



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***BRYOPHYLLUM DAIGREMONTIANUM* (RAYM.-HAMET &
PERRIER) A. BERGER BİTKİSİNDE ALÜMİNYUM STRESİNE
BAĞLI DEĞİŞİKLİKLERİN FİZYOLOJİK YÖNTEMLER ve
MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİLER (RAPD ve ISSR) ile
ARAŞTIRILMASI**

ALİ KAVAL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. Ernaz ALTUNDAĞ ÇAKIR
EŞ DANIŞMAN
PROF. DR. İBRAHİM İLKER ÖZYİĞİT**

DÜZCE, 2016

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

29 Aralık 2016

Ali KAVAL





Sevgili Aileme

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca danışmanlığımı üstlenen Doç. Dr. Ernaz ALTUNDAĞ ÇAKIR'a ve eş danışmanım Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT'e bu tezin hazırlanması süresince engin bilgilerinden yararlanma fırsatı verdikleri, bilimsel bir çalışmada daima titiz ve güvenilir olmayı öğrettikleri ve desteklerini hiçbir zaman esirgemedikleri için,

Deneylerin yürütülmesinde, bitki yetiştirme odası ve biyoloji laboratuvarlarından yararlanmamı sağlayan Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Meral ÜNAL'a, deney sonuçlarının okunmasında yardımcı olan Doç. Dr. Filiz VARDAR, Dr. Salih Tunç KAYA ve Ertuğrul YALÇIN'a,

Deneylerin yürütülmesi sırasında deney için gerekli çözeltilerin hazırlanmasında ve bitkilerin bakımında bana yardımcı olan; Dr. Recep VATANSEVER, Mehmet Emin URAS, Fatih TABANLI, Nazmiye HAMZAOĞLU ve Asiye YILMAZ'a

Tez çalışmam sırasında, toksik metal ve mineral element analizlerinin yapılmasında laboratuvarlarındaki imkânlardan yararlandığım Bahçeşehir Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Göksel DEMİR'e,

Yüksek lisans süresince bana bütün desteği, ilgiyi ve yardımı gösteren sevgili aileme, her zaman yanımda olan ablam Sevcan KAVAL'a, yüksek lisans öğrenimim boyunca bana evlerini açan dayım Basri SARAÇ ve ailesine ve hocam Özgür ATMACA ve eşine son olarak; çalışmamı maddi olarak destekleyen Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü çalışanlarına sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (DÜBAP) tarafından “**Alüminyum Stresine Maruz Kalmış *Bryophyllum daigremontianum* Raym.-Hamet & H. Perrier Bitkisindeki Değişikliklerin Fizyolojik ve Genetik Yönden İncelenmesi**” isimli ve **DÜBAP 2015.05.01.376** numaralı proje ile desteklenmiştir.

29 Aralık 2016

Ali KAVAL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	İ
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
TABLO LİSTESİ.....	İX
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	X
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ.....	5
1.1 AMAÇ VE KAPSAM.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1 TOPRAK ASİTLİĞİ.....	8
2.2 ALÜMİNYUM HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	9
2.3 ALÜMİNYUM TOKSİSİTESİ.....	10
2.3.1 Alüminyum Toksisitesinin Bitkilere Etkisi.....	11
2.3.2 Alüminyum Toksisitesinin Mekanizmaları.....	11
2.4 BİTKİLERDE ALÜMİNYUM TOLERANSININ MEKANİZMALARI 14	
2.5 BİTKİ BESİN ELEMENTLERİ VE ÖNEMİ.....	14
2.5.1 Kalsiyum.....	17
2.5.2 Demir.....	17
2.5.3 Bakır.....	18
2.5.4 Potasyum.....	18
2.5.5 Magnezyum.....	19
2.5.6 Sodyum.....	20
2.5.7 Çinko.....	20
2.5.8 Mangan.....	21
2.6 ICP-OES (INDUCTIVELY COUPLED PLASMA OPTICAL EMISSION SPECTROMETRY- İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA OPTİK EMİSYON SPEKTROSKOPİSİ).....	22
2.7 BRYOPHYLLUM DAIGREMONTIANUM (RAYM.-HAMET & PERRIER) A.BERGER TÜRÜNÜN TAKSONOMİK ÖZELLİKLERİ.....	23

2.8	GENOTOKSİSİTE	24
2.9	PZR (POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU)'A DAYALI DNA BELİRTEÇLERİ	25
2.9.1	RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) Tekniği	26
2.9.2	ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) Tekniği.....	27
3.	MATERYAL YÖNTEM	28
3.1	IN VITRO ORTAMDA BRYOPHYLLUM DAIGREMONTIANUM TÜRÜNÜN GELİŞİMİ	28
3.2	FOTOSENTETİK PİGMENTLER.....	30
3.2.1	Klorofil a-b, a/b, Total Klorofil ve Karotenoid Miktar Analizi.....	30
3.3	MİNERAL BESİN ELEMENTLERİ TAYİNİ AL VE BİRİKİMİ	31
3.3.1	Bitki Besin elementleri ve Al miktar Analizi.....	31
3.4	TOTAL PROTEİN MİKTAR TAYİNİ	33
3.4.1	Protein standardının hazırlanması.....	34
3.5	ALÜMİNYUM STRESİNİN GENOTOKSİK ÖLÇÜMÜ	34
3.5.1	DNA İzolasyonu	36
3.5.2	DNA Spektrofotometre Analizi	37
3.5.3	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Optimizasyonu	37
3.5.4	PZR ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi.....	38
4.	BULGULAR	39
4.1	AL STRESİNİN B. DAIGREMONTIANUM BİTKİSİNDE BAZI FİZYOLOJİK PARAMETRELER (KLOROFİL A, KLOROFİL B, KLOROFİL A/B, TOTAL KLOROFİL VE KAROTENOİD) ÜZERİNE ETKİSİ.....	39
4.2	AL STRESİNİN TOTAL PROTEİN MİKTARI ÜZERİNE ETKİLERİ	41
4.3	AL STRESİNİN MİNERAL BESLEME ÜZERİNE ETKİLERİ.....	42
4.3.1	Köklerde Toksik Metal ve Besin Element Miktarları	42
4.3.2	Gövdelerdeki Toksik Metal ve Besin Element Miktarları	47
4.3.3	Yapraklardaki Toksik Metal ve Besin Element Miktarları.....	52
4.3.4	Yavru Bitkilerdeki Toksik Metal ve Besin Element Miktarları.....	57
4.4	AL STRESİNE MARUZ KALMIŞ B. DAIGREMONTIANUM BİTKİSİNDE GENOTOKSİK BULGULAR	63
4.4.1	ISSR-PZR Analiz Sonuçları.....	63

4.4.2 RAPD-PZR Analiz Sonuçları	65
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR.....	78
ÖZGEÇMİŞ.....	97
KİŞİSEL BİLGİLER.....	97
BİLİMSEL ÇALIŞMALAR	97



ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Dünya topraklarındaki pH dağılımı	9
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan ana bitki.	28
Şekil 3.2. Ana bitkiden izole edilen ve gelişmeye bırakılan bitkicikler.	29
Şekil 3.3. Perkin Elmer® ICP-OES Optima 7000 DV.	31
Şekil 3.4. ERGHOF® MWS-2 mikrodalgı fırın.	32
Şekil 3.5. Protein standart grafiği.	33
Şekil 3.6. PZR aşamaları.....	38
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarında klorofil a miktarları.....	39
Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarında klorofil b miktarları.....	40
Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarında total klorofil miktarları.....	40
Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarında klorofil a/b miktarları.....	41
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarında karotenoid miktarları.....	41
Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarında total protein miktarları.	42
Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi köklerinde Al elementinin miktarları.....	42
Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi köklerinde Ca elementinin miktarları.	43
Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi köklerinde Cu elementinin miktarları.	43
Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi köklerinde K elementinin miktarları.....	44
Şekil 4.11. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi köklerinde Fe elementinin miktarları.....	44
Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi	

köklerinde Mg elementinin miktarları.	45
Şekil 4.13. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi köklerinde Mn elementinin miktarları.	45
Şekil 4.14. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi köklerinde Na elementinin miktarları.	46
Şekil 4.15. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi köklerinde Zn elementinin miktarları.	46
Şekil 4.16. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki Al elementinin miktarları.	47
Şekil 4.17. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki Ca elementinin miktarları.	48
Şekil 4.18. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki Cu elementinin miktarları.	48
Şekil 4.19. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki K elementinin miktarları.	49
Şekil 4.20. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki Fe elementinin miktarları.	49
Şekil 4.21. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki Mg elementinin miktarları.	50
Şekil 4.22. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki Mn elementinin miktarları.	50
Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki Na elementinin miktarları.	51
Şekil 4.24. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi gövdelerindeki Zn elementinin miktarları.	51
Şekil 4.25. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki Al elementinin miktarları.	52
Şekil 4.26. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki Ca elementinin miktarları.	53
Şekil 4.27. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki Cu elementinin miktarları.	53
Şekil 4.28. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki K elementinin miktarları.	54
Şekil 4.29. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi	

yapraklarındaki Fe elementinin miktarları.....	54
Şekil 4.30. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki Mg elementinin miktarları.	55
Şekil 4.31. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki Mn elementinin miktarları.	55
Şekil 4.32. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki Na elementinin miktarları.	56
Şekil 4.33. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki Zn elementinin miktarları.	56
Şekil 4.34. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Al elementinin miktarları.	57
Şekil 4.35. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Ca elementinin miktarları.....	58
Şekil 4.36. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde bulunan Cu elementinin miktarları.....	58
Şekil 4.37. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde K elementinin miktarları.	59
Şekil 4.38. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Fe elementinin miktarları.	59
Şekil 4.39. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Mg elementinin miktarları.....	60
Şekil 4.40. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Mn elementinin miktarları.....	60
Şekil 4.41. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Na elementinin miktarları.....	61
Şekil 4.42. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan B. daigremontianum bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Zn elementinin miktarları.....	61
Şekil 4.43. Farklı konsantrasyonlarda AlCl ₃ uygulanan B. daigremontianum bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın ISSR-PZR sonuçları (2. Primer).	63
Şekil 4.44. Farklı konsantrasyonlarda AlCl ₃ uygulanan B. daigremontianum bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın ISSR-PZR sonuçları (7. Primer).	63
Şekil 4.45. Farklı konsantrasyonlarda AlCl ₃ uygulanan B. daigremontianum bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın RAPD-PZR sonuçları (8. Primer).	66
Şekil 4.46. Farklı konsantrasyonlarda AlCl ₃ uygulanan B. daigremontianum bitki	

yapraklarından izole edilen DNA'nın RAPD-PZR sonuçları (9. primer). 66



TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Bitki besin elementleri.....	16
Tablo 3.1. Hoagland çözeltilisinin hazırlanışı.	29
Tablo 3.2. Fotosentetik pigment miktar hesaplaması.	31
Tablo 3.3. Fosfat tamponu ve Bradford reaktifinin hazırlanışı.....	34
Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan RAPD primerleri.....	35
Tablo 3.5. Çalışmada kullanılan ISSR primerleri.....	35
Tablo 3.6. PZR reaksiyon bileşenlerinin hazırlanması.....	37
Tablo 4.1. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan <i>B. daigremontianum</i> bitkilerinde ISSR-PZR yöntemi ile elde edilen bant sayıları ve bantların moleküler büyüklükleri (2. Primer).	64
Tablo 4.2. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan <i>B. daigremontianum</i> bitkilerinde ISSR-PZR yöntemi ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve değişen yoğunlukları (2. Primer).	64
Tablo 4.3. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan <i>B. daigremontianum</i> bitkilerinde ISSR-PZR yöntemi ile elde edilen bant sayıları ve bantların moleküler büyüklükleri ..	65
Tablo 4.4. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan <i>B. daigremontianum</i> bitkilerinde ISSR-PZR yöntemi ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve değişen yoğunlukları (7. Primer).	65
Tablo 4.5. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan <i>B. daigremontianum</i> bitkilerinde PZR-RAPD yöntemi ile elde edilen bant sayıları ve bantların moleküler büyüklükleri (8. primer).	67
Tablo 4.6. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan <i>B. daigremontianum</i> bitkilerinde RAPD-PZR yöntemi ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve değişen yoğunlukları (8. Primer).	67
Tablo 4.7. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan <i>B. daigremontianum</i> bitkilerinde RAPD-PZR yöntem ile elde edilen bant sayıları ve değişen bantların moleküler büyüklükleri (9. primer).....	68
Tablo 4.8. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan <i>B. daigremontianum</i> bitkilerinde RAPD-PZR yöntemi ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve kontrole göre değişen yoğunlukları (9. Primer).	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
Al	Alüminyum
AlCl ₃	Alüminyum klorür
bç	Baz çifti (base pair)
Ca	Kalsiyum
Cl	Klor
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
CO ₂	Karbondioksit
Cu	Bakır
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid trifosfatlar
Fe	Demir
gr	Gram
ICP	Inductively coupled plasma (indüktif eşleşmiş plazma)
ISSR	Inter simple sequence repeats (basit dizi tekrarları arası)
K	Kelvin
kg	Kilogram
Kl <i>a</i>	Klorofil <i>a</i>
Kl <i>b</i>	Klorofil <i>b</i>
M	Molar
Mg	Magnezyum
Mg	Miligram
Mhz	Megahertz
ml	Miligram
mM	Milimolar
Mn	Mangan
MN	Mikro nükleus

Ni	Nikel
nm	Nanometre
°C	Santigrad derece
°K	Kelvin derece
PCR	Polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
pH	Hidrojen iyonu derişimi
POD	Peroksidaz
ppb	Part per billion (milyarda bir)
ppm	Part per million (milyonda bir)
RAPD	Random amplified polymorphic DNA (rastgele arttırılmış polimorfik DNA)
ROT	Reaktif oksijen türleri
RPM	Revolutions per minute (dakikadaki devir sayısı)
SOD	Süperoksit dismütaz
<i>Taq</i> DNA polimeraz	<i>Thermus aquaticus</i> bakterisinden elde edilen DNA polimeraz

ÖZET

***BRYOPHYLLUM DAIGREMONTIANUM* (RAYM.-HAMET & PERRIER)**

**A.BERGER BİTKİSİNDE ALÜMİNYUM STRESİNE BAĞLI
DEĞİŞİKLİKLERİN FİZYOLOJİK YÖNTEMLER VE MOLEKÜLER
İŞARETLEYİCİLER (RAPD ve ISSR) ile ARAŞTIRILMASI**

ALİ KAVAL

Düzce Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ernaz ALTUNDAĞ ÇAKIR

Eş Danışman: Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT

Aralık 2016, 104 sayfa

Bu çalışmada, *Bryophyllum daigremontianum* (Raym.-Hamet & H. Perrier) A.Berger bitkisinin Al elementine karşı mineral beslenme, fotosentetik pigment, total protein ve genotoksik özellikleri açısından tür yanıtlar verdiği araştırılmıştır. Bitkiler 0 (kontrol), 50, 100 ve 200 µM konsantrasyonlarda AlCl₃ içeren Hoagland çözeltileri (20 ml) ile 2,5 ay boyunca gün aşırı sulandırılmıştır. Toprak pH'sı düştüğünde (4,5-5,0) Al çözünerek fitotoksik hali olan Al³⁺ formuna dönüşmekte, taban suyunda çözünerek bitki kökleri tarafından emilmektedir. Bu nedenle, deney gruplarına ek olarak asit kontrol grubu eklenmiştir. Sulamanın sonrasındaki gün deney gruplarına toprağa püskürtülmek suretiyle sülfirik asit (% 0,2) verilmiştir. Asit kontrol grubu, asitin bitkide meydana getirdiği etkileri görmek amacıyla oluşturulmuş olup, gruba yalnızca Hoagland solüsyonu ve sonraki gün sülfirik asit verilmiştir. 2,5 ayın sonunda, hasat edilen bitkilerde fotosentetik pigmentler (klorofil *a*, klorofil *b*, total klorofil, klorofil *a/b* ve karotenoid) ve total protein miktarı ölçülmüştür. Bitkide kök, gövde ve yapraklardaki Al elementi ve diğer mineral besin elementleri (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Mn ve Zn) ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer) cihazı ile ölçülmüş, RAPD-PZR ve ISSR-PZR yöntemleri ile genotoksisite analizleri yapılmıştır. Klorofil *a-b* ve karotenoid miktarları Arnon (1949) formülasyonuna göre ve total protein miktarı Bradford (1976) baz alınarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak asit kontrol, 50, 100 ve 200 µM konsantrasyonları; kontrol grubu ile kıyaslandığında sırasıyla; klorofil *a* % ~6,57, ~3,61, ~8,88, ~8,22; klorofil *b* % ~22,11, ~21,60, ~21,60, ~1,00; total klorofil %

~11,76, ~11,96, ~21,60, ~11,37; karotenoid değişim yok, % ~7,03, ~6,25, ~7,81 olarak genel bir dūşüş olduğu klorofil *a/b* oranlarında ise % ~4,19, ~15,05, ~12,75, ~12,29 olarak arttığı gözlenmiştir. Total protein miktarında ise konsantrasyona bağlı olarak yükselme olduğu gözlenmiştir. Mineral besin elementlerinden Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn ve Zn değerleri bütün bitki kısımlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uygulanan Al konsantrasyonunun (50, 100 ve 200 µM) artmasına bağlı azalmıştır. Bitki besin elementlerinden, Na elementinin kontrol grubunun köklerinde en düşük değerini aldığı, asit kontrol grubunda en yüksek değerde olduğu ve 200 µM konsantrasyon grubuna doğru, Al konsantrasyonu arttıkça Na değerlerinde dūşüş olduğu saptanmıştır. Sunulan çalışmada RAPD ve ISSR profil sonuçlarına göre yeni bant oluşumları ve bant yoğunluklarında değişim gözlenmiştir. Bu çalışma ile birlikte genotoksisite, çevresel toksikoloji ve Al toksisitesi araştırmalarında RAPD-RZR ve ISSR- PZR tekniğinin yararlı olabileceği görülmüştür.

Anahtar sözcükler: Alüminyum, Fizyoloji, Genotoksisite, Mineral beslenme, Moleküler işaretleyici, Stres.

ABSTRACT

**INVESTIGATION OF AL STRESS INDUCED ALTERATIONS IN
BRYOPHYLLUM DAIGREMONTIANUM (RAYM.-HAMET & PERRIER)
A.BERGER BY USING PHYSIOLOGICAL METHODS AND MOLECULAR
MARKERS
(RAPD AND ISSR)**

Ali KAVAL

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biology
Master of Science Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ernaz ALTUNDAĞ ÇAKIR

Co- Supervisor: Prof. Dr. İbrahim İlker ÖZYİĞİT

December 2016, 104 pages

In this study, effects of aluminum on genotoxicity, photosynthetic pigment composition, total protein content and mineral nutrient status in *Bryophyllum daigremontianum* plants have been investigated. Plants were watered with Hoagland solution (20 ml) containing 0 (normal), 50, 100 and 200 μM AlCl_3 on alternate days for 75 days. As soil pH decreases (4,5–5,0) Al is converted into phytotoxic form Al^{3+} , and solubilized in soil water and absorbed by plant roots. Thus, in addition to experimental groups an acid control group was added to investigate the effects of acid on plants. On the day after watering, experimental groups were sprayed with sulfuric acid (0,2%). After experimental period, plants were harvested and effects of Al treatment on photosynthetic pigments (chlorophyll *a*, *b*, *a/b*, total chlorophyll and carotenoids) and total protein contents were analyzed. Al and other mineral nutrient elements (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Mn and Zn) in plant roots, stems and leaves were analyzed by using ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer). The genotoxic analysis was performed by employing RAPD and ISSR methods. The chlorophyll and carotenoid contents were calculated based on Arnon (1949) and total protein contents were according to Bradford (1976). Compared to control groups, acid control, 50, 100 and 200 μM concentrations respectively showed a slight decrease in chlorophyll *a* (~6,57, ~3,61, ~8,88 and ~8,22%), chlorophyll *b* (~22,11, ~21,60, ~21,60 and ~1,00%), total chlorophyll (~11,76, ~11,96, ~21,60 and ~11,37) and carotenoid (no change, ~7,03, ~6,25 and ~7,81) contents whereas an increase was observed in chlorophyll *a/b* (~4,19, ~15,05, ~12,75 and ~12,29) contents. Besides, total protein content was also

found to increase depending on the applied Al concentration. In all plant parts, concentrations of Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn and Zn decreased in relation to increasing Al concentrations (50, 100 and 200 μM). From nutrients, Na had the lowest value in roots of control group, the highest value in the acid control group, and showed a decrease toward 200 μM concentration group with increasing Al concentration. Moreover, RAPD and ISSR analyses demonstrated the appearance of new band formations and variations in band intensities. Therefore, this work showed that RAPD and ISSR techniques can be effectively employed in genotoxicity, environmental toxicology and Al toxicity-related studies.

Keywords: Aluminum, Genotoxicity, Molecular marker, Mineral nutrition, Stress, physiology,



1. GİRİŞ

1.1 AMAÇ VE KAPSAM

Alüminyum (Al), oksijen ve silisyumdan sonra yer kabuğunda en fazla bulunan (%8) üçüncü elementtir (Ozyigit ve diğ. 2013, Vardar ve diğ. 2016). Toprakta çözünmeyen oksitler ve aluminosilikatlar halinde bulunan Al, bitki için temel bir element değildir. Tarımsal modernleşme süreci ile birlikte verimi arttırmak için azot kaynağı olarak daha fazla amonyumlu gübre kullanılması, çevre kirliliği ve buna bağlı asit yağışlarından ötürü toprak asidik hale gelir. Bunlardan asit yağışları küresel kirlilik sorunlarının en önemlilerinden birini teşkil etmektedir. Bu problemin küresel sorun haline gelmesi asidik depozitlerin kolay bir şekilde ilerlemesinden ötürüdür. Doğal süreç ya da insan aktiviteleri sonucu olarak toprağın asitleşmesi (pH<5) ile birlikte Al ihtiva eden mineraller çözünerek toprak çözeltisine, yeraltı ve yüzey sularına geçerek bitkiler tarafından alınır (Kacar ve Katkat 2007, Rengel 2004, Drabek 2005, Kochian ve diğ. 2005, Scancar ve diğ. 2006, Poschenrieder ve diğ. 2008, Prihatina ve diğ. 2015).

Büyümenin kısıtlanması, Al toksisite değerlendirilmesinde geniş ölçüde kullanılan bir indekstir. Biyokütledeki kök/sürgün oranı azalması ve total uzunluk ya da yüzey ortak özelliklerdir. Al stresinin ilk ve en önemli belirtilerden biri kök büyümesinin yavaşlamasıdır ki bu belirti Al'un mikromolar konsantrasyonlarına maruz kalan bitkilerde dakikalar içerisinde gözlemlenmiştir. Al sadece bitkinin kök boyunda değil, aynı zamanda bütün kök yapısında da derin değişikliklere neden olmaktadır (Vardar ve Ünal 2007, Vardar ve diğ. 2016). Bu durum topraktan suyun ve besin elementlerinin alınımını azaltır. Sonuçta, hücre bölünmesi engellendiğinden tüm bitkide büyüme sınırlanır (Kochian 1995, Rengel 2004, Ozyigit ve diğ. 2013, Vardar ve diğ. 2015, Choudhury ve Sharma 2014).

Al, asidik topraklarda tarımsal üretimi sınırlayan en önemli stres faktörleri arasındadır (Rengel 2004, Vardar ve Ünal 2007) Örneğin, toprakta Al konsantrasyonunun yüksek olması buğday gibi temel bir besin kaynağının hasat-edilebilir organlarında Al miktarının artmasına; sonuçta, düşük ekme kalitesi ile beraber insan sağlığında

olumsuz etkilere neden olmaktadır (Kumar ve Gill 2009, Valle 2009).

Al geniş ölçüde hücrel ve fizyolojik süreçleri etkiler. Hücrel seviyede Al, yapısında oksijen bulunan organik bileşiklere güçlü bir şekilde bağlanma ilgisi vardır (proteinler, nükleik asitler ve fosfolipitler gibi). Hücre bölünmesinin, büyümesinin ve taşınmanın inhibisyonu sonucu hücre iskelet yapısı ve fonksiyonu engellenir, fosfor metabolizması ve kalsiyum homeostasisi bozulur (Navascues ve diğ. 2012, Doğan ve diğ. 2014). Al, bitkilerde fotosentezde fotosistem II (PSII)'deki fotokimyasal verimin azalması ve elektron taşınımının kısıtlanması ile fotosentetik aparatları fonksiyonel olarak etkilemektedir. Ayrıca, hücre duvar yapısı ve fonksiyonlarını, plasma membranını ve sinyal iletim yollarını bozması ile bitkide çok sayıda hücrel bölgeyi etkilemektedir (Dong 2002, Chen 2008, Horst ve diğ. 2010). Al stresi aynı zamanda stomaların çap ve çevre değerlerini düşürerek stoma iletkenliğini olumsuz etkiler (Ozyigit ve Akinci 2009).

Al'un en toksik formu olan Al^{3+} , reaktif oksijen türleri (ROT) ve lipid peroksidasyonu ile ilgili enzim aktivitelerini [süperoksit dismutaz (SOD) ve peroksidaz (POD)] arttırdığından oksidatif stresi uyarmakta, oksidatif strese cevap veren genlerin ekspresyonunu değiştirerek oksidatif metabolizmada değişimlere neden olmaktadır. Eğer oksidatif savunma sistemi bu durumu bertaraf edemezse hücrel bileşiklerde hasar meydana gelir (Yamamoto ve diğ. 2001, Dong 2002, Chen 2008, Maron 2008, Panda ve Matsumoto 2010, Navascues 2012). Al^{3+} 'un arpa ve buğdayda oksidatif strese ve beraberinde hücre ölümlerine neden olduğu gözlemlenmiştir (Deslile ve diğ. 2001, Darko ve diğ. 2004, Panda ve diğ. 2007).

Al toksisitesinden dolayı konsantrasyonu yükselen ROT (reaktif oksijen türleri); lipidleri, proteinleri ve nükleik asitleri oksitleme kapasitesine sahiptir ki bu durum hücre ölümüne sebebiyet vermektedir (Matsumoto 2000). Al'un neden olduğu oksidatif stres, tütün bitkisi hücreleri mitokondrisinde geriye çevrilemez fonksiyon bozukluğuna ve hücrelerin ölümüne sebep olmaktadır (Panda ve diğ. 2008). Tütün hücrelerinde yüksek ROT üretimi ile birlikte solunumda ve hücrel ATP seviyesinde azalma meydana gelir. Al stresi altında mitokondrial ATP seviyesinde meydana gelen azalma, hücrenin biyoenerjetik koşullarını ciddi bir şekilde etkiler ve enerji mahrumiyeti altındaki hücre programlanmış hücre ölümü için sinyal oluşturur (Yamamoto ve diğ. 2002, Li ve Xing 2011, Vardar ve diğ. 2016).

Tropik ve subtropik bölgelerde asidik toprak doğal olarak oluşmaktadır (Von Uexküll ve Mutert 1995). *Bryophyllum daigremontianum* bitkisi; Afrika, Madagaskar, Brezilya ve birkaç tropikal bölgede görülmektedir (Ozyigit ve diğ. 2016). Tropikal bölgelerde de görülmesi, Al'u ne derece akümüle ettiği ve bir CAM bitkisi olarak Al karşısında ne gibi cevaplar vereceği sorularını akıllara getirmektedir. Bu amaçla, *B. daigremontianum* ana bitkisinden alınan yavru bitkiler 3 haftalık çimlendirme aşamasını takiben, 2 aylık süre boyunca standart kompost içeren saksılarda gün aşırı Hoagland ile sulanarak (ikinci yapraklar gelişene kadar) yetiştirildi. Sonraki 2,5 ay boyunca da bitki; 0, 50, 100 ve 200 μM AlCl_3 içeren hoagland çözeltisi (20ml) ile bir gün ara ile sulandı. Hoagland ile sulamanın sonrasındaki gün ise 50, 100 ve 200 μM gruplarına ait bireylerin toprak yüzeylerine sülfirik asit (%0,2) püskürtülmek suretiyle topraklara asidik karakter (pH:4,8) kazandırıldı. Kontrol ve deney gruplarına ek olarak asitin bitkilerde meydana getirdiği etkileri görmek ve kontrol grubu ile karşılaştırmak amacıyla asit kontrol grubu ilave edildi. Asit kontrol grubuna ise Hoagland ve asit verildi.

B. daigremontianum bitkisi kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına ait bireylerin; fotosentetik pigment (klorofil *a*, klorofil *b*, total klorofil, klorofil *a/b* ve karotenoid) ve total protein miktarları, RAPD-PZR ve ISSR-PZR moleküler markır teknikleri ile genotoksisite analizleri yapıldı. Ayrıca, toksik metal birikimi ile Al'un mineral besin elementleri (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Mn ve Zn) alımlarına olan etkileri bu elementlerin kök, gövde, yaprak ve yaprak üzerinde gelişen genç bitkiciklerdeki (klonlar) miktarları ölçülerek yapıldı.

Karmaşık bir kimyaya sahip olan Al toksisitesinin tanımlanması, gelecekte Al'dan etkilenecek olan birçok tarımsal ürünün iyileştirilmesi açısından önemlidir. Bu çalışmada, Al stresinin CAM bitkileri üzerinde ne gibi etkiler meydana getirdiğini belirlemek için *B. daigremontianum* bitkisi model bitki olarak kullanılmış, bitkiden elde edilerek Al maruz bırakılan klon bitkilerin Al'u organlarında hangi oranlarda biriktirdiği ve Al'un fizyolojik ve genotoksik etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 TOPRAK ASİTLİĞİ

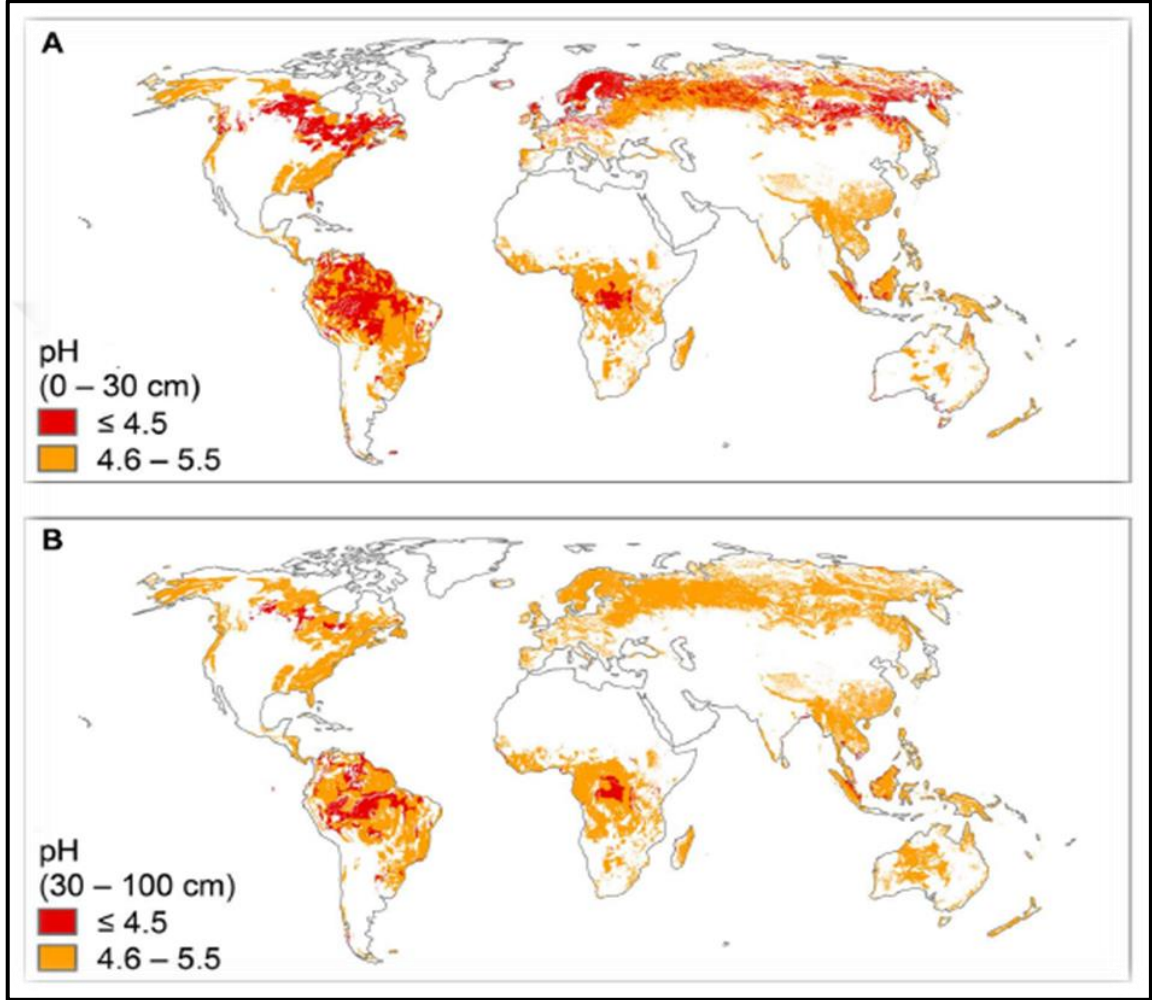
Dünya genelinde, 1996 yılında ekilebilir alanların yaklaşık %40'ının asidik topraklardan oluştuğu görülmekteyken 2009'da bu değerin %50 ve 2013'te ise %67'ye ulaştığı tahmin edilmektedir (Lenobre ve diğ. 1996, Panda ve diğ. 2009, Abate ve diğ. 2013). Tropik ve subtropik bölgelerde asidik toprak doğal olarak oluşmaktadır (Von Uexküll ve Mutert 1995); ayrıca asidik toprakların %60'ı gelişmekte olan ve besin kıtlığı çeken Güney Amerika, Orta Afrika ve Güney Doğu Asya'da bulunmaktadır. Ek olarak, çevresel etmenlerden ötürü toprağın asidik hale gelmesi Kanada, Avrupa ve Amerika'nın endüstriyel bölgelerinde artan bir sorun halini almıştır (Viterollo ve diğ. 2005).

Asidik topraklarda verimsiz ürün yetiştirilmesindeki en önemli etkenlerden biri Al toksisitesidir. Al toksisitesinden ötürü, buğday (Costa ve diğ. 2003, Kariuki ve diğ. 2007), arpa (Tang ve diğ. 2002) ve mısırın (Sierra ve diğ. 2003) tarımsal üretiminin %30'dan daha fazlasının azaldığı rapor edilmiştir. Çin'de yaklaşık olarak ekilebilir alanların %21'i asidik hale gelmiş bulunmaktadır. (Liu ve diğ. 2004). Toprak pH'sı düştüğünde (4,5-5,0), Al çözünenerek fitotoksik hali olan Al^{3+} formuna dönüşür (Matsumoto 2000). Al^{3+} asitli topraklarda $Al(H_2O)_6^{3+}$ olarak bulunur ve bu bitkiler için en toksik formudur (Kochian 1995).

Ülkemizde Doğu Karadeniz sahil şeridinde ana kayanın bazlar bakımından fakir volkanik materyalden oluşması ve çok yağış almasından ötürü topraklarda bazlar yıkanarak asit karakterli topraklar meydana gelmiştir. Ayrıca, Trakya Bölgesi'nde toprak pH'sı, Karadeniz Bölgesi kadar düşük olmamakla birlikte, asit reaksiyonlu topraklar önemli bir alan kaplamaktadır (Ülgen ve Rasheed 1975). Doğu Karadeniz topraklarının asit karakterli olmasının (asidik toprakları seven çay dışındaki) tüm kültür bitkileri için, verimi düşüren en önemli sebeplerden biri olduğu, ancak kireçleme ile toprak pH'sının 6,5 seviyesinin üzerine çıkarılarak ürün veriminde önemli artışlar meydana geldiği ortaya konmuştur (Özuygur ve diğ. 1974, Lawrence ve diğ. 2016).

Asidin, topraklarda verimliliğin düşmesine ve bitki tarafından alınabilir Mn, Fe ve Al miktarlarının toksik olabileceği çok yüksek düzeylere erişmesine neden olabileceği,

ayrıca, yarayışlı Mg, Ca, Mo ve P gibi bitki besin maddelerinin eksikliklerin de rol oynayabileceği tespit edilmiştir (Ateşalp 1977, Kacar ve Katkat 2007, Dogan ve diğ. 2014). Ayrıca, bitkilerde bulunan ve azot fikse eden simbiyotik bakteriler asidik topraklar ve beraberinde ortaya çıkan Al toksisitesinden ötürü verimi olumsuz etkilemektedir (Viterollo ve diğ. 2005).



Şekil 2.1. Dünya topraklarındaki pH dağılımı **A.** Dünyadaki toprak yüzeyinin (0-30 cm) pH dağılımı, **B.** Dünyadaki toprak yüzeyinin altının (30-100 cm) pH dağılımı. pH $\leq 4,5$: kuvvetli asit, pH 4,6-5,5 orta dereceli asit topraklar (Brunner ve Sperisen 2013).

2.2 ALÜMİNYUM HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Yer kabuğunda %8 oranında bulunan alüminyum (Al), oksijen ve silisyumdan sonra en fazla bulunan üçüncü elementtir (Ozyigit ve diğ. 2013, Vardar ve diğ. 2016). Al her ne kadar toprakta zararsız formlarında bulunsa da, doğal süreç ya da insan aktiviteleri sonucu olarak toprağın asitleşmesi ile birlikte Al ihtiva eden minerallerin toprakta çözünmesi artmaktadır (Kochian 1995, Kacar ve Katkat 2007, Rengel 2004). Al; uzay,

otomotiv, uçak, demiryolu ve deniz yolu teknolojisi, inşaat ve tıp sektörlerindeki kullanımı, pişirme malzemesi olarak kullanımı, folyolama ve kutulama gibi pek çok alanda kullanılan oldukça geniş bir pratiğe sahip olup canlı organizmalarda birikimine neden olmaktadır (Yenigül 2006).

Ağır metaller, yoğunluğu 5 g/cm^3 'ün üzerinde olup atom ağırlıkları 40'ın üzerindeki elementlerdir ve periyodik cetvelde nispeten geniş bir alanı kaplarlar (Seregin ve Ivanov 2001). Kimyasal simgesi Al olan alüminyumun atom ağırlığı $26,98 \text{ g/mol}$, atom numarası 13'tür. 3A grubunda yer almakla birlikte yoğunluğu $2,699 \text{ g/cm}^3$ 'tür. Al yoğunluğunun 5 g/cm^3 'ten düşük olması ve atom ağırlığının 40'ın altında olmasından ötürü bir ağır metal değildir. Al, son yıllarda yapılan çok sayıda çalışmayla beraber canlı sistemlerde toksik etkilere neden olduğu ortaya konduğundan, bir toksik metal olarak tanımlanmaktadır (Exely ve Korchazhkina 2001). Al'un, +3 ve 0 olmak üzere düşük sıcaklıklarda iki değerliği bulunmakla birlikte, en reaktif metallerden biri olması sebebiyle doğada 0 değerlikli olarak bulunmamaktadır (Yokel 2004).

2.3 ALÜMİNYUM TOKSİSİTESİ

Dünyada ekilebilir alanların yaklaşık %67'sinin asidik topraklardan oluştuğu tahmin edilmektedir (Abate ve diğ. 2013). Ulaşım araçları, endüstriyel yakma prosesi, termik santraller, volkanlar ve petrokimya-gübre endüstrilerinin meydana getirdiği çevresel kirlilik asit depozisyonuna neden olmakta; yanı sıra verimi arttırmak amacıyla kullanılan azotlu gübreler her geçen gün toprak asitliliğini arttırmaktadır (Wild 1988, Özdemir 2005). Asidik topraklarda verimsiz ürün yetiştirilmesindeki en önemli problemlerden biri Al toksisitesidir. Doğada bu kadar fazla bulunan Al'un bitkiler için toksik forma dönüşmesi toprağın pH'sına bağlıdır. Al'un çoğu toprak pH'sının nötr ya da zayıf asidik olduğu durumlarda zararsız formu olan oksitler ve aluminosilikatlar halinde bulunmaktadır. Doğal süreç ya da insan aktiviteleri sonucu toprağın asitleşmesi ile birlikte Al ihtiva eden minerallerin toprakta çözünmesi artmakta ve bitkide toksik etki meydana getirmektedir (Martini ve Mutters 1985, Kochian 1995, Kacar ve Katkat 2007, Rengel 2004). Alüminyum toksisitesi öncelikle alüminyumun kimyasal formuna bağlı olmakla beraber; sucul organizmalar (Gensemer ve Playle 1999) ve bitkiler için (Ma 2000, Hoekenga 2003) değişken pozitif yüklü akua ve hidroksi-mononükleer Al kompleksleri en toksik alüminyum türleri olarak tanımlanmıştır.

Toprağın pH'sı 5'in altındayken Al toprakta Al^{+3} olarak adlandırılan $Al(H_2O)_6^{+3}$ formunda bulunur. Çünkü düşük bir iyonik yüke ve küçük iyonik çapa sahip olan Al, su molekülleriyle güçlü bir bileşik oluşturabilir. Ortamın pH'ı arttıkça $Al(H_2O)_6^{+3}$ $Al(OH)^{+2}$ ve $Al(OH)_2^+$ haline dönüşmektedir. Nötr topraklarda ise; çözünmeyen $Al(OH)_3$ formunda ve alkalik pH'da $Al(OH)_4^-$ şeklinde daha baskın olarak bulunmaktadır. Toprakta Al^{+3} olarak adlandırılan $Al(H_2O)_6^{+3}$ Al'un en zehirli formu olarak kabul görmektedir (Kochian 1995, Matsumoto 2000).

2.3.1 Alüminyum Toksisitesinin Bitkilere Etkisi

Büyümenin kısıtlanması, Al'un toksisite değerlendirilmesinde geniş ölçüde kullanılan bir indekstir. Biyokütlerdeki kök/sürgün oranının azalması ve total uzunluk ortak özellikleridir. Al sadece bitkinin, kök boyunda değil aynı zamanda bütün kök yapısında derin değişikliklere neden olmaktadır (Vardar ve Ünal 2007, Vardar ve diğ. 2016). Bitkide kök büyümesinin engellenmesi ilk meydana gelen ve en sık görülen semptom olup, zararın şiddetine göre kökler kısalır, kalınlaşır ve renk kahverengiye döner. Ayrıca, yan köklerin oluşumu da baskılanmaktadır (Vardar ve diğ. 2006).

Al, hızlı bir şekilde kök hücrelerinin uzamasını bozar ve yetersiz kök gelişimine neden olur. Bu durum topraktan suyun ve besin elementlerinin alınımını azaltır (Ozyigit ve diğ. 2013, Dogan ve diğ. 2014). Sonuçta hücre bölünmesi ve hücre uzaması engellendiğinden kök büyümesi durur, tüm bitkide büyüme sınırlanır ve bitki fungal enfeksiyonlara karşı savunmasız hale gelir (Kochian 1995, Rengel 2004, Kocaçalışkan 2005). Al'un toksik belirtileri ise küçük koyu yaprak, geç olgunlaşma, yaprak uçlarının sararması, solması ve stoma geçirgenliğinin azalması şeklindedir (Ozyigit ve Akinci 2009, Kocaçalışkan 2005).

2.3.2 Alüminyum Toksisitesinin Mekanizmaları

Al, en hassas organ olan kökte değişik bölgeleri hedef alarak gelişimine engel olmaktadır. Bunun nedeni fazlaca reaktif olması; hücre duvarı, hücre membranı, hücre iskelet sistemi ve DNA/çekirdek gibi hücresel yapıları ve fonksiyonlarına engel olmasıyla beraber oluşan toksisitedir. Hücresel seviyede Al'un, yapısında oksijen bulunan bileşiklere (proteinler, nükleik asitler ve fosfolipitler gibi) güçlü bir şekilde bağlanmaya afinitesi vardır (Kochian ve diğ. 2005, Navascues ve diğ. 2012, Vignala ve

diğ. 2015); bununla beraber ROT ve lipid peroksidasyonu ile ilgili enzim aktivitelerini (SOD ve POD enzimleri) arttırdığından oksidatif stresi uyarmakta (Yamamoto ve diğ. 2001), aynı zamanda çeşitli genlerin ekspresyonunu indüklenmektedir (Vardar ve Ünal 2007, Ryan ve diğ. 2011).

Yapılan çalışmalar Al'un kök ucunu hücre duvarındaki apoplastik bağlanma bölgeleriyle etkileşime geçtiğini ve moleküler ağırlıktaki çözünmüş maddelerin taşınımını inhibe ettiğini göstermektedir (Sivaguru ve diğ. 2006). Hücre duvarının esnekliğinin azalması, Al'un hücre duvarına hızlı bir şekilde bağlanarak hücre duvarının yapısal ve mekanik özelliklerini etkilemesinden ileri gelmektedir. Sonuçta kök hücrelerinin genişlemesine ve kök hücre duvarının yapısal ve mekanik özelliklerini etkileyerek bütün kök yapısında derin değişikliğe neden olmaktadır. Kök büyümesinin yavaşlaması, Al stresinin ilk ve en önemli etkisidir ki bu etki mikromolar seviyelere maruz kalan bitkilerde dakikalar içerisinde gözlemlenmiştir. Bu durum topraktan suyun ve diğer besin elementlerinin alımını azaltır. Sonuçta hücre bölünmesi engellendiğinden ve su ve besin elementlerinin alımı azaldığından bütün bitkide büyüme sınırlanır (Rengel 2004, Kochian ve diğ. 2005, Ozyigit ve diğ. 2013, Dogan ve diğ. 2014, Vardar ve diğ. 2016).

Al toksisitesinden dolayı konsantrasyonu yükselen reaktif oksijen türleri; lipidleri, proteinleri ve nükleik asitleri oksitleme kapasitesine sahip olup, antioksidan genlerin ekspresyonuna etki etmek suretiyle oksidatif metabolizmada değişikliklere sebebiyet verir. Eğer oksidatif savunma sistemi bunu bertaraf edemezse hücrede bileşiklerde hasara sebebiyet verir. Sonuçta bu durum, hücrenin ölümüne sebebiyet vermektedir (Matsumoto 2000, Dudhane ve diğ. 2012). Ayrıca, Al'un neden olduğu oksidatif stres, tütün bitkisi hücreleri mitokondrisinde geriye çevrilemez fonksiyon bozukluğuna ve hücrelerin ölümüne sebep olmaktadır (Dong 2002, Chen 2008, Maron 2008, Panda ve Matsumoto 2010, Navascues ve diğ. 2012).

Tütün hücrelerinde yüksek ROT üretimi ile solunumda ve hücre ATP seviyesinde azalma meydana gelir. Al stresi altında mitokondrial ATP seviyesinde meydana gelen azalma, hücrenin biyoenerjetik koşullarını ciddi bir şekilde etkiler ve enerji mahrumiyeti altında hücre programlanmış hücre ölümü için sinyal oluşturur (Yamamoto 2002, Panda ve diğ. 2008, Vardar ve diğ. 2016). Bitkilerdeki Al stresi, fotosentetik PSII'deki fotokimyasal verimin azalması ve elektron taşınımının kısıtlanması ile

fotosentetik aparatları fonksiyonel olarak etkilemektedir (Dong 2002, Chen 2008).

Al hücre membranının fosfolipidlerine bağlanmak suretiyle membranın elektrik potansiyelini değiştirebildiği gibi direkt olarak kök hücrelerinin iyon taşımakla görevli proteinlerini tıkamak suretiyle de iyon hareketlerine etki etmektedir (Kochian ve diğ. 2005). Bununla beraber, Ca^{+2} , Mg^{+2} ve K^{+1} gibi katyonların köklerden alınımını azaltmasından ötürü bitki büyüme ve gelişimine engel olmaktadır (Ozyigit ve diğ. 2013, Dogan ve diğ. 2014). Kakao bitkisinde Al konsantrasyonunun artması ile K, Ca, Cu, Fe, Mn ve Zn içeriğinde azalma meydana gelmektedir (Baligar ve Fageria 2005). Yetiştirildiği ortama Al eklenenen şeftali fidelerinde ise fidelerin yapraklarında ve kökündeki P, Ca, Mg, Fe ve Mo muhteviyatında düşüş gözlemlenmiştir. Asidik topraklar ve Al toksisitesinin besin ekonomisi üzerindeki etkisi, dünya genelinde üretimi negatif bir şekilde etkilemektedir (Graham 2001, Valle ve diğ. 2011).

Al'a maruz kalan bitkilerde, hücre membran lipidlerinde peroksidatif hasar meydana gelmekte ve stresle beraber toksik etkilere neden olan serbest oksijen türlerinin konsantrasyonu artmaktadır. Ancak, kökler Al'a 24 saat veya daha fazla maruz kaldıktan sonra lipid peroksidasyonu artış meydana gelmektedir. Al toksisitesinin başlangıç mekanizmasını, Al ile beraber meydana gelen lipid peroksidasyonu teşkil etmektedir; ancak lipid peroksidasyonu yeterince hızlı değildir. Sonuçta, Al toksisitesi ile peroksidaz enzimin aktivitesi paralel bir artış göstermektedir. (Kochian ve diğ. 2005). Hücre içersinde organel hareketi, hücre uzaması ve bölünmesi gibi oldukça önemli görevleri olan mikrotübüller ve mikrofilamentler Al'un toksik olarak etkilediği hücre bileşenlerindedir. (Seagull 1989). Al bu bileşenler ile ya doğrudan etkileşime geçer ya da dolaylı olarak bileşenlerin stabilizasyonu ile alakalı sitoplazmik sinyallere etki eder. (Blancaflor ve diğ.1998, Sivaguru ve diğ.1999).

Hücre çekirdeğindeki DNA, uzun süre Al'la maruz kalması sonucunda negatif olarak etkilenmekte; bu durum Al'un DNA'ya veya kromatine bağlanarak hücre bölünmesini engellemesilyle gerçekleşmektedir (Matsumoto 2000, Silva ve diğ. 2000, Bojorquez-Quintal ve diğ. 2014, Blancheteau ve diğ 2011).

2.4 BİTKİLERDE ALÜMİNYUM TOLERANSININ MEKANİZMALARI

Mikromolar konsantrasyonlarda bile Al iyonu (Al^{+3}), pek çok bitki için toksik etkiler oluşturmaktadır. Al^{+3} 'un bitkilerde meydana getirdiği toksisite, bitkilerin kök uzamasını hızlı bir şekilde durdurması ve takiben besin alınımını azaltması olarak da tanımlanmaktadır. Al, oksijen donörü olan bileşiklerle kuvvetli bağlar oluşturmakta, kök hücrelerinin apoplast ve simplast yollarında birçok yerde etkileşebilmektedir. Al'un bu bileşiklerle bağlanması toksisitesinin en önemli sebebidir. Ancak, asidik topraklarda büyüyen bazı bitki türleri, Al stresine karşı tolerans mekanizması geliştirmişlerdir (Kochian 1995, Barcelo ve Poschenrieder 2002, Blancheteau ve diğ. 2012).

Al tolerant bitkiler oluşturdukları malat, sitrat ve oksalat gibi organik asitleri kök çevresine salgırlar. Bu organik bileşikler kökün çevresinde biriken Al iyonları ile reaksiyona girerek şelat oluşturmakta ve bu sayede Al iyonlarının köklerden içeri girmesine engel olarak Al'un zararlı etkilerinden korunmaktadır. Al'a toleransı olan diğer bitkilerde ise hücre içerisindeki Al iyonlarını sitrat ve oksalat ile şelat oluşturarak vakuollerde biriktirilmekte ve bu yolla Al toksisitesi bertaraf edilmektedir. (Barcelo ve Poschenrieder 2002, Simonovicova 2004). Al toksisitesine karşı toleranslı olan buğday çeşitlerinden malat (Ryan ve diğ. 1995); Al'a toleranslı legüminozlardan sitrat (Yang ve diğ. 2000) ve esmer buğdaydan oksalat (Ma ve diğ. 1997) salgılanmaktadır.

Al'a karşı toleransta, Al'un bitkinin üst kesimine taşınımına ket vurulması, en önemli mekanizma gibi görünse de yüksek konsantrasyonlara tolerans gösteren bitkilerde Al bitkisel yapıya girdikten sonra organik asitlerle şelatlanarak tolerans oluşturabilmektedirler. Yüksek konsantrasyonlardaki Al bu çeşit bitkilerde apoplastın içinde, gövdelerde ya da yaprak vakuollerinde organik asitlerle sayesinde şelatlanarak zararsız formda biriktirebilirler (Barcelo ve Poschenrieder 2002, Tang ve diğ. 2002).

2.5 BİTKİ BESİN ELEMENTLERİ VE ÖNEMİ

İlk kez Arnon ve Stout (1939) tarafından önerilen besin elementi kelimesi, bitki gelişimi için mutlak gerekli elementleri tanımlamak amacıyla önerilmiş ve bir elementin bitkide mutlak gerekli olabilmesi için; bitkinin gelişme sürecince elementin eksikliği ile karşılaştığında vejetatif ve generatif organlarının gelişimini tamamlamaması gerekir. Elementin eksikliğinde bitkideki belirtiler, yalnızca eksik olan

elementin temini ile önlenmeli ya da ortadan kalkmalıdır. Bitki gelişiminde elementin besin maddesi olarak direkt ve kendine has bir etkisi olmalı ve bu etki gelişme ortamına uygun düşmeyen bazı mikrobiyolojik, kimyasal koşulları gidermek veya bir enzimatik sistemde görev yapmak şeklinde olamamalıdır (Taiz ve Zaiger 2015).

Genel olarak bitki besin elementlerinden söz edildiğinde; ışık enerjisi (güneş ya da sun'i ışık) vasıtasıyla meydana gelen fotosentez neticesinde, ışığın fiziksel enerjisinin kimyasal enerji şeklinde depolandığı organik maddenin üretiminde kullanılan ve bitkilerce az ya da çok absorbe edilen kimyasal elementler anlaşılmaktadır. Bitki, besin elementlerini kullanarak düşük enerjisi olan CO₂ ve H₂O bileşiklerini insan ve hayvanların besin maddesi olan, hem de endüstri ham maddesini teşkil eden organik maddeye çevirirler (Kacar ve Katkat 2007). Fotosentez sonucu organik maddeler oluşturmakta ve çoğu metabolik olayda önemli görevlerde kullanılmaktadırlar. Bitkilerde mevcut olan besin elementi içeriklerinin bilinmesi çok önemlidir. Bitkilerin tarafından kullanılan besin elementlerini, miktara göre makro ve mikro besin elementleri halinde sınıflandırmak mümkündür. Makro besin elementleri; azot (N), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum (K), fosfor (P) ve kükürt (S)'dür (Kacar ve Katkat 2007, Çolak 2014).

Bitkilerce alınan mikro besin maddelerine makro besin elementlerine oranla daha az gereksinim duyulur. Mikro besin elementleri ise; demir (Fe), bakır (Cu), bor (B), mangan (Mn), çinko (Zn) ve molibden (Mo)'dir (Tucker 1999, Kacar ve Katkat 2007). Bergmann (1992), bitki gelişimi için gerekli olan besin elementlerini sınıflandırmış ve bu sınıflandırmada mikro besin elementi olarak Al'a da yer vermiştir. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalarla ile birlikte uzun süredir zehirli olmadığı düşünülen Al'un zararları ortaya çıkmış ve Al toksisitesinin küresel bir sorun olduğunun farkına varılmıştır (Ozyigit ve diğ. 2013, Dogan ve diğ. 2014, Vardar ve diğ. 2016). Bütün bu besin elementleri arasındaki ilişki bir elementin bir diğer elementin alımını yükseltmesi ya da inhibe etmesi açısından oldukça önemlidir. Bitki besin elementleri arasında bulunan dengenin zarar görmesi kimyasal bir strese sebep olabilir (Yasar ve diğ. 2012). Tablo 2.1'de yüksek bitkilerin büyük çoğunluğunun gereksinim duyduğu besin elementleri yer almaktadır.

Tablo 2.1. Bitki besin elementleri (Epstein 1972, 1999).

Element	Kimyasal Sembolü	Kuru maddedeki konsantrasyonu (% veya ppm) ¹	Molibdene göre nisbi atom sayısı
Sudan veya Karbondioksitten elde edilenler			
Hidrojen	H	6	60 000 000
Karbon	C	45	40 000 000
Oksijen	O	45	30 000 000
Topraktan elde edilenler			
<i>Makro besin elementleri</i>			
Azot	N	1,5	1 000 000
Potasyum	K	1,0	250 000
Kalsiyum	Ca	0,5	125 000
Magnezyum	Mg	0,2	80 000
Fosfor	P	0,2	60 000
Sülfür	S	0,1	30 000
Silisyum	Si	0,1	30 000
<i>Mikro besin elementleri</i>			
Klor	Cl	100	3 000
Demir	Fe	100	2 000
Bor	B	20	2 000
Mangan	Mn	50	1 000
Sodyum	Na	10	400
Çinko	Zn	20	300
Bakır	Cu	6	100
Nikel	Ni	0,1	2
Molibden	Mo	0,1	1

Bu çalışmada, Al'un *B. daigremontianum* bitkisinde besin elementlerinin alım ve taşınmasına ne gibi etkilerinin olduğu araştırılmıştır. Araştırılan besin elementleri; Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Mn ve Zn olup bu besin elementlerinin bitkideki görevleri ve eksiklikleri halinde bitkilerde meydana gelen fizyolojik ve genotoksik değişiklikler alt başlıklar halinde açıklanmıştır.

¹ Makro besin elementlerinin değerleri yüzde olarak, mikro besin elementlerini değerleri ise milyonda bir kısım (ppm) olarak gösterilmiştir.

2.5.1 Kalsiyum

Bitkiler kalsiyumu (Ca) topraktan Ca iyonları halinde alır. Ca meristematik ve farklılaşmış dokular için gereklidir (Resh 2001). Ca hücre duvarının bir bileşeni olup, hücre duvar yapısını düzenleyen bir besin maddesidir. Ayrıca, kök uçları ve büyüme bölgeleri ile ilişkilendirilmektedir. Ca bitkiye elastiklik katar ve hücre duvarının genişlemesini sağlar ki bu durum büyüme bölgelerinin sert ve kırılabilir olmasının önüne geçer. Bitkilerde immobil formda bulunur ve büyüme dönemi boyunca yaşlı dokularda kalır (Tucker 1999, McCauley 2011). Bundan dolayı, Ca hücre duvarı ve bitkinin yapısı açısından oldukça gerekli bir makro besin elementidir (White ve Broadley 2003). Ca; gövdenin uzamasını, sürgün, kök ve damarların gelişmesini sağlar. Ayrıca, yaprakların uzun vadede dayanıklı kalmasını ve sonuç olarak fotosentezin sürekliliğini temin etmekle birlikte azot metabolizmasında ve karbonhidratların taşınımında görev yapmaktadırlar (Hepler 2005). Bitkide Ca'un bulunmaması hücre üretimini ve gelişiminin önüne geçilmesine sebebiyet verir. Ca eksikliği genellikle toprakta yeterli kirecin olmayışı sonucu ortaya çıkmaktadır (Tucker 1999, Resh 2001, Matschi ve diğ. 2013).

Ca eksikliğinin belirtileri; yaprakların, gövdelerin, tomurcukların ve köklerin meristem bölgelerinde gözlenir. İlk etkilenen genç yapraklar olup, genellikle yapraklarda deformasyon ve klorozise sebep olmaktadır. Ca'un şiddetli eksikliğinde ise yapraklarda nekrozlar da görülmektedir. Ayrıca, Ca bitkinin dış stres faktörlerini algılamasını ve bu sayede savunma sisteminin çalışmasına neden olmaktadır. (Tucker 1999, Navarro ve diğ. 2000, Türkmen ve diğ. 2002, Parida ve Das 2005, Tuna ve diğ. 2007, Akat ve Özzambak 2013, Acharya ve diğ. 2013).

2.5.2 Demir

Demir (Fe), dünyada oldukça fazla bulunsa da, hayli kararlı olduğundan suda çözünmez. Bu nedenle bitkiler Fe'i yapılarında katmak için türlü yöntemler geliştirmişlerdir (Walker ve Connolly 2008, Palmer ve Guerinet 2009, Long ve diğ. 2010). Fe, bitkilerde hayli önemli fizyolojik görevlere sahip olup, çok sayıda biyokimyasal reaksiyonu katalize eden enzimleri aktif hale getiren elementtir (Kacar ve Katkat 2007, Curie ve Briat 2003, Vatansever ve diğ. 2015). Bitkide özellikle fotosentez ve solunumla ilgili reaksiyonlarda önemli rol oynar (McCauley 2011). Bitkide mobil bir

element olmayıp, yaşlı yapraklardan genç yapraklara taşınmamaktadır. Bundan dolayı, eksiklik semptomları ilk olarak genç yapraklarda, özellikle de son çıkan yapraklarda görülmekte ve eksikliğin devamında yaşlı yapraklarda bu durum gözlenmektedir (Kacar ve Katkat 2007). Fe eksikliği klorofil üretimini azaltır ve interveniyal klorozis olarak bilinen ve yaprak damarları arasında kalan bölgenin sararması ile karakterize edilen bir klorozis çeşidine neden olur. Bitkide eksikliği artarsa yaprağın bütününde renk beyazımsı-yeşil halini alır ve ilerleyen aşamalarda bu durum nekrozis ile sonuçlanır. Ayrıca Fe eksikliği neticesinde bitki büyümesi yavaşlar (McCauley 2011). Fe, protein sentezinde oldukça önemli bir elementtir. Yeteri kadar Fe içermeyen bitkilerde protein miktarının azaldığı, ancak çözünebilir organik azotlu bileşiklerin arttığı ortaya konmuştur (Kacar ve Katkat 2007).

2.5.3 Bakır

Bitkiler Bakır'a (Cu) klorofil üretimi, solunum ve protein sentezi için ihtiyaç duymakta, ayrıca oksidaz enzim aktivasyonunda ve karbonhidrat metabolizmasında etkili görev almaktadır (Boşgelmez ve diğ. 2001, McCauley 2011, Vatansever 2016b). Bunun yanında Cu; bitki, hayvan ve insan olmak üzere tüm canlılar için temel bir elementtir. Özellikle bitkinin kök dokularında akümüle olmaya meyilli olup, bunun çok azı gövdeye iletilir (Kartal ve diğ. 2004); bununla beraber eser miktarları bitkilere gereklidir. Cu eksikliğinde, ilk olarak genç yapraklarda klorozis görülür; yine bodur büyüme, geç olgunlaşma, yatma ve bazı durumlarda melanozis eksiklik semptomları arasındadır. Ayrıca eksikliği halinde tahıllarda mahsul üretimi oldukça zayıftır (McCauley 2011). Eksikliğin aşırı hallerinde genç yaprakların rengi solgun sarıya döner ve genç yapraklar olgunlaşmadan dökülür. Bitkide Cu fazlalığı halinde nekrozis görülür ve büyüme engellenir (Marschner 1995, Tucker 1999, Clemens 2001). Cu'nun yüksek konsantrasyonlarında bitkide; kök kütikulası kalınlaşır, köklerde büyüme kısıtlanır, yan köklerin üretiminde düşme ve koyu renge sahip lekeler meydana gelir (Kartal ve diğ. 2004).

2.5.4 Potasyum

Potasyum (K), toprakta K^+ formunda bulunmakta olup, bitkilerin topraktan absorblayabildiği formdur. K; enzim aktivasyonunda, fotosentezde, osmotik potansiyelin ayarlanmasında, stomaların açılıp-kapanma mekanizmasında, protein

sentezinde, şeker taşınımında, hücre bölünmesinde ve bitki besin elementlerinin taşınımında görev alır (Resh 2001, Mengel ve Kirkby 2001, Kacar ve Katkat 2007). Belirli enzimlerde katalizör ya da aktivatör olarak rol oynar. Bitkide sağlıklı kök gelişimine yardım eder ve bütün bitki yapısının canlılığında ve sağlıklı gelişiminde rol oynar. Organik tuz taşınımına ve depolanmasına katılır. K, stomalardaki bekçi hücrelerinin turgor basıncını kontrolünde kritik role sahiptir. Ayrıca, floem boyunca magnezyumun ve fosfatazın translokasyonunu artırır (Resh 2001). Bitkiler suyu dengeli kullanmak ve yüksek üretim için yeterli K iyonuna ihtiyaç duymaktadır. Bunun yanında, K iyonu bitki kök yapısı tarafından suyun absorbe edilmesini ve ksileme iletilmesini sağlar (Fırat 1998).

K, bitkinin soğuk, don, kuraklık toleransını, azotun etkisini, zararlı ve hastalıklara karşı dayanıklılığı, meyvenin dayanma gücünü, meyvedeki şeker, yağ ve nişasta içeriğini artırır (Tucker 1999). Mahsulünden gıda ve yem olarak faydalanılan bitkilerde protein değerini arttırmak amacıyla K'dan faydalanılır. (Kacar ve Katkat 2007).

K eksikliği aniden görülebilir belirtilerle kendini göstermez. Başlangıçta sadece büyüme oranında azalma, sonraki aşamalarda nekrosiz ve klorosiz vardır (Mengel ve Kirkby 2001). Daha sonra enzim reaksiyonları inhibe olur ve bu durum zayıf büyümeye, zayıf kök yapısına, zayıf gövde yapısına ve kuraklık, don, fungal saldırılara ve/veya tuzluluğa karşı toleransın azalmasına neden olur. Stomalar düzgün çalışmaz, azalan transpirasyon ve gaz değişiminden ötürü stomalar ışıktan açılmaz. K eksikliğine maruz kalmış yaşlı yapraklar lokalize olmuş benekler ya da klorotik alanlar ile kenarlarda yanmalar gösterir. Bir diğer belirti ise eksiklik halinde gövdenin zayıf hale gelmesine, köklerin kötü biçimde etkilenmesine bundan ötürü yatma olarak isimlendirilen bitkinin kolaylıkla yere devrilmesi olarak karakterize edilen duruma sebebiyet verir (Jacobsen ve Jasper 1991, Aybak 2005). K genellikle aşırı miktarlarda absorbe edilmez. Ancak, yüksek miktarlarda K toksik olup; Ca, Fe, Mg, Mn ve Zn eksikliklerine neden olabilir (Resh 2001).

2.5.5 Magnezyum

Mg toprakta iyonik formu olan Mg^{++} halinde bulunup bitkiler için hayli önemli bir makro besin elementidir. ATP üretimi için önemli bir kofaktördür. Ayrıca karbonhidrat metabolizması için temel bir besin elementi olup, klorofilin yapısında bulunur. Diğer

temel elementlerin alımını düzenler ve bütün bitki boyunca fosfat bileşiklerinin taşıyıcısı olarak çalışır. Karbonhidratların translokasyonuna kolaylık sağlar ve yağların üretimini artırır. Mg aynı zamanda fotosentezde, solunumda, DNA ve RNA sentezinde gerekli enzimleri aktive eder (Tucker 1999, Resh 2001, Elmlund ve diğ. 2008, Müller ve Hansson 2009, Kacar ve Katkat 2007).

Mg mobil bir elementtir, bu yüzden eksiklik belirtileri ilk olarak bitkinin alt kısımlarında ortaya çıkar. Alt yapraklarda daha az klorofil olduğundan interveniyal klorosiz ve yaprak kenarlarının sarıya ya da kırmızimsı-mor rengine dönerken orta damar yeşil kalır ve nihayetinde nekrozis görülür. Eksiklik arttığında, belirtiler bütün bitkiye yayılır. Toksikite belirtileri hakkında oldukça az bilgi mevcuttur (Jacobsen ve Jasper 1991, Tucker 1999, Resh 2001).

2.5.6 Sodyum

Bitkiler Sodyum (Na)' u, topraktan Na⁺ iyonları halinde pasif olarak almakta, ksilem ve floem vasıtasıyla taşımaktadır. Na, mobil bir element olup bitkide herhangi bir spesifik depolama yeri yoktur, bitkinin bütün kısımlarında bulunmaktadır. Yaşam için temel olan tuzun (NaCl, sodyum klorür) bileşenini teşkil etmektedir (Devraj ve diğ. 2013). Na, kimyasal bakımdan K'a büyük benzerlik göstermekte; yulaf, şekerpancarı, havuç, şalgam, lahana, tahıl ve pamuk gibi bitkilerde kısmen potasyumun işlevlerini üzerine almaktadır (Kacar ve Katkat 2007, Wakeel ve diğ. 2011). Ayrıca, genellikle aralarındaki rekabetten ötürü Na, K eksikliğine sebebiyet verebilmektedir. (Kaya ve diğ. 2002). Eksikliği, bitkide osmoregülasyona zarar vermekte, enzimlerin aktive olmasına ket vurmaktadır. Sonuç olarak, metabolizma bu durumdan olumsuz şekilde etkilenmektedir. Bitkiye dışardan ek olarak K verilerek, streten etkilenme oranı düşürülür (Cramer 2002). Toprakta aşırı oranda Na varlığı bitkinin topraktan su absorbe etmesi ve suyu taşımamasını inhibe etmektedir (Fırat 1998).

2.5.7 Çinko

Zn bir enzim aktivatörü olup; protein, hormon (oksin gibi), DNA/RNA sentezi ve metabolizmasında ve ribozom kompleksi stabilitesinde iş görür. Zn bitki bünyesinde bazı enzimlerin aktivasyonunu sağlar. Örneğin, fotosentezde suyun parçalanma tepkimesini katalize eden karbonik anhidraz enziminin ativasyonu özel olarak, Zn⁺² tarafından gerçekleşir. RNA polimeraz enzimi Zn içermekte olup, elementin

eksikliğinde inaktive olur; bu yüzden RNA sentezinde azalma meydana gelir. Zn azot metabolizmasında da etkilidir, eksikliği neticesinde protein sentezinde düşüş meydana gelir ve sonuç olarak bitkide aminoasit birikimine neden olur. Ayrıca Zn nişasta oluşumu ve tohum olgunlaşmasında da rol oynar (Boşgelmez ve diğ. 2001, Vatansever ve diğ. 2016a).

Eksikliğin ilk belirtisi genç yapraklarda damarlar arası klorozisin görülmesidir. Ardından sürgün büyümesi yavaşlar ve sürgünler ölür. Meyve ağaçlarında yaprak oluşumu olumsuz yönde etkilenir ve tomurcuklar azalır. Eksikliğe maruz kalmış bitki kısımlar rozet benzeri görünüm alır (Tucker 1999, Resh 2001, Boşgelmez ve diğ. 2001). Ayrıca, genç ve yaşlı yaprakların her ikisinde de damarlar arası klorozis ya da nekrozis görülür. Toksikite belirtileri ise yaprak ve kök büyümesinde azalma şeklindedir. (Resh 2001)

2.5.8 Mangan

Mn bitkiler tarafından aktif olarak Mn iyonları (Mn^{++}) halinde alınır. En iyi şekilde absorbe edildiği toprak pH'sı 6,5'dan az olan asidik toprak karakteridir. Mn nitrojen asimilasyonunda aktivatör bir enzim olarak rol alır. Klorofil üretimi için temel bir elementtir. Mn karbonhidrat redüksiyonunda enzim aktivasyonun sağlayan bir katalizatörü olup RNA/DNA sentezinde yapıya katılır. Genel olarak fotosentez, solunum ve nitrojen metabolizması ile ilgili çok sayıda enzimi aktive etmektedir. Mn'nın bilinen en önemli fonksiyonu fotosentez süresince suyu parçalayarak oksijeni serbest hale getirmek ve oksijen üretimine katmaktır (Vatansever ve diğ. 2016c). Bitkide düşük Mn, yapraklarda klorofil içeriğinin azalmasında ötürü rengin sarıya dönmesine (klorozis) sebebiyet verir. Organik topraklar sıklıkla düşükten orta dereceye kadar bir Mn içeriğine sahip olup, eksikliği toprağın doğasından ötürü nadiren meydana gelmektedir. Mn nispeten harketsizdir. Bu yüzden belirtiler ilk olarak geç yapraklarda görülür. Aşırı durumlarda nekrotik noktalar, yaprak dökülmesi meydana gelebilir. Çiçek oluşumu azalır ya da durur ve büyüme düzensizdir. Kloroplastlar Mn eksikliği karşısında en hassas bitki hücre organelleridir. Mn fazla alındığında ise bitkide toksik etkiler meydana gelmektedir. Yaşlı yapraklarda kahverengi noktalar oluşur. Bazen klorosiz ve dengesiz klorofil dağılımı bir göstergedir. (Tucker 1999, Resh 2001).

2.6 ICP-OES (INDUCTIVELY COUPLED PLASMA OPTICAL EMISSION SPECTROMETRY- İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA OPTİK EMİSYON SPEKTROSKOPİSİ)

Spektroskopi, ışın ve maddenin karşılıklı olarak birbirini etkilemesini konu alır. Spektrometre ise bilhassa çeşitli dedektörler vasıtasıyla elektromanyetik ışın şiddetinin hesaplanması anlamındadır (Eroğlu ve Aksoy 2003). Temel halde bulunan bir maddenin atomları uyarıldığında uyarılmış enerji seviyesine çıkar. Bu enerji seviyesinde kısa süreliğine kalabilen uyarılmış haldeki atom kararsızdır. Emisyon spektrometresi, uyarılmış enerji seviyesine geçen atomların, daha az enerji seviyelerine geçişleri sırasında yaydıkları UV ve görünür bölge ışımalarının hesaplanması temeli üzerine kurulmuştur. Doğada bulunan elementlerin atom numaraları ve elektron sayıları farklılık arz ettiğinden, yaydıkları ışının dalga boyu ve enerji düzeyleride farklılık arz eder. Atomik emisyon spektroskopisi, atomları uyarmayı sağlayan enerji kaynağının türüne göre isimlendirilir. Eğer maddeyi atomlaştırmak ve uyarılmasını sağlamak için elektriksel boşalım ve plazma gibi yüksek güç kaynağından faydalanılıyorsa bu metod atomik emisyon spektroskopisi (AES) genel başlığı altında değerlendirilir. Oksijenin yüksek kısmi basıncı sebebiyle, alevden faydalanılan absorpsiyon ve emisyon spektroskopisi metodlarında, toprak alkali elementlerinin, az bulunur toprak elementlerinin ve bozunmayan oksit ve hidroksit radikaller oluşturan elementlerin (bor, silisyum gibi) analizindeki hassasiyet düşüktür. Ancak, plazma argon gazından oluşmuş ise böyle bir problem olmaz. ICP metoduyla, aynı anda analize imkân veren bütün elementlerin kalitatif ve kantitatif analizleri gerçekleştirilebilir (Yıldız 1993, Hou ve Jones 2000, Skoog ve diğ. 2000).

ICP metodunda plazma gazı olarak argon (Ar)'dan faydalanılır; bu yüzden indüktif eşleşmiş plazmada iyonlaşmış Ar ve elektron var olduğunu söylemek mümkündür. İç içe geçmiş üç kuvars tüp (torch) indüktif eşleşmiş plazma kaynağını oluşturmaktadır. En dış ve dıştaki borunun hemen altında bulunan borudan argon helezonik olarak geçmekte ve borunun uç kısmına gelmektedir. Ardından Ar, genellikle içeriği bakırdan su soğutmalı indüksiyon bobininin sardığı bölgeye varır. Plazma elektromanyetik olarak, Ar gazının indüksiyon sarımlarında bir radyo frekans jeneratörünün etkileşmesi ile elde edilir. Elektron kaynağı sayesinde Ar gazı akımı sırasında, ilk elektronlar oluşturularak Ar atomları ile çarpışırlar. Böylelikle Ar iyonları sayesinde daha fazla sayıda elektornun

meydana gelmesi sağlanır. Sonuçta elektronlar ve iyonlar aynı tarafa doğru harekete geçer ve ortamın bu akmaya karşı gösterdiği direnç artar, sıcaklık ise 10000 °K'e (+273°C) kadar yükselir. Bu güçten ötürü hamlacın uç kısmında manyetik bir bölge oluşur. Plazmanın içine giren örnek çözeltisi, atomlaşır ve uyarılır. Plazmada oluşan iyon ve atomların atom emisyonu farklı yollarla ölçülebilmektedir.

ICP-OES cihazları; sıraya göre ölçüm yapanlar (ing: sequential) ve eş zamanlı ölçüm yapanlar (ing: simultaneous) olarak iki kısımda incelenebilir. ICP yönteminde yüksek sıcaklıklara erişilebilmesi, plazma sıcaklığının bütün kısımlarda homojen olması ve bundan ötürü self absorpsiyon ve self dönüşüm etkileriyle karşılaşılması, örnek çözeltinin plazmada bulunduğu zaman aralığının fazla olması ve atomlaştırılması ve uyarma işlemlerinin durağan bir kimyasal çevrede meydana getirilmesi, yöntemin avantajlarıdır (Eroğlu ve Aksoy 2003).

2.7 BRYOPHYLLUM DAIGREMONTIANUM (RAYM.-HAMET & PERRIER) A.BERGER TÜRÜNÜN TAKSONOMİK ÖZELLİKLERİ

Alem	: Plantae
Bölüm	: Spermatopyhta
Altbölüm	: Angiospermae
Sınıf	: Dicotyledoneae / Magnoliopsida
Takım	: Rosales
Familiya	: Crassulaceae
Cins	: <i>Bryophyllum</i>
Tür	: <i>Bryophyllum daigremontianum</i> (Raym.-Hamet & Perrier) A.Berger (http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2684561).

Bryophyllum cinsi Crassulaceae familyasına ait olup, yaklaşık olarak 125 türe sahiptir. Başlıca Afrikada, Madagaskar, Brezilya ve birkaç tropikal bölgede görülmektedir (Abdel-Raouf 2012, Ozyigit ve diğ. 2016). Kökeni Madagaskar olan bitkinin ülkemizdeki adı gözyaşı bitkisi olup sukkulent bir bitkidir. Sukkulent bitkiler, kalınlaşmış gövde ve su ve asit depolamak üzere modifiye olmuş yapraklar ile karakterize edilmektedir (Kluge ve Ting 1978). Yapraklar 15-20 cm uzunluğuna, 3 cm

genişliğine erişebilmektedir. Bitki gövde korteksi etli ve iyi gelişmiştir (Metcalf ve Chalk 1950). *B. daigremontianum* bitkisi, kurak ortamlara uyum sağlamış bir CAM (Crassulacean asit metabolizması) bitkisidir (Alabi ve diğ. 2005, Griffiths ve diğ. 2008, Betschart ve diğ. 2013). Erişkin bitkiler gövdeleri üzerinden 10-15 cm toprağın üzerinde yan kökler oluştururlar. Çiçeklenme her yıl olmaz, bir kaç yılda bir ana gövdenin üzerinde pembe renkli çiçekler açar. *B. daigremontianum* yaprağının kenarlarında meydana gelen yavru bitkilerden genetik özellikleri ana bitki ile aynı bitkiler (klonlar) oluşur. Daha sonra ana bitkiden fiziksel etkiler ile ya da kendiliğinden ayrılan ve toprağa düşen bu bitkiciklerden yeni gözyaşı bitkileri gelişir. Bitkinin bütün kısımları zehirli olup, özellikle küçük hayvanlar için öldürücü olabilmektedir. Araştırmacılar bitkide sterol (Kalinowska ve diğ. 1990) ve bufadienolit (Wagner ve diğ. 1985, 1986, Capon ve diğ. 1986) varlığını bildirmişlerdir. *B. daigremontianum* bitkisinin *Agrobacterium* enfeksiyonuna hassas olduğu bilinmekle beraber Ti-plasmit mutasyonları çalışmalarında kullanılmaktadır (Aida ve Shibata 1996). Ayrıca *B. daigremontianum* Endonezya halk tıbbında; enfeksiyon, romatizma, öksürük, humma ve iltihap tedavisinde kullanılmaktadır. Bazı *Bryophyllum* cinslerinin de geleneksel halk tıbbında kullanıldığı rapor edilmiştir. Örneğin; *B. pinnatum* 1970'den bu yana erken doğumun önüne geçmek ve yavrunun ana karnındaki normal süreyi tamamlamasını sağlamak amacıyla tokolitik bir ajan olarak kullanılmaktadır (Hassauer ve diğ. 1985); ayrıca bu bitkinin aşırı aktif mesane sendromu (Overactive Bladder Syndrome) hastalarında tedavi edici olduğu insanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucu ortaya konmuştur (Fürer ve diğ. 2014, Sharma ve diğ. 2014).

2.8 GENOTOKSİSİTE

Dünya genelinde son zamanlarda kullanılan toksik maddelerin miktarında karşı konulamaz bir yükseliş meydana gelmiştir. Bu nedenle insan yapımı toksik maddelerin doğadaki artışı habitat yıkımına yeni bir boyut kazandırmıştır. Genetik toksikoloji, toksikolojinin bir alt dalı olup; canlının olağan biyolojik işleyişi esnasında ya da fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenlere bağlı olarak hücrelerin DNA'larında oluşan değişimleri inceleyen bilim dalıdır. Ayrıca, çeşitli ajanların sebebiyet verdiği genetik zararın değerlendirilmesi konusunda önemli bir yere sahiptir (Choy 2001, Young 2002, Mortelmans ve Rupa 2004, Vural 2005).

Genetik toksikoloji, ilk olarak 1927'de *Drosophila*'da mutasyon oranlarının X-ışınları ile normalden 15000 defa daha çok arttığını saptayan Muller'in (1927) çalışmalarıyla başlamış, günümüzde gelişen teknolojiyle yükselen risk ve analiz metotlarına bağlı olarak önemli araştırma kollarından biri olmuştur.

Genel bir terim olan genetik toksisite veya genotoksisite; DNA, kromozom ve çekirdek yapısında oluşan gen mutasyonları, kromozom anomalileri, DNA eklentileri, DNA kırıkları, klastojenite ve anöploidide gibi hasarları içine almaktadır. Genotoksik etki, DNA veya genomun kopyasının çıkarılmasına yarayan enzimlerle etkileşen ve mutasyona sebebiyet veren genotoksik maddelerin DNA'da hasar oluşturması ya da bazı değişimlere neden olması şeklinde tarif edilmektedir. (Choy 2001, Young 2002, Mortelmans ve Rupa 2004, Zeiger 2004).

DNA molekülünde mutasyonlara yol açan ajanlar, DNA üzerindeki tesirlerini ya doğrudan olarak, ya da genomda bulunan bilgilere dayanarak sentezlenen proteinlere bağlanmak suretiyle dolaylı olarak gösterirler. DNA'nın hasarında rol oynayan kilit moleküllerde ve yolaklardaki bozulmalar ise yaşlanma, kısırlık, doku hasarı, kanser ve bazı genetik ve multifaktoriyel hastalıklara neden olmaktadır (Kirsch-Volders ve diğ. 2003, Mateuca ve diğ. 2006). Genotoksik maddeler ayrıca, hücre içerisinde devam eden onarım sistemlerinde bozulmalara sebep olarak, kendiliğinden meydana gelen DNA hasarlarının sıklığını arttırabilirler (Easton 2016).

2.9 PZR (POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU)'A DAYALI DNA BELİRTEÇLERİ

PZR *in vitro* şartlarda belirli bir DNA bölgesinin geri (reverse) ve ileri (forward) primerlerden faydalanılarak enzimatik olarak çoğaltılması olarak tanımlanabilir. Kary Mullis tarafından geliştirilen PZR, moleküler biyoloji alanının hızlı bir şekilde gelişmesinde önemli paya sahiptir (Mullis ve diğ. 1987, Steffan ve Atlas 1991). PZR tekniği; DNA baz dizilişlerinin saptanması, genetik akrabalık, genetik yapısı değiştirilmiş bitki veya mikroorganizmaların belirlenmesi, adli tıp vakalarının tespiti ve moleküler klonlamada kullanılmaktadır.

PZR, çalışma prensibi açısından üç parçadan meydana gelen reaksiyon dizisinin ard arda tekrar edilmesi esasına dayanır:

1. Sıcaklıkla birlikte DNA'nın çift iplikçığının birbirinden ayrılması.
2. Oluşturulmuş tek zincirli DNA molekülündeki hedef bölgelere, oligonükleotid primerlerin bağlanması.
3. DNA polimeraz enziminin dNTP'lerin varlığında primerleri kullanarak hedef DNA bölgesinin kopyalanması

PZR cihazı içinde *in vitro* koşullarda gerçekleştirilmekte olan PZR tekniğinin gerekli reaksiyon karışımı; kalıp DNA'yı, DNA polimeraz enzimini, nükleotid karışımını (dNTPs), tampon çözeltisini, bir ya da bir çift oligonükleotid primerini, ve MgCl₂'ü içerir (Arcade ve diğ. 2000, Patzak 2001, Goulao ve diğ. 2001, Palombi ve Damiano 2002, Hormaza 2002, Martinez-Gomez ve diğ. 2003, Belaj ve diğ. 2003, Mignouna ve diğ. 2003, Kwon ve diğ. 2004, Schlotterer 2004, Rana ve Bhat 2004, Wang ve Wu 2013).

2.9.1 RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) Tekniği

Bu yöntem ilk olarak Williams ve arkadaşları tarafından rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA olarak tanımlanmış ve genetik polimorfizmi saptanmasında yeni bir yöntem olduğu ortaya konmuştur (Williams ve diğ. 1990, Welsh ve diğ. 1990). PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemini temel alan bu teknikte, rastgele olarak seçilen kısa oligonükleotid primerlerden faydalanılarak genomik DNA'daki belirlenen bölgeler çoğaltılır. Diğer bir deyişle, teknik DNA'nın gelişigüzel bir primerle çoğaltılması ile polimorfik bantların elde edilmesini temel alıp, PZR'da düşük bağlanma sıcaklığında çalıştırılmaktadır (Edel 1998). Bu yöntemde araştırılan genomun baz dizilimine dair önceden herhangi bir bilgiye gereksinim duyulmaz (Bowditch ve diğ. 1993). RAPD yönteminden faydalanılarak belirlenen DNA polimorfizmi; agaroz jelde RAPD bandının varlığı veya yokluğu halinde ortaya çıkmakta ve genomda meydana gelen inersiyon, delesyon ya da primerlenme parçalarındaki veya parçalar arasındaki nükleotid dizilim farkını göstermektedir. RAPD yönteminin filogenetik ve genetik uzaklık çalışmalarında tercihen kullanılması; primerlerin genomdaki çok sayıda bölgeyi rastgele çoğaltabilme gücünün olması ve çoğalan DNA kısımlarının genetik sınıflara has doğasının olmasından ötürüdür (Clark 1993, Morgan 1993, Scott 1992, Borowsky 1995). RAPD yönteminin güvenilir ve tekrarlanabilen bir yöntem olmasına etki eden çok sayıda farklı çoğaltma değişkeni bulunmaktadır. Bu değişkenlerden en önemlisi çalışılan DNA olup; MgCl₂, Taq DNA polimeraz, primerler, dNTP miktarları ve primer bağlanması RAPD

yöntemine etki eden diğer değişkenlerdir (Aydın 2004). Ayrıca, RAPD yönteminde bir primer kullanılması, çok az miktarda DNA ihtiyacı olması, aşırı kompleks cihazlara ihtiyaç duyulmaması ve pahalı bir yöntem olmaması genetik çalışmalarda fayda sağlamaktadır (Atienzar ve Jha 2006, Sürgün ve diğ. 2012, Birbilenler 2015, Devrim ve Kaya 2006).

2.9.2 ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) Tekniği

PCR'a dayalı bir teknik olan basit dizi tekrarları arası (ISSR) tekniği, zıt yönlere yerleşmiş özdeş iki mikrosatellit tekrar bölgesinin arasında bulunan çoğaltılabilir uzaklıktaki DNA bölgesinin amplifikasyonunu anlamına gelir. Genellikle bu yöntemde primer olarak 16-25 bç uzunluğundaki mikrosatellitlerden faydalanılmaktadır. Primer olarak faydalanılan mikrosatellitler iki, üç, dört veya beş nükleotitli olabilmektedir. Mikrosatellitlerdeki evrimsel değişim oranı diğer DNA tiplerine oranla hayli fazladır, yani bu dizilerde polimorfizmin meydana gelebilirliği daha yüksektir. ISSR'lardaki bu değişkenliğin kökeni kalıp DNA, kullanılan primerlerin doğası ya da tespit yöntemi seçeneklerinden bir ya da birkaçının kombinasyonu olabilir. ISSR-PZR basit, hızlı ve etkili bir tekniktir ve tekrarlanabilirliği yüksektir. Radyoaktivite kullanımını zorunlu değildir. Primerlerin ön dizi bilgisi gerektirmemesi, optimizasyonunun kolay olması ve uzun olmasından ötürü (16-25 bç) primerin doğru bölgeye yapışma olasılığının fazla olması avantajdır. Amplifiye edilmiş ürünler genelde 200-2000 bç uzunlukta olur ve hem poliakrilamid hem de agaroz jel elektroforezi ile ayırdedilebilmektedir (Reddy ve diğ. 2002). ISSR analizlerinin yüksek polimorfizm ve üretkenlik göstermesi taksonomi, genetik benzerlik ve gen haritalama araştırmalarında uygulanabilirlik sağlamanın yanı sıra, pek çok bitki türündeki filogenetik çalışmalarda; tür içi-türler arası ve populasyon içi-populasyonlar arası genetik varyasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Gupta ve diğ. 1994, Wang ve diğ. 2008, Carrodus ve diğ. 2009, Trindade ve diğ. 2012, Xu ve diğ. 2013, Shafiei-Astani ve diğ. 2015).

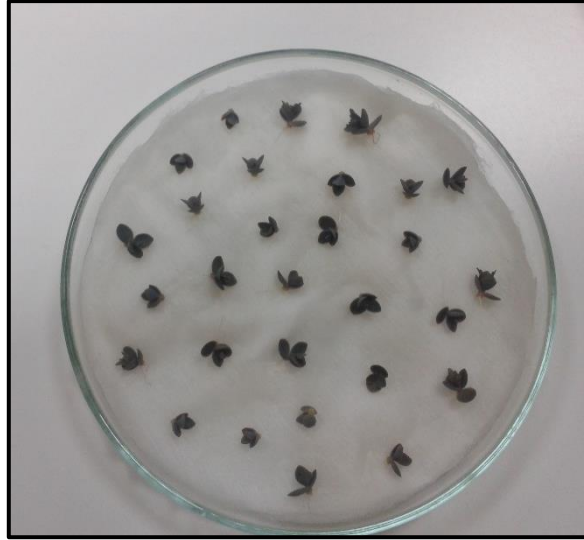
3. MATERYAL YÖNTEM

3.1 *IN VITRO* ORTAMDA *BRYOPHYLLUM DAIGREMONTIANUM* TÜRÜNÜN GELİŞİMİ

Bu çalışmada, tek bir ana bitkinin yaprakları kenarlarında gelişen yavru bitkiler (klonlar) çalışma materyali olarak kullanıldı (Şekil 3.1. ve Şekil 3.2.). Yavru bitkiler, ana bitkiden özenli bir şekilde izole edilip distile su ile 3 kez yıkandı ve kurutma kâğıtları arasında kurutuldu. Daha sonra önceden petri kabına uygun bir şekilde kesilip yerleştirilen ve nemlendirilen kurutma kâğıtlarına konup iki buçuk hafta boyunca gün aşırı olarak 20 ml Hoagland solüsyonu ile sulanmak suretiyle gelişmeye bırakıldılar (Hoagland ve Arnon 1950). Çalışmada kullanılan Hoagland solüsyonu Tablo 3.1'e göre hazırlanmıştır. Bütün yavru bitkiler; %55 \pm 5 nemlilikte, 23 \pm 2°C sıcaklıkta, 4000-4200 lux arası ışık şiddetine sahip bitki yetiştirme kabininde 16 saat gündüz ve 8 saat gece periyodunda geliştirildiler. Süre sonunda gelişmiş olan gelişen genç bitkilerden büyüklük olarak birbirine yakın olanlar seçildi ve toplamda 40 birey alınıp 164,5 g toprak (Gardol® marka) içeren 12 cm çaplı ve 20,5-21 g ağırlığındaki plastik saksılara aktarıldı.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan ana bitki.



Şekil 3.2. Ana bitkiden izole edilen ve gelişmeye bırakılan bitkicikler.

Tablo 3.1. Hoagland çözeltisinin hazırlanışı.

Mikroelementlerin Hazırlanışı	2,86 gr H_3BO_3 , 1,86 gr $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 0,22 gr $ZnCl_2$, 0,051 gr $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ve 0,12 gr $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 1 litre kadar distile suda çözünmesi sağlandı.
FeEDTA Stok Solüsyonu Hazırlanışı	5,22 gr EDTA (Etilen diamin tetra asetik asit) 53,6 ml 1N KOH içersinde çözülerek elde edilen yeni karışıma 4,98 gr $FeSO_4/H_2O$ eklenip distile su ile son hacim 200 ml'ye tamamlandı böylelikle FeEDTA stok solüsyonu hazırlandı.
Makroelementlerin Hazırlanışı	10,1 gr KNO_3 , 23,6 gr $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 24,646 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 8 gr NH_4NO_3 ve 13,6 gr KH_2PO_4 tartılıp distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak çözünmesi sağlandı. Böylelikle her bir bileşikten 1M ve 100 ml elde edilmiş oldu.
Hoagland Çözeltisinin Elde Edilmesi	Son olarak, 5 ml 1 M $Ca(NO_3)_2$, 2,5 ml 1 M KNO_3 , 1 ml 1 M $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 ml KH_2PO_4 ile 1 ml FeEDTA ve 1 ml mikro element sırasına dikkat edilelerak balon jojeye ilave edildi ve son hacim 1 litre distile suya tamamlandı. Böylelikle Hoagland çözeltisi hazırlanmış oldu.

Plastik saksılara aktarılan yavru bitkiler Hoagland solüsyonu ile üç hafta boyunca (ikinci yapraklar gelişinceye kadar), güneşli olarak (20ml) sulandı. Süre sonunda 40 birey 5 gruba ayrıldı. Her biri 8'er bireyden oluşan 5 deney grubu; 0 (kontrol), asit kontrol, 50, 100 ve 200 μM AlCl_3 içeren hoagland çözeltileri ile gün aşırı 2,5 ay boyunca sulandılar. Kontrol grubu bitkilerine deney sonuna kadar gün aşırı olacak şekilde Hoagland çözeltisi verildi. Bu süre sonunda kontrol grubu dışındaki diğer deney grubu bitkilerine sulamanın sonrasındaki gün toprağa püskürtülmek suretiyle sülfirik asit (%0,2) verildi. Böylelikle toprak yapısına asit karakter (pH:4,8) kazandırıldı. Çözelti, sülfirik asitten 2 ml alınıp son hacmin 1 litreye tamamlanmasıyla oluşturuldu. Belli konsantrasyonlarda AlCl_3 ve asit ile muamelenin sonucunda bitkiler hasat edildiler. Hasadın ardından fotosentetik pigmentler (klorofil *a*, klorofil *b*, total klorofil, klorofil *a/b* ve karotenoidler), total protein ve genotoksisite araştırmaları için yaprak örnekleri alüminyum folyoya sarılıp kilitli poşetler içerisine konarak -80°C dondurucuya kaldırıldı. Mineral besin elementlerinin (Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Mn ve Zn) kök, gövde, yaprak ve yavru bitkilerdeki miktarları ölçmek için alınan örnekler zarflar içerisine konarak $+80^\circ\text{C}$ 'de 48 saat etüvde bekletildi.

3.2 FOTOSENTETİK PİGMENTLER

3.2.1 Klorofil *a-b*, *a/b*, Total Klorofil ve Karotenoid Miktar Analizi

Toplam klorofil miktarının belirlenmesi için kontrol ve deney grubu bitkilerine ait örnekler saklandıkları -80°C 'deki derin dondurucudan alındı ve 0,5 g tartılıp falkon tüpüne kondu. Ardından üzerlerine 15ml %80'lik (hacim/hacim) soğuk aseton eklendi. Homojenizatör kullanılarak örnekler parçalandı. Parçalanmış numuneler (homojenat) 4000 Rpm'de ve $+4^\circ\text{C}$ 'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjün ardından süpernatantın hacmi ölçüldü ve süpernatantın içerdiği klorofil ve karotenoid miktarlarının saptabilmesi için 645, 663 ve 470 nm dalga boylarındaki spektrofotometrede absorbanslarına bakıldı. Örneklerin 1 litresindeki total klorofil mg cinsinden Arnon (1949) formülasyonuna göre hesap edildi (C: klorofil, A: absorbans, C_a : klorofil *a*, C_b : Klorofil *b*, C_{x+c} :Karotenoid).

Tablo 3.2. Fotosentetik pigment miktar hesaplaması.

$C_a = [12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}] \times [\text{ml}/1000]$
$C_b = [22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}] \times [\text{ml}/1000]$
$\text{Total C} = [20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}] \times [\text{ml}/1000]$
$C_{x+c} = [1000 \times A_{470} - 1,90 \times C_a - 63,14 \times C_b] / 214 \times [\text{ml}/1000]$

3.3 MİNERAL BESİN ELEMENTLERİ TAYİNİ AL VE BİRİKİMİ

B. daigremontianum bitkisinin kök, gövde yaprak ve yavru bitkilerinde meydana gelen Al akümülyasyonu ve buna bağlı olarak Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Mn ve Zn elementlerinin bitkideki oranları ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer) cihazı ve yöntemiyle hesaplandı. Bu alışmada, Perkin Elmer marka ICP-OES Optima 7000 DV kullanıldı (şekil 3.3).

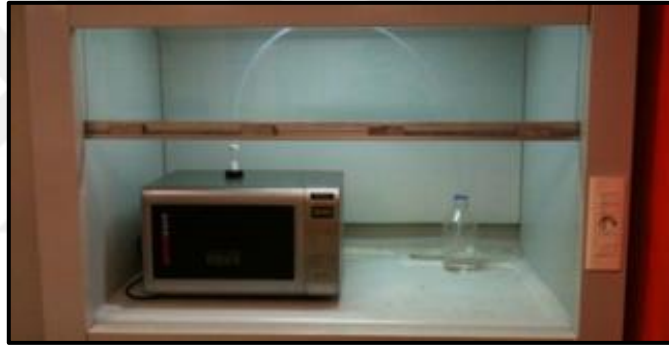


şekil 3.3. Perkin Elmer® ICP-OES Optima 7000 DV.

3.3.1 Bitki Besin elementleri ve Al miktar Analizi

Çalışmada kullanılan *B. daigremontianum* bitkisi kontrol, asit kontrol ve deney gruplarının yaprak, gövde ve köklerinin seçilen kısımları ayrıca yaprak üzerindeki yavru bitkiler hasat edildi. Daha sonra hasat edilen bitki kısımları çürüme ve kontaminasyonu önlemek için kurutma kağından yapılmış zarflara dikkatli bir şekilde yerleştirilerek, +80°C sıcaklıkta çalışan etüvde 48 saat boyunca kurutuldular. Kurutma işleminin ardından örnekler öğütücü ile öğütölüp 1,5 mm'lik elekten geçirildiler. Her işlemden önce, öğütmede kullanılan aparatlar ve elek olası bir kontaminasyonun önüne geçmek amacıyla %96'lık etil alkol ile temizlendi ve ardından distile su ile yıkanarak kurulandı.

Kurutulan örnekler, numaralandırılarak zarf haline getirilmiş kurutma kâğıtları içerisine yerleştirildiler. Al ve mineral besin elementlerinin tayini amacıyla yapılan ön analiz aşamaları, Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Moleküler Biyolojisi ve Biyoteknolojisi Araştırma Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Kök, gövde ve yaprak ve yavru bitki örneklerinin ağırlıkları hassas terazide ölçülerek çözme düzeneğindeki yüksek sıcaklığa ve basınca karşı dayanıklı teflon hücrelere yerleştirildi. Ardından tartılan örneklerin üzerine 8 ml HNO₃ eklenip, ERGHOF® marka MWS-2 model mikrodalga fırında (Şekil 3.4) aşamalı bir şekilde önce 145 derece 5 dakika, 165 derece 5 dakika ve en son 175 derece 20 dakika ile çözme işlemi gerçekleştirildi. Hücrelerin mikrodalgadan çıkartılmasının ardından oda sıcaklığındaki su banyosunda 20 dakika süreyle soğuması sağlandı. Hücreler önce ultrasaf su ile yıkandı ardından 50 ml'lik falkon tüplere 50 ml'nin tamamı doluncaya dek süzmek suretiyle transfer edildi.



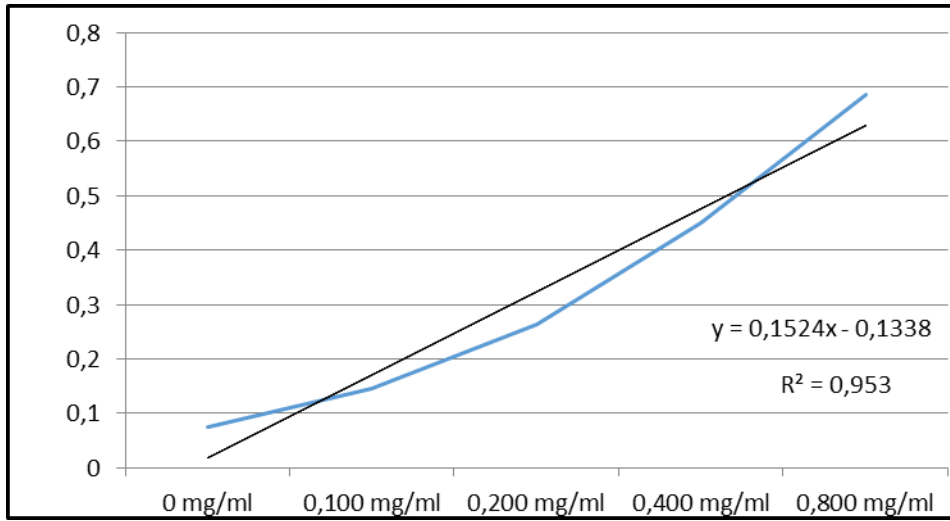
Şekil 3.4. ERGHOF® MWS-2 mikrodalga fırın.

Merck marka 1000 ppm'lik multi elementten yararlanılarak hazırlanan standart çözeltiler ile element tayin işlemleri gerçekleştirildi. Bu amaçla laboratuvar cihazı olarak, Perkin Elmer marka ICP-OES Optima 7000 DV kullanıldı. Analizler Bahçeşehir Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Al, Fe, Mg, Ca, Cu, Na, K, Mn ve Zn elementlerinin tayini gerçekleştirilirken yararlanılan dalga boyları; Al: 396,153 / Fe: 238,204 / Mg: 285,213 / Mn: 257,610 / Ca:317,933 / Zn: 206,200 / Cu: 327,393 / Na: 589,592 ve K: 766,490'dır.

3.4 TOTAL PROTEİN MİKTAR TAYİNİ

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına ait bitki yaprak örneklerine ait total protein miktar tayini Bradford (1976)'a göre hesaplandı. Çalışma için, bütün gruplara ait yapraklardan 0,34 gr örnek tartılarak falkon tüplere aktarıldı. Örneğe 1 ml 0,1 M pH 7,0 ekstraksiyon (fosfat) tamponu eklenip, buza gömüldü. Ardından homojenizatör vasıtasıyla örnekler ekstre edildi. Ekstraksiyon işleminden sonra homojenat 2 ml'lik plastik ependorf tüplerine aktarıldı. Örneklerin olduğu tüpler 12000 rpm'de +4°C'de 20 dakika santrifüj edildi. Proteine kaynaklık eden süpernatant yeni ependorf tüplerine aktararak ölçüm yapılıncaya kadar buza gömüldü. Çalışmada kör olarak kullanılan Bradford reaktifi Tablo 3.3'e göre hazırlanmıştır. Kontrol, asit kontrol ve deney gruplarındaki total protein miktarlarının saptanabilmesi için 5 ml Bradford reaktifine yaprakların ekstraksiyonundan sağlanan süpernatantlardan 100 µl kadar örnek ilave edildi. Vorteksleme sonrasında, örnek ve reaktif arasındaki tepkimenin meydana gelebilmesi için tüpler 5 dakika karanlıkta tutuldu ve karışımlar spektrofotometrik olarak köre karşı 595 nm'de okundu. Okunma işlemi sonrası sağlanan absorbanslar, total protein miktarının saptanabilmesi amacıyla standart grafiğinde yerlerine yazıldı (Şekil 3.5). Her ölçüm en az 3 defa yineleni.



Şekil 3.5. Protein standart grafiği.

Tablo 3.3. Fosfat tamponu ve Bradford reaktifinin hazırlanışı.

Çözelti Adı	Hazırlanışı
Ekstraksiyon (fosfat) Tamponu	<p>Stok 1: 0,2 M NaH₂PO₄.2H₂O</p> <p>Stok 2: 0,2 M Na₂HPO₄.7H₂O</p> <p>Stok 1'dan 28 ml ve stok 2'den 72 ml alınıp fosfat tamponu 100 ml'ye tamamlanır. Bu haliyle fosfat tamponunun son konsantrasyonu 20 pH'da 0,2 M'dır. 50 ml kadar alınan fosfat tamponunun üzerine 100 ml için 150 mM NaCl, 8M üre, %1 CHAPS, %10 gliserol ve 2 mM EDTA eklenir ve kalan kısım fosfat tamponu ile 100 ml tamamlanır.</p>
Bradford Reaktifi	<p>50 mg Coomassie Blue G-250, 25 ml %95'lik etanol içerisinde çözünmesi sağlandı. Üzerine 50 ml orto fosforik asit ilave edilmesinin ardından distile su ile 500 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti filtre kâğıdından süzülerek karanlık ortamda saklandı.</p>

3.4.1 Protein standardının hazırlanması

B. daigremontianum bitki yapraklarındaki total protein miktarının saptanabilmesi için standart grafik Bovine Serum albumin (BSA)'dan hazırlanan stok çözültiden seyreltilerek hazırlandı. Bu amaçla %50 seyreltilmiş 2 mg/ml'lik stok ampul BSA'dan 0,01 mg/ml, 0,02 mg/ml, 0,04 mg/ml, 0,08 mg/ml ve 0,1 mg/ml alınarak deney tüplerine aktarıldı. Hacim 100 µl oluncaya kadar 0,1 M fosfat tamponu (pH:7,7) ilave edildi. Deney tüplerinin üzerine 5'er ml Bradford reaktif eklendi. Karışım vortekslenip karanlıkta 5 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 595 nm'de köre karşı okundu ve okunan absorbans değerlerinden protein standart grafiği oluşturuldu.

3.5 ALÜMİNYUM STRESİNİN GENOTOKSİK ÖLÇÜMÜ

Bu çalışmada, *B. daigremontianum* bitkilerinde Al stresinin genotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon grupları (50, 100 ve 200 µM) AlCl₃'e maruz bırakılarak RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) metodundan faydalanılarak gerçekleştirildi (Qiu ve diğ. 2004, Zhang ve diğ. 2012).

Tablo 3.4. Çalışmada kullanılan RAPD primerleri (Sentegen®).

Primer Adı	Primer Dizisi
Primer 1	CTG GCG AACT
Primer 2	TCC GAT GCTG
Primer 3	CTG CGC TGGA
Primer 4	CTG AGG TCTC
Primer 5	CTG GGG CTGA
Primer 6	TCA TCC GAGG
Primer 7	TCT CCG CCCT
Primer 8	GGT GGT GATG
Primer 9	AAA GTG CGGC
Primer 10	ACC TTT GCGG
Primer 11	AGA CCC AGAG
Primer 12	AAT GCG GGAG
Primer 13	GTT TCG CTCC
Primer 14	TGA TCC CTGG
Primer 15	GGA CTG GAGT
Primer 16	TGC GCC CTTC
Primer 17	TGC TCT GCCC
Primer 18	GGT GAC GCAG
Primer 19	GTC CAC ACGG
Primer 20	TGG GGG ACTC
Primer 21	GAA ACG GGTG
Primer 22	GGG TAA CGCC
Primer 23	TCG GCG ATAG
Primer 24	AAT CGG GCTG
Primer 25	AGC CAG CGAA

Tablo 3.5. Çalışmada kullanılan ISSR primerleri (Sentegen®).

Primer Adı	Primer Dizisi
Primer 1	AG AG AG AG AG AG AG T
Primer 2	GA GA GA GA GA GA GA C
Primer 3	GA GA GA GA GA GA GG A C
Primer 4	CAC ACA CAC ACA CAC AG
Primer 5	GT GT GT GT GT GT GT C
Primer 6	TCT CTC TCT CTC TCT CC
Primer 7	ACA CAC ACA CAC ACA CG
Primer 8	AGA GAG AGA GAG AGA GYA
Primer 9	CAC ACA CAC ACA CAC ARG
Primer 10	GTG TGT GTG TGT GTG TYA
Primer 11	ACA CAC ACA CAC ACA CYT
Primer 12	GAG AGA GAG AGA GAG AYG
Primer 13	CCC TCC CTC CCT CCC T
Primer 14	ACTG ACTG ACTG ACTG
Primer 15	CT CT CT CT CT CT CT RC

3.5.1 DNA İzolasyonu

DNA izolasyon işlemi, “Promega” firmasının “*Wizard Genomic DNA Purification Kit*” ve prosedüründen faydalanılarak gerçekleştirildi. DNA izole etmek amacıyla;

1. Toksik metale maruz bırakılarak yetiştirilen *Bryophyllum daigremontianum* bitkilerinden yaprak örnekleri hasat edilerek isimlendirildi ve ardından saklanmak üzere -80’e kaldırıldı. İzolasyondan önce her bir örnekten 0,08 gr kadar alınarak falkon tüplere alındı ardından tüplere tissue lyser eklendi ve homojenizatör vasıtasıyla ekstre edildi.
2. Ekstre edilen örnekler steril plastik ependorf tüplere aktarıldı ve üzerlerine 600 µl Nuclei Lysis Solution ilave edilerek 5 saniye kadar vorteks işleminden geçti ardından etüvde 65°C’de 15 dakika bekletildi.
3. İnkübasyon işleminin ardından mevcut RNA’ların parçalanması amacıyla, her bir tüpe 3 µl RNase Solution ilave edildi ve 37°C 15 dakika bekletildi.
4. Çözeltideki proteinlerin çöktürülmesi amacıyla, örnekler üzerine 200 µl Protein Precipitation Solution ilave edildi ve 25 saniye kadar vorteks işleminden geçti.
5. Ependorf tüpler 13000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi ve tüplerin alt kısımlarında pelet meydana geldiği gözlemlendi.
6. Süpernatant dikkatli bir şekilde alınarak kesik pipet ucu ile 1,5’lik steril ependroflara alındı ve üzerine 600 µl izopropanol ilave edildi. Tüpler ters-düz edilerek DNA’lar çözeltidide gözlemlenmeye başlandı.
7. Ardından tüpler 1 dakika boyunca 13000 rpm’de santrifüj işleminden geçirilerek süpernatant atıldı. Yıkama işlemi için tüplerin üzerine 600 µl %70’lik etil alkol ilave edildi ve yine 1 dakika süresince 13000 rpm’de santrifüj edildi. Yıkama işlemi tekrar edildi. Son olarak, süpernatant tekrar dikkatlice boşaltıldı ve tüpler çeker ocağa içerisine yerleştirilip 30 dakika boyunca bekletilerek, tüp içerisinde arda kalan alkolün iyice uzaklaşması sağlandı.
8. Son adımda alkol tüp içerisinden iyice uzaklaştıktan sonra tüplere 100 µl DNA Rehydration Solution ilave edilerek 65°C’ye ayarlı etüvde 1 saat süresince bekletildi, böylelikle DNA izolasyonu tamamlanmış oldu.

3.5.2 DNA Spektrofotometre Analizi

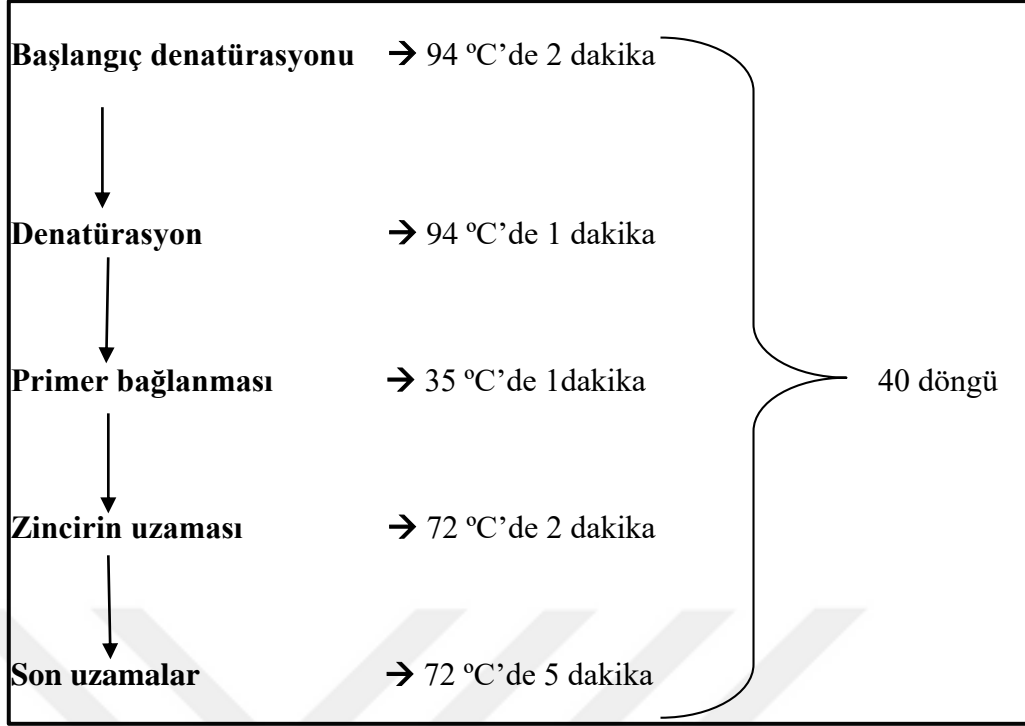
PZR’da kullanılacak DNA miktarlarının saptanması ve gerekli sulandırma oranlarının uygulanması amacıyla DNA konsantrasyonları spektrofotometre cihazı vasıtasıyla ölçüldü. DNA miktarı 260 ve 280 nm dalga boylarında sağlanan değerlerden elde edildi. 1 optik dansite (OD) çift iplikli DNA için 50 µg/ml, tek iplikli DNA ya da RNA için 40 µg/ml ve oligonükleotidler için 20 µg/ml’ye karşılık gelmekte olup, çalışmada izole edilen DNA’lar çift iplikli olduğundan miktar tayininde aşağıdaki formülden faydalanıldı. Sonuç olarak her DNA örneği konsantrasyonu 50 ng/µl olacak şekilde sulandırıldı (DNA (µg/ml)= 260 nm’deki OD (absorbans değeri) x sulandırma oranı x 50).

3.5.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Optimizasyonu

PZR uygulamasında faydalanılacak bileşenler ve miktarları Tablo 3.6’da yer almaktadır. PZR çoğaltılması için bu reaksiyon bileşenleri belirtilen oranlar göz önünde bulundurularak hazırlandı. PZR reaktifleri MBI Fermentastan temin edildi. Reaksiyon bileşenlerini içeren PZR tüpleri Techne Endurance TC-512 Gradient Thermal Cycler’da 40 döngü halinde aşağıdaki sıcaklık ve dakikalarda gerçekleştirildi. PZR aşamaları Şekil 3.6 da gösterilmiştir.

Tablo 3.6. PZR reaksiyon bileşenlerinin hazırlanması.

Reaksiyon Bileşenleri	Miktar
DNA	50-100 ng (2 µl)
Tampon çözelti (10X)	2,5 µl
MgCl ₂ (2,5 mM)	3,5 µl
dNTP karışımı (2,5 mM)	1 µ
Taq Polimeraz (5U)	0,5 µl
Primer (10 mM)	2 µl
Distile su	13,5
Toplam Hacim	25 µl



Şekil 3.6. PZR aşamaları.

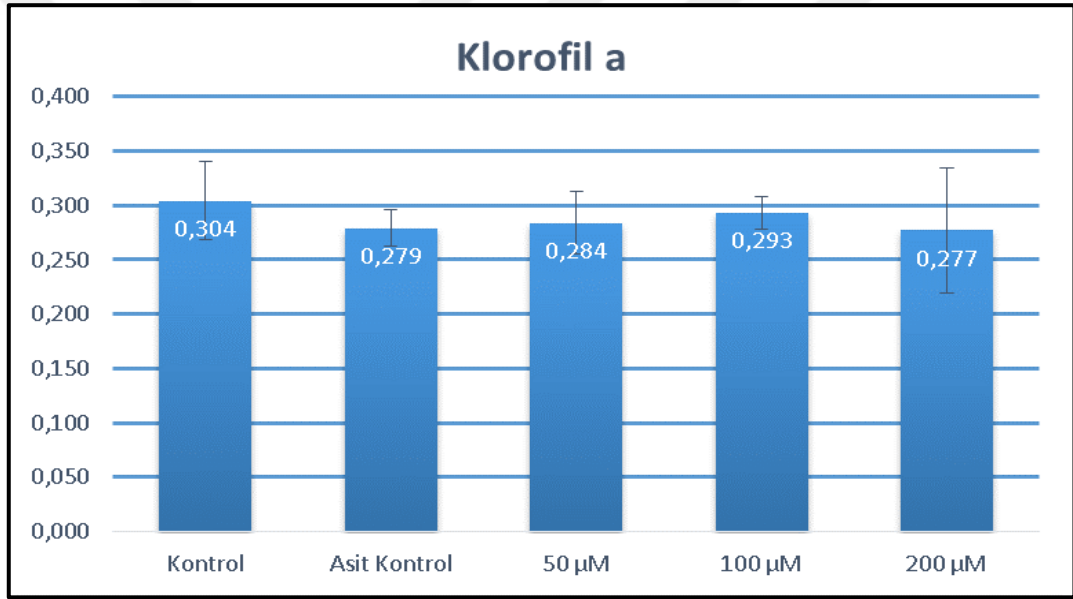
3.5.4 PZR ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi

PZR sonucu sağlanan ürünler %1,8’ lik agaroz jelde, 1xTBE tamponuyla 90-100 Voltta yaklaşık 45 dakika yürütüldü. Jellerde 1 kuyucuğa, elde edilen bantların büyüklüklerini belirlemek amacıyla DNA standardı (GeneRuler™ 100 bp-100 bp plus, MBI Fermantas) ilave edilerek karşılaştırılmıştır. Etidyum bromür (EtBr) ile boyanan jeller UV görüntüleme düzeneği ile görüntülenip fotoğraflanarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Bantların moleküler büyüklükleri Gel Analyzer 2010 programı ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR

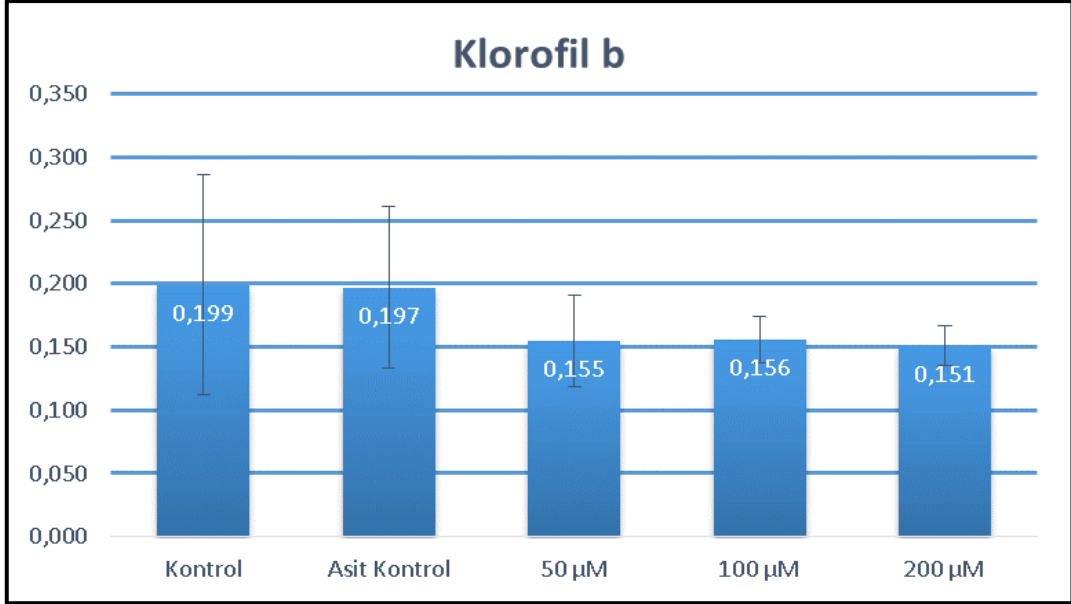
4.1 AL STRESİNİN *B. DAIGREMONTIANUM* BİTKİSİNDE BAZI FİZYOLOJİK PARAMETRELER (KLOROFİL *a*, KLOROFİL *b*, KLOROFİL *a/b*, TOTAL KLOROFİL VE KAROTENOİD) ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışmada kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait yapraklarda klorofil *a*, klorofil *b*, total klorofil, klorofil *a/b* ve karotenoid içerikleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Yapraklardaki klorofil *a* değerleri sırasıyla; 0,304, 0,279, 0,284, 0,293 ve 0,277 mg/ml'dır (Şekil 4.1.).



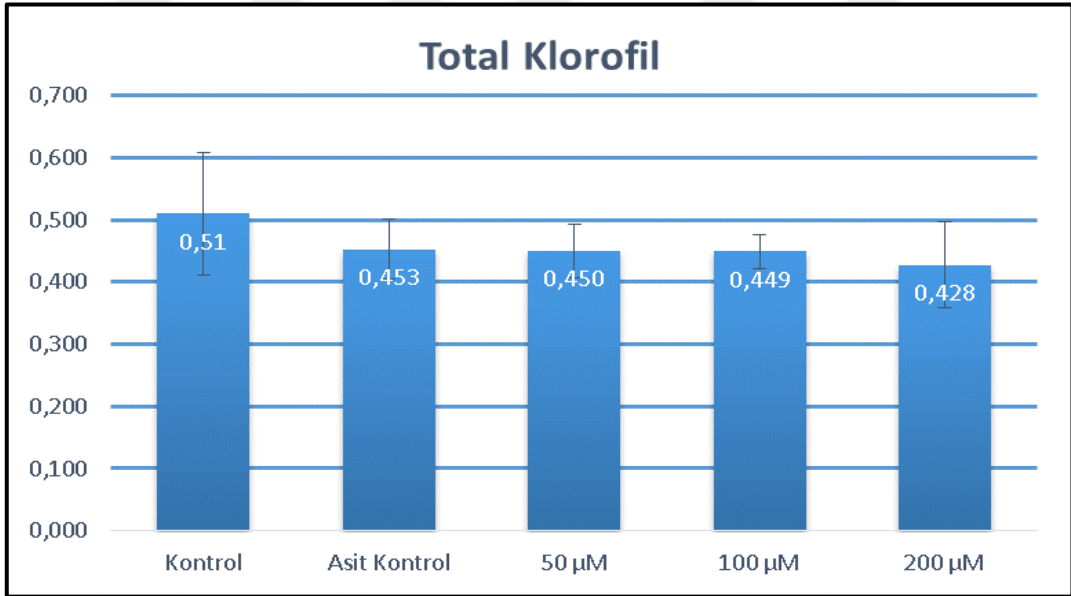
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarında klorofil *a* miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait bitkilerin yapraklarında spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Yapraklardaki klorofil *b* değerleri sırasıyla; 0,199, 0,197, 0,155, 0,156 ve 0,151 mg/ml şeklindedir (Şekil 4.2.).



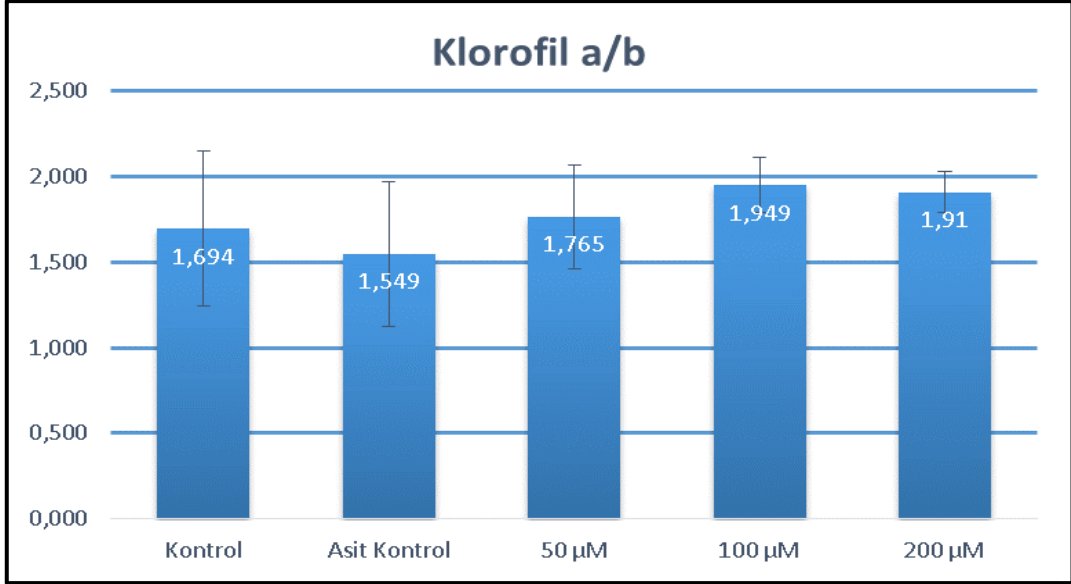
Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarında klorofil *b* miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarında spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Yapraklardaki total klorofil değerleri sırasıyla; 0,510, 0,453, 0,450, 0,449 ve 0,428 mg/ml'dır (Şekil 4.3.).



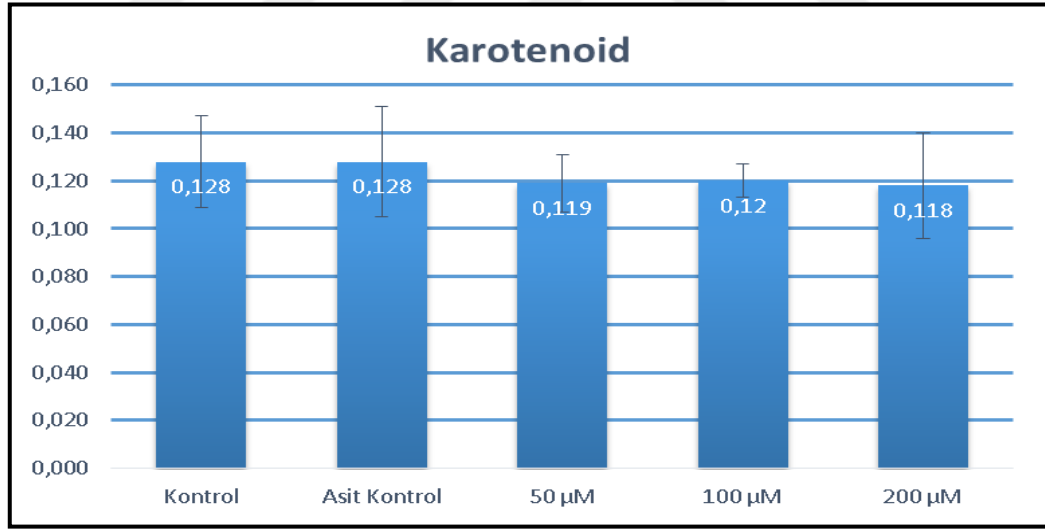
Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarında total klorofil miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitki yapraklarında spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Yapraklardaki klorofil *a/b* değerleri sırasıyla; 1,694, 1,549, 1,765, 1,949 ve 1,910 mg/ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarında klorofil a/b miktarları.

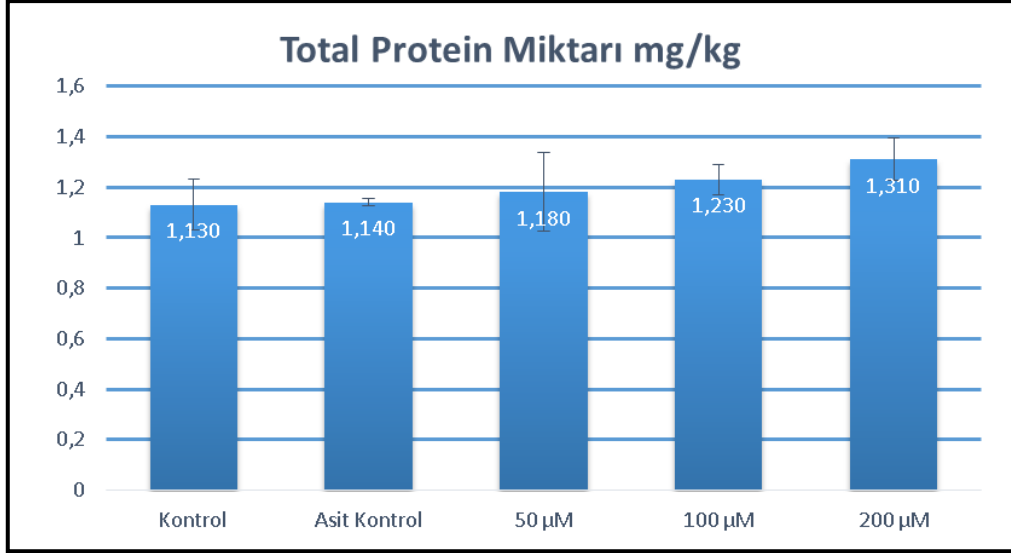
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitki yapraklarında spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Yapraklardaki karotenoid değerleri sırasıyla; 0,128, 0,128, 0,119, 0,120 ve 0,118 olarak ölçülmüştür (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarında karotenoid miktarları.

4.2 AL STRESİNİN TOTAL PROTEİN MİKTARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitki yapraklarından alınan örneklerde yapılan analizler sonucunda total protein miktarları sırasıyla; 1,130, 1,140, 1,180, 1,230, 1,310 mg/ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.6.).

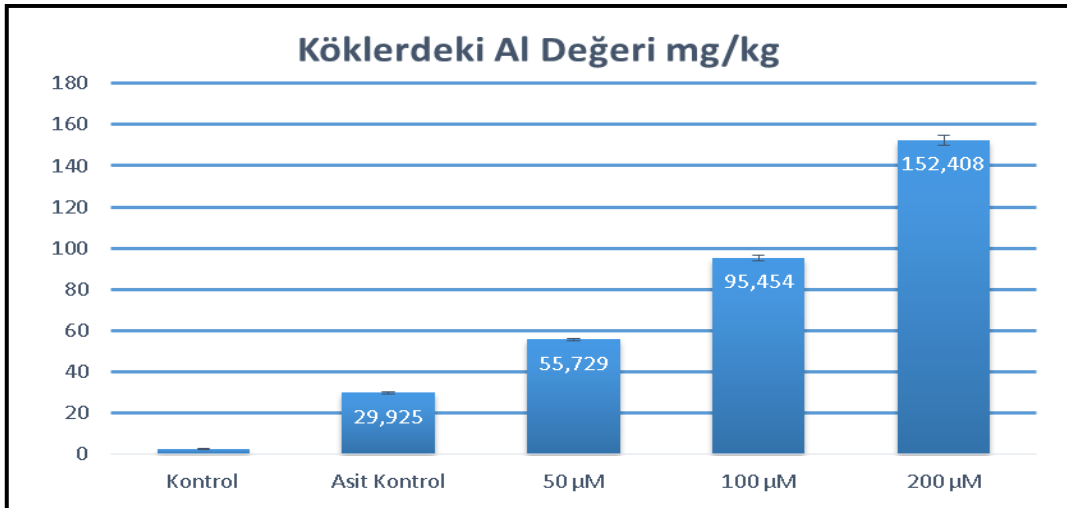


Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarında total protein miktarları.

4.3 AL STRESİNİN MİNERAL BESLEME ÜZERİNE ETKİLERİ

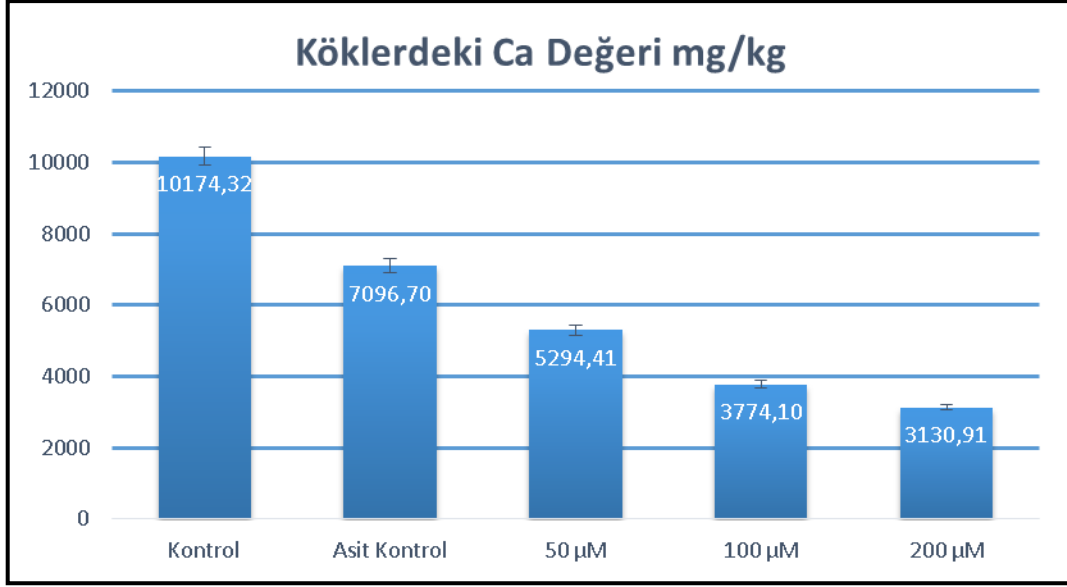
4.3.1 Köklerde Toksik Metal ve Besin Element Miktarları

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinden elde edilen Al değerleri sırasıyla; 2,518, 29,925, 55,729, 95,454 ve 152,408 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.7.).



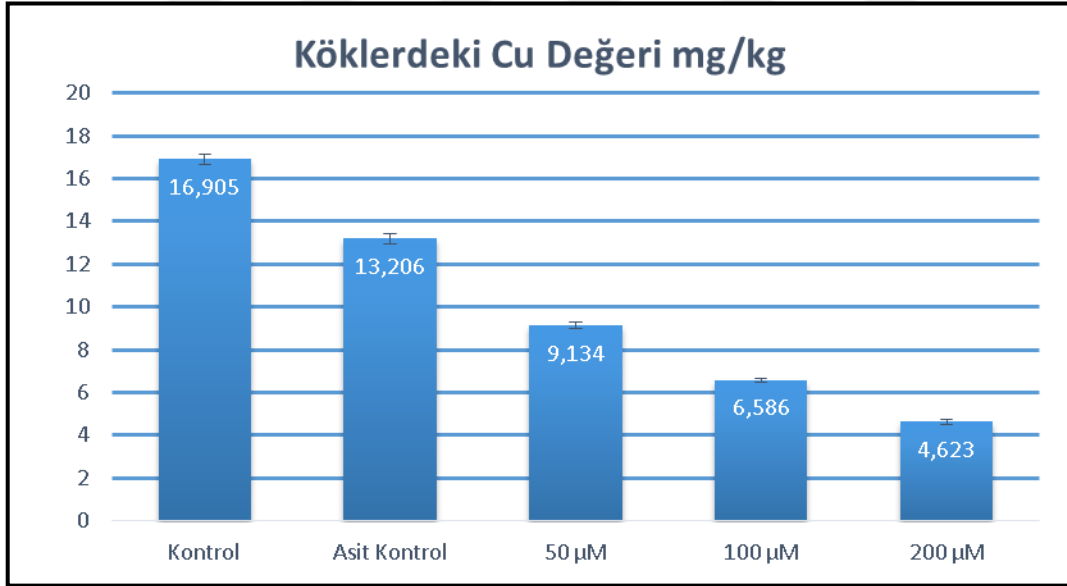
Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde Al elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinde elde edilen Ca değerleri sırasıyla; 10174,32, 7096,695, 5294,41, 3774,099 ve 3130,908 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.8.).



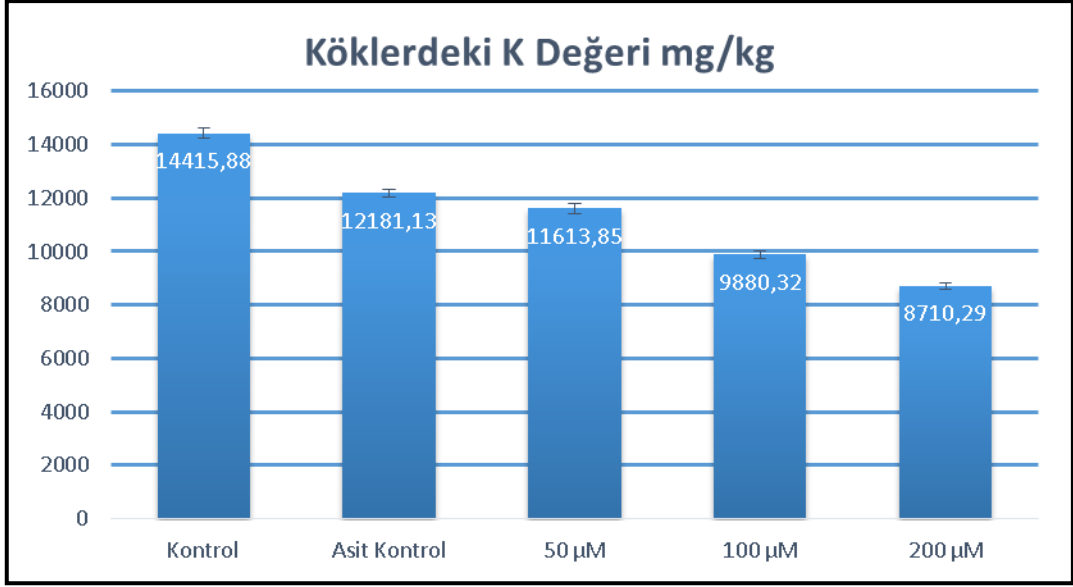
Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde Ca elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinden elde edilen Cu değerleri sırasıyla; 16,905, 13,206, 9,134, 6,586 ve 4,623 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.9.).



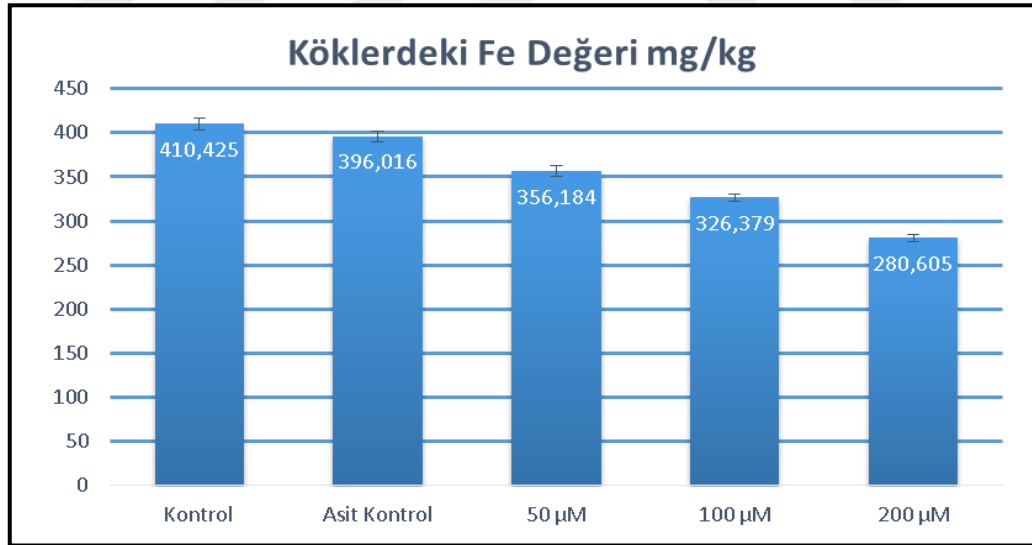
Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde Cu elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinden elde edilen K değerleri sırasıyla; 14415,88, 121181,125, 11613,134, 9880,321 ve 8710,294 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.10.).



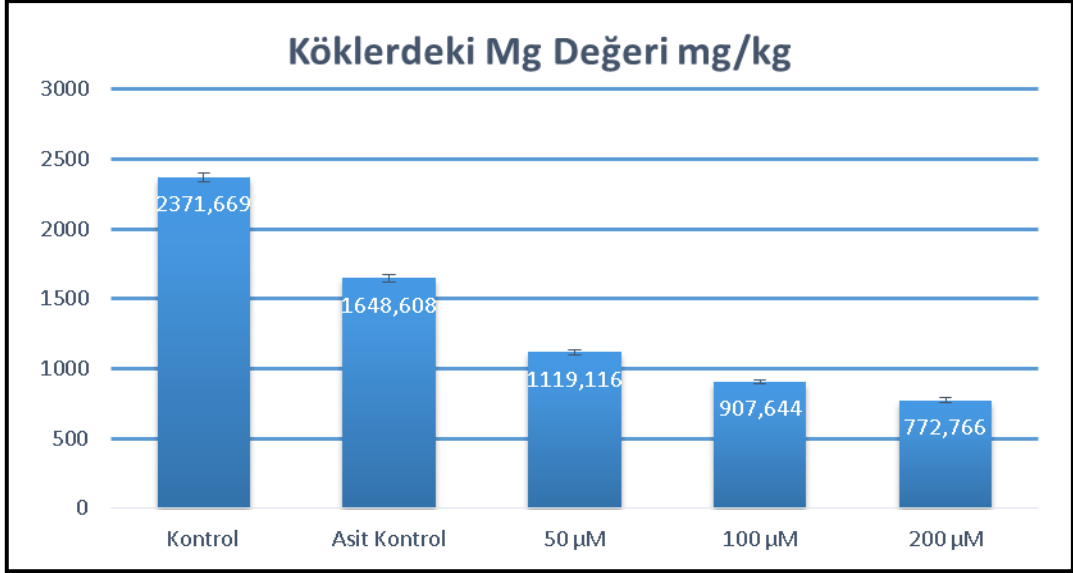
Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde K elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinden elde edilen Fe değerleri sırasıyla; 410,425, 396,016, 356,184, 326,379 ve 280,605 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.11.).



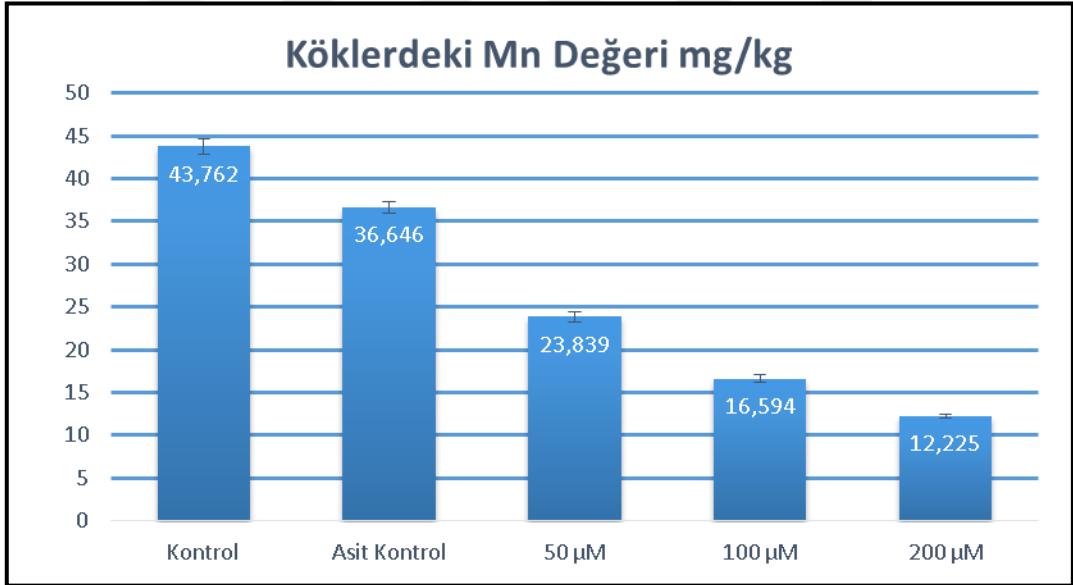
Şekil 4.11. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde Fe elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinden elde edilen Mg değerleri sırasıyla; 2371,669, 1648,608, 1119,116, 907,644 ve 772,766 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.12.).



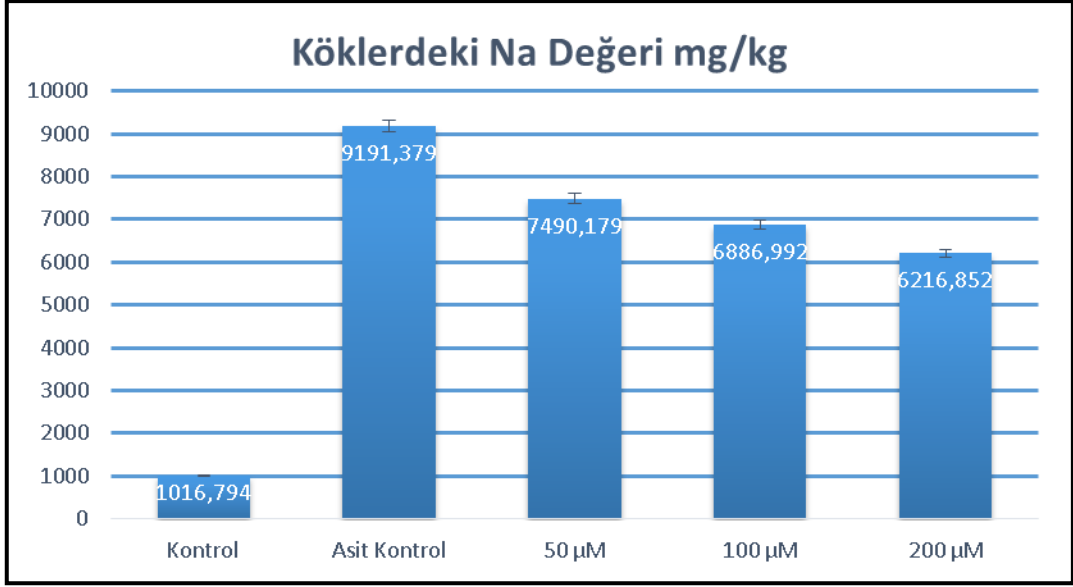
Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde Mg elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinden elde edilen Mn değerleri sırasıyla; 43,762, 36,646, 23,839, 16,594 ve 12,225 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.13.).



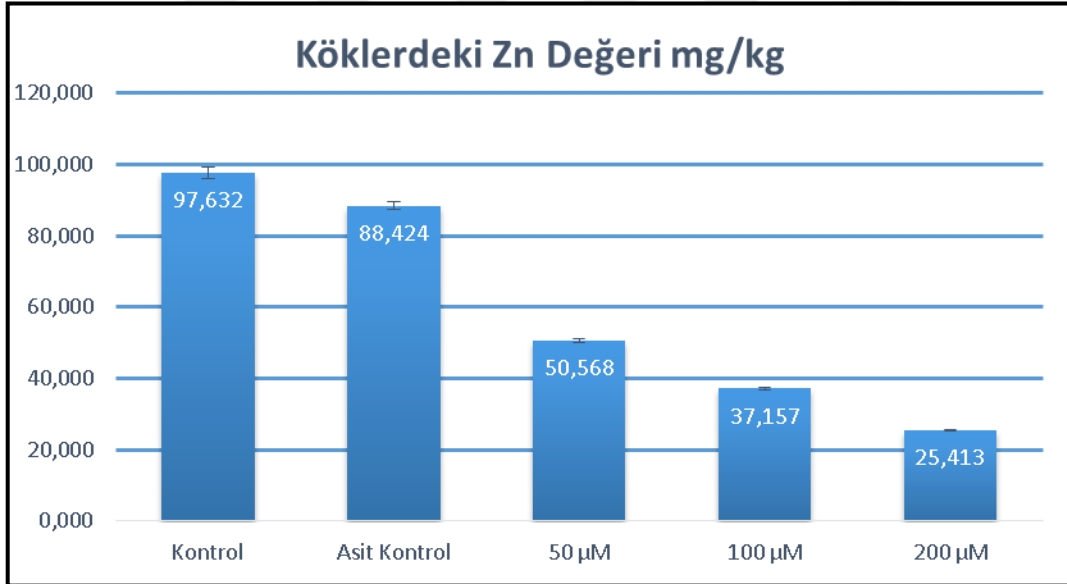
Şekil 4.13. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde Mn elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinden elde edilen Na değerleri sırasıyla; 1016,794, 9191,379, 7490,179, 6886,992 ve 6216,852 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde Na elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100, 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin köklerinden elde edilen Zn değerleri sırasıyla; 97,632, 88,424, 50,568, 37,157 ve 25,413 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi köklerinde Zn elementinin miktarları.

Kök: Kontrol, asit kontrol ve 50, 100 ve 200 µM konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkileri köklerinde Al, Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn, Na ve Zn elementlerinin miktar analizleri yapılmıştır. Analizler neticesinde kontrol grubunda elementler Al:2,518; Ca:10174,32; Cu:16,905; K:14415,884; Fe:410,425; Mg:2371,669; Mn:43,762; Na:1016,794; Zn:97,6 mg/kg olarak ölçülmüştür.

Asit kontrol bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:29,92; Ca:7096,695; Cu:13,20; K:121181,125; Fe:396,016; Mg:1648,608; Mn:36,646; Na:9191,379; Zn:88,424 mg/kg olarak ölçülmüştür.

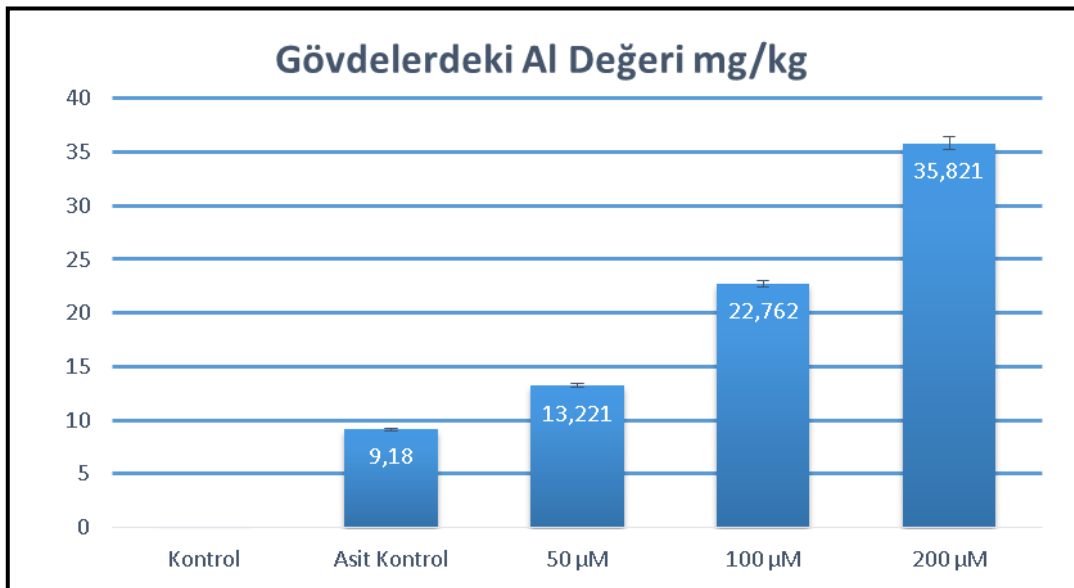
50 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:55,729; Ca:5294,41; Cu:9,13; K:11613,847; Fe:356,184; Mg:1119,116; Mn:23,839; Na:7490,179; Zn:50,568 mg/kg olarak ölçülmüştür.

100 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:95,454; Ca:854,847; Cu:6,586; K:9880,321; Fe:326,379; Mg:907,64; Mn:16,594; Na:6886,992; Zn:37,157 mg/kg olarak ölçülmüştür.

200 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:152,408; Ca:3130,90; Cu:4,623; K:8710,294; Fe:280,605; Mg:772,766; Mn:12,225; Na:6216,852; Zn:25,413 mg/kg olarak ölçülmüştür.

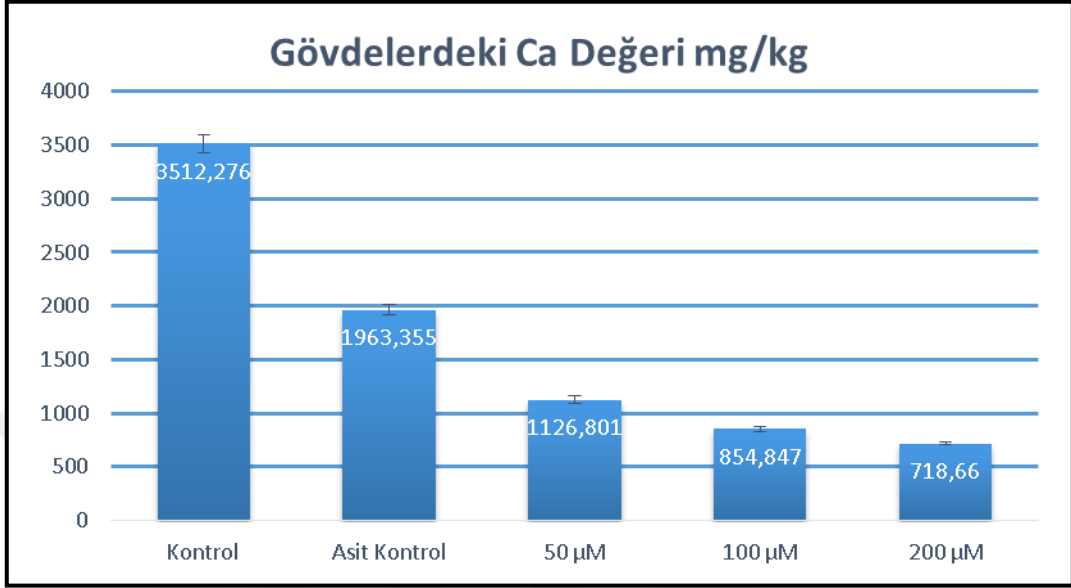
4.3.2 Gövdelerdeki Toksik Metal ve Besin Element Miktarları

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen Al değerleri sırasıyla; 0, 9,18, 13,221, 22,762 ve 35,821 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.16).



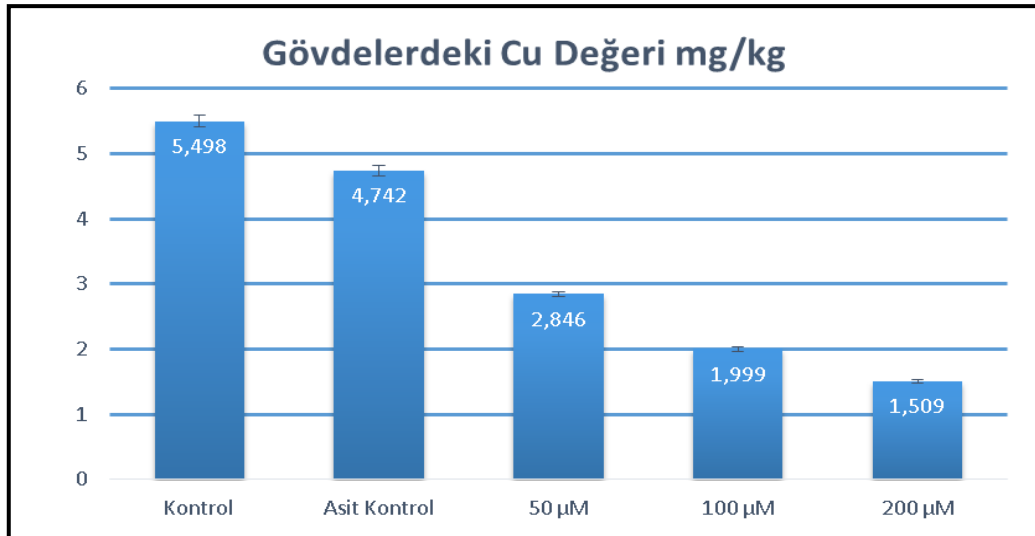
Şekil 4.16. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki Al elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen Ca değerleri sırasıyla; 3512,276, 1963,355, 1126,801, 854,847 ve 718,66 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki Ca elementinin miktarları.

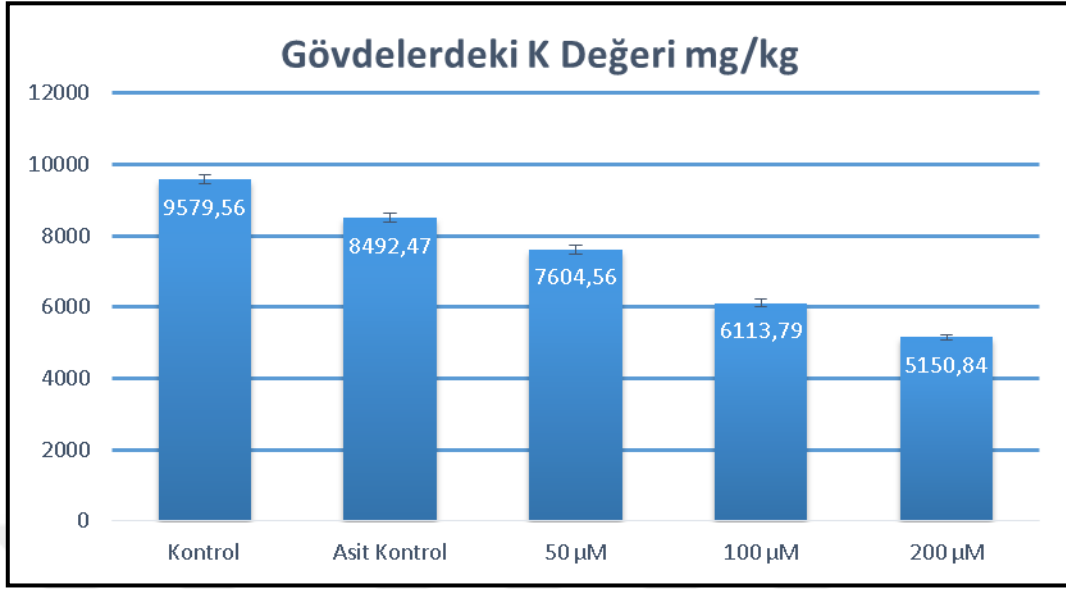
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen Cu değerleri sırasıyla; 5,498, 4,742, 2,846, 1,999 ve 1,509 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki Cu elementinin miktarları.

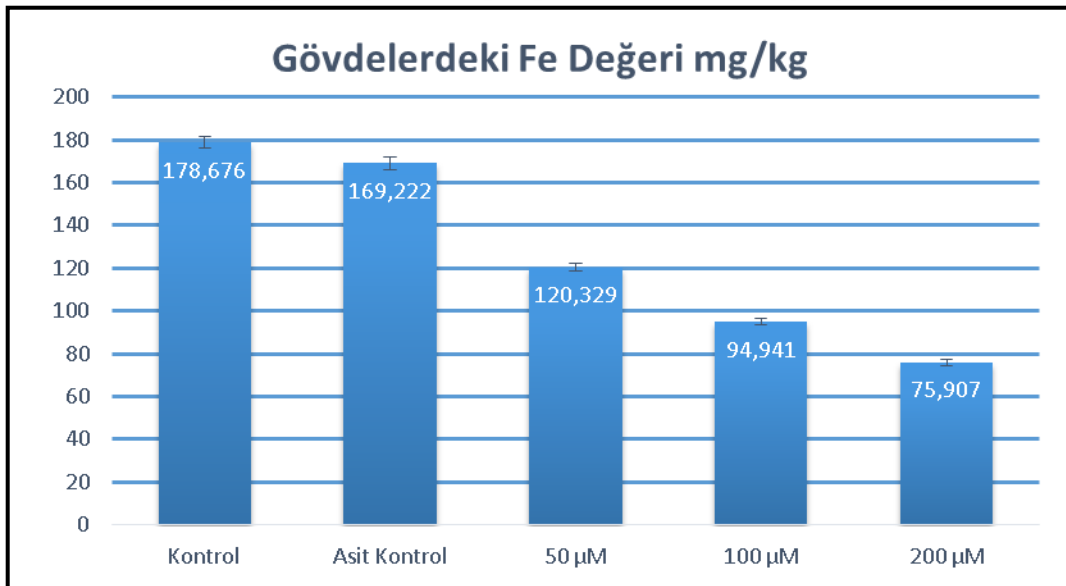
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen K değerleri sırasıyla; 9579,557, 8492,471, 7604,56,

6113,792 ve 5150,836 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.19).



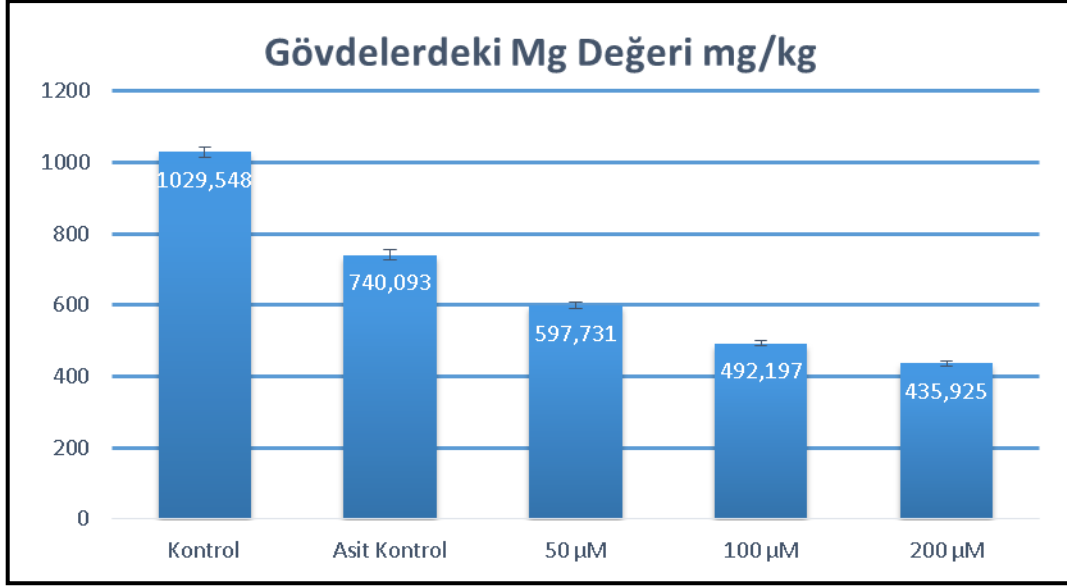
Şekil 4.19. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki K elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen Fe değerleri sırasıyla; 178,676, 169,222, 120,329, 94,941 ve 75,907 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.20).



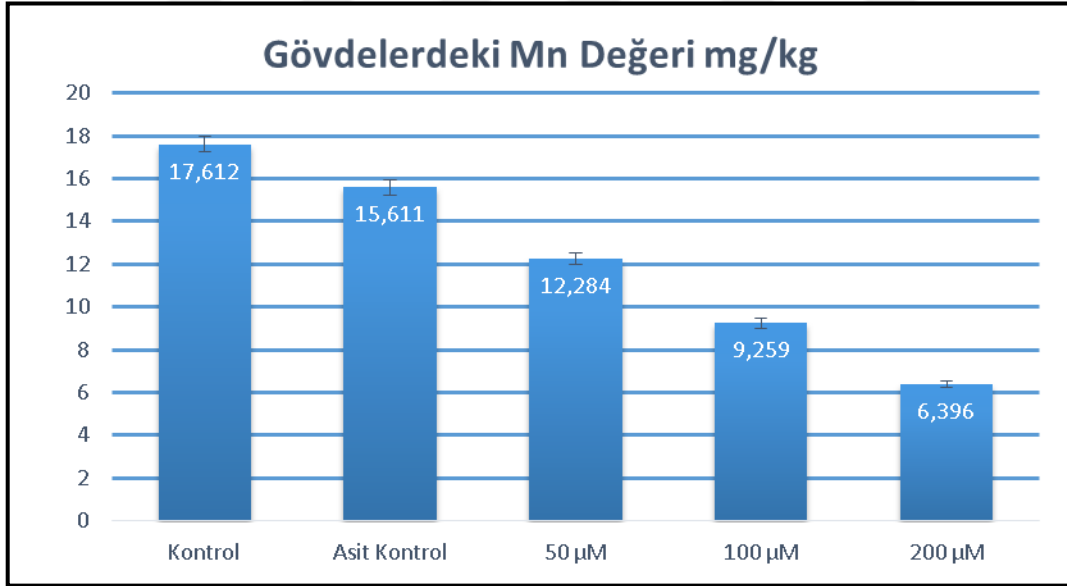
Şekil 4.20. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki Fe elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen Mg değerleri sırasıyla; 1029,548, 740,093, 597,731, 492,197 ve 435,925 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.21).



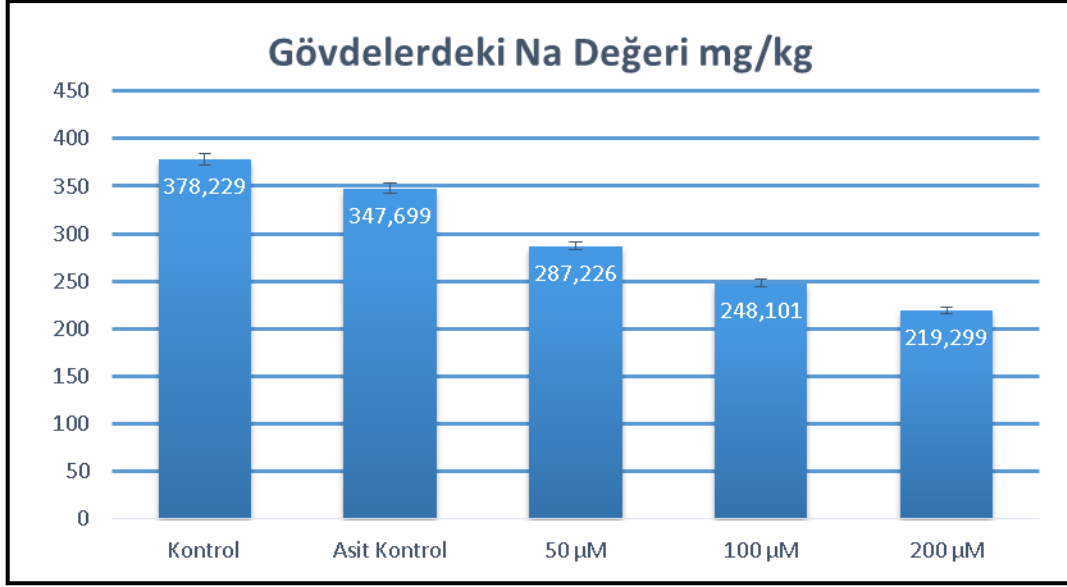
Şekil 4.21. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki Mg elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen Mn değerleri sırasıyla; 17,612, 15,611, 12,284, 9,259 ve 6,396 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.22).



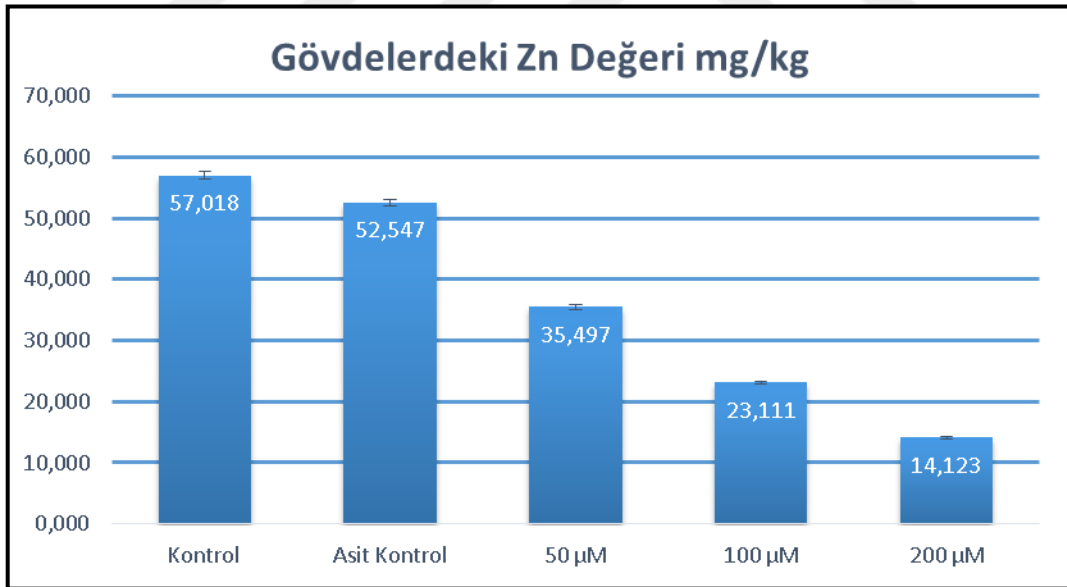
Şekil 4.22. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki Mn elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen Na değerleri sırasıyla; 378,229, 347,699, 287,226, 248,101 ve 219,299 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki Na elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin gövdelerinden elde edilen Zn değerleri sırasıyla; 57,018, 52,547, 35,497, 23,111 ve 14,123 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi gövdelerindeki Zn elementinin miktarları.

Gövde: Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin gövdelerinde Al, Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn, Na ve Zn elementlerinin miktar analizleri yapılmıştır.

Analizler neticesinde kontrol grubunda elementler sırasıyla Al:0; Ca:3512,276; Cu:5,498; K:9579,557; Fe:178,676; Mg:1029,548; Mn:17,612; Na:378,229; Zn:57,018 mg/kg olarak ölçülmüştür.

Asit kontrol grubunda elementler sırasıyla Al:9,18; Ca:1963,355; Cu:4,742; K:8492,471; Fe:169,222; Mg:740,093; Mn:15,611; Na:347,699; Zn:52,547 mg/kg olarak ölçülmüştür.

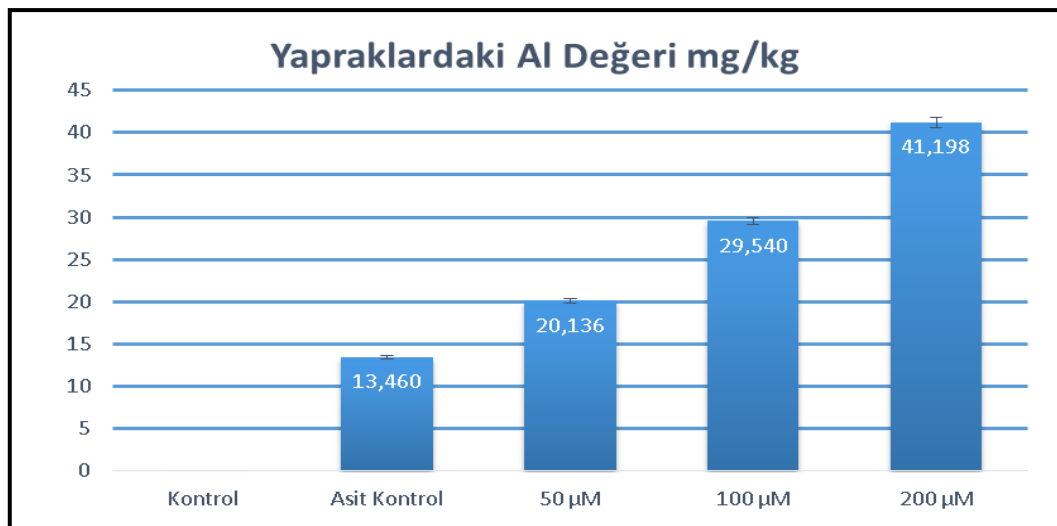
50 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:13,221; Ca:1126,801; Cu:2,846, K:7604, Fe:120,329; Mg:597,731; Mn:12,284; Na:287,226; Zn:35,497 mg/kg olarak ölçülmüştür.

100 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:22,762; Ca:854,847; Cu:1,999; K:6113,792; Fe:94,941; Mg:492,197; Mn:9,259; Na:248,101; Zn:23,111 mg/kg olarak ölçülmüştür.

200 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:35.821, Ca:718.66, Cu:1.509, K:5150.836, Fe:75.907, Mg:435.925, Mn:6.396, Na:219.299, Zn:14.123 mg/kg olarak ölçülmüştür.

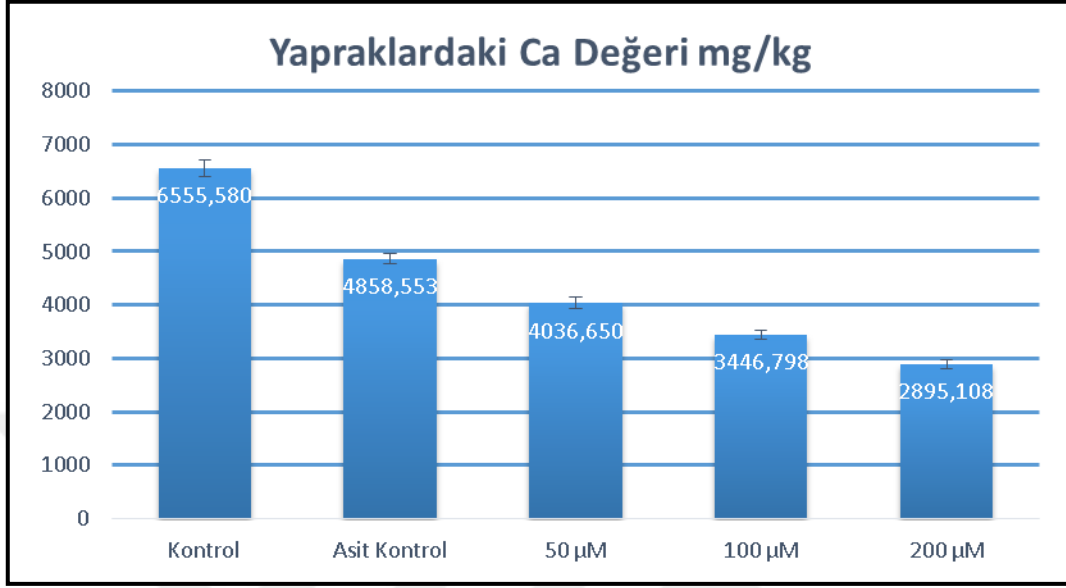
4.3.3 Yapraklardaki Toksik Metal ve Besin Element Miktarları

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait bitkilerin yapraklarından elde edilen Al değerleri sırasıyla; 0, 13,46, 20,136, 29,54 ve 41,198 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.25).



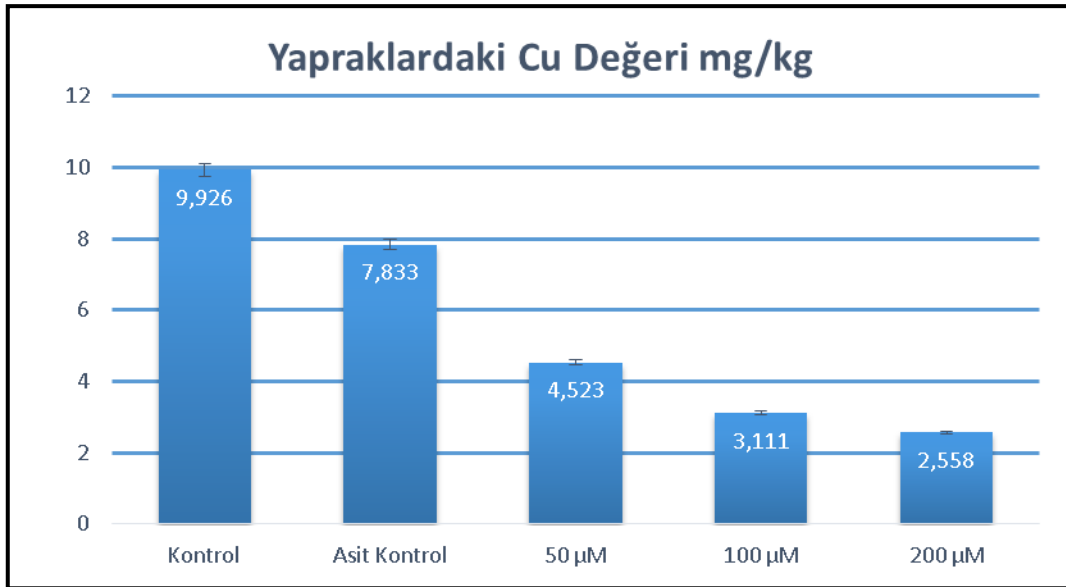
Şekil 4.25. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki Al elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait bitkilerin yapraklarından elde edilen Ca değerleri sırasıyla; 6555,58, 4858,553, 4036,65, 3446,798 ve 2895,108 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki Ca elementinin miktarları.

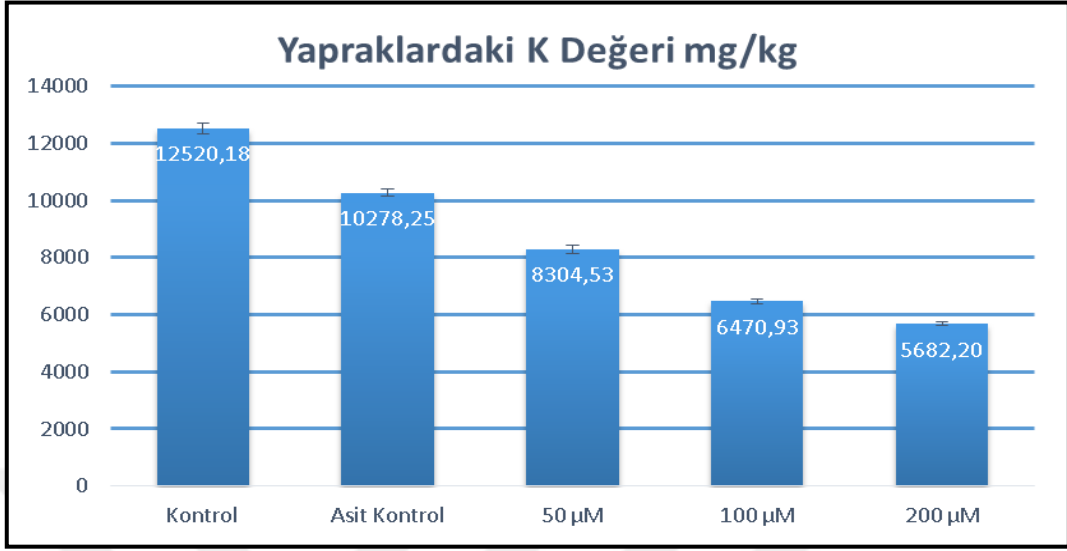
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait bitkilerin yapraklarından elde edilen Cu değerleri sırasıyla; 9,926, 7,833, 4,523, 3,111 ve 2,558 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki Cu elementinin miktarları.

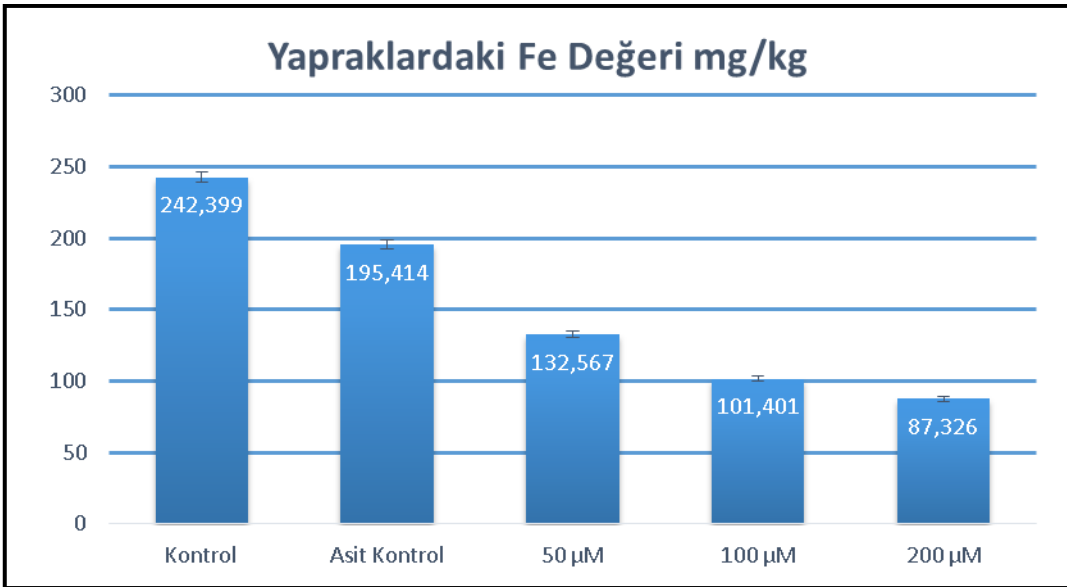
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) ait

bitkilerin yapraklarından elde edilen K değerleri sırasıyla; 12520,184, 10278,245, 8304,533, 6470,93 ve 5682,203 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.28).



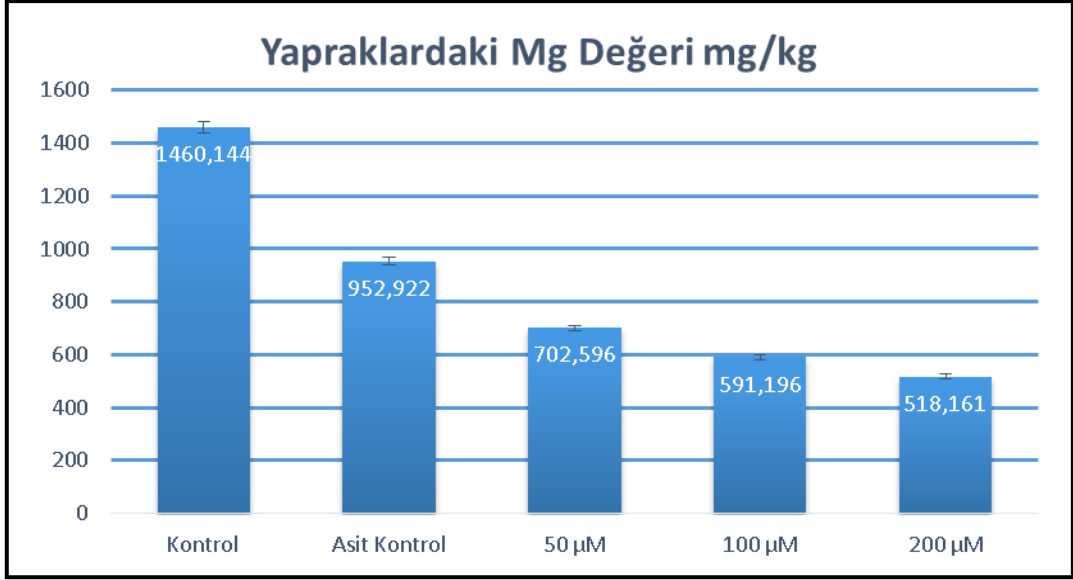
Şekil 4.28. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki K elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM $AlCl_3$) ait bitkilerin yapraklarından elde edilen Fe değerleri sırasıyla; 242,399, 195,414, 132,576, 101,401 ve 87,326 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.29).



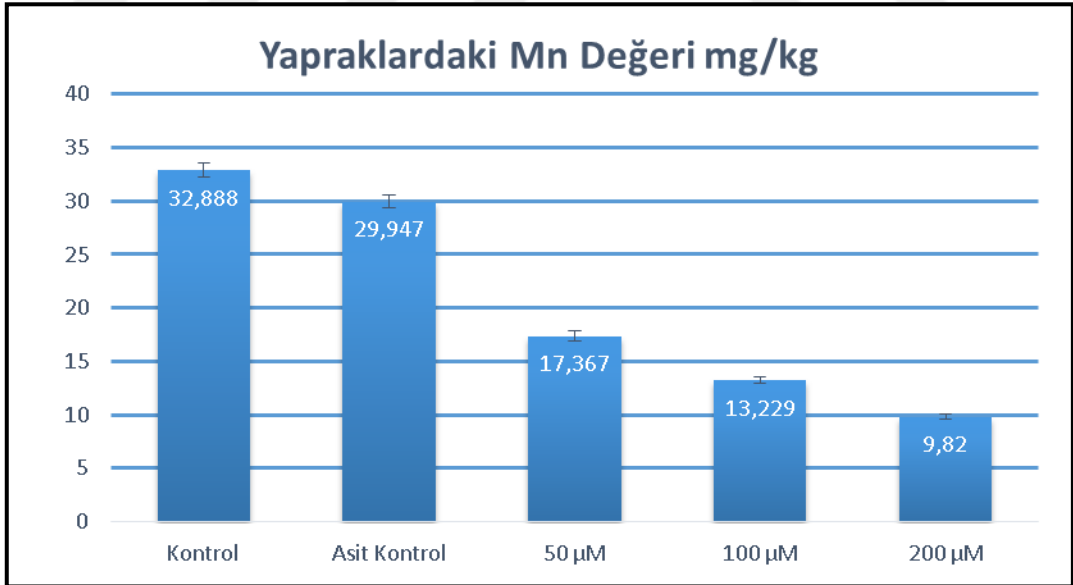
Şekil 4.29. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki Fe elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM $AlCl_3$) ait bitkilerin yapraklarından elde edilen Mg değerleri sırasıyla; 1460,144, 952,922, 702,596, 591,196 ve 518,161 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.30).



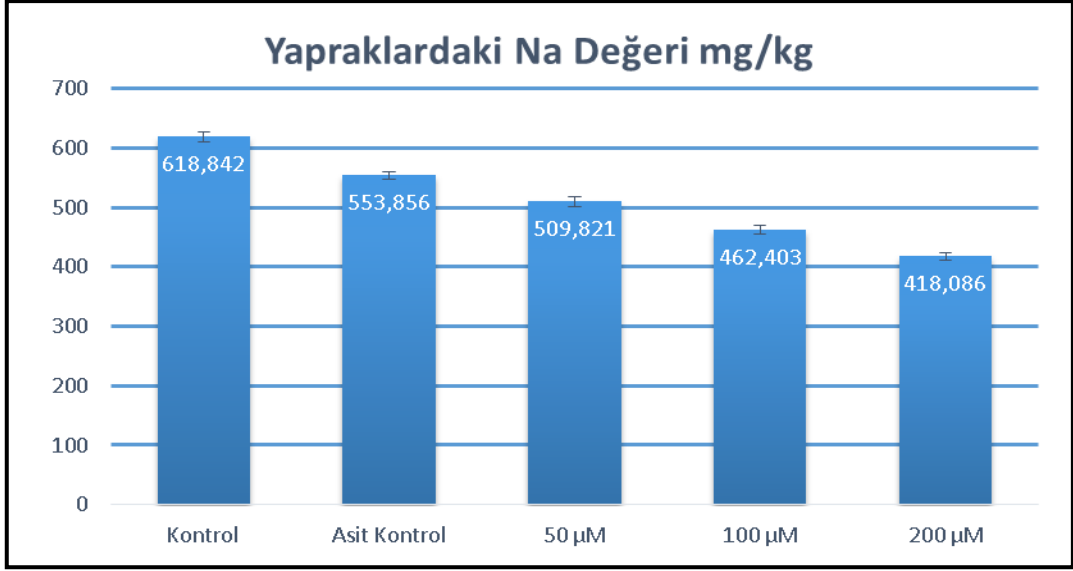
Şekil 4.30. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki Mg elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarından elde edilen Mn değerleri sırasıyla; 16,859, 29,947, 17,367, 13,229 ve 9,82 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.31).



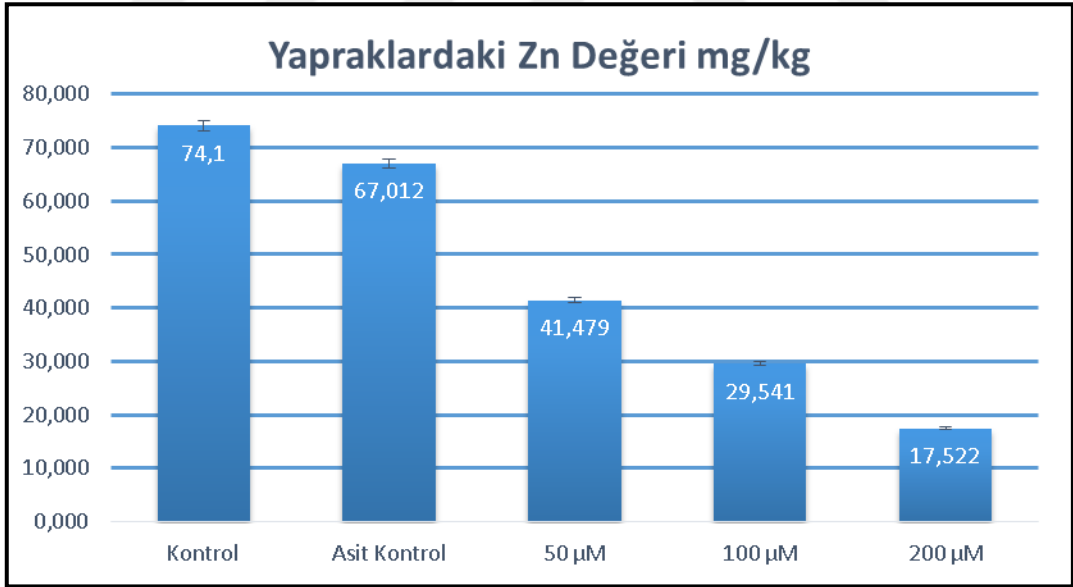
Şekil 4.31. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki Mn elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarından elde edilen Na değerleri sırasıyla; 618,842, 553,856, 509,821, 462,40 ve 418,086 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.32).



Şekil 4.32. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki Na elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarından elde edilen Zn değerleri sırasıyla; 74,1, 67,012, 41,479, 29,541 ve 17,522 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki Zn elementinin miktarları.

Yaprak: Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarında Al, Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn, Na ve Zn elementlerinin miktar analizleri yapılmıştır. Bu analizler neticesinde kontrol grubunda elementler Al:0;

Ca:6555,58; Cu:9,926; K:12520,184; Fe:242,399; Mg:1460,144; Mn:16,859; Na:618,842; Zn:74,1 mg/kg olarak ölçülmüştür.

Bu analizler sonucunda asit kontrol grubunda elementler Al:13,46; Ca:4858,553; Cu:7,833; K:10278,245; Fe:195,414; Mg:952,922; Mn:29,947; Na:553,856; Zn:67,012 mg/kg olarak ölçülmüştür.

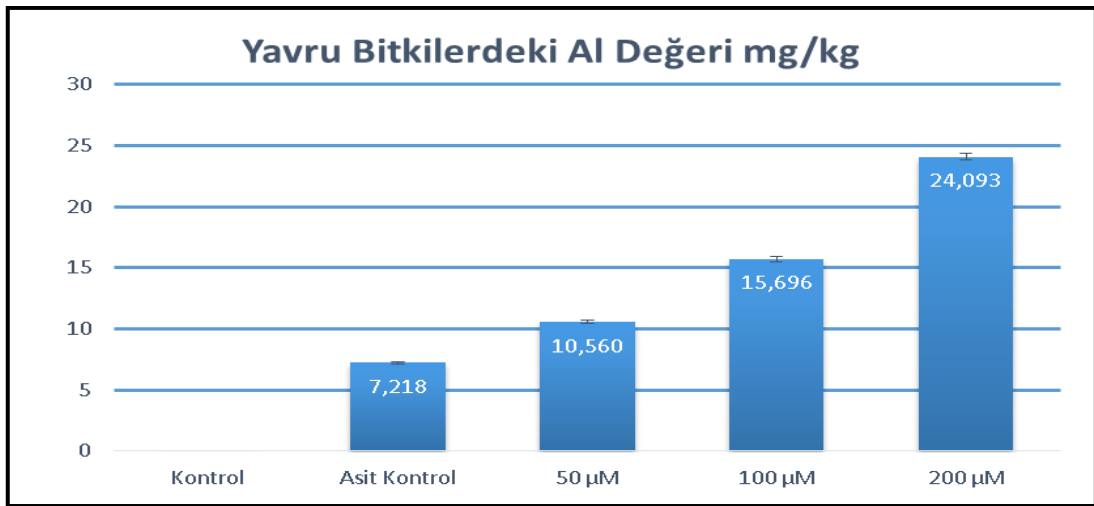
50 μ M $AlCl_3$ uygulanan bitki grubunda elementler Al:20,136; Ca:4036,65; Cu:4,523; K:8304,533; Fe:132,576; Mg:702,596; Mn:17,367; Na:509,821; Zn:41,479 mg/kg olarak ölçülmüştür.

100 μ M $AlCl_3$ uygulanan bitki grubunda elementler Al:29,54; Ca:3446,798; Cu:3,111; K:6470,93; Fe:101,401; Mg:591,196; Mn:13,229; Na:462,403; Zn:29,541 mg/kg olarak ölçülmüştür.

200 μ M $AlCl_3$ uygulanan bitki grubunda elementler Al:41,198; Ca:718,66; Cu:2,558; K:5682,203; Fe:87,326; Mg:518,161; Mn:9,82; Na:418,086; Zn:17,522 mg/kg olarak ölçülmüştür.

4.3.4 Yavru Bitkilerdeki Toksik Metal ve Besin Element Miktarları

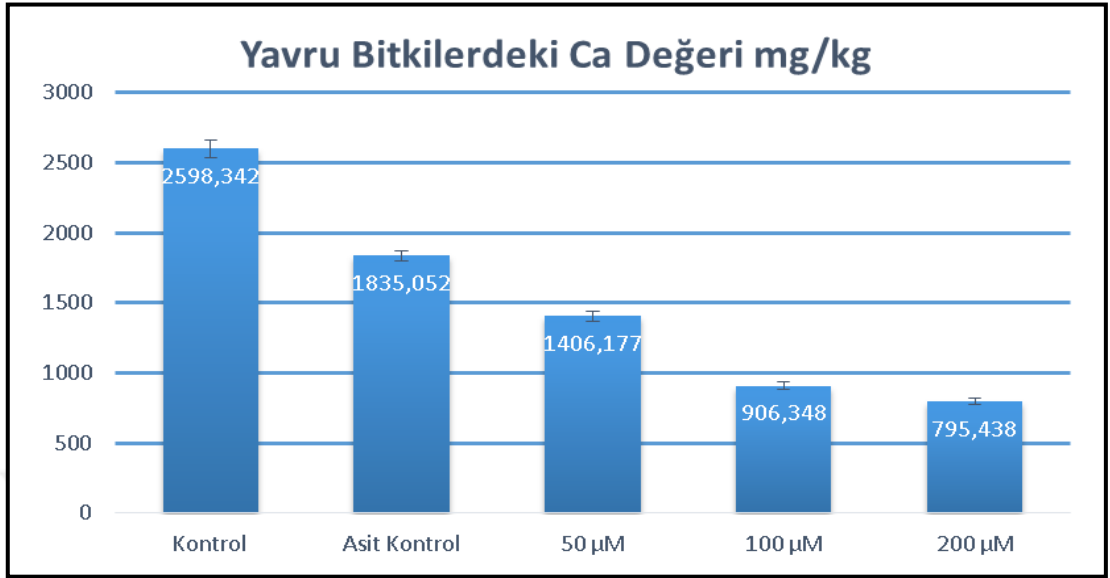
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μ M $AlCl_3$) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen Al değerleri sırasıyla; 0, 7,218, 10,56, 15,696 ve 24,093 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.34.).



Şekil 4.34. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Al elementinin miktarları.

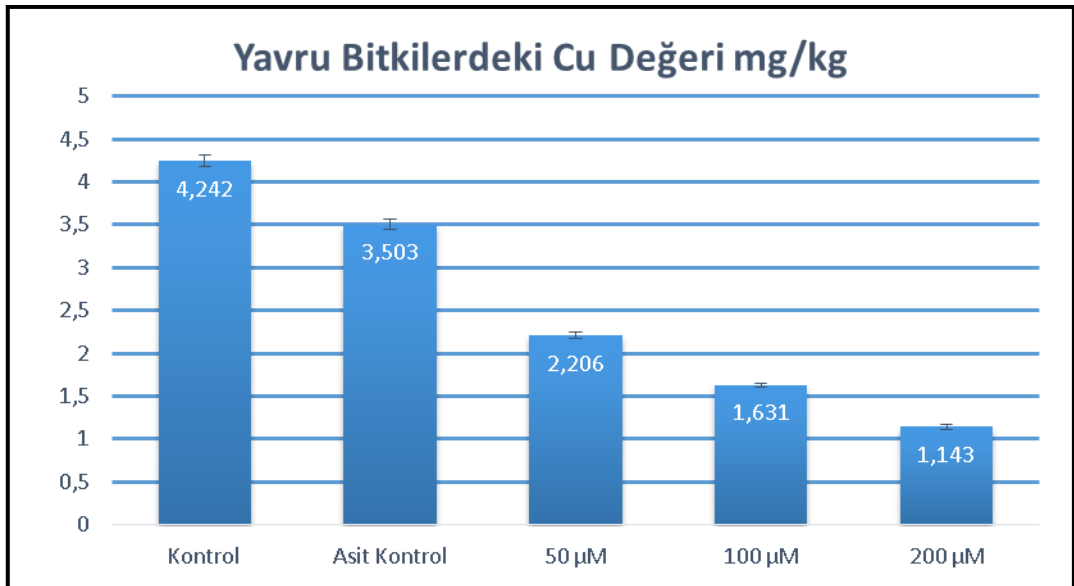
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 μ M $AlCl_3$) ait

bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen Ca değerleri sırasıyla; 2598,342, 1835,052, 1406,177, 906,348 ve 795,438 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.35.).



Şekil 4.35. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Ca elementinin miktarları.

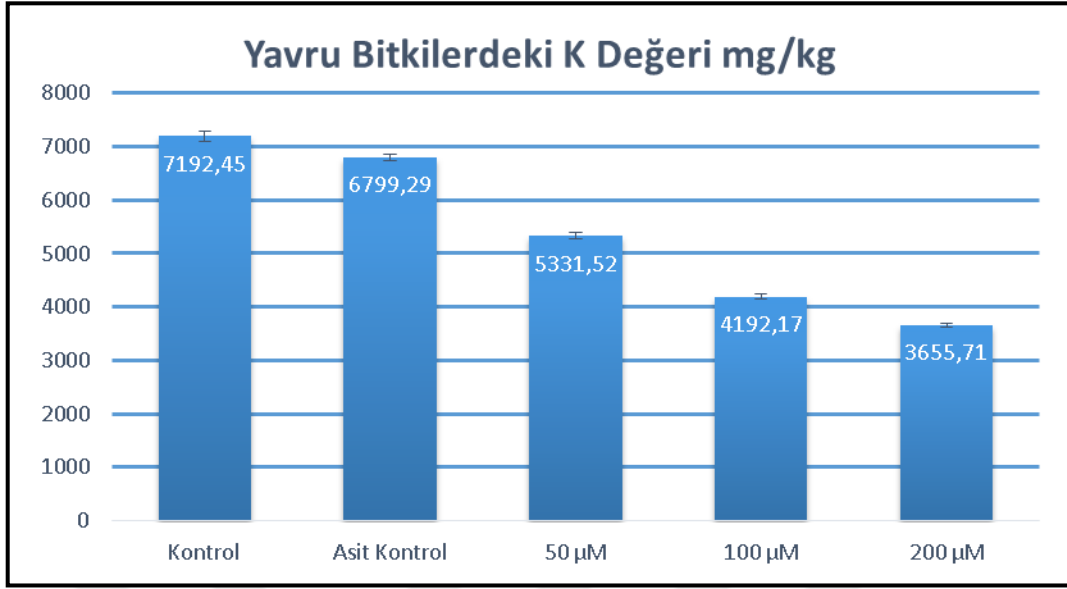
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen Cu değerleri sırasıyla; 4,242, 3,503, 2,206, 1,631 ve 1,143 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.36.).



Şekil 4.36. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde bulunan Cu elementinin miktarları.

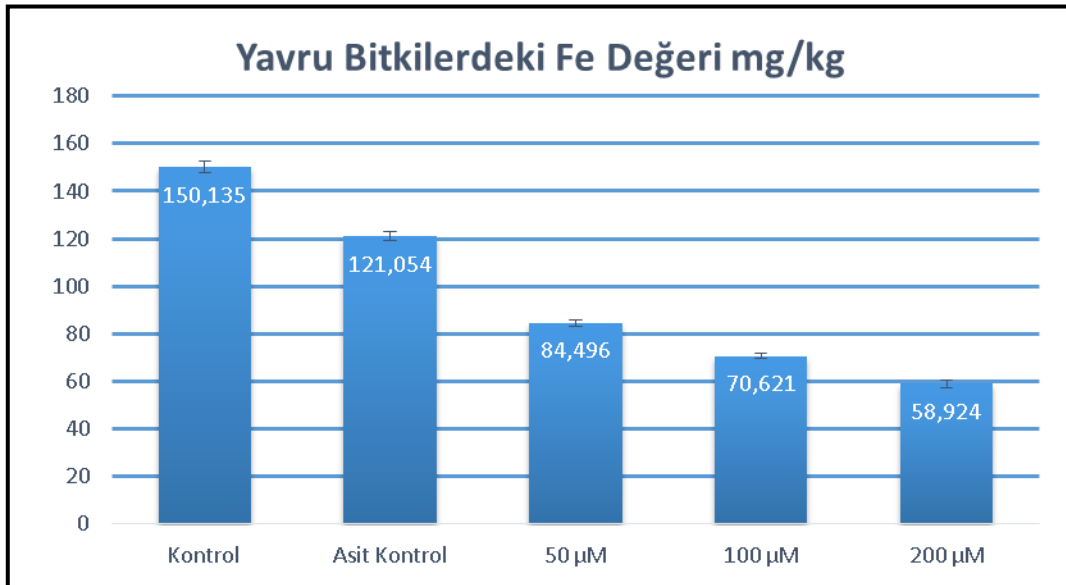
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen K değerleri sırasıyla; 7192,446,

6799,285, 5331,515 4192,172 ve 3655,707 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.37.).



Şekil 4.37. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde K elementinin miktarları.

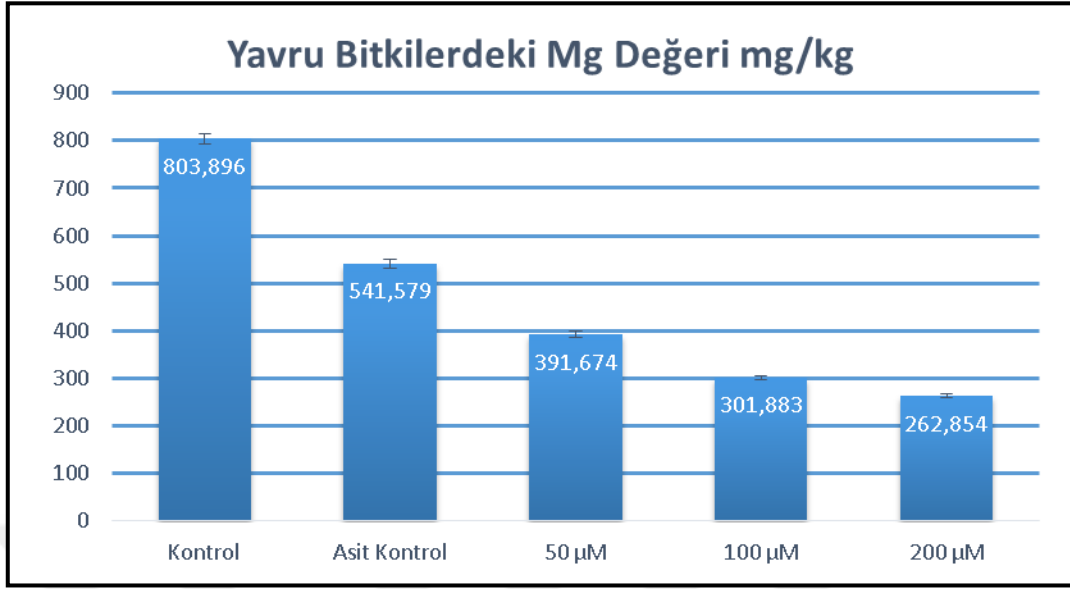
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen Fe değerleri sırasıyla; 150,135, 121,054, 84,496, 70,621 ve 58,924 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.38.).



Şekil 4.38. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Fe elementinin miktarları.

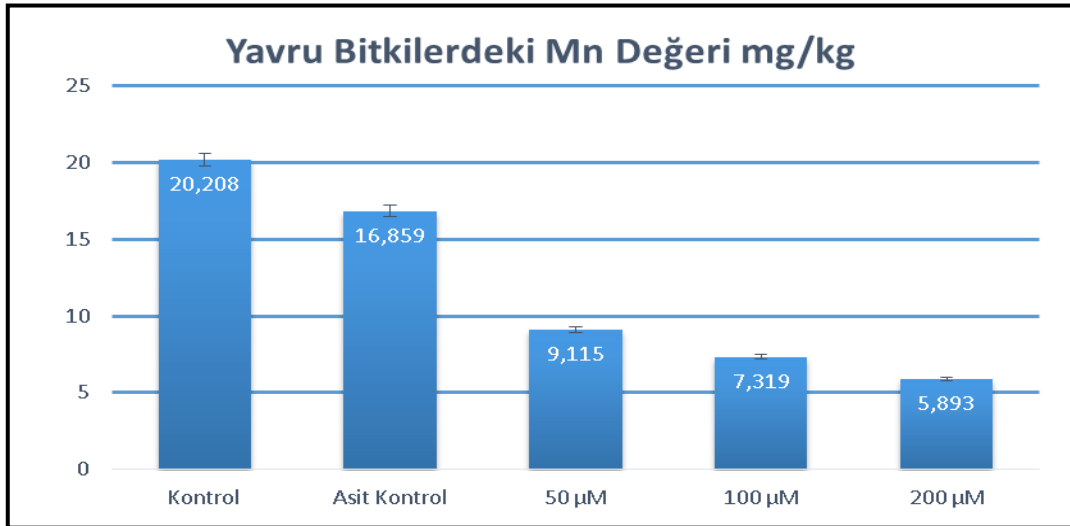
Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen Mg değerleri sırasıyla; 803,896,

541,579, 391,674, 301,883 ve 262,854 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.39.).



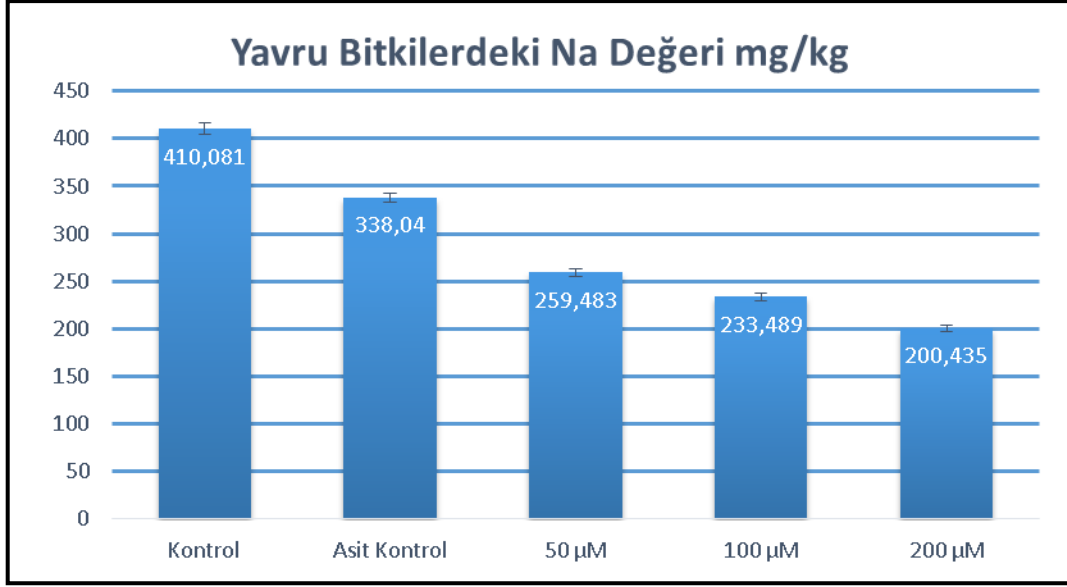
Şekil 4.39. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Mg elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen Mn değerleri sırasıyla; 20,208, 16,859, 9,115, 7,319 ve 5,893 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.40.).



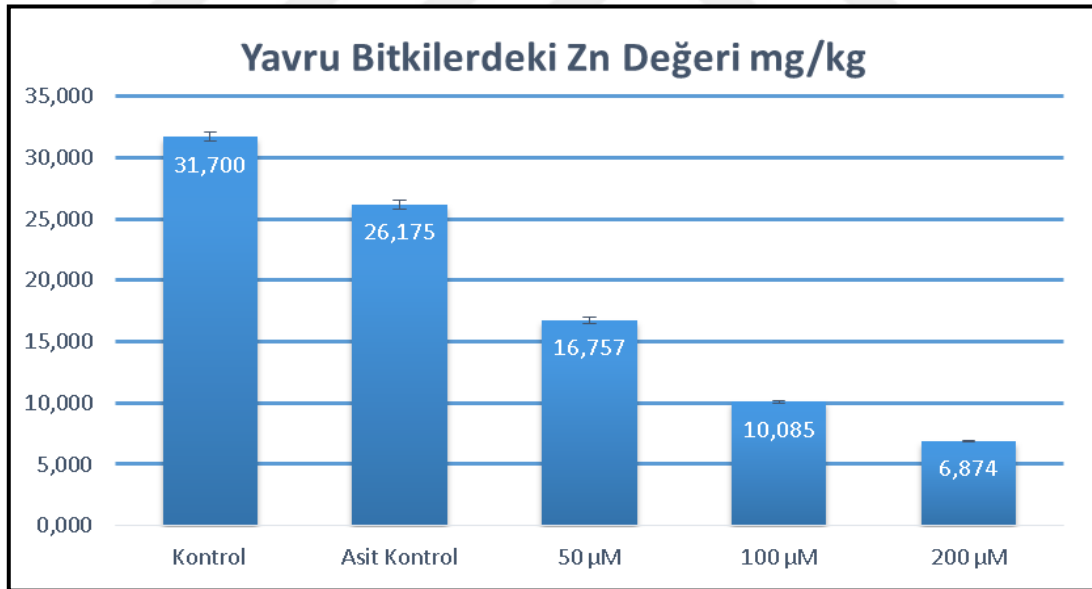
Şekil 4.40. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Mn elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen Na değerleri sırasıyla; 410,081, 338,04, 259,483, 233,489 ve 200,435 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.41.).



Şekil 4.41. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Na elementinin miktarları.

Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerden elde edilen Zn değerleri sırasıyla; 31,7, 26,175, 16,757, 10,085 ve 6,874 mg/kg olarak ölçülmüştür (Şekil 4.42.).



Şekil 4.42. Farklı konsantrasyonlarda Al'a maruz bırakılan *B. daigremontianum* bitkisi yapraklarındaki yavru bitkilerde Zn elementinin miktarları.

Yavru Bitki: Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon gruplarına (50, 100 ve 200 µM AlCl₃) ait bitkilerin yapraklarındaki yavru bitkilerde Al, Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn, Na ve Zn elementlerinin miktar analizleri yapılmıştır.

Bu analizler neticesinde kontrol grubunda elementler Al:0; Ca:4,242; Cu:7192,446; K:150,135; Fe:178,676; Mg:803,896; Mn:20,208; Na:410,081; Zn:31,7 mg/kg olarak ölçülmüştür.

Asit kontrol grubunda elementler Al:7,218; Ca:1835,052; Cu:3,503; K:6799,285; Fe:121,054; Mg:541,579; Mn:16,859; Na:338,04; Zn:26,175 mg/kg olarak ölçülmüştür.

50 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla 10,56; Ca:1406,177; Cu:2,206, K:5331,515; Fe:84,496; Mg:391,674; Mn:9,115, Na:259,483, Zn:16,757 mg/kg olarak ölçülmüştür.

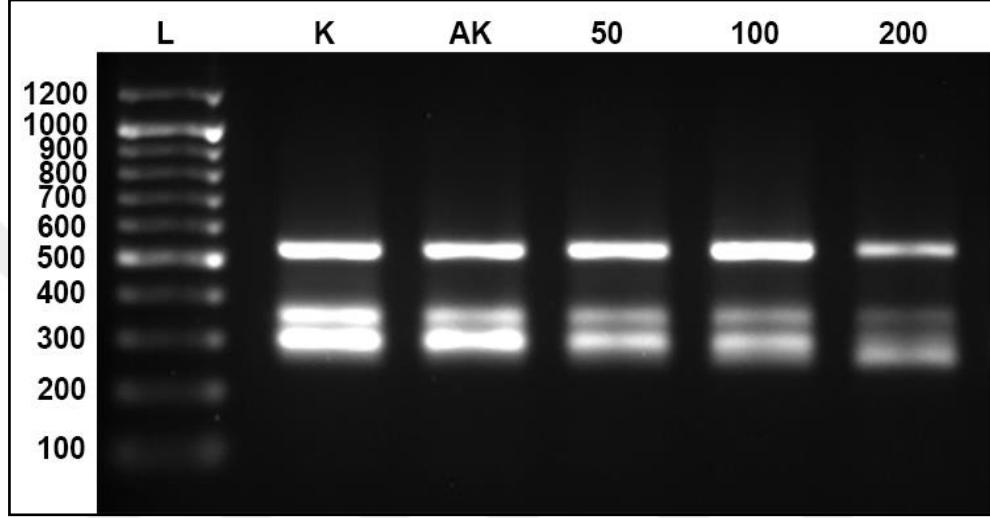
100 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:15,696; Ca:906,348; Cu:1,631; K:4192,172; Fe:70,621; Mg:301,883; Mn:7,319; Na:233,489; Zn:10,085 mg/kg olarak ölçülmüştür.

200 μM AlCl_3 uygulanan bitki grubunda elementler sırasıyla; Al:24,093; Ca:795,438; Cu:1,143; K:3655,707; Fe:58,924; Mg:262,854; Mn:5,893; Na:200,435; Zn:6,874 mg/kg olarak ölçülmüştür.

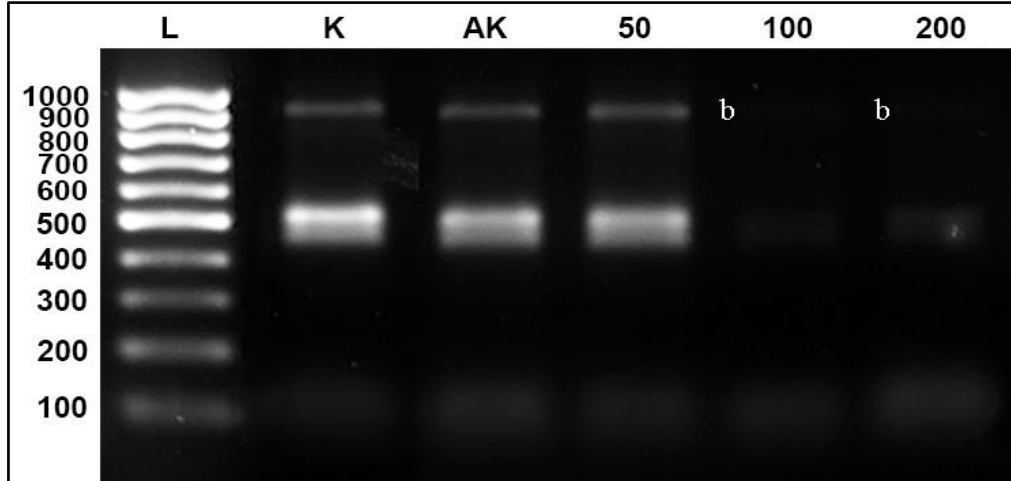
4.4 AL STRESİNE MARUZ KALMIŞ *B. DAIGREMONTIANUM* BİTKİSİNDE GENOTOKSİK BULGULAR

4.4.1 ISSR-PZR Analiz Sonuçları

Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ (50, 100 ve 200 μM) uygulanan *B. daigremontianum* bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın ISSR-PZR sonuçları Şekil 4.43. ve Şekil 4.44. ile gösterilmektedir.



Şekil 4.43. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ (L: ladder, K: Kontrol, AK: Asit kontrol, 50 μM , 100 μM ve 200 μM) uygulanan *B. daigremontianum* bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın ISSR-PZR sonuçları (2. Primer).



Şekil 4.44. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ (L: ladder, K: kontrol, AK: asit kontrol, 50 μM , 100 μM ve 200 μM) uygulanan *B. daigremontianum* bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın ISSR-PZR sonuçları (7. Primer).

Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde ISSR-PZR yönteminin kullanılması ile elde edilen bant sayıları ve değişen bantların moleküler büyüklükleri Tablo 4.1. de gösterilmektedir.

Tablo 4.1. Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde ISSR-PZR yöntemi ile elde edilen bant sayıları ve bantların moleküler büyüklükleri² (2. Primer).

2.Primer (GAGAGAGAGAGAGAC)	Toplam Bant Sayısı	a	b	A	B
Kontrol	3	-	-	-	-
Asit Kontrol	3	-	-	-	-
50 µM AlCl₃ Uygulaması	3	-	-	-	-
100 µM AlCl₃ Uygulaması	3	-	-	-	-
200 µM AlCl₃ Uygulaması	3	-	-	-	-

Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde ISSR-PZR yönteminin kullanılması ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve kontrole göre değişen yoğunlukları Tablo 4.2. de gösterilmiş olup, kontrole göre artış meydana gelen bantlar gri renk ile gösterilmektedir.

Tablo 4.2. Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde ISSR-PZR yöntemi ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve değişen yoğunlukları (2. Primer).

ISSR Primer 2	Kontrol Grubuna Göre Değişen Bant Yoğunlukları			
	Asit Kontrol	50 µM AlCl₃ Uygulaması	100 µM AlCl₃ Uygulaması	200 µM AlCl₃ Uygulaması
Bantların Moleküler Büyükülüğü				
518	%2,91	%5	%5	%30
351	%20,08	%38,03	%46,15	%74,35
303	%2,88	%20,98	%28,80	%47,32

Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde ISSR-PZR yönteminin kullanılması ile elde edilen bant sayıları ve değişen bantların moleküler büyüklükleri Tablo 4.3. de gösterilmektedir.

² a: yeni oluşan bantlar, b: kaybolan bantlar, A: yeni bantların molekül büyüklükleri, B: kaybolan bantların molekül büyüklükleri.

Tablo 4.3. Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde ISSR-PZR yöntemi ile elde edilen bant sayıları ve bantların moleküler büyüklükleri (7. Primer).

7. Primer (ACACACACACACACG)					
Gruplar	Toplam Bant Sayısı	a	b	A	B
Kontrol	3	-	-	-	-
Asit Kontrol	3	-	-	-	-
50 µM AlCl ₃ Uygulaması	3	-	-	-	-
100 µM AlCl ₃ Uygulaması	2	-	1	-	903 bç
200 µM AlCl ₃ Uygulaması	2	-	1	-	903 bç

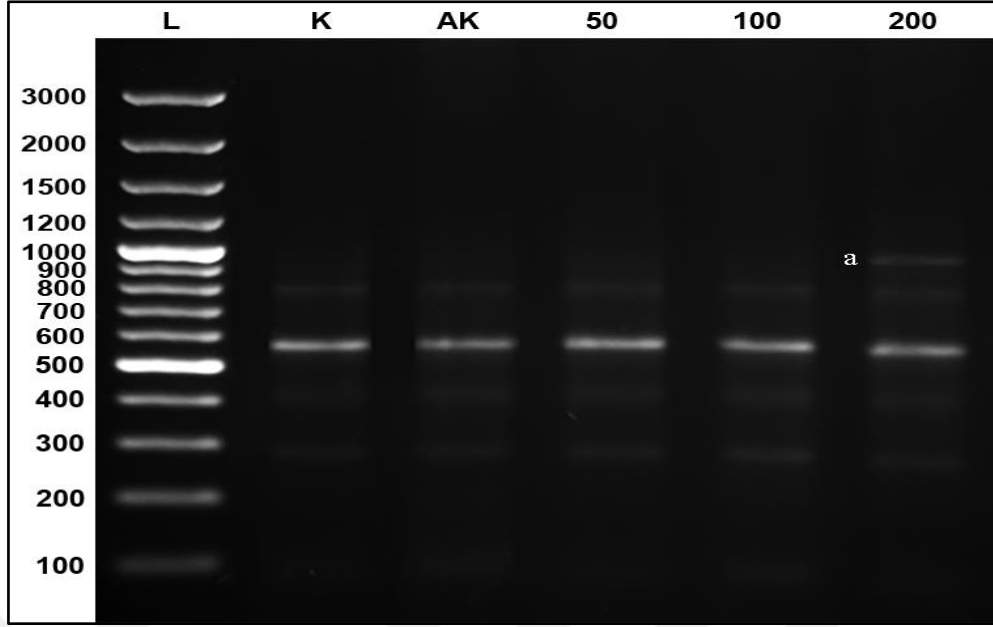
Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde ISSR-PZR yönteminin kullanılması ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve kontrole göre değişen yoğunlukları Tablo 4.4. de gösterilmiş olup, kontrole göre artış meydana gelen bantlar gri renk ile gösterilmektedir.

Tablo 4.4. Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde ISSR-PZR yöntemi ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve değişen yoğunlukları (7. Primer).

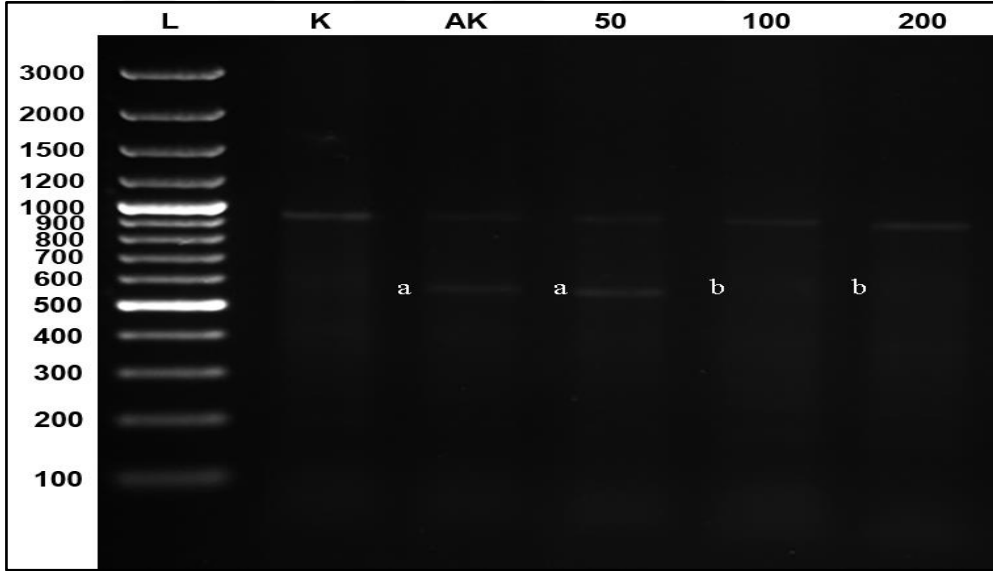
ISSR Primer 7	Kontrol Grubuna Göre Değişen Bant Yoğunlukları			
	Asit Kontrol	50 µM AlCl ₃ Uygulaması	100 µM AlCl ₃ Uygulaması	200 µM AlCl ₃ Uygulaması
903	%11,29	%6,45	%87,90	%87,90
481	%22,58	%28,57	%94	%89,40
100	%2,88	%20,98	%28,80	%47,32

4.4.2 RAPD-PZR Analiz Sonuçları

Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ (50, 100 ve 200 µM) uygulanan *B. daigremontianum* bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın RAPD-PZR sonuçları Şekil 4.45. ve Şekil 4.46. ile gösterilmektedir.



Şekil 4.45. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ (L: ladder, K: kontrol, AK: asit kontrol, 50 μM , 100 μM , 200 μM) uygulanan *B. daigremontianum* bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın RAPD-PZR sonuçları (8. Primer).



Şekil 4.46. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ (L: ladder, K: kontrol, AK: asit kontrol, 50 μM , 100 μM , 200 μM) uygulanan *B. daigremontianum* bitki yapraklarından izole edilen DNA'nın RAPD-PZR sonuçları (9. primer).

Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde RAPD-PZR yönteminin kullanılması ile elde edilen bant sayıları ve değişen bantların moleküler büyüklükleri Tablo 4.5. de gösterilmektedir.

Tablo 4.5. Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde PZR-RAPD yöntemi ile elde edilen bant sayıları ve bantların moleküler büyüklükleri (8. primer).

8. Primer (GGTGGTGATG)					
Gruplar	Toplam Bant Sayısı	a	b	A	B
Kontrol	4	-	-	-	-
Asit Kontrol	4	-	-	-	-
50 µM AlCl₃ Uygulaması	4	-	-	-	-
100 µM AlCl₃ Uygulaması	4	-	-	-	-
200 µM AlCl₃ Uygulaması	5	1	-	983 bç	-

Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde RAPD-PZR yönteminin kullanılması ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve kontrole göre değişen yoğunlukları Tablo 4.6. de gösterilmiş olup, kontrole göre artış meydana gelen bantlar gri renk ile gösterilmektedir.

Tablo 4.6. Farklı konsantrasyonlarda AlCl₃ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde RAPD-PZR yöntemi ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve değişen yoğunlukları (8. Primer).

RAPD Primer 8	Kontrol Grubuna Göre Değişen Bant Yoğunlukları			
Bantların Moleküler Büyüklüğü	Asit Kontrol	50 µM AlCl₃ Uygulaması	100 µM AlCl₃ Uygulaması	200 µM AlCl₃ Uygulaması
983 bç	-	-	-	Yeni Bant
793 bç	%2,27	%9,09	%11,36	%9,09
585 bç	%20,76	%5,38	%1,53	%14,61
393 bç	%9,52	%14,28	%23,80	%14,28
294 bç	0	%15,78	%28,94	%21,05

Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde RAPD-PZR yönteminin kullanılması ile elde edilen bant sayıları ve değişen bantların moleküler büyüklükleri Tablo 4.7. de gösterilmektedir.

Tablo 4.7. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde RAPD-PZR yöntem ile elde edilen bant sayıları ve değişen bantların moleküler büyüklükleri (9. primer).

9. Primer (AAAGTGCGGC)					
Gruplar	Toplam Bant Sayısı	a	b	A	B
Kontrol	1	-	-	-	-
Asit Kontrol	2	1	-	563 bç	-
50 μM $AlCl_3$ Uygulaması	2	1	-	563 bç	-
100 μM $AlCl_3$ Uygulaması	1	-	1	-	563 bç
200 μM $AlCl_3$ Uygulaması	1	-	1	-	563 bç

Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde RAPD-PZR yönteminin kullanılması ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve kontrole göre değişen yoğunlukları Tablo 4.8. de gösterilmiştir. Kontrole göre artış meydana gelen bantlar gri renk ile gösterilmektedir.

Tablo 4.8. Farklı konsantrasyonlarda $AlCl_3$ uygulanan *B. daigremontianum* bitkilerinde RAPD-PZR yöntemi ile elde edilen bantların moleküler büyüklükleri ve kontrole göre değişen yoğunlukları (9. Primer).

RAPD Primer 9	Kontrol Grubuna Göre Değişen Bant Yoğunlukları			
Bantların Moleküler Büyüklüğü	Asit Kontrol	50 μM $AlCl_3$ Uygulaması	100 μM $AlCl_3$ Uygulaması	200 μM $AlCl_3$ Uygulaması
892 bç	%47,85	%32,14	%17,85	%7,14
563 bç	-	Yeni Bant	Yeni Bant	

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Bryophyllum daigremontianum* bitkisinin farklı konsantrasyonlardaki Al stresinden nasıl etkilendiği ve bu stresin bitkide meydana getirdiği fizyolojik, mineral besleme ve genotoksik etkileri araştırılmıştır.

Bu çalışma ile ilk defa *B. daigremontianum* ve Al stresinin doğurduğu etkiler; fizyolojik, mineral beslenme ve genotoksisite bağlamında ele çalışılmış, bitkinin klonu olan yavru bitkilerinde de mineral beslenme özellikleri araştırılmış olması yine bir ilktir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar açıkça ortaya koymuştur ki; *B. daigremontianum*'un yavru bitki, yaprak, gövde ve köklerindeki makro ve mikro besin element içeriklerinde Al ile muamele sonucunda olumsuz yönde değişiklikler olmuştur. *B. daigremontianum* bitkisine farklı konsantrasyonlarda uygulanan Al stresi neticesinde kök, gövde, yaprak ve yavru bitkilerinde mineral besin alımları şu şekilde değerlendirilebilir:

Al element alımı, konsantrasyon (50, 100 ve 200 μM AlCl_3) grupları açısından değerlendirildiğinde, bitkinin bütün kısımları tarafından alındığı, bitki kısımlarından kökte en fazla biriktiği ancak, yapraktaki Al birikiminin gövdeye oranla çok daha fazla olduğu ve genel olarak yavru bitkiye doğru elementin birikiminde azalma olduğu görülmüştür. Asit kontrol grubunda ise AlCl_3 verilmediği halde toprakta az miktarda bulunan Al elementinin alımı kontrol grubuna kıyasla daha fazla olmuştur. Al toprakta doğal olarak (% 8 oranında) bulunduğundan, verilen asit ile beraber topraktaki çözünürlüğü artarak bitki tarafından alınabilir hale geldiği düşünülmekte olup bu durum diğer çalışmalarla uyumludur (Dogan ve diğ. 2014, Ozyigit ve diğ. 2013). Asit kontrol grubu için bitki kısımlarından kökte, Na miktarının en fazla olduğu ancak bitkinin üst kısımlarına doğru çıkıldıkça söz konusu elementin miktarında azalma olduğu ve en az Na miktarının ise yavru bitkilerde olduğu görülmüştür. Sonuç olarak Al iyonları en çok kök tarafından alınmış olup, sıralama kök>yaprak>gövde>yavru bitki şeklindedir.

Bitki besin elementleri açısından değerlendirildiğinde ise; Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn ve Zn değerleri bütün bitki kısımlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uygulanan Al konsantrasyonunun (50, 100 ve 200 μM) artmasına bağlı olarak azalmıştır. Asit kontrol grubunun kontrol ile 50 μM grubu arasında bir değere denk bir etkiye sahip olduğu ve sonuçta; Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn ve Zn değerlerinde; asit kontrol, 50, 100 ve 200 μM

yönünde bir düşüşün olduğu görülmektedir. Bitki besin elementlerinden, Na elementinin kontrol grubunun köklerinde en düşük değerini aldığı, asit kontrol grubunda en yüksek değerde olduğu ve 200 µM konsantrasyon grubuna doğru, Al konsantrasyonu arttıkça Na değerlerinde düşüş olduğu saptanmıştır. Ayrıca, kökte diğer bitki kısımlarına nazaran daha fazla miktarda alım olduğu görülmektedir. Bu durum kullanılan asitin topraktaki Na'nın bitki kökleri tarafından kontrol grubuna kıyasla bol miktarda alınmasını sağladığını göstermektedir. Deney gruplarında artan Al konsantrasyonuna bağlı olarak Na alımında asit kontrole göre bir düşüş görülürken, bu miktar kontrol grubu seviyelerine düşmemiştir. Sonuç olarak, Al bitki besin element alımlarını negatif bir şekilde etkilemiş; ancak bitki çeşitli stratejiler geliştirerek gerekli mineralleri almaya çalışmıştır. Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn ve Zn değerlerinin bitki kısımlarından kökte alımının en fazla olduğu bitkinin üst kısımlarına doğru çıkıldıkça azaldığı görülmekle beraber gövdede bu durum sekteye uğramış olup, diğer bölgelere göre en az alımın yavru bitkilerde olduğu görülmüştür. Diğer bir değişle; yapraktaki Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn ve Zn elementlerinin birikimi gövdeye oranla çok daha fazladır.

Yapılan çalışmalar Al'un kök hücrelerinin genişlemesini ve kök hücre duvarının yapısal ve mekanik özelliklerini etkileyerek bütün kök yapısında derin değişikliğe neden olduğunu göstermektedir. Kök büyümesinin yavaşlaması, Al stresinin ilk ve en önemli etkisidir ki, bu etki mikromolar seviyelere maruz kalan bitkilerde dakikalar içerisinde gözlemlenmiştir. Bu durum topraktan suyun ve diğer besin elementlerinin alımını azaltmaktadır. Literatüre göre bitki, besin elementlerinin alımını bitkiler için kabul edilebilir sınırlarda gerçekleştirmiştir. Diğer çalışmalarda da, Al konsantrasyonunun artması ile birlikte Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn ve Zn içeriğinde azalma meydana gelmiş olup, bu durum çalışmamızla uyumludur (Liu ve Luan 2001, Graham 2001, Rengel 2004, Baligar ve Fageria 2005, Kochian ve diğ. 2005, Sivaguru ve diğ. 2006, Kabata-Pendias 2007, Valle ve diğ. 2011, Giannakoula ve diğ. 2008, Vardar ve diğ. 2016).

Klorofil *a*, klorofil *b*, karotenoid, klorofil *a/b* ve total klorofil değerlerine bakıldığında kontrol grubu; asit kontrol grubu ve konsantrasyon grupları ile kıyaslandığında sırasıyla; klorofil *a* % 6,57, 3,61, 8,88, 8,22; klorofil *b* % 22,11, 21,60, 21,60, 1,00; toplam klorofil % 11,76, 11,96, 21,60, 11,37; karotenoid değişme yok, % 7,03, 6,25, 7,81; olarak genel bir düşüş olduğu klorofil *a/b* oranlarında ise % 4,19, 15,05, 12,75, 12,29 şeklinde genel olarak arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ,4.4 ve 4.5). Azalan

klorofil içeriği Al toksisite indikatörü olarak kabul edilmektedir (Ozyigit ve diğ. 2013). Al elektron akışını düşürerek ve klorofil içeriğini azaltarak fotosentezi negatif yönde etkilemektedir. Yapraktaki klorofil içeriği azalmasının Al kaynaklı oksidatif zarar neticesinde meydana geldiği düşünölmektedir. Ayrıca, birçok bitkide yapılan çalışmada Al stresinden kaynaklı klorofil içeriğinin azaldığı, karotenoid miktarlarında klorofilde olduğu gibi, konsantrasyonunun artmasına bağlı azaldığı rapor edilmiş olup bu durum çalışmamızla uyumludur (Barbanas ve diğ. 2000, Tabaldi ve diğ. 2007, Zhang ve diğ. 2008, Azmat ve Hasan 2008). Ozyigit ve arkadaşları (2013), pamuk bitkisinde yaptıkları bir çalışmada 0, 100 ve 200 µM konsantrasyonlarında AlCl₃ uygulamış ve klorofil ve karotenoid miktarlarında düşüş gözlemlemişlerdir. Yine Ozyigit ve arkadaşları (2016), *B. daigremontianum* bitkisini 0, 50, 100, 200 and 400 µM CdCl₂ konsantrasyon grupları ile muamele etmiş, klorofil ve karotenoid miktarlarında konsantrasyon artışına bağlı azalma olduğunu ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak, bitkinin klorofil ve karotenoidlerinin devam eden temel metabolik aktivitelerini gerçekleştirmesine izin verecek kadar etkilendiği ve böylelikle bu gibi negatif büyüme koşullarında hayatta kalmayı başardığı görölmüşür.

Biyotik ya da abiyotik koşullar altında bitkiler koruyucu ve adapte olmayı sağlayan mekanizmalar geliştirmiştir. Abiyotik koşullar (kuraklık, tuz, soğuk, sıcak, kimyasal bileşikler ve diğerleri) altında stres proteinleri homeostasinin devamlılığının sağlanmasında oldukça önemlidir (Wang ve diğ. 2004, Vinocur ve Altman 2005). *Brassica campestris* var. *olifera* tohumlarına soğuk stresi (7 gün süresince günde 2 saat) uygulanmış ardından tohumların yeşil kısımlarında protein ekstraksiyonu yapılmış ve total protein miktarının kontrol grubuna göre arttığı gözlenmiştir (Kosakivska ve diğ. 2008). Bir CAM bitkisi olan *Aleo vera* bitkisinde yapılan bir çalışmada ise uygulanan; 0, 30, 60, 90 ve 120 mM NaCl stres gruplarında (51 gün boyunca) kontrole göre total protein miktarında yükselme olduğu ortaya konmuştur (Murillo-Amador ve diğ. 2014, Salinas ve diğ. 2016). Çalışmamızda da total protein miktarında konsantrasyona bağlı olarak artma meydana geldiği gözlenmiş olup, bu hafif artış stres proteinlerinin biyosentezi veya antioksidan enzimlerin artışı ile ilişkilendirilebilir (Şekil 4.6).

RAPD analizi için 25 farklı primer kullanılarak Al'un çeşitli konsantrasyonlarına maruz bırakılmış *B. daigremontianum* yaprak hücrelerinden ekstraksiyonu yapılan genomik DNA'ların amplifikasyonları gerçekleştirilmiştir. 25 primerden 15'i (~%60) güçlü bant motifi ortaya çıkarmasına rağmen 10 primer genomik DNA'nın amplifikasyonunda

fonksiyonel olamamıştır. AAAGTGCGGC (RAPD 9. primer Sentegen®) dizisine sahip primer kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri 563-892 bp arasında değiştiği ortaya konmuştur. AAAGTGCGGC dizisine sahip primer Al'a maruz kalmış ve kalmamış (kontrol ve asit kontrol) örnekler arasında birbirlerinden ayrılabilir bant profillerinin içinde 7 tane tekrar oluşturulabilen bantların ortaya çıkışını sağlamıştır. Temsili RAPD profilleri Tablo 4.7'de gösterilmektedir. Al'a maruz kalmış ve kalmamış bitkilerden elde edilen DNA parmakizleri karşılaştırıldığında birbirlerinden farklı olduğu açık bir şekilde görülmektedir. Al'a maruz kalan DNA parmakizi profilleri ile kontrol ve asit kontrol grubunu DNA parmakizleri arasındaki temel farklılığa sebep olan olaylar bazı varolan bantların kaybolması ve bazı yeni bantların oluşmasıdır. Al maruz kalmış ve maruz kalmamış *B. daigremontianum* bitkileri Tablo 4.7'de ve Şekil 4.46'da karşılaştırılmıştır. Asit kontrol ve 50 konsantrasyon gruplarında yeni oluşan ve 100 ve 200 µM'lik Al stresi uygulamalarında kaybolan bantın moleküler büyüklüğü yaklaşık olarak 563 bp'dir. Bant yoğunluklarında kontrole göre genel bir düşüş olmakla birlikte en fazla düşüşün asit kontrol grubunda meydana geldiği ve 200 µM'da ise en az olduğu ve 200 µM yönünde azalma meydana geldiği görülmektedir (Tablo 4.8).

GGTGGTGATG (RAPD 8. primer Sentegen®) dizisine sahip primer kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri 100-983 bp arasında değiştiği ortaya konmuştur. GGTGGTGATG dizisine sahip primer Al'a maruz kalmış ve kalmamış örnekler arasında birbirlerinden ayrılabilir bant profillerinin içinde 20 tane tekrar oluşturulabilen bantların ortaya çıkışını sağlamıştır. Temsili RAPD profilleri Tablo 4.5'de gösterilmektedir. Al'a maruz kalmış ve kalmamış bitkilerden elde edilen DNA parmakizleri karşılaştırıldığında birbirlerinden farklı olduğu açık bir şekilde görülmektedir. Al'a maruz kalan DNA parmakizi profilleri ile kontrol ve asit kontrol gruplarının DNA parmakizleri arasındaki temel farklılığa sebep olan olaylar bazı varolan bantların kaybolması ve bazı yeni bantların oluşmasıdır. Al'a maruz kalmış ve maruz kalmamış *B. daigremontianum* bitkileri Tablo 4.5'te ve Şekil 4.45'te karşılaştırılmıştır. 50, 100 ve 200 µM'lik konsantrasyon grubunda yeni oluşan bantın moleküler büyüklüğü yaklaşık olarak 983 bp'dir. Bant yoğunluklarında ise kontrole göre bütün bantlarda artışlar meydana geldiği görülmüştür (Tablo 4.6).

B. daigremontianum'da yapılan başka bir çalışmada, kadmiyumun genotoksitesini araştırılmış ve DNA hasarlarının tespitinde RAPD tekniği kullanılmıştır. Yetiştirilen bitkilere 2 ay boyunca kadmiyum (CdCl₂) stresi 0, 50, 100, 200 and 400 µM

uygulamalarına maruz bırakılmış, kontrol ve konsantrasyon gruplarında belirgin olarak bant çeşitleri, bant yoğunluklarında azalma ve artmalar elde edilmiştir (Ozyigit ve diğ. 2016). OPA08 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri 123-822 bç arasında değiştiği ortaya konmuştur. 100 µM konsantrasyonunda 123 bç moleküler büyüklüğünde bant yoğunluğu azalırken; 50, 200 ve 400 µM CdCl₂ uygulamalarının 402 ve 648 bç moleküler büyüklüklerinde artmıştır. Ekstra bant oluşumu 50, 200 ve 400 µM konsantrasyon gruplarında oluşmuş olup bunların moleküler büyüklükleri 286, 312, 348 ve 822 bç olup, buna karşın normal bantlarda kaybolma görülmemiştir (Ozyigit ve diğ. 2016).

Yapılan bir diğer çalışmada, mısırdaki (*Zea mays* L.) kadmiyumun genotoksitesini araştırılmış ve DNA hasarlarının tespitinde RAPD tekniği kullanılmıştır. Laboratuvar şartlarında mısır tohumları çimlendirilmiş ve daha sonra üç günlük mısır fidelerine 7 gün boyunca 40 ve 80 mgL⁻¹ Cd' a (CdN₂O₆.9H₂O₂ formunda) maruz bırakılmıştır (Shahrtash ve diğ. 2010). Yetiştirilmiş ve Cd stresine maruz bırakılmış mısır bitkisi fidelerinin kontrol ve konsantrasyon gruplarında belirgin olarak bant çeşitleri ve bant yoğunluklarında azalma ve artmalar elde edilmiştir. Örneğin OPA02 primeri kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri 221-1679 bç arasında değiştiği ortaya konmuştur. 40 mgL⁻¹ konsantrasyonunda kontrole kıyasla 1205, 874, 513, 221 bç moleküler büyüklüğündeki bantlarda kaybolma meydana gelirken ekstra bant oluşumu gözlenmemiştir. 80 mgL⁻¹ konsantrasyon grubuna bakıldığında ise 900 bç moleküler büyüklüğünde ekstra bant oluşumu gözlenmiş olup kaybolan bantlar; 1205, 874, 513, 221 bç moleküler büyüklüklerindedir. OPA02 primerinde ise elde edilen bantların büyüklüklerinin 1197-717 bç arasında değiştiği ve kontrollle kıyaslandığında 40 mgL⁻¹ konsantrasyon grubunda ekstra bant oluşumunun olmadığı, ancak 1197 ve 717 bç moleküler büyüklüklerinde bantların kaybolduğu gözlenmiştir. 80 mgL⁻¹ konsantrasyon grubuna bakıldığında ise ekstra bant oluşumunun ve bant kaybolmasının meydana gelmediği görülmektedir.

Bir başka çalışmada, RAPD analizi için 7 farklı primer kullanılarak kurşun stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış (kontrol) çavdar kök hücrelerinden ekstraksiyonu yapılan genomik DNA'ların amplifikasyonları gerçekleştirilmiştir. 7 primerden 4'ü (~%57) güçlü bant motifi ortaya çıkarmasına rağmen 3 primer genomik DNA'nın amplifikasyonunda işlevsiz kalmıştır. CTG AGG TCTC (RAPD İontek®) dizisine sahip

primer kurşuna maruz kalmış ve kalmamış örnekler arasında birbirlerinden ayrılacak bant profillerinin içinde 15 tane tekrar oluşturulabilen güçlü bantların meydana geldiği görülmüştür. Kurşun stresi uygulanmış ve uygulanmamış bitkilerden sağlanan DNA örnekleri karşılaştırıldığında birbirlerinden farklı olduğu açık bir şekilde ortaya konmuştur. Kurşun stresi uygulanmış DNA örnekleri ile kontrol grubuna ait DNA örnekleri arasındaki temel farklılığa sebep olan olaylar, bazı varolan bantların kaybolması ve bazı yeni bantların meydana gelmesidir. 100 ve 200 µM'lik kurşun stresine maruz kalan gruplarda yeni ortaya çıkan bantların moleküler büyüklükleri yaklaşık olarak 949, 965 ve 761 bç'dir. 200 ve 400 µM'lik kurşun stresine maruz kalan gruplarda kaybolan bantların moleküler büyüklükleri ise yaklaşık olarak 311 ve 1073 bç'dir (İğdelioğlu 2014).

Çimlenme aşamasındaki fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) bitkisi; Hg, B, Cr ve Zn toksik elementlerine 150 ve 350 ppm konsantrasyonları uygulanmış ve RAPD tekniğinden faydalanılarak fasulye kök ve yapraklarında olası DNA hasarları saptanmıştır. RAPD analizlerinde 12 primer kullanılmış ve DNA profilleri elde edilmiştir. Toplam bant sayısının 120 olduğu ve DNA bantlarının büyüklüğünün 263–3125 bç arasında değiştiği ortaya konmuştur. Hg, B, Cr ve Zn toksik elementleri ile muamelenin sonucunda elde edilen polimorfizm oranları sırasına göre %26,7, 45,8, 30,0 ve 25,3 olduğu tespit edilmiştir (Cenkci ve diğ. 2009). Bir diğer çalışmada ise buğday (*Triticum aestivum*) bitkisinde, bor elementinin (H₃BO₃) genotoksik etkisi RAPD tekniği ile kontrol edilmiş ve 100 ppm dozajındaki muamelesinde önemli DNA değişimleri ortaya konmuştur (Kekec ve diğ. 2010).

ISSR analizi için 15 farklı primer kullanılarak Al'a çeşitli konsantrasyonlarına maruz bırakılmış *B. daigremontianum* yaprak hücrelerinden ekstraksiyonu yapılan genomik DNA'ların amplifikasyonları gerçekleştirilmiştir. 15 primerden 10'u (%66) güçlü bant motifi meydana getirmesine karşın 5 primer genomik DNA'nın amplifikasyonunda işlevsiz kalmıştır. GAGAGAGAGAGAGAC (ISSR 2. primer Sentegen®) dizisine sahip primer kullanılarak elde edilen bantların büyüklüklerinin 303-518 bç arasında değiştiği ortaya konmuştur. GAGAGAGAGAGAGAC dizisine sahip primer Al'a maruz kalmış ve kalmamış örnekler arasında birbirlerinden ayrılacak bant profillerinin içinde 15 tane tekrar oluşturulabilen bantların oluşumunu sağlamıştır. Temsili ISSR profilleri Tablo 4.1'de gösterilmektedir. Al'a maruz kalmış ve kalmamış

bitkilerden elde edilen DNA örnekleri karşılaştırıldığında birbirlerinden farklı olduğu apaçık görülmektedir. Al'a maruz kalmış ve maruz kalmamış *B. daigremontianum* bitkileri Tablo 4.1'de ve Şekil 4.43'te karşılaştırılmıştır. Kontrol, asit kontrol ve konsantrasyon grupları yeni oluşan ve kaybolan bantların olmadığı, ancak Al konsantrasyonunun artması ile bant yoğunluklarında belirgin bir azalma oluğu açıkça görülmektedir (Tablo 4.2).

ACACACACACACACACG (ISSR 7. primer Sentegen®) dizisine sahip primer kullanılarak elde edilen bantların büyüklükleri 100-903 bç arasında değiştiği ortaya konmuştur. ACACACACACACACACG dizisine sahip primer Al'a maruz kalmış ve kalmamış örnekler arasında birbirlerinden ayrılabilir bant profillerinin içinde 13 tane tekrar oluşturulabilen bantların oluşumunu sağlamıştır. Temsili ISSR profilleri Tablo 4.3'de gösterilmektedir. Al'a maruz kalmış ve kalmamış bitkilerden elde edilen DNA örnekleri karşılaştırıldığında birbirlerinden farklı olduğu apaçık görülmektedir. Al'a maruz kalan DNA parmakizi profilleri ile kontrol ve asit kontrol gruplarının DNA parmakizleri arasındaki temel farklılığa sebep olan olaylar bazı varolan bantların kaybolması ve bazı yeni bantların oluşmasıdır. Al maruz kalmış ve maruz kalmamış *B. daigremontianum* bitkileri Tablo 4.3'de ve Şekil 4.44'de karşılaştırılmıştır. 100 ve 200 µM'lık konsantrasyon grubunda kaybolan bantların moleküler büyüklüğü yaklaşık olarak 903 bç olup, bant yoğunluklarında kontrole göre genel bir düşüş olmakla birlikte 100 ve 200 µM'lık konsantrasyon gruplarında bu düşüş oldukça belirgindir (Tablo 4.4).

Yapılan bir çalışmada, *Plantago* cinslerinde Al genotoksitesisi araştırılmış ve DNA hasarlarının tespitinde ISSR tekniği kullanılmıştır. Yetiştirilen iki farklı *Plantago* cinsinde (*Plantago almogravensis* ve *Plantago lagopus* L.) 400 µM konsantrasyonunda 7 ve 21 gün olmak üzere kontrole karşı ve iki farklı sürede Al stresi uygulanmıştır. 10 ISSR primerinde polimorfik DNA bantları meydana gelmiştir. *P. almogravensis*, bitkisinde Al'un varlığında total bant sayısının kökte 257 ve yaprakta 255 olduğu görülürken kontrol grubunda ise kökte 258 ve yaprakta 265 bant oluşmuştur. *P. Lagopus* türünde ise total bant sayısının Al varlığında yaprakta 279 ve kökte 275 kontrol grubunda ise yaprakta 278 ve kökte 274 bant oluştuğu görülmüştür. ISSR profillerindeki bu değişiklikler Al etkisinin ISSR markırları tarafından belirlenmesinde iyi bir araç olduğunu göstermektedir (Correia ve diğ. 2014).

Al konsantrasyonundaki artış ile birlikte *B. daigremontianum* bitkisinde total protein miktarlarında artma olmakla beraber fotosentetik pigment içeriklerinde düşüş meydana geldiği ve genel anlamda mineral besin elementlerinde de düşüşler olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6). RAPD ve ISSR profil sonuçlarımıza göre yeni bantların ortaya çıkışı, kayboluşu ve bant yoğunluklarındaki azalmalar genellikle 50, 100, ve 200 µM Al konsantrasyon gruplarında ortaya çıkmıştır. Yeni bantların ortaya çıkışı, kayboluşu ve bant yoğunluklarındaki azalmalar DNA'da oluşan hasarın seviyesi ile alakalı olarak meydana gelmiş olabilir. Bu çalışma ile birlikte toksik bir metal olan Al'un bitkisel bir organizmanın karakterlerini etkilediği gösterilmiştir.

Uzun süre Al ile etkileşime maruz kalınması, hücre çekirdeğindeki DNA yapısını etkilemektedir. Alüminyum DNA'ya veya kromatine bağlanarak hücre bölünmesini engelleyebilmektedir (Matsumoto 2000, Bojórquez-Quintal ve diğ. 2014). Soya fasulyesiyle yapılan bir deneyde, düşük alüminyum konsantrasyonuna maruz bırakılan köklerin farklılaşmamış kök meristem hücrelerinin çekirdeklerinde alüminyum simplast yoldan ulaşımını engelleyip bağlanmayacağını anlamak amacı ile gerçekleştirilen bir çalışmada, fidelerin büyüme ortamına verilen 45 µM'lık alüminyumun, kısa bir süre içerisinde çekirdekte birikerek mitotik aktiviteyi düşürdüğü gözlemlenmiştir (Silva ve diğ. 2000, Vardar ve Ünal 2012). Diğer çalışmalarda da mitokondriyal işlev bozukluğuna ve DNA'da fragmentasyona neden olduğu görülmektedir (Li ve Xing 2011, Vardar ve diğ. 2016). Bu tür farklı DNA lezyonları ve mutasyonlarının varlığından dolayı önemli yapısal değişikliklerin tetiklenmesi PZR olaylarının kinetiğini önemli oranlarda etkileyebilmektedir (Bowditch ve diğ. 1993, Pan ve Yu 2011). Yeni PZR ürünlerinin ortaya çıkışı yapısal bir değişiklikten ya da ortaya çıkan büyük nükleotid eksilmelerinden veya homolog rekombinasyon gibi mutasyonların sonucu olarak oligonükleotid işleme noktalarında meydana gelir (Atienzar ve diğ. 1999). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki DNA parmakızı toksik maddelerin etkilerinin tespiti için biyoindikatörlerden biridir (Atienzar ve Jha 2006).

Çalışmamızdan elde edilen veriler göstermiştir ki Al bitkinin bütün bölümlerinde birikmiştir ve bu birikim dışarıdan verilen Al artışına paralel olarak artmıştır. Makro ve mikro besinin alımının, taşınımının ve kullanımının Al tarafından değişikliğe uğratıldığı gözlenmiştir. Al fazlalığının Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn ve Zn element değerlerinde; asit kontrolde 50, 100 ve 200 µM yönüne bir düşüş meydana getirdiği görülmektedir. Na elementinde ise kontrolde en düşük değerini aldığı ancak asit kontrolde ise en yüksek

değere sahip olduğu görülmekte, bu durum asitin Na alımını kontrole kıyasla hayli arttırdığını göstermektedir.

B. daigremontianum'dan alınan yapraklardaki fotosentetik pigment içeriğindeki değişiklikleri, uygulanan Al konsantrasyonu ile ters bir ilişki sergilemiştir. *B. daigremontianum* bitkilerindeki fotosentetik pigment seviyelerindeki düşüş RAPD ve ISSR profillerindeki değişiklikler ile bir paralellik göstermiştir. Bulgulardan yola çıkarak DNA'da ortaya çıkan hasar uzantılarının *B. daigremontianum* yaprak hücrelerine zarar verdiği söylenebilir.

Bu çalışmada, RAPD-PZR ve ISSR-PZR metodu Al tarafından oluşturulan genomik düzeydeki değişikliklerin tespitinde bir araştırma aracı olarak kullanılabilceği görülmüştür. RAPD-PZR ve ISSR-PZR yöntemlerinin diğer fizyolojik parametrelerle birlikte düşünüldüğünde, Al toksisitesinin tayininde güçlü birer strateji olarak kullanılabilceği sonuçları ortaya çıkarılmıştır. Deneyde kullandığımız primerler Al'un sebep olduğu DNA düzeyindeki değişikliklerinin tespitinde bize bilgi sağlama yönünden oldukça kullanışlı olmuştur. Ancak spesifik olarak DNA düzeyindeki modifikasyonların gösterilebilmesi için dizi analizi ya da daha detaylı moleküler deneylerin gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızın Al'un bitkiler üzerindeki etkileri ile ilgili ileride yapılacak olan çalışmalara kaynak olacağı düşünülmektedir. Ayrıca, karmaşık bir kimyaya sahip olan Al toksisitesinin bitkiler üzerindeki mekanizmasının çözülmesine katkı sağlayacağı beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Abate E., Hussien S., Laing M., Mengistu F., Aluminum toxicity tolerance in cereals: mechanisms, genetic control and breeding methods, *African Journal of Agricultural Research*, 8 (9) (2013) 711-722.
- Abdel-Raouf H.S., Anatomical traits of some species of *Kalanchoe* (Crassulaceae) and their taxonomic value, *Annals of Agricultural Science*, 57(1) (2012), 73-79.
- Acharya V.M.M., Parinandi N.L., Panda B.B., Calcium channel blockers protect against aluminium-induced DNA damage and block adaptive response to genotoxic stress in plant cells, *Mutation Research*, 751 (2013) 130-138.
- Adiloğlu A., Trakya bölgesi asit topraklarının kireç ihtiyaçlarının tayininde kullanılabilir çeşitli yöntemler üzerine bir araştırma, *Doktora Tezi*, Trakya Üniversitesi, (1992).
- Aida R, Shibata M., Transformation of *Kalanchoe blossfeldiana* mediated by *Agrobacterium tumefaciens* and transgene silencing, *Plant Science* 121 (1996) 175-185.
- Akat H., Özzambak M.E., Örtü altı tuzlu koşullarda yetiştirilen *Limonium sinuatum* bitkisinde kalsiyum uygulamalarının stres parametreleri üzerine etkileri, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, (2013) 10 (1).
- Alabi D.A., Onibudo M.Z., ve Amusa N.A., Chemicals and nutritional composition of four botanicals with fungitoxic properties, *World Journal of Agricultural Sciences*, 1 (1) (2005) 84-88.
- Arcade A., Anselin N.F., Faivre Rampant P., Lesage M.C., Paques L.E., Prat D., Application of AFLP, RAPD ve ISSR markers to genetic mapping of european and Japanese Larch, *Theoretical and Applied Genetics*, 100 (2000) 299-307.
- Arnon D.I., Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiology*, 24 (1949) 1-15.
- Arnon D.I., Stout P.R., The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper, *Plant Physiol.*, 14 (2) (1939) 371-375.

- Ateşalp M., Aşırı kireçlemenin doğu karadeniz bölgesi asit topraklarının makro ve mikro besin maddeleri kapsamlarına ve verimliliklerine etkisi, *Köy İşleri ve Kooperatifler Bakanlığı Toprak Su Genel Müdürlüğü Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları Genel Yayın No:72, Rapor Yayım No:8 (1977)*.
- Atienzar F.A. ve Jha A.N., The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: a critical review, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 613 (2) (2006) 76-102.
- Atienzar F.A., Jha A.N., The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: A critical review, *Mutation Research*, 613 (2006) 76-102.
- Aybak H.Ç., *Bitkisel üretim*, Hasat Yayınevi, İstanbul, (2005) 52-57.
- Aydın S.Ö., RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) belirleyicileri ve bitki sistematigi, *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6 (2004) 113-129.
- Azmat R., ve Hasan S., Photochemistry of light harvesting pigments and some biochemical changes under aluminium stress, *Pakistan Journal of Botany* 40 (2) (2008) 779-784.
- Baligar V.C., Fageria N.K., Soil aluminum effects on growth and nutrition of cacao, *Soil Science and Plant Nutrition*, 51 (2005) 709.
- Barcelo J., Poschenrieder C., Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review, *Environmental and Experimental Botany*, 48 (2002) 75-92.
- Barnabas B.G., Kovacs A., Hegedüs S., Erdei G., Horvath G., Regeneration of doubled haploid plants from *in vitro* selected microspores to improve Aluminum tolerance in wheat, *Journal of Plant Physiology*, 156 (2000) 217–222.
- Belaj A., Satovic Z., Cıprıanı G., Baldoni L., Testolin R., Rallo L., Rujillo I., Comparative study of the discriming capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive, *Theoretical and Applied Genetics*, 107 (4) (2003) 736-744.
- Betschart C., von Mandach U., Seifert B., Scheiner D., Perucchini D., Fink D., Geissbühler V., Randomized, double-blind placebo-controlled trial with *Bryophyllum*

pinnatum versus placebo for the treatment of overactive bladder in postmenopausal women, *Phytomedicine*, 20 (2013) 351-358.

Birbilenler S., Düzce ili şehir ekosisteminde dağılım gösteren ıhlamur ağaçlarında (*Tilia Tomentosa* Moench.) genetik çeşitliliğin RAPD işaretleriyle araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi, (2015).

Blancaflor E.B., Jones, D.L., Gilroy S., Alterations in the cytoskeleton accompany aluminum-induced growth inhibition and morphological changes in primary roots of maize, *Plant Physiol.*, 118 (1998) 159.

Blancheteau C.I., Díaz M.R., Aquea F., Nesi A.N., Alberdi M., Johnson A.P., Biochemical and molecular changes in response to aluminium-stress in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.), *Plant Physiology and Biochemistry*, 49 (2011) 1005-1012.

Blancheteau C.I., Rengel Z., Alberdi M., Mora M.L., Aquea F., Arce J.P., Reyes-Díaz M., Molecular and physiological strategies to increase aluminum resistance in plants, *Mol. Biol. Rep.* 39 (2012) 2069-2079.

Bojorquez-Quintal J.E.A., Sánchez-Cach L.A., Ku-González A., Santos-Briones C., Medina-Lara M.F., Echevarría-Machado I., Muñoz-Sánchez J.A., Sotomayor S.M.T. H., Estévez M.M., Differential effects of Aluminum on *in vitro* primary root growth, nutrient content and phospholipase C activity in coffee seedlings (*Coffea arabica*), *Journal of Inorganic Biochemistry*, 134 (2014) 39-48.

Borowsky R.L., Mc Clelland M., Cheng R., Welsh J., Arbitrarily primed DNA fingerprinting for phylogenetic reconstruction in vertebrates: The xiphophorus model, *Mol. Biol. Evol.*, 12 (6) (1995), 1022-1032.

Boşgelmez A., Boşgelmez İ., Savaşçı S., Paslı N., Kaynaş S., *Ekoloji II*, ISVAK Yayınları (2001).

Bowditch B.M., Albright D.G., Williams J.G.K., and Braun M.J., Use of randomly amplified polymorphic DNA markers in comparative genome studies, *Methods Enzymol*, 224 (1993) 293-309.

Bradford M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem*, 72 (1976) 248-254.

- Brunner I., Sperisen C., Aluminum exclusion and aluminum tolerance in plants, *Frontiers In Plant Science*, 4 (2013) 172.
- Capon R.J., MacLeod J.K., Oelrichs P.B., Bryotoxins B and C, toxic bufadienolide orthoacetates from flowers of *Bryophyllum tubiflorum* (Crassulaceae), *Aust. J. Chem.*, 39 (1986) 1711-1715.
- Carrodus S.K., Identification and the role of hybridisation in new Zealand Pittosporum, *Yüksek Lisans Tezi*, The Universty of Waikato, Yeni Zelanda, (2009) 150.
- Cenkci S., Cigerci I.H., Yildiz M., Ozay C., Bozdog A., Terzi H., Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genome template stability in *Brassica rapa* L., *Environ. Exp. Bot.*, 67 (2010) 467-473.
- Chen L., Qi Y., and Liu X., Effects of Aluminum on light energy utilization and photoprotective systems in citrus leaves, *Ann. Bot.*, 96 (1) (2005) 35-41.
- Choudhury S., Sharma P., Aluminum stress inhibits root growth and alters physiological and metabolic responses in Chickpea (*Cicer arietinum* L.), *Plant Physiology and Biochemistry*, 85 (2014) 63-70.
- Choy W.N., Genetic toxicology and cancer risk assessment, *Marcel Dekker*, New York, (2001) 129-187.
- Clark A.G., Lanigan C.M.S., Prosoects for estimating nucleotide divergence with RAPDs. *Mol Biol Evol.*, 10 (1993) 1096-1111.
- Clemens S., Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis, *Planta*, 212 (2001) 475-486.
- Correia S., Matosa M., Ferreira V., Martins N., Goncalves S., Romano A., Carnidea O.P., Molecular instability induced by aluminum stress in *Plantago* species, *Mutation Research*, 770 (2014) 105-111.
- Costa A., Cogrossi L.A., Riede C.R., Reaction of wheat genotypes to soil aluminum differential saturations, *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 46 (2003) 19-25.
- Cramer G.R., Calcium-sodium interactions under salinity stress, in salinity, Environment-Plants-Molecules, Läubli A. ve Lüttge U., *Kluwer Academic Publishers*, Invited Review, (2002) 205-227.
- Curie C., Briat J.F., Iron transport and signaling in plants, *Annual Review of Plant*

Biology, 54 (2003) 183-206.

Çolak C., Ülkemizde geleneksel tedavilerde yaygın olarak kullanılan bazı tıbbi bitkilerin kök ve çiçeklerinde ağır metal ve mineral besin element tayini, *yüksek lisans tezi*, Marmara Üniversitesi, (2014) 32-34.

Darko E., Helga H., Stefanovits-Banyai E., Fodor J., Bakos F., Barnabas B., Aluminium toxicity, Al tolerance and oxidative stress in an Al-sensitive wheat genotype and in Al-tolerant lines developed by in vitro microspore selection, *Plant Science*, 166 (2004) 583-591.

Delisle G., Champoux M., Houde M., Characterization of oxalate oxidase and cell death in Al-sensitive and tolerant wheat roots, *Plant Cell Physiol.*, 42 (3) (2001) 324-333.

Devraj R., Williams H.D., Warren D.B., Mullertz A., Porter C.J.H., Pouton C.W., *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*, 441 (1-2) (2013) 323-333.

Devrim A.K., Kaya N., An investigation on DNA polymorphism of the cattle breeds in province of kars by RAPD-PCR technique, *Revue Med Vet.*, 157 (2) (2006) 88-91.

Dogan I., Ozyigit I. I., Demir G., Influence of aluminum on mineral nutrient uptake and accumulation in *urtica pilulifera* L., *Journal of Plant Nutrition*, 37 (2014) 469-481.

Dong B., Sanga W.L., Jiangb X., Zhoub J.M., Konga F.X., Effects of aluminum on physiological metabolism and antioxidant system of wheat (*Triticum aestivum* L.), *Chemosphere*, 47 (1) (2002) 87-92.

Drabek O., Mladkova L., Boruvka L., Szakova J., Nikodem A., Nemecek K., Comparison of water-soluble and exchangeable forms of Al in acid forest soils, *Journal of Inorganic Biochemistry* 99 (2005) 1788-1795.

Driscoll C.T., Driscoll K.M., Fakhraei H., Civerolo K., Long-term temporal trends and spatial patterns in the acid-base chemistry of lakes in the adirondack region of new york in response to decreases in acidic deposition, *Atmospheric Environment*, 46 (2016) 5-14.

Dudhane M., Borde M., Kaur P., Effect of Aluminium toxicity on growth responses and antioxidant activities in *Gmelina Arborea* Roxb. inoculated with AM fungi, *Int. J.*

Phytoremediat, 14 (2012) 643-655.

Easton M., <http://www.reflectiveimages.com/EnvironmentalMutagens.htm> (Erişim Tarihi: 04.02.2016).

Edel V., Polymerase chain reaction in mycology; an overview, In: Applications of PCR in mycology, Bridge P.D., Arora D.K., Reddy C.A. and Elander R.P. (eds), *CAB International*, Cambridge (1998) 1-20.

Elmlund H., Lundqvist J., Al-Karadaghi S., Hansson M., Hebert H., Lindahl M., A new cryo-EM single-particle ab initio reconstruction method visualizes secondary elements in an ATP-fueled AAA+ motor, *Journal of Molecular Biology*, 375 (2008) 934-947.

Epstein E., *Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives*, (56) 4 (1972) 569-570.

Epstein E., Silicon, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50 (1999) 641-664.

Eroğlu A., ve Aksoy, N., Jeotermal Suların Kimyasal Analizi, VI. Ulusal Tesisat Kongresi, *Jeotermal Enerji Semineri Kitapçığı*, (2003) 149-183.

Exely, C., Korcahnzkina, J., Promotion of formation of amyloid fibrils by aluminium adenosine triphosphate (AlATP), *J. Inorganic Biochemistry*, 84 (2001) 215-224.

Firat B., *Bitki Nasıl Beslenir*, Atlas Kitabevi, Konya, (1998)

Fürer K., Eberli D., Betschart C., Brenneisen R., Mieri M.D., Hamburger M., Mennet-von Eiff M., Potterat O., Schnelle M., Simoes-Wüst A.P., Mandach U.V., Inhibition of porcine detrusor contractility by the flavonoid fraction of *Bryophyllum pinnatum*: A potential phytotherapeutic drug for the Treatment of the overactive bladder syndrome, *Phytomedicine* (2014).

Gensemer R.W., Playle R.C., The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 29 (1999) 315-450.

Giannakoula A., Moustakas M., Mylona P., Papadakis I., Yupsanis T., Aluminum tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation., *Journal of Plant Physiology* 165 (2008) 385-396

- Goulao L., Cabrita L., Oliveria C.M., Leitao J.M., Comparing RAPD and AFLP (TM) analysis in discrimination and estimation of genetic similarities among apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars–RAPD and AFLP analysis of apples, *Euphytica*, 119 (3) (2001) 259-270.
- Graham C.J., The influence of nitrogen source and aluminum on growth and elemental composition of nemaguard peach seedlings, *Journal of Plant Nutrition* 24 (2001) 423.
- Griffiths H., Robe W.E., Jan Girus J., Maxwell K., Leaf succulence determines the interplay between carboxylase systems and light use during Crassulacean acid metabolism in *Kalanchoe* species, *Journal of Experimental Botany*, 59 (7) (2008) 1851-1861.
- Gupta M., Chyi Y.S., Romero-Severson J., Owen J.L., Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple sequence repeats, *Theor. Appl. Genet.*, 89 (1994) 998-1006.
- Hassauer W., Schreiber K., von der Decken D., Bryophyllum – Ein neuer Weg in der tokolytischen Therapie, *Erfahrungsheilkunde*, 34 (1985) 683-687.
- Hepler P.K., Calcium: A central regulator of plant growth and development, American Society of Plant Biologists, *The Plant Cell*, 17 (8) (2005) 2142-2155.
- Hoagland D.R., Arnon D.I., The water culture method for growing plants without soil, *Agricultural Experimental Station*, University of California, Berkeley, (1950).
- Hoekenga O.A., Vision T.J., Shaff J.E., Monforte A.J., Lee G.P., Howell S.H., Kochain L.V., *Plant Physiol.*, 132 (2003) 936-948.
- Hormaza J. I., Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats, *Theoretical and Applied Genetics*, 104 (2002) 321-328.
- Horst W.J., Wang Y.X., Eticha D., The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review, *Annals of Botany*, 106 (2010) 185-197.
- Hou X., Jones B.T., Inductively coupled plasma/optical emission spectrometry, *In Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R.A. Meyers (Ed.), (2000) 9468-9485.

- <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2684561> (Erişim Tarihi: 14.12.2016).
- İğdelioğlu S., avdar (*Secale cereale* L.) Bitkisinde Kurşun (Pb) elementinin genotoksik ve fizyolojik etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi, (2014).
- Jacobsen J.S. ve Jasper C.D., Diagnosis of nutrient deficiencies in alfalfa and Wheat, *Montana State University Extension*, Bozeman, Mont. (1991).
- Kabata-Pendias A., Mukherjee A.B., Trace elements from soil to human, *Springer*, (2007) 550.
- Kacar B., Katkat V., *Bitki Besleme*, Nobel Yayın Dağıtım (2007) 10-24.
- Kalinowska, M., Nes, W.R., Crumley, F.G., Nes W.D., Stereochemical differences in the anatomical distribution of C-24 alkylated sterols in *Kalanchoe daigremontiana*, *Phytochemistry*, 29 (1990) 3427-3434.
- Kariuki S.K., Zhang H., Schroder J.L., Edwards J., Payton M., Carver B.F., Raun W.R., Krenzer E.G., Hard red winter wheat cultivar responses to a pH and aluminum concentrations gradient, *Agron. J.*, 99 (2007) 88-98.
- Kartal G., Güven A., Kahvecioğlu Ö., Timur S., Metallerin çevresel etkileri 2, *İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü Ders Notu*, 137 (2004) İstanbul.
- Kaya C., Higgs D., İkinci A., An experiment to investigate ameliorative effects of potassium sulphate on salt and alkalinity stressed vegetable crops, *Journal of Plant Nutrition*, 25 (11) (2002) 2545-2558.
- Kecec G., Sakcali M. S., Uzonur I., Assessment of genotoxic effects of Boron on Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using RAPD analysis, *Bulletin of Env. Cont. And Tox.*, 84 (2010) 759.
- Kirsch-Volders M., Vanhauwaert A., Eichenlaub-Ritter U., Decordier I., Indirect mechanisms of genotoxicity, *Toxicology Letters*, 140-141 (2003) 63-74.,
- Kluge M., Ting I.P., Crassulacean Acid Metabolism In: Analysis of an Ecological Adaptation, *Springer-Verlag*, Berlin-Heidelberg, 30 (1978) 70-74.
- Kocaçalışkan F., *Bitki Fizyolojisi*, 5. Baskı, Bizim Büro Basım Evi, Ankara (2005) 356.
- Kochian L.V., Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 46 (1995) 237.
- Kochian L.V., Pineros M.A., Hoekenga O.A., The physiology, genetics and molecular

- biology of plant aluminum resistance and toxicity, *Plant and Soil*, 274 (2005) 175.
- Kosakivska I., Klymchuk D., Negretzky V., Bluma D., Ustinova A., Stress proteins and ultrastructural characteristics of leaf cells of plants with different types of ecological strategies, *Gen. Appl. Plant Physiology*, 34 (3-4) (2008) 405-418.
- Kumar V., Gill K.D., Aluminium neurotoxicity: neurobehavioural and oxidative aspects, *Arch Toxicol.* 83 (11) (2009) 965-78.
- Kwon Y.S., Ryu T.H., Kim C.H., Song I.H., Kim K.M., A Comparative study of the RAPD and SSR markers in establishing a genetic relationship of the various types of *Cucurbita*, *Korean Journal of Genetics*, 26 (2) (2004) 115-122.
- Lawrence G.B., Burns A.D., Riva-Murray K., A new look at liming as an approach to accelerate recovery from acidic deposition effects, *Science of the Total Environment*, 562 (2016) 35-46.
- Lenobre M.N., Blevins D.G., Sharp R.E, Cumbie B.G., Prevention of aluminum toxicity with supplemental boron. I. maintenance of root elongation and cellular structure, *Plant, Cell and Environment*, 19 (1996) 1132.
- Li Z., Xing D., Mechanistic study of mitochondria dependent programmed cell death induced by aluminum phytotoxicity using fluorescence techniques, *J. Exp. Bot.*, 62 (1) (2011) 331-343.
- Liu K., Luan S., Internal aluminum block of plant inward K⁺ channels, *Plant Cell*, 13 (2001) 1453.
- Liu Q., Zheng S., Lin X., Plant physiological and molecular biological mechanism in response to aluminium toxicity, *Chin. J. Appl. Ecol.*, 15 (2004) 1641-1649.
- Long T.A., Tsukagoshi H., Busch W., Lahner B., Salt A.E., Benfey P.N., The bHLH transcription factor POPEYE regulates response to iron deficiency in arabidopsis roots, *The Plant Cell*, 22 (2010) 2219-2236.
- Ma J.F., Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants, *Plant Cell Physiol.*, 41 (2000) 383-390.
- Ma J.F., Zheng S.J., Matsumoto H., Hiradate S., Detoxifying aluminum with buckwheat, *Nature* 390 (1997) 569.

- Maron L.G., Kirst M., Mao C., Milner M.J., Menossi M., Kochian L.V., Transcriptional profiling of aluminum toxicity and tolerance responses in maize roots, *New Phytol.* 179, (2008) 116–128.
- Marschner H., Mineral nutrition of higher plants, *Academic Press*, (1995) London.
- Martinez-Gomez P., Arulsekar S., Potter D., Gradziel T.M., An extended interspecific gene pool available to peach and almond breeding as characterized using simple sequence repeat (SSR) markers, *Euphytica* 131 (3) (2003) 313-322.
- Martini J.A., Mutters R.G., Effect of lime rates on nutrient availability, mobility and uptake during the soybean growing season: Aluminum, Manganese and Phosphorus *Soil Sci. Soc. Of Amer. Proc.*, 30 (1985) 26-30.
- Massot N., Llungany M., Poschenrieder C., Barcelo J., Callose production as indicator of aluminium in bean cultivars, *Journal of Plant Nutrition*, 22 (1999) 1.
- Mateuca R., Lombaert N., Aka P.V., Decordier I., Kirsch-Volder M., Chromosomal Changes: Induction, detection, methods, and applicability in human biomonitoring, *Biochimie*, 88 (11) (2006) 1515-31.
- Matschi S., Werner S., Schulze W.X., Legen J., Hilger H.H., Romeis T., Function of calcium-dependent protein kinase CPK28 of *Arabidopsis thaliana* in plant stem elongation and vascular development, *The Plant Journal* 73 (6), (2013) 883-896.
- McCauley A., Jones C., Jacobsen J., Plant nutrient functions and deficiency and toxicity symptoms, *Nutrient Management*, Montana State University 9 (2011).
- Mengel K. ve Kirkby. E.A., Principles of plant nutrition, *Kluwer Academic Publishers*, Netherlands, (2001) 849.
- Metcalf C.R., Chalk L., Anatomy of the Dicotyledons, *Oxford at the Clarendon Press*, UK, 2 (1950) 320-324.
- Mignouna H.D., Abang M.M., Fagbemi S.A., A comparative assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata*) germplasm characterisation, *Annals of Applied Biology*, 142 (3) (2003) 269-276.
- Morgan U.M., Constantine C.C., Greene W.K., Thompson R.C., RAPD analysis of giardia DNA and correlation with isoenzyme data, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 87 (6) (1993) 702-705.

- Mortelmans K., Rupa S.D., Current issues in genetic toxicology testing for microbiologists, *Advances in Applied Microbiology*, 56 (2004) 379-401.
- Muller H.J., Artificial transmutation of the gene, *Science*, 22 (66) (1927) 84-7.
- Mullis K.B., Erlich H.A., Arnheim N., Horn G.T., Saiki R.K., Scharf S.J., U.S. Patent No. 4,683,195, Washington, DC: U.S., Patent and Trademark Office, (1987)
- Murillo-Amador B., Cordoba-Matson M.V., Villegas-Espinoza J.A., Hernández-Montiel L.G., Troyo-Diéguez E., Mineral Content and Biochemical Variables of *Aloe vera* L. under Salt Stress, *PLoS ONE* 9(4), (2014) e94870.
- Müller H.A., Hansson M., The barley magnesium chelatase 150-kD subunit is not an abscisic acid receptor1[OA], *Plant Physiology*, 150 (2009) 157-166.
- Navarro M.J., Martinez V., Carvajal M., Amonium, bicarbonate and calcium effects on tomato plants grown under saline conditions, *Plant Science*, 157 (2000) 89-96.
- Navascues J., Pérez-Rontomé C., Sánchez D.H., Staudinger C., Wienkoop S., Rellán-Alvarez R., Becana M., Oxidative stress is a consequence, not a cause, of aluminum toxicity in the forage legume *Lotus corniculatus* *New Phytologist*, 193 (3) (2012), 625-636.
- Ozyigit I.I., Yılmaz S., Dogan I., Sakcalı M.S., Tombuloglu G., Goksel D.G., Detection of physiological and genotoxic damages reflecting toxicity in kalanchoe clones, *Global NEST Journal*, Vol 18, No 1 (2016) 223-232.
- Ozyigit İ. İ., Vardar F., Yaşar Ü., Akıncı S., Long-term effects of Aluminum and Cadmium on growth, leaf anatomy, and photosynthetic pigments of cotton, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44 (21) (2013) 3076-3091.
- Özdemir O., Görünmeyen tehlike: asit yağışları, *Sağlık ve Toplum Dergisi*, Ankara Üniversitesi, Ankara, 1 (2005).
- Özuygur M., Ateşalp M., ve Börekçi M., Doğu Karadeniz topraklarının kireç ihtiyaçlarını tayinde uygulanacak metodlar ve kireçleme malzemeleri üzerinde bir araştırma, *TÜBİTAK*, Ankara Yayın No:283 (1974).
- Özyigit İ., Akıncı Ş., Effects of some Stress Factors (Aluminum, Cadmium and Drought) on Stomata of Roman Nettle (*Urtica pilulifera* L.), *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 37 (1) (2009) 108-115.

- Palmer C.M., Guerinot M.L., Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants, *Nature Chemical Biology*, 5 (2009) 333-340.
- Palombi M. A., Damiano C., Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev), *Plant Cell Reports*, 20 (11) (2002) 1061-1066.
- Pan, J. ve Yu, L. Effects of Cd or/and Pb on soil enzyme activities and microbial community structure, *Ecological Engineering*, 37 (11) (2011) 1889-1894.
- Panda S.K., Baluska F., Matsumoto H., Aluminum stress signaling in plants, *Plant Signal Behav.*, 4 (2009) 592-597.
- Panda S.K., Matsumoto H., Changes in antioxidant gene expression and induction of oxidative stress in pea (*Pisum sativum* L.) under Al stress, *BioMetals*, 23 (4) (2010) 753-762.
- Panda S.K., Matsumoto H., Molecular physiology of aluminium toxicity and tolerance in plants, *Bot. Rev.*, 73 (4) (2007) 326-347.
- Panda S.K., Yamamoto Y., Kondo H., Matsumoto H., Mitochondrial alterations related to programmed cell death in tobacco cells under aluminium stress, *C. R. Biologies*, 331 (2008) 597-610.
- Parida A.K., Das B.A., Salt tolerance and salinity effects on plants, *Science Direct*, 60 (2005) 324-349.
- Patzak J., Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.), *Euphytica*, 121 (1) (2001) 9-18.
- Poschenrieder C., Gunsé B., Corrales I., Barceló J., A glance into aluminum toxicity and resistance in plants, *Science of the Total Environment*, 400 (2008) 356-368.
- Prihatina J., Corebimab A.D., Ariffin G.A., The effect of exposure of mulberry to acid rain on the defects cocoon of *Bombyxmori* L., *Procedia Environmental Sciences*, 23 (2015) 186-191.
- Qiu Y.X., Hong D.Y., Fu C.X. Cameron K.M., Genetic variation in the endangered and endemic species *Changium myrnioides* (Apiaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, 32 (2004) 583-596.

- Rana M.K., Bhat K.V., A comparison of AFLP and RAPD markers for genetic diversity and cultivar identification in cotton, *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 13 (1) (2004)19-24.
- Reddy M.P., Sarla N., Siddiq E.A., Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding, *Euphytica* 128 (2002) 9-17.
- Rengel Z., Aluminium cycling in the soil-plant-animal-human continuum, *BioMetals*, 17 (2004) 669-689.
- Resh H.M., Hydroponic food production, *Woodbridge Press Publishing*, P.O. Box 209, Santa Barbara, (2001).
- Ryan P.R., Delhaize, E., Randall P.J., Characterization of Al-stimulated efflux of malate from apices Al- tolerant wheat roots, *Planta* 196 (1995) 103.
- Ryan P.R., Tyerman S.D., Sasaki T., Furuichi T., Yamamoto Y., Zhang W.H., Delhaize E., The identification of aluminium-resistance genes provides opportunities for enhancing crop production on acid soils, *Journal of Experimental Botany*, 62 (1) (2011) 9-20.
- Salinas C., Handford M., Pauly M., Dupree P., Cardemil L., Structural modifications of fructans in *Aloe barbadensis* Miller (*Aloe Vera*) grown under water stress, *PLoS ONE* 11 (7) (2016) e0159819.
- Scancar J., Milacic R., Aluminium speciation in environmental samples: A review, *Anal Bioanal Chem*, 386 (2006) 999-1012.
- Schlotterer C., The evolution of molecular markers-just a matter of fashion? *Nat. Rev. Genet.*, 5 (2004) 63-69.
- Scott M.P., Haymes K.M., Williams S.M., Parentage analysis using RAPD-PCR, *Nucleic Acid Res.*, 20 (1992) 5493.
- Seagull R.W., "The plant cytoskeleton" *Crit. Rev. Plant Science.*, 8 (1989) 131.
- Seregin I.V., Ivanov V.B., Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants, *Russian Journal of Plant Physiology*, 48 (4) (2001) 523-544.
- Shafiei-Astani B., Han Kiat Ong A., Valdiani A., Guan Tan S., Yong Yien C.S., Ahmady F., Alitheen N.B., Nga W.L., Kuar T., Molecular genetic variation and

- structure of Southeast Asian crocodile (*Tomistoma schlegelii*): Comparative potentials of SSRs versus ISSRs, *Gene*, (2015).
- Shahrtash M., Mohsenzadeh S., Mohabatkar H., Cadmium-induced genotoxicity detected by the random amplification of polymorphism DNA in the maize seedling roots, *Journal of Cell and Molecular Research* 2 (1), (2010) 42-48.
- Sharma A., Bhot M., & Chandra N., Protein profiling of *Bryophyllum pinnatum* (lam.) Kurz. Leaf, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 6 (1) (2014) 496-497.
- Sierra J., Noe L.C., Dufour L., Ozier-Lafontaine H., Welcker C., Desfontaines L., Mineral nutrition and growth of tropical maize as affected by soil acidity, *Plant Soil*, (2003) 215-226.
- Silva I., Smyth T., Moxley D., Carter T., Allen N., Rufty T., Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. fluorescence detection using lumogallion and confocal laser scanning microscopy, *Plant Physiol.*, 123 (2000) 543.
- Simonovicova M.H.J., Root growth inhibition by aluminum is probably caused by cell death due to peroxidase-mediated hydrogen peroxide production, *Protoplasma*, 224 (2004) 91-98.
- Sivaguru M., Baluscka F., Volkmann D., Felle H.H., Horst W.J., Impacts of aluminum on the cytoskeleton of the maize root apex: short term effects on the distal part of the transition zone, *Plant Physiol.*, 119 (1999) 1073.
- Sivaguru M., Horst W.J., Eticha D., Matsumoto H., Aluminum inhibits apoplastic flow of high- molecular weight solutes in root apices of *Zea mays* L., *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169 (2006) 679.
- Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A., Kılıç E., Köseoğlu F., Yılmaz, H. *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, Bilim Yayıncılık, (2000).
- Steffan R.J., Atlas R.M., Polymerase chain reaction: applications in environmental microbiology, *Annual Reviews in Microbiology*, 45 (1) (1991) 137-161.
- Sürgün Y., Çöl B., Bürün B., Bazı Türk pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) genotiplerinin RAPD-PZR analizi ile identifikasyonu ve genetik çeşitliliği, *Turkish Journal of Biology*, 36 (2) (2012) 143-150.

- Tabaldi L.A., F.T. Nicoloso G.Y. Castro D., Cargnelutti J.F., Gonçalves R., Rauber E.C., Skrebensky M.R.C., Schetinger V.M., Morsch ve Bisognin D.A., Physiological and oxidative stress responses of four potato clones to Aluminum in nutrient solution, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19 (3) (2007) 211-222.
- Taiz L., Zeiger E., Møller I. M., Murphy A., *Plant Physiology and Development*, (2015).
- Takeda K., Kariuda M., Itoi H., Blueing of sepal colour *Hydrangea macrophylla*, *Phytochemistry*, 24 (1985) 2251.
- Tang C., Rengel Z., Abrecht D., Tennant D., Aluminum-tolerant wheat uses more water and yields higher than Aluminium-sensitive one on sandy soil with subsurface acidity, *Field Crops Res.*, 78 (2002) 93-103.
- Tonta Y., Varyans Analizi, *Ders notlari*, Hacettepe Üniversitesi, (2008).
- Trindade H., Sena I., Gonçalves S., Romano A., Genetic diversity of wild populations of *Tuberaria major* (Cistaceae), an endangered species endemic to the Algarve region (Portugal), using ISSR markers, *Biochemical Systematics and Ecology* 45 (2012) 49-56.
- Tucker M.R., Essential plant nutrients: Their presence in North Carolina soils and role in plant nutrition, *Miscellaneous Publication*, North Carolina Department of Agriculture & Consumer Services (1999) 2-9.
- Tuna L.A., Kaya C., Altunlu H., Yokas İ., Yagmur B., The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stres. *Science Direct*, 59 (2007) 173-178.
- Türkmen O., Şensoy S., Erdal İ., Kabay T., Kalsiyum uygulamalarının tuzlu fide yetiştirme ortamlarında domateste çıkış ve fide gelişimi üzerine etkileri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 12 (2) (2002) 53-57.
- Ülgen N., Rasheed M.A., Kireçlemenin asit topraklar ve çeşitli enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri, *Köy İşleri Bakanlığı, Toprak Su Genel Müdürlüğü Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları*, Ankara Genel Yayın No: 62, Rapor Seri No:3 (1975).

- Valle S.R., Pinochet D., Calderini D.F., Al toxicity effects on radiation interception and radiation use efficiency of Al-tolerant and Al-sensitive wheat cultivars under field conditions, *Field Crops Research*, 114 (2009) 343-350.
- Valle S.R., Pinochet D., Calderini D.F., Uptake and use efficiency of N, P, K, Ca and Al by Al-sensitive and Al-tolerant cultivars of wheat under a wide range of soil Al concentrations, *Field Crops Research*, 121 (2011) 392-400.
- Vardar F., Akgül N., Aytürk Ö., Aydın Y., Assessment of Aluminum induced Genotoxicity with Commet Assey in wheat, rye, and triticale roots *Fresenius Enviromental Bulletin*, 24 (10a) (2015) 3352-3358.
- Vardar F., Aracan E., Gözükmarmaza N., Effects of aluminum on *in vitro* root growth and seed germination of tobacco, *Advances in Food Science*, 26 (2006) 85.
- Vardar F., Çabuk E., Aytürk Ö., ve Aydın Y., Determination of aluminum induced programmed cell death characterized by DNA fragmentation in Gramineae species, *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, (2016) 1-2.
- Vardar F., Ünal M., Ultrastructural aspects and programmed cell death in the tapetal cells of *Lathyrus undulatus* Boiss., *Acta Biol. Hung.*, 63 (1) (2012) 56-70.
- Vardar F., ve Ünal M., Aluminum toxicity and resistance in higher plants, review, *Advances in Molecular Biology* (1) (2007) 1-12.
- Vatansever R., Filiz E., Ozyigit I.I., Comparative and phylogenetic analysis of zinc transporter genes/proteins in plants, *Turk. J. of Biol.*, 40 (3) (2016a) 600-611.
- Vatansever R., Filiz E., Ozyigit I.I., Genome-wide analysis of iron-regulated transporter 1 (IRT1) genes in Plants, *Hortic Environ Biote*, 56 (4) (2015) 516-523.
- Vatansever R., Filiz E., Ozyigit I.I., Genome-wide identification and comparative analysis of copper transporter genes in plants, *Interdiscip. Sci.*, (2016b) 1-14.
- Vatansever R., Filiz E., Ozyigit I.I., In silico analysis of Mn transporters (NRAMP1) in various plant species, *Mol. Biol. Rep.*, 43 (3) (2016c) 151-163.
- Vignala C., Desreumaux P., Body-Malapela M., Gut: An Underestimated Target Organ For Aluminum, General Review, *Morphologie*, (2016) Article In Press.

- Vinocur B., Altman A., Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitation, *Current Opinion in Biotechnology*, 16 (2005) 123-132.
- Viterollo V., Capaldi F., Stefanuto V., Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants, *Braz. J. Plant Physiol.*, 17 (2005) 129-143.
- Von Uexkull H.R., Mutert H.R., Global extent, development and economic impact of acid soils, *Plant and Soil*, 171 (1) (1995) 1-15.
- Von Uexküll H.R., Mutert E., “Global extent, development and economic impact of acid soils”, *Plant-Soil Interactions at Low pH, Date*, Editors: Grundon R.A, Rayment N.J., Probert G.E., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands (1995) 5.
- Vural N., Toksikoloji, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara, 73, (2005) 677.
- Wagner H., Fischer M., Lotter H., Isolation and structure determination of daigremontianin, a novel bufadienolide from *Kalanchoe daigremontiana*, *Planta Med.*, (1985) 169-170.
- Wagner H., Lotter H., Fischer Die toxischen und sedierend wirkenden bufadienolide von *Kalanchoe daigremontiana* Hamet et Peer, *Helv. Chim. Acta*, 69 (1986) 359-367.
- Wakeel A., Farooq M., Qadir, M., Schubert S., Potassium Substitution by Sodium in Plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30 (4) (2011).
- Walker E.L., Connolly E.L., Time to pump iron: Iron deficiency signaling mechanisms of higher plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 11 (2008) 530-535.
- Wang H. Z., Wu Z. X., Lu J. J., Shi N. N., Zhao Y., Zhang Z. T., Liu J. J., Molecular diversity and relationships among *Cymbidium goeringii* cultivars based on inter-simple sequence repeat (ISSR) markers, *Genetica* 136 (3) (2008) 391-399.
- Wang W., Vinocur B., Shoseyov O., Altman A., Role of plant heat shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response, *Trends in Plant Science*, 9 (2004) 244-252.
- Wang, Y. ve Wu, W. H. Potassium transport and signaling in higher plants, *Annual review of plant biology*, 64 (2013) 451-476.

- Welsh J., McClelland M., Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers, *Nucleic Acids Research*, 18 (1990), 7213-7218.
- White P.J., Broadley M.R., Calcium in plants, *Annals of Botany*, 92 (4) (2003) 487-511.
- Wild A., Soil Acidity And Alkalinity, *Russel's Soil Conditions and Plant Growth*, Editör, Longman, Harlow (1988) 844.
- Williams J., Kubelik A.R., Livak K.J., DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Research*, 18 (1990) 6531-6535.
- Xu J., Li A., Wang X., Qi J., Zhang L., Zhang G., Su J., Tao A., Genetic diversity and phylogenetic relationship of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) accessions evaluated by SRAP and ISSR, *Biochemical Systematics and Ecology*, 49 (2013) 94-100.
- Yamamoto Y., Yukiko Kobayashi Y. S., Rama D.S.R., Sanae Rikiishi S., Hideaki Matsumoto H., Aluminum toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells¹, *Plant Physiology*, 128 (1) (2002) 63-72.
- Yamamoto Y., Kobayashi Y., Devi S.R., Rikishi S., Matsumoto H., Aluminium toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells, *Plant Physiol.*, 128 (2002) 63-72.
- Yamamoto Y., Kobayashi Y., Matsumoto H., Lipid Peroxidation is an early symptom triggered by Aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in Pea Roots, *Plant Physiology*, 125 (1) (2001) 199-208.
- Yang Z.M., Sivaguru M., Horst W.J., Matsumoto H., Aluminum tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean, *Plant Physiology*, 110 (2000) 72.
- Yasar U., Ozyigit I.I., Yalcin I.E., Dogan I., Demir G., Determination of some heavy metals and mineral nutrients of bay tree (*Laurus nobilis* L.) in Bartın City, Turkey, *Pak. J. Bot.*, 44 (2012) 81-89.
- Yenigül E., Alüminyum ve bazı organik asitlerin etkileşiminin spektrometrik ve kromatografik yöntemlerle tayini, *Yüksek Lisans Tezi*, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, (2006).
- Yıldız A., Genç Ö., Enstrümental Analiz, *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, Ankara, (1993) A-64.

- Yılmaz E., Farklı dozlardaki alüminyum klorür'ün *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae)'nın biyolojisine ve hemosit sayılarına etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi, İstanbul (2013).
- Yokel., R.A., Elements and Their Compounds in The Environment, 2. Baskı, Wiley-VCH Verlagland GmbH&Co. KGaA., Weinheim (2004).
- Young R.R., Genetic toxicology, *Toxicology*, 173 (1-2), (2002) 103-21.
- Zeiger E., History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and aometimes personal, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 44 (5) (2004) 363-371.
- Zhang H., Li Y.H.L., Hu Y.S.H., Wang F., Zhang Q., Hu K.D., Effects of exogenous nitric oxide donor on antioxidant metabolism in wheat leaves under Aluminum stress, *Russian Journal of Plant Physiology*, 55 (4) (2008) 469-474.
- Zhang R., Zhou Z., Du K., Genetic diversity of natural populations of endangered *Ormosia hosiei*, endemic to China, *Biochemical Systematics and Ecology* 40 (2012) 13-18.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, adı : Kaval, Ali
Uyruğu : T.C
Doğum tarihi ve yeri : Fatsa, 12.07.1990
E-posta : alikaval_91@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Fırat Üniversitesi - Elazığ	2012
Lise	Fatih Lisesi - Diyarbakır	2007

İngilizce (YDS: 75)

BİLİMSEL ÇALIŞMALAR

Ahmet Yılmaz, İbrahim İlker Özyiğit, Sedat Karadeniz, Mustafa Keskin, Aslı Hocaoğlu, **Ali Kaval**, Fatih Tabanlı, İbrahim Ertuğrul Yalçın, Göksel Demir, Determination of Some Heavy Metals and Mineral Nutrients in *Silybum marianum* (L.) Gaertner, Grown in The Industrial Area Of Dilovası-Kocaeli-Turkey, Proceedings of 35th ISERD International Conference, Singapore, 2nd April 2016 (Poster).

Ali Kaval, Ernaz Altundağ Çakır, İbrahim İlker Özyiğit, Filiz Vardar, İbrahim Ertuğrul Yalçın, Aysu Naz Atalay, Kardelen Çılgın, Farklı Konsantrasyonlarda AlCl₃ Uygulanmış Gözyaşı Bitkisi (*Bryophyllum daigremontianum*) Klonlarında Mineral Beslenme Durumunun Araştırılması, 5-9 Eylül 2016, Gaziantep (Poster).

Ali Kaval, İbrahim İlker Özyiğit, Sedat Karadeniz, Fatih Tabanlı, Recep Vatansever, İbrahim Ertuğrul Yalçın, Kaz Dağı Milli Parkı'ndan Toplanan *Carduus nutans* L. Bitkilerinin Mineral Beslenme Özelliklerinin Belirlenmesi, 5-9 Eylül 2016, Gaziantep (Poster).

Uğur Şen, İbrahim İlker Özyiğit, Aslı Hocaoğlu, Sedat Karadeniz, Mustafa Keskin, **Ali**

Kaval, Mehmet Emin Uras, Fatih Tabanlı, İbrahim Ertuğrul Yalçın, Kaz Dağı Milli Parkı'ndan Toplanan Endemik *Paronychia chionaea* Boiss. Bitkilerinin Mineral Beslenme Özellikleri; Bitki Toprak İlişkileri, 5-9 Eylül 2016, Gaziantep (Poster).

Mehmet Ömerbeyoğlu, Mustafa Enes Genç, İbrahim İlker Özyiğit, Aslı Hocaoğlu, Onur Yıldırım, **Ali Kaval**, Zeki Severoğlu, Fatih Tabanlı, Naz Atalay, Kaz Dağı Milli Parkı'ndan Toplanan Endemik *Dianthus erinaceus* Boiss. Bitkilerinin Mineral Beslenme Özelliklerinin Araştırılması, 5-9 Eylül 2016, Gaziantep (Poster).

