



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BODUR PAŞA KILICI (*Sansevieria trifasciata*
Hahnii) BİTKİSİNDE KADMIYUM
STRESİNE BAĞLI FİZYOLOJİK VE
GENOTOKSİK ETKİLERİN
ARAŞTIRILMASI**

FATİH AKTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT

EŞ-DANIŞMAN

Prof. Dr. Soner ÇUBUK

İSTANBUL, 2025



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BODUR PAŞA KILICI (*Sansevieria trifasciata*
Hahnii) BİTKİSİNDE KADMİYUM
STRESİNE BAĞLI FİZYOLOJİK VE
GENOTOKSİK ETKİLERİN
ARAŞTIRILMASI.**

FATİH AKTÜRK
(520122602)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Anabilim Dalı
Biyoloji Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT

EŞ-DANIŞMAN
Prof. Dr. Soner ÇUBUK

İSTANBUL, 2025

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Fatih AKTÜRK'ün “**Bodur paşa kılıcı (*Sansevieria trifasciata* Hahnii) Bitkisinde Kadmiyum Stresine Bağlı Fizyolojik Ve Genotoksik Etkilerin Araştırılması**” başlıklı tez çalışması, ... 2025 tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Adı SOYADI (Danışman)

Marmara Üniversitesi (İMZA).....

Doç. Dr. Adı SOYADI (Üye)

Marmara Üniversitesi (İMZA).....

Dr. Öğr. Üyesi Adı SOYADI (Üye)

Marmara Üniversitesi (İMZA).....

ONAY

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../2025 tarih ve ... sayılı kararı ile Fatih AKTÜRK'ün Biyoloji Anabilim Dalı Biyoloji Programında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Bülent MERTOĞLU

ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR

Çok kıymetli destekleri ve yönlendirmeleri ile lisansüstü tez serüvenimde yoluma ışık tutan, karşılaştığım her güçlüğü aşmamda engin bilgi birikimleri ve tecrübeleri ile bana en uygun çözüm yollarını işaret eden hocalarım sayın Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT ve sayın Prof. Dr. Soner ÇUBUK'a ,

Tüm çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Aslı HOCAOĞLU ÖZYİĞİT'e,

Deney sonuçlarımın analizlerinde yardımcı olan Dr. İbrahim Ertuğrul YALÇIN'a,

Yüksek lisans eğitimim ve tez yazım sürecim boyunca ihtiyaç duyduğum anlarda kurumun iş ve işleyişini sekteye uğratmayacak şekilde bana her türlü kolaylığı sağlayan saygıdeğer sıralı birim amirlerimin tamamına,

Beni büyütüp bu günlere getiren üzerimde sonsuz emeği olan sevgili aileme,

Varlığı ile bana güç veren ve yürüdüğüm her kulvarda desteğini benden biran olsun bile esirgemeyen biricik eşime ve varlıkları ile dünyamı aydınlatan güzeller güzeli kızlarıma sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAPKO) tarafından tez çalışmam, FYL-2023-10979 proje nolu bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı BAPKO birimine ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2025

Fatih AKTÜRK

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1.Bodur paşa kılıcı (<i>Sansevieria trifasciata</i> Hahnii) Bitkisinin Genel Özellikleri.....	5
2.2. Bitkilerde Stres ve Stres Faktörleri	6
2.3.Ağır Metallerin Genel Özellikleri ve Kadmiyum	8
2.4.Genotoksisite.....	11
2.5.Kadmiyumun Bitkiler Üzerindeki Fizyolojik ve Genotoksik Etkileri	13
2.6.Bitkilerde Besin Elementleri Ve Önemi	14
2.7.Moleküler Belirteçler	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1. Deney Materyali ve Hoagland Besin Çözeltisinin Hazırlanışı	23
3.2. Ağır Metal ve Elemental Analizler	24
3.3. Moleküler Analizler	24
3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Ve Optimizasyonu.....	28
3.6. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi İle Görüntülenmesi	29
3.7 Kadmiyum Stresi Kaynaklı Genotoksisitenin Ölçümü.....	29
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	30
4.1. Ağır Metal (Cd) ve Mineral Element Değerleri.....	30
4.2. ISSR Analizleri ve Genotoksisite Ölçümleri	34
5.SONUÇ	44
KAYNAKLAR/REFERENCES	47

ÖZET

BODUR PAŞA KILICI (*Sansevieria trifasciata* Hahnii) BİTKİSİNDE KADMIYUM STRESİNE BAĞLI FİZYOLOJİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİN ARAŞTIRILMASI.

Gelişen sanayi, artan insan nüfusu ve kentleşme hızındaki artış, toprağın çeşitli kirleticilere maruz kalmasına, bunun sonucunda doğal yaşam alanlarındaki bitkilerin içeriklerinde değişimler meydana gelmesine sebep olmuştur. Bitkilerde meydana gelen bu değişimler sadece morfolojik ve biyokimyasal olarak değil, genotoksik olarak tanımlanan genom düzeyindeki farklılaşmaları da beraberinde getirmiştir. Genotoksik etkilerin oluşmasında ağır metal kirliliğinin önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Ağır metaller toprak, hava ve su kaynaklarında kirliliğe sebep olmaktadır. Son dönemde yapılan çalışmalar Türkiye’de, özellikle kadmiyum kirliliğinin yoğun olarak gözlendiği bir ağır metal kirliliğine, işaret etmektedir. Bu çalışmada Türkiye’de yaygın olarak ev süs bitkisi olarak kullanılan *Sansevieria trifasciata* Hahnii bitkisi seçilmiş ve bu bitkide kadmiyumun (Cd) genotoksik etkileri araştırılmıştır.

Kadmiyum stresi 50-100-200 μM kadmiyum klorür (CdCl_2) içeren Hoagland çözeltisi ile standart su kültürleri sisteminde *S. trifasciata* Hahnii bitkilerine 1 ay boyunca 20’şer ml uygulanmıştır. Kontrol grubu bitkilerinde CdCl_2 içermeyen Hoagland çözeltisi kullanılmıştır. Kadmiyumun bitki yapraklarındaki birikim değerleri ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi) cihazı ile ölçülmüştür. Kadmiyumun etkisi bodur paşa kılıcı bitkisinin köklerinde genç ve yaşlı yapraklar ve indirgenmiş gövdeye göre daha etkili olmuş, kökler kadmiyumun en fazla depolandığı bitki dokuları olmuştur. Ayrıca kök dokusunda 50 μM ’dan 200 μM ’a kadar artan kadmiyum stresi, kadmiyum birikiminin yanı sıra diğer bitki besin elementlerinden özellikle demir ve kalsiyum miktarlarında belirgin düşüşlere sebep olduğu saptanmıştır. Genç yapraklar yaşlı yapraklardan daha az miktarlarda kadmiyum biriktirmelerine rağmen, 50,100 ve 200 μM konsantrasyonlarda kontrole göre diğer bütün elementlerin konsantrasyonlarında yaklaşık olarak %25 oranında düşüşler gerçekleşmiştir.

Kadmiyumun yapraklardaki genotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapraklarda 20 farklı ISSR primeri kullanılarak gerçekleştirilen Polimeraz zincir reaksiyonları (PZR) sonucu elde edilen DNA bantları “GelAnalyzer” programında analiz edilmiştir. Test edilmiş olan 20 ISSR primerinden 5 tanesi (UBC 808, UBC 826, UBC 827, UBC 841 ve UBC 868) bodur paşa kılıcı bitkisinde büyüklükleri 179 bp ile 1116 bp arasında değişen bantlar oluşturmuştur.

Bu primerlerden her bir grup için en az 6, en fazla 10 adet bant elde edilmiştir. UBC primerlerin tamamında monomorfik yapıda bant profili gösterirken, monomorfik bant desenlerinin yoğunlukları artan CdCl_2 uygulaması ile artmıştır. Moleküler analizlerde polimorfizm desenlerinin yanı sıra, agaroz jeller incelendiğinde artan CdCl_2 uygulamasının bantların yoğunluklarında da artışa sebep olduğu saptanmıştır. Gerek yapılan fizyolojik analizler, gerekse de yaprak DNA'sında ISSR markörleri ile PZR taramaları bodur paşa kılıcı bitkisinin tüm uygulama konsantrasyonlarında canlılığını sürdürdüğünü ve kadmiyumu depolayarak veya metabolize ederek genomunda gerçekleşen değişimler ile moleküler yanıtlar verebildiğini göstermiştir. Bulgularımız çerçevesinde ISSR markörlerine ait PZR ürünlerinin örnekler arasındaki değişimin genotoksosite tayininde kullanılabilir bir parametre olduğu gözlenmiştir. Kadmiyum birikimine ait doku spesifik artış ve azalışlar ve diğer besin elementleri için de karşılaştırmalı sonuçların analiz edilmesi strese cevabın biyokimyasal açıdan ortaya konması için önem taşımaktadır. Bu çalışmanın sonuçlarının ileriki dönemlerde *S. trifasciata* Hahnii bitkisi ile yapılacak stres ve seleksiyon çalışmalarına referans veri kaynağı olması amaçlanmıştır.

ABSTRACT

DETERMINATION OF PHYSIOLOGICAL AND GENOTOXIC EFFECTS OF CADMIUM STRESS IN DWARF SNAKE PLANT (*Sansevieria trifasciata* Hahnii)

Developing industry, increasing human population and the increase in the rate of urbanization have caused the soil to be exposed to various pollutants, resulting in changes in the content of plants in natural habitats. These changes occurred in plants have brought about not only morphological and biochemical changes but also differences at the genome level, defined as genotoxic. It is known that heavy metal pollution has an important place in the formation of genotoxic effects. Heavy metals cause pollution in soil, air and water resources. Recent studies indicate heavy metal pollution in Turkey, especially cadmium pollution is observed intensively. In this study, *Sansevieria trifasciata* Hahnii, which is widely used as a home ornamental plant in Turkey, was selected and the genotoxic effects of cadmium (Cd) on this plant were investigated.

Cadmium stress was treated with Hoagland solution containing 50-100-200 μM cadmium chloride (CdCl_2), 20 ml each, to *S. trifasciata* Hahnii plants using standard hydroponic systems for one month. Hoagland solution without CdCl_2 was used in the control group plants. Accumulation values of cadmium in plant leaves were measured with ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry) device. The effect of cadmium was more effective on the roots of the dwarf snake plant than on the young and old leaves and the reduced stem, and the roots were the plant tissues where cadmium was mostly stored. In addition, it has been determined that cadmium stress increasing from 50 μM to 200 μM in root tissue causes significant decreases in the amounts of other plant nutrients, especially iron and calcium, as well as cadmium accumulation. Although young leaves accumulated less cadmium than older leaves, decline in the concentrations of all other elements occurred approximately by 25% compared to the control at concentrations of 50, 100 and 200 μM .

In order to determine the genotoxic effects of cadmium on leaves, DNA bands obtained as a result of Polymerase chain reactions (PCR) performed using 20 different ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) primers on leaves were analyzed in the “GelAnalyzer” program. Six of the 20 tested ISSR primers (UBC 808, UBC 826, UBC 827, UBC 841 and UBC 868) created bands ranging in size from 179 bp to 1116 bp in dwarf snake

plant. A minimum of 6 and a maximum of 10 bands were obtained from these primers for each group. While all UBC primers exhibited a monomorphic band profile, the intensities of the monomorphic band patterns increased with increasing CdCl₂ application. In addition to the polymorphism patterns in molecular analyses, it was determined that increasing CdCl₂ application caused an increase in the intensity of the bands when agarose gels were examined. Both biochemical analyses performed on the whole plant and PCR screenings with ISSR markers on leaf DNA showed that the dwarf snake plant maintained its viability at all application concentrations and could give molecular responses through changes in its genome by storing or metabolizing cadmium. Within the framework of our findings, it was observed that the change in PCR products of ISSR markers between samples is a feasible parameter in the determination of genotoxicity. Analyzing tissue-specific increment and decline in cadmium accumulation and comparative results for other nutrients is important for revealing the biochemical response to stress. The results of this study are aimed to be a reference data source for stress and selection studies to be conducted with *S. trifasciata* Hahnii in the future.

SEMBOLLER/SYMBOLS

%	: Yüzde
'	: Dakika
±	: Artı eksi
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
g L ⁻¹	: Gram bölü litre
kg	: Kilogram
km	: Kilometre
L	: Litre
M	: Molar
ml	: Mililitre
mM	: Mili molar
mm	: Milimetre
ng	: Nanogram
°C	: Santigrat derece
pH	: Hidrojen iyon konsantrasyonunun eksi logaritmik ifadesi
ppb	: Milyarda bir
ppm	: Milyonda bir
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
UV	: Ultraviyole
v/v	: Hacim bölü hacim
w/v	: Ağırlık bölü hacim
µg kg ⁻¹	: Mikrogram bölü kilogram
µM	: Mikromolar
mM	: Milimolar

KISALTMALAR/ABBREVIATIONS

A	: Adenin
ABA	: Absisik asit
AFLP	: oğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi
Al	: Alüminyum
Ar	: Argon
AsA	: Askorbik asit
b	: Baz ifti
C	: Sitozin
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
Cl	: Klor
Co	: Kobalt
Cr	: Krom
CTAB	: Cetyltrimethyl ammonium bromür
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleotid
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
Fe	: Demir
G	: Guanin
GKY	: Genomik kararlılık yüzdesi (Genomic template stability (GTS)
ICP -	
OES	: İndüktif eşlenmiş plazma optik emisyon spektrometresi
ISSR	: Basit sekans tekrarları arası polimorfizm
ka	: Kuru ağırlık (dry weight)
K	: Potasyum
Mg	: Magnezyum
Mn	: Mangan
Mo	: Molibden
Na	: Sodyum
Ni	: Nikel
NO	: Nitrik oksit
Pb	: Kurşun
PGR	: Bitki büyüme düzenleyicileri
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPD	: Rastgele çoğaltılan polimorfik DNA
RFLP	: Sınırlama parçalarının uzunluk polimorfizmi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
Si	: Silisyum
SOD	: Süperoksit dismutaz
SSR	: Basit sekans tekrarları veya mikrosatellitler
STS	: Dizisi etiketlenmiş sekanslar
T	: Timin
Taq	: Thermus aquaticus
TBE	: Tris base-borik asit-EDTA
Zn	: Çinko

ŞEKİL

ŞEKİL 2.1.1 Çalışmada kullanılan bodur paşa kılıcı bitkisi	5
ŞEKİL 3.3.1 Moleküler analizler; homojenizasyon, ekstraksiyon, PZR, agaroz jel elektroforezi aşamaları (Marmara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Moleküler Biyolojisi ve Biyoteknolojisi Laboratuvarı)	27
ŞEKİL 4.2.1 Bodur paşa kılıcı Bitkisinde ISSR-UBC 808 Primerlerinin Kullanılması Sonrası Yapılan Pzr Reaksiyonları Sonucunda Çoğaltılan <u>DNA</u> Bölgelerinin Jel Görüntüleri. Not: (a) Bant Yoğunluğunda Artış, (b) Bant Yoğunluğunda Azalış.	35
ŞEKİL 4.2.2 Bodur paşa kılıcı Bitkisinde ISSR-UBC 826 Primerlerinin Kullanılması Sonrası Yapılan Pzr Reaksiyonları Sonucunda Çoğaltılan <u>DNA</u> Bölgelerinin Jel Görüntüleri. Not: (a) Bant Yoğunluğunda Artış, (b) Bant Yoğunluğunda Azalış.	37
ŞEKİL 4.2.3 Bodur paşa kılıcı Bitkisinde ISSR-UBC 827 Primerlerinin Kullanılması Sonrası Yapılan Pzr Reaksiyonları Sonucunda Çoğaltılan <u>DNA</u> Bölgelerinin Jel Görüntüleri. Not: (a) Bant Yoğunluğunda Artış, (b) Bant Yoğunluğunda Azalış.	39
ŞEKİL 4.2.4 Bodur paşa kılıcı Bitkisinde ISSR-UBC 841 Primerlerinin Kullanılması Sonrası Yapılan Pzr Reaksiyonları Sonucunda Çoğaltılan <u>DNA</u> Bölgelerinin Jel Görüntüleri. Not: (a) Bant Yoğunluğunda Artış, (b) Bant Yoğunluğunda Azalış, (d) Bant Kaybı.	40
ŞEKİL 4.2.5 Bodur paşa kılıcı Bitkisinde ISSR-UBC 868 Primerlerinin Kullanılması Sonrası Yapılan Pzr Reaksiyonları Sonucunda Çoğaltılan <u>DNA</u> Bölgelerinin Jel Görüntüleri. Not: (a) Bant Yoğunluğunda Artış, (b) Bant Yoğunluğunda Azalış, (d) Bant Kaybı.	42

TABLO LİSTESİ/LIST OF TABLES

Tablo 3.5.1 Çalışmamızda kullandığımız ISSR primerlerine ait 5'-3' dizi bilgileri	28
Tablo 4.1.1 Farklı konsantrasyonlarda (0-50-100-200 µM) CdCl ₂ içeren Hoagland çözeltisinde yetiştirilen <i>Sansevieria trifasciata</i> Hahnii bitkisinin vejetatif klonlarının yaşlı yapraklarında gözlemlenen Kadmiyum ve Mineral Element değerleri (ppm).	31
Tablo 4.1.2 Farklı konsantrasyonlarda (0-50-100-200 µM) CdCl ₂ içeren Hoagland çözeltisinde yetiştirilen <i>Sansevieria trifasciata</i> Hahnii bitkisinin vejetatif klonlarının genç yapraklarında gözlemlenen Kadmiyum ve Mineral Element değerleri (ppm).	32
Tablo 4.1.3 Farklı konsantrasyonlarda (0-50-100-200 µM) CdCl ₂ içeren Hoagland çözeltisinde yetiştirilen <i>Sansevieria trifasciata</i> Hahnii bitkisinin vejetatif klonlarının indirgenmiş gövdelerinde gözlemlenen Kadmiyum ve Mineral Element değerleri (ppm).	32
Tablo 4.1.4 Farklı konsantrasyonlarda (0-50-100-200 µM) CdCl ₂ içeren Hoagland çözeltilerine maruz bırakılan <i>Sansevieria trifasciata</i> Hahnii bitkisinin vejetatif klonlarının köklerinde gözlemlenen Kadmiyum ve Mineral Element değerleri (ppm)	33
Tablo 4.2.1 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve uygulama gruplarında UBC 808 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.....	36
Tablo 4.2.2 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, UBC 808 primerine ait bant yoğunluklarının artış ve azalış yüzdeleri.....	37
Tablo 4.2.3 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve uygulama gruplarında UBC 826 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.....	38
Tablo 4.2.4 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, UBC 826 primerine ait bant yoğunluklarının artış ve azalış yüzdeleri.....	38
Tablo 4.2.5 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve uygulama gruplarında UBC 827 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.....	39
Tablo 4.2.6 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, UBC 827 primerine ait bant yoğunluklarının artış ve azalış yüzdeleri.....	40
Tablo 4.2.7 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve uygulama gruplarında UBC 841 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.....	41
Tablo 4.2.8 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, UBC 841 primerine ait bant yoğunluklarının artış ve azalış yüzdeleri.....	41
Tablo 4.2.9 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve deney gruplarında ISSR (UBC 868) primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.....	42
Tablo 4.2.10 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, ISSR (UBC 868) primeri kullanılması sonrası kontrol grubunda gözlemlenen bant profilleri ile deney grubunda gözlemlenen bant profillerinin yoğunluklarındaki artış ve azalış yüzdeleri.....	43

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Çevre kirliliği, her geçen gün artan bir stres kaynağı haline gelmekle beraber, bitkilerden hayvanlara ve nihayetinde insan sağlığına zararlı etkileri olan birçok olumsuz sonuç doğurmaktadır. Ağır metal kirliliği, hızlı endüstrileşme, teknolojik ilerleme ve insan nüfusundaki hızlı artış nedeniyle ciddi bir çevresel tehdit haline gelmiştir (Timoty ve Williams, 2019; Mishra ve ark., 2019; Kumari ve Mishra, 2021; Wang ve ark., 2022; Khatun ve ark., 2022). Bilimsel araştırmalar, özellikle ağır metal kirliliğinin küresel ölçekte önemli bir çevresel sorun olduğunu ortaya koymaktadır (Das ve ark., 2014).

Ağır metaller, doğal (erozyon, volkanik patlamalar, mineral aşınması, kuyruklu yıldızlar vb.) ve antropojenik (kaplama, biyoyakıtlar, alaşım üretimi, atmosferik birikmeler, gübreler, pestisitler vb.) süreçlerle tarımsal ekosisteme girmektedir (Kumar ve ark., 2022; Abd Elnabi ve ark., 2023). Bu faaliyetler, ağır metallerin yer altı suyuna karışmasına veya toprak yüzeyinde birikimine yol açar (Doyi ve ark., 2018). Ağır metallerin tümü biyolojik olarak parçalanamaz, yani herhangi bir doğal yöntemle bulundukları ortamdan atılamazlar ve dolayısıyla bitkilerin kök sistemleri aracılığıyla alınarak besin zincirine girme potansiyeline sahiptirler (Sing ve ark., 2011; Ghori ve ark., 2019; Yan ve ark., 2020; Kaur ve ark., 2022).

Çevresel kirleticiler arasında öne çıkan ağır metaller, genel olarak özgül ağırlığı 5 g/cm^3 'ü aşan metaller şeklinde sınıflandırılmaktadır (Anghelache ve ark., 2016). Ağır metaller periyodik tabloda geçiş elementleri grubunda sınıflandırılmaktadır (Lange ve ark., 2017). Öne çıkan ağır metaller arasında civa (Hg), çinko (Zn), demir (Fe), kadmiyum (Cd), kobalt (Co), krom (Cr), kurşun (Pb), mangan (Mn), nikel (Ni) ve selenyum (Se) bulunmaktadır (Thakur ve ark., 2016).

Biyolojik sistemler kapsamında üstlendikleri fonksiyonlar göz önünde bulundurularak, ağır metaller esansiyel (organizmanın hayati işlevlerinde gerekli olan) ve esansiyel olmayan olarak sınıflandırılmaktadır (Can ve ark., 2021a). Esansiyel ağır metaller, organizmaların yaşam fonksiyonları için elzem olup, yalnızca düşük konsantrasyonlarda bulunurlar. Buna karşılık, esansiyel olmayan ağır metallerin biyolojik sistemlerde belirli bir işlevi bulunmamaktadır (Hocaoglu-Ozyigit ve Genc, 2020). Biyolojik sistemler açısından elzem kabul edilen ağır metaller grubuna, genellikle Co, Cu, Fe, Mn, molibden (Mo) ve Zn dahildir; buna karşın, arsenik (As), Cd, Hg ve Pb ise organizmalar üzerinde toksik etkiler gösterdikleri için esansiyel olmayan ağır metaller kapsamında değerlendirilmektedir. (Karahana ve ark., 2020; Ozyigit ve ark., 2021a; Yilmaz ve ark., 2021b). Esansiyel ağır

metallerin konsantrasyonları belirli bir eşik değerin üzerine çıktığında organizma için toksik etki göstermeye başlarken, esansiyel olmayan ağır metaller, düşük konsantrasyonlarda dahi toksik etki gösterebilmektedir (Edelstein ve Ben-Hur, 2018; Ozyigit ve ark., 2018; Karahan ve ark., 2020).

Bitkilerde ağır metal alımı genellikle gelişim ortamındaki suyu absorbe etmeleri sırasında gerçekleşir. Bunun yanı sıra, atmosferde partikül formunda bulunan ağır metaller, düşük oranlarda da olsa yapraklar aracılığıyla bitkiye alınabilmektedirler (Ozyigit ve ark., 2021a).

Ağır metallerin bitkilerin dokularına nüfus etmesi, bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri bozarak toksisiteye neden olmakta ve uzun vadede bitki ölümüne yol açabilmektedir. Ayrıca, ağır metaller çeşitli bitki dokularında birikerek verim ve kalite kaybına yol açan temel faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir (Yerli ve ark., 2020; Ozyigit ve ark., 2021b).

Kaspari şeritlerince bloke edilmeleri veya kök hücre duvarlarına tutulmalarının sonucu ağır metaller bitki köklerinde birikme eğilimindedir (Shahid ve ark., 2015; Ozyigit ve ark., 2021c). Bitki dokularına nüfus ettiklerinde, temel bitki besin elementlerinin alımının belirli bir düzeyde azalmasına yol açabilirler. Bu durumun doğal sonucu olarak, kök, gövde ve yaprak gibi bitkinin hayati kısımlarında büyüme ve gelişim bozuklukları meydana gelebilmektedir (Ozyigit ve ark., 2016b; Ghorı ve ark., 2019; Ozyigit ve ark., 2019). Ağır metallerin bazı türleri kök hücre yapısını bozabilirken, bazıları hücre bölünmesini engelleyebilirler. Bazı ağır metaller temel besin elementleri ile rekabet ederek bitkilerde besin alımını kısıtlamaktadır (Dubey ve ark., 2018; Kim ve ark., 2019; Can ve ark., 2021a; Ozyigit ve ark., 2021b).

Reaktif özellik gösteren ağır metaller, özellikle doymamış yağ moleküllerinin oksijenle yükseltgenmesine neden olarak lipid peroksidasyonunu tetiklemektedir. Bu süreç, hücre zarının geçirgenliğinde artışa, biyomoleküllerin yapısal ve fonksiyonel açıdan bozulmasına yol açarak, oksidatif stres olarak adlandırılan durumun ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu etkiler sonucunda, bitki hücrelerinde DNA, RNA ve protein seviyelerinde çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir (Ghorı ve ark., 2019). Meydana gelen farklılıklar genellikle DNA seviyesindeki mutasyonlar şeklinde kendini göstermekte olup, moleküler markör teknikleri ile yapılan çalışmalarda deney gruplarının DNA bant profillerinde kontrol gruplarına kıyasla yoğunluk farklılıkları, yeni bant oluşumları veya mevcut bantların kaybolması gibi yapısal değişiklikler gözlemlenmektedir (Ozyigit ve ark., 2016b; Ozyigit ve ark., 2021b).

Suda kolaylıkla çözünebilen kadmiyumun, bitkinin kökleri ile topraktan alındıktan sonra iyonlar halinde kolayca gövde ve yapraklara geçtikten sonra az miktarlarda bile olsa çeşitli dokularda birikerek canlılarda toksisiteye sebep olması özelliği ile araştırılması gereken bir ağır metal olarak nitelendirilebilmektedir (Sorrentino ve ark., 2022).

Bu çalışmada, *in vitro* koşullarda Hoagland çözeltisi verilerek sıvı kültür ortamında *S. trifasciata* bitkisinin vejetatif klonlarında kadmiyum stresine bağlı olarak ortaya çıkan fizyolojik ve genotoksik etkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, *S. trifasciata* bitkisinin yapraklarında Cd birikimi ve buna bağlı olarak mineral besin elementlerinin alımı incelenmiştir ICP-OES verileri ile DNA profillerinde meydana gelen değişimler karşılaştırılarak, yapraklardaki Cd akümüülasyon miktarının jeldeki DNA bantlarını nasıl etkilediği ve sonuç olarak Cd'un hangi konsantrasyonlarda genotoksik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan 20 çeşit ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) primerlerinden, PZR sonrası *S. trifasciata* bitkisine ait elde edilen bant profilleri analiz edilerek, Cd stresine maruz kalan bitkilerin genomik kararlılık oranı hesaplanmıştır. PZR sonrası elektroforez aşamasında, farklı konsantrasyonlarda Cd stresine maruz bırakılmış bitkiler kontrol grubu ile karşılaştırılacak ve saptanmış yeni bant oluşumları, bant kayıpları, bantlarda yoğunluk artışları veya azalışları, genomik kararlılık oranının değerlendirilmesinde kullanılmıştır (Ozyigit ve ark., 2016b).

Çalışmada genç ve yaşlı yapraklarda, indirgenmiş gövdede ve köklerde biriken ağır metal miktarı ICP-OES yöntemi ile önce tüm örneklerin etüvde kurutulması, sonrasında ise mikrodalga fırında yakılması sonucu gerçekleştirilmiştir. ICP-OES cihazı kullanılarak bitkinin tüm dokularında biriken Cd değerleri okunmuştur. Cihaz, plazma sayesinde uyarılmış atom ve iyonlar üretilip her elementin dalga boyu özelliği dolayısı ile farklı elektromanyetik radyasyon yaymasından dolayı farklı emisyon şiddetine sebep olur ve böylece numune içindeki elementin konsantrasyonun öğrenilmesini sağlar. Verilen Cd miktarı arttıkça bitkinin yapraklarında da Cd birikiminin artacağı beklenmektedir. Buna paralel olarak genotoksitenin oluşması olasıdır. Ayrıca bitkide Cd birikiminin etkilerinin farklı ve benzer seyrettiği durumlar tartışılmıştır. Çalışmanın amacı doğrultusunda;

1- *S. Trifasciata* bitkisinin vejetatif klonları yetiştirilmiş,

2-Yetiştirilen klon bitkilere önceden belirlenen konsantrasyonlarda CdCl₂ verilmiş ve deney sonunda bitkilerden yaprak, indirgenmiş gövde ve köklere ait yaklaşık 1 ay örnekleri hasat edilerek biriken Cd miktarının ölçümleri yapılmış,

3-Bitki yapraklarından DNA izolasyonu yapılmış,

4-İzole edilen DNA, ISSR primerleri kullanılarak PZR yöntemi ile ilgili bölgelerin çoğaltılması sağlanmış,

5-Agaroz jel (%2'lik) elektroforezi işlemi ile PZR ürünlerinin jelde görüntülenmesi sağlanmış,

6- PZR sonrası elde edilen amplifikasyon ürünlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve DNA bant profillerinden yola çıkarak genomik kararlılık (Genomic Template Stability-GTS) oranının hesaplanması yapılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bodur Paşa Kılıcı (*Sansevieria trifasciata* Hahnii) Bitkisinin Genel Özellikleri.



Şekil 2-1-1 Çalışmada kullanılan bodur paşa kılıcı bitkisi.

Sansevieria sp. bitkilerinin çoğu Afrika kıtasından, bazıları ise Asya'dan gelmektedir. *Sansevieria* sp., 1753 yılında Linnaeus tarafından Aloe cinsine sınıflandırılmıştır. 1763 yılında, Adanson tarafından “*Cordyline*” olarak adlandırılmıştır. 1786 yılında adı “*Acynta*” olarak değiştirilmiş ve birkaç yıl sonra “*Sansevierina*” adı verilmiştir. 1794’te Thunberg, yazımını “*Sansevieria*” olarak değiştirmiştir. (Stover, 1983).

S. trifasciata’nın Stover’a (1983) göre sınıflandırılması:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermathophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledoneae

Ordo : Liliales

Famili : Agavaceae

Genus : *Sansevieria*

Spesies : *Sansevieria trifasciata*

Literatür incelemesi yapıldığında çalışmada kullanılan *S. trifasciata* bitkisinde Cd'un genotoksik etkilerinin gerek ülkemizde gerek dünya genelinde yeterince araştırılmadığı görülmüştür. Seçilen bitki türü Türkiye genelinde süs bitkisi olarak yetiştirilmekte, park bahçe peyzajlarında ve evlerimizde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Yılan bitkisi olarak da bilinen *S. trifasciata*, ile ilgili yapılan sınırlı araştırmalar ağır metalleri topraktan absorbe etme yeteneği nedeniyle ağır metallerle kirlenmiş toprakların temizlenmesi için bu türün faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Araştırmalar, *Sansevieria* sp. de dahil olmak üzere çeşitli bitki türlerinin, kirlenmiş topraklardan As, Cd, Cu, Pb, Ni ve Zn gibi ağır metalleri alıp biriktirebildiğini göstermiştir (Ozyigit ve ark., 2021b; Sabreena ve ark., 2022; Khan ve ark., 2023).

Bitkiler ağır metallerin hücre içine alımını ve yer değiştirmesini kolaylaştıran spesifik taşıma proteinleri olan Fitoşelatinlere ve Metallothioneinlere sahiptir (Khan ve ark., 2023). Bu proteinler, bitkilerin ağır metalleri bağlayıp vakuolde tutarak tolere etmesine ve biriktirmesine yardımcı olan metal bağlayıcı proteinlerdir. Fitoşelatinler, Cd, Zn ve Pb gibi metalleri şelatlayan, bunların detoksifikasyonuna ve depolanmasına yardımcı olan küçük peptitlerdir (Sharma ve ark., 2023).

Çalışmalar, *Sansevieria* türlerinin önemli miktarlarda ağır metal biriktirme ve böylece topraktaki konsantrasyonlarını azaltma kapasitelerini ortaya koymuştur. Bu bulgular, *Sansevieria*'nın sürdürülebilir çevre temizleme stratejilerinde kullanım potansiyelini vurgulamaktadır (Sabreena ve ark., 2022; Khan ve ark., 2023).

2.2. Bitkilerde Stres ve Stres Faktörleri

Bitkiler, tüm diğer canlılar gibi yaşamları boyunca biyotik ve abiyotik stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Levitt (1980) stres faktörlerini abiyotik ve biyotik olarak iki ana kategoride incelemiştir. Lichtenthaler (1996) ise insan kaynaklı ve doğal kaynaklı stres faktörleri olmak üzere yine stresi yine iki kısımda incelemiştir. Yüksek ısınım, yoğun sıcaklık, ani donma, su kıtlığı ve mineral eksikliği gibi etmenler doğal stres unsurlarını oluştururken; insan etkisinden kaynaklanan stres faktörleri aşırı azot kullanımı, hava kirliliği, ağır metaller ve fotooksidanlardan meydana gelmektedir (Ashraf ve Foolad, 2007). Antropojenik ve jeolojik kökenli çeşitli etmenlerin tetiklediği abiyotik streslerden biri olan ağır metal kirliliği, özellikle toprak ve su ekosistemlerinde birikerek çevresel kirliliğe yol açmakta ve besin zinciri aracılığıyla tüm canlıların sağlığını tehdit etmektedir. Bitkiler, ağır

metal kirliliğine maruz kaldıklarında verim düşüşü ve ürün kalitesinde azalma gibi önemli olumsuzluklarla karşılaşmaktadır (Hou ve ark., 2020).

Bitkilerin dış etkenlere karşı göstermiş olduğu dayanıklılık yaşadıkları stres ile doğrudan ilgilidir. Başlangıçta geri dönüşümlü olan ve bitkinin tüm işlevsel seviyelerinde tepkilere yol açan bu stres, zamanla kalıcı değişiklikler de doğurabilir. Bitkiler geçici strese maruz kalsalar bile bu durum canlılık fonksiyonları üzerinde gerilemeye yol açabilir. Stresin artarak devam etmesi ile bitki kapasitesinin sınırına ulaştığında ise, daha önce fark edilmemiş zararlar kalıcı hastalıklara veya geri dönüşü olmayan zararlara yol açabilir (Gürel ve Avcıoğlu, 2001).

Abiyotik Stres Faktörleri

- **Kuraklık:** Su kıtlığı, bitkilerde su dengesini bozar ve büyümeyi olumsuz etkiler.
- **Sıcaklık:** Aşırı sıcaklık veya soğukluk bitki hücrelerinde hasara yol açabilir.
- **Tuzluluk:** Yüksek tuz konsantrasyonları, bitkilerin su alımını engeller ve ozmotik stres yaratır.
- **Ağır Metal Kirliliği:** Toprakta bulunan ağır metaller (örneğin, Cd, Hg ve Pb) bitkilerin gelişimini engelleyebilir.
- **Işık:** Yetersiz veya aşırı ışık bitkilerde fotosentez sürecini olumsuz etkileyebilir.

Biyotik Stres Faktörleri

- **Patojenler:** Bakteri, virüs ve mantarlar bitkilerde hastalıklara neden olabilir.
- **Herbivorlar:** Böcekler ve diğer hayvanlar bitki dokularını tüketerek zarar verebilir.
- **Alelokimyasallar:** Diğer bitkiler tarafından salgılanan kimyasallar, bitkilerin büyümesini ve gelişimini engelleyebilir (Wani, 2023; Dixit ve ark., 2024).

Bitkiler, stres faktörlerine karşı çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve morfolojik tepkiler geliştirmiştir:

- **Fizyolojik Tepkiler:** Örneğin, stomaların kapanması su kaybını azaltır.
- **Biyokimyasal Tepkiler:** Antioksidan enzimlerin üretimi, serbest radikallerin neden olduğu hasarı azaltır.
- **Morfolojik Tepkiler:** Köklerin daha derinlere büyümesi gibi fiziksel adaptasyonlar, bitkinin su ve besin alımını artırır (Lal ve ark., 2023; Dixit ve ark., 2024).

Stres Yönetimi ve Adaptasyon Mekanizmaları

Bitkiler, stres faktörlerine karşı dayanıklılık sağlamak için çeşitli stratejiler kullanır:

- **Genetik Modifikasyon:** Stres toleransını artırmak için genetik mühendislik teknikleri kullanılır.
- **Toprak ve Su Yönetimi:** Toprağın su tutma kapasitesini artırmak ve etkin sulama teknikleri kullanmak önemlidir.
- **Koruyucu Kimyasallar:** Antioksidanlar ve diğer koruyucu maddeler, bitkilerin stres koşullarına karşı direncini artırabilir (Wani, 2023).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, bitkilerin stres faktörlerine karşı nasıl tepki verdiğini ve bu süreçleri nasıl yönettiğini anlamada önemli ilerlemeler kaydetmiştir. Örneğin, genetik, epigenetik, proteomik ve metabolomik yöntemler kullanılarak bitkilerin stres tepkileri incelenmektedir. Ayrıca, yeni bitki koruyucularının (fitoprotektanlar) kullanımı ve bitki büyümesini teşvik eden rhizobakterilerin (PGPR) rolü üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Wani, 2023; Dixit ve ark., 2024).

2.3.Ağır Metallerin Genel Özellikleri ve Kadmiyum

Biyolojik açıdan bakıldığında, ağır metaller çevresel kirliliğe sebebiyet veren ve yüksek toksisite potansiyeli gösteren kirleticiler şeklinde nitelendirilmektedir (Duffus, 2002). Ağır metaller, son derece düşük miktarlarda bulunduklarında bile toksik etkiler sergileyebilir (Yerli ve ark., 2020). Ağır metallerin bitki bünyesinde aşırı birikmesi sonucunda bitkilerde stres meydana gelmektedir (Farooq ve ark., 2008).

Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb ve Zn gibi 60'tan fazla element bu gruba dahildir (Kahvecioğlu ve ark., 2003). Periyodik tabloda geniş bir yer kaplayan ağır metaller, genellikle “geçiş elementleri” kategorisinde değerlendirilmektedir (Azevedo ve Lea, 2005).

Toprakta biriken ağır metaller, toprak verimliliği ve besin zinciri vasıtasıyla bitki, hayvan ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açmaktadır. Ağır metaller arasında yer alan Cd, periyodik tablonun 2B grubunda sınıflandırılmakta olup, belirgin derecede toksik özellikler sergilemektedir. Tüm canlı türleri için zararlı olduğu bilinen kadmiyumun doğal kaynakları arasında volkanik faaliyetler ve kayaçların aşınması yer almaktadır (Shahid ve ark., 2015; Majer ve ark., 2002).

Kadmiyumun özellikleri şunlardır:

Fiziksel Özellikler:

Renk ve Parlaklık: Gümüşü beyaz renkte ve parlaktır.

Yoğunluk: Yaklaşık olarak 8,65 gram/cm³'tür.

Erime Noktası: 321,07°C (609.93°F) derecedir.

Kaynama Noktası: 767°C (1,413°F) derecedir.

Sertlik: Diğer bazı metaller gibi yumuşak ve kolay şekil verilebilir.

Kimyasal Özellikler:

Toksisite: İnsan sağlığı için ciddi bir tehlike oluşturan bir toksindir. Solunum yoluyla, yiyecek ve içeceklerle veya deri temasıyla maruziyeti, akciğer hasarı, böbrek yetmezliği ve kanser gibi sağlık sorunlarına yol açabilir.

Korozyon Direnci: Diğer metallerden daha iyi bir korozyon direncine sahiptir ve kaplamaların ve kaplama malzemelerinin bir bileşeni olarak kullanılabilir.

Ağır metaller içinde en yüksek toksisiteye sahip olanlardan biri kadmiyumdur. Endüstriyel faaliyetler ve fosforlu gübre uygulamaları gibi insan kaynaklı faaliyetler sonucunda kolayca toprağa karışan kadmiyum, bitkiler tarafından hızla absorbe edilebilmektedir. Yapılan araştırmalar, kadmiyumun diğer metallere kıyasla yaklaşık 20 kat daha fazla toksik etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Korkmaz ve ark., 2018; Haider ve ark., 2021).

Özellikle pil üretimi, boya ve elektronik sanayinde yaygın olarak kullanılan bu element, endüstriyel süreçler sonucunda ortaya çıkan atık sularla su kaynaklarına karışarak çevresel kirliliğe neden olmaktadır. Her yıl doğaya karışan kadmiyum miktarının 25-30 bin ton seviyesinde olduğu, bu miktarın yaklaşık yarısının insan kaynaklı endüstriyel faaliyetlerden kaynaklandığı belirlenmiştir (Ozkan, 2009).

Tarım topraklarında Cd kirliliğinin başlıca nedenlerinden biri, yoğun kimyasal gübre kullanımıdır. Dünya genelinde ise kömür ve kanalizasyon çamurunun yakılması, tarım arazilerine Cd girişi sağlayan önemli kaynaklar arasında yer almaktadır (Wang ve ark., 2015; Hocaoglu-Ozyigit ve Genc, 2020). Fosfatlı gübrelerin belirli oranlarda Cd içerdiği bilinmekte olup, bu gübrelerde Cd konsantrasyonunun, kuru ağırlık temelinde değerlendirildiğinde eser seviyelerden 300 ppm'e kadar değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (Grant ve Sheppard, 2008).

Kadmiyumun diğer önemli kaynakları arasında sanayi sektörü öne çıkmaktadır. Nikel-

kadmiyum (Ni-Cd) pil üretimi ve galvanik kaplama işlemleri, bu metalin endüstride yaygın kullanım alanlarından bazılarıdır. Bunun yanı sıra, kadmiyum plastik üretimi, cam sanayisi, seramik yapımı ve boya üretiminde stabilizatör olarak da kullanılmaktadır (Akguc ve ark., 2008; Osma ve ark., 2012; Hocaoglu-Ozyigit ve Genc, 2020; Yilmaz ve ark., 2021a). Ayrıca, kadmiyum; otomobil ve kamyon lastikleri, tarım makineleri, uçak parçaları, cıvata, vida, somun ve çivi gibi çeşitli endüstriyel ve evsel malzemenin üretiminde yaygın biçimde kullanılan bir elementtir. Bunun yanı sıra, fotoğrafçılık sektöründe de farklı uygulama alanlarında değerlendirilmektedir (Awual ve ark., 2018; Ishchenko, 2018; Hocaoglu-Ozyigit ve Genc, 2020).

Toprakta en yaygın bulunan ağır metallerden biri olan kadmiyumun, düşük konsantrasyonlarda dahi (0,001-0,1 ppm) yüksek toksisite gösterdiği tespit edilmiştir (Singh ve ark., 2009; Wuana ve Okieimen, 2011). Bununla birlikte, kadmiyumun bilinen herhangi bir biyolojik işlevi olmadığı da bildirilmiştir (Marschner, 2011). Literatürdeki çalışmalar, özellikle kadmiyumun yol açtığı olumsuz biyolojik etkiler üzerine odaklanmaktadır. Bu etkilerin değerlendirilmesi sürecinde, ilk ve en önemli incelenmesi gereken husus kadmiyumun toprak ortamına nasıl geçtiğidir. Kadmiyumun toprak ekosistemine dahil olması farklı yollarla gerçekleşebilmektedir. Endüstriyel faaliyetler ve bu süreçler sonucunda oluşan sanayi atıkları, fosforlu gübrelerin yaygın kullanımı, pestisit ve herbisit uygulamaları, fosseptik atıklar ve madencilik faaliyetleri, kadmiyumun toprağa geçiş yollarından bazıları olarak öne çıkmaktadır (Geng ve Wang, 2019; Hocaoglu-Ozyigit ve Genc, 2020).

Toprakta mevcut kadmiyum, bitki kökleri tarafından emildikten sonra iyonik formda gövde ve yapraklara nakledilmektedir. Kadmiyumun bitkinin farklı dokularında birikmesi, bitkinin fizyolojik ve biyokimyasal işleyişini olumsuz etkilerken, uzun vadede besin zinciri üzerinde de zararlı sonuçlar doğurmaktadır. Ayrıca kadmiyum bitkilerde nitrojen ve karbonhidrat metabolizmasını etkilemesi, fotosentezi engellemesi, klorofil sentezini bozması ve stomaların kapanması fizyolojik etkilerinden azıdır (Zhang ve ark., 2016; Hocaoglu-Ozyigit ve Genc, 2020).

Bilimsel çalışmalar, insan bağırsak epitelinde yüksek düzeyde Cd birikiminin, Ca, Cr, Fe ve Zn gibi temel elementlerin eksikliğiyle bağlantılı olduğunu ve bu durumun protein yetersizliğine yol açtığını ortaya koymaktadır (Bergeron ve Jumarge, 2006). Cd toksisitesinin insanlarda ciddi sağlık sorunlarına neden olduğu, özellikle prostat ve akciğer kanserleri ile ilişkilendirildiği tespit edilmiştir (Person ve ark., 2013). Kadın üreme sisteminin işleyişine dair yürütülen akademik çalışmalar, kadmiyumun plasenta için toksik

olduğunu ve plasenta fonksiyonlarını bozarak erken doğum riskini artırdığını ortaya koymuştur (Erboga ve Kanter, 2016; Zhang ve ark., 2016; Geng ve Wang, 2019). Öte yandan, erkek üreme sistemiyle ilgili yapılan araştırmalar, testis dokusunun kadmiyumun toksik etkilerine karşı yüksek derecede hassas olduğunu ortaya koymaktadır. Kadmiyumun sperm hareketliliğini ve spermatogenezi olumsuz etkilediği, uzun süreli maruz kalma durumlarında ise erkeklerde infertiliteye (kısırlığa) yol açabileceği belirlenmiştir (Acosta ve ark., 2016; Imafidon ve ark., 2016; Nna ve ark., 2017; Habib ve ark., 2019).

Özkutlu (2021), Cd ve sodyum klorür (NaCl) uygulamalarının brokolide (*Brassica oleracea* var. *italica*) kuru madde miktarı ve besin elementi içeriğine etkisinin gözlemlemiştir. Buna göre ICP-OES cihazı sonuçları Cd ve NaCl tuzunun birlikte verilmesiyle bitkide oluşan stres sonrasında NaCl tuzunun ve Cl⁻ anyonunun toprakta Cd ile bilinmeyen bir kompleks oluşturarak bitkilerin daha fazla Cd almasına neden olduğunu belirlemiştir.

Yapılan başka bir çalışmada su mercimeği (*Lemna minor* L.) bitkisinin Cd ve Ni için hiperakümülatör olarak kullanılma potansiyeline sahip olup olmadığını tespit edebilmek için bitkiye farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 200 ve 400 mM) Cd-Ni uygulanarak mineral besin durumundaki farklılıklar ve genotoksik değişimler gözlemlenmiştir. RAPD (Rastgele çoğaltılan polimorfik DNA) ve ISSR analizleri neticesinde bant profilleri incelenmiş ve genomik kararlılık oranı saptanmıştır. Çalışma neticesinde, *Lemna minor* L. bitkisinin Cd’u yüksek biriktirme (hyperaccumulator) yeteneği gösterdiği ortaya konmuştur (Ozyigit ve ark., 2021b).

2.4.Genotoksisite

Genotoksisite, kimyasal ya da fiziksel bir etki sonrası DNA hasarı oluşabilme potansiyeli olarak tanımlanmaktadır (Deutschle ve ark., 2006). Canlının kendisi için toksik ajanlara maruz kalması sonucu genomlarında gerçekleşen değişimler şeklinde bir tanımda yapılabilir. Genotoksik etki, çevresel faktörler veya kimyasal maddelere belirli dozlarda maruz kalma sonucu ortaya çıkmaktadır (Khanna ve Sharma, 2013). Genetik toksikoloji, kökleri Muller'in (1927) *Drosophila* üzerinde X-ışınlarının etkisiyle normalden 15.000 kat daha yüksek mutasyon oranları ürettiğini belirlediği çalışmalara dayanmaktadır. Günümüzde ise, teknolojik ilerlemeler ışığında artan risk ve gelişmiş analiz yöntemlerinin sunduğu imkânlar sayesinde bu alan önemli araştırma kollarından biri haline gelmiştir. Genotoksisite neticesinde, genomik kararlılıkta belirgin modifikasyonlar gözlemlenebilir (Barlow ve ark., 2006; Factori ve ark., 2014). Ağır metallerin tetiklediği genotoksik etkiler, DNA bütünlüğünde çift zincir ve tek zincir kırıklarının meydana gelmesi, mikronükleus

(MN) oluşumu, DNA onarım mekanizmalarının işlev kaybı, nükleotid düzeyinde kayıp ya da eklemeler, gen duplikasyonları, okuma çerçevesinde kaymalar ve epigenetik modifikasyonların ortaya çıkması gibi çeşitli zararlı sonuçlara yol açabilmektedir (Waisberg ve ark., 2003; Marple ve ark., 2004). Ayrıca, ağır metaller gibi genotoksik ajanlar, DNA bütünlüğünde meydana gelen hasarlar ve buna bağlı gelişen genomik instabilite aracılığıyla, neoplastik dönüşümlerin tetiklenmesine zemin hazırlama potansiyeline sahiptir (Butterworth ve ark., 2006; Factori ve ark., 2014).

Son yıllarda, küresel ölçekte toksik maddelerin kullanımında belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Bu gelişme, insan faaliyetleri kaynaklı toksik ajanların çevreye yayılmasıyla habitat tahribatının yeni boyutlar kazanmasına zemin hazırlamaktadır. Genetik toksikoloji, toksikolojinin alt disiplinlerinden biri olarak, organizmaların normal biyolojik işlemleri sırasında veya çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenlerin etkisiyle DNA'larda oluşan farklılıkları sistematik biçimde inceleyen bir bilim koludur. Ek olarak, farklı toksik ajanların indüklediği genetik hasarın analizinde kritik bir role sahiptir (Choy, 2001; Young, 2002; Mortelmans ve Rupa, 2004; Vural, 2005).

DNA molekülünde mutasyonlara yol açan etmenler, etkilerini iki temel mekanizma aracılığıyla sergilemektedir. Bir yandan, doğrudan DNA'nın yapısal bütünlüğüne müdahale ederek bozucu etki gösterirken, diğer yandan dolaylı olarak genomik bilginin sentezi sırasında kritik rol oynayan proteinlere bağlanarak mutasyon oluşumunu tetiklemektedirler. Bu bağlamda, DNA hasarına neden olan temel moleküler bileşenler ve ilişkili biyokimyasal yollardaki disfonksiyonlar; yaşlanma, infertilite, doku hasarı, kanser ve çeşitli genetik veya multifaktöriyel hastalıkların patogeneğinde belirleyici roller üstlenmektedir (Kirsch-Volders ve ark., 2003). Kadmiyuma bağlı olarak genom üzerinde meydana gelen mutasyonlar epigenetik değişimleri tetikleyebilmektedir. Özellikle Cd stresi ile çinkoda meydana gelen değişimler epigenetik açıdan çinkoya bağlı enzimlerin yeniden düzenlenmesini beraberinde getirmektedir (Frings ve ark., 2024).

DNA mutasyonları, PZR tabanlı moleküler belirteçler kullanılarak tespit edilebilmektedir. RAPD, AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi) ve ISSR gibi teknikler, DNA dizisindeki değişiklikleri belirlemek için yaygın olarak kullanılan moleküler belirteçlerdir (Sorrentino ve ark., 2017). DNA üzerinde gerçekleşen mutasyonlar, PZR sırasında amplifikasyon işlemini doğrudan etkileyerek elektroforez sonrası elde edilen bant profillerinde değişikliklere neden olmaktadır (Ozyigit ve ark., 2016b). Bant profillerinde tespit edilen bu varyasyonlar, genotoksik etkinin değerlendirilmesine olanak tanımaktadır. Özellikle DNA bantlarındaki yoğunluk farklılıkları, yeni bant oluşumları veya mevcut

bantların kaybolması, genetik materyalde meydana gelen hasarı ortaya koyarak genotoksisite analizlerinde önemli bir gösterge olarak kullanılmaktadır.

2.5.Kadmiyumun Bitkiler Üzerindeki Fizyolojik ve Genotoksik Etkileri

Kadmiyum, bitkilerde ciddi genotoksik ve fizyolojik etkilere yol açabilen toksik bir ağır metaldir (Ozyigit ve ark., 2021c). Bitkiler, düşük Cd konsantrasyonlarında metabolizmalarını düzenleyebilse de, yüksek Cd seviyeleri büyüme inhibisyonu, sararma (kloroz) ve köklerde esmerleşme şeklinde gözle görülür toksisite belirtilerine neden olabilir. Ayrıca, hücre ve dokularda küçülme, stoma ve epidermal tüy sayısında düşüş gibi anatomik farklılıklar da gözlenebilir. Bu değişimler, uzun vadede bitki ölümüne yol açabilir (Yli-Pirilä ve ark., 2007; Hocaoglu-Ozyigit ve Genc, 2020; Almuwayhi, 2021; Ozyigit ve ark., 2021c). Cd, sürgünlerde kök Fe(III) redüktaz ve gövde nitrat redüktaz aktivitesini inhibe ederken, CO₂ fiksasyonunda rol oynayan enzimlerin işlevselliğini de engeller (Gjorgieva Ackova, 2018). Aynı zamanda, fosfor (P), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve potasyum (K) su alımını olumsuz etkilediğinden nitrat translokasyonunu ve emilimini düşürür. Cd, bitkilerde su dengesi bozukluklarına da neden olmaktadır (Nagajyoti ve ark., 2010).

Aşırı miktarda Cd, nükleusa hasar vererek kromozomal parçalanma ve aberasyona yol açar. Mitokondriyal yapıların bozulması ise bitkilerde solunum sürecini ciddi şekilde engeller. Cd, sülfhidril gruplarına bağlanarak proteinlerin yanlış katlanmasına ve enzimatik aktivitenin azalmasına veya durmasına neden olur. Bu durum, özellikle elektron taşıma zinciri içindeki redoks reaksiyonlarının etkinliğinin belirgin şekilde düşmesine yol açmaktadır (Ghori ve ark., 2019). Yüksek Cd konsantrasyonları, lipid peroksidasyonu, enzim inaktivasyonu ve DNA hasarı gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına bağlı toksisite semptomlarına yol açar. Bunlar, fotosentez ve solunumun baskılanması gibi etkilerle kendini gösterir. Tüm bu faktörler, özellikle tarla bitkilerinde verim ve kalitenin düşmesine neden olur (Ozyigit ve ark., 2021d). Bitkiler kadmiyuma maruz kaldıklarında şu etkiler gözlemlenebilir:

Fizyolojik Etkiler:

- **Fotosentez ve Solunum:** Kadmiyum, fotosentez ve solunum süreçlerini inhibe ederek bitkinin enerji üretimini ve büyümesini azaltır. Bu, klorofil sentezinin azalması ve yapraklarda kloroz gibi belirtilerle kendini gösterir.

- **Büyüme ve Gelişim Bozuklukları:** Kadmiyum kök gelişimini engelleyebilir, tohum çimlenme oranını düşürebilir ve genel bitki büyümesini olumsuz etkileyebilir. Bu da kök ve sürgün uzunluğunda azalmaya yol açar.
- **Mineral Alımı:** Kadmiyum, bitkilerin topraktan mineral alımını engelleyerek besin eksikliklerine neden olabilir. Bu da bitkinin genel sağlığını ve metabolizmasını bozabilir.

Genotoksik Etkiler:

- **DNA Hasarı:** Kadmiyum bitki hücrelerinde DNA'nın yapısını bozarak genetik materyalin bütünlüğünü bozar. Bu durum, hücre bölünmesi ve fonksiyonlarında aksamalara yol açabilir.
- **Mutasyonlar:** Kadmiyum mutasyonlara neden olarak genetik değişiklikler oluşturabilir ve bitki gelişimini olumsuz etkileyebilir (Ozyigit ve ark., 2016a).

Kadmiyumun organizmalardaki genotoksik etkileri moleküler seviyede tam olarak anlaşılamamakla birlikte, Cd'nin adenin, guanin ve timin nükleotidlerine doğrudan bağlanabildiği mekanizmalar tespit edilmiştir. Bu durum, DNA'daki yanlış baz eşleşmelerinin tamir mekanizmasını bozarak genetik hasara yol açmaktadır (Hossain ve Huq, 2002; Jin ve ark., 2003).

Yapılan çalışmalar, yüksek Cd konsantrasyonlarının hücrelerin mitotik döngülerinde sapmalara neden olduğunu göstermektedir. Bu etkiler arasında anafaz evresinde görülen anormallikler, kromozomal bozukluklar, DNA kırılmaları ve silinmeler yer alır. Ayrıca, bitkilerde Cd birikimi, fotosentezde azalma, su ve besin alımında düşüş, kloroz ve büyüme inhibisyonu gibi olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (Drażkiewicz ve ark., 2003).

Kadmiyumun etkisi altındaki bitkilerde, klorofil ve aidiyet gösteren moleküllerin sentez bozuklukları neticesinde, fotosentez oranlarında azalma, stomaların kapanması ve transpirasyon hızında belirgin düşüş gözlemlenmektedir (Sheoran ve ark., 1990). Ayrıca, kadmiyum bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olarak oksidatif stres yaratır. Bu durum, tilakoid membranların yıkımına ve klorofil moleküllerinin parçalanmasına yol açarak fotosentez hızını olumsuz etkiler (Zengin ve Munzuroğlu, 2005).

2.6.Bitkilerde Besin Elementleri ve Önemi

Bitkilerin optimum büyüme ve gelişim süreçlerini sürdürebilmeleri için elzem olan elementlere esansiyel (temel) elementler denir. Bu elementlerin yetersizliği, bitkilerin

yaşam döngüsüyle ilişkili fizyolojik süreçlerde bozulmalara yol açabilmektedir (Epstein, 1999; Kabata-Pendias ve Mukherjee, 2007). Bitkiler, yaşamlarını sürdürebilmek ve gelişmek için ihtiyaç duydukları bileşenleri, esansiyel mineraller sayesinde sentezleyebilir. İnorganik maddeler, fotosentez ve diğer metabolik süreçlerin işleyişinde vazgeçilmez roller üstlenir. Dolayısıyla, bitki dokularındaki bu elementlere besleyici denir; içeriklerinin tayini, bitkilerin sağlıklı büyüme ve gelişim süreçlerinin değerlendirilmesinde kritik öneme sahiptir (Kacar ve Katkat, 2007). Bitkiler tarafından kullanılan besin maddeleri, ihtiyaç duyulan miktara göre makro ve mikro besin maddeleri olarak iki alandada ele alınır. Makro besin maddeleri; azot (N), Ca, K, Mg, P ve sülfür (S)'den oluşur. Bitkiler bu elementleri mikro besin maddelerine kıyasla daha yüksek miktarlarda kullanır. Mikro besin maddeleri ise bakır (Cu), bor (B), Fe, Mn, Mo ve Zn gibi elementlerdir. Klor (Cl) ve Na elementlerinin bazı bitkiler için gerekli olduğu düşünülmektedir (Karahan ve ark., 2020). Besin maddeleri arasındaki etkileşimler, bir elementin diğerlerinin alımını kolaylaştırması veya engellemesi açısından büyük önem taşır. Elementler arasındaki dengenin bozulması durumunda bitkide kimyasal stres gözlemlenebilir.

Kalsiyum, bitkiler tarafından topraktan Ca^{2+} iyonları olarak alınır; bu iyon, hem diferansiye olmuş dokuların hem de meristematik bölgelerin gelişimi ve işlevselliği için kritik öneme sahiptir (Resh 2001). Kalsiyum, hücre duvarının yapısal bir bileşeni olup, hücre duvarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca, büyüme bölgeleri ve kök uçlarıyla yakından ilişkilidir. Kalsiyum, bitkiye esneklik kazandırarak hücre duvarının genişlemesini sağlar ve böylece büyüme bölgelerinin kırılğan veya sert olmasını engeller. Bitkilerde immobil (hareketsiz) formda bulunur ve büyüme sürecinde yaşlı dokularda birikir (Tucker, 1999; McCauley ve ark., 2009). Bu nedenle, Ca, hücre duvarı ve bitki yapısı için oldukça önemli bir makro besin elementidir (White ve Broadley, 2003). Ca; gövde uzamasını, sürgün, damar ve kök gelişimini destekler. Ayrıca, yaprakların uzun süre dayanıklı kalmasını sağlayarak fotosentezin devamlılığını garanti eder ve azot metabolizması ile karbonhidrat taşınımında rol oynar (Hepler, 2005). Bitkide Ca eksikliği, hücre üretimi ve gelişiminin engellenmesine neden olur. Bu eksiklik, toprakta yeterli kireç bulunmamasından kaynaklanmaktadır (Tucker, 1999; Resh, 2001; Matschi ve ark., 2013).

Ca eksikliğinin belirtileri, yaprakların, gövdelerin, tomurcukların ve köklerin meristematik bölgelerinde görülür. İlk olarak genç yapraklar etkilenir ve genellikle yapraklarda deformasyon ile kloroz meydana gelir. Ca eksikliğinin şiddetli olduğu durumlarda, yapraklarda nekrozlar da gözlemlenebilir. Ayrıca, Ca bitkinin dış stres faktörlerini algılamasını sağlar ve bu durum savunma mekanizmalarının harekete geçmesine neden olur

(Tucker, 1999; Navarro ve ark., 2000; Parida ve Das, 2005; Tuna ve ark., 2007; Akat ve Özzambak, 2013).

Fe, yerkürede bol miktarda bulunmasına rağmen, yüksek derecede kararlı bir element olması sebebiyle suda çözünürlüğü oldukça düşüktür. Bu nedenle, bitkiler Fe'yi yapısal bileşenlerine dahil edebilmek amacıyla çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirmiştir (Walker ve Connolly, 2008; Palmer ve Guerinot, 2009; Long, ve ark., 2010). Fe, bitkiler açısından son derece kritik fizyolojik işlevlere sahiptir ve birçok biyokimyasal reaksiyonun katalizlenmesinde görev alan enzimlerin aktivasyonunda önemli bir rol oynar (Curie ve Briat, 2003; Kacar ve Katkat, 2007; Vatansever ve ark., 2015). Özellikle fotosentez ve solunum süreçlerinde temel bir bileşen olarak yer almaktadır (McCauley ve ark., 2009). Bununla birlikte, Fe bitki içerisinde mobil bir element değildir ve yaşlı yapraklardan genç yapraklara taşınmaz. Bu nedenle, eksiklik belirtileri öncelikli olarak genç yapraklarda, bilhassa yeni oluşan yapraklarda ortaya çıkmakta, eksikliğin ilerlemesiyle yaşlı yapraklarda da gözlenmektedir (Kacar ve Katkat, 2007). Fe eksikliği, klorofil biyosentezini olumsuz etkileyerek, yaprak damarları arasında sararma ile karakterize edilen ve interveniyal kloroz olarak adlandırılan bir durumun gelişmesine neden olur. Eksikliğin şiddetlenmesi halinde, yaprak dokusu beyazımsı-yeşil bir renk alırken, ilerleyen evrelerde nekroz meydana gelmektedir. Bunun yanı sıra, Fe eksikliği bitkinin büyüme hızında azalmaya sebep olmaktadır (McCauley ve ark., 2009). Aynı zamanda Fe, protein sentezi açısından da büyük önem arz eden bir elementtir. Fe yetersizliği durumunda bitkilerde total protein miktarının azaldığı, ancak çözünebilir organik azotlu bileşiklerin seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (Kacar ve Katkat, 2007).

Cu, bitkiler tarafından klorofil sentezi, solunum ve protein üretimi gibi hayati süreçlerde kullanılmakta olup, aynı zamanda oksidaz enzimlerinin aktivasyonu ve karbonhidrat metabolizmasında önemli roller üstlenmektedir (Boşgelmez ve ark., 2001; McCauley ve ark., 2009; Vatansever ve ark., 2015). Bunun yanı sıra, Cu yalnızca bitkiler için değil, aynı zamanda hayvanlar ve insanlar da dâhil olmak üzere tüm canlı organizmalar için esansiyel bir elementtir (Gürel ve Avcıoğlu, 2001). Özellikle bitkilerde kök dokularında birikim eğilimi göstermekte olup, sınırlı bir kısmı gövdeye taşınabilmektedir. Bununla birlikte, eser miktarlarda bulunması bitkisel gelişim açısından gereklidir. Cu eksikliği durumunda, ilk olarak genç yapraklarda kloroz belirtileri gözlenirken, bodur büyüme, geç olgunlaşma, yatma eğilimi ve bazı durumlarda melanozis gibi semptomlar da eksiklik göstergeleri arasında yer almaktadır. Ayrıca, Cu eksikliği tahıllarda verim kaybına yol açarak mahsul üretimini ciddi ölçüde azaltmaktadır (McCauley ve ark., 2009).

Cu eksikliğinin şiddetli olduğu durumlarda, genç yapraklar solgun sarı bir renge bürünmekte ve olgunlaşmadan dökülmektedir. Öte yandan, bitkide aşırı Cu birikimi nekroz hastalığına olmakta ve büyüme sürecini olumsuz yönde etkilemektedir (Tucker, 1999; Clemens, 2001; Marschner, 2011). Yüksek Cu konsantrasyonları, bitkiler üzerinde toksik etkilere yol açarak kök kütikulasının kalınlaşmasına, kök büyümesinin kısıtlanmasına, yan kök oluşumunda azalmaya ve koyu renkli lekelerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Kartal ve ark., 2004).

Potasyum, toprakta K^+ iyonu formunda bulunmakta olup, bitkiler tarafından alınabilir durumda olan ana formdur. K, enzim aktivasyonu, fotosentez, protein sentezi, osmotik potansiyelin düzenlenmesi, stomaların açılıp kapanma mekanizması, şeker taşınımı, hücre bölünmesi ve bitki besin elementlerinin taşınması gibi birçok temel fizyolojik süreçte görev almaktadır (Resh, 2001; Mengel ve Kirkby, 2001; Kacar ve Kalkat, 2007). Belirli enzimlerin aktivatörü veya katalizörü olarak işlev görmektedir olup, aynı zamanda bitkide sağlıklı kök gelişimini destekleyerek genel bitki canlılığı ve gelişimi açısından kritik bir rol üstlenmektedir. Organik tuzların taşınmasına ve depolanmasına katkıda bulunmasının yanı sıra, stomalardaki bekçi hücrelerinin turgor basıncının düzenlenmesinde kilit bir işlev görmektedir. Ayrıca, floem boyunca fosfataz ve Mg translokasyonunu artırarak besin elementlerinin etkin taşınmasını sağlamaktadır (Resh, 2001). Bitkiler, suyun dengeli kullanımı ve optimum verim elde edebilmek için yeterli miktarda K^+ iyonuna ihtiyaç duymaktadır. Bununla birlikte, K^+ iyonları bitki kök sisteminin suyu emme kapasitesini artırmakta ve ksilem yoluyla taşınmasını kolaylaştırmaktadır (Fırat, 1998).

K, bitkilerin soğuk, don ve kuraklık koşullarına karşı toleransını artırmanın yanı sıra, azotun etkinliğini, zararlılara ve hastalıklara karşı dayanıklılığı, meyvenin raf ömrünü ve meyve içeriğindeki şeker, yağ ve nişasta miktarını yükseltmektedir (Tucker, 1999). Gıda ve yem üretimi amacıyla yetiştirilen bitkilerde, protein değerini artırmak için K'dan faydalanılmaktadır (Kacar ve Katkat, 2007).

Bitkide K eksikliği aniden ortaya çıkmaz; başlangıçta yalnızca büyüme hızında bir azalma görülmekte, ilerleyen evrelerde ise nekroz ve kloroz belirtileri gözlemlenmektedir (Mengel ve Kirkby, 2001). Zamanla enzim reaksiyonlarının inhibe olması, bitkinin zayıf büyümesine, kök ve gövde yapısında bozulmalara yol açarak kuraklık, don, fungal enfeksiyonlar ve tuzluluğa karşı toleransın azalmasına sebep olmaktadır. Stomaların işlevselliği bozulduğunda, azalan transpirasyon ve gaz değişimi nedeniyle stomalar ışık altında dahi açılmamaktadır. K eksikliğine maruz kalan yaşlı yapraklarda lokalize lekeler veya klorotik alanlar oluşmakta, yaprak kenarlarında yanık belirtileri gözlenmektedir. Diğer önemli bir eksiklik belirtisi ise gövde yapısının zayıflaması ve kök sisteminin olumsuz

etkilenmesi sonucu, bitkinin yatma olarak adlandırılan ve kolaylıkla yere devrilmesi ile karakterize edilen durumu geliştirmesidir (Jacobsen ve Jasper, 1991; Aybak, 2005). K, genellikle aşırı miktarda absorbe edilmemekle birlikte, yüksek konsantrasyonları toksik etkilere yol açarak Ca, Fe, Mg, Mn ve Zn eksikliklerine neden olabilmektedir (Resh, 2001).

Magnezyum, toprakta iyonik formu olan Mg^{2+} halinde bulunmakta olup, bitkiler için son derece önemli bir makro besin elementidir. ATP sentezinde kritik bir kofaktör olarak görev almakta ve karbonhidrat metabolizması açısından temel bir besin ögesi olarak işlev görmektedir. Ayrıca, klorofil molekülünün yapısında yer alarak bitkilerin fotosentetik kapasitesinde belirleyici bir rol üstlenmektedir. Mg, diğer temel besin elementlerinin alımını düzenleyerek bitki boyunca fosfat bileşiklerinin taşınmasında etkin rol oynamaktadır. Karbonhidratların translokasyonunu kolaylaştırmasının yanı sıra, yağ sentezini artırıcı etkisi bulunmaktadır. Bununla birlikte, fotosentez, solunum, RNA ve DNA sentezi gibi temel biyokimyasal süreçlerde gerekli enzimleri aktive etmektedir (Tucker, 1999; Resh, 2001; Kacar ve Katkat, 2007; Elmlund ve ark., 2008; Müller ve Hansson, 2009). Mg, bitki içinde mobil bir element olduğundan, eksiklik belirtileri öncelikli olarak yaşlı yapraklarda ortaya çıkmaktadır. Alt yapraklarda klorofil sentezinin azalması nedeniyle kloroz gelişmekte, yaprak kenarları sarı veya kırmızımsı-mor renge dönüşürken, orta damar yeşil rengini korumaktadır. Eksikliğin şiddetlenmesi durumunda ise nekroz meydana gelmekte ve belirtiler bitkinin tamamına yayılmaktadır. Öte yandan, Mg toksisitesine ilişkin literatürde sınırlı sayıda bilgi bulunmaktadır (Jacobsen ve Jasper, 1991; Tucker, 1999; Resh, 2001).

Bitkiler, sodyumu topraktan Na^+ iyonları formunda pasif olarak almakta ve ksilem ile floem aracılığıyla taşımaktadır. Na, mobil bir element olup bitkide belirli bir depolama bölgesi bulunmamakta, bunun yerine bitkinin tüm dokularında dağılmış şekilde yer almaktadır. Ayrıca, yaşam için temel öneme sahip olan NaCl bileşiğinin ana bileşenlerinden birini oluşturmaktadır (Devraj ve ark., 2013). Kimyasal açıdan potasyum ile büyük benzerlik gösteren Na, yulaf, şeker pancarı, havuç, şalgam, lahana, tahıllar ve pamuk gibi bazı bitkilerde potasyumun belirli işlevlerini kısmen üstlenebilmektedir (Kacar ve Katkat, 2007; Wakeel ve ark., 2011). Bununla birlikte, bu iki element arasındaki rekabet nedeniyle Na alımı genellikle K eksikliğine yol açabilmektedir (Kaya ve ark., 2002). Na eksikliği, bitkide osmoregülasyon mekanizmasını olumsuz etkileyerek enzim aktivasyonunu engellemekte ve dolayısıyla metabolik süreçlerin işleyişini bozucu etki göstermektedir. Ancak, dışarıdan K takviyesi yapılarak bitkinin bu strese karşı toleransı artırılabilir (Cramer, 2002). Öte yandan, toprakta aşırı Na birikimi, bitkinin topraktan suyu absorbe etme ve taşınmasını sağlama yetisini baskılayarak su alım mekanizmasını ciddi şekilde inhibe etmektedir (Fırat,

1998).

Çinko, enzim aktivasyonu açısından kritik bir element olup; protein ve hormon sentezi (özellikle oksin), DNA/RNA metabolizması ve ribozom kompleksi stabilitesinde önemli roller üstlenmektedir. Bitki bünyesinde çeşitli enzimlerin aktivitesini destekleyen Zn, fotosentez sürecinde suyun parçalanma reaksiyonunu katalize eden karbonik anhidraz enziminin aktivasyonunda özel bir işlev görmektedir. Zn içeren RNA polimeraz enzimi, bu elementin eksikliği durumunda inaktive olmakta ve dolayısıyla RNA sentezi azalmaktadır. Ayrıca, Zn azot metabolizmasında önemli bir rol oynayarak protein sentezinin devamlılığını sağlamaktadır. Eksiklik durumunda, protein sentezindeki azalma nedeniyle bitki bünyesinde amino asit birikimi meydana gelmektedir. Bunun yanı sıra Zn, nişasta oluşumu ve tohum olgunlaşma süreçlerinde de etkin rol oynamaktadır (Boşgelmez ve ark., 2001; Vatansever ve ark., 2016a). Zn eksikliğinin ilk belirtileri arasında genç yapraklarda damarlar arası kloroz görülmektedir. Eksikliğin ilerlemesiyle birlikte sürgün büyümesi yavaşlamakta ve nihayetinde sürgün ölümü gerçekleşmektedir. Meyve ağaçlarında Zn eksikliği, yaprak oluşumunu olumsuz etkileyerek tomurcuk sayısında azalmaya neden olmaktadır. Eksikliğe maruz kalan bitki kısımları, karakteristik olarak rozet benzeri bir görünüm kazanmaktadır (Tucker, 1999; Resh, 2001; Boşgelmez ve ark., 2001). Bunun yanı sıra, hem genç hem de yaşlı yapraklarda damarlar arası kloroz veya nekroz belirtileri gözlenmektedir. Zn toksisitesi ise yaprak ve kök büyümesinde azalma ile kendini göstermektedir (Resh, 2001).

Mangan, bitkiler tarafından aktif olarak Mn^{++} iyonları formunda alınmakta olup, en verimli şekilde asidik karakterdeki ve pH'sı 6.5'ten düşük olan topraklardan absorbe edilmektedir. Mn, nitrojen asimilasyon sürecinde enzim aktivatörü olarak görev almakta ve klorofil üretimi için temel bir element işlevi görmektedir. Karbonhidrat redüksiyonunda enzim aktivasyonunu sağlayan katalizörlerden biri olan Mn, aynı zamanda RNA ve DNA sentezine de katılmaktadır. Genel olarak, fotosentez, solunum ve nitrojen metabolizması ile ilişkili çok sayıda enzimin aktifleşmesini sağlamaktadır. Mn'nin en önemli biyokimyasal fonksiyonlarından biri, fotosentez sürecinde suyun parçalanmasını katalize ederek oksijenin serbest hale gelmesini sağlamak ve oksijen üretimine doğrudan katkıda bulunmaktır (Vatansever ve ark., 2016b). Mn eksikliğinde, yapraklardaki klorofil içeriğinin azalmasına bağlı olarak kloroz meydana gelmektedir. Organik topraklar genellikle düşük ila orta seviyelerde Mn içeriğine sahip olup, bu nedenle Mn eksikliği çoğunlukla toprak yapısından kaynaklı olarak nadiren gözlenmektedir. Mn bitkide nispeten hareketsiz olduğundan, eksiklik belirtileri ilk olarak genç yapraklarda ortaya çıkmaktadır. Şiddetli eksiklik durumlarında nekrotik lekeler, yaprak dökülmesi, çiçeklenmede azalma veya tamamen

durma ve düzensiz büyüme gözlenmektedir. Kloroplastlar, Mn eksikliğine karşı en duyarlı bitki organelleri arasında yer almaktadır. Öte yandan, aşırı Mn alımı toksik etkilere yol açarak yaşlı yapraklarda kahverengi lekelerin oluşmasına sebep olmaktadır. Bunun yanı sıra, kloroz ve düzensiz klorofil dağılımı da Mn toksisitesinin belirtileri arasında yer almaktadır (Tucker, 1999; Resh, 2001).

2.7. Moleküler Belirteçler

Bitki genomu boyunca rastgele dizilim gösteren tekrarlı bölgeler mutasyon, rekombinasyon, stres gibi DNA'yı doğrudan etkileyebilen faktörlerden yapısal olarak etkilenmektedirler. Bu durum bu markörlerin stres koşullarında aktif veya inaktif duruma geçmesine ve spesifik primerler ile gerçekleştirilen PZR reaksiyon ürünlerinde nicel ve nitel değişimlere sebep olmaktadır (Yazıcıoğlu ve ark., 2024).

DNA'daki polimorfik bölgelerin saptanması moleküler markör (belirteç) yöntemlerinden biri olan ISSR prensibi çerçevesinde geliştirilmiş önemli bir yaklaşımdır (Yorgancılar ve ark., 2015). PZR temeline dayanan basit ve pratik bir uygulama olan ISSR yönteminde, 16-25 baz çifti uzunluğundaki tek çeşit primerin birbirinin ters istikametinde ve aynı diziye sahip olan ISSR bölgesine bağlanması ile bu iki bölge arasında kalan baz dizisinin çoğaltılmasını sağlar. ISSR yöntemi 2, 3, 4, 5 bazlı tekrarların bütün genoma rastgele dağılmış olmasını esas alır. Genomların farklı noktalarında çoklu kopyalar şeklinde ISSR bölgeleri bulunabilir. İki ISSR bölgesi arasındaki baz dizilerinin mesafesi aynı birey içinde ve bireyler arasında farklılık göstermektedir. Bahse konu ISSR bölgelerinden PZR ile çoğaltılabilecek uzunlukta ara dizi içeren iki ISSR bölgesi arttırılacaktır (Zietkiewicz ve ark., 1994; Gupta ve ark., 1994; Reddy ve ark., 2002).

ISSR markörleri, sahip oldukları yüksek polimorfik özellikler sayesinde genetik çeşitlilik analizleri, genom haritalama, evrimsel biyoloji çalışmaları, filogenetik araştırmalar ve gen etiketleme gibi birçok alanda önemli avantajlar sunar. Bu markörler, farklı türler ve popülasyonlar arasındaki genetik ilişkilerin incelenmesinde etkili bir araç olarak kullanılırken, aynı zamanda tür içi çeşitliliğin anlaşılmasına da katkıda bulunur. Bu özellikleri, ISSR markörlerini genetik ve moleküler biyoloji çalışmalarında vazgeçilmez kılar (Alhasnawi ve ark., 2015; Naik ve ark., 2017; Filiz ve ark., 2018).

DNA mutasyonları, PCR tabanlı moleküler markörler (RAPD, AFLP, ISSR vb.) kullanılarak tespit edilebilmektedir (Sorrentino ve ark., 2017). DNA diziliminde veya yapısında meydana gelen mutasyonlar, genetik materyalin bütünlüğünü bozarak çeşitli değişimlere yol açmaktadır. Bu tür değişimler, PCR amplifikasyon sürecini doğrudan

etkileyerek elektroforez sonrası elde edilen bant profillerinde farklılıkların gözlemlenmesine neden olmaktadır (Dogan ve ark., 2012; Ozyigit ve ark., 2016b). Bant profillerinde tespit edilen bu değişimler, genotoksik etkinin değerlendirilmesi açısından önemli bir gösterge olarak kullanılabilir.

ISSR primerlerinin, diğer yöntemlerde kullanılan primerlere göre daha uzun olma özelliği, analitik süreçlerin güvenilirliğini artırmakla birlikte, genomik dizi bilgisine ihtiyaç duyulmaksızın primer tasarımı yapılabilmesine imkan sağlamaktadır. Bu durum, ISSR yönteminin avantajlarından birini oluşturmakta ve genetik analizlerde pratik bir kullanım alanı sunmaktadır (Bornet ve Branchard, 2001). PCR tabanlı diğer markör tekniklerinin ISSR yöntemiyle karşılaştırıldığında çeşitli sınırlılıkları bulunmaktadır. Örneğin, RAPD markörleri, düşük tekrarlanabilirlik ve üretkenlik gibi dezavantajlara sahiptir. AFLP tekniği ise yüksek maliyetli ekipman ve işlem süreçleri gerektirmektedir. SSR (Simple Sequence Repeats) markörleri ise primer tasarımı için önceden genomik dizi bilgisine ihtiyaç duyması nedeniyle ISSR yöntemine kıyasla daha fazla hazırlık aşaması gerektirir. Bu faktörler, ISSR yönteminin avantajlarını öne çıkarmakta ve genetik analizlerde daha erişilebilir bir seçenek olarak değerlendirilmesine neden olmaktadır (Zietkiewicz ve ark., 1994). SSR markörleri, belirgin polimorfik yapılarına dayanarak, genetik çeşitlilik analizleri, genom haritalama, evrimsel biyoloji araştırmaları, filogenetik incelemeler ve gen etiketleme gibi alanlarda kayda değer avantajlar ortaya koymaktadır. Bu teknik, genomik varyasyonun belirlenmesinde etkili bir araç olarak kullanılmakta ve farklı türler arasındaki genetik ilişkilerin ortaya çıkarılmasında yaygın bir şekilde tercih edilmektedir. Ayrıca, ISSR markörleri, diğer yöntemlere kıyasla daha az teknik gereksinim ve maliyetle uygulanabilmesi nedeniyle, genetik araştırmalarda pratik ve erişilebilir bir seçenek olarak öne çıkmaktadır (Alhasnawi ve ark., 2015; Naik ve ark., 2017; Filiz ve ark., 2018).

Moleküler işaretleyiciler, DNA üzerindeki belirli bölgelerin çoğaltılmasını sağlayan kısa DNA parçalarıdır. Bu özellikleri sayesinde DNA'nın hedeflenen gen bölgesinin tespit edilmesi mümkün hale gelir. Genom analizleri ve moleküler araştırmalarda kullanılmak üzere üç temel moleküler işaretleyici türü öne çıkar. Bunlar; morfolojik işaretleyiciler, DNA tabanlı işaretleyiciler ve protein işaretleyicileri olarak sıralanabilir (Vazhacharickal ve ark., 2017).

Fenotipik özelliklere dayanarak, organizmaların genotiplerini birbirinden ayırmaya yönelik çalışmaları uzun yıllardır sürdürülmektedir. Genotipler arasındaki farklılıkları belirlemek için kullanılan morfolojik özellikler ve mutasyonlar sonucu ortaya çıkan yeni karakterlerin fenotipe yansımaları, uzun süredir bilinen bir yaklaşımdır. Günümüzde ise bu işlem, protein

ve DNA düzeyindeki farklılıkları ortaya çıkarmak amacıyla moleküler işaretleyicilerin kullanıldığı bir forma dönüşmüştür. Bu yöntem, genetik çeşitliliğin daha hassas ve detaylı bir şekilde analiz edilmesine olanak tanır (Westermeier, 2016).

Morfolojik işaretleyiciler, organizmaların genetik analizlerinde fenotipik özelliklere dayalı olarak kullanılan temel araçlardır. Bu işaretleyiciler, Mendel kalıtımının temel prensiplerini ortaya koyan ilk genetik çalışmalarda önemli bir rol oynamıştır. Ancak, bu yöntem, allel çeşitliliğinin yetersiz olması nedeniyle sınırlı bir kullanım alanına sahiptir. Bu kısıtlılık, genetik çeşitliliğin tam olarak analiz edilmesini zorlaştırmış ve daha gelişmiş moleküler markır tekniklerinin geliştirilmesine zemin hazırlamıştır (Verga ve ark., 2015). Amino asitlerin yapısal özellikleri ve molekül ağırlıklarındaki farklılıklar, proteinlerin allellerinde diğer organik bileşiklere kıyasla çeşitlilik göstermesine neden olmaktadır. Bu çeşitlilik, proteinlerin jel elektroforez yöntemiyle kolayca tespit edilebilmesini sağlar. İşaretleyicilerin erken dönem kullanımlarında, doku ve kan örneklerindeki proteinler belirteç olarak yaygın şekilde kullanılmıştır. Ancak, bu yöntemin zaman alıcı olması nedeniyle, günümüzde DNA tabanlı işaretleyicilerin kullanımı ön plana çıkmıştır (Phillips ve Vasil, 2013).

DNA tabanlı işaretleyiciler, taksonomik sınıflandırmada aynı türe ait farklı bireylerde görülen polimorfizm farklılıklarını gösteren DNA bölgeleridir ve günümüzde en yaygın kullanılan moleküler işaretleyici türüdür. Bu işaretleyicilerin popülerliği, PCR gibi tekniklerin geliştirilmesiyle artmıştır. Bu sayede, genetik haritalama, filogenetik sınıflandırma analizleri ve doğal seçilim çalışmaları gibi birçok alanda yaygın şekilde kullanılmaktadır (Passari ve ark., 2015).

Bu işaretleyiciler, sayıca fazla olmaları ve ekolojik faktörlerden etkilenmemeleri nedeniyle kullanım açısından önemli bir avantaj sunar. Bu avantaj, DNA'nın baz dizilimindeki değişikliklerin kolayca ve doğru bir şekilde tespit edilmesini sağlar. Ayrıca, işaretleyicilerin bitki ıslah çalışmalarında kullanılması, bu alandaki gelişmeleri hızlandırmaktadır. Moleküler işaretleyiciler sayesinde tarımsal üretim sürecinde yapılan seleksiyon işlemleriyle verim artırılabilir ve bu süreç devam ettirilebilir. Düşük maliyetli olmaları da diğer yöntemlere kıyasla önemli bir avantaj sağlar (Kumar ve ark., 2016).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deney Materyali ve Hoagland Besin Çözeltisinin Hazırlanışı

Bu tez çalışmasında, CdCl_2 stresinin etkileri bodur paşa kılıcı (*Sansevieria trifasciata* Hahnii) bitkisinin vejetatif klonlarına ait yapraklarda biyokimyasal ve moleküler yaklaşımlar ile araştırılmıştır.

Stres uygulaması öncesi, aynı anne bireyden vejetatif yolla üremiş klon bitkiler bir ay boyunca perlit içeren viyollerde yetiştirilmiş, daha sonra yine içerisinde Hoagland besin çözeltisi (Hoagland ve Arnon, 1950) olan kaplara yerleştirilmiştir. Kontrol grubuna ait ortam CdCl_2 içermeyen besin çözeltisi ile uygulama grupları ise 50, 100 ve 200 μM CdCl_2 içeren Hoagland besin çözeltisi ortamında yetiştirilmiştir. Her grupta üç biyolojik tekrar bulunmaktadır. Fizyolojik ve moleküler analizler için bir ay Cd ortamında yetiştirilen bitki dokuları kullanılmıştır.

Yaprak dokusunda ağır metal analizleri ve moleküler markırlar ile DNA düzeyinde taramalar gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar koşullarında yetiştirilen bitkilerin yaprakları, hassas terazi kullanılarak belirli ağırlıklarda (0,5-1,00 gram) tartılmış, etiketlenmiş ve alüminyum folyoya sarıldıktan sonra DNA izolasyonunda kullanılmak üzere -80°C 'de saklanmıştır. Ayrılan yaprak örnekleri mineral analizi öncesinde 80°C 'de 2 gün süresince etüvde bekletilerek kurutulma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Bitkilerin kontrollü koşullar altında gelişimleri için Marmara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde bulunan "Bitki İklimlendirme Odası" kullanılmıştır. İklim odasının sıcaklığı, bitkilerin doğal yaşam koşullarına uygun değerlerde sabit tutulmuş, bitkiler için uygun nem ve yeterli ışık ortamı hazırlanmıştır.

Bitki besleme ortamı olarak kullanılan Hoagland besin çözeltisi aşağıdaki bileşenler sırası ile distile su içinde çözülerek hazırlanmıştır.

Makro Besinler:

- Kalsiyum nitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$): 945 mg/L
- Potasyum nitrat (KNO_3): 606 mg/L
- Magnezyum sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$): 493 mg/L
- Monopotasyum fosfat (KH_2PO_4): 136 mg/L

Mikro Besinler:

- Borik asit (H_3BO_3): 2.86 mg/L
- Mangan sülfat ($MnSO_4 \cdot H_2O$): 2.13 mg/L
- Çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$): 0.22 mg/L
- Bakır sülfat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$): 0.08 mg/L
- Molibdik asit (H_2MoO_4): 0.025 mg/L

Demir kaynağı ayrıca hazırlanarak makro-mikro besin karışımına taze olarak eklenmiştir. Bunun için 0.5 mg Demir EDTA (Fe-EDTA) 1 L saf suda çözülmüş ve ışıktan uzak bir yerde saklanmıştır.

3.2. Ağır Metal ve Elemental Analizler

Bodur Paşa kılıcı (*Sansevieria trifasciata* Hahnii) bitkisinin yapraklarında kadmiyum (Cd) birikimini tayin etmek amacıyla, ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi) cihazı (Perkin Elmer Optima 7000 dv) kullanılmıştır.

Kontrol ve uygulama gruplarına ait yaşlı ve genç yapraklar, kökler ve indirgenmiş gövde dokuları 80°C'de 2 gün boyunca etüvde kurutulmuştur. Kurutulan tüm dokular havanda mekanik olarak öğütülmüş, por çapı 1.5 mm'lik bir elekten geçirilmiş ve her bir bitki parçasından 0.5 gram numune tartılarak teflon tüplere yerleştirilmiştir. Tüplere 8 ml %65 nitrik asit (HNO_3) eklenmiş ve numuneler, mikrodalga fırın (Cem Mars 5) içerisinde 160°C'de işlem görmüştür. Sonrasında, örnekler Whatman filtre kağıdı yardımı ile süzülerek falkon tüplere konulmuş ve ultra saf su ile 50 ml'ye seyreltilmiş, ICP-OES cihazında (Perkin Elmer Optima 7000 dv) örneklerle ait spektrofotometrik okumalar başta Cd olmak üzere, B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, sodyum (Na) ve Zn elementleri içinde gerçekleştirilmiştir.

3.3. Moleküler Analizler

Genomik DNA izolasyonu, genetik analizlerin doğru ve güvenilir sonuçlar vermesi açısından büyük önem taşır. Bu hedefe ulaşmak için, çalışmada CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) yöntemi bitki dokularından yüksek kalitede DNA elde etmek için kullanılmıştır (Somma ve Querci, 2004). CTAB yönteminin belirli değişiklikler içeren modifiye hali Doyle (1990)'a göre uygulanmıştır. İzolasyonlarda

kullanılan tüm çözeltiler otoklavda steril edilmişlerdir. DNA izolasyonunda kullanılan CTAB ekstraksiyon tamponu; 5 gram CTAB, 70 ml 5M NaCl, 10 ml 0.5M EDTA ve 25 ml 1M Tris-HCl (pH:8) karıştırılmış ve distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. CTAB tamponu, izolasyondan hemen önce 65°C ısıya getirilmiş ve %0.2 (v/v) β -merkaptoetanol ilave edilmiştir.

Bodur paşa kılıcı yapraklarından DNA izolasyonu aşağıdaki adımlar takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

1. Homojenizasyon: 0.05-1.00 gram yaprak dokusu, Mixer Mill MM 400 Homojenizatör (Retsch GmbH., Düsseldorf, Almanya) ve tokmak ile havanda dövülerek homojenize edilmiştir.
2. Tampon Eklenmesi: Toz haline getirilmiş yaprakların , 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne konulmuş ve 800 μ l CTAB izolasyon tamponu ile 0.002 gram PVP eklendikten sonra birkaç kez tersyüz edilmek suretiyle tüpün karışması sağlanmıştır.
3. İnkübasyon: Karışım, 65°C sıcaklıkta 60-90 dakika boyunca inkübe edilmiştir.
4. Kloroform/Oktanöl Eklenmesi: Karışıma 800 μ l 24:1 oranında kloroform/oktanöl eklenmiş ve birkaç kez tersyüz edilerek karıştırılmıştır.
5. Santrifüj: Karışım, 13.000g devirde 10 dakika süresince santrifüjlenmiştir.
6. Süpernatant Aktarımı: 600 μ l civarında süpernatant, steril bir tüpe transfer edilir.
7. Çöktürme: 300 μ l 5M NaCl ve 600 μ l soğutulmuş %96 izopropanol karışıma ilave edilmiştir.
8. Bekletme: DNA zincirleri belirgin duruma gelene kadar karışım, -20°C'de saklanmıştır.
9. Santrifüj ve Süpernatant Boşaltma: Karışımın, 10.000g devirde santrifüj edilmesinin ardından süpernatant boşaltılmıştır.
10. Yıkama: Pellete %70 etanol ilave edilmiş ve DNA'nın çözünmesi sağlanmıştır.
11. Santrifüj: 10.000g devirde 3 dakika süresince santrifüjlenmiştir.
12. Tekrar: Gerektiğinde 10. ve 11. adımlar tekrarlanmıştır.
13. 13.000g devir 3 dakikalık son santrifüjün akabinde süpernatant boşaltılmıştır.
14. Arda kalan DNA pelleti çeker ocakta hava ile kurutulmak suretiyle etanolden

arındırılmıştır.

15. Rehidrasyon için 100 µl TE ya da distile su eklenerek izolasyon prosedürü sonuçlandırılmıştır.

16. OPTIZEN NANO Q Spektrofotometre (Mecasys Corp., Gyeonggi-do, Güney Kore) yardımıyla dsDNA ölçüm modunda DNA yoğunluklarının ölçümü yapılmıştır.

17. Konsantrasyon ölçümlerinden akabinde nükleaz içermeyen ultra saf su ilave edilerek yaklaşık 50 ng/µl son konsantrasyon değerleri elde edilmiştir.

Moleküler analizlerin izolasyon ve sonrasına ait laboratuvar aşamaları Şekil 3.3.1’de gösterilmiştir.





Şekil 3.3.1 Moleküler analizler; homojenizasyon, ekstraksiyon, PZR, agaroz jel elektroforezi evreleri (Marmara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Moleküler Biyolojisi ve Biyoteknolojisi Laboratuvarı).

3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Optimizasyonu

Bodur paşa kılıcı yapraklarından DNA izolasyonu yapılarak ISSR primerleri ile işaretlenen bölgelerin PCR yöntemi ile çoğaltılıp agaroz jel elektroforezinde yürütülmeleri sonucu oluşan DNA bant profilleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar mukayese edilerek değişik stres seviyelerine maruz bırakılan denekte gözlemlenen genotoksik etkilerin sonuçları, çalışmadan elde edilecek ISSR bant profili değişiklikleri üzerinden saptanmıştır.

Çalışmada 20 farklı ISSR primeri kullanılmış olup sonuçta bant veren primerlerin belirlenmesi ile ileriki çalışmalarda araştırmacılara *S. trifasciata* bitkisi için referans olabilecek primer çeşitlerinin saptanması ve sonraki dönemlerde yapılacak uygulamalarda kolaylık sağlayabilecektir.

Tablo 3.5.1 Çalışmamızda kullandığımız ISSR primerlerine ait 5'-3' dizi bilgileri

1	UBC-808	AGA GAG AGA GAG AGA GC
2	UBC-810	GAG AGA GAG AGA GAG AT
3	UBC-811	GAG AGA GAG AGA GAG AAC
4	UBC-812	GAG AGA GAG AGA GAG AA
5	UBC-814	CTC TCT CTC TCT CTC TA
6	UBC-815	CTC TCT CTC TCT CTC TG
7	UBC-822	TCT CTC TCT CTC TCT CA
8	UBC-825	ACA CAC ACA CAC ACA CT
9	UBC-826	ACA CAC ACA CAC ACA CC
10	UBC-827	ACA CAC ACA CAC ACA CG
11	UBC-833	GAG AGA GAG AGA GAG AT
12	UBC-834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT
13	UBC-835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC
14	UBC-840	CTC TCT CTC TCT CTC TTT
15	UBC-841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC
16	UBC-842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG
17	UBC-868	GAA GAA GAA GAA GAA GAA
18	UBC-872	GAT AGA TAG ATA GAT A
19	UBC-876	GAT AGA TAG ACA GAC A
20	UBC-881	GGG TGG GGT GGG GTG

PZR koşulları; 95C 5dk; (95C 1 dk; 44C 1dk;72C 1 dk)x38 döngü; 72C 1 dk; 72C 7 dk olarak uygulanmıştır. Kullanılan PZR protokolü; Kalıp DNA (50 ng/µl) 2 µl, 10X reaksiyon tamponu 3 µl, 25mM MgCl₂ 3 µl, 20mM dNTP karışım 0.2 µl, 5U/ µl Taq polimeraz 0.2 µl, 10mM Primer 1.5 µl, ddH₂O 10.1 µl olacak şekilde 20 µl'de gerçekleştirilmiştir.

3.6. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi İle Görüntülenmesi

Agaroz jel elektroforezi görüntülemelerinde kullanılmak üzere, 100 ml TBE (Tris Borik asit EDTA) çözeltisi hazırlanırken 1.6 gram, 250 ml TBE çözeltisi (Fisher Scientific, Massachusetts, ABD) için ise 4 gram [%1.6 (m/v)] oranında agaroz (peqGOLD Universal Agarose, VWR International, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir. Hazırlanan solüsyona, 100 ml için 2 µl veya 250 ml için 5 µl olacak şekilde Etidyum Bromür (10 mg/ml, MP Biomedicals, Kaliforniya, ABD) ilave edilmiştir. Jelin hazırlanmasının ardından, elektroforez işlemi sırasında Power Supply CS-300V omniPAC MIDI (Cleaver Scientific Ltd., Warwickshire, Birleşik Krallık) marka güç kaynağı kullanılmıştır. PCR sonrası elde edilen ürünlerin jelde ilerletilmesi işlemi, elektroforez tankı içerisinde gerçekleştirilmiş olup, elektroforez sonrası elde edilen bantlar analiz edilmek üzere görüntülenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan ISSR primerleri, diğer yöntemlerde tercih edilen primerlere kıyasla daha uzun yapıda olmaları nedeniyle güvenilirliklerini artırır. Aynı zamanda, bu primerlerin tasarımı sırasında genomik bilgiye ihtiyaç duyulmaması, ISSR yöntemini özellikle pratik ve erişilebilir kılar. Bu durum, genetik analizlerde kolaylık ve esneklik sağlayarak, çalışmanın etkinliğini yükseltir (Bornet ve Branchard, 2001).

3.7 Kadmiyum Stresi Kaynaklı Genotoksisitenin Ölçümü

Genotoksisite analizinde, uygulama ve kontrol gruplarından sağlanan bitki örneklerinden izole edilen total DNA, ISSR primerlerinin kullanımıyla PZR cihazında amplifiye edilmiş; sonrasında ise agaroz jel elektroforezi yöntemiyle titizlikle incelenmiştir. Elektroforez işleminin tamamlanmasının ardından, jel üzerinde görüntülenen DNA bant profilleri analiz edilerek, genetik değişiklikler ve polimorfizmler değerlendirilmiştir. Bu veriler, genotoksisitenin belirlenmesi ve genetik etkilerin incelenmesi için temel oluşturmuştur.

Genotoksisite tayininde Syngene firmasına ait “Gene Tools” programı kullanılmıştır. Agaroz jel görüntülerine ait Tiff. formatındaki dosyalar programa aktarıldıktan sonra DNA ladder’a göre nisbi bant uzunlukları program tarafından otomatik olarak hesaplanmıştır. Gel Analyzer programında bant yoğunlukları hesaplanmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında kadmiyum, bodur paşa kılıcı bitkisinde oluşturduğu stres biyokimyasal ve moleküler markör düzeyinde araştırılmıştır. Biyokimyasal açıdan element analizleri başta kadmiyum, B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na ve Zn olmak üzere yaşlı yaprak, genç yaprak, indirgenmiş gövde ve kök kısımlarında karşılaştırmalı olarak Tablo 4.1.1, Tablo 4.1.2, Tablo 4.1.3 ve Tablo 4.1.4’de ppm cinsinden gösterilmiştir. Üç biyolojik tekrara ait sonuçlardan elde edilen veriler istatistiksel olarak SPSS 20.0’da hesaplanmıştır. Moleküler analizler 20 adet ISSR markörünün bodur paşa kılıcı genomunda PZR ile çoğaltıldığı bölgelerin agaroz jel görüntülemeleri ile gerçekleştirilmiştir. PZR’den elde edilen fragmentlerin polimorfik veya monomorfik yapıları ve fragment yoğunlukları genotoksisitenin araştırılmasında kullanılmıştır. Çalışmamızda kullandığımız ISSR primerleri farklı bitki gruplarında genotipler arası genetik varyasyonların belirlenmesinde test edilmişlerdir (Noor ve ark., 2022; Anastasiadi ve ark., 2024; Michelle ve ark., 2025; Chirinos-Arias ve Spampinato, 2025).

4.1. Ağır Metal (Cd) ve Mineral Element Değerleri

Kadmiyum birikiminin bitkilerde genellikle kök ve yaprak dokularında araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Xu ve ark., 2017; Wang ve ark., 2022; Ozturk ve ark., 2023). Astolfi ve ark., (2014) arpa bitkisinin fidelerinde 20 µM kadmiyumun demir EDTA’lı ve demir EDTA’sız ortamlardaki etkisinin demir alım mekanizmasından bağımsız olarak demir eksikliğine benzer cevapları tetiklediğini göstermişlerdir. Çalışmamızda 200 µM Cd uygulaması sonrası bodur paşa kılıcı bitkisinin yaşlı yaprakları, genç yaprakları, indirgenmiş yaprakları ve kök dokusunda demir konsantrasyonunu %25 oranında düşürdüğü gözlenmiştir. Bu durum *Arabidopsis* bitkisine ait demir mutantlarında dışarıdan verilen demirin kadmiyum alımını köklerde azaltarak kadmiyumla demir arasında antogonistik bir ilişkinin olması ile açıklanabilir. Xu ve ark., (2017) kadmiyumun bitkilerde demir alımının yanı sıra çinko alımını da sınırlandırdığını göstermişlerdir. Bodur paşa kılıcına ait yaprak indirgenmiş gövde ve köklerde demirin yanı sıra kadmiyum stresine maruz kalan dokular içinde demir en fazla yaşlı yapraklarda düşüş göstermiş olup, bunun yanı sıra çinko değerleri içinde aynı azalışlar ortaya çıkmıştır.

Tablo 4.1.1 Farklı konsantrasyonlarda (0-50-100-200 µM) CdCl₂ içeren Hoagland çözeltilisinde yetiştirilen *Sansevieria trifasciata* Hahnii bitkisinin vejetatif klonlarının yaşlı yapraklarında gözlemlenen Kadmiyum ve Mineral Element değerleri (ppm).

Yaşlı Yaprak (Dış Yaprak)										
Gruplar	Cd	B	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn
Kontrol	0,668	7,168	3471,180	76,650	195,991	1994,331	761,509	106,254	647,949	49,878
std sapma ±	0,017	0,192	87,381	1,935	4,933	50,212	19,174	2,670	16,306	1,254
50 µM CdCl ₂	10,823	6,712	3241,980	71,625	183,076	1862,643	711,246	99,277	605,194	46,608
std sapma ±	0,283	0,169	81,603	1,797	4,612	46,886	17,903	2,493	15,243	1,164
100 µM CdCl ₂	19,871	6,291	3027,928	66,940	171,015	1739,680	664,300	92,751	565,256	43,577
std sapma ±	0,501	0,158	76,235	1,674	4,316	43,796	16,726	2,335	14,219	1,089
200 µM CdCl ₂	34,041	5,413	2590,236	57,295	146,310	1488,216	568,313	79,370	483,581	37,312
std sapma ±	0,861	0,142	65,207	1,447	3,682	37,466	14,303	1,995	12,172	0,932

Yaşlı yapraklarda 50 µM CdCl₂ uygulaması sonucu kadmiyum birikimi kontrole göre yaklaşık 15 kat, 100 µM CdCl₂ uygulaması sonucu 30 kat, 200 µM CdCl₂ uygulaması sonucu kontrole göre 50 kat artış göstermiştir. Diğer tüm elementlerinde CdCl₂ konsantrasyonu arttıkça yaşlı yaprak dokusunda azalış gösterdiği gözlenmiştir.

Tablo 4.1.2 Farklı konsantrasyonlarda (0-50-100-200 μM) CdCl_2 içeren Hoagland çözeltisinde yetiştirilen *Sansevieria trifasciata* Hahnii bitkisinin vejetatif klonlarının genç yapraklarında gözlemlenen Kadmiyum ve Mineral Element değerleri (ppm).

Genç Yaprak (İç Yaprak)										
Gruplar	Cd	B	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn
Kontrol	0,593	6,152	3171,975	63,122	172,278	1777,076	715,464	95,701	613,680	42,000
std sapma $\pm$	0,024	0,149	79,853	1,589	4,337	44,729	18,019	2,409	15,443	1,057
50 μM CdCl_2	7,216	5,774	2962,532	58,982	160,928	1659,759	668,247	89,409	573,192	39,253
std sapma $\pm$	0,192	0,150	74,584	1,485	4,053	41,775	16,820	2,251	14,424	0,976
100 μM CdCl_2	16,398	5,426	2766,928	55,116	150,331	1550,190	624,157	83,524	535,384	36,710
std sapma $\pm$	0,421	0,143	69,653	1,389	3,784	39,032	15,710	2,097	13,473	0,923
200 μM CdCl_2	25,950	4,666	2366,977	47,171	128,632	1326,113	533,962	71,476	458,010	31,442
std sapma $\pm$	0,646	0,114	59,580	1,186	3,243	33,377	13,442	1,803	11,535	0,800

Genç yapraklarda 50 μM CdCl_2 uygulaması sonucu kadmiyum birikimi kontrole göre yaklaşık 10 kat, 100 μM CdCl_2 uygulaması sonucu 25 kat, 200 μM CdCl_2 uygulaması sonucu kontrole göre yaklaşık 40 kat artış göstermiştir.

Tablo 4.1.3 Farklı konsantrasyonlarda (0-50-100-200 μM) CdCl_2 içeren Hoagland çözeltisinde yetiştirilen *Sansevieria trifasciata* Hahnii bitkisinin vejetatif klonlarının indirgenmiş gövdelerinde gözlemlenen Kadmiyum ve Mineral Element değerleri (ppm).

İndirgenmiş Gövde										
Gruplar	Cd	B	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn
Kontrol	0,955	4,484	2765,316	96,752	155,970	1331,991	428,730	51,511	430,522	28,277
std sapma $\pm$	0,020	0,118	69,619	2,435	3,931	33,524	10,799	1,307	10,838	0,715
50 μM CdCl_2	18,558	4,216	2582,744	90,393	145,694	1244,074	400,443	48,128	402,138	26,444
std sapma $\pm$	0,477	0,107	65,023	2,274	3,671	31,316	10,086	1,217	10,125	0,662

100 µM CdCl₂	25,796	3,974	2412,227	84,462	136,108	1161,959	374,013	44,990	375,618	24,726
std sapma ±	0,640	0,091	60,722	2,129	3,425	29,255	9,421	1,136	9,455	0,630
200 µM CdCl₂	45,590	3,427	2063,550	72,290	116,459	994,023	319,980	38,528	321,361	21,182
std sapma ±	1,136	0,089	51,953	1,818	2,932	25,023	8,060	0,969	8,100	0,533

İndirgenmiş gövdede 50 µM CdCl₂ uygulaması sonucu kadmiyum birikimi kontrole göre yaklaşık 20 kat, 100 µM CdCl₂ uygulaması sonucu 25 kat, 200 µM CdCl₂ uygulaması sonucu kontrole göre yaklaşık 48 kat artış göstermiştir.

Tablo 4.1.4 Farklı konsantrasyonlarda (0-50-100-200 µM) CdCl₂ içeren Hoagland çözeltilerine maruz bırakılan *Sansevieria trifasciata* Hahnii bitkisinin vejetatif klonlarının köklerinde gözlemlenen Kadmiyum ve Mineral Element değerleri (ppm).

Kök										
Gruplar	Cd	B	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Zn
Kontrol	1,226	15,307	3854,699	110,321	224,453	2351,631	968,416	142,702	858,405	62,703
std sapma ±	0,016	0,386	57,248	2,786	8,038	59,205	10,843	3,581	21,606	1,586
50 µM CdCl₂	37,898	14,337	3625,079	103,052	203,442	2196,360	907,604	133,316	801,773	58,593
std sapma ±	0,945	0,365	91,255	2,604	5,126	55,298	22,857	3,352	20,182	1,463
100 µM CdCl₂	144,374	13,407	3385,717	96,253	190,020	2051,353	847,683	124,545	748,874	54,760
std sapma ±	3,641	0,334	85,222	2,425	4,784	51,641	21,346	3,142	18,859	1,386
200 µM CdCl₂	211,133	11,508	2896,329	82,377	162,569	1754,856	725,150	106,573	640,658	46,857
std sapma ±	5,308	0,297	72,907	2,071	4,094	44,179	18,249	2,671	16,123	1,178

Genç yapraklarda kadmiyum dışındaki elementlerde birikim yerine azalma gözlenmiş olup, kontrol gruplarına göre dörtte bir oranında düşüşler gözlenmiştir. Diğer elementler içerisinde indirgenmiş gövde için potasyum birikimi yaklaşık %30 ile en fazla azalış gösteren element olmuştur. Potasyumun dışındaki elementlerdeki azalış %25 (dörtte bir) seviyesinde kalmıştır. Kök dokusunda kadmiyum tüm stres uygulamalarında belirgin

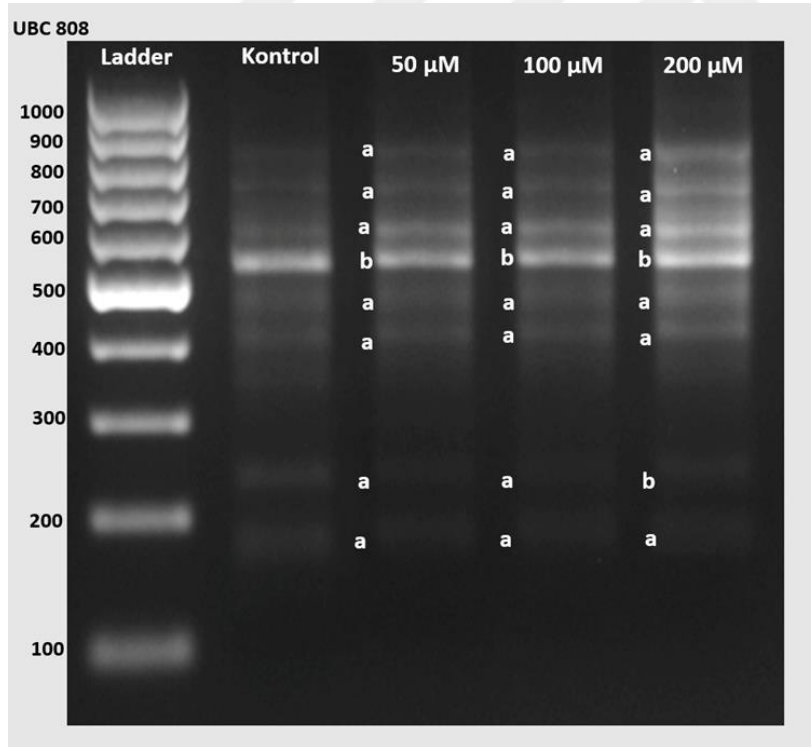
bir şekilde artış eğiliminde iken, kalsiyum elementi yaklaşık %30 bir azalış göstermiş, geri kalan elementler % 25 (dörtte bir) oranında azalış göstermişlerdir. En belirgin birikimin kadmiyumda olması stres koşullarındaki bitkinin köklerinden başlayarak çeşitli proton pompalarına ait genlerin aktivasyonları, hücre içi elementlerin metabolizmada gerekli bitki besleme faaliyetlerinden kaynaklı olarak gerekli olmasına rağmen kadmiyumun alımı ile yarış halinde alımları, değişen su alımına ilave olarak hücre içi turgorun değişmesi ve kadmiyum dışındaki mikro makro element alımlarını etkilenmesi sayılabilir (Haider ve ark., 2021; Usman ve ark., 2022). Bu durum farklı bitki gruplarında azalan fotosentez, bitkinin yeşil aksamında stres uygulanmış gruplarda kontrole göre azalma, çimlenmenin gecikmesi veya olmaması, bitki boyunun kısalığı, çeşitli ROS aktivitelerinde değişimlere bağlanmıştır (Nazar ve ark., 2012; Li ve ark., 2013; Lata ve ark., 2019).

4.2. ISSR Analizleri ve Genotoksisite Ölçümleri

ISSR tekniği kullanılarak Bodur paşa kılıcı bitkisinin Cd stresine maruz bırakılması sonrası meydana gelebilecek genotoksik etkiler PZR ürünlerinin agaroz jellerdeki görüntülemeleri değişen bant yoğunluklarının karşılaştırılması ile analiz edilmiştir. Kontrol grubunda gözlemlenen DNA bant profilleri uygulama grubu örneklerinde saptanamamış, bazı durumlarda ise kontrol örneklerinin DNA bant profili gözlemlenmeyen bölgelerinde uygulama grubu örneklerde yeni bant profilleri ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra hem kontrol grubunda hem de deney gruplarında ortak olan bantlara ait bant yoğunluklarında artış ya da azalışlar gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Bu tez çalışmasında 20 ISSR primeri test edilmiş olup, Bodur paşa kılıcında en anlamlı sonuçları veren 5 ISSR primeri (UBC808, UBC826, UBC827, UBC841 ve UBC868) saptanmıştır. Örneklerde bu 5 primerin kullanılması ile yapılan PZR işlemleri sonucu çoğaltılan DNA bölgelerinin jel görüntüleri Şekil 4.2.1, Şekil 4.2.2, Şekil 4.2.3, Şekil 4.2.4 ve Şekil 4.2.5’de, DNA bant profillerinin analizi sonrası ortaya çıkan sonuçlar ise Tablo 4.2.1 - Tablo 4.2.10 arasındaki tablolarda sunulmuştur. Toplamda altı adet UBC primerinden sayıları en az 6, en çok 10 bant elde edilmiştir. Çoğaltılan fragmentlerin büyüklükleri 179 bp ile 1116 bp arasında değişiklik göstermiştir.

ISSR primerlerinin yardımıyla gerçekleşen moleküler değerlendirme çalışmaları sayesinde deneysel işlemlerin canlının morfo-fizyolojisi üzerindeki etkisini ortaya

koymaktadır (El-Mahdy ve ark., 2021). Moleküler markörler kullanılarak bitkilerde farklı ağırmetallerin genotoksik etkileri ISSR'lar kullanılarak araştırılmıştır. Buna örnek olarak Akdeniz tipi beslenmede sıklıkla kullanılan atom salata olarak bilinen *Eurica sativa* bitkisinde 20 ISSR markörü ile genotoksisite analizleri yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, 4 ISSR'ın herhangi bir PZR ürünü oluşturmadığı, 3 markörün tek bant olarak çoğaltım ürünü meydana getirdiği, 13 ISSR'ın ise primer başına ortalama 4 bant olacak şekilde sayıları 6'ya çıkan bant desenleri sergilediği tespit edilmiştir (Al-Qurainy, 2010). Diğer bir çalışmada, bir çeşit su kabağı bitkisi olan *Pistia stratiotes* 'de kurşun kirliliğinin oluşturduğu genotoksik etkiler DNA düzeyinde ISSR markörleri kullanılarak analiz edilmiştir (Neeratanaphan, 2014). Su kabağı bitkisinde kullanılan 10 adet ISSR marköründen toplamda 577 adet bant edilmiş bu bantların agaroz jellerdeki yoğunluklarının analizi sonucunda genotoksisite açısından kullanılabilir parametre oluşturma potansiyelleri olduğu tespiti yapılmıştır. Bu tez çalışmasında Bodur paşa kılıcı bitkisinde kullanılan 5 ISSR primerine ait bantlar tespit edilmiş olup monomorfik yapı gösteren agaroz jeller incelendiğinde fragment yoğunluklarının kadmiyum stresi artışına bağlı olarak kontrol grubuna göre artış gösterdiği saptanmıştır.



Şekil 4.2.1 Bodur paşa kılıcı bitkisinde UBC 808 primeri ile çoğaltılan DNA bölgelerinin agaroz jel görüntüsü. (a) bant yoğunluğundaki artışı, (b) bant yoğunluğundaki azalışı.

Tablo 4.2.1 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve uygulama gruplarında UBC 808 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bp)	Kontrol	50 µM Cd	100 µM Cd	200 µM Cd
UBC 808	880	11,435	12,192	11,962	17,547
	779	11,611	12	11,845	16,471
	650	11,877	16,372	15,897	18,483
	573	42,708	33,498	33,146	37,31
	498	11,2	11,312	11,296	14,181
	425	11,739	11,85	12,064	14,218
	237	11,147	11,248	11,296	11,115
	179	11,157	11,189	11,243	11,307

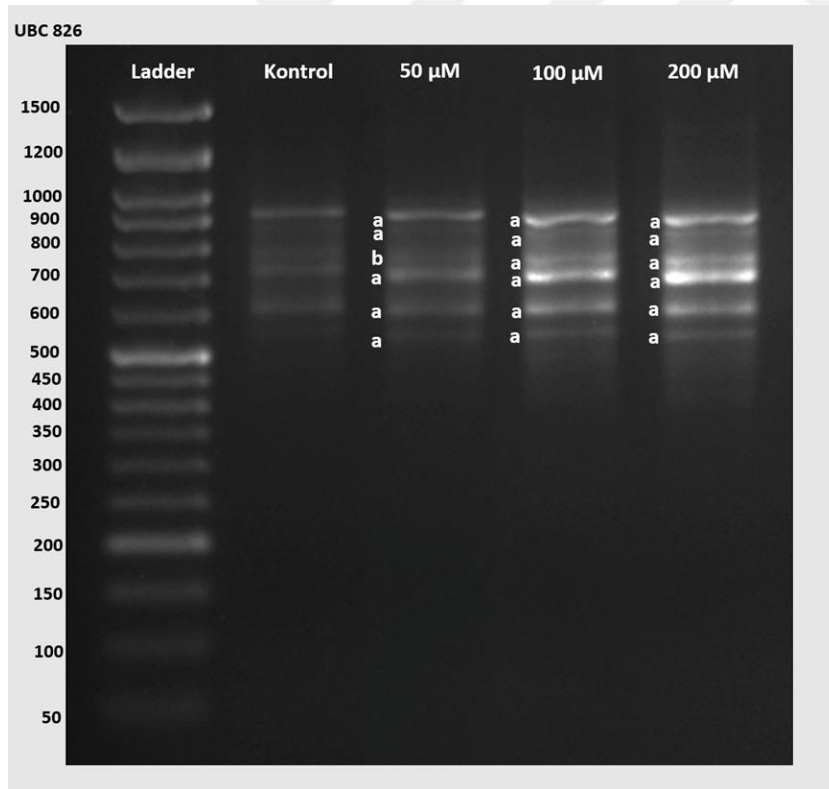
Tablo 4.2.1 değerlendirildiğinde 365 bp bant dışındaki tüm alleller açısından monomorfik bant profili oluşmuştur. UBC 808 primeri çalışmamızda 9 locus çoğaltırken, dos Santos Araújo ve ark., (2016) *Mimosa* bitkisinde 5 locus, mısır bitkisinde Erum ve ark., (2022) herhangi bir allelik locus çoğalmadığını rapor etmişlerdir. Mukherejee ve ark., (2013) *Allium* bitkisinde boyutları 313-892 bp arasında değişen toplam 32 adet locus tespit ederken, Naveen ve ark., (2020) 20 farklı çeltik genotipinde UBC 808 primeri ile sayıları 2-8 arasında polimorfik yapıda bant profili gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlara göre UBC 808 primer genetik çeşitlilik çalışmalarında farklı bitki türlerinde etkili bir şekilde kullanılan bir ISSR primeridir.

Bizim çalışmamızda da kadmiyum stresine bağlı olarak bodur paşa kılıcı bitkisinde 8 monomorfik yapıda bant profili elde edilmiştir. Kadmiyum stresinin artan konsantrasyonlarına bağlı olarak herhangi bir belirgin fark elde edilmemiştir. Kontrol grubu bitkileri 200 µM CdCl₂ arasında fragment profili değişkenlik göstermemiştir. Dolayısı ile bodur paşa kılıcı genomunda strese özgü bir ISSR bölgesinin varlığından söz edilemez. Bu durumun sebeplerinden biri olarak kadmiyum stresinin bodur paşa kılıcı genomunda artan konsantrasyonlarda epigenetik değişimlere sebep olması gösterilebilir. Yapılan araştırmalar epigenetik değişimlerin bitkilerde farklı bant profillerinin ortaya çıkabileceğini göstermiştir (Alfalahi ve ark., 2022).

Tablo 4.2.2 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, UBC 808 primerine ait bant yoğunluklarının artış ve azalış yüzdeleri.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bp)	50 μ M Cd	100 μ M Cd	200 μ M Cd
UBC 808	880	6,62%	4,61%	53,45%
	779	3,35%	2,02%	41,86%
	650	37,85%	33,85%	55,62%
	573	-21,57%	-22,39%	-12,64%
	498	1,00%	0,86%	26,62%
	425	0,95%	2,77%	21,12%
	237	0,91%	1,34%	-0,29%
	179	0,29%	0,77%	1,34%

Bodur paşa kılıcı bitkisinde UBC 808 primerine ait PZR sonrası gözlemlenen bantlar tüm gruplarda benzer sonuçlar sergilemiştir. Kontrol grubunun bant yoğunlukları ile uygulama gruplarının bant yoğunlukları karşılaştırıldığında, en yüksek artış %55,62 ile 200 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 650 bp'lik bölgesinde gözlemlenmiş olup, en yüksek azalma ise %-22,39 ile 100 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 573 bp'lik bölgesinde gözlemlenmiştir (Tablo 4.2.2).



Şekil 4.2.2 Bodur paşa kılıcı bitkisinde UBC 826 primeri ile çoğaltılan DNA bölgelerinin agaroz jel görüntüsü. (a) bant yoğunluğundaki artışı, (b) bant yoğunluğundaki azalışı.

UBC 826 primeri ile gerçekleştirilen PZR sonucunda elde edilen tüm bantlar monomorfik bir bant deseni göstermişlerdir. Aynı primer tıbbi orkide olarak bilinen *Dendrobium officinale* bitkisine ait genotiplerde %100 polimorfik bantların elde edilmesini sağlamıştır (Yang ve ark., 2023).

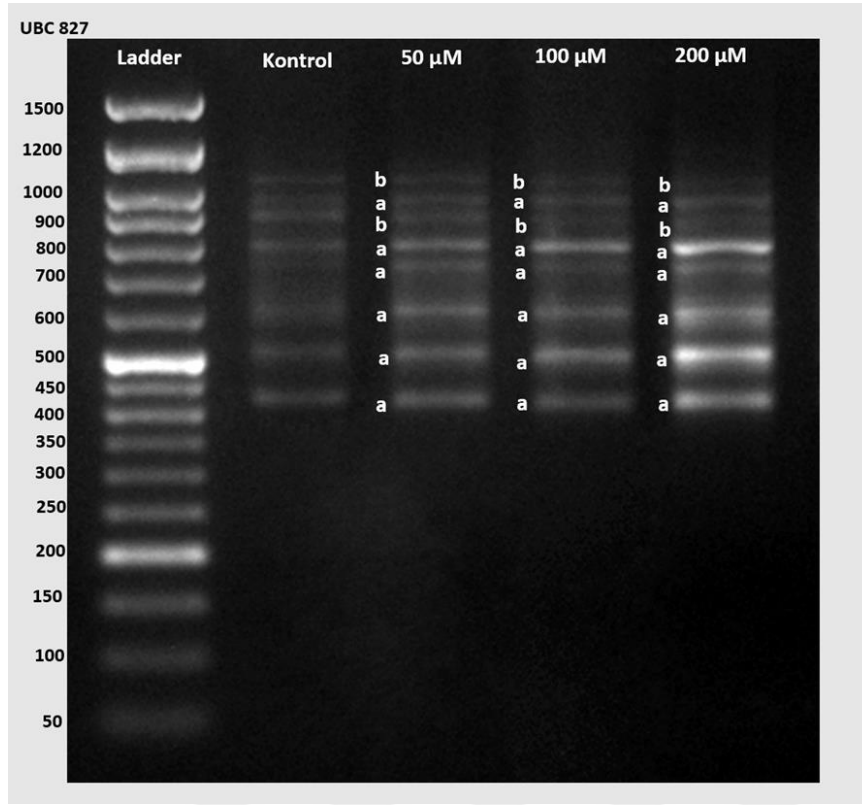
Tablo 4.2.3 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve uygulama gruplarında UBC 826 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bp)	Kontrol	50 μ M Cd	100 μ M Cd	200 μ M Cd
UBC 826	961	25,036	32,177	50,19	53,841
	904	17,769	17,815	18,23	18,967
	801	18,126	17,435	30,058	39,202
	745	21,477	29,171	67,258	91,064
	628	22,468	25,796	42,462	42,45
	566	17,78	18,633	21,282	22,215

Tablo 4.2.4 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, UBC 826 primerine ait bant yoğunluklarının artış ve azalış yüzdeleri.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bp)	50 μ M Cd	100 μ M Cd	200 μ M Cd
UBC 826	961	28,52%	100,47%	115,05%
	904	0,26%	2,59%	6,74%
	801	-3,81%	65,83%	116,27%
	745	35,82%	213,16%	324,01%
	628	14,81%	88,99%	88,94%
	566	4,80%	19,70%	24,94%

Bodur paşa kılıcı bitkisinde Primer UBC 826 kullanılması sonucu ortaya çıkan bantlar araştırıldığında tüm gruplarda benzer sonuçlar gözlemlenmektedir. Kontrol grubunun bant büyüklüklerinin yoğunlukları ile uygulama gruplarının bant büyüklüklerinin yoğunlukları mukayese edildiğinde en yüksek artış oranını %324,01 ile 200 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 745 bp'lik bölgesinde gözlemlenmiş olup, en yüksek azalma oranı ise %-3,81 ile 50 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 801 bp'lik bölgesinde gözlemlenmiştir (Tablo 4.2.3 ve Tablo 4.2.4).



Şekil 4.2.3 Bodur paşa kılıcı bitkisinde UBC 827 primeri ile çoğaltılan DNA bölgelerinin agaroz jel görüntüsü. (a) bant yoğunluğundaki artışı, (b) bant yoğunluğundaki azalışı.

Tablo 4.2.5 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve uygulama gruplarında UBC 827 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.

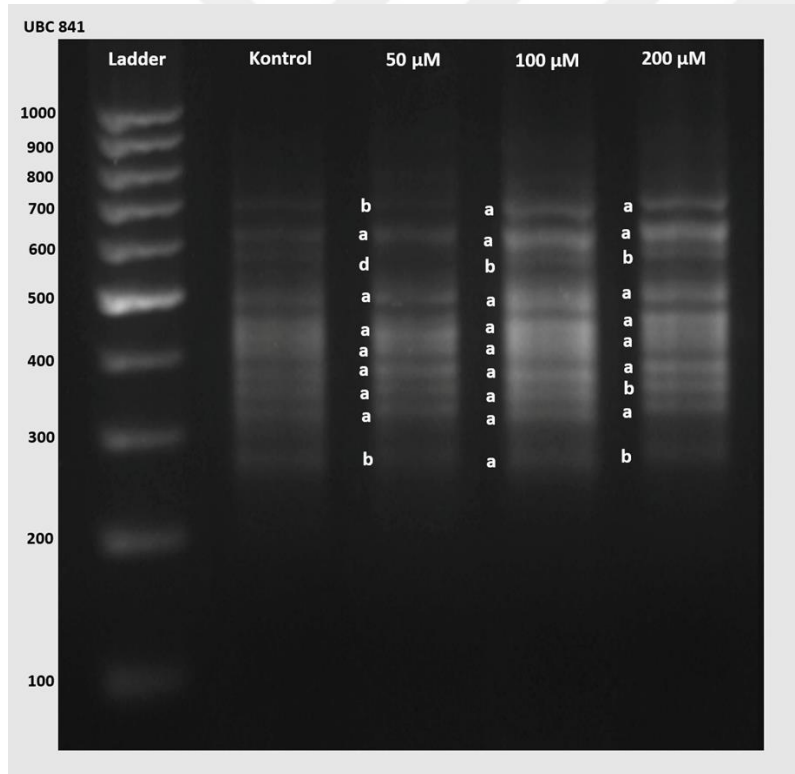
Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bp)	Kontrol	50 µM Cd	100 µM Cd	200 µM Cd
UBC 827	1116	17,154	16,985	16,628	16,339
	1022	16,703	17,206	17,473	17,921
	961	18,012	17,32	16,553	16,57
	841	18,06	20,882	23,76	30,482
	777	16,466	17,839	17,076	18,119
	636	17,544	19,882	19,882	27,426
	524	18,645	21,314	25,536	41,513
	425	20,587	23,289	21,665	30,248

UBC 827 primerine ait bantlar içerisinde 524 bp'lık ve 1022 bp'lık bantların yoğunluklarında linear bir artışın kadmiyum konsantrasyon artışı ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer bantlar için böyle bir doğrusallık bulunmamaktadır.

Tablo 4.2.6 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, UBC 827 primerine ait bant yoğunluklarının artış ve azalış yüzdeleri.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bp)	50 μ M Cd	100 μ M Cd	200 μ M Cd
UBC 827	1116	-0,99%	-3,07%	-4,75%
	1022	3,01%	4,61%	7,29%
	961	-3,84%	-8,10%	-8,01%
	841	15,63%	31,56%	68,78%
	777	8,34%	3,70%	10,04%
	636	13,33%	13,33%	56,33%
	524	14,31%	36,96%	122,65%
	425	13,12%	5,24%	46,93%

Bodur paşa kılıcı bitkisinde UBC 827 primeri elde edilen bantlar kontrol ve uygulama gruplarının bant yoğunlukları karşılaştırıldığında en yüksek artışın %122,65 ile 200 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 524 bp'lik bant için gözlemlenmiş olup, en yüksek azalma oranı ise %-8,10 ile 100 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 961 bp'lik bantta gözlemlenmiştir (Tablo 4.2.5 ve Tablo 4.2.6).



Şekil 4.2.4 Bodur paşa kılıcı bitkisinde UBC 841 primeri ile çoğaltılan DNA bölgelerinin agaroz jel görüntüsü. (a) bant yoğunluğundaki artışı, (b) bant yoğunluğundaki azalışı, (d) bant kaybı.

Tablo 4.2.7 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve uygulama gruplarında UBC 841 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bç)	Kontrol	50 μ M Cd	100 μ M Cd	200 μ M Cd
UBC 841	719	26,242	24,904	31,34	31,831
	641	26,533	29,548	44,749	45,891
	596	16,799	x	16,764	16,137
	502	26,824	29,536	37,893	34,045
	437	30,235	41,525	40,605	40,803
	419	24,846	30,083	35,6	33,732
	378	24,915	29,047	32,954	31,212
	357	25,206	25,253	27,997	24,429
	328	25,323	25,441	27,614	26,603
	274	24,717	23,671	24,962	23,601

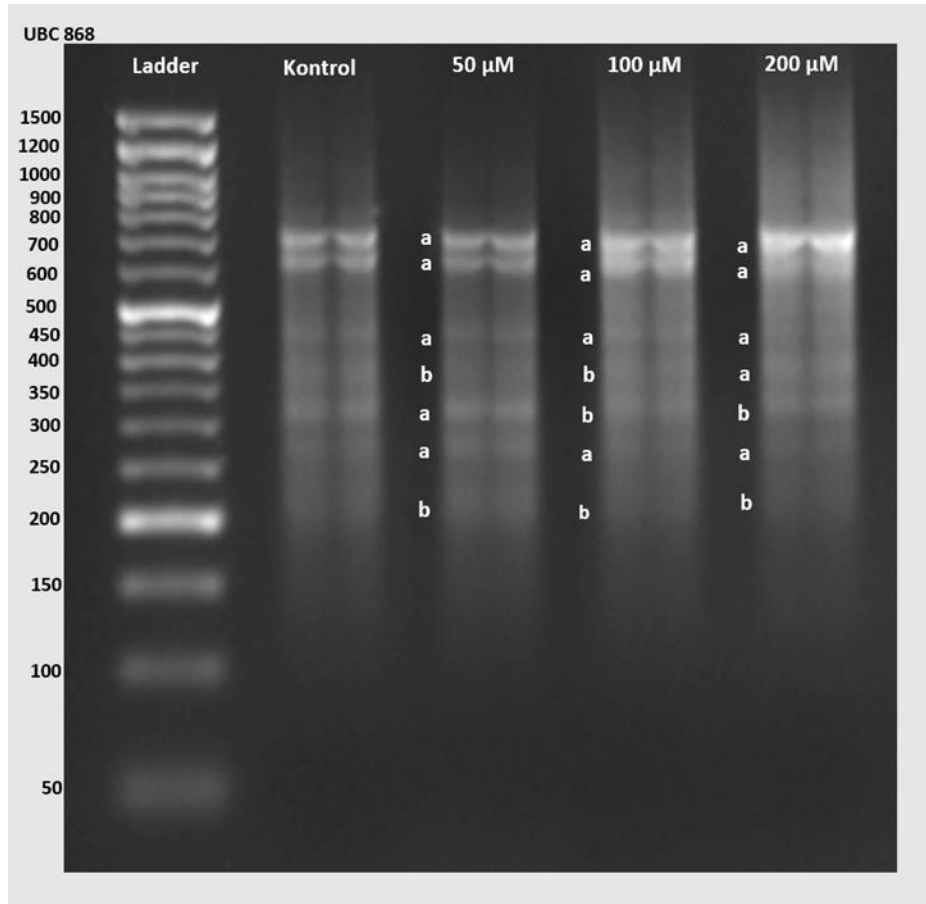
UBC 841 primeri diğer ISSR primerleri arasında en fazla lokusun çoğaltıldığı primer olurken, bant yoğunluk ölçümlerine göre 719 bç'lik fragmentin yoğunluğunun 50, 100 ve 200 μ M Cd uygulamasında kademeli olarak artış gösterdiği saptanmıştır.

Tablo 4.2.8 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, UBC 841 primerine ait bant yoğunluklarının artış ve azalış yüzdeleri.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bç)	50 μ M Cd	100 μ M Cd	200 μ M Cd
UBC 841	719	-5,10%	19,43%	21,30%
	641	11,36%	68,65%	72,96%
	596	Bant kaybı	-0,21%	-3,94%
	502	10,11%	41,27%	26,92%
	437	37,34%	34,30%	34,95%
	419	21,08%	43,28%	35,76%
	378	16,58%	32,27%	25,27%
	357	0,19%	11,07%	-3,08%
	328	0,47%	9,05%	5,05%
	274	-4,23%	0,99%	-4,52%

Bodur paşa kılıcı bitkisinde Primer UBC 841 kullanılması sonucu ortaya çıkan bantlar araştırıldığında tüm gruplarda benzer sonuçlar gözlemlenmektedir. Kontrol grubunda (596 bç) gözlemlenen bant yapısının 100 ve 200 μ M kadmiyum uygulanmış gruplarda görülmesine karşın, 50 μ M CdCl₂ uygulanmış grupta (596 bç) bölgesinde bant yapısının gelişmediği tespit edilmiştir. Kontrol grubunun bant büyüklüklerinin yoğunlukları ile deney gruplarının bant büyüklüklerinin yoğunlukları mukayese edildiğinde en yüksek artış oranını %72,96 ile 200 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 641 bç'lik bölgesinde

gözlemlenmiş olup, en yüksek azalma oranı ise %-5,10 ile 50 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 719 bç'lik bölgesinde gözlemlenmiştir (Tablo 4.2.7 Tablo 4.2.8).



Şekil 4.2.5 Bodur paşa kılıcı bitkisinde UBC 868 primeri ile çoğaltılan DNA bölgelerinin agaroz jel görüntüsü. (a) bant yoğunluğundaki artışı, (b) bant yoğunluğundaki azalışı.

Tablo 4.2.9 Bodur paşa kılıcı bitkisinin kontrol ve deney gruplarında ISSR (UBC 868) primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri ve yoğunlukları.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bç)	Kontrol	50 μ M Cd	100 μ M Cd	200 μ M Cd
UBC 868	731	29,646	31,106	36,618	42,049
	648	25,014	25,979	34,205	25,211
	439	15,784	16,07	16,88	16,259
	358	15,197	15,121	15,111	15,455
	300	17,464	19,091	16,451	16,882
	254	15,097	15,808	15,111	15,207
	205	15,211	15,125	12,292	12,285

Tablo 4.2.10 Bodur paşa kılıcı bitkisinde, ISSR (UBC 868) primeri kullanılması sonrası kontrol grubunda gözlemlenen bant profilleri ile deney grubunda gözlemlenen bant profillerinin yoğunluklarındaki artış ve azalış yüzdeleri.

Primer Adı	Bant Büyüklüğü (bp)	50 μ M Cd	100 μ M Cd	200 μ M Cd
UBC 868	731	4,92%	23,52%	41,84%
	648	3,86%	36,74%	0,79%
	439	1,81%	6,94%	3,01%
	358	-0,50%	-0,57%	1,70%
	300	9,32%	-5,80%	-3,33%
	254	4,71%	0,09%	0,73%
	205	-0,57%	-19,19%	-19,24%

Bodur paşa kılıcı bitkisinde Primer UBC 868 kullanılması sonucu ortaya çıkan bantlar araştırıldığında tüm deney gruplarında benzer sonuçlar gözlemlenmektedir. Kontrol grubunun bant büyüklüklerinin yoğunlukları ile deney gruplarının bant büyüklüklerinin yoğunlukları mukayese edildiğinde en yüksek artış oranını %41,84 ile 200 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 731 bp'lik bölgesinde gözlemlenmiş olup, en yüksek azalma oranı ise %-19,24 ile 200 μ M Cd uygulanan kontrol grubunun 205 bp'lik bölgesinde gözlemlenmiştir (Tablo 4.2.9 ve Tablo 4.2.10).

5.SONUÇ

Çevresel toksisite tüm canlılar için hayatta kalmayı çoğu zaman zorlaştıracı bir etkidir. Bu yönü ile bazı bitki gruplarının bu tip toksik dış çevrede canlılıklarını sürdürdükleri gözlemlenmektedir. Özellikle abiyotik stres koşulu olarak kabul edilen ağır metallerin bulunduğu ortamlar “hiperakümülatör” olarak adlandırılan bazı bitki gruplarının yaşam ortamları haline gelmiştir. Bu bitkiler özel biyolojik sistemlere sahip olmaları sebebi ile ağır metallerin etkilerine karşı hücresel anlamda dayanıklılık geliştirmişlerdir. Su ve toprak açısından düşünüldüğünde günümüzde en fazla ağır metal kirliliğine sebep olan elementlerden biri kadmiyumdur. Bitkilerde kadmiyum, kadmiyum nitrat, kadmiyum sülfat veya $CdCl_2$ şeklinde toksisite göstermektedir. Kadmiyumun μM seviyelerden mM seviyelere kadar bitkide sebep olduğu toksisite tohum çimlenmesinden, bitkinin gelişimine, fotosentezden, bitki büyüme ve gelişimi için gerekli mineral alımına kadar pek çok süreci olumsuz yönde etkilediği yapılan çalışmalar sonucunda değişik bitki gruplarında araştırılmıştır.

Bazı bitki türleri ağır metalleri yüksek seviyelerde biriktirebilme ve detoksifiye edebilme özelliğine sahiptir. Küresel Hiperakümülatör veritabanlarında (Global Hyperaccumulator Database) 759 adet kayıtlı bitki bulunmaktadır. Bu bitkilerin bir kısmının birden fazla ağır metal biriktirebildikleri gösterilmiştir. Bu veri tabanında bir bitkinin kadmiyum hiper akümülatörü olarak yer alabilmesi için her 1 kg kuru ağırlık başına 100 mg kadmiyum depolamış olması gerekmektedir (Reeves ve ark., 2018). Günümüzde kadmiyum biriktiren 16 farklı bitki familyası bulunmaktadır. Bunların içinde *Brassicaceae* familyası en fazla bitki ile temsil edilirken, *Asteraceae* *Noccaea caerulescens*, *Thlaspi praecox*, *Sedum alfredii*, *Prosopis laevigata* and *Viola baoshanensis* bitkileri gövdelerinde yaklaşık kg başına kuru ağırlıklarında 2 g Cd biriktirebilmektedirler (Peng ve ark., 2021).

Kadmiyumun ağır metal grubu bir element olması sebebi ile çalışmalar buğday, arpa, mısır gibi bitkilerden bu elementi daha kolay metabolize eden bitki gruplarına doğru kaymıştır. Kadmiyum birikimi hücrede vakuoller olmak üzere farklı elemental formlara çevrilerek dokularda biriktirilmesi veya hücreden dışarı atılması veya farklı bitki kısımlarında biriktirilmesi ile adaptasyon mekanizmasına sahip akümülatör bitki grupları araştırmaların merkezine oturmuştur (Haider ve ark., 2021; Ozyiğit ve ark., 2021a). Bu tez çalışmasında

kullandığımız bodur paşa kılıcı bitkisi de bu akümülatör bitkilerden biri olma potansiyeli taşımaktadır. Bu özelliğinden dolayı artan kadmiyum konsantrasyonlarında bodur paşa kılıcı bitkisinde ne kadar kadmiyum biriktirebildiğinin analiz edilmesi, ileride toprakların veya suların remediasyonu çalışmalarında kullanılabilir bir aday olma durumunun araştırılması açısından önem taşımaktadır.

Çalışmamızda biyokimyasal yöntem olarak ağır metal tespiti ICP-OES cihazı ile spektrofotometrik olarak dört farklı dokudan alınan örnekler üzerinden elde edilen element analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Özellikle bitkinin toprak altı organı olan kök dokusundan elde edilen veriler 200 μM konsantrasyondaki CdCl_2 stresinin bitkide en fazla birikime sebep olduğunu göstermiştir. Kontrol grubuna göre uygulama gruplarındaki köklerde 50, 100 ve 200 μM CdCl_2 stresi altında sırası ile yaklaşık 30 kat, 120 kat ve 175 kat artış tespit edilmiştir. Bu değerler bitkinin genç ve yaşlı yaprakları ile indirgenmiş gövdesinde gerçekleşen kadmiyum birikiminden çok daha fazla bir birikimin köklerde olduğunu göstermiştir. Bu durum köklere alınacak suyun ve diğer besin elementlerin etkisi ile değişkenlik göstermektedir. Bitki kökleri kadmiyumu topraktan hücre içine ya doğrudan ya da bitkiye ait hücre duvarlarında bulunan özel kanallar veya reseptörler vasıtası ile alabilmektedir. Her iki durumda kadmiyum bitki tarafından alındığında metabolize edilmesi halinde bitkiye toksik olmaktan uzaklaşır ve hücre içinde farklı formlarda depolanabildiği sürece bitkiye toksik özellik göstermez (Ma ve ark., 2021).

Sansevieria trifasciata bitkisinde kök dokusunun yapraklara göre daha fazla kadmiyum biriktirme eğiliminde olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmamızda 50 μM CdCl_2 ün iki katına çıkarıldığında köklerdeki kadmiyum birikiminin 4 kat daha arttığı ve 100 μM kadmiyum uygulaması sonucu kontrole göre 120 katlık bir artışın meydana geldiği görülmüştür. 100 μM eşik değerinden sonra kadmiyum birikimi köklerde azalarak artmış ve 200 μM CdCl_2 uygulaması sonrası kontrole göre köklerde kadmiyum birikimi 175 kat artış sergilemiştir. Aynı koşullar altında genç ve yaşlı yapraklar açısından 200 μM kadmiyum uygulaması sonrası yaprak dokusundaki kadmiyum artışının azalarak arttığı tespit edilmiştir. Bu yönü ile bodur paşa kılıcı bitkisi hem toprak hem de sudaki kadmiyumun temizlenmesinde çift yönlü olarak kullanılabilme potansiyeli taşımaktadır.

Bu tez çalışmasının moleküler markörler kısmında *Sansevieria trifasciata* bitkisine ait yapraklarda ISSR bölgelerine ait 20 adet primer kullanılmış ve 5 tanesinden toplamda her

bir grup için ortalama 39 adet bant elde edilmiştir. Polimorfizm oranı çok düşük olmasına rağmen monomorfik yapıda elde edilen bantlar arasında agaroz jellerde farklı yoğunlukların ortaya çıkması kadmiyum dozuna bağlı bir farklılaşmanın gerçekleşmiş olduğunu göstermiştir. Ağır metallerin DNA’da meydana getireceği kalıcı veya geçici değişimler primerlerin çoğaltım gösterdiği bölgelerin sayısında bir değişim meydana getirmiş olabilir. Tekrar sayılarındaki bu artış ve azalışlar kontrol grupları ile aynı bant profili vermiş olan primerlere ait çoğaltılmış bölgelerdeki fiziksel değişimler sonucu gerçekleşmiş olabilir. Bu durum DNA’da ağır metallerle bağlı farklılaşma eğiliminde olan bölgeler için ISSR primelerinin ayırt edici olduklarının da bir göstergesidir. Ağır metallerin bitki genomunda toksisiteye sebep olması ISSR markörleri için farklı bitkilerde gösterilmiş olup, bodur paşa kılıcına ait literatürde şimdiye kadar herhangi bir veri bulunamamıştır. Bu yönü ile elde edilen moleküler veriler ileriki çalışmalar için uygulanabilir referans veri oluşturması açısından önemlidir.

Sonuç olarak ağır metal stresinin bitkilerde meydana getirdiği etkilerin çok yönlü yaklaşımlar ile araştırılması ve yeni bitki türlerinde elde edilecek bulgular biyokimyasal, moleküler ve fizyolojik açıdan dayanıklı türlerin seleksiyon çalışmalarına ışık tutacaktır. Bu tez çalışmasında, bodur paşa kılıcı bitkisinde gerçekleştirilmiş olan biyokimyasal analizler ve ISSR taramaları bu bitkiye ait farklı yaklaşımların geliştirilebilmesi ve kadmiyum stresinin biyokimyasal ve moleküler temellerinin araştırılması açısından önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR/REFERENCES

- Abd Elnabi, M. K., Elkaliny, N. E., Elyazied, M. M., Azab, S. H., Elkhalfa, S. A., Elmasry, S., . . . Saad, K. (2023). Toxicity of Heavy Metals and Recent Advances in Their Removal: A Review. *Toxics*, Volume 11-580.
- Acosta, I. B., Junior, A. S., eSilva, E. F., Cardoso, T. F., Caldas, J. S., Jardim, R. D., & Corcini, C. D. (2016). Effects of exposure to cadmium in sperm cells of zebrafish, *Danio rerio*. *Danio rerio. Toxicology Reports*, 3, 696700.
- Akat, H., & Özzambak, M. E. (2013). Örtü altı tuzlu koşullarda yetiştirilen *Limonium sinuatum* bitkisinde kalsiyum uygulamalarının stres parametreleri üzerine etkileri. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 10.
- Akguc, N., Ozyigit, I. I., & Yarci, C. (2008). *Pyracantha coccinea* Roem.(Rosaceae) as a biomonitor for Cd, Pb and Zn in Mugla province (Turkey). *Pakistan Journal of Botany Volume* 40, 1767-1776.
- Alfalahi, A., Hussein, Z., Khalofah, A., Sadler, M., Qasem, J., Al-Khayri, J., . . . Almehemdi, A. (2022). Epigenetic variation as a new plant breeding tool: A review. *Journal of King Saud University* , Volume 34, Issue 8.
- Alhasnawi, A. N., Kadhimi, A. A., Isahak, A., Ashraf, M. F., Doni, F., Mohamad, A., & Zain, C. M. (2015). Application of inter simple sequence repeat (ISSR) for detecting genetic analysis in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal Of Pure And Applied Microbiology* 9(2), 1091–1101.
- Almuwayhi, M. A. (2021). Effect of cadmium on the molecular and morpho-physiological traits of *Pisum sativum* L. . *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 1374-1384.
- Al-Qurainy, F. (2010). Application of inter simple sequence repeat (ISSR marker) to detect genotoxic effect of heavy metals on *Eruca sativa* (L.). *African Journal of Biotechnology*, 467-474.

- Anastasiadi, V., Hatzilazarou, S., Papadakis, E.-N., Kotoula, A.-A., Tsalouchos, N., Labis, T., . . . Kostas, S. (2024). Genetic Characterization of *Gardenia jasminoides* Ellis Genotypes Derived from Seeds and Selection Based on Their Morphological Traits and Flower Aromatic Substances. *Agriculture*, 14(5), 650.
- Anghelache, A. M., Kim, L., Cuciureanu, A., Batrinescu, G., & Pascu, L. F. (2016). Heavy metal contamination of roadside soil near sun highway in Romania. *National Research and Development Institute for Industrial Ecology, INCD-ECOIND*.
- Ashraf, M., & Foolad, M. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59, 206-216.
- Astolfi, S., Ortolani, M. R., Catarcione, G., Paolacci, A. R., Cesco, S., Pinton, R., & Ciaffi, M. (2014). Cadmium exposure affects iron acquisition in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings. *Physiol. Plant.*, 646-659.
- Awual, M. R., Khraisheh, M., Alharthi, N. H., Luqman, M., Islam, A., Karim, M. R., . . . Khaleque, M. A. (2018). Efficient detection and adsorption of cadmium(II) ions using innovative nano-composite materials. *Chemical Engineering Journal Volume* 343, 118-127.
- Aybak, H. (2005). Bitkisel üretim. İstanbul: Hasat Yayınevi.
- Azevedo, R. A., & Lea, P. J. (2005). Preface: Toxic metals in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1).
- Barlow, S., Renwick, A., Kleiner, J., Bridges, J. W., Busk, L., Dybing, E., . . . Knaap, A. (2006). Risk assessment of substances that are both genotoxic and carcinogenic: Report of an International Conference organized by EFSA and WHO with support of ILSI Europe. *Food and chemical toxicology* 44(10), 1636-1650.
- Bergeron, P., & Jumarge, C. (2006). Characterization of cadmium uptake in human intestinal crypt cells HIEC in relation to inorganic metal speciation. *Toxicology*, 219 (1-3), 156-166.
- Bornet, B., & Branchard, M. (2001). Nonanchored inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Mol Biol Reporter* 19, 209–215.

- Boşgelmez, A., Boşgelmez, İ., Savaşcı, S., Paslı, N., & Kaynaş, S. (2001). Ekoloji II. ISVAK Yayınları .
- Butterworth, A. S., Higgins, J. P., & Pharoah, P. (2006). Relative and absolute risk of colorectal cancer for individuals with a family history: A meta-analysis. *European Journal of Cancer* 42, 216-227.
- Can, H., Ozyıgıt, I. I., Can, M., Hocaoglu-Ozyıgıt, A., & Yalcin, I. E. (2021a). Multidimensional Scaling of the Mineral Nutrient Status and Health Risk Assessment of Commonly Consumed Fruity Vegetables Marketed in Kyrgyzstan. *Biological Trace Element Research*, 1-15.
- Chirinos-Arias, M. C., & Spampinato, C. P. (2025). Spontaneous and salt stress-induced molecular instability in the progeny of MSH7 deficient *Arabidopsis thaliana* plants. *DNA Repair*, Volume 145.
- Choy, W. N. (2001). *Genetic toxicology and cancer risk assessment*. New York: Marcel Dekker .
- Clemens, S. (2001). Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212, 475–486.
- Cramer, G. R. (2002). Calcium-sodium interactions under salinity stress, in salinity. *Salinity: Environments-Plants-Molecules*, 205-227.
- Curie, C., & Briat, J. F. (2003). Iron transport and signaling in plants,. *Annual Review of Plant Biology*, 183–206.
- Das, K., Chiranjib, M., & Ghosh, N. (2014). Effects of exogenous spermidine on cell wall composition and carbohydrate metabolism of Marsilea plants under cadmium stress. *Journal of Plant Physiology & Pathology*.
- Deutschle, T., Porkert, U., Reiter, R., Keck, T., & Riechelmann, H. (2006). In vitro genotoxicity and cytotoxicity of benzalkonium chloride. *Toxicol In Vitro* 20, 1472–1477.
- Devraj, R., Williams, H., Warren, D., Mullertz, A., Porter, C., & Pouton, C. (2013). In vitro digestion testing of lipid-based delivery systems: Calcium ions combine with fatty acids liberated from triglyceride rich lipid solutions to form soaps and reduce the

- solubilization capacity of colloidal digestion products. *International Journal of Pharmaceutics Volume 441*, 323–333.
- Dixit, S., Sivalingam, P. N., Baskaran, R. K., Senthil-Kumar, M., & Ghosh, P. K. (2024). Plant responses to concurrent abiotic and biotic stress: unravelling physiological and morphological mechanisms. *Plant Physiology Reports* 29(1), 6-17.
- Dogan, C. S., Erdem, D., Mesut, P., Merve, A., Sema, A., Iffet, B., & Afig, B. (2012). A novel splice site mutation of the beta subunit gene of epithelial sodium channel (ENaC) in one Turkish patient with a systemic form of pseudohypoaldosteronism type 1 . *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 25(9-10), 1035-1039.
- Doyi, I., Essumang, D., Gbeddy, G., Dampare, S., Kumassah, E., & Saka, D. (2018). Spatial distribution, accumulation and human health risk assessment of heavy metals in soil and groundwater of the Tano Basin, Ghana. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 540-546.
- Doyle, W. (1990). Case Methods in the Education of Teachers. *Teacher Education Quarterly* 17(1), 7-15.
- Drażkiewicz, M., Tukendorf, A., & Baszyński, T. (2003). Age-dependent response of maize leaf segments to cadmium treatment: Effect on chlorophyll fluorescence and phytochelatin accumulation. *Journal of Plant Physiology Volume 160*, 247-254.
- Dubey, S., Shri, M., Gupta, A., Rani, V., & Chakrabarty, D. (2018). Toxicity and detoxification of heavy metals during plant growth and metabolism. *Environmental Chemistry Letters* 16, 1169-1192.
- Duffus, J. H. (2002). ""Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, vol. 74, 793-807.
- Edelstein, M., & Ben-Hur, M. (2018). Heavy metals and metalloids: Sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops. *Scientia Horticulturae Volume 234*, 431-444.
- El-Mahdy, M. T., Abdel-Wahab, D. A., & Youssef, M. (2021). In vitro morpho physiological performance and DNA stability of banana under cadmium and drought stresses. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 57(3), 460-469.

- Elmlund, H., Lundqvist, J., Al-Karadaghi, S., Hansson, M., Hebert, H., & Lindahl, M. (2008). A new cryo-EM single-particle ab initio reconstruction method visualizes secondary elements in an ATP-fueled AAA+ motor. *Journal of Molecular Biology*, 934–947.
- Epstein, E. (1999). Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50, 641-664.
- Erboga, M., & Kanter, M. (2016). Effect of cadmium on trophoblast cell proliferation and apoptosis in different gestation periods of rat placenta. *Biological Trace Element Research*, 169(2), 285-293.
- Factori, R., Leles, S. M., Novakowski, G. C., Rocha, C. L., & Thomaz, S. M. (2014). Toxicity and genotoxicity of water and sediment from streams on dotted duckweed (*Landoltia punctata*). *Brazilian Journal of Biology* 74, 769-778.
- Farooq, M., Basra, S. M., Wahid, A., Cheema, Z. A., Cheema, M. A., & Khaliq, A. (2008). Physiological Role of Exogenously Applied Glycinebetaine to Improve Drought Tolerance in Fine Grain Aromatic Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science Volume 194*, 325-333.
- Filiz, E., Uras, M. E., I., O. I., Sen, U., & Gungor, H. (2018). Genetic diversity and phylogenetic analyses of Turkish rice varieties revealed by ISSR markers and chloroplast trnL-F region. *Fresen Environ Bull* 27(12), 8351–8358.
- Firat, B. (1998). Bitki Nasıl Beslenir. Konya: Atlas Kitabevi.
- Friberg, L. (2018). *Cadmium in the Environment (Second Edition)*. CRC Press.
- Frings, S., Schmidt-Schippers, R., & Lee, W.-K. (2024). Epigenetic alterations in bioaccumulators of cadmium: Lessons from mammalian kidneys and plants. *Environment International*, 0160-4120.
- Geng, H. X., & Wang, L. (2019). Cadmium: toxic effects on placental and embryonic development. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 67, 102-107.
- Ghori, N.-H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V., & Ozturk, M. (2019). Heavy metal stress and responses in plants. *International Journal of Environmental Science and Technology* 16, 1807-1828.

- Gjorgieva Ackova, D. (2018). Heavy metals and their general toxicity on plants. *Plant Science Today*, 5 (1), 15-19.
- Grant, C. A., & Sheppard, S. C. (2008). Fertilizer Impacts on Cadmium Availability in Agricultural Soils and Crops. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 14(2), 210–228.
- Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero-Severson, J., & Owen, J. L. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics* 89, 998-1006.
- Gürel, A., & Avcıoğlu, R. (2001). Bitkilerde Abiyotik Stres Faktörlerine Dayanıklılık Mekanizmaları. *Bitki Biyoteknolojisi, Genetik Mühendisliği* (s. 288-326). içinde İzmir: SÜ Vakfı Yayınları.
- Habib, R., Wahdan, S. A., Gad, A. M., & Azab, S. S. (2019). Infliximab abrogates cadmium-induced testicular damage and spermiotoxicity via enhancement of steroidogenesis and suppression of inflammation and apoptosis mediators. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 182, 109-398.
- Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., . . . Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety Volume 211*.
- Hepler, P. K. (2005). Calcium: A Central Regulator of Plant Growth and Development. *The Plant Cell* 17, 2142–2155.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular 347(2)*, 1-32.
- Hocaoglu-Ozyigit, A., & Genc, B. N. (2020). Cadmium in plants, humans and the environment. *Frontiers in Life Sciences and Related Technologies*, 12-21.
- Hossain, Z., & Huq, F. (2002). Studies on the interaction between Cd ions and DNA. *Journal of Inorganic Biochemistry* 90, 85–96.
- Hou, D., O'Connor, D., Igalavithana, A. D., Alessi, D. S., Luo, J., Tsang, D. C., . . . Ok, Y. S. (2020). Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability. *Nature Reviews Earth & Environment Volume 1*, 366-381.

- Imafidon, C. E., Olatoye, T. R., Bamidele, F. S., Ojo, O. E., & Ademoye, K. A. (2016). Cadmium-induced testicular toxicity, oxidative stress and histopathology in Wistar rats: sustained effects of polyphenol-rich extract of *Vernonia amygdalina* (Del.) leaf. *Journal of Interdisciplinary Histopathology*, 4(3), 54-62.
- Ishchenko, V. A. (2018). Environment contamination with heavy metals contained in waste. *Environmental Problems. Vol. 3, No. 1*, 21-24.
- Jacobsen, J., & Jasper, C. D. (1991). Diagnosis of nutrient deficiencies in alfalfa and wheat. Montana: Montana State University Extension Service.
- Jin, Y. H., Clark, A. B., Slebos, R. J., Al-Refai, H., Taylor, J. A., & Kunkel, T. A. (2003). Resnick, M. A. & Gordenin D. A. Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair. *Nature Genetics* 34, 326–329.
- Kabata-Pendias, A., & Mukherjee, A. B. (2007). Trace Elements of Group 12 (Previously Group IIb). *Trace Elements from Soil to Human* (s. 283-319). içinde Berlin Heidelberg: Springer.
- Kacar, B., & Katkat, V. (2007). *Bitki Besleme*. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., & Timur, S. (2003). Metallerin Çevresel Etkileri - I. *Metalurji Dergisi*.
- Karahan, F., Ozyigit, I. I., Saracoglu, I. A., Yalcin, I. E., Hocaoglu-Ozyigit, A., & Ilcim, A. (2020). Heavy Metal Levels and Mineral Nutrient Status in Different Parts of Various Medicinal Plants Collected from Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Biological Trace Element Research* , 197:316-329.
- Kartal, G., Güven, A., Kahvecioğlu, Ö., & Timur, S. (2004). Metallerin çevresel etkileri 2. İstanbul: İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü Ders Notu.
- Kaur, B., Singh, B. P., & Devashree, Y. (2022). Heavy Metal Sequestration in Plants. J. Kumar, S. Gaur, P. K. Srivastava, R. K. Mishra, S. M. Prasad, & D. K. Chauhan içinde, *Heavy Metals in Plants Physiological to Molecular Approach* (s. 215-245). New York: CRC Press.
- Kaya, C., Higgs, D., & İkinci, A. (2002). An experiment to investigate ameliorative effects of potassium sulphate on salt and alkalinity stressed vegetable crops. *Journal of*

Plant Nutrition 25, 2545-2558.

- Khan, I. U., Qi, S.-S., Gul, F., Manan, S., Rono, J. K., Naz, M., . . . Du, D.-L. (2023). A Green Approach Used for Heavy Metals 'Phytoremediation' Via Invasive Plant Species to Mitigate Environmental Pollution: A Review. *Plants* 12(4), 725.
- Khanna, N., & Sharma, S. (2013). Allium cepa root chromosomal aberration assay: a review. *Indian journal of pharmaceutical and biological research* 1(03), 105-119.
- Khatun, J., Intekhab, A., & Dhak, D. (2022). Effect of uncontrolled fertilization and heavy metal toxicity associated with arsenic(As), lead(Pb) and cadmium (Cd), and possible remediation. *Toxicology*, Volume 477.
- Kim, J.-J., Kim, Y.-S., & Kumar, V. (2019). Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 54, 226-231.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U., & Decordier, I. (2003). Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicology Letters* 140-141, 63-74.
- Korkmaz, K., Ertürk, Ö., Ayvaz, M. Ç., Özcan, M. M., Akgün, M., Kirli, A., & Alver, D. O. (2018). Effect of cadmium application on antimicrobial, antioxidant and total phenolic content of basil genotypes. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research Volume* 52, 108-114.
- Kumar, H., Priya, P., Singh, N., Kumar, M., Choudhary, B. K., Kumar, L., . . . Kumar, N. (2016). RAPD and ISSR Marker-Based Comparative Evaluation of Genetic Diversity Among Indian Germplasms of Euryale ferox: an Aquatic Food Plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 180, 1345–1360.
- Kumar, P., Goud, E. L., Devi, P., Dey, S. R., & Dwivedi, P. (2022). Heavy Metals: Transport in Plants and Their Physiological and Toxicological Effects. *Springer*, 23–54.
- Kumari, S., & Mishra, A. (2021). Heavy Metal Contamination. M. L. Larramendy, & S. Soloneski içinde, *Soil Contamination* (s. Chapter 1). Rijeka: IntechOpen.
- Lal, M. K., Tiwari, R. K., Altaf, M. A., Kumar, A., & Kumar, R. (2023). Editorial: Abiotic and biotic stress in horticultural crops: insight into recent advances in the underlying tolerance mechanism. *Frontiers in Plant Science Volume* 14.

- Lange, B., Van Der Ent, A., Baker, A. J., Echevarria, G., Mahy, G., Malaisse, F., . . . Faucon, M.-P. (2017). Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytologist* 213, 537-551.
- Lata, S., Kaur, H. P., & Mishra, T. (2019). Cadmium bioremediation: a review. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10(9), 4120-4128.
- Levitt, J. (1980). *Responses of Plants to Environmental Stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses*. New York: Academic Press.
- Li, Q., Lu, Y., Shi, Y., Wang, T., Ni, K., Xu, L., & Giesy, J. P. (2013). Combined effects of cadmium and fluoranthene on germination, growth and photosynthesis of soybean seedlings. *Journal of Environmental Sciences*, 25(9), 1936-1946.
- Lichtenthaler, H. K. (1996). Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology Volume 148, Issues 1–2*, 4-14.
- Long, T. A., H., T., Busch, W., Lahner, B., E., S. A., & P.N., B. (2010). The bHLH transcription factor POPEYE regulates response to iron deficiency in arabidopsis roots,. *The Plant Cell*, 2219–2236.
- Ma, J., Shen, R., & Shao, J. (2021). Transport of cadmium from soil to grain in cereal crops: a review. *Pedosphere* 31, 3–10.
- Majer, B. J., Tscherko, D., Paschke, A., Wennrich, R., Kundi, M., Kandeler, E., & Knasmüller, S. (2002). Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis Volume 515*, 111-124.
- Marple, T., Li, H., & Hasty, P. (2004). A genotoxic screen: rapid analysis of cellular dose–response to a wide range of agents that either damage DNA or alter genome maintenance pathways. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 554, 253-266.
- Marschner, H. (2011). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. London: Academic Press, Second Edition.

- Matschi, S., Werner, S., Schulze, W. X., Legen, J., Hilger, H. H., & Romeis, T. (2013). Function of calcium-dependent protein kinase CPK28 of *Arabidopsis thaliana* in plant stem elongation and vascular development. *The Plant Journal* 73, 883-896.
- McCauley, A., Clain, J., & Jeff, J. (2009). Plant nutrient functions and deficiency and toxicity symptoms. *Nutrient management module 9*, 1-16.
- Mengel, K., & Kirkby, E. A. (2001). Principles of plant nutrition. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Mishra, S., Bharagava, R. N., More, N., Yadav, A., Zainith, S., Mani, S., & Chowdhary, P. (2019). Heavy Metal Contamination: An Alarming Threat to Environment and Human Health. R. C. Sobti, N. K. Arora, & R. Kothari içinde, *Environmental Biotechnology: For Sustainable Future* (s. 103-125). Singapore: Springer.
- Mortelmans, K., & Rupa, S. (2004). Current issues in genetic toxicology testing for microbiologists. *Advances in Applied Microbiology* (56), 379-401.
- Mukherjee, A., Sikdar, B., Ghosh, B., Banerjee, A., Ghosh, E., Bhattacharya, M., & Roy, S. C. (2013). RAPD and ISSR analysis of some economically important species, varieties, and cultivars of the genus *Allium* (Alliaceae). *Turkish Journal of Botany*, Vol. 37: No. 4, Article 1.
- Muller, H. J. (1927). Artificial transmutation of the gene. *Science* 66(1699), 84-87.
- Müller, H., & Hansson, M. (2009). The barley magnesium chelatase 150-kD subunit is not an abscisic acid receptor1[OA]. *Plant Physiology*, 157–166.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199-216.
- Naik, A., Prajapat, P., Krishnamurthy, R., & Pathak, J. M. (2017). Assessment of genetic diversity in *Costus pictus* accessions based on RAPD and ISSR markers. 3. *Biotech* 7(1), 70–82.
- Navarro, J. M., Martinez, V., & Carvajal, M. (2000). Ammonium, bicarbonate and calcium effects on tomato plants. *Plant Science* 157, 89-96.
- Naveen, S. M., Kumar, S. E., Sathiyarayanan, G., & Thirumalai, R. (2020). Varietal identification of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using ISSR markers. *Plant*

Archives , 20(2).

- Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A., Khan, M. I., Syeed, S., & Khan, N. A. (2012). Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation. *American journal of plant sciences*, 3(10), 1476-1489.
- Neeratanaphan, L. (2014). Assessment of Genotoxicity through ISSR Marker in Pistia stratiotes Induced by Lead. *EnvironmentAsia*, 7.
- Nna, V. U., Ujah, G. A., Mohamed, M., Etim, K. B., Igba, B. O., Augustine, E. R., & Osim, E. E. (2017). Cadmium chloride-induced testicular toxicity in male wistar rats; prophylactic effect of quercetin, and assessment of testicular recovery following cadmium chloride withdrawal. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94, 109-123.
- Noor, S., Muhammad, A., Shahzad, A., Hussain, I., Zeshan, M., Ali, K., . . . Muazzam Naz, R. (2022). Inter Simple Sequence Repeat-Based Genetic Divergence and Varietal Identification of Banana in Pakistan. *Agronomy*, 12, 2932.
- Osma, E., Ozyigit, I. I., Leblebici, Z., Demir, G., & Serin, M. (2012 Osma, E., Ozyigit, I. I., Leblebici, Z., Demir, G., & Serin, M.). Determination of heavy metal concentrations in tomato (*Lycopersicon esculentum* Miller) grown in different station types. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(1), 6963.
- Ozkan, G. (2009). *Endüstriyel Bölge Komşuluğunda Kıyısız Kırsal Alandaki Hava Kalitesi: Muallimköy’de Partikül Maddede ve Topraktaki Ağır Metal Kirliliği*. Gebze, İstanbul: Yüksek Lisans Tezi, GYTE Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ozkutlu, F. (2021). Kadmiyum (Cd) ve NaCl Uygulamalarının Brokolide (*Brassica oleracea* var. *italica*) Kuru Madde Miktarı ve Besin Elementi İçeriğine Etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(1), 77-84.
- Ozturk, M., Metin, M., Altay, V., Kawano, T., Gul, A., Ünal, B., . . . Toderich, K. (2023). Aluminum toxicity: a case study on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, Volume 92.
- Ozyigit, I. I., Abakirova, A., Hocaoglu-Ozyigit, A., Kurmanbekova, G., Chekistrov, K., Yalcin, B., & Yalcin, I. E. (2021c). Cadmium stress in barley seedlings: Accumulation, growth, anatomy and physiology. *International Journal of Life*

Sciences and Biotechnology 4(2), 204-223.

- Ozyigit, I. I., Arda, L., Yalcin, B., Yalcin, I. E., Ucar, B., & Hocaoglu-Ozyigit, A. (2021b). *Lemna minor*, a hyperaccumulator shows elevated levels of Cd accumulation and genomic template stability in binary application of Cd and Ni: a physiological and genetic approach. *International Journal of Phytoremediation*, 23(12), 1255-1269.
- Ozyigit, I. I., Baktibekova, D., Hocaoglu-Ozyigit, A., Kurmanbekova, G., Chekirov, K., & Yalcin, I. E. (2021d). The effects of cadmium on growth, some anatomical and physiological parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 235-253.
- Ozyigit, I. I., Can, H., & Dogan, I. (2021a). Phytoremediation using genetically engineered plants to remove metals: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(1), 669-698.
- Ozyigit, I. I., Dogan, I., Igdelioglu, S., Filiz, E., Karadeniz, S., & Uzunova, Z. (2016b). Screening of damage induced by lead (Pb) in rye (*Secale cereale* L.) – a genetic and physiological approach. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 30, 489-496.
- Ozyigit, I. I., MehmetEminUras, Yalcin, I. E., Severoglu, Z., Demir, G., Borkoev, B., . . . Solak, A. O. (2019). Heavy Metal Levels and Mineral Nutrient Status of Natural Walnut (*Juglans regia* L.) Populations in Kyrgyzstan: Nutritional Values of Kernels. *Biological Trace Element Research Volume* 189, 277-290.
- Ozyigit, I. I., Yalcin, B., Turan, S., Saracoglu, I. A., Karadeniz, S., Yalcin, I. E., & Demir, G. (2018). Investigation of heavy metal level and mineral nutrient status in widely used medicinal plants' leaves in Turkey: Insights into health implications. *Biological Trace Element Research*, 182(2), 387-406.
- Ozyigit, I., Yilmaz, S., Dogan, I., Sakcali, M., Tombuloglu, G., & Demir, G. (2016a). Detection of physiological and genotoxic damages reflecting toxicity in *Kalanchoe* clones. *Global NEST Journal Volume* 18, 223-232.
- Palmer, C. M., & Guerinot, M. L. (2009). Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Nature Chemical Biology*, 333–340.
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review.

- Passari, A. K., Mishra, V. K., Saikia, R., Gupta, V. K., & Singh, B. P. (2015). Isolation, abundance and phylogenetic affiliation of endophytic actinomycetes associated with medicinal plants and screening for their in vitro antimicrobial biosynthetic potential . *Frontiers in Microbiology* 6, 273.
- Peng, J.-S., Guan, Y.-H., Lin, X.-J., Xu, X.-J., Xiao, L., Wang, H.-H., & Meng, S. (2021). Comparative understanding of metal hyperaccumulation in plants: a mini-review. *Environ. Geochem. Health* 43, 1599–1607.
- Person, R. J., Tokar, E. J., Xu, Y., Orihuela, R., Ngalame, N. N., & Waalkes, M. P. (2013). Chronic cadmium exposure in vitro induces cancer cell characteristics in human lung cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 273(2), 281-288.
- Phillips, R. L., & Vasil, I. K. (2013). *DNA-based markers in plants*. Vol. 6. . Springer Science & Business Media.
- Reddy, M., Sarla, N., & Siddiq, A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128, 9–17.
- Reeves, R. D., Baker, A. J., Jaffré, T., Erskine, P. D., Echevarria, G., & van der Ent, A. (2018). A global database for plants that hyperaccumulate metal and metalloid trace elements. *New Phytologist*, 407-411.
- Resh, H. M. (2001). *Hydroponic food production*, Woodbridge Press . California, USA: Santa Barbara.
- Sabreena, Hassan, S., Bhat, S. A., Kumar, V., Ganai, B. A., & Ameen, F. (2022). Phytoremediation of Heavy Metals: An Indispensable Contrivance in Green Remediation Technology. *Plants* 11(9), 1255.
- Shahid, M., Sana Khalid, G. A., Shahid, N., Nadeem, M., Sabir, M., Aslam, M., & Dumat, C. (2015). Heavy Metal Stress and Crop Productivity. *Springer Nature*, 1-25.
- Sharma, J. K., Kumar, N., Singh, N. P., & Santal, A. R. (2023). Phytoremediation technologies and their mechanism for removal of heavy metal from contaminated soil: An approach for a sustainable environment. *Frontiers in Plant Science Volume* 14.

- Sheoran, I. S., Singal, H. R., & Singh, R. (1990). Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). *Photosynthesis Research* 23, 345-351.
- Singh, A., Sharma, R. K., Agrawal, M., & Marshall, F. (2009). Effects of wastewater irrigation on physicochemical properties of soil and availability of heavy metals in soil and vegetables. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 40(21-22), 3469-3490.
- Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., & Gupta, R. (2011). Heavy metals and living systems: An overview. *Indian Journal of Pharmacology*, 246-253.
- Somma, M., & Querci, M. (2004). The analysis of food samples for the presence G., Training course on the analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms (user manual)of genetically modified organisms. In: Querchi M. J., Jermini, M., Van den Eede,. *Training Course On*.
- Sorrentino, M. C., Capozzi, F., Giordano, S., & Spagnuolo, V. (2017). Genotoxic effect of Pb and Cd on in vitro cultures of *Sphagnum palustre*: An evaluation by ISSR markers. *Chemosphere* 181, 208-215.
- Sorrentino, M. C., Giordano, S., Capozzi, F., & Spagnuolo, V. (2022). Metals Induce Genotoxicity in Three Cardoon Cultivars: Relation to Metal Uptake and Distribution in Extra- and Intracellular Fractions. *Plants.*, 11. 475.
- Stover, H. (1983). *The Sansevieria Book*. California: Published by Endangered Species Press.
- Thakur, S., Singh, L., Wahid, Z. A., Siddiqui, M. F., At Naw, S. M., & Din, M. F. (2016). Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges and future perspectives. *Environmental Monitoring and Assessment* 188, 206.
- Timothy, N., & Williams, E. T. (2019). Environmental Pollution by Heavy Metal: An Overview. *International Journal of Environmental Chemistry*, 72-82.
- Tucker, M. R. (1999). *Essential plant nutrients: Their presence in North Carolina soils and role in plant nutrition*. . North Carolina: Department of Agriculture and Consumer

Services, Agronomic Division.

- Tuna, L. A., Kaya, C., Altunlu, H., Yokas, İ., & Yagmur, B. (2007). The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Science Direct* 59, 173-178.
- Usman, Z., Wenting, J., Wang, X., Saddam, H., Muhammad, A., Faisal, M. M., . . . Adnan, M. (2022). Cadmium Phytotoxicity, Tolerance, and Advanced Remediation Approaches in Agricultural Soils; A Comprehensive Review. *Frontiers in Plant Science*, vol 13.
- Vatansever, R., Filiz, E., & Ozyigit, I. I. (2015). Genome-wide Analysis of Iron-Regulated Transporter 1 (IRT1) Genes in Plants. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 56, 516-523.
- Vatansever, R., Filiz, E., & Ozyigit, I. I. (2016a). Comparative and phylogenetic analysis of zinc transporter genes/proteins in plants. *Turkish Journal of Biology* 40(3), 600-611.
- Vatansever, R., Filiz, E., & Ozyigit, I. I. (2016b). In silico analysis of Mn transporters (NRAMP1) in various plant species. *Molecular Biology Reports* 43(3), 151-163.
- Vazhacharickal, P. J., Mathew, J. J., & Jose, S. (2017). *Studies on genetic relationships among six varieties of jackfruit in Kerala employing the " matK" gene using PCR technique and RFLP markers*. GRIN Verlag.
- Verga, D., Welter, M., Steck, A. L., & Marx, A. (2015). DNA polymerase-catalyzed incorporation of nucleotides modified with a G-quadruplex-derived DNzyme. *Chemical Communications* 51(34), 7379-7381.
- Vural, N. (2005). *Toksikoloji*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., & Beyersmann, D. (2003). Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology* 192(2), 95-117.
- Wakeel, A., Farooq, M., Qadir, M., & Schubert, S. (2011). Potassium Substitution by Sodium in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences Volume* 30.
- Walker, E. L., & Connolly, E. L. (2008). Time to pump iron: Iron deficiency signaling mechanisms of higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 530-535.

- Wang, D., Dang, Z., Feng, H., & Wang, R. (2015). Distribution of anthropogenic cadmium and arsenic in arable land soils of Hainan. *China. Toxicological & Environmental Chemistry*, 97(3-4), 402-408.
- Wang, Z., Luo, P., Zha, X., Xu, C., Kang, S., Zhou, M., . . . Wang, Y. (2022). Overview assessment of risk evaluation and treatment technologies for heavy metal pollution of water and soil. *Journal of Cleaner Production*, Volume 379, Part 2.
- Wani, S. H. (2023). Editorial: Mechanisms of abiotic stress responses and tolerance in plants: physiological, biochemical and molecular interventions, volume II. *Frontiers in Plant Science Volume 14*.
- Westermeyer, R. (2016). *Electrophoresis in practice: a guide to methods and applications of DNA and protein separations*. John Wiley & Sons.
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2003). Calcium in Plants. *Annals of Botany*, 487-511.
- Wuana, R. A., & Okieimen, E. F. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *International Scholarly Research Network ISRN Ecology*, 1-20.
- Xu, Z. M., Li, Q. S., Yang, P., Ye, H. J., Chen, Z. S., Guo, S. H., & Zeng, E. Y. (2017). Impact of osmoregulation on the differences in Cd accumulation between two contrasting edible amaranth cultivars grown on Cd-polluted saline soils. . *Environmental Pollution*, 224, 89-97.
- Yan, A., Wang, Y., Tan, S. N., Yusof, M. L., Ghosh, S., & Chen, Z. (2020). Phytoremediation: A Promising Approach for Revegetation of Heavy Metal-Polluted Land. *Frontiers in Plant Science volume 11*, 359.
- Yang, T. W., Gao, M. R., Huang, S. Y., Zhang, S. W., Zhang, X. J., Li, T., & Shi, Q. (2023). Genetic diversity and DNA fingerprinting of *Dendrobium officinale* based on ISSR and scot markers. *Applied Ecology & Environmental Research*, 21(1).
- Yazicioglu, H., Hocaoglu-Ozyigit, A., & Ucar, B. (2024). Physiological alterations and genotoxic damage under combined aluminum and cadmium treatments in *Bryophyllum daigremontianum* clones. *Mol Biol Rep* 51, 1019.
- Yerli, C., Çakmakçı, T., Şahin, Ü., & Tüfenkçi, Ş. (2020). Ağır Metallerin Toprak, Bitki,

Su ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Türk Doğa ve Fen Dergisi Turkish Journal of Nature and Science Cilt 9*, 103-114.

- Yilmaz, N., Ozyigit, I. I., Demir, H. H., & Yalcin, I. E. (2021a). Assessment on phytoplankton composition and heavy metal pollution in a drinking water resource: Lake Terkos (Istanbul, Turkey). *Desalination and Water Treatment* (225), 265-274.
- Yilmaz, N., Ozyigit, I. I., Ilhan Dogan, G. D., & Yalcin, b. E. (2021b). A case study performed in Küçükçekmece Lagoon channel/Istanbul, Turkey: how the heavy metal contamination and the seasonal variations on phytoplankton composition influence water quality. *Desalination and Water Treatment Volume 239*, 126-136.
- Yli-Pirilä, T., Huttunen, K., Nevalainen, A., Seuri, M., & Hirvonen, M. R. (2007). Effects of co-culture of amoeba ewith indoor microbes on their cytotoxic and proinflammatory potential. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 22(4), 357-367.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., & Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi 4(2)*, 1-12.
- Young, R. R. (2002). Genetic toxicology. *Toxicology*, 173 (1-2), 103-121.
- Zengin, K. F., & Munzuroğlu, Ö. (2005). Fasulye fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. Strike) klorofil ve karotenoid miktarı üzerine bazı ağır metallerin (Ni^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Zn^{+2}) etkileri. *FÜ Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 164-172.
- Zhang, X., Xu, Z., Wang, F., Ye, D., & Huang, Y. (2016). Increased oxidative DNA damage in placenta contributes to cadmium induced preeclamptic conditions in rat. *Biological Trace Element Research*, 170(1), 119-127.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, J., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20, 176–183.

kinli

Aslı DOĞAN, ÖZGÜR KARAR

Abdullah Özalp, "SİYASAL

ÖZGÜRLÜKLERİNDEN BİRİ: SİYASAL

Özgürlükler, 11th Edition, GÖRÜŞ

