Ahmed, S., Kouser, S., Asgher, M., & Gandhi, S. G. (2021). Plant aquaporins: A frontward to make crop plants drought resistant. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 1089-1105.
- Akbaş, A. (2014). Türkiye üzerindeki önemli kurak yıllar (Important Drought Years over Turkey). *Coğrafi Bilimler Dergisi/Turkish Journal of Geographical Sciences*, 12(2), 101-118.

- Akram, M. (2011). Growth and yield components of wheat under water stress of different growth stages. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 36(3), 455-468.
- Alemu, S. T. (2020). Photosynthesis limiting stresses under climate change scenarios and role of chlorophyll fluorescence: A review article. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), 1785136.
- Ali, E. F., El-Shehawi, A. M., Ibrahim, O. H. M., Abdul-Hafeez, E. Y., Moussa, M. M., & Hassan, F. A. S. (2021). A vital role of chitosan nanoparticles in improvisation the drought stress tolerance in *Catharanthus roseus* (L.) through biochemical and gene expression modulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 161, 166-175.
- Aliyeva, D. R., Aydinli, L. M., Pashayeva, A. N., Zulfugarov, I. S., & Huseynova, I. M. (2020). Photosynthetic machinery and antioxidant status of wheat genotypes under drought stress followed by rewatering. *Photosynthetica*, 58(5), 1217-1225.
- ALKahtani, M. D., Attia, K. A., Hafez, Y. M., Khan, N., Eid, A. M., Ali, M. A., & Abdelaal, K. A. (2020). Chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant defense system can display salt tolerance of salt acclimated sweet pepper plants treated with chitosan and plant growth promoting rhizobacteria. *Agronomy*, 10(8), 1180.
- Allen, A. M., Winfield, M. O., Burridge, A. J., Downie, R. C., Benbow, H. R., Barker, G. L., ... & Scopes, G. (2017). Characterization of a Wheat Breeders' Array suitable for high-throughput SNP genotyping of global accessions of hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*). *Plant biotechnology journal*, 15(3), 390-401.
- Almeida, L. G., Magalhães, P. C., Karam, D., Silva, E. M. D., & Alvarenga, A. A. (2020). Chitosan application in the induction of water deficit tolerance in maize plants. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 42.
- Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African journal of agricultural research*, 6(9), 2026-2032.
- Anonim, 2021. Hububat Sektör Raporu. Türkiye Cumhuriyeti Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü, <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/hububat/hububatraporu2016.pdf> (15.06.2021).
- Arjenaki, F. G., Jabbari, R., & Morshedi, A. (2012). Evaluation of drought stress on relative water content, chlorophyll content and mineral elements of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, 4(11), 726-729.
- Aroca, R. (2012). Plant responses to drought stress. *From morphological to molecular features*. Berlin: Springer-Verlag.
- Ashraf, M. (2010). Inducing drought tolerance in plants: recent advances. *Biotechnology advances*, 28(1), 169-183.
- Ashraf, M. Y., Khan, A. H., & Azmi, A. R. (1992). Cell membrane stability and its relation with some physiological processes in wheat. *Acta Agronomica Hungarica*, 41, 183-183.
- Bailey-Serres, J., Parker, J. E., Ainsworth, E. A., Oldroyd, G. E., & Schroeder, J. I. (2019). Genetic strategies for improving crop yields. *Nature*, 575(7781), 109-118.
- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 89-113.

- Baker, N. R., & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of experimental botany*, 55(403), 1607-1621.
- Banks, J. M. (2018). Chlorophyll fluorescence as a tool to identify drought stress in *Acer* genotypes. *Environmental and experimental botany*, 155, 118-127.
- Barnabás, B., Jäger, K., & Fehér, A. (2008). The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, cell & environment*, 31(1), 11-38.
- Barr, H. D., & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust J Biol Sci*, 15(3), 413-428.
- Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical reviews in plant sciences*, 24(1), 23-58.
- Basal, O., Szabó, A., & Veres, S. (2020). Physiology of soybean as affected by PEG-induced drought stress. *Current Plant Biology*, 22, 100135.
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., & Pereira, A. (2016). Plant adaptation to drought stress. *F1000Research*, 5.
- Behboudi, F., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Kassae, M. Z., Modarres-Sanavy, S. A. M., Sorooshzadeh, A., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2019). Evaluation of chitosan nanoparticles effects with two application methods on wheat under drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 42(13), 1439-1451.
- Bhaduri, A. M., & Fulekar, M. H. (2012). Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(1), 55-69.
- Bistgani, Z. E., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Pirbalouti, A. G., & Hashemi, M. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, 5(5), 407-415.
- Biswas, D. K., Xu, H., Li, Y. G., Liu, M. Z., Chen, Y. H., Sun, J. Z., & Jiang, G. M. (2008). Assessing the genetic relatedness of higher ozone sensitivity of modern wheat to its wild and cultivated progenitors/relatives. *Journal of Experimental Botany*, 59(4), 951-963.
- Bittelli, M., Flury, M., Campbell, G. S., & Nichols, E. J. (2001). Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. *Agricultural and Forest Meteorology*, 107(3), 167-175.
- Bogale, A., Tesfaye, K., & Geleto, T. (2011). Morphological and physiological attributes associated to drought tolerance of Ethiopian durum wheat genotypes under water deficit condition. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 1(2), 22-36.
- Bojović, B., & Marković, A. (2009). Correlation between nitrogen and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Kragujevac Journal of Science*, 31(5827), 69-74.
- Boonlertnirun, S., Sarobol, E. D., Meechoui, S., & Sooksathan, I. (2007). Drought recovery and grain yield potential of rice after chitosan application. *Agriculture and Natural Resources*, 41(1), 1-6.
- Bouchemal, K., Bouldjadj, R., Belbekri, M. N., Ykhlef, N., & Djekoun, A. (2017). Differences in antioxidant enzyme activities and oxidative markers in ten wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes in response to drought, heat and paraquat stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63(5), 710-722.

- Börner, A., Chebotar, S., & Korzun, V. (2000). Molecular characterization of the genetic integrity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm after long-term maintenance. *Theoretical and Applied Genetics*, 100(3-4), 494-497.
- Bulisani, E. A., & Warner, R. L. (1980). Seed Protein and Nitrogen Effects Upon Seedling Vigor in Wheat 1. *Agronomy Journal*, 72(4), 657-662.
- Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and soil*, 383(1), 3-41.
- Caverzan, A., Casassola, A., & Brammer, S. P. (2016). Antioxidant responses of wheat plants under stress. *Genetics and molecular biology*, 39(1), 1-6.
- Caverzan, A., Passaia, G., ROTa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., & Margis-Pinheiro, M. (2012). Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and molecular biology*, 35(4), 1011-1019.
- Chakraborty, U., & Pradhan, B. (2012). Drought stress-induced oxidative stress and antioxidative responses in four wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 58(6), 617-630.
- Chakraborty, U., & Pradhan, B. (2012). Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H₂O₂ accumulation. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24, 117-130.
- Chandrasekar, V., K. Sairam, R., & Srivastava, G. C. (2000). Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 185(4), 219-227.
- Choudhury, S., Panda, P., Sahoo, L., & Panda, S. K. (2013). Reactive oxygen species signaling in plants under abiotic stress. *Plant signaling & behavior*, 8(4), e23681.
- Çeri, S., & Acar, R. (2019). Serin iklim tahıllarının hayvan beslemede yeşil ve kuru ot olarak kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 8(1), 178-194.
- da Silva, E. C., Nogueira, R. J. M. C., da Silva, M. A., & de Albuquerque, M. B. (2011). Drought stress and plant nutrition. *Plant stress*, 5(1), 32-41.
- Danyali, S. F., Vahed, M. M., Alavikia, S. S., Lahiji, H. S., & Norouzi, M. (2019). Effects of drought on expression patterns of genes encoding the antioxidant enzymes associated with chloroplasts in wheat. *Biologia plantarum*, 63, 575-585.
- De Pascale, S., Rouphael, Y., & Colla, G. (2017). Plant biostimulants: Innovative tool for enhancing plant nutrition in organic farming. *Eur. J. Hort. Sci*, 82(6), 277-285.
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14.
- Dubey, S. K., Pandey, A., & Sangwan, R. S. (2016). Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Crop Modification. *Nutrition, and Food Production. Elsevier*.
- El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., & Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine drugs*, 8(4), 968-987.
- ElBasyoni, I., Saadalla, M., Baenziger, S., Bockelman, H., & Morsy, S. (2017). Cell membrane stability and association mapping for drought and heat tolerance in a worldwide wheat collection. *Sustainability*, 9(9), 1606.
- Emiroğlu, M. (2017). Türkiye'nin Beslenme Problemi ve Buğday Üretimi. *Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 22(1-2).

- Engert, N., & Honermeier, B. (2012). Characterization of grain quality and phenolic acids in ancient wheat species (*Triticum* sp.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84(1), 33.
- Esfandiari, E., Shakiba, M. R., Mahboob, S. A., Alyari, H., & Toorchi, M. (2007). Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5(1), 149.
- Faizan, M., Rajput, V. D., Al-Khuraif, A. A., Arshad, M., Minkina, T., Sushkova, S., & Yu, F. (2021). Effect of Foliar Fertigation of Chitosan Nanoparticles on Cadmium Accumulation and Toxicity in *Solanum lycopersicum*. *Biology*, 10(7), 666.
- Fang, Y., & Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and molecular life sciences*, 72(4), 673-689.
- FAO, 2022. <http://www.fao.org/> (10.03.2022).
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. B. S. M. A., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable agriculture*, 153-188.
- Farouk, S., & Amany, A. R. (2012). Improving growth and yield of cowpea by foliar application of chitosan under water stress. *Egyptian Journal of Biology*, 14, 14-16.
- Fotovat, R., Valizadeh, M., & Toorchi, M. (2007). Association between water-use efficiency components and total chlorophyll content (SPAD) in wheat (*Triticum aestivum* L.) under well-watered and drought stress conditions. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5(3/4), 225.
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2006). CROSstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Current opinion in plant biology*, 9(4), 436-442.
- Geravandi, M., Farshadfar, E., & Kahrizi, D. (2011). Evaluation of some physiological traits as indicators of drought tolerance in bread wheat genotypes. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 69-75.
- Ghaffari, M., Toorchi, M., Valizadeh, M., & Shakiba, M. R. (2012). Morpho-physiological screening of sunflower inbred lines under drought stress condition. *Turkish Journal of Field Crops*, 17(2), 185-190.
- Gholamin, R., & Khayatnezhad, M. (2020). The effect of dry season stretch on Chlorophyll Content and RWC of Wheat Genotypes (*Triticum Durum* L.). *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 13(4), 1829-1833.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Godoy, F., Olivos-Hernández, K., Stange, C., & Handford, M. (2021). Abiotic stress in crop species: improving tolerance by applying plant metabolites. *Plants*, 10(2), 186.
- 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 (PCTOC)*, 137(3), 575-585.
- Goodarzian Ghahfarokhi, M., Mansurifar, S., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Saeidi, M., Jamshidi, A. M., & Ghasemi, E. (2015). Effects of drought stress and rewatering on antioxidant systems and relative water content in different growth stages of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 61(4), 493-506.

- Gorbe, E., & Calatayud, A. (2012). Applications of chlorophyll fluorescence imaging technique in horticultural research: A review. *Scientia Horticulturae*, 138, 24-35.
- Gratão, P. L., Polle, A., Lea, P. J., & Azevedo, R. A. (2005). Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional plant biology*, 32(6), 481-494.
- Gu, Y. Q., Salse, J., Coleman-Derr, D., Dupin, A., CROTsmán, C., Lazo, G. R., ... & Charles, M. (2006). Types and rates of sequence evolution at the high-molecular-weight glutenin locus in hexaploid wheat and its ancestral genomes. *Genetics*, 174(3), 1493-1504.
- Guan, Y. J., Hu, J., Wang, X. J., & Shao, C. X. (2009). Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zhejiang University Science B*, 10(6), 427-433.
- Guidi, L., Landi, M., & Lo Piccolo, E. (2019). Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species?. *Frontiers in plant science*, 10, 174.
- Guo, P., Baum, M., Varshney, R. K., Graner, A., Grando, S., & Ceccarelli, S. (2008). QTLs for chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in barley under post-flowering drought. *Euphytica*, 163(2), 203-214.
- Hadwiger, L. A. (2013). Multiple effects of chitosan on plant systems: solid science or hype. *Plant science*, 208, 42-49.
- Hafez, Y., Attia, K., Alamery, S., Ghazy, A., Al-Doss, A., Ibrahim, E., ... & Abdelaal, K. (2020). Beneficial effects of biochar and chitosan on antioxidative capacity, osmolytes accumulation, and anatomical characters of water-stressed barley plants. *Agronomy*, 10(5), 630.
- Haider, N. (2013). The origin of the B-genome of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Russian Journal of Genetics*, 49(3), 263-274.
- Hasheminasab, H., Assad, M. T., Aliakbari, A., & Sahhafi, S. R. (2012). Influence of drought stress on oxidative damage and antioxidant defense systems in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Journal of Agricultural Science*.
- Hassan, M. U., Aamer, M., Chattha, M. U., Ullah, M. A., Sulaman, S., Nawaz, M., ... & Guoqin, H. (2017). The role of potassium in plants under drought stress: Mini review. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 13, 268-271.
- Hassnain, M., Alam, I., Ahmad, A., Basit, I., Ullah, N., Alam, I., ... & Shair, M. M. (2020). Efficacy of chitosan on performance of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plant under water stress condition. *Pak. J. Agric. Res*, 33, 27-41.
- He, C., Zhang, W., Gao, Q., Yang, A., Hu, X., & Zhang, J. (2011). Enhancement of drought resistance and biomass by increasing the amount of glycine betaine in wheat seedlings. *Euphytica*, 177(2), 151-167.
- He, L., Jia, X., Gao, Z., & Li, R. (2011). Genotype-dependent responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings to drought, UV-B radiation and their combined stresses. *African Journal of Biotechnology*, 10(20), 4046-4056.
- Hemdane, S., Jacobs, P. J., Dornez, E., Verspreet, J., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2016). Wheat (*Triticum aestivum* L.) bran in bread making: a critical review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(1), 28-42.
- Hidangmayum, A., Dwivedi, P., Katiyar, D., & 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.

- Hikosaka, K. (2004). Interspecific difference in the photosynthesis–nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal of plant research*, 117(6), 481-494.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 541-549.
- Huseynova, I. M. (2012). Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817(8), 1516-1523.
- Iriti, M., & Faoro, F. (2009). Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. *Plant signaling & behavior*, 4(1), 66-68.
- Iwuala, E., Odjegba, V., Sharma, V., & Alam, A. (2019). Drought stress modulates expression of aquaporin gene and photosynthetic efficiency in *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. genotypes. *Current Plant Biology*, 100131.
- 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), 1699-1705.
- Jaleel, C. A., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H. J., ... & Panneerselvam, R. (2009). Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(3), 427-436.
- Jan, H., Zia-ul-Haq, M., Akhtar, Z. R., Afzal, W., Naveed, S. A., Raza, S., & Latif, M. (2018). Varietal screening of advance wheat genotypes against wheat aphids and association of natural enemies.
- Jang, J.Y., Kim, D.G., Kim, Y.O., Kim, J.S. and Kang, H., 2004. An expression analysis of a gene family encoding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 54, 713-725.
- Jankielsohn, A., & Miles, C. (2017). How do older wheat cultivars compare to modern wheat cultivars currently on the market in South Africa. *Journal of Horticultural Science and Research*, 1(2), 42-47.
- Jiang, X. L., Tian, J. C., Zhi, H., & Zhang, W. D. (2008). Protein content and amino acid composition in grains of wheat-related species. *Agricultural Sciences in China*, 7(3), 272-279.
- Jiao, Z., Li, Y., Li, J., Xu, X., Li, H., Lu, D., & Wang, J. (2012). Effects of exogenous chitosan on physiological characteristics of potato seedlings under drought stress and rehydration. *Potato Research*, 55(3), 293-301.
- Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., ... & Singla-Pareek, S. L. (2016). Transcription factors and plants response to drought stress: current understanding and future directions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1029.
- Juroszek, P., & von Tiedemann, A. (2013). Climate change and potential future risks through wheat diseases: a review. *European Journal of Plant Pathology*, 136(1), 21-33.
- Kaçar, B., Öztürk, Ş., (2006). Bitki Fizyolojisi. Nobel yayın, Ankara.
- Kapilan, R., Vaziri, M., & Zwiazek, J. J. (2018). Regulation of aquaporins in plants under stress. *Biological research*, 51(1), 1-11.

- Karami, A., Shahbazi, M., Niknam, V., Shobbar, Z. S., Tafreshi, R. S., Abedini, R., & Mabood, H. E. (2013). Expression analysis of dehydrin multigene family across tolerant and susceptible barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes in response to terminal drought stress. *Acta physiologiae plantarum*, 35(7), 2289-2297.
- Karimpour, M. (2019). Effect of drought stress on RWC and chlorophyll content on wheat (*Triticum durum* L.) genotypes. *World. Ess. J*, 7, 52-56.
- Katiyar, D., Hemantaranjan, A., & Singh, B. (2015). Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(1), 1-9.
- Kaur, N., & Gupta, A. K. (2005). Signal transduction pathways under abiotic stresses in plants. *Current Science*, 1771-1780.
- Keyvan, S. (2010). The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *J. Anim. Plant Sci*, 8(3), 1051-1060.
- Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A., & Khan, N. A. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in plant science*, 6, 462.
- Khan, M. S., Rizvi, A., Saif, S., & Zaidi, A. (2017). Phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable production of wheat: current perspective. In *Probiotics in Agroecosystem* (pp. 51-81). Springer, Singapore.
- Kiani, S. P., Grieu, P., Maury, P., Hewezi, T., Gentzbittel, L., & Sarrafi, A. (2007). Genetic variability for physiological traits under drought conditions and differential expression of water stress-associated genes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and applied genetics*, 114(2), 193-207.
- Kocheva, K., Lambrev, P., Georgiev, G., Goltsev, V., & Karabaliev, M. (2004). Evaluation of chlorophyll fluorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. *Bioelectrochemistry*, 63(1-2), 121-124.
- Kurowska, M. M., Wiecha, K., Gajek, K., & Szarejko, I. (2019). Drought stress and re-watering affect the abundance of TIP aquaporin transcripts in barley. *PloS one*, 14(12).
- Kurtuluş, g., & Vardar, F. (2020). Kitosanın Özellikleri, Uygulama Alanları, Bitki Sistemlerine Etkileri. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 32(3), 258-269.
- Kutlu, İ. (2010). Tahıllarda Kuraklık Stresi. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 3(1), 35-41.
- Lamhamdi, M., Bakrim, A., Aarab, A., Lafont, R., & Sayah, F. (2011). Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth. *Comptes rendus biologies*, 334(2), 118-126.
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K. J. (2019). The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*, 8(4), 94.
- Li, G., Santoni, V., & Maurel, C. (2014). Plant aquaporins: roles in plant physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(5), 1574-1582.
- Li, R. H., Guo, P. G., Michael, B., Stefania, G., & Salvatore, C. (2006). Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agricultural Sciences in China*, 5(10), 751-757.

- Lian, H. L., Yu, X., Lane, D., Sun, W. N., Tang, Z. C., & Su, W. A. (2006). Upland rice and lowland rice exhibited different PIP expression under water deficit and ABA treatment. *Cell research*, 16(7), 651-660.
- Liu, L., Yang, X., Zhou, H., Liu, S., Zhou, L., Li, X., ... & Wu, J. (2018). Evaluating the utility of solar-induced chlorophyll fluorescence for drought monitoring by comparison with NDVI derived from wheat canopy. *Science of the Total Environment*, 625, 1208-1217.
- Liu, Z., Liu, T., Liang, L., Li, Z., Hassan, M. J., Peng, Y., & Wang, D. (2020). Enhanced photosynthesis, carbohydrates, and energy metabolism associated with chitosan-induced drought tolerance in creeping bentgrass. *Crop Science*, 60(2), 1064-1076.
- Ludwig, N., Cabrini, R., Faoro, F., Gargano, M., Gomarasca, S., Iriti, M., ... & Soave, C. (2010). Reduction of evaporative flux in bean leaves due to chitosan treatment assessed by infrared thermography. *Infrared physics & technology*, 53(1), 65-70.
- Madrid-Espinoza, J., Brunel-Saldias, N., Guerra, F. P., Gutiérrez, A., & Del Pozo, A. (2018). Genome-wide identification and transcriptional regulation of aquaporin genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under water stress. *Genes*, 9(10), 497.
- Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, 444(2), 139-158.
- Mahdavi, B., & Rahimi, A. (2013). Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan (*Carum copticum*) under salt stress. *EurAsian Journal of BioSciences*, 7.
- Mahdieh, M., Mostajeran, A., Horie, T., & Katsuhara, M. (2008). Drought stress alters water relations and expression of PIP-type aquaporin genes in *Nicotiana tabacum* plants. *Plant and Cell Physiology*, 49(5), 801-813.
- Mamnoei, E., & Seyed Sharifi, R. (2010). Study the effects of water deficit on chlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barley genotypes and its relation with canopy temperature and yield. *Iranian Journal of Plant Biology*, 2(5), 51-62.
- Marček, T., Hamow, K. Á., Végh, B., Janda, T., & Darko, E. (2019). Metabolic response to drought in six winter wheat genotypes. *Plos one*, 14(2), e0212411.
- Marcussen, T., Sandve, S. R., Heier, L., Spannagl, M., Pfeifer, M., Jakobsen, K. S., ... & International Wheat Genome Sequencing Consortium. (2014). Ancient hybridizations among the ancestral genomes of bread wheat. *science*, 345(6194).
- Maurel, C., Boursiac, Y., Luu, D. T., Santoni, V., Shahzad, Z., & Verdoucq, L. (2015). Aquaporins in plants. *Physiological reviews*, 95(4), 1321-1358.
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of experimental botany*, 51(345), 659-668.
- Meroni, M., Rossini, M., Guanter, L., Alonso, L., Rascher, U., Colombo, R., & Moreno, J. (2009). Remote sensing of solar-induced chlorophyll fluorescence: Review of methods and applications. *Remote sensing of environment*, 113(10), 2037-2051.
- Michel, B. E., & Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant physiology*, 51(5), 914-916.
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci Yilmaz, S., & Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment*, 33(4), 453-467.
- Miransari, M., & Smith, D. (2019). Sustainable wheat (*Triticum aestivum* L.) production in saline fields: a review. *Critical reviews in biotechnology*, 39(8), 999-1014.

- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in plant science*, 11(1), 15-19.
- Miyashita, K., Tanakamaru, S., Maitani, T., & Kimura, K. (2005). Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. *Environmental and experimental botany*, 53(2), 205-214.
- Mohammadi, H., Dizaj, L. A., Aghaee, A., & Ghorbanpour, M. (2020). Chitosan-Mediated Changes in dry Matter, Total Phenol Content and Essential Oil Constituents of two *Origanum* Species under Water Deficit Stress. *Gesunde Pflanzen*, 1-11.
- Montenegro, J. D., Golicz, A. A., Bayer, P. E., Hurgobin, B., Lee, H., Chan, C. K. K., ... & Edwards, D. (2017). The pangenome of hexaploid bread wheat. *The Plant Journal*, 90(5), 1007-1013.
- Moustafa-Farag, M., Mahmoud, A., Arnao, M. B., Sheteiwy, M. S., Dafea, M., Soltan, M., ... & Ai, S. (2020). Melatonin-induced water stress tolerance in plants: Recent advances. *Antioxidants*, 9(9), 809.
- Mroczek-Zdyrska, M., & Wójcik, M. (2012). The influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. *Biological trace element research*, 147(1-3), 320-328.
- Mundree, S. G., Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Vander Willigen, C., ... & Thomson, J. A. (2002). Physiological and molecular insights into drought tolerance. *African journal of Biotechnology*, 1(2), 28-38.
- Murchie, E. H., & Lawson, T. (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of experimental botany*, 64(13), 3983-3998.
- Müller, T., Schierscher-Viret, B., Fossati, D., Brabant, C., Schori, A., Keller, B., & Krattinger, S. G. (2018). Unlocking the diversity of genebanks: whole-genome marker analysis of Swiss bread wheat and spelt. *Theoretical and applied genetics*, 131(2), 407-416.
- Nabi, R. B. S., Tayade, R., Hussain, A., Kulkarni, K. P., Imran, Q. M., Mun, B. G., & Yun, B. W. (2019). Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. *Environmental and experimental botany*, 161, 120-133.
- Naderi, R., Valizadeh, M., Toorchi, M., & Shakiba, M. R. (2014). Antioxidant enzyme changes in response to osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling. *Acta Biologica Szegediensis*, 58(2), 95-101.
- Narayanan, S., Mohan, A., Gill, K. S., & Prasad, P. V. (2014). Variability of root traits in spring wheat germplasm. *PLoS One*, 9(6), e100317.
- Nasirzadeh, L., Sorkhilaleloo, B., Majidi Hervan, E., & Fatehi, F. (2021). Changes in antioxidant enzyme activities and gene expression profiles under drought stress in tolerant, intermediate, and susceptible wheat genotypes. *Cereal Research Communications*, 49(1), 83-89.
- Ngara, R., & Ndimba, B. K. (2014). Understanding the complex nature of salinity and drought-stress response in cereals using proteomics technologies. *Proteomics*, 14(4-5), 611-621.
- Norouzi, M., Toorchi, M., Salekdeh, G. H., Mohammadi, S. A., Neyshabouri, M. R., & Aharizad, S. (2008). Effect of water deficit on growth, grain yield and osmotic adjustment in rapeseed. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6(2), 312.

- Nyachiro, J. M., Briggs, K. G., Hoddinott, J., & Johnson-Flanagan, A. M. (2001). Chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and water deficit in spring wheat. *Cereal Research Communications*, 29(1), 135-142.
- Ofek-Lalzar, M., Gur, Y., Ben-Moshe, S., Sharon, O., Kosman, E., Mochli, E., & Sharon, A. (2016). Diversity of fungal endophytes in recent and ancient wheat ancestors *Triticum dicoccoides* and *Aegilops sharonensis*. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(10), fiv152.
- Özdemir, E., 2019. Ekmeklik Buğdayda (*Triticum Aestivum* L.) Tuz Stresinin Meydana Getirmiş Olduğu Moleküler ve Fizyo-Biyokimyasal Değişiklikler Üzerine 5-Aminolevunilik Asidin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi.
- Özdemir, E., 2019. Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Tuz Stresinin Meydana Getirmiş Olduğu Moleküler ve Fizyo-Biyokimyasal Değişiklikler Üzerine 5-Aminolevunilik Asidin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Öztürk, A. (1999). Kuraklığın kışlık buğdayın gelişmesi ve verimine etkisi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(1), 531-540.
- Öztürk, A., & Aydın, M. (2017). Physiological characterization of turkish bread wheat genotypes for resistance to late drought stress. *turkish journal of agriculture and forestry*, 41(6), 414-440.
- Pandhair, V., & Sekhon, B. S. (2006). Reactive oxygen species and antioxidants in plants: an overview. *Journal of plant Biochemistry and Biotechnology*, 15(2), 71-78.
- Pask, A. J. D., Pietragalla, J., Mullan, D. M., & Reynolds, M. P. (2012). Physiological breeding II: a field guide to wheat phenotyping. *Cimmyt*.
- Pawłowicz, I., Rapacz, M., Perlikowski, D., Gondek, K., & Kosmala, A. (2017). Abiotic stresses influence the transcript abundance of PIP and TIP aquaporins in *Festuca* species. *Journal of applied genetics*, 58(4), 421-435.
- Pichyangkura, R., & Chadchawan, S. (2015). Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 49-65.
- Pirdashti, H., Sarvestani, Z. T., & Bahmanyar, M. A. (2009). Comparison of physiological responses among four contrast rice cultivars under drought stress conditions. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 49, 52-53.
- Povero, G., Mejia, J. F., Di Tommaso, D., Piaggese, A., & Warrior, P. (2016). A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. *Frontiers in plant science*, 7, 435.
- Qayyum, A., Razzaq, A., Bibi, Y., Khan, S. U., Abbasi, K. S., Sher, A., ... & Jenks, M. A. (2018). Water stress effects on biochemical traits and antioxidant activities of wheat (*Triticum aestivum* L.) under In vitro conditions. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science*, 68(4), 283-290.
- Qian, Z. J., Song, J. J., Chaumont, F., & Ye, Q. (2015). Differential responses of plasma membrane aquaporins in mediating water transport of cucumber seedlings under osmotic and salt stresses. *Plant, cell & environment*, 38(3), 461-473.
- Qiuying, Z., Fadong, L., & Mengyu, L. (2005). Changing laws of chlorophyll content and photosynthetic rate in winter wheat leaves. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 13(3), 95-98.

- Quitadamo, F., De Simone, V., Beleggia, R., & Trono, D. (2021). Chitosan-Induced Activation of the Antioxidant Defense System Counteracts the Adverse Effects of Salinity in Durum Wheat. *Plants*, 10(7), 1365.
- Rafiee, H., Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A., Qaderi, A., Zarinpanjeh, N., Sekara, A., & Zand, E. (2016). Application of plant biostimulants as new approach to improve the biological responses of medicinal plants-A critical review.
- Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A., & Najafi, F. (2011). Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 53(1), 47-56.
- Rapacz, M., Wójcik-Jagła, M., Fiust, A., Kalaji, H. M., & Kościelniak, J. (2019). Genome-wide associations of chlorophyll fluorescence OJIP transient parameters connected with soil drought response in barley. *Frontiers in plant science*, 10, 78.
- Rashid, K., Sadaqat, H. A., Khan, A. S., & Ahmed, N. (2019). Assessment Of Spring Wheat Genotypes On Physio-Morphic Attributes Under Water Deficit Milieu. *Pak. J. Agri. Sci*, 56(3), 629-632.
- Rashid, M. A. R., Khan, A. S., & Iftikhar, R. (2012). Genetic studies for yield and yield related parameters in bread wheat. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(12), 1579-1583.
- Rawat, N., Singla-Pareek, S. L., & Pareek, A. (2021). Membrane dynamics during individual and combined abiotic stresses in plants and tools to study the same. *Physiologia Plantarum*, 171(4), 653-676.
- Raza, M. A. S., Shahid, A. M., Saleem, M. F., Khan, I. H., Ahmad, S., Ali, M., & Iqbal, R. (2017). Effects and management strategies to mitigate drought stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.): a review. *Zemdirbyste*, 104, 85-94.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant physiology*, 161(11), 1189-1202.
- Rodriguez, M. G., Reynolds M. P., Estrada J. A. E., Gonzales M. T. R. 2004. "Association between canopy reflectance indices and yield and physiological traits in bread wheat under drought and well irrigated conditions", *Aust. J. Agric. Res.*, 55 (11), 1139-1147.
- Rouphael, Y., Cardarelli, M., Schwarz, D., Franken, P., & Colla, G. (2012). Effects of drought on nutrient uptake and assimilation in vegetable crops. In *Plant responses to drought stress* (pp. 171-195). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Rungrat, T., Awlia, M., Brown, T., Cheng, R., Sirault, X., Fajkus, J., ... & Wilson, P. (2016). Using phenomic analysis of photosynthetic function for abiotic stress response gene discovery. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 14.
- Saeidi, M., Moradi, F., & Abdoli, M. (2017). Impact of drought stress on yield, photosynthesis rate, and sugar alcohols contents in wheat after anthesis in semiarid region of Iran. *Arid Land Research and Management*, 31(2), 204-218.
- Sah, S. K., Reddy, K. R., & Li, J. (2016). Absciscic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Frontiers in plant science*, 7, 571.
- Saini, P., Kumar, N., Kumar, S., Mwaurah, P. W., Panghal, A., Attkan, A. K., ... & Singh, V. (2021). Bioactive compounds, nutritional benefits and food applications of colored wheat: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(19), 3197-3210.

- Sairam, R. K., & Saxena, D. C. (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184(1), 55-61.
- Sairam, R. K., Deshmukh, P. S., & Saxena, D. C. (1998). Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia plantarum*, 41(3), 387-394.
- Sairam, R. K., Deshmukh, P. S., & Shukla, D. S. (1997). Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 178(3), 171-178.
- Salehi-Lisar, S. Y., & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2016). Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol 1 (pp. 1-16). Springer, Cham.
- Samborski, S. M., Tremblay, N., & Fallon, E. (2009). Strategies to make use of plant sensors-based diagnostic information for nitrogen recommendations. *Agronomy journal*, 101(4), 800-816.
- Sánchez, F. J., De Andres, E. F., Tenorio, J. L., & Ayerbe, L. (2004). Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. *Field Crops Research*, 86(1), 81-90.
- Seki, M., Umezawa, T., Urano, K., & Shinozaki, K. (2007). Regulatory metabolic networks in drought stress responses. *Current opinion in plant biology*, 10(3), 296-302.
- Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., ... & Battaglia, M. L. (2021). Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, 10(2), 259.
- Shams, M. K., 2019. Tuz Stresinin Biberde Bitki Gelişimi, Fizyolojik Ve Biokimyasal Özellikler, DNA Metilasyonu İle Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, 24(13), 2452.
- Sharp, R. G. (2013). A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields. *Agronomy*, 3(4), 757-793.
- Shehzad, M. A., Nawaz, F., Ahmad, F., Ahmad, N., & Masood, S. (2020). Protective effect of potassium and chitosan supply on growth, physiological processes and antioxidative machinery in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. *Ecotoxicology and environmental safety*, 187, 109841.
- Shekoofa, A., & Sinclair, T. R. (2018). Aquaporin activity to improve crop drought tolerance. *Cells*, 7(9), 123.
- Sheoran, S., Thakur, V., Narwal, S., Turan, R., Mamrutha, H. M., Singh, V., ... & Sharma, I. (2015). Differential activity and expression profile of antioxidant enzymes and physiological changes in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought. *Applied biochemistry and biotechnology*, 177(6), 1282-1298.
- Siddique, M. R. B., Hamid, A. I. M. S., & Islam, M. S. (2000). Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41.
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., & Basalah, M. O. (2011). Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma*, 248(3), 447-455.

- Simova-Stoilova, L., Demirevska, K., Petrova, T., Tsenov, N., & Feller, U. (2009). Antioxidative protection and proteolytic activity in tolerant and sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties subjected to long-term field drought. *Plant Growth Regulation*, 58(1), 107-117.
- Singh M., Srivastava J.P., Kumar A., 1992. Cell-membrane stability in relation to drought tolerance in wheat genotypes, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 168, 186-190.
- Singh, S. (2016). Enhancing phytochemical levels, enzymatic and antioxidant activity of spinach leaves by chitosan treatment and an insight into the metabolic pathway using DART-MS technique. *Food chemistry*, 199, 176-184.
- Sood, S., Kuraparthi, V., Bai, G., & Gill, B. S. (2009). The major threshability genes soft glume (sog) and tenacious glume (Tg), of diploid and polyploid wheat, trace their origin to independent mutations at non-orthologous loci. *Theoretical and applied genetics*, 119(2), 341-351.
- Šurbanovski, N., Sargent, D. J., Else, M. A., Simpson, D. W., Zhang, H., & Grant, O. M. (2013). Expression of *Fragaria vesca* PIP aquaporins in response to drought stress: PIP down-regulation correlates with the decline in substrate moisture content. *PloS one*, 8(9), e74945.
- Suzuki, N., Koussevitzky, S. H. A. I., Mittler, R. O. N., & Miller, G. A. D. (2012). ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant, cell & environment*, 35(2), 259-270.
- Tabarzad, A., Ayoubi, B., Riasat, M., Saed-Moucheshi, A., & Pessarakli, M. (2017). Perusing biochemical antioxidant enzymes as selection criteria under drought stress in wheat varieties. *Journal of Plant Nutrition*, 40(17), 2413-2420.
- Tadesse, W., Sanchez-Garcia, M., Assefa, S. G., Amri, A., Bishaw, Z., Ogbonnaya, F. C., & Baum, M. (2019). Genetic Gains in Wheat Breeding and Its Role in Feeding the World. *Crop Breeding, Genetics and Genomics*, 1(1).
- Tatar, Ö., & Gevrek, M. N. (2008). Lipid peroxidation and water content of wheat. *Asian J Plant Sci*, 7, 409-412.
- 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, 415-422.
- Umair Hassan, M., Aamer, M., Umer Chattha, M., Haiying, T., Shahzad, B., Barbanti, L., ... & Guoqin, H. (2020). The critical role of zinc in plants facing the drought stress. *Agriculture*, 10(9), 396.
- Valifard, M., Moradshahi, A., & Kholdebarin, B. (2012). Biochemical and physiological responses of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to drought stress applied at seedling stage.
- Van der Tol, C., Verhoef, W., & Rosema, A. (2009). A model for chlorophyll fluorescence and photosynthesis at leaf scale. *Agricultural and forest meteorology*, 149(1), 96-105.
- Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Kumar, N., Yadav, G., Singh, J., Mishra, R. K., ... & Sharma, S. (2017). Abscissic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: a review on current knowledge and future prospects. *Frontiers in plant science*, 8, 161.
- Wang, Y., Reiter, R. J., & Chan, Z. (2018). Phytomelatonin: a universal abiotic stress regulator. *Journal of Experimental Botany*, 69(5), 963-974.

- Waqas, M. A., Kaya, C., Riaz, A., & Li, Y. E. (2019). Potential Mechanisms of Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants Induced by Thiourea. *Frontiers in plant science*, 10, 1336.
- Xing, K., Zhu, X., Peng, X., & Qin, S. (2015). Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 569-588.
- Xu, J. H., & Messing, J. (2009). Amplification of prolamin storage protein genes in different subfamilies of the Poaceae. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(8), 1397-1412.
- Yang, F., Hu, J., Li, J., Wu, X., & Qian, Y. (2009). Chitosan enhances leaf membrane stability and antioxidant enzyme activities in apple seedlings under drought stress. *Plant Growth Regulation*, 58(2), 131-136.
- You, J., & Chan, Z. (2015). ROT regulation during abiotic stress responses in crop plants. *Frontiers in plant science*, 6, 1092.
- Younas, H. S., Abid, M., Ashraf, M., & Shaaban, M. (2021). Growth, Yield and Physiological Characteristics of Maize (*Zea mays* L.) at Two Different Soil Moisture Regimes by Supplying Silicon and Chitosan. *Silicon*, 1-11.
- Youssef, D., Nihou, A., Partier, A., Tassy, C., Paul, W., Rogowsky, P. M., ... & Barret, P. (2018). Induction of Targeted Deletions in Transgenic Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using Customized Meganuclease. *Plant molecular biology reporter*, 36(1), 71-81.
- Yuksel, E. A. (2022). The comparison of ABA and humic acid on the expression of some drought related genes in wheat.
- Zadoks, J. C., Chang, T. T., & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed research*, 14(6), 415-421.
- Zandalinas, S. I., Fritsch, F. B., & Mittler, R. (2020). Signal transduction networks during stress combination. *Journal of experimental botany*, 71(5), 1734-1741.
- Zeng, D., & Luo, X. (2012). Physiological effects of chitosan coating on wheat growth and activities of protective enzyme with drought tolerance. *Open Journal of Soil Science*, 2(03), 282.
- Zhang, Y., Li, Z., Li, Y. P., Zhang, X. Q., Ma, X., Huang, L. K., ... & Peng, Y. (2018). Chitosan and spermine enhance drought resistance in white clover, associated with changes in endogenous phytohormones and polyamines, and antioxidant metabolism. *Functional Plant Biology*, 45(12), 1205-1222.
- Zhao, J., Pan, L., Zhou, M., Yang, Z., Meng, Y., & Zhang, X. (2019). Comparative Physiological and Transcriptomic Analyses Reveal Mechanisms of Improved Osmotic Stress Tolerance in Annual Ryegrass by Exogenous Chitosan. *Genes*, 10(11), 853.
- Zhu, J. K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual review of plant biology*, 53(1), 247-273.
- Zhuang, L., Liu, M., Yuan, X., Yang, Z., & Huang, B. (2015). Physiological effects of aquaporin in regulating drought tolerance through overexpressing of *Festuca arundinacea* aquaporin gene FaPIP2; 1. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 140(5), 404-412.
- Zlatev, Z. (2009). Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence of young wheat plants. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(sup1), 438-441.
- Zou, P., Li, K., Liu, S., Xing, R., Qin, Y., Yu, H., ... & Li, P. (2015). Effect of chitooligosaccharides with different degrees of acetylation on wheat seedlings under salt stress. *Carbohydrate polymers*, 126, 62-69.

Zupin, M., Sedlar, A., Kidrič, M., & Meglič, V. (2017). Drought-induced expression of aquaporin genes in leaves of two common bean cultivars differing in tolerance to drought stress. *Journal of plant research*, 130(4), 735-745.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler			
Adı Soyadı:	Ahmet İNAN		
Doğum Tarihi			
Doğum Yeri:			
Uyruğu			
Adres:			
Tel:			
E-mail:			
Eğitim			
Lise:			
Lisans	Atatürk Üniversitesi/Ziraat		Fakültesi/Tarımsal
	Biyoteknoloji		
Yüksek Lisans:	Bitkisel Biyoteknoloji		
Doktora:			
Yabancı Dil Bilgisi			
İngilizce:	İyi		
Almanca:	-		
Rusça:	-		
Diğer:	-		
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar			
-			
Tezden Üretilmiş Yayınlar			
-			