

**T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***SALVINIA NATANS* (L.) ALL. (SU EĞRELTİSİ) TÜRÜNDE
AĞIR METAL(Pb, Cu, Cd, Ni, As, Cr) STRESİNİN,
GENOTOKSİSİTE VE FOTOSENTEZ ÜZEREİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Tezi Hazırlayan
SÜMEYYE YILMAZ**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. ZELİHA LEBLEBİCİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**2018
NEVŞEHİR**

**T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***SALVINIA NATANS* (L.) ALL. (SU EĞRELTİSİ) TÜRÜNDE
AĞIR METAL(Pb, Cu, Cd, Ni, As, Cr) STRESİNİN,
GENOTOKSİSİTE VE FOTOSENTEZ ÜZEREİNE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Tezi Hazırlayan
SÜMEYYE YILMAZ**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. ZELİHA LEBLEBİCİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**2018
NEVŞEHİR**

KABUL ve ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ danışmanlığında **Sümeyye YILMAZ** tarafından hazırlanan “*Salvinia natans* (L.) All. (Su Eğreltisi) Türünde Ağır Metal Stresinin, Genotoksisite ve Fotosentez Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** Olarak Kabul Edilmiştir.

05/01/2018

Jüri:

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Fatih Doğan KOCA

Üye : Doç. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Musa KAR

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun **10/01/2018** tarih ve **02-10** sayılı kararı ile onaylanmıştır.

11/01/2018

Prof. Dr. Şahlan ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü



TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağını eksiksiz atf yapıldığını bildiririm.



Sümeyye YILMAZ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince, danışmanlığımı yürüten, tez seçiminde, yürütülmesinde, sonuçlandırılmasında ve sonuçlarının değerlendirilmesinde tüm bilgilerini benimle paylaşan, her türlü konuda desteğini esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ'ye,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen, bütün bilgilerini benimle paylaşan değerli hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Musa Kar ve Sayın hocam Arş. Gör. Enver ANDEDEN'e,

Tez yazımda ve düzenlemesinde desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatih Doğan KOCA'ya

Hayatımın her aşamasında maddi manevi bütün desteğini esirgemeyen, destekleriyle beni yalnız bırakmayan, her konudaki yardımıyla bugüne gelmemi sağlayan canım babam Sayın İshak ve canım annem Sayın Esmâ YILMAZ'a,

Her an yanımda olan destekleriyle beni biran bile olsa yalnız bırakmayan ablam Sayın Av. Ümmügülsüm YILMAZ, abim Sayın Fatih YILMAZ ve laboratuvar çalışmalarım, tez yazımda da dahil olmak üzere her an desteğini üzerimde hissettiğim kardeşim Sayın M. Tuğba YILMAZ'a,

Üniversite ve Yüksek Lisans öğrenimim boyunca en büyük destekçilerimden, desteğinin her zaman yanımda hissettiğim beni hiç yalnız bırakmayan canım arkadaşım Sayın Feyza KEÇİCİ ve manevi olarak destek sağlayan Metinler ailesine,

NEÜ BAP 13F7 nolu proje kapsamında bu araştırmayı destekleyen Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon birimine ve çalışanlarına,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

***Salvinia natans* (L.) ALL. (SU EĞRELTİSİ) TÜRÜNDE AĞIR METAL(Pb, Cu, Cd, Ni, As, Cr) STRESİNİN, GENOTOKSİSİTE VE FOTOSENTEZ ÜZEREİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Sümeyye YILMAZ

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Ocak 2018

ÖZET

Bu çalışmada Kurşun (Pb), Kadmiyum (Cd), Arsenik (As) Krom (Cr), Nikel (Ni) ve Bakır (Cu) ağır metallerinin *Salvinia natans* (L) All. (su eğreltisi) türündeki toksik etkileri, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler parametreler yardımıyla tespit edilmiştir. Laboratuvar ortamında uygun şartlar altında kültüre alınan *Salvinia natans*'a farklı konsantrasyonlarda (Ni;1- 5- 10- 20 mg L⁻¹, Cd; 0.5- 1- 4- 8 mg L⁻¹, Pb;5- 10- 25- 50 mg L⁻¹, Cu;1- 5- 10- 20 mg L⁻¹, Cr;1- 5- 10- 20 mg L⁻¹ ve As;1-5-10-50 mg L⁻¹) ağır metal uygulaması yapılmıştır. Bitki örnekleri mikrodalga numune hazırlama cihazında çözülmüş, örneklerdeki element konsantrasyonları ICP-OES cihazında belirlenmiştir. Bitkilerin büyüme oranları (RGR), fotosentetik pigment miktarları (kl a, kl b ve karotenoid), elektrik iletkenlikleri (EC) ve lipid peroksidasyonu tayin edilmiştir. Moleküler parametrelerden biri olan PCR tabanlı ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm), ağır metal streslerinin bitki örnekleri üzerinde genotoksik etkisinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Çalışmamızda bitki örneklerinin maruz bırakıldığı ağır metal konsantrasyonlarının artışı ile birlikte, bitkinin akümüle ettiği metal konsantrasyonlarının da arttığı gözlenmiştir. Ağır metallerin bitki örneğindeki büyüme oranına etkisine bakıldığında, bitkiye uygulanan ağır metal konsantrasyonları arttıkça büyüme oranında belirgin bir düzeyde düşüş olduğu gözlenmiştir. Fotosentetik pigment miktarına etkisine bakıldığında uygulama konsantrasyonu arttıkça kl a, kl b ve karotenoid miktarlarında önemli derecede düşüş olduğu tayin edilmiştir. Lipid peroksidasyonu için ise maruziyet konsantrasyonunun artışı ile birlikte bitkide belirlenen MDA miktarı strese bağlı olarak

artış göstermiştir. Genetik ilişki dendogramı incelendiğinde *Salvinia natans* bitkisinin ağır metal akümülyasyonu sonucunda genomik değışikliğin en fazla Cr da olduğu görölürken, en az genomik değışimin ise As akümüle eden bitki örneklerinde olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Ağır Metal, Salvinia natans, Stres, Fotosentez, Genotoksisite, RAPD*

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ

Sayfa Adedi: 97



HEAVY METAL STRESS IN SPECİİES *Salvinia natans* (L.) All. (WATER FERN), ASSESSMENT OF EFFECT ON GENOTOXICITY AND PHOTOSYNTHESIS

(M. Sc. Thesis)

Sümeyye YILMAZ

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF
NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

JANUARY 2018

ABSTRACT

In this study, Lead (Pb), cadmium (Cd), arsenic (As) chromium (Cr), nickel (Ni) and copper (Cu) toxic effects have been determined of *Salvinia natans* (L.) All. (water fern) species, with the help of physiological, biochemical and molecular parameters.

Salvinia natans, cultured under appropriate conditions in a laboratory environment, heavy metal application was applied in different concentrations (Ni; 1- 5-10- 20 mg L⁻¹, Cd; 0.5-1- 4-8 mg L⁻¹, Pb; 5-10- 25- 50 mg L⁻¹, Cu;1- 5- 10- 20 mg L⁻¹, Cr;1- 5- 10- 20 mg L⁻¹ and As; 1-5-10-50 mg L⁻¹). Plant samples were dissolved in the microwave sample preparation device, and the concentration of elements on the samples were determined by using the ICP-OES instrument. Growth rates (RGR), photosynthetic pigment quantities (kl a, kl b and carotenoid), electrical conductivities (EC) and lipid peroxidation of plants were determined. A PCR-based ISSR (İnter Simple Sequence Repeat) , one of the molecular parameters, was used to determine the genotoxic effect of heavy metal stress on plant samples.

It was observed that the accumulation of the heavy metals in the plant increased as the concentration of heavy metals increased. When the effects of heavy metals on the growth rate of the plant were examined, it was observed that there was a significant decrease with increasing heavy metal concentrations. When the amount of photosynthetic pigment was examined, it was determined that there was a significant decrease in the amounts of kl a, kl b and carotenoid as concentrations increased. In terms of lipid peroxidation, the amount of MDA increased as the concentration levels

increased, depending on the stress. When the genetic relationship dendrograms were examined, it was observed that the genomic variation of *Salvinia natans* was highest in Cr as a result of heavy metal accumulation, while at least genomic variation was observed in As samples.

Keywords: *Heavy metal, Salvinia natans, Stress, Photosynthesis, Genotoxicity, RAPD*

Thesis Supervisor: Assoc Prof. Dr. Zeliha LEBLEBİCİ

Page Number: 97



İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİM SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xvi
1.BÖLÜM	
GİRİŞ.....	1
2.BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER	3
2.1.Ağır Metaller Hakkında Genel Bilgi.....	3
2.1.1. Çinko (Zn).....	4
2.1.2. Kurşun (Pb)	5
2.1.3. Nikel (Ni)	5
2.1.4. Bakır (Cu)	6
2.1.5. Kadmiyum (Cd)	7
2.1.6. Krom (Cr).....	8
2.1.7. Arsenik (As).....	8
2.1.8. Ağır Metallerin Çeşitli Etkileri	9
2.1.9. Ağır Metallerin Bitkilerdeki İşlevi ve Etkileri	11

2.1.10.	Ağır Metallerin Biyosorbisyonu	11
2.2.	Moleküler Markörler	13
2.2.1.	Moleküler Markör Tanımı	13
2.2.2.	Moleküler Markör Teknolojisinin Kullanım Alanları	14
2.2.3.	Moleküler Markörlerde Bulunması Gereken Özellikler	14
2.2.4.	Moleküler Markör Tipleri	15
2.2.5.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tabanlı Moleküler Markörler.....	16
2.2.6.	ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)	19
2.3.	Sucul Bitkilerle Yapılan Diğer Ağır Metal Araştırmaları.....	19
3.BÖLÜM		
MATERYAL VE METOD		23
3.1.	Materyalin Temini.....	23
3.1.1.	<i>Salvinia natans</i> 'ın (L.) (Su Eğreltisi) Sistematigi	23
3.1.2.	<i>Salvinia natans</i> (L.) All. (Su Eğreltisi) Bitkisinin Genel Özellikleri.....	23
3.2.	Yöntem.....	24
3.2.1.	Bitki Yetiştirme ve Ağır Metal Uygulaması	24
3.2.2.	Klorofil ve Karotenoid Tayini.....	25
3.2.3.	Lipid Peroksidasyonu Analizi (MDA)	26
3.2.4.	Bitkideki Ağır Metal Seviyelerinin Belirlenmesi	27
3.2.5.	DNA analizleri	28

3.2.6.	Elektroforez.....	29
--------	-------------------	----

3.2.7.	İstatiksel Analizler	29
--------	----------------------------	----

4.BÖLÜM

BULGULAR

4.1.	<i>Salvinia natans</i> (L.) All. (Su Eğreltisi)	30
------	---	----

4.1.1.	Kurşun (Pb) Akümülayonu.....	30
--------	------------------------------	----

4.1.2.	Arsenik (As) Akümülayonu.....	36
--------	-------------------------------	----

4.1.3.	Kadmiyum (Cd) Akümülayonu	43
--------	---------------------------------	----

4.1.4.	Nikel (Ni) Akümülayonu.....	49
--------	-----------------------------	----

4.1.5.	Bakır (Cu) Akümülayonu	56
--------	------------------------------	----

4.1.6.	Cr Akümülayonu	62
--------	----------------------	----

4.2.	Ağır Metal Stresinin <i>Salvinia natans</i> (L.) Bitkisinde ISSR Profili.....	68
------	---	----

5.BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ	79
-------------------------	----

KAYNAKLAR	87
-----------------	----

ÖZGEÇMİŞ	96
----------------	----

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2. 1. Ağır metallerin ekosisteme dahil olma kaynakları [43].....	10
Tablo 4. 1. <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki Pb miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, $n=5$, $\pm$ Standart hata).	30
Tablo 4. 2. <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki As (arsenik) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, $n=5$).....	36
Tablo 4. 3. <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki Cd (Kadmiyum) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, $n=5$).....	43
Tablo 4. 4. <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki Ni (Nikel) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, $n=5$).....	50
Tablo 4. 5. <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki Cu (bakır) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, $n=5$).....	56
Tablo 4. 6. <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki Cr (Krom) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, $n=5$).....	63
Tablo 4. 7. ISSR analizlerinde kullanılan primerler ve baz dizileri.....	69
Tablo 4. 8. Araştırmada kullanılan ağır metal konsantrasyonlarının <i>Salvinia natans</i> ' a ait DNA'ların miktar ($\text{ng DNA}/\mu\text{l}$) ve saflık (A_{260}/A_{280}) değerleri.....	70
Tablo 4. 9. Polimorfik bantların kullanılan primerlerde olma ya da olmama durumuna göre bantların var "1" yok "0" şeklinde değerlendirilmesi (1-5 ISSR A, 6 ISSR E, 8 ISSR C, 9 UBC 807, 10-13 UBC 808, 14 UBC 809, 15 UBC 811, 16-18 UBC 815, 19-23 UBC 834, 24-27 UBC 840).....	73
Tablo 4. 10. Farklı ağır metal konsantrasyonları uygulanan <i>Salvinia natans</i> bitki türüne ait genetik benzerlik katsayı indeksi	74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. Kodominant Markörler ve Dominant Markörlerin karşılaştırılması.....	16
Şekil 2. 2. PCR'ın (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Çalışma Mekanizması	18
Şekil 3. 1. <i>Salvinia natans</i> (L.) (Su eğreltisi).....	24
Şekil 3. 2. Büyüme çemberindeki <i>Salvinia natans</i> (L.) örnekleri.....	25
Şekil 3.3. Mikrodalga numune hazırlama cihazı.....	27
Şekil 3.4. Bitki örneklerindeki ağır metal içeriklerini belirlemede kullanılan ICP-MS cihazı	28
Şekil 4. 1. Yedi günlük periyot sonunda Pb (5-50 mg L-1) uygulamasının <i>Salvinia natans</i> 'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5).....	31
Şekil 4. 2. Pb (5-50 mg L-1) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktyarları ve standart hata değerleri (mg g-1 yaş ağırlık, n=5).....	32
Şekil 4. 3. Pb (5-50 mg L-1) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g-1 yaş ağırlık, n=5)	33
Şekil 4. 4. Pb (5-50 mg L-1) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g-1 yaş ağırlık, n=5)	34
Şekil 4. 5. Pb (5-50 mg L-1) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g-1 yaş ağırlık, n=5)	35
Şekil 4. 6. Pb (5-50 mg L-1) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5).....	36
Şekil 4. 7. Yedi günlük periyot sonunda As (1-50 mg L-1) uygulamasının <i>Salvinia natans</i> 'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5).....	38
Şekil 4. 8. As (1-50 mg L-1) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g-1 yaş ağırlık, n=5).....	39
Şekil 4. 9. As (1-50 mg L-1) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g-1 yaş ağırlık, n=5)	40
Şekil 4. 10. As (1-50 mg L-1) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g-1 yaş ağırlık, n=5)	41

Şekil 4. 11.As (1-50 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	42
Şekil 4. 12.As (1-50 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5).....	43
Şekil 4. 13.Yedi günlük periyot sonunda Cd (0,5-8 mg L ⁻¹) uygulamasının <i>Salvinia natans</i> 'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5).....	45
Şekil 4. 14.Cd(0,5-8 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)....	46
Şekil 4. 15.Cd (0,5-8 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	46
Şekil 4. 16.Cd (0,5-8 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	47
Şekil 4. 17.Cd (0,5-8 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5).....	48
Şekil 4. 18.Cd (0,5-8 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5).....	49
Şekil 4. 19 .Yedi günlük periyot sonunda Ni (1-20 mg L ⁻¹) uygulamasının <i>Salvinia natans</i> 'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5).....	51
Şekil 4. 20. Ni (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)....	52
Şekil 4. 21. Ni (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	53
Şekil 4. 22. Ni (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5).....	54
Şekil 4. 23. Ni (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	55

Şekil 4. 24. Ni (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5).....	56
Şekil 4. 25. Yedi günlük periyot sonunda Cu (1-20 mg L ⁻¹) uygulamasının <i>Salvinia natans</i> 'ın göreceli büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5).....	58
Şekil 4. 26. Cu (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)....	58
Şekil 4. 27. Cu (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	59
Şekil 4. 28. Cu (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5).....	60
Şekil 4. 29. Cu (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5).....	61
Şekil 4. 30. Cu (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5).....	62
Şekil 4. 31. Yedi günlük periyot sonunda Cr (1-20 mg L ⁻¹) uygulamasının <i>Salvinia natans</i> 'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5).....	64
Şekil 4. 32. Cr (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5).....	65
Şekil 4. 33. Cr (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	66
Şekil 4. 34. Cr (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	67
Şekil 4. 35. Cr (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5)	67
Şekil 4. 36. Cr (1-20 mg L ⁻¹) uygulanmış <i>Salvinia natans</i> (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g ⁻¹ yaş ağırlık, n=5).....	68

Şekil 4. 37. Araştırmada kullanılan ağır metal konsantrasyonlarının <i>Salvinia natans</i> ' a ait DNA'ların miktar (ng DNA/ μ l) ve saflık (A260/A280) değerlerinin göstergesi.....	71
Şekil 4. 38. Genetik ilişki dendogramı (soy ağacı)	75
Şekil 4. 39. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların ISSR A primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	75
Şekil 4. 40. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların ISSR C primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	76
Şekil 4. 41. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların ISSR E primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	76
Şekil 4. 42. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların UBC 807 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	76
Şekil 4. 43. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların UBC 808 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	77
Şekil 4. 44. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların UBC 809 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	77
Şekil 4. 45. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların UBC 811 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	77
Şekil 4. 46. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların UBC 815 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	78
Şekil 4. 47. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların UBC 834 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	78
Şekil 4. 48. Araştırmada kullanılan <i>Salvinia natans</i> bitkisine ait DNA'ların UBC 840 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri.....	78

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Pb	Kurşun
Cr	Krom
As	Arsenik
Cd	Kadmiyum
Cu	Bakır
Ni	Nikel
m	Metre
mg	Miligram
L	Litre
µg	Mikrogram
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
ng	Nanogram
ppm	Parts per million
RGR	Göreceli Büyüme Oranı
MDA	Lipid Peroksidasyonu
PCR	Polimerase Chain Reaction
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ICP-MS	Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektroskopisi
ISSR	İnter Simple Sequence Repeat

1.BÖLÜM

GİRİŞ

Dünya yüzeyinin yaklaşık %71'ini kaplayan su, bütün canlılar için hayati bir öneme sahiptir. Son yıllarda dünyada ki hızlı nüfus artışına bağlı olarak artan endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerin sonucunda da; toprak hava, ve su gibi doğal kaynaklar kirlenmiş, temiz su kaynaklarında ciddi bir azalma meydana gelmiştir. Günümüzde sanayi ve teknolojinin gelişerek insanoğlunun daha iyi yaşam koşullarına kavuşması ile birlikte, yapılan araştırmalara göre bugün ki koşulların değişmeden devam etmesi durumunda, dünyadaki temiz ve kullanılabilir su kaynaklarının tükeneceğini göstermiştir.[1-2]

Özellikle ağır metal endüstri faaliyetlerinin artması sonucunda, doğal döngü ile birlikte atmosfer, toprak ve suyun kirlenmesi, evrensel atık suların doğaya karışması, denize dökülen katı atık ve petrolerin türevlerinin artması gibi birçok örnek, ekosistem dengesinin bozulduğunun kanıtıdır. Gelecekte su yokluğunun, toprak ve çevre kirliliğinin önüne geçmek, doğanın dengesini korumak için gerekli artırımların verimli bir şekilde yapılması gerekmektedir.

Ağır metal iyonlarını içeren atık suların etkili bir şekilde arıtımı; işletmenin kapasitesine, atık suyun debisi ve özelliklerine, işletmedeki arıtma tesisi ve kullanılan yöntemlere bağlıdır. Ekonomik ve pratik olmayan geleneksel artım yöntemleri birçok canlı için toksik olan metal kirliliğini kabul edilebilir seviyelerde azaltmak için kullanılmaktadır [3]. Ağır metallerle kirlenmiş suların iyileştirilmesinde (remediasyon) kullanılan çöktürme, buharlaştırma, iyon değişimi ve membran yardımı ile ayırma gibi yöntemlerin pahalı olması bu alanda kullanılacak alternatif çözüm arayışına neden olmaktadır [4].

Geleneksel mühendislik yöntemlerinin pahalı olması nedeniyle mevcut remediasyon yöntemleri yerine düşük maliyetli ve çevre dostu olan fitoremediasyon tekniği üzerine çalışmalar artış göstermiştir [5-6]. Toprak üstü organlarında topraktaki ağır metal konsantrasyonundan 50 ila 500 kat daha fazla metal biriktirebilen bitkiler hiperakümülatör bitkiler olarak isimlendirilmektedirler [7]. Hiperakümülatör bitkiler ağır metalleri herhangi bir toksisite semptomu göstermeden toprak üstü organlarında diğer bitki türlerine göre 100 ila 1000 kat daha fazla biriktirebilmektedirler[8].

Bu alanda yapılan çalışmalara göre bazı bitki türleri, bazı ağır metalleri daha yüksek konsantrasyonlarda biriktirebilme özelliğine sahiptirler. Örneğin; hidrofitlerden *Salvinia natans* (L.) ALL. civa için, *Spirodella polyrhiza* inko için iyi birer indikatör bitki özelliğindedirler.[9]. Bunun yanı sıra, *Ceratophyllum demersum* L. gibi bazı türlerin Cu, Cr, Fe, Mn, Cd ve Pb gibi ağır metalleri biriktirebildikleri araştırmalarla belirlenmiştir [10]. Araştırmalar sonunuda, bir çok hiperakümülatör bitki türünün fitoremediasyon yeteneği düşük biyoktle, yavaş büyüme hızı ve genellikle belirli bir habitatla sıkı bir ilişki nedeniyle sınırlanmaktadır [11]. Yapılan araştırmalar nedeniyle ağır metal toleransı, hızlı büyüme oranı ve derin kök sistemi vb fitoremediasyon için gerekli özellikleri bünyelerinde barındıran bitki türlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Gelişmiş büyüme karakteristikleri ve yüksek seviyede metal biriktirme kapasitesinin birleştirilmesi ile ağır metal alınımlı, toleransının ve translokasyonun geliştirilmesi için yapılan genetik düzenlemelerdeki ilerlemeler transjenik yaklaşımların birçok bitki türünde gerçekleştirilmesine olanak sağlamıştır [12]. Mobilizasyon ve topraktan metal iyonlarının alınımlı, metal-ligand komplekslerinin oluşumu ve vakuollerde detoksifikasyon, simplastik veya apoplastik yol ile gövde dokusuna translokasyon, hücrelerde alıkonma ve ağır metallerin metabolik açıdan daha az aktif hücrelere aktarılması ile ilişkili işlevler genetik değişikliklerin hedefini oluşurmaktadır [13].

Bu alışma, bitkilerde hiperakmlasyonu sağlayan moleküler ve genetik mekanizmaların belirlenmesi, fitoremediasyon potansiyeline sahip bitki türlerinin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Bu çalışmada kullanılacak olan *Salvinia natans* bitkisi ağır metal akümülasyon yeteneğine sahip olması nedeni ile, fitoremediasyon için aday genlerin genomik teknolojileri ile araştırılması sonucunda elde edilecek veriler sayesinde, bitki türlerindeki ağır metal metabolizması ve metallerle kirlenmiş olan bölgelerin iyileştirilmesi için yeni bitki türlerinin geliştirilmesi çalışmaları açısından, önemli olacaktır.

2.BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

2.1.Ağır Metaller Hakkında Genel Bilgi

“Ağır metal” terimi yaklaşık olarak 60 yıldır bilim adamları tarafından kullanılmakta ve farklı tanımları yapılmaktadır. 1964 yılında 7 g/cm^3 ’ten fazla element yoğunluğu gösteren, 1987 yıllarında 4 g/cm^3 ’ten fazla yoğunluğu olan, 1992’de yıllarında yoğunluğu 5 g/cm^3 ’ten fazla olan ve metalik özellik gösteren, 1995’de ise yoğunluğu 6 g/cm^3 ’ten büyük olan ve metalik özellik gösteren elementler ağır metal olarak sınıflandırmışlardır. Bazı bilim adamları ise ağır metalleri atom ağırlıklarına, atomik numaralarına, diğer kimyasal ve toksik özelliklerine göre sınıflandırmışlardır. Kimya üzerine yetkili kurumlardan biri olan ve periyodik cetvel sistemini elinde bulunduran Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) raporlarında ağır metal ile ilgili bir bilgi bulunmamaktadır (Duffus,2002). Biyoloji literatüründe, farklı araştırmacılar arasında tam bir görüş birliği yoktur. Bazı biyologlar ağır metaller için; iz element, semi-metalik element (metalloid) bazıları ise “hafif metal” terimlerini kullanmışlardır.

Ağır metal elementlerinin bulunduğu grubun içerisine krom, kobalt, cıva, kadmiyum, bakır, demir, nikel, arsenik, kurşun, çinko vs. metaller bulunmaktadır. Bu elementler yapıları nedeniyle doğada genellikle silikat, sülfür ve karbonat halinde stabil bileşik olarak veya silikatlar içinde bağlı olarak bulunurlar.

Ekosistemde bulunan As, Hg, Pb, Cu, Cr vb ağır metal olarak isimlendirilen bu elementlerin belli bir doza kadar canlı yaşamı için bulunması gerekmektedir. Ağır metal elementlerinin deniz sularındaki konsantrasyonları 1 ppm ’den düşüktür [14]. Yer kabuğunun doğal bileşenlerini oluşturan bu metallerin, maden yataklarının taşınması, erozyon, rüzgar, jeolojik faaliyetler ve orman yangınları gibi doğal olaylar sonucu ile endüstriyel deşarjlar ve çöp depo alanlarındaki sızıntılar gibi çeşitli aktiviteler sonucunda ekosistemdeki değişimlerinde artışlar meydana gelmiştir. Doğada bulunan ağır metallerin kaynakları genel olarak maden işletmeleri (demir, çinko, bakır, gümüş, kurşun, krom, altın ve uranyum elementlerinin elde edilmesine yönelik süreçler sonucunda), metal endüstrileri (çinko, bakır, demir-çelik, krom vb) ve diğer metal

kaplama, matbaacılık, tekstil, kurşun batarya, seramik, fotoğrafçılık, elektrik-elektronik, deri, boya ve otomotiv endüstrilerinin atıklarından kaynaklanmaktadır [16].

Doğada bulunan bu metaller endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır ve endüstriyel atıklardan dolayı belli bir miktarı besin zincirine aktarılmaktadır. Ağır metallerin toksik özellikleri nedeniyle ekosistemi kirletme etkileri, insan ve hayvan sağlığı ve ürün üretimi üzerinde önemli bir tehdit unsurudur [17].

2.1.1.Çinko (Zn)

Çinko, mavimsi açık gri renkte, kırılğan bir yapıda olan doğada yer alan metaller arasında 23. Sırada yer almaktadır. Endüstride kağıt, ilaç ve boya sanayilerinde, diş tedavi dolgu ham maddesi olarak, otomotiv endüstrisinde döküm kalıplarında kullanılmaktadır. Diğer ağır metallere oranla daha az zehirlidir [8].

İnsanlar, bitkiler ve hayvanlar için mutlak gerekli bir mikro elementtir. Toprak içeriğinde fazla miktarda bulunan çinko elementi, bitkilerde ve mikroorganizmalarda zehir etkisi yapmaktadır. İnsanlarda, besin maddeleri ve diğer yollarla (diş dolgusu vb.) çok miktarda çinko alınması durumunda kronik çinko zehirlenmesi olayına rastlanmıştır.

Çinko, bitki metabolizması için gerekli olup, protein, karbonhidrat, RNA oluşumu, fosfat, membran geçirimsizliğinde rol oynamaktadır. Ayrıca bakteri ve mantarların yol açtıkları bazı hastalıklara karşı koruyucu etkileri vardır [20]. Kirlenmemiş toprakların çinko içeriği 10-80 mg/kg değerleri arasında değişmektedir. Çeşitli yollarla çinko ile zenginleşmiş topraklarda bu değer 5000 mg/kg a kadar çıkmaktadır. Çinko (Zn) genellikle bitkiler tarafından Zn^{+2} , olasılıkla $ZnOH^+$ ve çözünmüş organik Zn-kompleksleri şeklinde bünyelerine alınmaktadırlar [21].

Çinko toksisitesi bitkilerde hücre bölünmesine zarar verir. Bunu sonucunda ise meristematik kök hücrelerinin çekirdeğinin hasarlı olmasına sebep olur [18]. Yüksek konsantrasyonda çinko bitkilerde, kök uzunluğunda ve klorofil miktarlarında azalmalara sebep olur [22]. Ayrıca bitki gelişimini engelleyerek boyca küçük kalmasını, tohum sayısını ve tohum ağırlığını etkiler bunun yanı sıra ayçiçeğinde çözülebilir proteinleri azaltır [20].

2.1.2. Kurşun (Pb)

Özel bir kokusu ve tadı olmayan mavimsi gri renkli bir metaldir. İnsan faaliyetleri ile ekolojik sistemde önemli kontaminasyonlara neden olmaktadır. Kurşun elementi atmosfere bileşik ve metal olarak yayıldığı her durumda zehir etkisi taşımasından dolayı çevresel kirliliğe sebep olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü sıralamasına göre Pb elementi 2.sınıf kanserojen grupta yer almaktadır [16].

Kurşun elementinin kullanımı M.Ö. 3000 yıllarında Sümerler'in ilk kurşundan heykel yapımlarına kadar eski tarihlere uzanmaktadır. Romalılar ise kurşunu su borularının yapımında ve şarapların lezzetlenmesi için kurşun kapların yapımında kullanmışlardır. Kurşunun kullanım yerlerinin sonucunda ise insanlarsa kronik kurşun zehirlenmeleri görülmüştür [23-27]. Su dağıtım borularında kullanılan kurşun metali suya karışarak tüm canlılar için bir çok sağlık problemlerinin ortaya çıkmasına sebep olmuştur.

Günümüzde endüstriyel faaliyetlerin artması sonucunda çevreye önemli oranda yayılan Pb ekolojik sisteme önemli derecede zarar vermektedir. Pil, lehim, boya, mermi, inşaat sektörü, akü, elektrik ve petrol sanayine ait atıklar, endüstri kuruluşlarının bacalarından ve taşıtların egzozlarından çıkan dumanlar ile pestisit kullanımı gibi faaliyetler ile atmosfer ve toprak ekosistemine kontamine olabilmektedir [28]. Ekosisteme dahil olan Pb, Cu, Zn gibi ağır metaller bulundukları ortamda birikerek yüksek konsantrasyonlara ulaşmakta, ayrıca besin zinciri ile taşınarak canlı yaşamını tehdit etmektedirler.

Kurşun, bitkiler için mutlak gerekli olmayıp, toprakta 15-40 ppm dozunda bulunmaktadır. Topraktaki kurşun konsantrasyonunun 150 ppm'i aşmadığı sürece bitki, hayvan ve insan sağlığı açısından bir tehlikesi olmamaktadır. 300 ppm'i aştığında ise potansiyel olarak insan sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır [29].

2.1.3. Nikel (Ni)

Nikel sert, parlak gümüşümsü renkte olan, yer kabuğunda doğal olarak bulunan 24. elementtir. Klor, kükürt ve oksijenle yapmış olduğu bileşiklerde genellikle suda kolay çözünür ve karakteristik olarak yeşil renktedir. Sulu ortamlarda Ni^{+2} halinde bulunmaktadır [31].

Nikel (Ni), günümüzde bazı hayvanlar için mutlak gerekli elementlerden biri olarak görülürken, bitkiler ve mikroorganizmalar için düşük konsantrasyonda bulunması durumunda olumlu bir etkisi olduğu düşünülmektedir [21].

Nikel elementinin tarım topraklarındaki konsantrasyonu genellikle çok azdır. Fakat, serpantin gibi ultra bazik püskürük kayaların olduğu topraklarda Ni konsantrasyonları 100-5000 mg Ni/kg arasında değişim göstermektedir [32]. Nikelin kullanım alanları ise; petrol, kömür, çelik, alaşım üretiminde, elektronik endüstrisi, uçak ve gemi endüstrisi, motorlu araçlar ve parçalarıdır. Toprakta nikel elementinin kritik toksik düzeyi 100 mg/kg, duyarlı bitkilerde >10 µg/ g, kuru madde ve orta düzeyde duyarlı olan bitkilerde ise >50 µg/ g kuru maddedir [33].

Nikel elementinin bitki türleri için düşük konsantrasyonda yararlı olduğu düşünülürken, yüksek konsantrasyonlarda toksisteye neden olduğu araştırmalar sonucunda belirlenmiştir. Ni, bitki türlerinin kökleri tarafından kolaylıkla absorbe edilebildiğinden dolayı belirli bir konsantrasyondan sonra bitkilerin büyümelerinde toksisteye neden olmaktadır. Nikel elementinin yüksek konsantrasyonu bitkilerde, çimlenme aşamasından başlayarak, bitkilerin büyüme ve gelişmesi aşamalarında toksik etkilere neden olur [34].

2.1.4. Bakır (Cu)

Doğada geniş bir yayılım gösteren temel bir element olan bakır, günümüzde endüstriyel bir öneme sahiptir. Elektrik ve elektronik sanayi, boya sanayi, otomotiv sanayi ve çeşitli alaşımlarda, çeşitli süs eşya yapımında ve dekoratif kaplamada, altın alaşımlarda kullanılmaktadır. Canlılardaki fizyolojik etkinliklerin devam etmesi için mutlaka gerekli olan bakır elementi, proteinlerin görevlerinde rol oynamakta ve vücuttaki tüm kimyasal tepkimelerde katalizör görevi yapmaktadır [30]. Yerkabuğunun karasal kısmında ortalama bakır içeriği 35 mg/kg düzeyindedir.

Bakır fazlalığında bitkilerde ve hayvanlarda (daha çok koyunlarda) bakır toksisitesi ortaya çıkmaktadır [21]. İnsanlarda normal beslenme dışında bulaşma ve başka yollar ile alınan bakır elementi vücutta toksik etkilere neden olmaktadır. Vücutta gereğinden fazla bulunan bakır Wilson hastalığına neden olmaktadır. Daha çok 6 ila 20 yaşları arasında görülen bu hastalığın belirtileri arasında, sinir sistemi bozukluğu, gözlerde renk

halkası oluşumu, karaciğer sirozu sayılabilir. Bunun yanı sıra ince bağırsakta bakır absorpsiyonuyla birlikte karaciğer, böbrek ve beyinde birikim yaparak vücutta bir takım bozukluklara neden olmaktadır [30].

Bakır elementinin bitki fizyolojisine etkileri ile ilgili oldukça fazla araştırma yapılmıştır. Bitkilerde DNA'nın hasar görmesi sonucunda fotosentez işleminde bozulmalar, yaprakların renginde koyulaşmalar, dokularda hasar, köklerde kısılma ve incelme gibi bozulmalar görülmüştür [35].

2.1.5. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum elementinin doğada tek başına yer aldığı bir minerali yoktur ve Cd metali doğada bulunan en tehlikeli ağır metallere aittir. Canlı organizmalar için toksik özelliktedir. Çevreye endüstriyel kullanımlar, katı atıklar ve insan faaliyetleri sonucu salınmaktadır [36]. Kadmiyum metalinin bitki-toprak sisteminde yüksek hareket edebilme özelliğine sahip olması nedeniyle besin zincirine kolaylıkla dahil olabilmesini sağlar. Bu nedenle kadmiyum bitki, hayvan ve insan sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır [37].

Kadmiyum elementinin doğaya girişi genellikle mürekkep ve boyalarda pigment maddesi olarak (%21), PVC olmak üzere plastik maddelerin stabilize edilmesinde (%15), alaşımlarda (%7,5), Ni-Cd pillerinde (%3), fungusitlerde ve çeşitli elektrik malzemelerinde (%8,5 oranında) kullanılmasıdır [36]. Kadmiyum metalinin tarım topraklarına girişi ve yayılmasının da ise fosforlu gübreler, endüstriyel faaliyetler ve lağım atıkları etkilidir [37]. Toprakta 3 mg/kg kadmiyum toksik etkiye neden olurken, bitki kuru maddesinde 1 mg/kg kadmiyum toksik etkiye neden olur [33].

Bitkilerde kadmiyum stresi su ve iyon alımını azaltmaktadır. Bunun en önemli nedeni kadmiyumun bitkilerde kök büyüme ve gelişimini engellemesidir. Bunun yanı sıra kadmiyum stresi altında bulunan bitkilerde stomaların kapanması nedeniyle transpirasyonla su kaybı azalmakta ve kadmiyum taşınması engellenmektedir [38].

İnsanlarda kadmiyum toksisitesinde en çok etkilenen organ böbrekler olup, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon ve en önemlisi kansere yol açabilmektedirler. Kadmiyumun sebep olduğu en iyi bilinen hastalık Japonya'da görülen ve endemik olan

Itai-itai hastalığıdır. Kadınlarda sık gözlenen bu hastalık, kemiklerde anormalliklere sebep olmaktadır [36].

2.1.6. Krom (Cr)

Krom dünyada en çok bulunan yedinci elementtir [39]. Bitkiler için mutlak gerekli olmayan ancak insan ve hayvanlar için mutlak gerekli olan elementtir. Cr (III) (üç değerlikli krom) özellikle glikoz metabolizmasında insülin etkisini teşvik ederek “Glikoz tolerans faktörü” olarak görev almaktadır. Bunun yanı sıra krom, protein ve nükleik asit yapısını stabilize etmekte ve bazı enzimleri aktive etmektedir [21]. İnsanlarda Cr (IV), deride alerjik dermatit etkilere neden olabilmektedir. Ayrıca solunum yolu ile alınan krom tozları, farenjit ve bronşite neden olurlar. Yüksek konsantrasyonda Cr (IV)’ya maruz kalındığında ise kansere sebep olabilmektedirler (34). Krom elementinin kanserojen etkisi Dünya Sağlık Örgütü ve EPA tarafından saptanmıştır.

Krom, fotoğrafçılık, paslanmaz çelik üretiminde, boya sanayinde, metalürji endüstrisinde, dericilik işlemlerinde, cam ve seramik malzemelerde kullanılmaktadır.

Bitkiler için toksik etkilere neden olan krom metali, membran zarlarında, organellerde yapısal değişikliklere, metabolik aktivitede bozulmalara ve büyümede inhibisyona neden olmaktadır [39]. Bitkilerin genç yapraklarında klorosis ve kök gelişiminde dengesizliklere yol açmaktadır [40].

2.1.7. Arsenik (As)

Arsenik, metal ve ametal arsında bir özelliğe sahip olan elementtir. Hızlı nüfus artışına bağlı olarak, içme ve yeraltı sularında arsenik kirlenmesi dünya çapında önemli bir sorun olarak çevre ve insan sağlığını ciddi bir şekilde tehdit etmektedir.

Arsenik düşük konsantrasyonlarda dahi maruz kalındığında sistein içeren proteinlerce zengin olan tırnak, saç ve ciltte birikim sağlamaktadır. Kronik olarak birikme ise akciğerde olmaktadır. Ayrıca plasentayı kolayca geçerek fetusta birikebilir. Arsenik canlılar için toksik özelliktedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından toksik etkiye neden olan arsenik için içme sularında izin verilen maksimum limit 10 µg/L olarak belirlenmiştir. Arseniğe maruz kalınması sonucunda sinir sistemi bozukluğu, ciltte

tümör gelişimi gösterebilen pullanma ve renk değişikliği, yağ dokusunda bozulma, kansızlık, tırnaklarda tipik çizgi belirmesi gibi hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bunu yanı sıra uzun süre maruz kalınması durumunda potansiyel olarak deri, mesane, akciğer ve böbrek kanserleri gibi ciddi hastalıklar ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak, arsenik elementine maruziyet gündelik yaşamda önemli bir çevre sorunu olmakla, sürekli bir etkileşim söz konusudur. Arseniğe fazlaca maruz kalındığında akut etkileşimi rahatlıkla fark edilebilir ve kaynağı ortadan kaldırılabilir. Fakat önemli olan sorun ise düşük dozda arseniğe maruz kalınma, iş iştenden geçmeden kanser gibi önemli sağlık sorunlarının ortaya çıkmadan fark edilebilmesidir.

Arsenik, yer yüzünde doğal olarak bulunmasının yanında, erozyon aracılığıyla su kaynaklarını kirletebilen, boya, metal, sabun, ilaç gibi endüstriyel ürünlerin üretim proseslerinin yan ürünü olarak doğaya karışan bir ağır metaldir [41].

2.1.8. Ağır Metallerin Çeşitli Etkileri

Ağır metaller, metabolik reaksiyonları yavaşlatmakla birlikte canlı organizmalarda aşırı derecede zehir etkisi yaparlar. Dünyada, endüstriyel gelişmelere bağlı olarak zehirli ağır metaller ve boyar maddelerle çevre kirliliği artmaktadır [9].

Yaşam sağladığımız ortama su, hava ve insan faaliyetleri sonucunda üretilen birçok kimyasal madde ve üretilen ürünler aracılığıyla ekosisteme geçen ağır metaller solunum yolu, yutma, ciltten emilme yolları ile vücudumuza girerler. Ağır metallerin vücudumuza giriş hızı, ağır metalleri vücudumuzdan dışarı atma hızından yüksekse, zaman içinde vücudumuzda birikim yaparlar. Ağır metallere maruz kalma konusu yeni konu değildir. Roma imparatorluğunun çöküşüne, kurşun kapların içinde saklana şarap ve diğer üzüm içeceklerinin büyük katkılarının olduğu tarihçiler tarafından belirtilmiştir.

Hızlı nüfus artışına bağlı olarak artan endüstriyel üretimde ağır metallerin geniş alanlardaki kullanımı sebebiyle, insanların ağır metallere maruz kalma oranı son 50 yılda ciddi bir artış göstermiştir [10]. Ağır metaller günümüzde dünyadaki hızlı artış endüstriyel gelişimden dolayı ekosisteme birçok kaynaktan dahil olmaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2. 1. Ağır metallerin ekosisteme dahil olma kaynakları [43]

A-Metal İşletmeciliği ve Eritmeden Gelenler
Maden işlemlerinden çevreye rüzgarla yayılan (Cd, Hg, Pb, As)
Metallerin eritilmesinden (As, Cd, Hg, Pb, Sb, Se)
Demir ve çelik endüstrisinden (Zn, Cu, Ni, Cr, Cd)
Metal işletmeciliğinden (Zn, Cu, Ni, Cr, Cd)
B- Endüstri
Plastikler (Co, Cr, Cd, Hg)
Tekstil (Zn, Al, Ti, Sn)
Ev aletleri yapımından (Cu, Ni, Cd, Zn, Sb)
Ağaç işletmeciliği (Cu, Cr, As)
Rafineri (Pb, Ni, Cr)
C-Havadaki Partikül ve Dumanlar
Şehir, fabrika vs. (Cd, Cu, Pb, Sn, Hg, V)
Metal işletmeciliği (As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Ti, Zn)
Taşıtlardan (No, Pb, V, Cd)
Fosil yakıtlardan (As, Pb, Sb, Se, U, V, Zn, Cd)
D- Tarım
Gübreler (As, Cd, Mn, U, V, Zn)
Hayvansal Gübreler (As, Cu, Mn, Zn)
Kireçler (As, Pb)
Pestisidler (Cu, Mn, Zn)
Sulama (Cd, Pb, Zn)
Metal aşınması (Fe, Pb, Zn)
E- Atıklar
Lağım (Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, V, Zn)
Kazma ve delmeler (As, Cd, Fe, Pb)
Küller (Cu, Pb)

2.1.9. Ağır Metallerin Bitkilerdeki İşlevi ve Etkileri

Besin zinciri ve biyolojik döngünün temel basamağı konumunda olan bitkilerin yaşamları için bünyelerinde mutlak bulunması gereken elementlere, “bitki besin elementleri” denilmektedir. Bitki dokularının analizlerine bakıldığında ekosistemde bulunan birçok elementi yapısında görmek mümkündür. Bitkilerin yetiştirme ortamında yaygın formlarda bulunan besin elementlerinin konsantrasyonlarında artışlar meydana geldikçe, bitkilerin bünyelerine pasif yollarla geçen bazı ağır metaller, bitki türleri tarafından bünyelerine alınarak besin zincirine dahil olmaktadır. Bitki yaşamları için gerekli olsun ya da olmasın düşük konsantrasyonda da olsa bünyelerine aldıkları ağır metaller belirli oranlarda konsantrasyonlara ulaştıkları zaman toksik etkiye neden olmaktadır [10].

Bitkiler ağır metal toksisitesinin üstünden gelebilmek için fizyolojik ve biyokimyasal işlevler, gen ekspresyonu, protein modifikasyonu ve metabolit içeriklerindeki değişimlerin bir koordinasyonuna gerek duymaktadırlar [11]. Bitki hücrelerinin en önemli özelliği, kendi savunması için ağır metal stresine karşı cevap oluşturmalarıdır [12].

Ağır metal olarak adlandırılan elementlerin oluşturdukları kirliliğin belirtileri metalden metale değişiklik gösterirken, bu metallerin etkileri bitki türleri arasında da değişiklik göstermektedir. Bitki türleri içerisinde genel olarak meydana gelen toksisite semptomları klorosis, negrosiz, gövde, yaprak ve kök kısımlarında deformasyonlar, tohumun çimlenmesi, çıkış, fide büyüme ve gelişim, bitkide büyüme ve gelişmede gerilikleri biyomas üretiminin düşmesi, çiçek ve meyve tutumunda azalma, verimde düşme ve ürün kalitesinde bozulmalardır. Bunun yanı sıra, ağır metallerin fotosentetik aktiviteleri sekteye uğratması, azot döngüsü ve bağlanması bozulma, klorofil miktarında azalma, enzim sistemlerinde bozulmalar ve bitkilere mutlak gerekli olana diğer elementlerin alınımını engellemesi gibi hücre mekanizmalarında olumsuz etkileri bulunmaktadır. [13,44]

2.1.10. Ağır Metallerin Biyosorbisyonu

Dünyada ağır metallerle kirlenmiş olan alanların iyileştirilmesinde (remediasyon) kullanılan geleneksel mühendislik teknikleri pahalı olmaktadır [45,46]. Ağır metallerin

akut toksik etkileri nedeniyle, hem ekonomik hem de etkili ve pratik metotlarla çevreden uzaklaştırılmaları veya daha az toksik formlara dönüştürülmeleri gerekmektedir [47]. Bu nedenle bulunan iyileştirme teknikleri yerine düşük maliyetli ve çevre dostu olan fitoremediasyon tekniği üzerine yapılan çalışmalar artış göstermiştir [48,6]. Fitoremediasyon, kirleticileri biriktirmek veya daha az toksik hale getirmek ve çevrenin temizlenmesi için bitki kullanımını kapsayan önemli bir tekniktir. Düşük maliyetli, kendi kendini yenileyebilme, birçok ağır metale uygulanabilme, çevreye karşı zararsız olması gibi birçok avantajı vardır. Bitkiler, toprak ve kirli suların arıtımı için, benzersiz genetik, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri nedeniyle ideal araçtır [47].

Toprak üstü organlarında toprakta bulunan metal konsantrasyonundan 50 ila 500 kat daha fazla metal biriktirebilen bitkiler, hiperakümülatör bitkiler olarak isimlendirilmektedir [7]. Hiperakümülatör bitkiler ağır metalleri herhangi bir toksisite belirtisi göstermeksizin toprak üstü organlarında diğer bitki türlerine göre 100 ile 1000 kat daha fazla biriktirebilmektedir [49]

Bitkisel giderim (fitoremediasyon) temelde iki kısımdır;

a) Fitoekstraksiyon; Metali akümüle eden bitkiler kullanılır ve metalin hasat edilebilen bitki kısımlarında biriktirilerek alınması sağlanmaktadır.

b) Fitostabilizasyon; Bu yöntemde ise metala toleransı yüksek olan bitkiler kullanılmaktadır. Metale toleransı yüksek olan bitkiler ağır metallerin mobilitesini düşürürler. Böylece zemin sularından veya diğer dış kaynaklı metallerin çevreye dağılma riskleri azaltılır.

Ağır metallerce zengin ortamlarda yaşayabilme özelliği gösteren bitkiler 2 ana grupta toplanabilir.

1. Pseudometallofitler: Hem kirlenmiş hem de kirlenmemiş ortamlarda yaşayan bitkilerdir.

2. Metallofitler: Yalnızca kirletilmiş alanlarda yaşayabilen bitkilerdir. Bitkilerin ağır metallerle toleransı temelde iki temel stratejinin sonucudur.

a) Metal Dışlama: Bitkilerde metal dışlamadaki olay, metal alınımından kaçma ve gövdeye metal taşınmasını engelleme şeklindedir. Bu olay genellikle Pseudometallofitlerde görülür.

b) Metal Akümüle Etme: Bulunduğu substrattan daha yüksek konsantrasyonlarda element içeren bitkiler akümülatör olarak isimlendirilirler [50].

Biyoalınabilirlik, metalin topraktaki oranına, mobilitesine ve fraksiyonun göre değerlendirilebilmektedir. Metal alınımının miktarı, bitki içinde ağır metal dağılımının nasıl olduğu ve bitkide metallerin kalma süreleri önemlidir. Ağır metallerin bulunduğu farklı formlardan dolayı alınabilirlikleri de farklılık göstermektedir. Sularda çözünebilen ve değişebilir metallerin alınabilirlik oranı yüksektir. Bitki türleri sularda çözünebilen kimyasal maddelerin taşınımalarını değiştirebilirler, bunun sonucunda metal iyonlarının emilimi rizosferde ve kök çevresinde gerçekleşir. Rizosferdeki pH'ın, toprağın pH'ından yüksek olması, metallerin çözünürlüğünü artırmakta ve böylece kök çevresinden metal alınımı sağlanmaktadır. Bitki kökleri ayrıca rizosfere çözünür organik bileşikler salarak metalleri kompleksleştirmekte ve alım yeteneğini artırmaktadır [47].

2.2. Moleküler Markörler

2.2.1. Moleküler Markör Tanımı

Moleküler markörler, genomda bulunan herhangi bir gen bölgesi veya gen bölgesi ile ilişkili olan DNA parçalarıdır. Moleküler markörler; genetik markörlerin, DNA tabanlı tipini oluşturduklarından, DNA markörleri olarak da bilinirler. DNA markörleri farklı genotiplere ait DNA'ların diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyan markörlerdir. Nükleik asit temeline dayalı genetik markörlerin genom analizlerinde kullanımı birçok araştırmacı için ihtiyaç duyulan bir alandır. Bu markörler kullanılarak birbirine morfolojik olarak çok benzer olan kültür çeşitleri ayrılabilir ve tanımlanabilir.

Moleküler markör yöntemi, DNA molekülündeki polimorfik bölgelerin belirlenmesi prensibine dayanır. Popülasyonda her hangi bir genin yada özelliğin birden fazla formu bulunuyorsa o gen veya fenotipik özellik polimorfik olarak kabul edilmektedir.

Polimorfizm, amino asit dizisi, DNA dizisi, kromozomal yapı ya da fenotipik özellik varyantları gibi birkaç düzeyde görülebilir.

Bütün bir genomun analiz edilebileceği DNA'yı elde etmek için, herhangi bir kısımdan alınan az miktardaki doku parçası yeterli olmaktadır [51]. Bunun yanı sıra; DNA markörleri stabil olup, tüm dokularda ortaya çıkabilirler, çevre koşullardan etkilenmezler, kodominant ya da dominant özellikte olabilirler ve kalıtımı basit ilkelere sahiptirler [52].

Moleküler markörler, DNA bazların'da oluşan nokta mutasyonları, silme (delesyonlar) araya girme (insersiyonlar) yada tekrarlanan DNA'nın replikasyonunda oluşan hatalardan meydana gelirler ayrıca nötraldirler. Çoğunlukla DNA'nın kodlanmayan kısımlarında oluşurlar. Moleküler markörler teorik olarak sınırsız sayıda kabul edilir, morfolojik ve biyokimyasal markörlerin aksine, çevresel faktörlerden ve bitki gelişim evrelerinden etkilenmezler.

2.2.2. Moleküler Markör Teknolojisinin Kullanım Alanları

Moleküler markörler; QTL (Quantitative Trait Loci) analizlerinde, genetik haritalamada [53], kültür çeşitlerinin tanımlanmasında, genetik akrabalıkların belirlenmesinde, yeni geliştirilen çeşitlerin koruma altına alınmasında [54], tohumculukta safiyet analizlerinde, genetik kaynağın yapısını anlamada, gen kaynaklarının karakterizasyonunda, genetik kaynağın tekrar organizasyonunda, duplike olan genotiplerin belirlenmesinde ve ıslah programında kullanılacak ebeveynlerin belirlenmelerinde kullanılırlar. Bunun yanı sıra moleküler markör teknolojisi, çeşitli stres etmenleri ile ilişkili genom bölgelerinin belirlendiği ve genom yapısı hakkında bilgi edinildiği çalışmalarda genellikle kullanılmaktadır.

2.2.3. Moleküler Markörlerde Bulunması Gereken Özellikler

Moleküler markörlerde bulunması gereken özellikler aşağıda verilen şekilde sıralanabilir;

- Yüksek derecede polimorfik davranış göstermeli ve farklı genotipleri ayırt edebilmelidir.
- Bütün dokularda gözlemlenebilmelidir.

- Kodominant (eşbaskınlık) kalıtım göstermeli ve heterozigot bireyleri, homozigot dominant bireylerden ayırt edilebilmelidir.
- Genomda sıkça bulunmalıdır.
- Genomda düzgün dağılım göstermelidir.
- Seçici, nötr davranış göstermelidir.
- Kolay ulaşım sağlanmalı ve uygulama maliyeti düşük olmalıdır.
- Yüksek oranda tekrarlanabilirlik göstermelidir.
- Otomasyona uygun kolay ve hızlı değerlendirme sağlamalıdır.
- Aynı genetik materyal üzerinde yapılan bir markör analizi her zaman aynı sonuçları vermelidir.

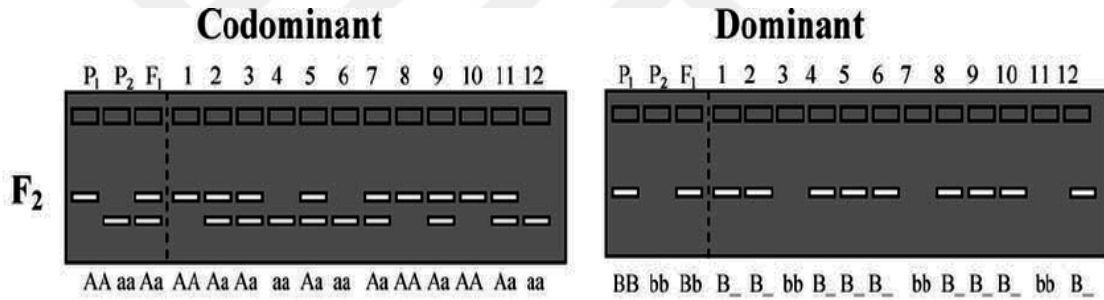
2.2.4.Moleküler Markör Tipleri

Kullanılan teknikler bakımından moleküler markörler, Hibridizasyona Dayalı Markörler ve Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) dayalı markörler olarak iki ana gruba ayrılabilir. Hibridizasyona dayalı markörlere örnek olarak; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism/Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi), PCR tabanlı markörlere örnek olarak; RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi), SSR (Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler veya Mikrosatelitler), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) verilebilir.

Bu markör sistemlerinin dışında; SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism), STS (Sequence Tagged Site), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic), ALP (Amplicon Length Polymorphism) ve bunlara ilaveten DNA sekanslamasına dayalı SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markörleri ve MP-PCR (Microsatellite Primed Polymerase Chain Reaction), AP-PCR (Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction), AS-PCR (Allele Specific Polymerase Chain Reaction), DAF (DNA Amplification Fingerprinting) stratejileri de polimorfizmin belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Genotipler arasında bir farklılık göstermeyen markörler, monomorfik markörler olarak adlandırılırlar. Aynı veya farklı türlerin bireyleri arasında farklılık gösteren markörleri ise polimorfik markörler olarak adlandırılırlar ve bunlar, farklılıkları belirlediği için monomorfik olanlardan daha kullanışlıdır.

Polimorfik markörler, homozigot ve heterozigotlar arasında ayrımlanabilmelerine göre kodominant veya dominant özellik gösterirler. Dominant markörler var ve/veya yok olarak belirlenirken, kodominant markörler boyut olarak farklılık gösterirler. Kurallara bakılırsa, bir DNA markörünün farklı formları (örneğin jel üzerindeki farklı boyuttaki bantlar) markör allelleri olarak isimlendirilirler. Bu durumda kodominant markörler farklı birçok allele sahip olabilirken dominant bir markör sadece 2 allele sahip olabilir. Şekil 2.1.'de kodominant markörlerle homozigot ve heterozigotlar arasındaki farklılık net olarak görülebilmektedir. Fakat dominant markörler bu ayrımı yapamamaktadır.



Şekil 2. 1. Kodominant Markörler ve Dominant Markörlerin karşılaştırılması

2.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tabanlı Moleküler Markörler

1980'li yılların ortalarında araştırmacılar tarafından geliştirilen klonlama tekniği, dizi analizi ve DNA haritalaması gibi temel moleküler biyoloji araştırmalarında kullanılmaya başlanmıştır. PCR (polimeraz zincir reaksiyonu), DNA'nın *in vitro* koşullarda enzimatik olarak sentezletilmesidir. PCR yönteminin geliştirilmesinde anahtar rolü *Thermus aquaticus*'dan elde edilen sıcaklığa dayanıklı polimeraz enziminin (*Taq* DNA polimerase) keşfi rol oynamıştır. Bu enzim sayesinde hücrede normal şartlar altında gerçekleşebilen doğal DNA replikasyonu laboratuvar şartları altında 'termocycler' adı verilen özel cihazlar yardımı ile gerçekleştirilmiştir.

Teknik, küçük miktardaki spesifik bir DNA parçasının, bir dizi enzimatik reaksiyon sonucu milyonlarca kez çoğaltılması esasına dayanmaktadır. Fakat çoğaltılabilen unsurlar DNA'nın tamamı değil, DNA'nın istenilen veya rastgele sentezlenen bazı bölgeleridir.

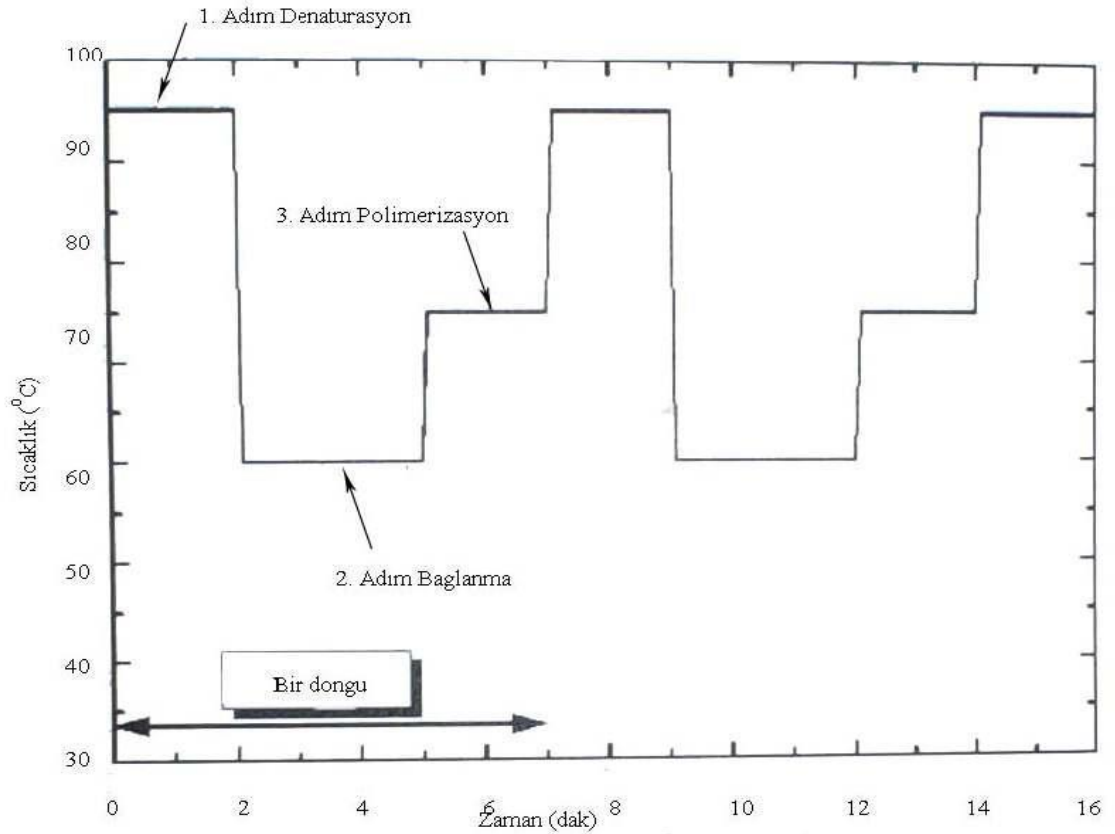
PCR yöntemi, çift iplikli DNA molekülünün tek zincire ayrıştırılması, hedef DNA dizilerine oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması temeline dayanmaktadır. Primerler, kalıp DNA moleküllerini yüksek sıcaklık derecelerinde denatüre ettikten sonra, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde kendilerine tamamlayıcı olan bölgelere bağlanırlar. Primerlerin hedef bölgelere bağlanması, düşük sıcaklıklarda gerçekleşir. Bunun yanı sıra reaksiyon ortamında pH'yı ve tuz konsantrasyonunu optimum hale getiren tampon çözelti, polimeraz enzimi, polimeraz enziminin ihtiyaç duyduğu $MgCl_2$ ve DNA üretiminde kullanılacak Adenin (A), Timin (T), Guanin (G), Sitozin (C) (dNTP) nükleotidlerinden her biri yeterli miktarda bulunur. Polimeraz enzimi sayesinde başlatıcı DNA, bir kalıp DNA üzerine bağlandıktan sonra, onu 3' ucundan 5' yönüne doğru uzatmaya başlar ve kalıp DNA'nın aynısını üretir.

Bir PCR'in döngüsü 3 kısımda gerçekleşir. Bunlar şu şekilde sıralanır;

- DNA ipliklerinin birbirinden ayrılarak açılma (Denatürasyon),
- Primerin bağlanması (Annealing),
- Uzama (Extention)

Önce 95 °C civarında bir sıcaklık kullanımıyla kalıp DNA'nın çift sarmal yapısı açılır ve DNA iplikleri birbirinde ayrılarak tek iplik haline getirilir (denatürasyon). Sonra primerin nükleotid içeriğine bağlı olarak 30-60 °C arasında bir sıcaklıkta başlatıcı DNA'nın kalıp DNA'ya bağlanması sağlanır (bağlanma). Son işlem olarak 72 °C'de *Taq* DNA polimeraz enzimi ortamdaki nükleik asitleri (A-G-C-T) kullanarak uygun DNA bölgesini çoğaltır (uzama). Bu adımların her birinde sadece 1-2 dakika kullanılır

(Şekil 2.2). Bu üç adım isteğe bağlı olarak defalarca (yaklaşık 30-45 defa) tekrarlanır ve DNA amplifikasyonu, her DNA molekülü üstünde istenilen bölgenin iki katına çıkmarılması işlemi ile tamamlanmış olur.



Şekil 2. 2. PCR'ın (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Çalışma Mekanizması

PCR yöntemi günümüzde farklı birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. PCR yönteminin başlıca kullanım alanları şunlardır;

- Tanı ve teşhis işlemlerinde,
- Genetik yapısı değiştirilen mikroorganizmaların veya bitki türlerinin tespitinde,
- Moleküler klonlama (DNA klonlaması),
- DNA baz dizilimlerinin belirlenmesinde,
- Adli tıp vakaları ve genetik akrabalıkların belirlenmesinde kullanılmaktadır.

DNA dizilişi her genotipte farklılık gösterdiği için, aynı primerler kullanılsa dahi her genotipte farklı DNA ürünleri elde edilir ve buda farklı üretimler genetik markör olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla çok fazla değişik DNA markör tipleri kullanılmakla ve geliştirilmeyede devam edilmektedir. RAPD, AFLP, SSR ve ISSR gibi DNA markörleri çalışmalarda yaygın olarak kullanılan PCR kullanımına dayalı markörlerdir.

2.2.6. ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm)

ISSR yöntemi, ökaryotik genomlarda tekrar eden ikili, üçlü, dördü ve beşli tekrarlanabilir nükleotid birimlerinin lokustan bağımsız bir biçimde genomda gelişigüzel dağılımlarını temel alan fakat RAPD tekniğine göre daha çok duyarlı ve tekrarlanabilirliği yüksek olan bir teknik olarak karşımıza gelmektedir [55,56].

ISSR markörleri genetik spektrumun belirlenmesinde, genom haritalarının oluşturulmasında, filogenetik araştırmalarda ve evrim biyolojisinde birçok tarla bitkisine uygulanabilen etkili bir yöntemdir [57].

ISSR markörlerinin uygulanması kolay, kullanımı hızlı ve primerleri diğer tekniklere göre daha uzun olduğu için dolayı güvenilirliği yüksektir [58]. Çalışmalarda, gerekli olan bilgileri sunan ISSR primerlerini kullanmak ekonomik açıdan ucuzluk, genetik analizlerde kolaylık ve zamandan tasarruf sağlamaktadır.

ISSR markörleri Mendel kalıtımına uygun olarak dominant markörler vermektedir [59]. Bunun yanı sıra kimi durumlarda homozigot ve heterozigotluğun tanımlanmasında kodominant markör de vermektedirler.

RAPD markörlerinin düşük üretkenliği, AFLP markörlerinin yüksek maliyeti ve primer sentezlenebilmesi için sekans bilgisinin gerekliliği ve SSR markörleri birçok çalışmada önemli kısıtlamalar oluşturmaktadır. ISSR markörleri bu kısıtlamaların bir çoğunun üstesinden gelinmesinde önemli bir yöntemdir [55].

ISSR yöntemi genetik çalışmaların artışı bu son zamanlarda dünya çapındaki birçok moleküler genetik laboratuvarında farklı bitki türleri üzerinde başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Örneğin; buğday [60], çeltik [61], arpa [62], mısır [63], nohut [64], çavdar [65] ve patates [66] gibi bitkilerde ISSR tekniğinin kullanımı artmaktadır.

2.3. Sucul Bitkilerle Yapılan Diğer Ağır Metal Araştırmaları

Günümüzde artan talep ve değişen iklim koşullarına bağlı olarak, bitki biyoteknolojisinde kuraklık, donma, tuzluluk ve ağır metal kirlenmesi gibi etkenlere karşı daha dayanıklı tarım bitkilerinin yetiştirilmesi üzerine çok sayıda çalışma

yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmaların temelinde ilk olarak farklı stres faktörlerinin farklı bitki türleri üzerinde oluşturdukları genotoksisite düzeylerinin saptanması yatmaktadır. Yakın zamana kadar yapılan çalışmalar da stres faktörlerinin bitkiler üzerindeki etkilerinin incelenmesi hücresel ve fizyolojik düzeyde kalmıştır.

Upadhyay ve ark. 4 farklı sucul bitkiyi 2. dereceden atık sularda yetiştirmiş ve ağır metal alınımlarını karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda da atık sulardan ağır metal uzaklaştırılmasında sucul bitkilerden yararlanılması gerektiği ve bu işlemde sırasıyla *P. stratiotes* L., *A. pinnata* R. Br., *E. crassipes*, *L. minor* ve *S. Polyrrhiza* bitiklerinin etkili olduğu belirtilmiştir.

Körner ve ark. [67] farklı amonyum ve amonyak konsantrasyonundaki evsel atık sularda, pH'a bağlı olarak *L. gibba* bitkisi üzerindeki toksisitesini incelemişlerdir. *L. gibba*'nın göreceli büyüme oranında (RGR) belirli bir düzeyden sonra, yani NH₃ konsantrasyonu yükseldikçe azaldığı, maksimum düzeye ulaştığında ise (8 mg N L⁻¹) bitkilerin çoğunun öldüğü belirtilmiştir.

Cu ve Cd ile kirlenmiş suları temizlemek için yapılan başka bir çalışmada, kadmiyum'un bakır'a göre daha toksik olduğunu ve *L. minor*'ün bakır ve kadmiyum ile kirlenmiş sularda bitkisel giderim için uygun olduğu belirtilmiştir [68].

Seth ve ark. [69] *S. polyrrhiza*'da arsenat ve kadmiyumun toksik etkisine ve akümülyasyon oranına bakmışlardır, sonuç olarak her iki element içinde bitkinin yüksek akümülyasyon oranına sahip olduğunu ve bitkisel giderim için uygun tür olduğunu belirlemişlerdir.

Duman ve ark. [70] *S. polyrrhiza* ve *L. gibba*'da nikel, bakır ve kadmiyumun biyoakümülyasyonunu incelemişler ve sonuç olarak metal konsantrasyonu yükseldikçe akümülyasyon miktarının arttığını, her iki bitkininde Cd için hiperakümülatör olduğunu ve *L. gibba*'nın *S. polyrrhiza*'ya göre metal akümülyasyonun da daha etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Dhir ve ark. [71] *Salvinia natans*'da krom bakımından zengin atık sulara maruz bırakılması sonucunda bitkideki fizyolojik etkinlik ve savunma potansiyelini değerlendirmişlerdir. *Salvinia*'nın, Cr bakımından zengin atık suyun neden olduğu

oksidatif stresleri azaltan fotosentetik mekanizmaların hasar görmesini önleyen etkili antioksidan mekanizmalara sahip olduğu belirtilmiştir.

Mohan ve ark. [72] *Salvinia natans*'ın ekotoksikolojik araştırmalarda kadmiyum toksisitesi için fito- tahlilinde kullanılabilecek potansiyel yeteneğini incelemişlerdir. *S. natans*'ın biyokimyasal değişiklikleri ve enzim aktiviteleri açısından Cd^{+2} 'ye duyarlılığı belirgin şekilde gözlenmiştir. Bitkilerde protein, karbonhidrat ve klorofil seviyesi azalırken ve prolin içeriğinde artış belirlenmiştir.

Srivastav ve ark. [73] *Salvinia* sp., *Spirodela* sp. ve *Brassica juncea* bitki türlerini kullanarak krom ve nikel bakımından zengin atık sularda metal iyonlarının akümülyasyonlarını incelemişler ve çalışmanın sonunda elde edilen verilere göre akümülyasyon oranının kullanılan bitki türüne ve ağır metal çeşidine göre %56 ila 96 arasında değiştiği gözlemiştir.

Soudek ve ark.[74], kurşun (Pb), bakır (Cu), nikel (Ni), kadmiyum (Cd), çinko (Zn), kobalt (Co), arsenik (As) ve krom (Cr) ağır metallerinin 0,01 , 0,05 , 0,1 , 0,5 ve 1 mM. konsantrasyonlarını keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumlarına uygulamışlardır ve ağır metal konsantrasyon artışına paralel olarak çimlenen tohum sayısında ve kök uzunluğunda azalmalar olduğunu belirlemişlerdir.

Zengin ve ark. [75], 1,5 , 2 , 2,5 mM konsantrasyonda kurşun (Pb) ve bakır (Cu) stresine maruz bıraktıkları fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerinde kök, gövde ve yaprak dokularındaki gelişimleri takip etmişlerdir. Her üç konsantrasyonda da kurşun ve bakır stresinin fideler de kök, gövde ve yaprak büyümesini önemli ölçüde azalttığı belirlemişlerdir.

Genotoksik etkilerin bitkiler üzerindeki etkilerinin incelenmesi için yapılan bazı çalışmalarda tek hücre jel elektroforez yöntemi, mikronükleus analizi veya sitogenetik analizlere dayalı yöntemler kullanılmıştır.

Menke ve ark. [76], *Arabidopsis thaliana* (L.) bitkisinin kök bölgesini farklı sınıflardaki genotoksin etkisine maruz bırakmışlar ve bitkide genotoksik hasar sonuzu meydana gelen hasarı tek hücre jel elektroforez tekniği ile incelemişlerdir. Sonucunda ise başarılı bir şekilde kök hücre çekirdeklerinde meydana gelen mutajenik etkiyi göstermişlerdir.

Son yıllarda ağır metallerin DNA üzerindeki genotoksik etkilerini belirlemek için moleküler belirteçlerden olan ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm) yönteminden yararlanılmaktadır.

Birçok araştırmacı ağır metallerin DNA üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla RAPD yöntemi ile çalışmalar yapmıştır [69,72]. Yapılmış olan çalışmalar sonucuna göre ağır metal konsantrasyonlarının artışına paralel olarak PCR ürünlerindeki polimorfizm oranlarının da artış gösterdiği belirlenmiştir.

Körpe ve Aras [77], patlıcan (*Solanum melongena* L.) tohumlarını farklı konsantrasyonlar da bakır (Cu) stresine maruz bırakmışlardır. RAPD analizleri sonucunda, ağır metal stresine bağlı olarak meydana gelen genotoksik etkiden dolayı bitkilerin genom profili kontrol grubuna göre farklılık gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Ayrıca artan ağır metal konsantrasyonu ile birlikte kök uzunluğunda, kök kuru ağırlığında ve toplam çözünür protein seviyelerinde azalmalar olduğunu belirlemişlerdir. Bu araştırmayla, biyoindikatör olarak kullanılan organizma ile kirliliğin biyolojik etkisini kantitatif olarak belirlemişlerdir.

3.BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

3.1. Materyalin Temini

Bu çalışmada kullanılan bitkiler kültür ortamında yetiştirilmiştir. Kültüre alınan bitkiler İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi laboratuvarından temin edilmiş olan *Salvinia natans* (L.) (Su eğreltisi) bitkisidir. Temin edilen bitkiler Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarında bulunan akvaryumlara koyularak su sirkülasyonu ve gerekli havalandırma sağlanarak yetiştirilmiştir

3.1.1. *Salvinia natans*'ın (L.) (Su Eğreltisi) Sistematigi

Alem: Plantae

Bölüm: Pteridophyta

Sınıf: Polypodiopsida

Takım: Salviniaceae

Familiya: Salviniaceae

Tür: *Salvinia natans* (L.) All.

3.1.2. *Salvinia natans* (L.) All. (Su Eğreltisi) Bitkisinin Genel Özellikleri

Su yüzeyinde veya su içinde yaşayan küçük sucul bitkilerdir. Salviniaceae takımının Salviniaceae familyasına ait bir üyedir.. Küçük su eğreltilerin *Salvinia natans* (L.) akarsu, göl ve bataklıklarda su derinliğinin fazla olamadığı yerlerde yaşarlar, ayrıca sucul peyzaj alanları başta olmak üzere akvaryumlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkinin üçlü yapraklarından ikisi su yüzeyinde kalışı sağlarken üçüncü yaprak ise değişime uğrayarak kök görevini görür [74]. Su dışındaki yaprakların üzerinde su birikmesini önleyen tüyler bulunur. Sporokarplar çok küçük olup üzüm salkımı şeklinde sarkarlar (Şekil 3.1).



Şekil 3. 1. *Salvinia natans* (L.) (Su eğreltisi)

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Yetiştirme ve Ağır Metal Uygulaması

Çalışmalar için laboratuvara alınan *Salvinia natans* bitki örnekleri, deney ortamına hazırlamak maksadıyla, gerekli olan havalandırma ve su sirkülasyonunun sağlamak amacı nedeniyle geniş akvaryumlara alınmıştır. Yapılan çalışmada her bir deney düzeneği üç tekrar olacak biçimde 400 ml’lik beherlere 5’er gram bitki örnekleri kullanılacak şekilde düzenlenmiştir. 400 ml’lik beherlere hazırlanan bitkilerin büyütme işlemleri bitki büyüme çemberi cihazı ile kontrollü şartlar altında (23°C ve 14-saat fotoperiyot) gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2). Bu çalışmada nikel klorür ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (1- 5- 10- 20 mg L^{-1}), kadmiyum klorür (CdCl_2) (0.5- 1- 4- 8 mg L^{-1}), kurşun klorür (PbCl_2) (5- 10- 25- 50 mg L^{-1}), bakır klorür ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (1- 5- 10- 20 mg L^{-1}), krom klorür (CrCl_2) (1- 5- 10- 20 mg L^{-1}) ve arsenat (As^{+5}) (1-5-10-50 mg L^{-1}) tuzları belirlenen konsantrasyonlarda kullanılmıştır. 7 günlük ağır metal maruziyetleri süresi sonunda büyüme çemberindeki bitki örnekleri tarım için hassas teraziye koyulmadan önce 5 dakika süresince kurutma kâğıdı üzerine konulmuş ve suyunu çekmesi beklenmiştir. Su çekmesi işlemi sonunda hassas teraziye alınan bitki örneklerinin tartımları yapılmıştır. Bu işlem sonrasında bitki örneklerindeki göreceli büyüme oranları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{RGR} = [\ln(W_2) - \ln(W_1)] / (t_2 - t_1)$$

(W_1 ve W_2 = bitkinin ilk ve son yaş ağırlığı (g), t_1 ve t_2 = ilk ve son zaman) [75].



Şekil 3. 2. Büyüme çemberindeki *Salvinia natans* (L.) örnekleri

3.2.2. Klorofil ve Karotenoid Tayini

Klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarları Criado ve ark [78] aracılığıyla belirtilen tekniğe göre yapılmıştır. Witham ve ark [79] aracılığıyla belirlenen teknikde seçenек olarak kullanılabilir. Kullanılan bu yöntemle bitkiden 0.1 gr taze yaprak örneği alınarak 100 ml'de % 80'lik aseton içerisinde öğütülmesinin ardından filtre kağıdı yardımıyla süzölmüştür. Süzöntü örnekleri de UV spektrofotometre cihazı ile 663 nm, 645 nm ve 480 nm klorofil absorbansları ölçölmüştür. Bu işlemin ardından UV spektrofotomere ile ölçölen klorofil absorbans değeri Witham ve ark. [79] aracılığıyla belirlenen formöilde yerine koyularak ağır metal uygulanan bitki örnelerindeki yaprak dokularının 0,1 gr'ında bulunan klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları mg olarak hesaplanmıştır. Formöüller aşığıda verilmiştir.

$$\text{mg kl.a/g doku} = [12.7 (D663) - 2.69 (D645)] \cdot (V/1000.A)$$

$$\text{mg kl.b/g doku} = [22.9 (D645) - 4.68 (D663)] \cdot (V/1000.A)$$

$$\text{mg kl.t/g doku} = [20.2 (D480) - 8.02 (D663)] \cdot (V/1000.A)$$

(D: bitki ekstraktının belirtilen dalga boyundaki optik yoğunluğu, yani absorbans değeri, V: % 80'lik asetonun son hacmi, A: ekstre edilen yaprak dokusunun g olarak taze ağırlığı).

Bitki örneklerindeki karotenoid miktarlarının tayininde, klorofil tayini için hazırlanan ekstraktın 480 nm dalga boyundaki absorbans değeri UV spektrofotometrede ölçüldükten sonra aşağıda verilen formülde yerine konularak hesaplanmıştır. Netice olarak yaprak yaş ağırlığının 0,1 gr'ındaki karotenoid miktarı mg olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam karotenoid} = [4,07 \times D480 - (0,0435 \times \text{kl a miktarı} + 0,367 \times \text{kl b miktarı})]$$

3.2.3. Lipid Peroksidasyonu Analizi (MDA)

Deney düzeneklerindeki bitki örneklerinden 0,5 gr alınarak, % 20'lik triklor asetik asit (TCA) ve % 5'lik tiobarbitürikasit (TBA) (toplam 3 ml) içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenat, su banyosu cihazı yardımı ile 30 dk süresince 95°C'de inkübe edildikten sonra reaksiyonu durdurmak amacı ile buz içerisine alınmıştır. Bitki örnekleri 10000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı alınarak UV spektrofotomere cihazı yardımı ile 532 nm absorbans değeri ve 600 nm deki non-spesifik absorbans değerleri ölçülmüştür [80].

Bitki örneklerindeki lipid peroksidasyonu'nun (MDA) hesaplanması için; 532 nm'de ölçülen absorbans değerinden 600 nm' de ölçülen non spesifik absorbsiyon değeri çıkarılacak ve 1 ml çözeltideki lipid peroksidasyonu miktarı belirlenmiştir. MDA oranı aşağıda verilen formülde yerine konularak hesaplanmıştır. Çıkan sonuçlar MDA (nmol/gram doku) şeklinde verilmiştir.

$$\text{MDA (nmol/g): } [(A532 - A600)/155X (\text{seyreltme faktörü})] \times 1000$$

3.2.4. Bitkideki Ağır Metal Seviyelerinin Belirlenmesi

Araştırmada kullanılacak olan malzemeler; cam, plastik ve porselen vb. ürünler deterjanlı su içerisinde 24 saat bekletildikten sonra çeşme suyuyla yıkanmıştır. Daha sonra % 20'lik HNO_3 içerisinde bir gece bekletilmiş sonrasında çift dH_2O (distile su) ile yıkanarak 60 °C'de etüv de kurutulması sağlanmıştır. Bu araştırmada kullanılan standartların ve çözeltilerin hazırlanmasında, % 65'lik (Merck reagent) Nitrik asit kullanılmıştır. Bitki kısımlarının çözülmesinde HNO_3 kullanılması oldukça yaygın bir tekniktir. Bunun yanı sıra standartların ve örneklerin hazırlanmasında ve seyreltme işleminde çift dH_2O (distile su) kullanılmıştır.

Bitki dokularındaki ağır metal içeriklerini belirlemek amacıyla hasat edilen bitki dokuları dH_2O (distile su) ile yıkanarak örnekler 105 °C'de kurutulmuştur [81]. Daha sonra her bir denemeden elde edilen örnekler 0.05 g tartılıp, üzerine 8 ml HNO_3 eklenerek mikrodalga numune hazırlama cihazında uygun koşullarda çözülmesi sağlandıktan sonra (Şekil 3.3) , ICP-MS cihazında kullanılan ağır metallerin miktarları belirlenmiştir (Şekil 3.4) [81].



Şekil 3.3. Mikrodalga numune hazırlama cihazı



Şekil 3.4. Bitki örneklerindeki ağır metal içeriklerini belirlemede kullanılan ICP-MS cihazı

3.2.5. DNA analizleri

DNA izolasyonu CTAB protokolüne [82], göre yapılmıştır. Her genotipten izole edilen DNA'nın miktarı; izole edilen DNA'lar ile çeşitli DNA ağırlık standartlarının % 0.8 konsantrasyondaki agaroz jelde karşılaştırılması ile tahmini olarak belirlenmiştir. PCR analizleri için her genotipin DNA'sı seyreltme yöntemiyle 5ng/ul konsantrasyona getirilmiştir. Çalışmada kullanılacak olan ISSR primerlerinin sentezi hizmet alımı ile yapılmıştır.

25 µl'lik PCR reaksiyon bileşenleri;

- 10,5 µL dH₂O
- 2,5 µL 10X PCR tamponu
- 2 µL dNTP (40 mM)
- 4 µL MgCl₂ (4 mM)
- 1 µL primer (10 pmol)
- 4 µL Taq DNA Polimeraz (5 U/µL)
- 1 µL kalıp DNA

PCR şartları bütün ISSR primerleri için aynı olacaktır.

PCR amplifikasyonu için PCR makine programı;

- 1 döngü 94°C`de 2 dakika ön denatürasyon
- 45 döngü 94°C`de 1 dakika (denatürasyon)
- X°C (primer bağlanma sıcaklığı) 1 dakika
- 72°C`de 2 dakika (uzama)
- 1 döngü 72°C`de 10 dakika (son uzama)

3.2.6. Elektroforez

PCR ürünleri %2'lik agaroz içeren jel üzerinde 80 mA elektrik uygulanarak, marker varlığında elektroforez uygulamaları ile 2 saat yürütülerek görüntülenmiştir. Görüntüler tiff uzantılı formatta kaydedilerek analiz edilmiştir. Analizler için GelJ programı kullanılmıştır. Programa yüklenen fotoğraf dosyaları üzerinde marker ve PCR ürünlerinin bant profilleri otomatik olarak belirlenmiştir ve bantlar kontrol edilerek düzenlenmiştir. Her primerden her genotip için elde edilecek DNA bantları, 1/0 şeklinde skorlanacak ve NTSYS-pc v.2.1, paket programı kullanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) tabanlı bir dendrogram oluşturulmuştur.

3.2.7. İstatiksel Analizler

Çalışmalar sonucunda ağır metal akümülyasyonunun istatistiksel analizlerini yapmak için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 programı kullanılmıştır. Deneyler 3'er tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen verilerin analizleri uygun tanımlayıcı istatistiklerle (ortalama, standart hata minimum ve maksimum değerler) sunulmuştur. Ortalamaların istatistiksel karşılaştırmalarında One Way ANOVA testi ve Post Hoc. Duncan testi kullanılmıştır. Verilerin istatistiki yönden anlamlılığı $p<0,05$ ve $p<0,01$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

Genotipler arasındaki genetik benzerlik katsayıları; "R" programının 3.4.1 sürümü kullanılarak, Jaccard benzerlik katsayısına göre saptanmıştır. Elde edilen genetik benzerlik katsayılarından, "MEGA7" programında Neighbor joining metoduna göre bir soyağacı elde edilmiştir. Elde edilen soyağacında kök olarak kontrol genotipi seçilmiştir.

4.BÖLÜM

BULGULAR

4.1. *Salvinia natans* (L.) All. (Su Eğreltisi)

4.1.1. Kurşun (Pb) Akümülayonu

Salvinia natans (L.) All. bitki örneklerine 7 günlük maruziyet süresi boyunca farklı konsantrasyonlarda (5, 10, 25, 50 mg L⁻¹) Pb elementi uygulanmıştır. 7 günlük maruziyet süreci sonunda bitki örneklerindeki Pb miktarları Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Tablo 4.1 incelendiğinde bitkilerin maruz bırakıldığı Pb konsantrasyonlarının artışı ile birlikte bitki rafından alınan Pb konsantrasyonunun da arttığı gözlenmiştir. Konsantrasyonlara bağı olarak ağır metal akümülayonları birbirinden farklıdır ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır (p<0,05).

Tablo 4. 1. *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki Pb miktarı ve standart hata değerleri (µg g⁻¹ kuru ağırlık, n=5, ± Standart hata).

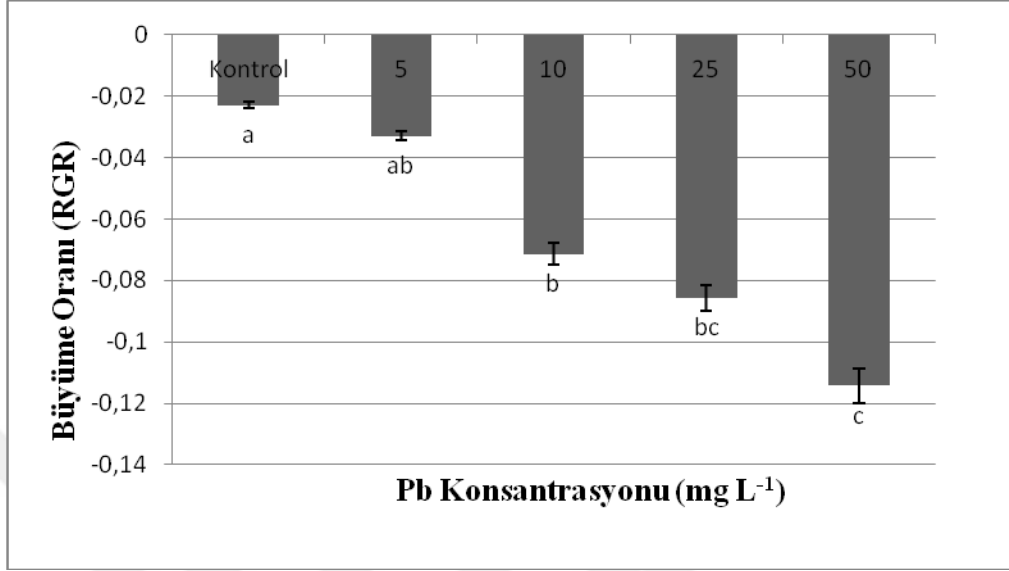
Pb Konsantrasyonu (mg L ⁻¹)	Ort/Std hata (µg g ⁻¹)	Min	Maks
Kontrol	1150,43 ^a ±1,65	1148,78	1152,08
5 ppm	18448,835 ^b ±7,635	18441,2	18456,4
10 ppm	30560,11 ^c ±8,122	30521,99	30598,23
25 ppm	38362,945 ^d ±8,735	38354,21	38371,68
50 ppm	47522,41 ^e ±26,27	47496,14	47548,68

Aynı sütündaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel anlamlılığını ifade etmektedir.

4.1.1.1. Kurşun (Pb) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) All. Örneklerindeki Büyüme Oranı (RGR)

Salvinia natans (L.) All. bitkisindeki yedi günlük periyotta Pb ağır metal uygulaması sonucunda büyüme oranı (RGR) Şekil 4.1’de verilmiştir. Pb maruziyet konsantrasyonlarının artışı ile birlikte büyüme oranının (RGR) azaldığı görülmektedir.

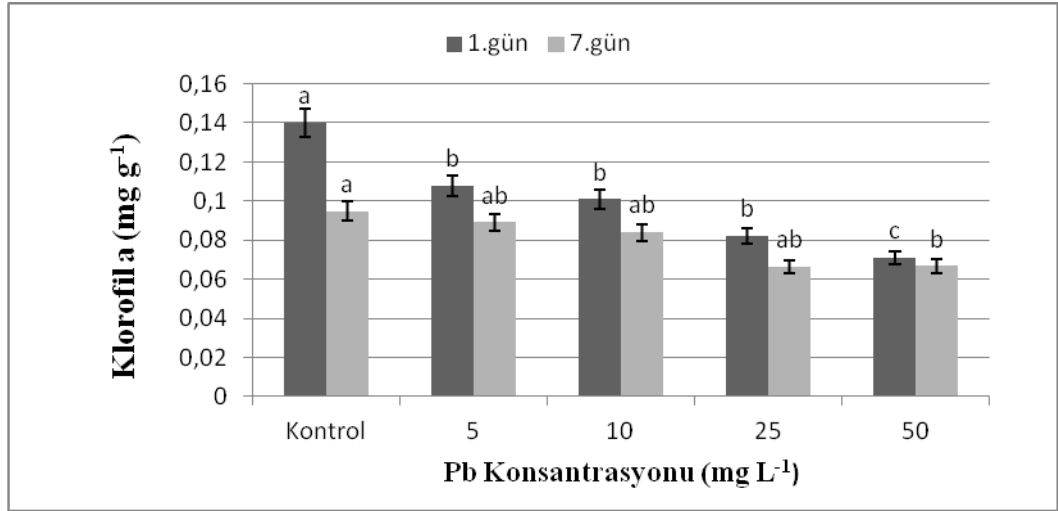
Kurşun (Pb) elementinin bitki örneklerinde göreceli büyüme oranı üzerinde gerçekleşen en fazla etkinin 50 mg L⁻¹ konsantrasyonunda olduğu gözlenmiştir (p<0,05).



Şekil 4. 1. Yedi günlük periyot sonunda Pb (5-50 mg L⁻¹) uygulamasının *Salvinia natans*'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5)

4.1.1.2. Kurşun (Pb) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil a Miktarları

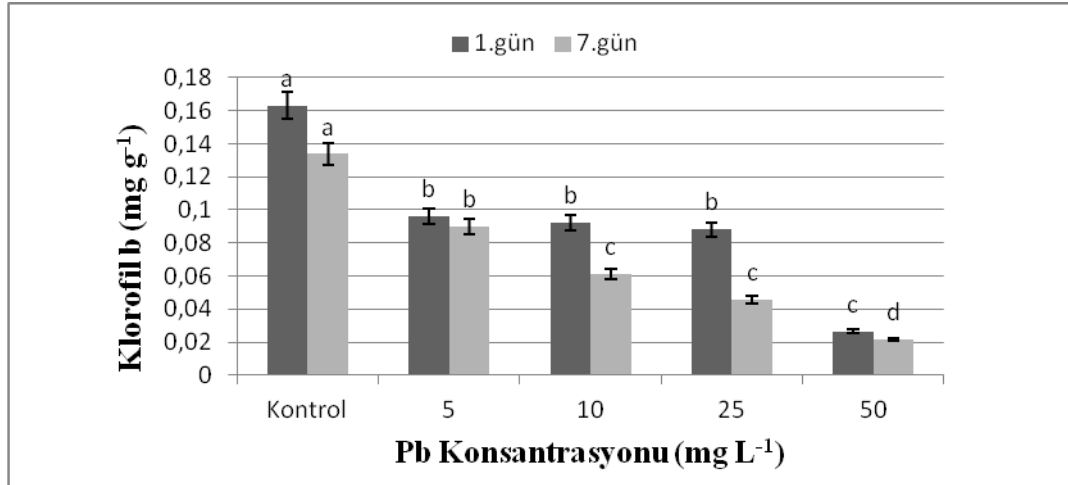
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda kurşun (Pb) uygulaması yapılmış ve klorofil a içeriğinin 1.gün ve 7.gün miktarları Şekil 4.2'de verilmiştir. Klorofil a miktarları uygulanan Pb konsantrasyonlarına bağlı olarak farklı değişimler göstermiştir. Artan Pb konsantrasyonları kl a miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Uygulanan kurşun konsantrasyonlarına bağlı olarak kl a miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır (p<0,05)



Şekil 4. 2. Pb (5-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.1.3. Kurşun (Pb) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil b Miktarları

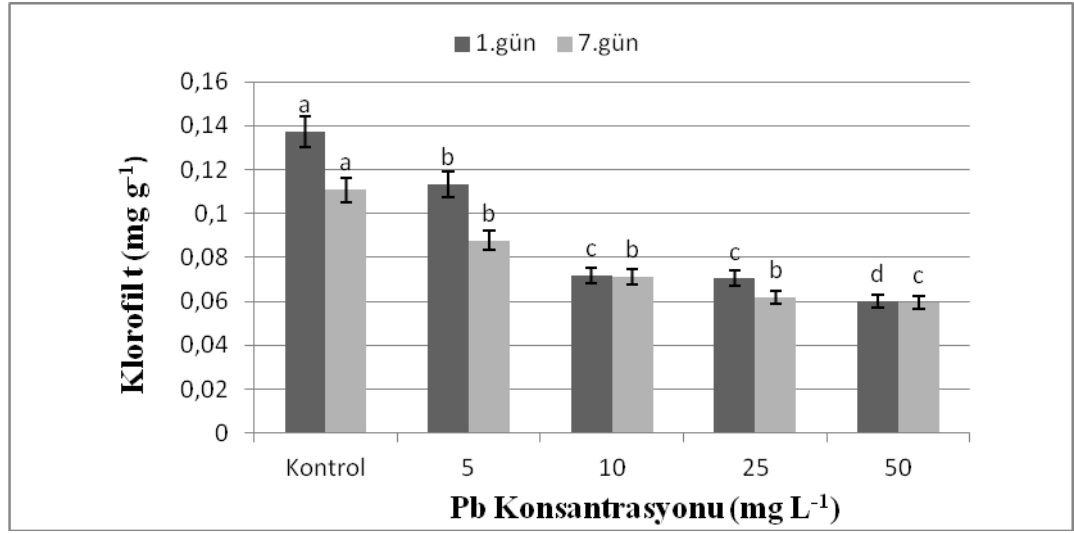
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Pb uygulaması yapılmıştır ve klorofil b içeriklerinin 1. ve 7. gün miktarları Şekil 4.3.'de verilmiştir. Klorofil b miktarları uygulama gruplarında artan Pb maruziyeti ile birlikte kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli değişimler göstermiştir. Artan kurşun konsantrasyonları klorofil b miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Uygulanan kurşun konsantrasyonlarına bağlı olarak klorofil b miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4. 3.Pb (5-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.1.4. Kurşun (Pb) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Toplam Klorofil Miktarları

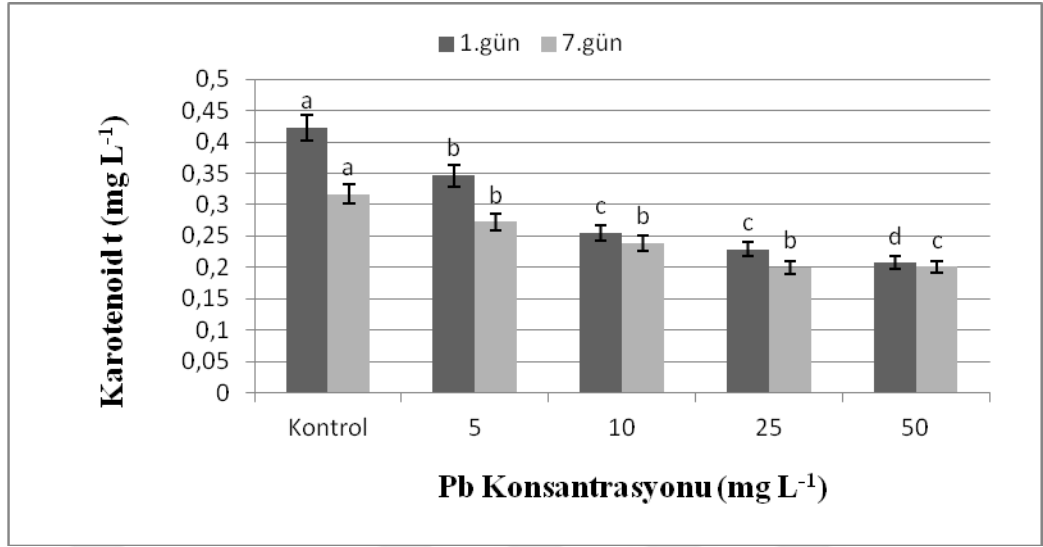
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Pb uygulaması yapılmıştır ve toplam klorofil içeriğinin 1. ve 7. gün miktarları Şekil 4.4.'de verilmiştir. Uygulanan Pb konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam klorofil miktarlarında çeşitli değişimler gözlenmiştir. Artan Pb konsantrasyonları toplam klorofil miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Uygulanan kurşun konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam klorofil miktarlarında belirlene fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4. 4. Pb (5-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.1.5. Kurşun (Pb) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Karotenoid Miktarları

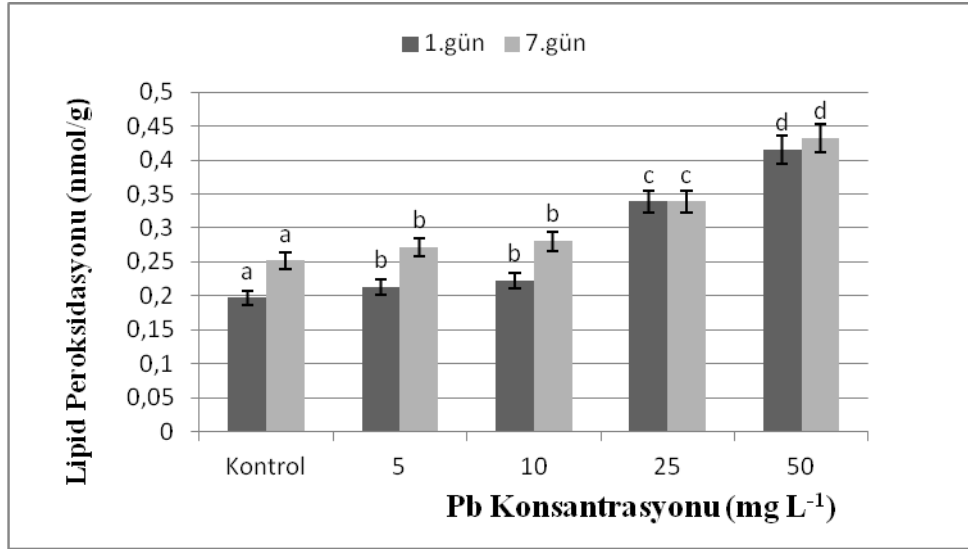
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Pb uygulaması yapılmıştır ve karotenoid içeriğinin 1. ve 7. gün miktarları Şekil 4.5.'de verilmiştir. Uygulanan Pb konsantrasyonlarına bağlı olarak karotenoid oranlarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma görülmüştür ($p < 0,05$).



Şekil 4. 5. Pb (5-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki karotenoid ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.1.6. Kurşun (Pb) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Lipid Peroksidasyonu (MDA) Miktarları

Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Pb uygulaması yapılmıştır ve lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları Şekil 4.6.'da verilmiştir. Pb stresi MDA içeriğinde artış sebep olmuştur. Uygulanan kurşun konsantrasyonlarına bağlı olarak lipid peroksidasyonu miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4. 6. Pb (5-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5)

4.1.2. Arsenik (As) Akümülayonu

Salvinia natans (L.) All. örneklerine 7 günlük periyot süresince farklı konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 50 mg L⁻¹) arsenik (As) metali uygulanmıştır. Maruziyet süresi sonunda örneklerde belirlenen As miktarları Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Tablo 4.2 incelendiğinde maruz bırakılan As konsantrasyonlarının arttıkça As alımının da arttığı gözlenmiştir. Uygulanan As konsantrasyonlarına bağlı olarak ağır metal akümülayonları birbirinden farklıdır ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,05$).

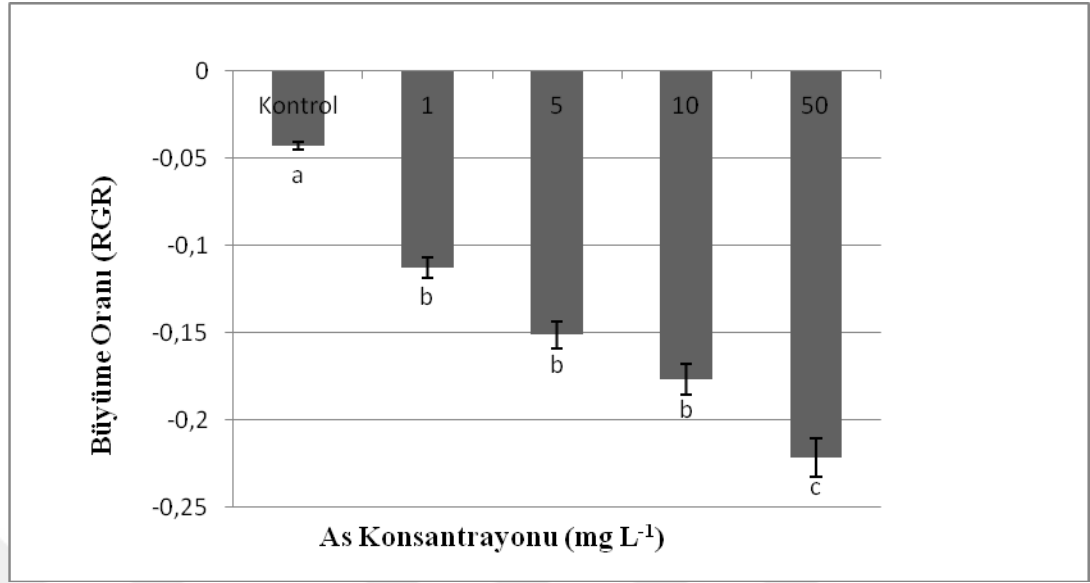
Tablo 4. 2.*Salvinia natans* (L.) örneklerindeki As (arsenik) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, n=5).

As Konsantrasyonu (mg L^{-1})	Ort/Std hata ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Min	Maks
Kontrol	1150,43 ^a ±1,65	1148,78	1152,08
1 ppm	459,72 ^b ±1,58	441,14	478,3
5 ppm	526,125 ^c ±5,295	500,83	551,42
10 ppm	1676,875 ^d ±8,735	1672,14	1681,61
50 ppm	46102,24 ^e ±12,03	46090,21	46114,27

Aynı sütündaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

4.1.2.1. Arsenik (As) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Büyüme Oranı (RGR)

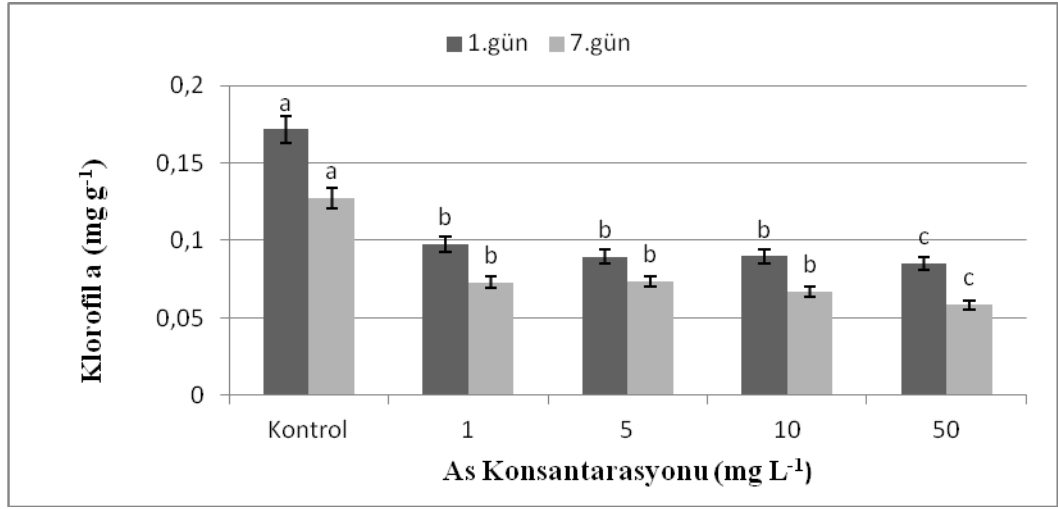
Salvinia natans (L.) All. bitkisindeki 7 günlük periyotta As metali uygulaması sonucunda büyüme oranı (RGR) Şekil 4.7’de verilmiştir. As elementinin konsantrasyonları arttıkça büyüme oranının (RGR) azaldığı görülmektedir. As elementinin bitki örneklerinde büyüme oranı üzerine olan en büyük etkisinin ise 50 mg L^{-1} konsantrasyonunda olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4. 7.Yedi günlük periyot sonunda As (1-50 mg L⁻¹) uygulamasının *Salvinia natans*'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5)

4.1.2.2. Arsenik (As) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil a Miktarları

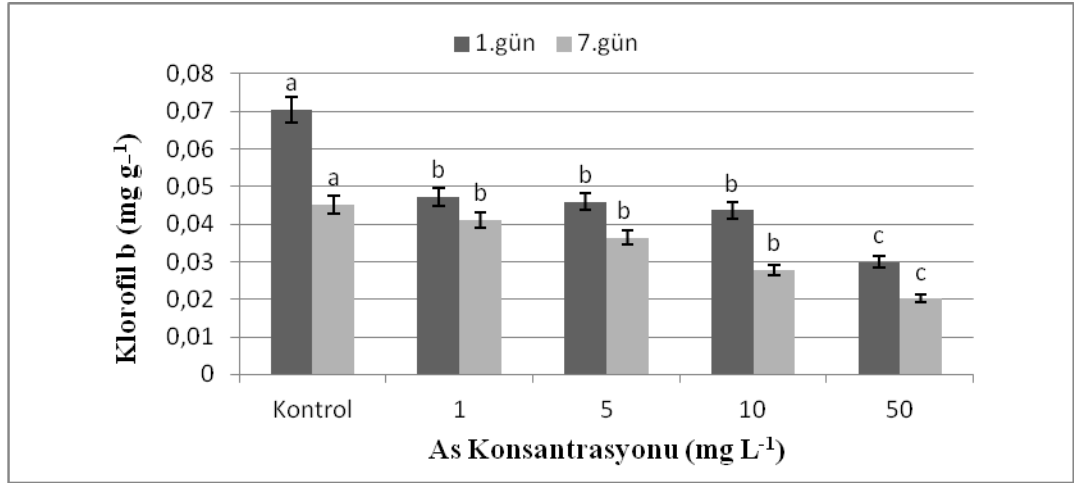
1 ve 7 gün süre ile farklı konsantrasyonlarda As iyonlarına maruz bırakılan *Salvinia natans* (L.) örneklerinin maruziyet süreleri sonunda belirlenen klorofil a içerikleri Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Klorofil a miktarları uygulama gruplarında As konsantrasyonlarında çeşitli değişiklikler göstermiştir. Artan As konsantrasyonları klorofil a miktarlarını önemli derecede azaltmıştır. Konsantrasyonlara bağlı olarak klorofil a miktarları birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4. 8. As (1-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.2.3. Arsenik (As) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil b Miktarları

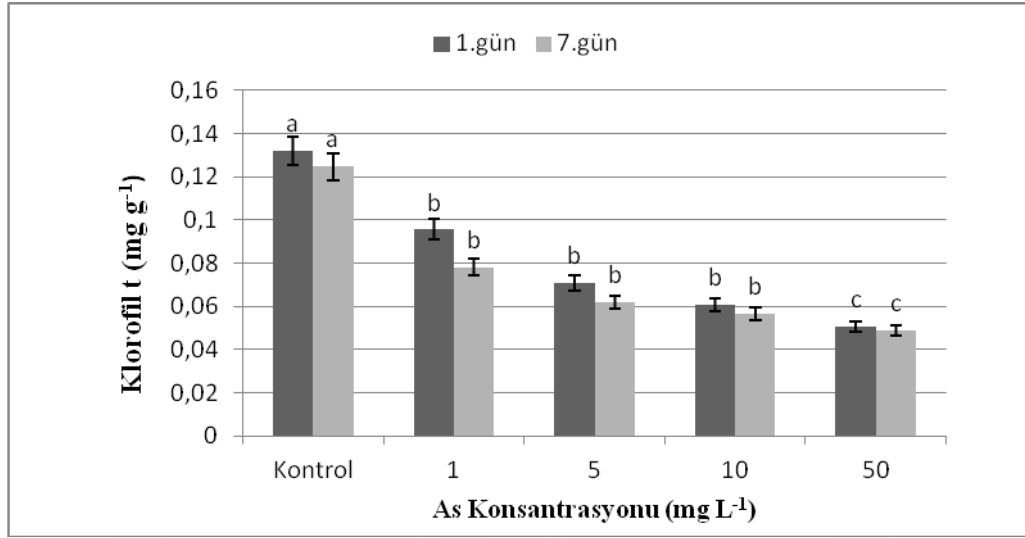
Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda arsenik (As) uygulaması yapılmıştır ve 1.ve 7. gün maruziyeti sonunda tespit edilen klorofil b miktarları Şekil 4.9.'da verilmiştir. Klorofil b miktarları artan As konsantrasyonları uygulama gruplarında çeşitli farklılıklar göstermiştir. Artan As konsantrasyonları kl b miktarlarını önemli oranda azaltmıştır. Uygulana arsenik konsantrasyonlarına bağlı olarak kl b miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 7.As (1-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.2.4. Arsenik (As) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Toplam Klorofil Miktarları

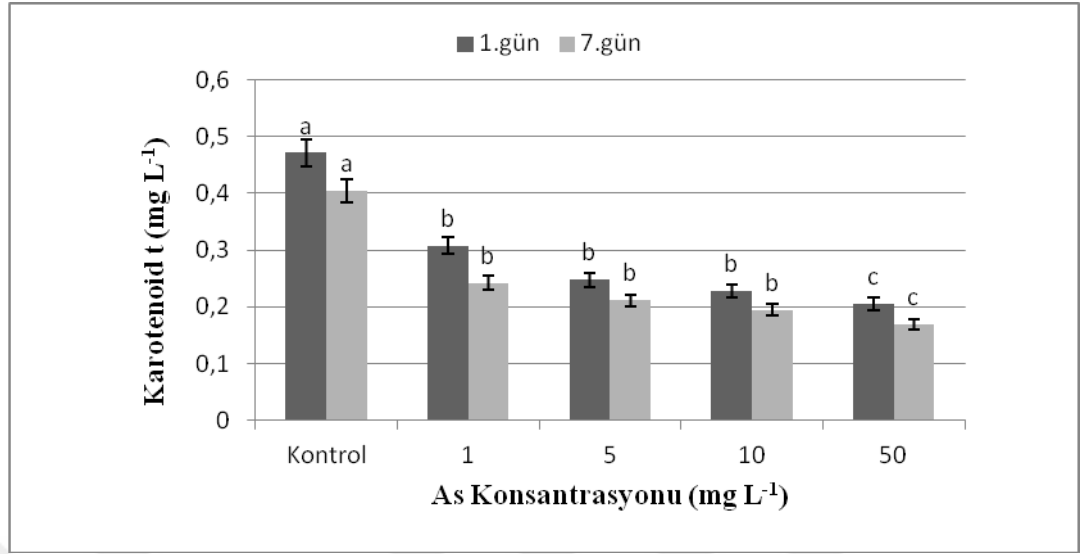
Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda As uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün sonda tespit edilen toplam klorofil miktarları Şekil 4.10.'da verilmiştir. Uygulanan As konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam klorofil miktarlarında çeşitli değişiklikler gözlenmiştir. As konsantrasyonlarının artışı toplam klorofil miktarlarının önemli düzeyde azalmasına neden olmuştur. Toplam klorofil miktarlarında konsantrasyonlara bağlı olarak belirlenen farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4. 8.As (1-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.2.5. Arsenik (As) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Karotenoid Miktarları

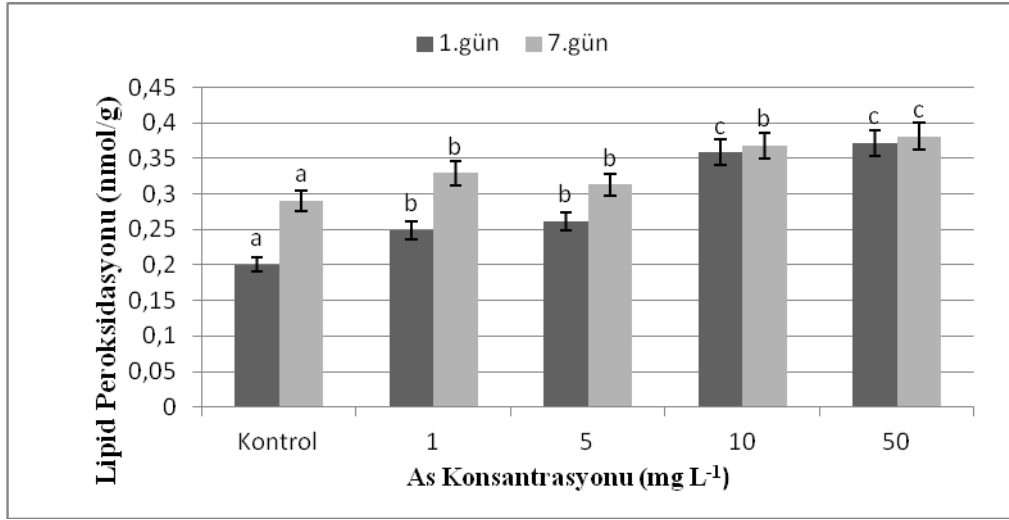
Salvinia natans (L.) bitik örneklerinde farklı konsantrasyonlarda As uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün sonunda belirlenen karotenoid miktarları Şekil 4.11.'de verilmiştir. Uygulanan As konsantrasyonlarına bağlı olarak karotenoid miktarlarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma görülmüştür ($p<0,05$). Azalma miktarı 50 mg L⁻¹ uygulanan arsenik konsantrasyonunda en üst düzeye ulaşmıştır.



Şekil 4. 9. As (1-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.2.6. Arsenik (As) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Lipid Peroksidasyonu (MDA) Miktarları

Salvinia natans (L.) bitki örneklerindeki farklı konsantrasyonlarda As uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. Gün sonunda belirlenen lipid peroksidasyon miktarları Şekil 4.12.'de verilmiştir. As stresi MDA içeriğinde artışa sebep olmuştur. Uygulanan arsenik konsantrasyonlarına bağlı olarak lipid peroksidasyonu miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4. 10.As (1-50 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5).

4.1.3. Kadmiyum (Cd) Akümülayonu

Salvinia natans (L.) All. bitki örneklerine 7 günlük periyot süresince farklı konsantrasyonlarda (0,5-1-4-8 mg L⁻¹) Cd metali uygulanmıştır. 7 günlük maruziyet süreci sonunda örneklerdeki kadmiyum miktarları Tablo 4.3’de verilmiştir. Tablo 4.3 incelendiğinde bitkinin maruz bırakıldığı kadmiyum konsantrasyonları arttıkça kadmiyum alınımında da artış gözlenmiştir. Uygulanan kadmiyum konsantrasyonlarına bağlı olarak ağır metal akümülayonları birbirinden farklıdır ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).

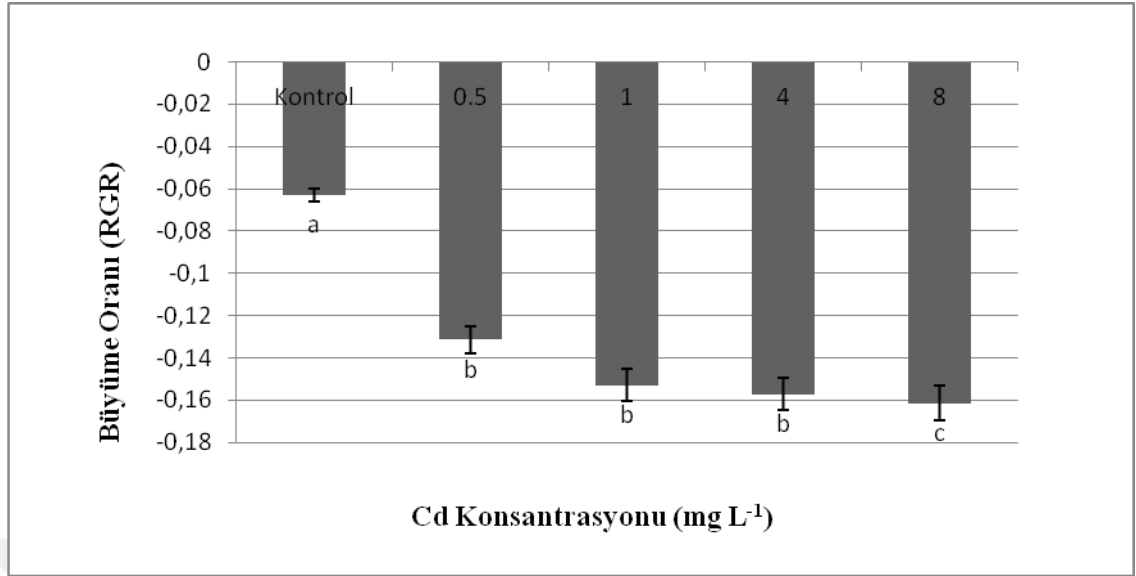
Tablo 4. 3.*Salvinia natans* (L.) örneklerindeki Cd Kadmiyum) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, n=5).

Cd Konsantrasyonu (mg L^{-1})	Ort/Std hata ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Min	Maks
Kontrol	1150,43 ^a ±1,65	1148,78	1152,08
0,5 ppm	4330,09 ^b ± 2,76	4307,33	4352,85
1 ppm	10346,715 ^c ±12,225	10314,49	10378,94
4 ppm	54922,625 ^d ±18,355	54894,27	54950,98
8 ppm	89329,065 ^e ±20,595	89298,47	89359,66

Aynı sütündeki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

4.1.3.1. Kadmiyum (Cd) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Büyüme Oranı (RGR)

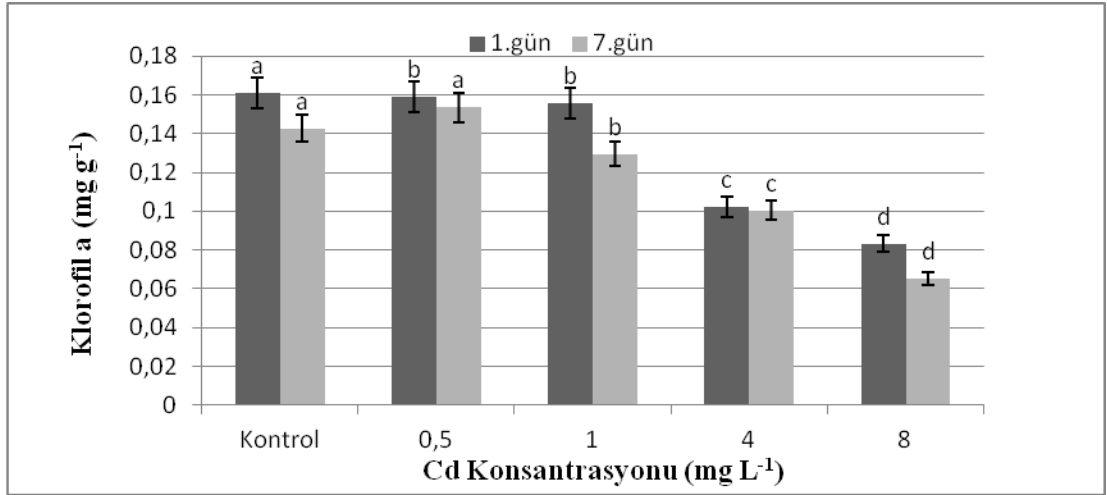
Salvinia natans (L.) bitkisindeki 7 günlük maruziyet süresinde Cd metali uygulaması sonucunda büyüme oranı (RGR) Şekil 4.13’de verilmiştir. Cd konsantrasyonları arttıkça büyüme oranının (RGR) azaldığı görülmektedir. Cd elementinin bitki örneklerindeki büyüme oranı (RGR) üzerine olan en büyük etkisinin 8 mg L^{-1} konsantrasyonunda olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4. 11.Yedi günlük periyot sonunda Cd (0,5-8 mg L⁻¹) uygulamasının *Salvinia natans*'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5)

4.1.3.2. Kadmiyum (Cd) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil a Miktarları

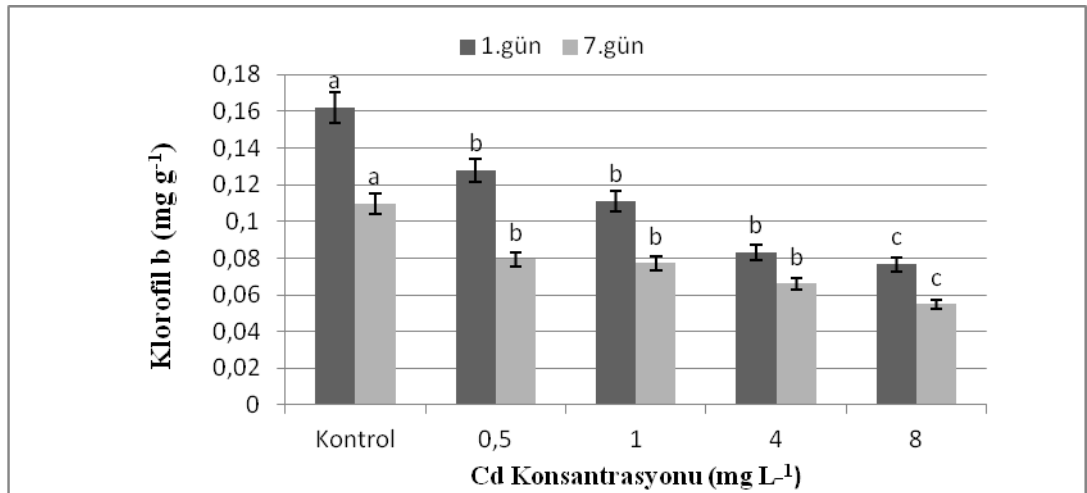
Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda kadmiyum metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7.gün sonunda belirlenen klorofil a miktarları Şekil 4.14'de verilmiştir. Kl a miktarları kadmiyum konsantrasyonları uygulama gruplarında çeşitli farklılıklar göstermiştir. Artan kadmiyum konsantrasyonlarında kl a miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Uygulanan kadmiyum konsantrasyonlarına bağlı olarak kl a miktarları birbirlerinden farklıdır ve bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$)



Şekil 4. 12.Cd(0,5-8 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.3.3. Kadmiyum (Cd) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil b Miktarları

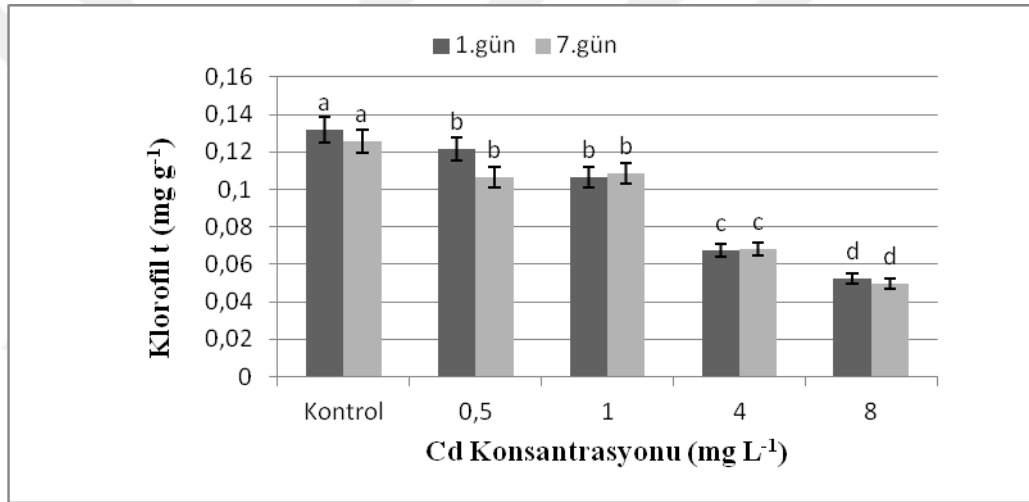
Salvinia natans (L.) bitki örneklerindeki farklı konsantrasyonlarda Cd metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün sonunda belirlenen klorofil b miktarları Şekil 4.15.'de verilmiştir. Kl b miktarları artan Cd konsantrasyonları uygulama gruplarında çeşitli farklılıklar göstermiştir. Artan Cd konsantrasyonları kl b miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Uygulanan kadmiyum konsantrasyonlarına bağlı olarak kl b miktarları birbirlerinden farklıdır ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 13.Cd (0,5-8 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.3.4. Kadmiyum (Cd) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Toplam Klorofil Miktarları

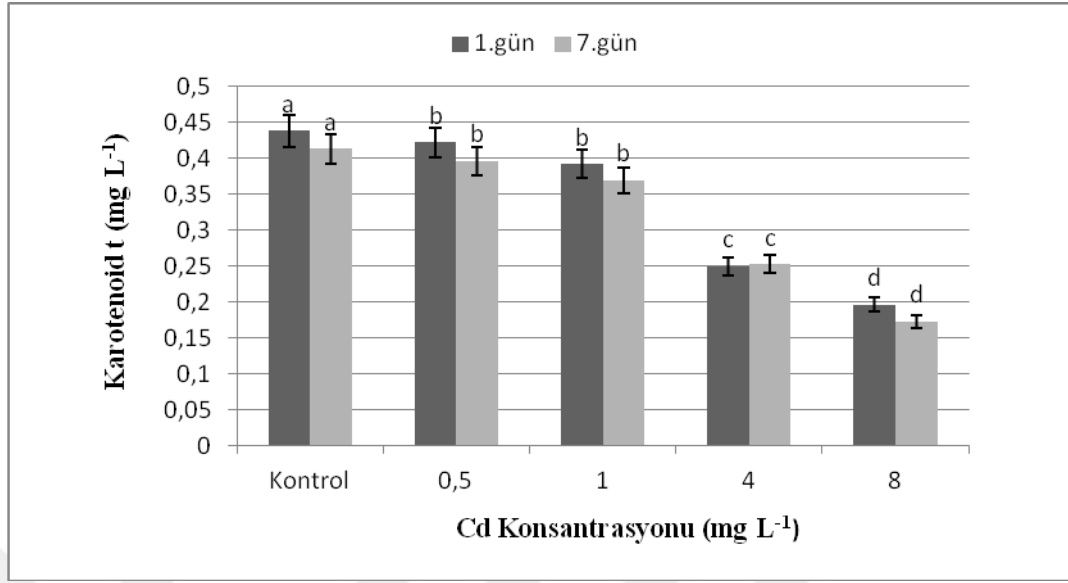
Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda Cd metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün sonunda belirlenen toplam klorofil miktarları Şekil 4.16.'da verilmiştir. Uygulanan Cd konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam klorofil miktarlarında çeşitli değişiklikler gözlenmiştir. Artan Cd konsantrasyonları toplam klorofil miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Uygulanan kadmiyum konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam klorofil miktarlarında belirlenen farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4. 16.Cd (0,5-8 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.3.5. Kadmiyum (Cd) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Karotenoid Miktarları

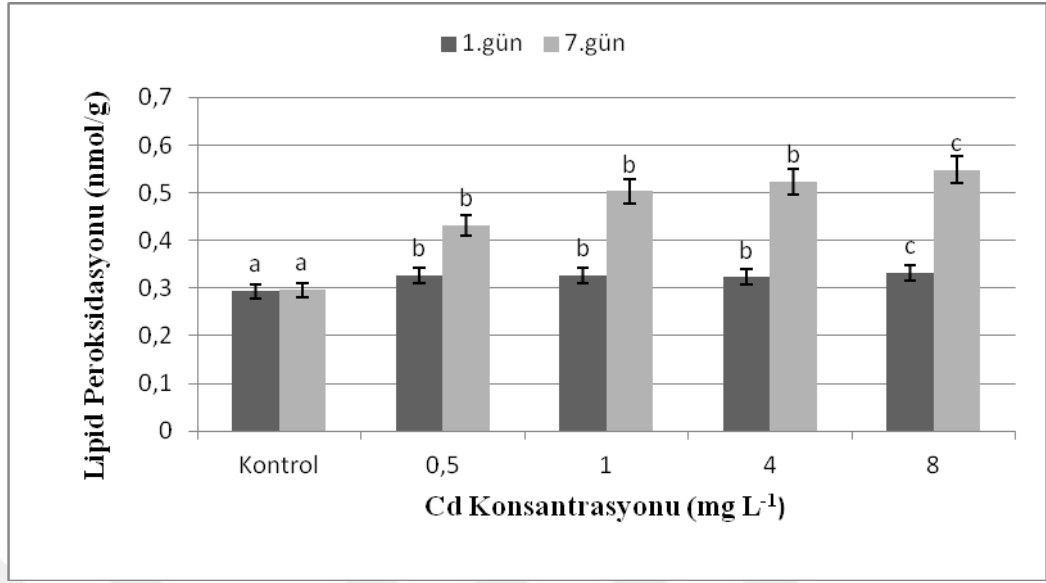
Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda Cd metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün sonunda belirlenen karotenoid miktarları Şekil 4.17'de verilmiştir. Uygulanan kadmiyum konsantrasyonlarına bağlı olarak karotenoid miktarlarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma görülmüştür ($p<0,05$). Azalma miktarı 8 mg L⁻¹ kadmiyum metali uygulanan grupta en üst düzeye ulaşmıştır.



Şekil 4. 14.Cd (0,5-8 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.3.6. Kadmiyum (Cd) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Lipid Peroksidasyonu (MDA) Miktarları

Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda Cd metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün sonunda belirlenen lipid peroksidasyon miktarları Şekil 4.18’de verilmiştir. Cd stresi MDA içeriğinde artış sebep olmuştur. Uygulanan kadmiyum konsantrasyonlarına bağlı olarak lipid peroksidasyonu miktarları birbirlerinden farklıdır ve bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 15.Cd (0,5-8 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5)

4.1.4. Nikel (Ni) Akümülayonu

Salvinia natans (L.) bitki örneklerine 7 günlük maruziyet süresince farklı konsantrasyonlarda (1-5-10-20 mg L⁻¹) nikel (Ni) ağır metali uygulanmıştır. 7 günlük maruziyet süresi sonunda örneklerdeki Ni miktarları Tablo 4.4’de verilmiştir. Tablo 4.4 incelendiğinde uygulanan Ni konsantrasyonları arttıkça nikel alınımında da artış olduğu gözlenmiştir. Uygulanan nikel konsantrasyonlarına bağlı olarak ağır metal akümülayonları birbirinden farklıdır. Bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).

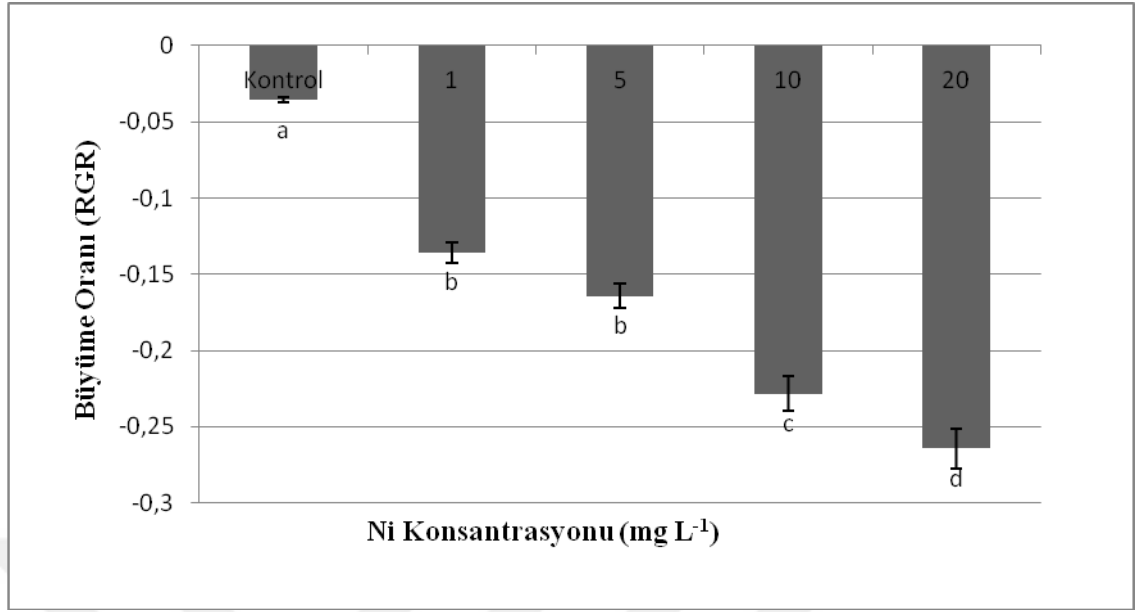
Tablo 4. 4.*Salvinia natans* (L.) örneklerindeki Ni (Nikel) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, n=5).

Ni Konsantrasyonu (mg L^{-1})	Ort/Std hata ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Min	Maks
Kontrol	1150,43 ^a ±1,65	1148,78	1152,08
1 ppm	33951,005 ^b ±7,725	33903,28	33998,73
5 ppm	90328,585 ^c ±8,805	90319,78	90337,39
10 ppm	119876,455 ^d ±8,945	119838,2	119914,7
20 ppm	170436,71 ^e ±18,422	170378,29	170495,13

Aynı sütündeki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

4.1.4.1. Nikel (Ni) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Büyüme Oranı (RGR)

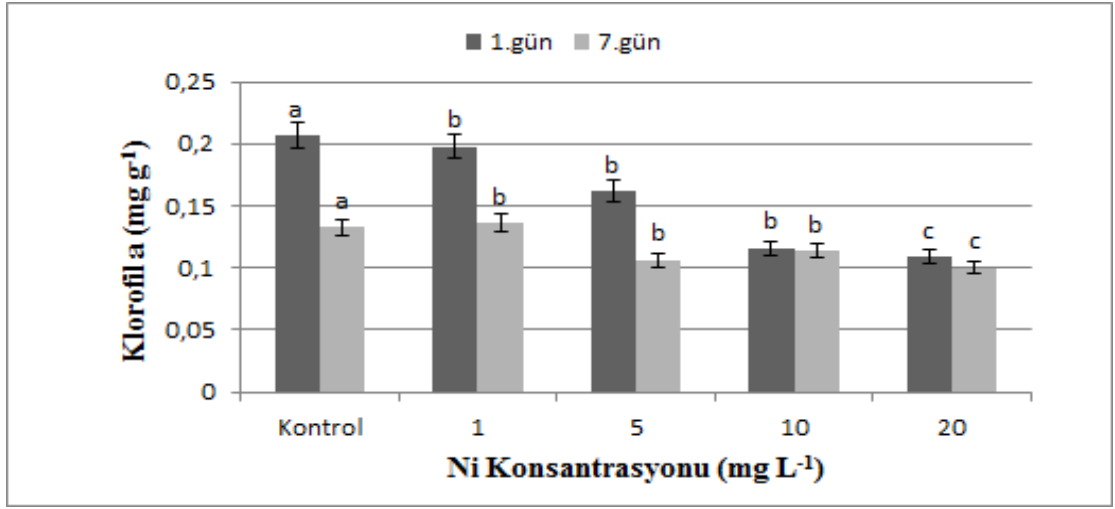
Salvinia natans (L.) All. bitkisindeki 7 günlük Ni metali uygulaması sonucunda büyüme oranı (RGR) Şekil 4.19’da verilmiştir. Artan Ni konsantrasyonları ile büyüme oranının azaldığı görülmektedir. Ni elementinin bitki örneklerinde büyüme oranı üzerine olan en büyük etkisinin 20 mg L^{-1} konsantrasyonunda olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4. 19 .Yedi günlük periyot sonunda Ni (1-20 mg L⁻¹) uygulamasının *Salvinia natans*'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5)

4.1.4.2. Nikel (Ni) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil a Miktarları

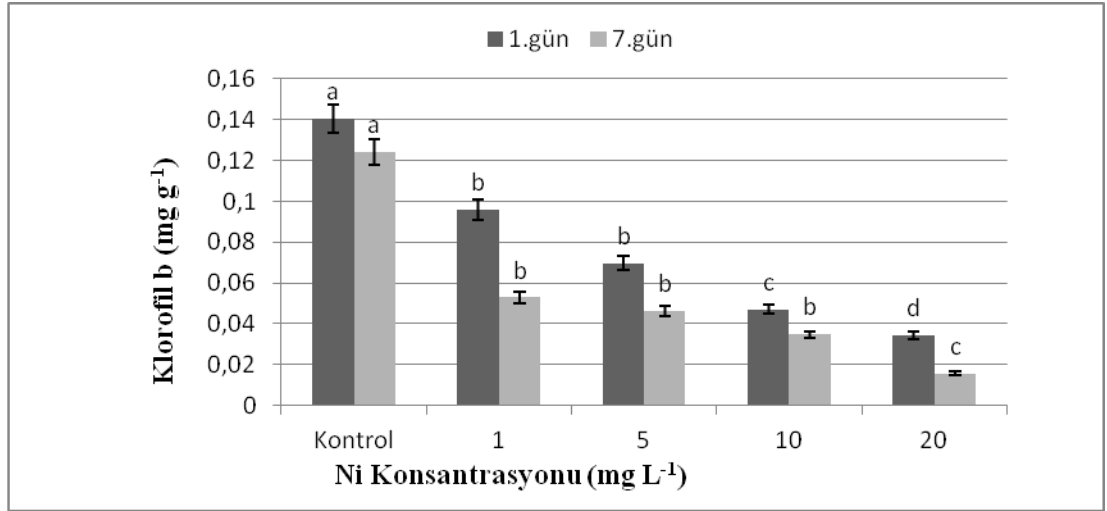
Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda Ni metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. günlük maruziyetten sonra belirlenen klorofil a miktarları Şekil 4.20'de verilmiştir. Kl a miktarları Ni konsantrasyonları uygulama gruplarında çeşitli farklılıklar göstermiştir. Artan nikel konsantrasyonları kl a miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Uygulanan nikel konsantrasyonlarına bağlı olarak kl a miktarları birbirlerinden farklıdır ve bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$)



Şekil 4. 16. Ni (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.4.3. Nikel (Ni) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil b Miktarları

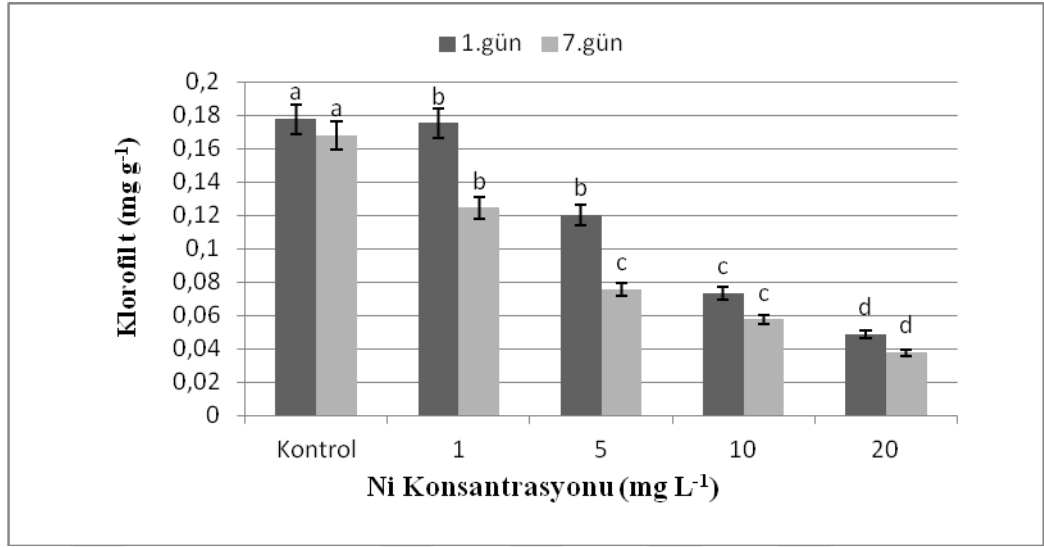
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Ni metali maruziyetine bırakılmıştır ve 1.ve 7. gün maruziyet sonunda belirlenen klorofil b miktarları Şekil 4.21.'de verilmiştir. Uygulama gruplarında artan Ni konsantrasyonları bitkinin klorofil b miktarları açısından değişimlere sebep olmuştur. Artan nikel konsantrasyonları kl b miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Uygulanan nikel konsantrasyonlarına bağlı olarak kl b miktarları birbirlerinden farklıdır ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 17. Ni (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.4.4. Nikel (Ni) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Toplam Klorofil Miktarları

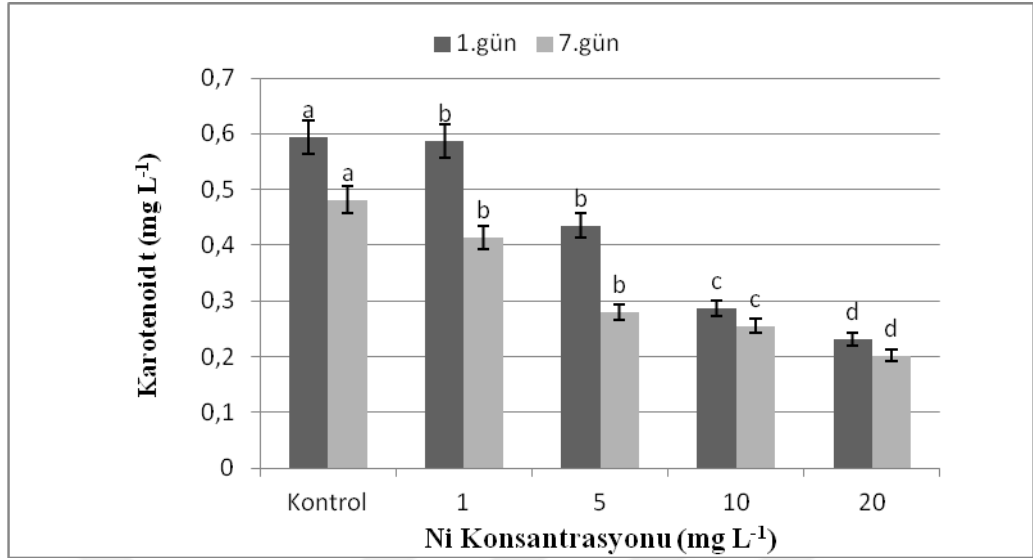
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Ni metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün maruziyet sonunda belirlenen toplam klorofil miktarları Şekil 4.22.'de verilmiştir. Uygulanan Ni konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam klorofil miktarlarında çeşitli değişiklikler gözlenmiştir. Artan Ni konsantrasyonları toplam klorofil miktarlarının önemli düzeyde azalmasına sebep olmuştur. Konsantrasyon artışlarının neden olduğu toplam klorofil miktarlarındaki farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 18. Ni (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.4.5. Nikel (Ni) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Karotenoid Miktarları

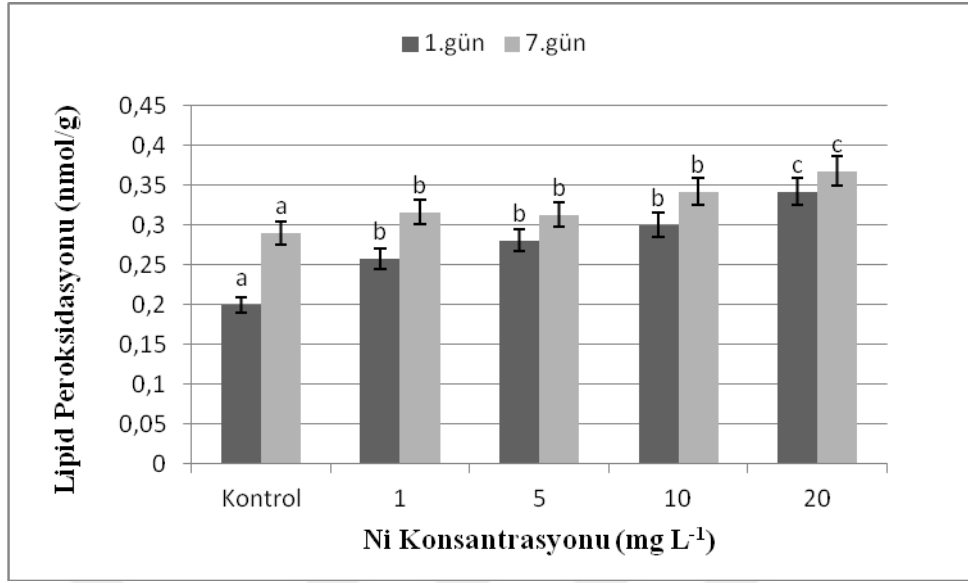
Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda Ni metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün maruziyeti sonunda belirlenen karotenoid içeriğinin miktarları Şekil 4.23’de verilmiştir. Uygulanan nikel konsantrasyonlarına bağlı olarak karotenoid içeriğinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalma görülmüştür ($p<0,05$). Azalma miktarı 20 mg L⁻¹ nikel uygulanan grupta en üst düzeye ulaşmıştır.



Şekil 4. 19. Ni (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.4.6. Nikel (Ni) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Lipid Peroksidasyonu (MDA) Miktarları

Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Ni metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün sonunda belirlenen lipid peroksidasyonu miktarları Şekil 4.24’de verilmiştir. Nikel stresi MDA içeriğinde artışa sebep olmuştur. Uygulanan nikel konsantrasyonlarına bağlı olarak lipid peroksidasyonu miktarları birbirlerinden farklıdır ve bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 20. Ni (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5)

4.1.5. Bakır (Cu) Akümülayonu

Salvinia natans (L.) All. örneklerine 7 günlük maruziyet süresince farklı konsantrasyonlarda (1-5-10-20 mg L⁻¹) bakır (Cu) metali uygulanmıştır. 7 günlük maruziyet sonunda örneklerdeki Cu miktarları Tablo 4.5’de verilmiştir. Tablo 4.5 incelendiğinde uygulanan Cu konsantrasyonlarının artışı ile birlikte Cu metalinin alınımının da arttığı gözlenmiştir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak bitkide belirlenen ağır metal akümülayonlarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir. ($p < 0,05$).

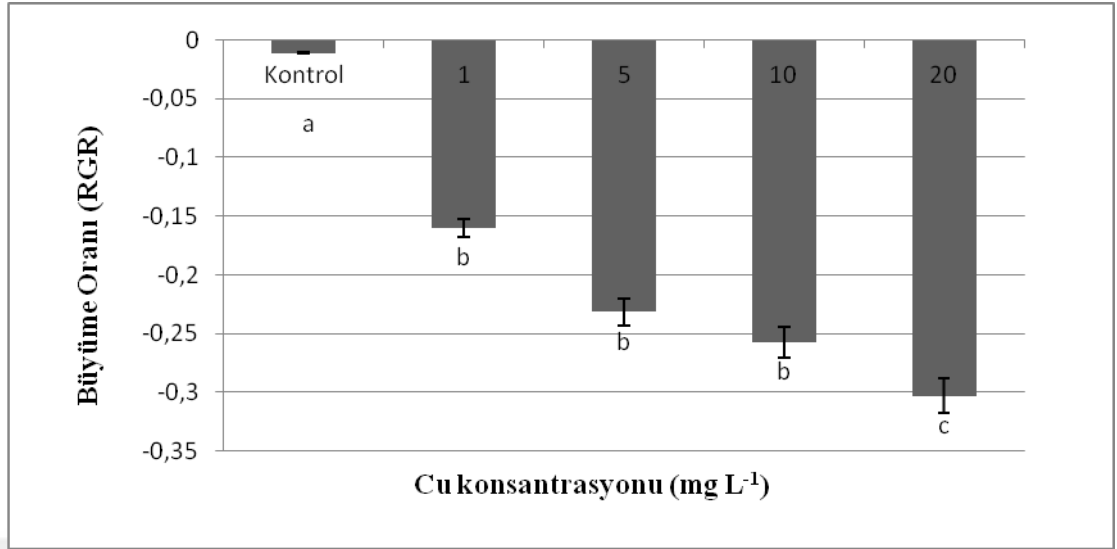
Tablo 4. 5.*Salvinia natans* (L.) örneklerindeki Cu (bakır) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, n=5).

Cu Konsantrasyonu (mg L^{-1})	Ort/Std hata ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Min	Maks
Kontrol	1150,43 ^a ±1,65	1148,78	1152,08
1 ppm	5033,6 ^b ±1,18	5014,42	5052,78
5 ppm	22663,33 ^c ±21,917	22641,42	22685,25
10 ppm	43355,75 ^d ±65,37	43190,38	43521,12
20 ppm	59980,44 ^e ±71,151	59973,29	59987,593

Aynı sütündaki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

4.1.5.1. Bakır (Cu) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Göreceli Büyüme Oranı (RGR)

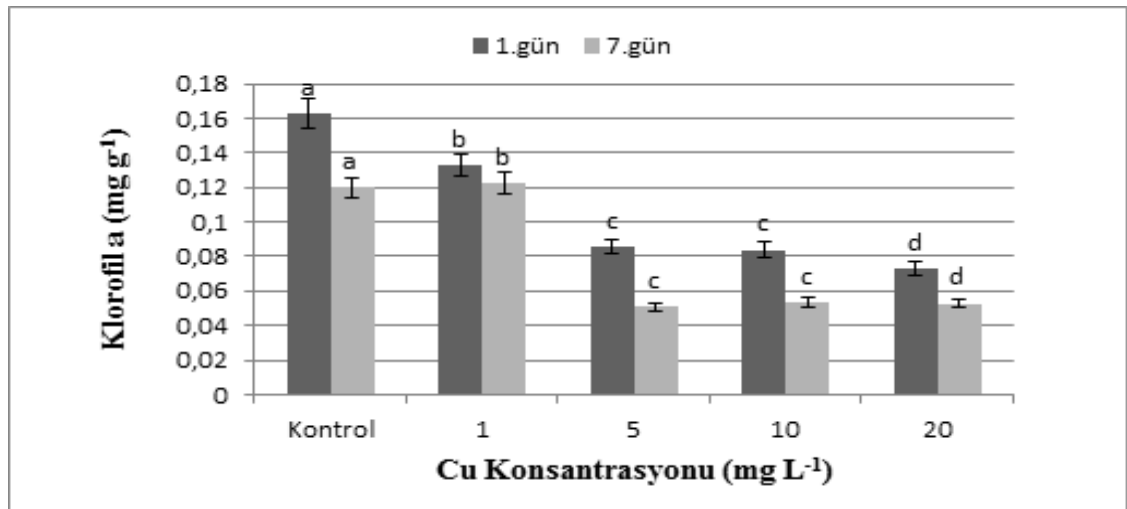
Salvinia natans (L.) All. bitkisindeki 7 günlük Cu ağır metali maruziyeti sonucunda göreceli büyüme oranı Şekil 4.25’de verilmiştir. Cu elementi konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak göreceli büyüme oranının azaldığı görülmektedir. Cu elementinin bitki örneklerindeki göreceli büyüme oranı üzerine olan en büyük etkisinin ise 20 mg L^{-1} nikel konsantrasyonunda olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4. 21.Yedi günlük periyot sonunda Cu (1-20 mg L⁻¹) uygulamasının *Salvinia natans*'ın göreceli büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5)

4.1.5.2. Bakır (Cu) Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Bitki Örneklerindeki Klorofil a Miktarları

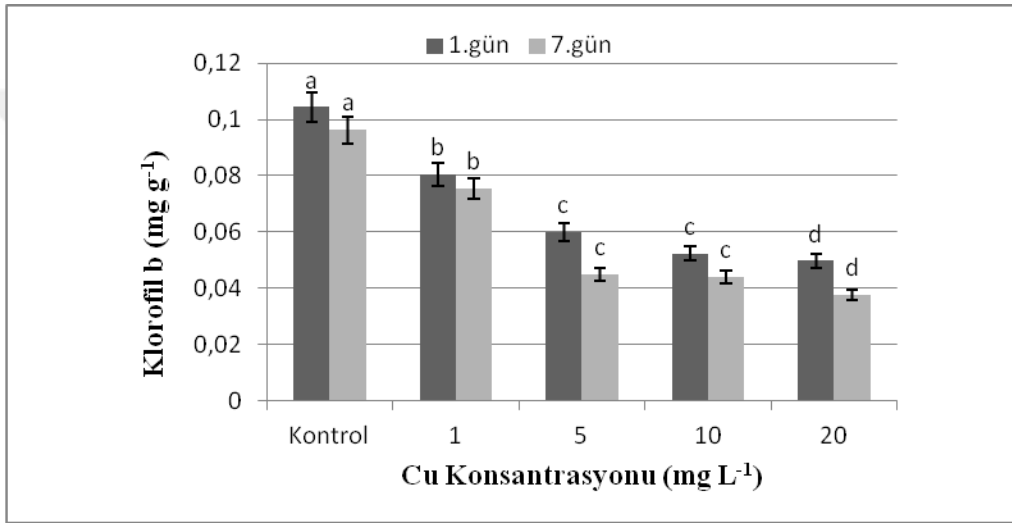
Salvinia natans (L.) bitki örneklerinde farklı konsantrasyonlarda Cu metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7.gün maruziyeti sonunda belirlenen klorofil a miktarları Şekil 4.26'da verilmiştir. Artan Cu konsantrasyonları klorofil a miktarlarını önemli sayılabilecek oranda azaltmıştır. Konsantrasyonlara bağlı olarak klorofil a miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$)



Şekil 4. 26. Cu (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.5.3. Cu Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Klorofil b Miktarları

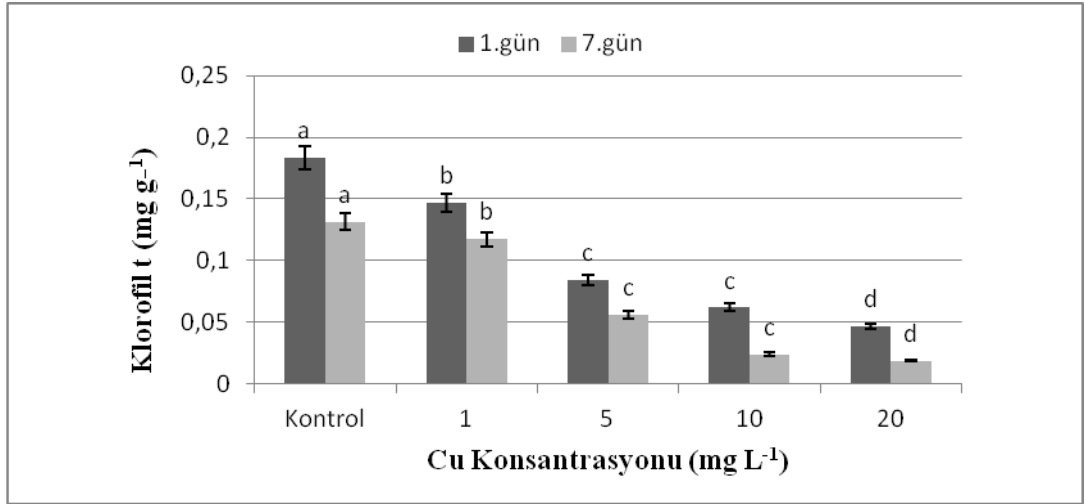
Salvinia natans (L.) örneklerinin farklı konsantrasyonlarda Cu iyonuna 1. ve 7. gün süreyle maruziyetinin ardından belirlenen klorofil b miktarları şekil 4.27.'de verilmiştir. Uygulama gruplarında artan Cu konsantrasyonları bitkilerin klorofil b miktarlarında değişime sebep olmuştur. Artan Cu konsantrasyonları klorofil b miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Konsantrasyonlara bağlı olarak klorofil b miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 27. Cu (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.5.4. Cu Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Toplam Klorofil Miktarları

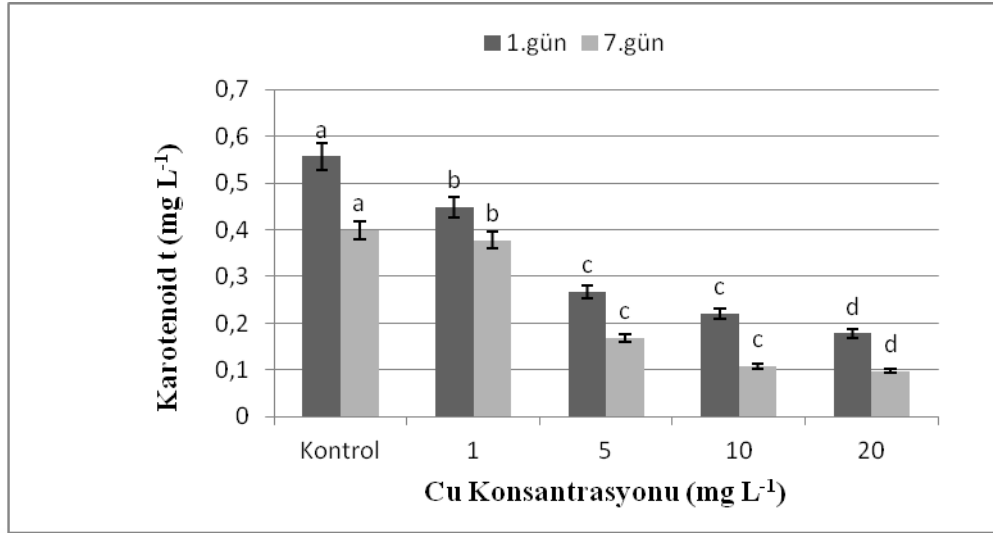
1. ve 7. gün süre ile farklı konsantrasyonlarda Cu uygulaması yapılmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki toplam klorofil miktarları Şekil 4.28.'de gösterilmiştir. Uygulanan Cu konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam klorofil miktarlarında çeşitli değişiklikler gözlenmiştir. Artan Cu konsantrasyonları toplam klorofil miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Konsantrasyonlara bağlı olarak toplam klorofil miktarlarında belirlenen farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. ($p<0,05$).



Şekil 4. 28. Cu (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.5.5. Cu Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Karotenoid Miktarları

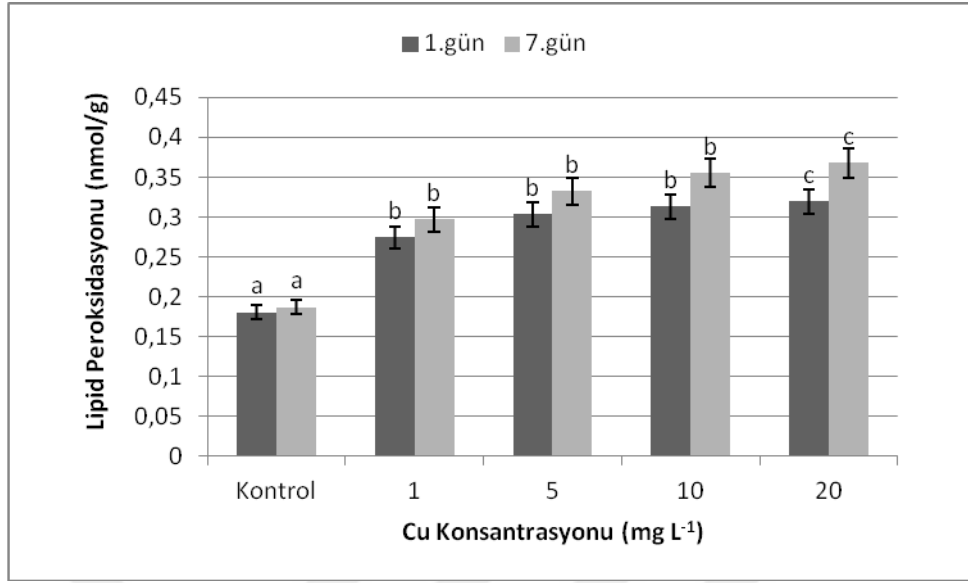
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Cu metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün maruziyeti sonunda belirlenen karotenoid miktarları Şekil 4.29'da gösterilmiştir. Uygulanan Cu konsantrasyonlarına bağlı olarak Cu miktarlarındaki karotenoid içerikleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde azaldığı görülmüştür ($p<0,05$). Azalma miktarı 8 mg L⁻¹ uygulanan grupta en üst düzeye ulaşmıştır.



Şekil 4. 29. Cu (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.5.6. Cu Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Lipid Peroksidasyonu (MDA) Miktarları

Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Cu metali uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün maruziyeti sonunda belirlenen lipid peroksidasyonunda belirlenen değişimler Şekil 4.30'da gösterilmiştir. Cu stresi MDA içeriğinde artış sebep olmuştur. Konsantrasyonlara bağlı olarak lipid peroksidasyonu (MDA) miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4. 22.Cu (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki lipid peroksidasyonu (MDA) 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (nmol/g yaş ağırlık, n=5)

4.1.6. Cr Akümülayonu

Salvinia natans (L.) bitki örneklerine 7 günlük maruziyet süresince farklı konsantrasyonlarda (1-5-10-20 mg L⁻¹) Cr (Krom) uygulanmıştır. Maruziyet süresi sonunda örneklerde belirlenen Cr miktarları Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Tablo 4.6 incelendiğinde bitki örneklerinin maruz bıkıldığı Cr konsantrasyonlarının artışı ile birlikte Cr konsantrasyonunun da artışı gözlenmiştir. Konsantrasyonlara bağılı olarak ağır metal akümülayonları birbirinden farklıdır ve bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).

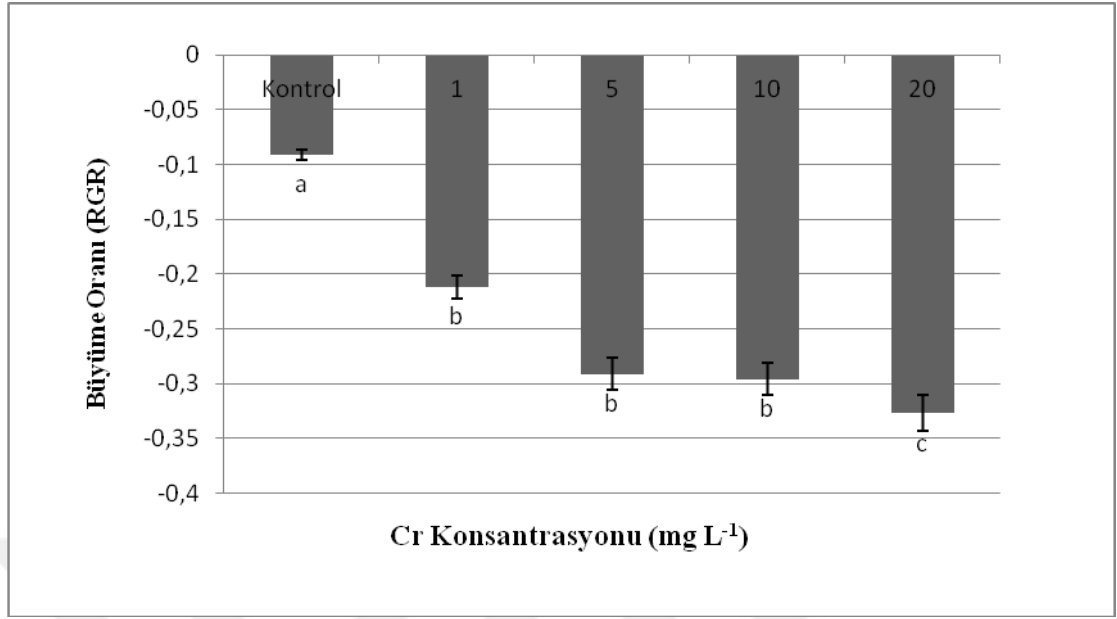
Tablo 4. 6.*Salvinia natans* (L.) örneklerindeki Cr (Krom) miktarı ve standart hata değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, n=5).

Cr Konsantrasyonu (mg L^{-1})	Ort/Std hata ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Min	Maks
Kontrol	1150,43 ^a ±1,65	1148,78	1152,08
1 ppm	2250,43 ^b ±19,04	2221,39	2279,47
5 ppm	4556,485 ^c ±29,825	4516,66	4596,31
10 ppm	5555,15 ^d ±29,922	5528,93	5581,37
20 ppm	10531,095 ^e ±33,885	10497,21	10564,98

Aynı sütündeki farklı harfler gruplar arasındaki farklılıkları istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

4.1.6.1. Cr Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Büyüme Oranı (RGR)

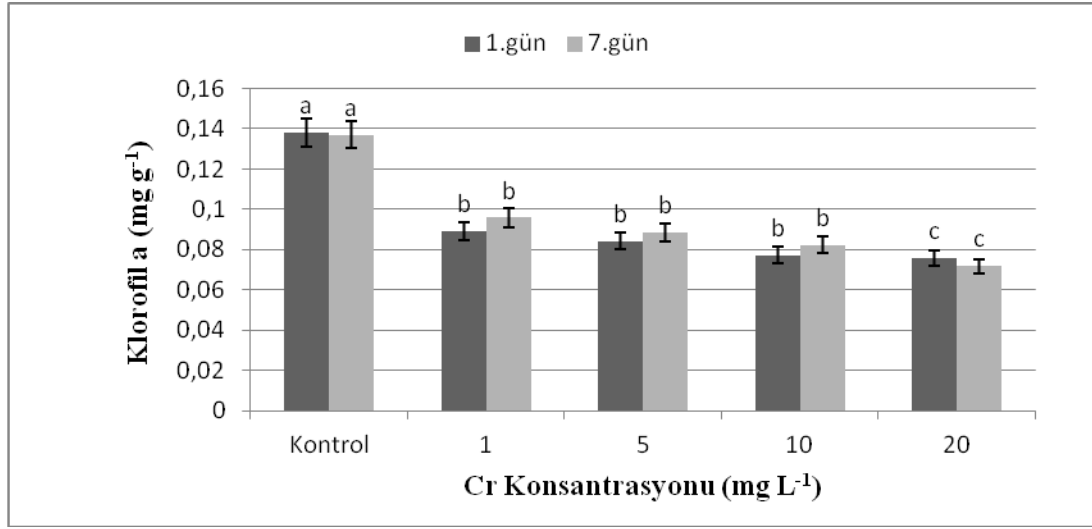
7 günlük Cr maruziyeti sonucunda *Salvinia natans* (L.) bitkisindeki göreceli büyüme oranı Şekil 4.31’de gösterilmiştir. Bitki örneklerinin maruz bırakıldığı Cr konsantrasyonlarının artışı ile birlikte göreceli büyüme oranının azaldığı görülmektedir. Cr bitkideki büyüme oranı üzerine olan en büyük etkisinin ise 20 mg L^{-1} konsantrasyonunda olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4. 23.Yedi günlük periyot sonunda Cr (1-20 mg L⁻¹) uygulamasının *Salvinia natans*'ın büyüme oranı (RGR) etkisi ve standart hata değerleri (n=5)

4.1.6.2. Cr Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Klorofil a Miktarları

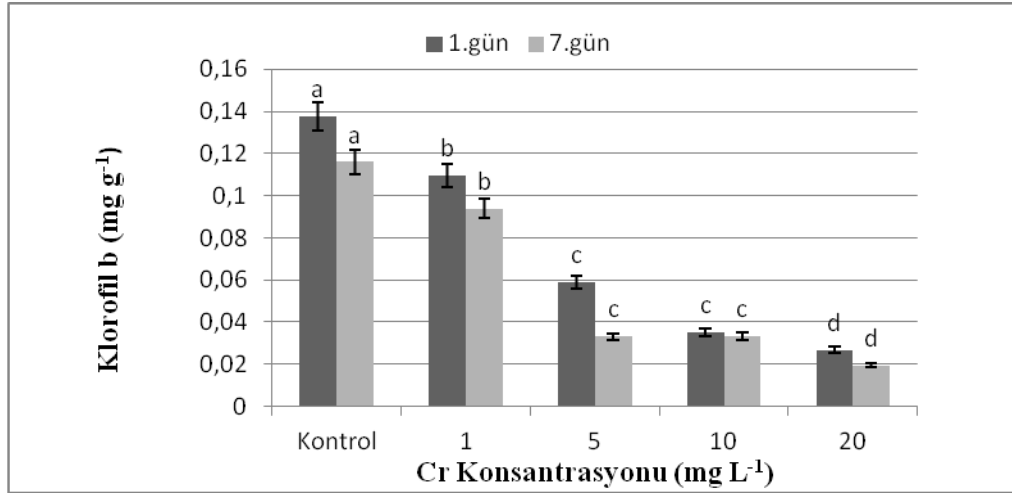
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Cr uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün maruziyeti sonunda belirlenen klorofil a miktarları Şekil 4.32'de gösterilmiştir. Klorofil a miktarları uygulama gruplarında Cr konsantrasyonlarına bağlı olarak çeşitli değişiklikler göstermiştir. Artan Cr konsantrasyonları klorofil a miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Konsantrasyonlara bağlı olarak klorofil a miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$)



Şekil 4. 24.Cr (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* örneklerindeki klorofil a 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.6.3. Cr Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Klorofil b Miktarları

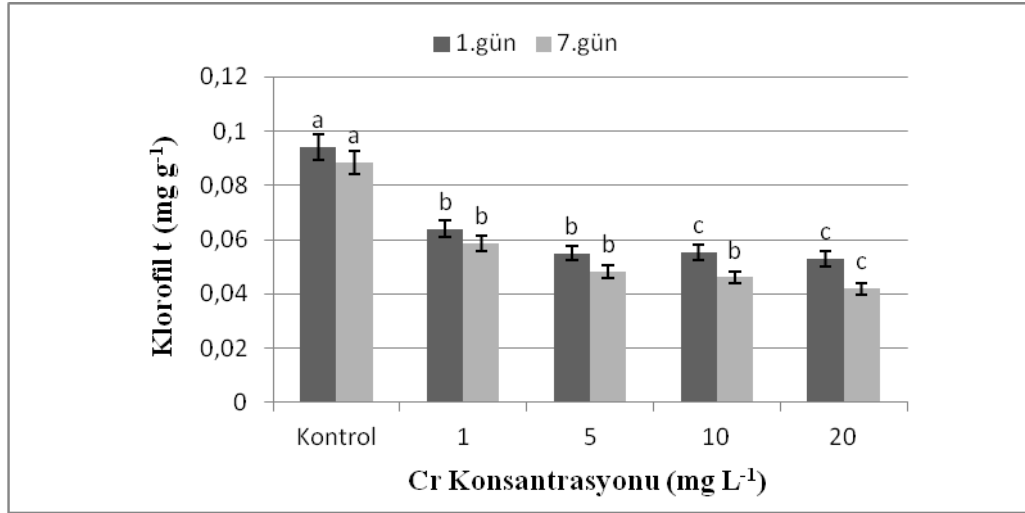
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Cr uygulaması yapılmıştır ve 1.ve 7. gün maruziyeti sonunda belirlenen klorofil b miktarları Şekil 4.33.'de gösterilmiştir. Klorofil b miktarları uygulama gruplarında artan Cr konsantrasyonlarına bağlı olarak çeşitli değişimler göstermiştir. Artan Cr konsantrasyonları klorofil b miktarlarını önemli sayılabilecek düzeyde azaltmıştır. Konsantrasyonlara bağlı olarak klorofil b miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 25.Cr (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki klorofil b 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.6.4. Cr Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Toplam Klorofil Miktarları

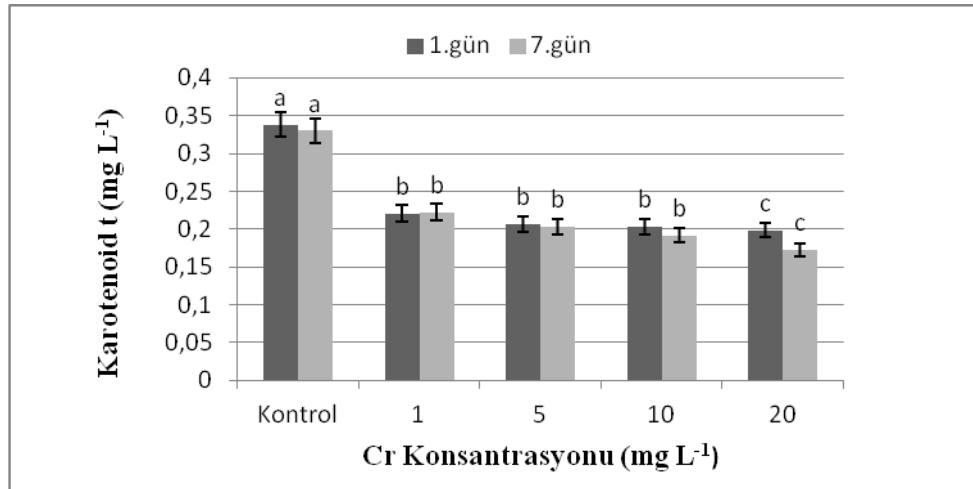
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Cr uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün maruziyet süresi sonunda toplam klorofil içeriği Şekil 4.34.'de gösterilmiştir. Uygulanan Cr konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam klorofil içeriğinde çeşitli değişimler gözlenmiştir. Artan Cr konsantrasyonları toplam klorofil miktarlarını önemli düzeyde azaltmıştır. Konsantrasyonlara bağlı olarak toplam klorofil miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılıklar ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 26. Cr (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki toplam klorofil 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.6.5. Cr Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Karotenoid Miktarları

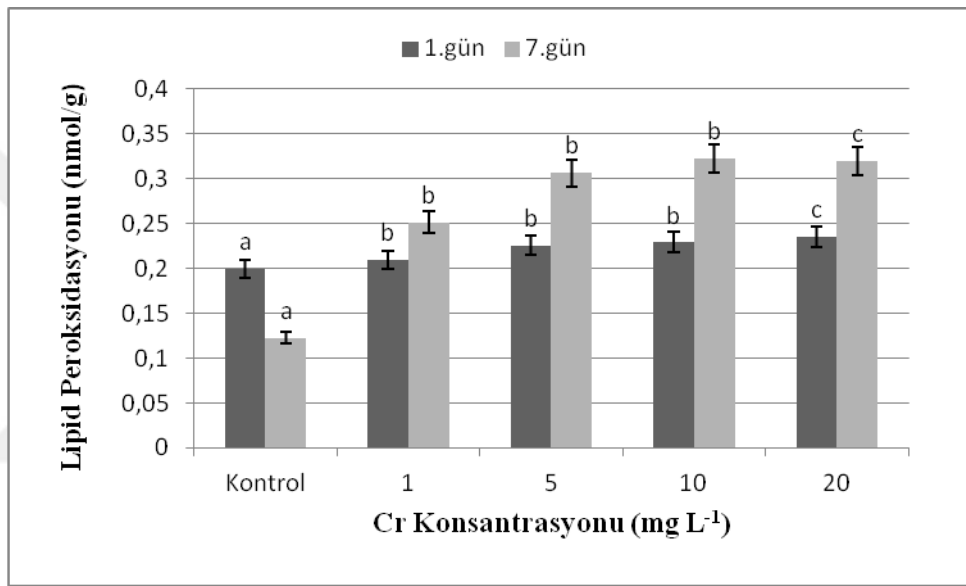
Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Cr uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün maruziyeti sonunda belirlenen karotenoid içerikleri Şekil 4.35’de gösterilmiştir. Uygulanan Cr konsantrasyonlarına bağlı olarak Cr miktarlarındaki karotenoid oranlarında kontrole göre önemli düzeyde azalma görülmüştür ($p < 0,05$). Azalma miktarı 20 mg L⁻¹ uygulanan grupta en üst düzeye ulaşmıştır.



Şekil 4. 35. Cr (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.1.6.6. Cr Uygulanmış *Salvinia natans* (L.) Örneklerindeki Lipid Peroksidasyonu (MDA) Miktarları

Salvinia natans (L.) bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda Cr uygulaması yapılmıştır ve 1. ve 7. gün maruziyeti sonunda belirlenen MDA miktarları Şekil 4.36’da verilmiştir. Krom metali stresi lipid peroksidasyonu içeriğinde artışa sebep olmuştur. Konsantrasyonlara bağlı olarak lipid peroksidasyonu miktarları birbirlerinden farklıdır. Bu farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4. 36. Cr (1-20 mg L⁻¹) uygulanmış *Salvinia natans* (L.) örneklerindeki karotenoid 1. ve 7. gün miktarları ve standart hata değerleri (mg g⁻¹ yaş ağırlık, n=5)

4.2. Ağır Metal Stresinin *Salvinia natans* (L.) Bitkisinde ISSR Profili

Çalışmada farklı konsantrasyonlardaki ağır metallerin *Salvinia natans* (L.) bitkisindeki etkisinin incelenmesi amacıyla, bitkinin yaprak bölgelerinden elde edilen DNA’lar toplam 15 farklı ISSR primeri ile çalışılmıştır. Kullanılan primerler ve bunlara ait baz dizilimleri Tablo 4.7.’de verilmiştir. Kullanılan primerlerin 10’unda polimorfik bant oluşumu gözlenmiştir. 5 (ISSR B, ISSR D, UBC818, UBC820, UBC824) primer açısından bir değişim gerçekleşmemiş ve monomorfik bant paterni gözlemlenmiştir. Her primer için gözlemlenen polimorfizmlerin hesaplanması, farklı konsantrasyonlardaki ağır metal stresine maruz bırakılan bitki örnekleri ISSR profillerinin kontrol örneklerinin ISSR profillerine göre karşılaştırması yapılmıştır.

Kontrol grubuna ait ISSR profilinde bulunup örneklerde bulunmayan ve/veya kontrol ISSR profiline göre yeni oluşan bantlar polimorfik olarak değerlendirilmiştir. Polimorfik bant gözlenen 10 primerde (ISSR A, ISSR C, ISSR E, UBC807, UBC808, UBC809, UBC811, UBC815, UBC834, UBC840) 27 tane polimorfik bant gözlenmiştir. Ortalama polimorfik bant sayısı primer başına 2,7 olarak hesaplanmıştır. Araştırmada kullanılan ağır metal konsantrasyonlarının *Salvinia natans*' a ait DNA'ların miktar (ng DNA/ μ l) ve saflık (A260/A280) değerleri Tablo 4.8.'de gösterilmiştir. Ağır metal konsantrasyonlarının *Salvinia natans*' a ait DNA'ların miktar (ng DNA/ μ l) ve saflık (A260/A280) değerlerinin grafik olarak değerlendirme sonucu ise Şekil 4.37.'de gösterilmiştir.

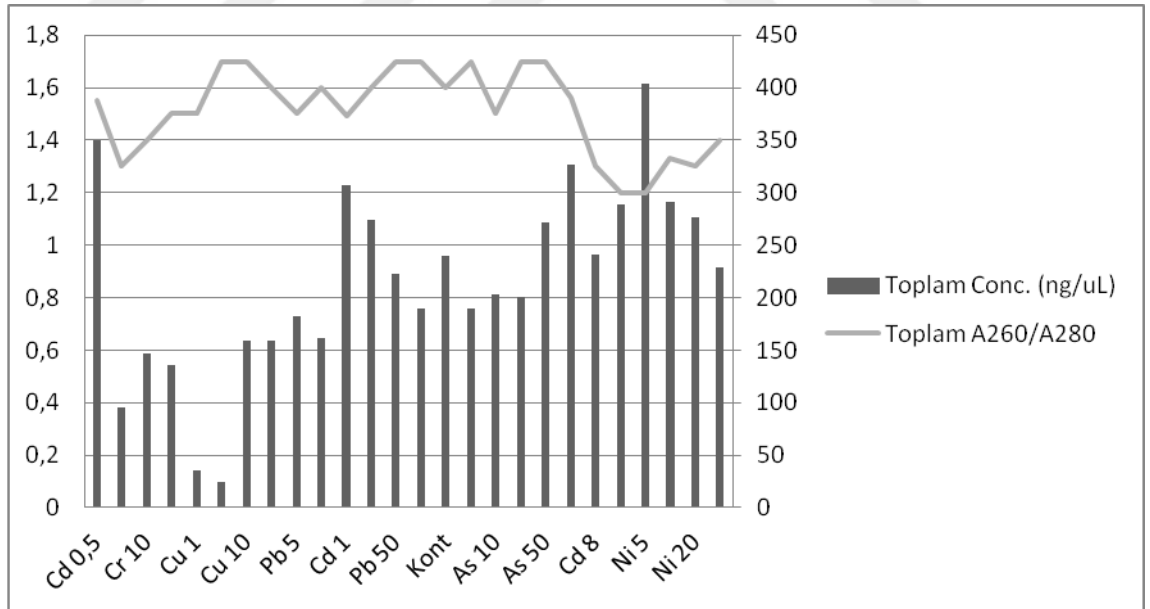
Tablo 4. 7.ISSR analizlerinde kullanılan primerler ve baz dizileri

Oligo Name	Dizi	N. Uzunluğu	Tm
ISSR A	AGAGAGAGAGAGAGAAC	17	50.5
ISSR B	CACACACACACACACAA	19	54.5
ISSR C	AGAGAGAGAGAGAGAAT	17	48
ISSR D	CACACACACACACACAG	19	56.7
ISSR E	ACACACACACACACCG	18	56
UBC807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	17	50.4
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	17	52.8
UBC809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	17	52.8
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	17	52.8
UBC815	CTCTCTCTCTCTCTG	17	52.8
UBC818	CACACACACACACAG	17	52.8
UBC820	GTGTGTGTGTGTGTGTC	17	52.8
UBC824	TCTCTCTCTCTCTCG	17	52.8
UBC834	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	18	52.5
UBC840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	18	52.5

Tablo 4. 8.Araştırmada kullanılan ağır metal konsantrasyonlarının *Salvinia natans*' a ait DNA'ların miktar (ng DNA/µl) ve saflık (A260/A280) değerleri

Konsatrasyonlar	Toplam Conc. (ng/uL)	Toplam A260/A280
Cd 0,5	350	1,55
Cr 5	95	1,3
Cr 10	147	1,4
Cr 20	136	1,5
Cu 1	36	1,5
Cu 5	24	1,7
Cu 10	159	1,7
Cu 20	159	1,6
Pb 5	182	1,5
Pb 10	162	1,6
Cd 1	307	1,49
Pb 25	274	1,6
Pb 50	223	1,7
Kont	190	1,7
Kont	240	1,6
As 1	190	1,7
As 10	203	1,5
As 20	200	1,7

As 50	271	1,7
Cd 4	326	1,56
Cd 8	241	1,3
Ni 1	289	1,2
Ni 5	404	1,2
Ni10	291	1,33
Ni 20	276	1,3
Cr 1	229	1,4
Genel Toplam	5604	39,33



Şekil 4. 37.Araştırmada kullanılan ağır metal konsantrasyonlarının *Salvinia natans*' a ait DNA'ların miktar (ng DNA/μl) ve saflık (A260/A280) değerlerinin göstergesi

Agaroz jel üzerinde PCR amplifikasyon ürünlerinin oluşturdukları bantlar görüntüledikten sonra bu bantların okunmasında sadece kuvvetli bantlar değerlendirmeye alınmışlardır. Oluşan bantlar çeşitlerde ortak (monomorfik) veya farklı (polimorfik) olma durumlarına göre değerlendirilmiş; çeşitlerde var olma ya da olmama durumuna göre bantlar "1" veya "0" şeklinde değerlendirilmiş ve benzerlik indeksleri oluşturulmuştur. Polimorfik bantların kullanılan primerlerde olma yada olmama durumları Tablo 4.9.'da gösterilmiştir. Genotipler arasındaki genetik benzerlik katsayıları; "R" programının 3.4.1 sürümü kullanılarak, Jaccard benzerlik katsayısına göre saptanmıştır. Elde edilen genetik benzerlik katsayılarından, "MEGA7" programında Neighbor joining metoduna göre bir soyağacı elde edilmiştir. Elde edilen soyağacında kök olarak kontrol genotipi seçilmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen genetik benzerlik katsayıları indeksi Tablo 4.10.'da gösterilmiştir. Genetik benzerlik katsayı çizelgesi incelendiğinde benzerlik düzeyi en düşük olan ağır metal Cr (krom) görülürken benzerlik oranı en yüksek olan ağır metal As (arsenik) olarak gözlenmiştir.

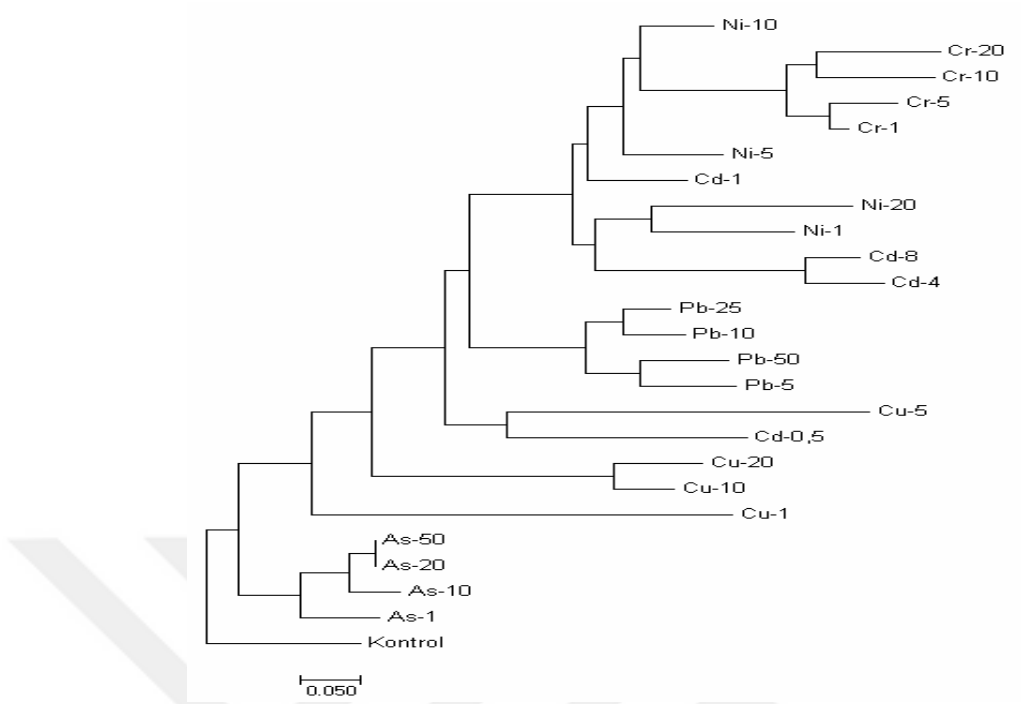
Tablo 4. 9.Polimorfik bantların kullanılan primerlerde olma ya da olmama durumuna göre bantların var "1" yok "0" şeklinde değerlendirilmesi (1-5 ISSR A, 6 ISSR E, 8 ISSR C, 9 UBC 807, 10-13 UBC 808, 14 UBC 809, 15 UBC 811, 16-18 UBC 815, 19-23 UBC 834, 24-27 UBC 840)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
As-50	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
As-20	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
As-10	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
As-1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0
Pb-50	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Pb-25	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Pb-10	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Pb-5	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Cu-20	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0
Cu-10	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
Cu-5	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0
Cu-1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0
Cr-20	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Cr-10	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1
Cr-5	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Cr-1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Ni-20	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Ni-10	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Ni-5	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Ni-1	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Cd-8	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Cd-4	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Cd-1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Cd-0,5	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0

Tablo 4. 10.Farklı ağır metal konsantrasyonları uygulanan *Salvinia natans* bitki türüne ait genetik benzerlik katsayı indeksi

	As-50	As-20	As-10	As-1	Pb-50	Pb-25	Pb-10	Pb-5	Kontrol	Cu-20	Cu-10	Cu-5	Cu-1	Cr-20	Cr-10	Cr-5	Cr-1	Ni-20	Ni-10	Ni-5	Ni-1	Cd-8	Cd-4	Cd-1	Cd-0,5
As-50	1																								
As-20	1	1																							
As-10	0,938	0,938	1																						
As-1	0,833	0,833	0,889	1																					
Pb-50	0,688	0,688	0,647	0,667	1																				
Pb-25	0,529	0,529	0,500	0,526	0,769	1																			
Pb-10	0,563	0,563	0,529	0,556	0,833	0,909	1																		
Pb-5	0,688	0,688	0,647	0,667	0,846	0,769	0,833	1																	
Kontrol	0,750	0,750	0,706	0,722	0,563	0,500	0,533	0,667	1																
Cu-20	0,611	0,611	0,579	0,600	0,444	0,389	0,333	0,444	0,588	1															
Cu-10	0,550	0,550	0,524	0,545	0,400	0,350	0,300	0,400	0,526	0,875	1														
Cu-5	0,333	0,333	0,316	0,350	0,400	0,429	0,462	0,400	0,375	0,438	0,389	1													
Cu-1	0,450	0,450	0,429	0,524	0,368	0,389	0,412	0,368	0,421	0,273	0,250	0,353	1												
Cr-20	0,450	0,450	0,429	0,455	0,368	0,471	0,412	0,444	0,421	0,474	0,579	0,278	0,273	1											
Cr-10	0,333	0,333	0,318	0,348	0,389	0,500	0,438	0,471	0,300	0,350	0,450	0,294	0,174	0,800	1										
Cr-5	0,400	0,400	0,381	0,409	0,471	0,500	0,438	0,471	0,300	0,421	0,526	0,294	0,174	0,800	0,857	1									
Cr-1	0,450	0,450	0,429	0,455	0,529	0,563	0,500	0,529	0,350	0,474	0,579	0,353	0,217	0,750	0,800	0,929	1								
Ni-20	0,444	0,444	0,421	0,381	0,438	0,467	0,400	0,353	0,333	0,389	0,500	0,333	0,190	0,471	0,500	0,600	0,667	1							
Ni-10	0,368	0,368	0,350	0,381	0,533	0,692	0,615	0,533	0,333	0,389	0,500	0,429	0,250	0,667	0,714	0,714	0,786	0,692	1						
Ni-5	0,368	0,368	0,350	0,381	0,533	0,692	0,615	0,533	0,333	0,316	0,421	0,333	0,250	0,667	0,714	0,714	0,667	0,571	0,833	1					
Ni-1	0,474	0,474	0,450	0,476	0,563	0,600	0,533	0,471	0,300	0,350	0,450	0,294	0,350	0,500	0,529	0,625	0,688	0,714	0,714	0,714	1				
Cd-8	0,333	0,333	0,316	0,286	0,400	0,538	0,462	0,400	0,375	0,278	0,389	0,286	0,150	0,438	0,467	0,467	0,533	0,667	0,667	0,667	0,571	1			
Cd-4	0,353	0,353	0,333	0,300	0,429	0,462	0,500	0,429	0,400	0,222	0,333	0,308	0,158	0,375	0,400	0,400	0,467	0,583	0,583	0,583	0,500	0,889	1		
Cd-1	0,444	0,444	0,421	0,450	0,643	0,692	0,750	0,643	0,412	0,316	0,421	0,429	0,316	0,563	0,600	0,600	0,667	0,571	0,833	0,833	0,714	0,667	0,727	1	
Cd-0,5	0,400	0,400	0,375	0,333	0,500	0,545	0,600	0,500	0,462	0,333	0,294	0,500	0,176	0,333	0,357	0,357	0,429	0,545	0,545	0,417	0,357	0,500	0,556	0,545	1

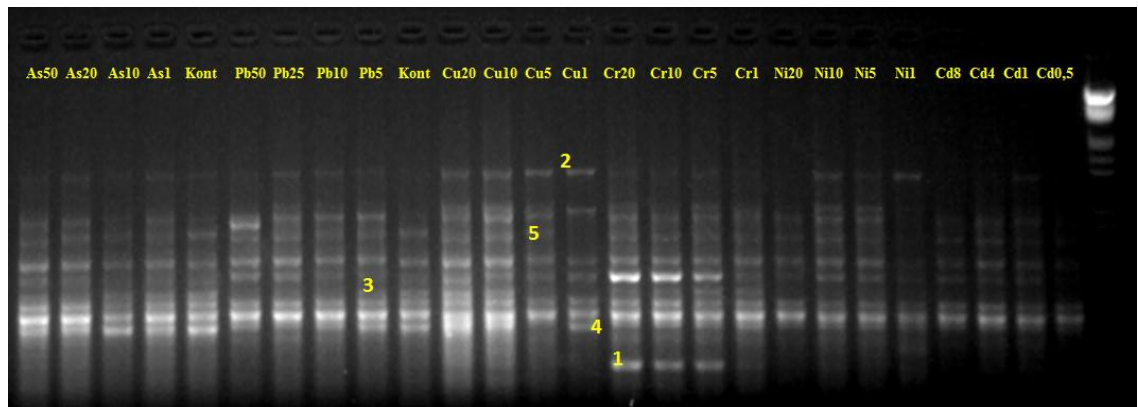
Genetik ilişki dendogramı (soy ağacı) Şekil 4.38.'de verilmiştir. Genetik ilişki dendogramı incelendiğinde *Salvinia natans* bitkisinin ağır metal akümüasyonu sonucunda genomik değişikliğin en fazla Cr da olduğu görülürken, en az genomik değişimin ise As konsantrasyonlarını içeren bitki örneklerinde olduğu gözlenmiştir.



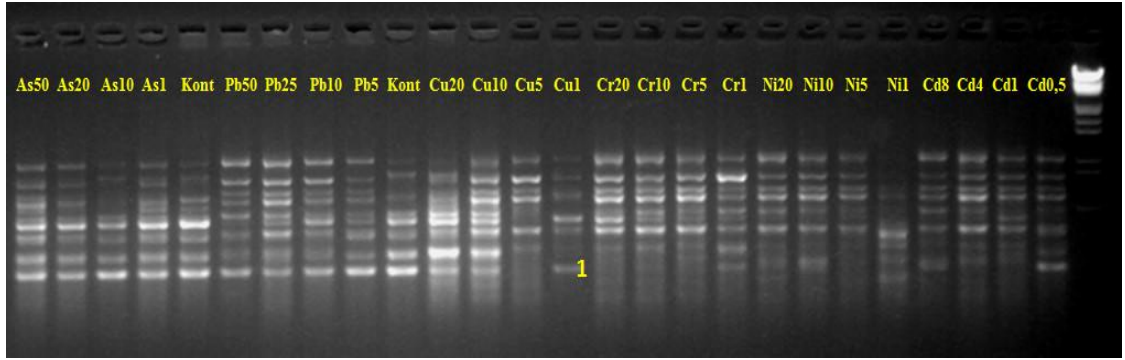
Şekil 4. 38. Genetik ilişki dendogramı (soy ağacı)

Primerler itibariyle değerlendirildiğinde en yüksek bant sayısı (5 bant) ISSR A ve UBC 834 verirken, en düşük bant sayısı (1 bant) ile ISSR C, UBC 807, UBC 809, UBC 811 primerlerinde gözlenmiştir.

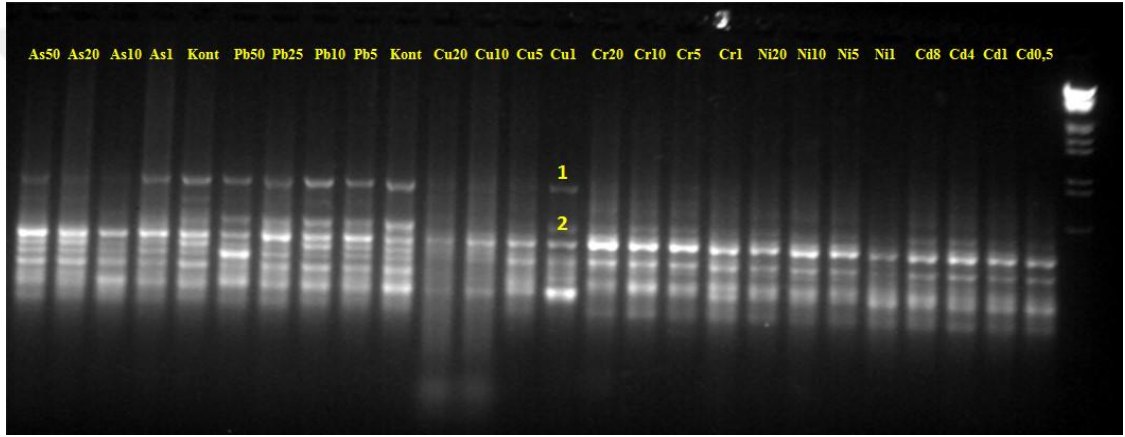
Amplifikasyon ürünlerinin jel görüntüleri ise Şekil 4.39- 4.48.'de verilmiştir.



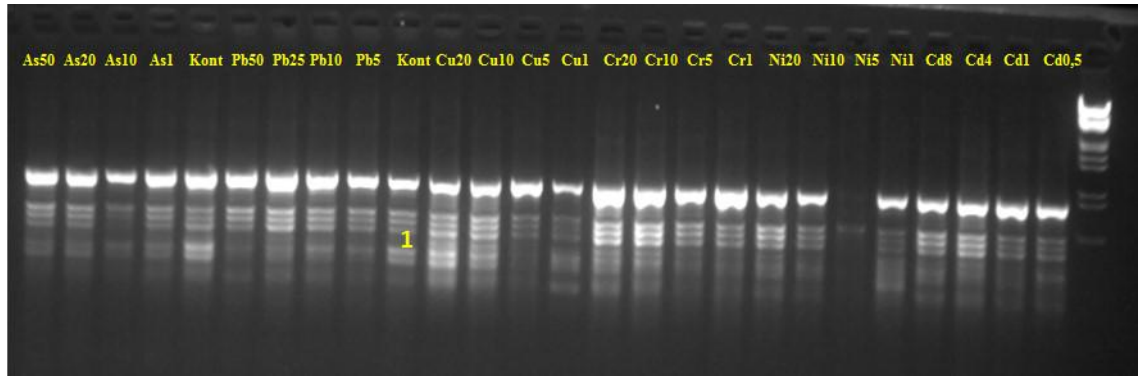
Şekil 4. 39. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların ISSR A primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



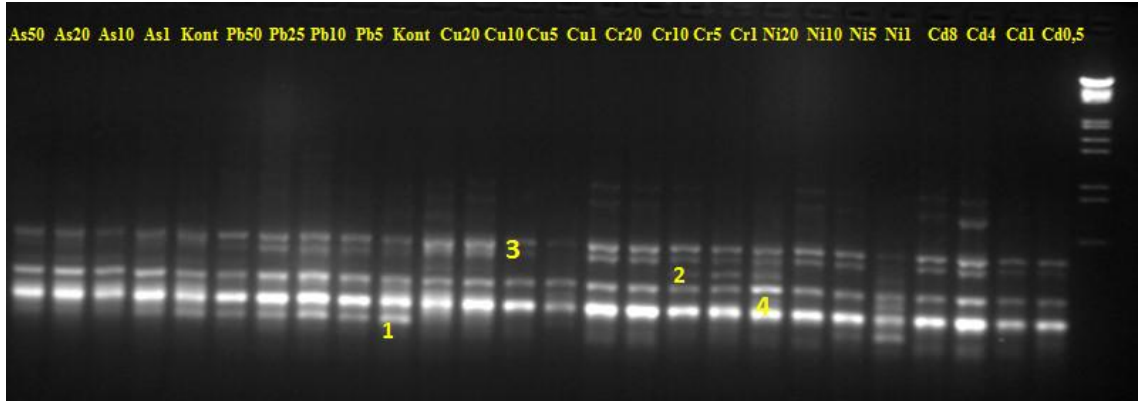
Şekil 4. 27. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların ISSR C primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



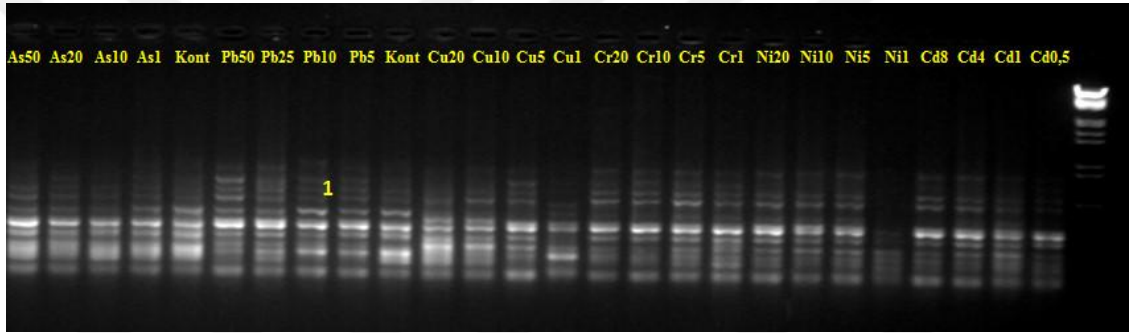
Şekil 4. 28. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların ISSR E primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



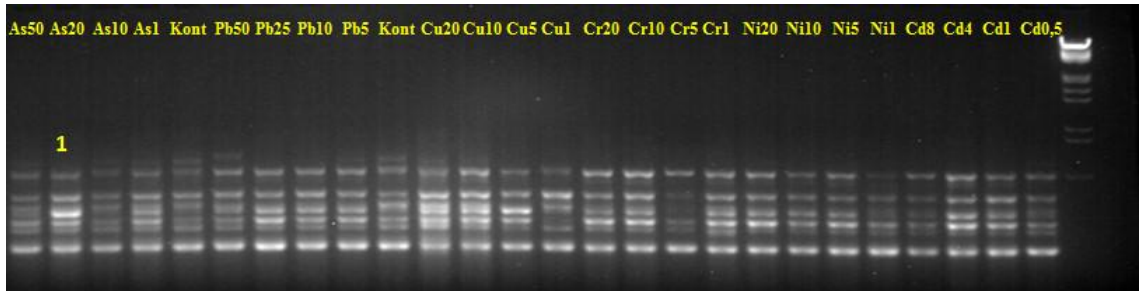
Şekil 4. 29. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların UBC 807 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



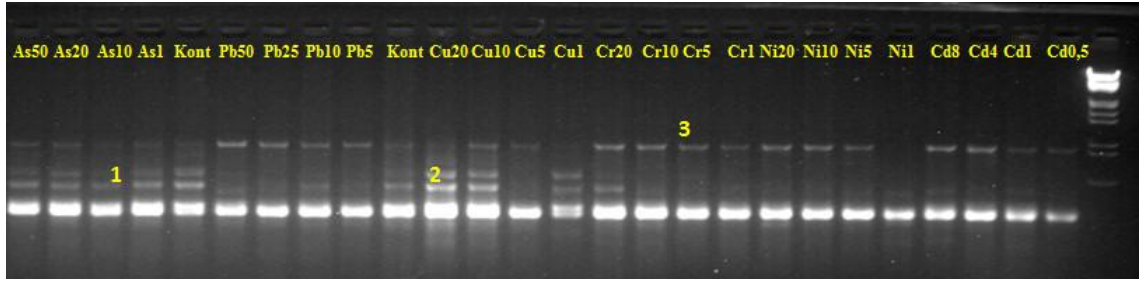
Şekil 4. 30. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların UBC 808 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



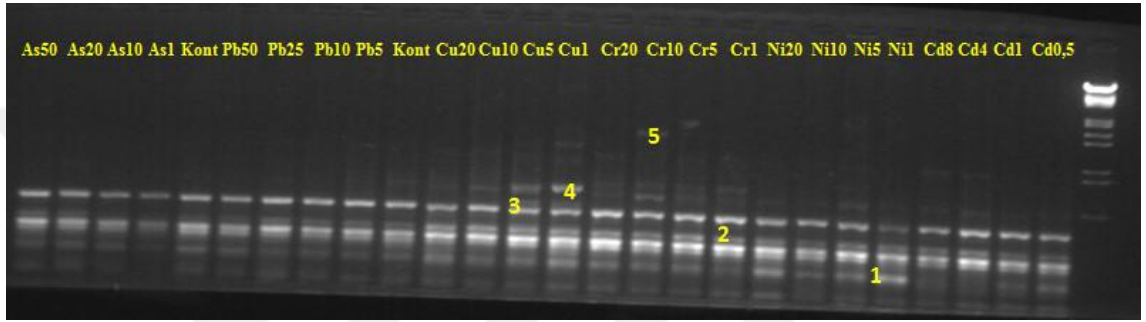
Şekil 4. 44. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların UBC 809 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



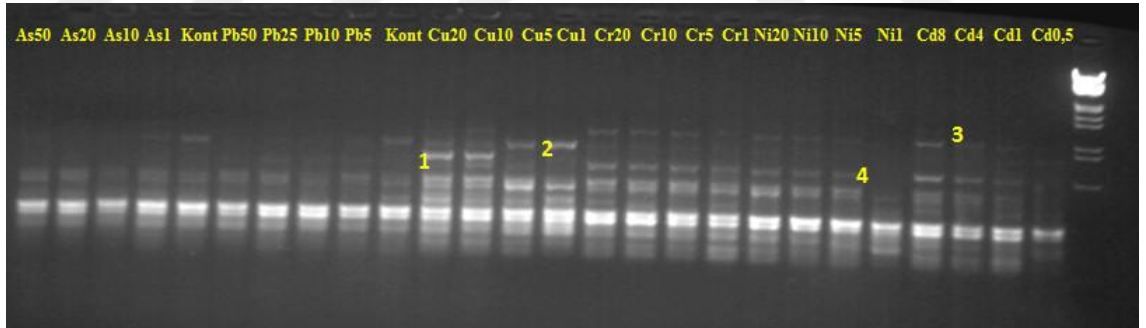
Şekil 4. 45. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların UBC 811 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



Şekil 4. 46. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların UBC 815 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



Şekil 4. 47. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların UBC 834 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri



Şekil 4. 48. Araştırmada kullanılan *Salvinia natans* bitkisine ait DNA'ların UBC 840 primerinin agaroz jel üzerindeki görüntüleri

5.BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Pb, Cd, As, Cr, Ni ve Cu ağır metallerinin *Salvinia natans* (L) All. (su eğreltisi) türündeki toksik etkileri, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler parametreler yardımıyla tespit edilmiş, diğer araştırmacıların sonuçlarıyla karşılaştırılmış ve tartışılmıştır.

Yapmış olduğumuz araştırmada, yüksek miktarda üreme yeteğine sahip olması, kültürünün olması, yüksek oranlarda ağır metalleri akümüle etme yeteneği, serbest yüzer bir bitki olması gibi birçok özelliğinden dolayı *Salvinia natans* su bitkisi tercih edilmiştir.

Yapmış olduğumuz deneysel çalışmalar sonunda farklı ağır metal konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Salvinia natans* bitki örneklerinin morfolojik ve fizyolojik değişimleri gözlemlenmiştir. Yaptığımız çalışmaya benzer olarak Leblebici ve arkadaşları [83] tarafından *Spirodela polyrhiza* bitki örneklerinde nikel ve kadmiyum metallerinin akümüstasyon miktarları incelenmiştir. Yapılan araştırma sonuçlarına göre nikel ve kadmiyum metallerinin öldürücü etkisinin *Spirodela polyrhiza*'da kadmiyum konsantrasyonu için 8 mg L⁻¹, nikel konsantrasyonu içinse 20 mg L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz deneysel çalışma sonucunda da benzer bir sonuç tespit edilmiştir. *Salvinia natans* bitki örneklerindeki kurşun ve nikel konsantrasyonları artış gösterdikçe bitki bünyesinde bulunan nikel ve kurşun oranlarında artışların olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak konsantrasyonlarda artış oldukça bitkilerdeki ağır metal akümüstasyonlarında da artışlar olmuştur ve yapmış olduğumuz deneysel çalışma Leblebici ve arkadaşları'nın [83] yapmış olduğu çalışmayı desteklemektedir.

Yalçın, [47] kurşun, kadmiyum ve nikel ağır metallerinin *Lemna minor* ve *Salvinia natans* su bitkileri üzerindeki biyolojik yanıtlar ve stresi üzerine yaptığı çalışmada; kurşun konsantrasyonları 5 mg L⁻¹'den 50 mg L⁻¹'e doğru arttıkça akümüstasyon miktarları sırasıyla *Lemna minor*'de (657,9-9006,2 mg g⁻¹), *Salvinia natans*'ta (2530,0-8570,2 mg g⁻¹) oranında olduğu tespit edilmiş, *S. natans*'ın kurşun akümüstasyon yeteneğinin *L. minor* su bitkisine göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada *Salvinia natans* su bitkisi üzerine altı farklı ağır metal

konsantrasyonları uygulaması ile yapılan belirlemeler de *S. natans* bitkisinin yüksek oranlarda ağır metal akümülyasyon yeteneğine sahip olduğu ve yüksek konsantrasyonlardaki ağır metallerin bitkide strese sebep olduğu tespit edilmiştir.

Megateli ve arkadaşları [84] *Lemna gibba* bitkisinde Cd, Cu ve Zn toksisitesi ve akümülyasyonu üzerine çalışmalar yapmışlardır. Yapılan çalışmada bitki örneklerinin Cu ve Zn ağır metallerinin akümülyasyon oranları maruziyetinin ilk iki günü içinde % 60 gibi hızlı bir miktardayken bu değerler son maruziyet günlerinde % 10 ila 20 oranlarına düşmüştür. Bitki örneklerine uygulanan Cd ağır metalinde ise bu değer son maruziyet günlerinde % 90 gibi oranlara ulaşmıştır. 10 günlük ağır mteel maruziyeti sonucunda elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde *Lemna gibba* bitkisinin Zn metalini % 100, Cd metalinin % 90 ve Cd metalini ise %77 oranında ağır metalleri akümüle ettiği tespit edilmiştir [85]. Yapmış olduğumuz çalışmada 7 günlük maruziyet süresince Cd, Ni ve Pb konsantrasyonlarında artış oldukça *Salvinia natans* bitkisinin ağır metal akümülyasyonunda da artış olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak yapmış olduğumuz çalışma Megateli ve çalışma arkadaşları'nın [84] yapmış olduğu bu saptamayı doğrulamaktadır.

Sternberg ve Rahmani [86] *Lemna minor* su bitkisinde Pb ağır metalinin akümülyasyonunu ürerine çalışmalar yapmışlardır. Çalışmada 21 günlük maruziyet süreci sonunda 5 mg L⁻¹'lik Pb metal konsantrasyonunda % 85 ila 90 oranında Pb akümülyasyonu olduğu gözlemlenmiştir. Yaptığımız olduğumuz deneysel çalışma sonucunda da *Salvinia natans* bitkisi 7 günlük maruziyet süresi boyunca artan konsantrasyonlarda 5-10-25-50 mg L⁻¹'lik Pb konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Yapılan deney sonucunda ise bitki örneklerindeki kurşun konsantasyonlarında artış oldukça bitki örneklerindeki kurşun akümülyasyonlarında da artışlar olduğu tespit edilmiştir.

Duman ve çalışma arkadaşları [87] *Nasturtium officinale* bitkisinin bitkisel giderim ve biomonitor amacıyla kullanımını üzerine araştırmalar yapmışlardır. Yapmış oldukları çalışmalar sonunda Cr, Cd ve Co'nun en fazla akümülyasyonları sırasıyla 10, 0.5 ve 0.5 mM konsantrasyonları olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucundan anlaşıldığı üzere *N. officinale* Cd'ye karşı hassastır. Yapmış olduğumuz çalışmada ise *Salvinia natans*'da 89329 µg g⁻¹ kadmiyum metal akümülyasyonu olduğu, Cd konsantrasyonu nda artış oldukça bitkideki akümülyasyon miktarında da artış olduğu belirlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada kadmiyum ve kurşun içeriğine sahip olan sulardaki *Lemna minor* (L.) bitkisinin metal akümüasyonu ve göreceli büyüme hızı üzerine araştırma yapılmıştır. Yapılacak olan çalışma için bitki örnekleri kültür ortamına her bir deney düzeneği için eşit olmak şartıyla sağlıklı ve canlı 40 frond aşılmalıdır. Bitki örneklerinin 168 haftalık maruziyet süreci sonunda büyüme hızlarındaki farklılıklar belirlenmiştir. Frond sayısının zamana bağlı olarak değişimine dayanarak büyüme hız kinetiğinin 1.derece reaksiyon kinetiğine uyduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra kurşun ve kadmiyum metallerini içeren kültür ortamında bitki örneklerinin kurşun ve kadmiyum metallerini mak. oranda akümüasyon yeteneğinin olduğunu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda da Cd ve Pb metallerinin konsantrasyonları arttıkça bitki örneklerinin bünyelerinde barındırdıkları ağır metal konsantrasyonlarında da artış olduğu tespit edilmiştir [88].

Lemna minor birki örneklerinde on farklı ağır metal konsantrasyonlarının göreceli büyüme oranı etkisi üzerine çalışma yürütülmüştür[89]. Ağır metallerin bitkiye toksik etkileri sırasıyla $Ag^+ > Cd^{2+} > Hg^{2+} > Tl^+ > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Cr(VI) > As(III) > As(V)$ şeklinde tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada, *Salvinia natans*'ta kadmiyum metal konsantrasyonları 5 mg L⁻¹'den 8 mg L⁻¹'e doğru arttıkça göreceli büyüme oranında sırası ile (-0,1314)-(-0,1614) oranında belirgin bir düşüşün olduğu ve kadmiyum konsantrasyonlarında artış oldukça göreceli büyüme oranının azaldığı tespit edilmiş olup bu durum sonucunda bitkinin olumsuz etkilendiği sonucuna varılmıştır.

Drost ve çalışma arkadaşları [90] laboratuvar ortamında farklı konsantrasyonlardaki Ni, Cd, Zn ve Cu metallerini ekleyerek *Lemna minor* (su mercimeği) su bitkisinin göreceli büyüme oranını (RGR) ve biyokonsantrasyon faktörünü (BCF) araştırmışlardır. Yapılmış olunan bu çalışma sonunda Zn ve Ni metalleri için düşük toksisite, Cu ve Cd metalleri için ise yüksek toksisite tespit edilmiştir. En fazla biyokonsantrasyon faktörü kadmiyum metalinde tespit edilmiştir [91]. Yapmış olduğumuz deneysel çalışma sonucunda ise *Salvinia natans* bitki örneklerinde Ni ve Cd metallerinin toksisitesine bakıldığında Ni ve Cu için 1 mg L⁻¹ den sonra göreceli büyüme oranlarının negatif değere düştüğü belirlenmiştir.

Leblebici ve Aksoy [92] *Spirodela polyrhiza* bitki örneklerine farklı konsantrasyonlarda nikel metaline (1, 5, 10, 20 mg L⁻¹) maruz bırakmış ve 1, 3, 5 ve 7. günlerdeki bitki

örneklerinde göreceli büyüme oranını (RGR) belirlemişlerdir. Yapılan araştırma sonucuna göre ağır metal konsantrasyonlarında artış oldukça bitkinin ağır metal akümülyasyonlarında da artış olduğunu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra göreceli büyüme oranının ağır metal konsantrasyonu ile ters bir ilişkisi olduğu sonucuna varmıştır. Sonuç olarak ağır metal konsantrasyonları arttıkça göreceli büyüme oranlarında düşüş olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışma sonucu yapmış olduğumuz deneysel çalışma sonuçlarını desteklemektedir. Artan nikel metal stresi altındaki *Salvinia natans*'ta, ağır metal akümülyasyonu artış gösterirken göreceli büyüme oranı üzerinde de olumsuz etki yaptığı belirlenmiştir. Yapmış olduğumuz bu çalışma sonuçları Leblebici ve Aksoy [92]'un yapmış olduğu çalışmaların sonucu ile uyum sağlamaktadır [92].

Uysal ve Taner'in [93] yaptıkları deneyde kadmiyum (Cd) metalinin 0.005-20.5 ppm konsantrasyonlarındaki *Lemna minor* bitki örneklerindeki büyüme hızına olan etkisi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre kadmiyum metalinin *L. minor* bitki örnekleri için toksisiteye neden olduğu ve bitkideki göreceli büyüme hızını azalttığını tespit etmişlerdir. Yapmış olduğumuz bu deneysel araştırma sonuçlarında bu bulguları desteklemektedir. 0,5-8 mg L⁻¹ konsantrasyonlarında kullandığımız kadmiyum metali *Salvinia natans* bitki türünde toksisiteye neden olarak bitkilerde göreceli büyüme oranları üzerinde olumsuz sonuçlara neden olmaktadır.

Appenroth ve arkadaşları [94] *Lemna minor* ve *Spirodela polyrhiza* ile yapmış oldukları deneyde nikel metalinin bitkilerin tilakoid sistemini yüksek derecede etkilediğini, fotosentetik pigmentlerden klorofil a ve klorofil b miktarlarında azalma tespit edilirken, karotenoid miktarlarında çok bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir [94]. Nikelin toksisitesinin reaktif oksijen türlerini değiştirdiği tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada da , 7 günlük maruziyet süresince *Salvinia natans* bitki örneklerinin nikel metali stresi altında kl a, kl b ve karotenoid miktarlarında azalmaların olduğu belirlenmiştir.

Başka bir çalışmada ise *Lemna trisulca*'da artan kadmiyum (10 µM'a kadar) ve bakır (50 µM'a kadar) konsantrasyonlarının etkisinde oluşan çeşitli fizyolojik sonuçlar araştırılmıştır. *Lemna trisulca* bitki örneklerindeki artan kadmiyum konsantrasyonlarına karşı fotosentetik pigment miktarlarında önemli değişiklikler olmadan tolere edebilirken, 25 ve 50 µM bakır konsantrasyonlarında bitkide pigment degradasyonu

tespit edilmiştir. Kadmiyum metalinin esas etkilediği prosesler ise , net fotosentez ve toplam gaz değişimi iken bakır metalii, klorofil a ve karotenoid miktarlarının düşmesine ve fotosistemII'nin bozulmasına bağlı olarak net fotosentezi ve toplam gaz değişimi inhibe etmiştir. Kadmiyum etkisinde 7 ve 8 kda ağırlığında iki polipeptit sentezi belirlenmiş, bakır etkisinde herhangi bir ekstra protein sentezi olmadığı tespit edilmiştir [95].

Mangan ve nikel ağır metallerinin *Lemna gibba* bitki örneklerindeki fizyolojik etkileri ve akümülyasyon oranları üzerine yapılan araştırma da; mangan ve nikel konsantrasyonlarının artışlarına paralel olarak bitki dokularında biriken ağır metallerinde atırış göstertiği tespit edilmiştir. Ayrıca nikel metaline maruz bırakılan bitki örneklerindeki toplam klorofil ve karotenoid miktarları mangan metaline maruz bırakılan bitki örneklerine göre daha fazla azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Yapmış olduğumuz araştırmada da benzer bir sonuç tespit edilmiştir. Nikel stresi altındaki *Salvinia natans* bitkisinin konsantrasyonları arttıkça akümülyasyonun da arttığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra nikel metali stresi toplam klorofil ve karotenoid mikralarında azalmalara sebep olduğu gözlenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışma bu araştırmayı desteklemektedir [96].

Pandey ve Sharma [97] yüksek dozda nikelin (500 μ M) klorofil miktarlarının azaltıklarını tespit etmişlerdir. Yapmış olduğumuz araştırmada da nikel metalinin klorofil içeriklerini önemli oranda düşürdüğü belirlenmiştir.

Phaseolus vulgaris L. fidelerinin farklı konsantrasyonlardaki Pb ve Hg metallerine maruziyeti süresince toplam klorofil içerklerinde düşüşlerin olduğu ve bu düşüşlerin sebebinin de enzimlerin inaktive olması ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [98]. Yapmış olduğumuz çalışmada da Pb konsantrasyonları 5'den 50 mg L⁻¹'e doğru arttıkça toplam klorofil miktarlarında azalma tespit edilmiştir. Pb konsantrasyonları yükseldikçe fotosentetik pigment miktarlarında azalma olduğu tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada azalmanın enzimlerin inaktive olmasıyla ilişkili olabileceği sonucunu doğrulamaktadır.

Toksik miktarda bulunan kadmiyum (Cd) metali, klorofil biyosentezinde görev yapan protoklorofil redüktaz ile aminolevulinik asit sentezini engelleyerek klorofil sentezinin azalmasına sebep olmaktadır [99].

Yu ve arkadaşları [100] aracılığıyla yapılan araştırmada artan kadmiyum metalinin uygulanmasının kl a, kl b, ve toplam kl miktarlarında azalmalara neden olduğu tespit edilmiştir. Özellikle bu durum 20 mg kg⁻¹'den fazla olan kadmiyum konsantrasyonun da önemli düzeyde etkili olduğunu belirlenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışma sonuçlarından da elde etmiş olduğumuz veriler bu belirtileri doğrulamaktadır. *Salvinia natans* 8 mg L⁻¹ konsantrasyonundaki kadmiyum ağır metalin stresinden oldukça fazla etkilemiştir.

Ceratophyllum, *Wolffia* ve *Hydrilla* bitkilerini Cd'a maruz bırakarak bitkilerdeki metal stresini, lipid peroksidasyonunu ve prolin akümüasyonlarını değerlendirildiği çalışmada; Hidrofitlerden hiçbiri kadmiyum (Cd) stresine karşı prolin akümüasyonu göstermemiştir. Cd stresi altındaki sucul makrofitlerde meydana gelen lipid peroksidasyonu düşük bulunmuştur. Bitkilerde klorofil a ve klorofil b miktarları da Cd etkisine bağlı olarak azalmıştır. Benzer bir durum araştırmamızda da tespit edilmiştir. Artan Cd konsantrasyonu kl a ve kl b miktarını azaltırken, lipid peroksidasyonu miktarını artırmış, bitkiler bu durumdan olumsuz etkilenmişlerdir [101]. Araştırmamız bu çalışmayla uyum sağlamaktadır.

Yapılan başka bir araştırmada domates fidelerinin kadmiyum metali maruziyeti sonunda antioksidan enzimler ve MDA etkisine bakılmıştır. Yapılan araştırma sonunda domates fidelerindeki kadmiyum toksistesinin, oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir. Artan kadmiyum konsantrasyonlarına bağlı olarak peroksidaz aktivitesinin hem köklerde hem de yapraklarda arttığı tespit edilmiştir. Doğada bulunan ağır metallerin bitkilerde oksidatif strese sebep olduğu lipid peroksidasyon konsantrasyonu da gösterilebilmektedir. Bitkilerdeki kadmiyum toksistesinin MDA'yı artırdığı belirlenmiştir. Bitkilerdeki ağır metallerdoğrudan yada aktif oksijen türlerini üreterek dolaylı yoldan moleküler zararlara neden olabilirler. O₂⁻ artışı yağ asitlerini toksik lipid peroksidazlara dönüştüren hidroperoksil radikallerini üretir ve böylece biyolojik membrana zarar verir [102]. Çalışmamızda *Salvinia natans* su bitkisi için lipid peroksidasyon miktarı kontrol grubunda 0,2967 nmol/g, 8 mg L⁻¹ kadmiyum

konsantrasyonunda ise 0,5483 nmol/g olarak tespit edilmiştir. Domates fideleri üzerine yapılmış olan bu çalışma yapmış olduğumuz araştırmayı desteklemektedir.

Bitkilerde ağır metal toksisitesi nükleik asit biyosentezi [103] ve DNA yapısının bozulması [104] gibi çeşitli gelişme işlevlerinde hasarlara sebep olmaktadır. Günümüzde, moleküler biyolojide meydana gelen dikkate değer ilerlemeler ve gelişmeler, DNA üzerinde meydana gelen hasarların tespitine imkan kılmıştır [64]. Moleküler biyolojideki bu gelişmelerden biri olan belirteç sistemleri içinde yer alan RAPD, ISSR ve AFLP gibi parmak izi tarama yöntemleri, ağır metal stresi gibi çevresel etkilerin DNA üzerinde meydana getirdiği değişimlerin belirlenmesinde sürekli kullanılmaktadır [105, 106]. DNA hasarının tespitinde ISSR belirteçlerinin kullanılmasının pek çok avantajı vardır; radyoaktif değildir, az miktarda DNA yeterlidir, aynı anda birçok örnekle çalışmak mümkündür, ekonomiktir ve hızlı bir tekniktir.

Farklı ağır metal stresi uygulanan örneklerde ISSR profillerinde bulunan bant panterindeki farklılıklar en fazla ISSR A ve UBC 834 primerlerinde görülmüştür. ISSR profillerinde meydana gelen bant modifikasyonları yani var olan bant kaybı ve/veya yeni bant oluşumu bir yada daha fazla durumların bir araya gelmesinden kaynaklana bilir. Bu durumlar aşağıda sırasıyla verilmiştir.

1. Ağır metal stresine bağlı olarak fidelede oksidatif DNA hasarı sonucu primerlerin kalıp DNA üzerindeki bağlanma bölgelerinde meydana gelebilecek değişimler sonucunda eski bağlanma bölgeleri yok olabilir. Bunun yanı sıra, daha büyük ya da küçük bir amplifiye ürün verecek yeni bir bağlanma bölgesi oluşabilir.
2. Oksidatif DNA hasarı sonucu tek ya da çift iplik kırıklarına bağlı olarak primer bağlanma bölgeleri yok olabilir ve bant kayıpları yaşanabilir.
3. Hücre içi artan metal yoğunluğu; nükleik asitlerin metal iyonları ile reaksiyonu sonucu oligomer veya monomerlerin bozulmasına ve yanlış baz eşleşmeleri gibi etkilere neden olarak bant kayıplarına neden olabilir.

Ağır metallerle kontamine olmuş alanların fitoremediasyonu için uygun tür veya çeşitlerin geliştirilmesinde metal toleransı ile ilgili moleküler mekanizmaların ve genetik temellerin aydınlatılmasının önemli olduğu vurgulanmıştır [104, 107]. Bu

temellerin aydınlatılmasında şüphesiz ilk olarak ağır metal stresinin farklı bitki türleri üzerinde oluşturdıkları genotoksisite düzeylerinin tespit edilmesi yatmaktadır. Stres faktörlerinin tolerans düzeylerinin genomik düzeyde tespit edilmesi gelecekte yapılacak olan biyoteknolojik çalışmalar açısından önemlidir [108].

Sonuç olarak gerçekleştirilen bu çalışmada; Kurşun (Pb), Kadmiyum (Cd), Arsenik (As), Krom (Cr), Nikel (Ni) ve Bakır (Cu) ağır metallerinin *Salvinia natans* (L.) All. (su eğreltisi) üzerinde strese neden olduğu ve oluşan genotoksisite sonucunda bitkilerin büyüme oranınsa fotosentetik pigment miktarında düşüş meydana geldiği gözlenmiştir. *Salvinia natans* bitkisine ait ISSR profillerindeki bant modifikasyonlarının, ağır metal stresinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Bu durum, çalışmada seçilen, özellikle ISSR A ve UBC 834, ISSR primerlerinin genotoksik değerlendirmede uygun kullanıma sahip primerler olduğunu ortaya koymaktadır.

Yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlara göre;

- Ağır metallerin yüksek konsantrasyonlarının *Salvinia natans* bitkisinin büyümesine, fotosentetik pigment miktarlarına ve lipid peroksidasyonu üzerine olumsuz yönde etki ettiği, bitkide strese sebep olduğu,
- Ağır metallerin *Salvinia natans* tarafından alınımının ve bu bitki üzerinde oluşturdıkları etkinin farklılık gösterdiği,
- Ağır metalleri bünyelerinde tutabilme özelliğine sahip olduğu için bu bitkinin iyi bir biyolojik indikatör olduğu,
- Ağır metallerle kirlenmiş alanlarda *Salvinia natans* bitkisinin bitkisel artım (fitoremediasyon) amaçlı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.
- Ağır metal etkisinin bitkiler üzerinde meydana getirdiği genotoksik hasarın belirlenmesinde ISSR yöntemi güçlü metotlardan biri olduğu için, bu sayede ISSR yöntemi ile *Salvinia natans* türünde Pb, Cd, As, Cr, Ni ve Cu ağır metallerinin genotoksik etkisi hassas bir şekilde incelenebilmiştir. Ağır metallere maruz kalan farklı bitkilere ait genomik çalışmalara az rastlanılmaktadır. Gelecekte yapılacak olan farklı araştırmalarda, ağır metal uzaklaştırılması ve toleransı mekanizmaların aydınlatılmasında, hiperakümülatör bitki, fitoremediasyon ve metal stres toleranslı bitkilerin belirlenmesi kapsamında genomik çalışmaların yapılması önemli veriler sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Wong, P. K., Kwok, S. C., “Accumulation Of Nickel İon (Ni+2) By İmmobilized Cells Of *Enterobacter Epecies*”, *Biotechnology Letters*, 14 (7), 629-634, 1992.
2. Özdemir, K., “ Meyve Suyu Fabrikası Atıksularının Elektrokimyasal Olarak Arıtılması, *Fen Bilimleri Enstitüsü*” , *Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi*, 81s. Ankara, 2005.
3. Özer. A., Özer, D., “ Nikel (II) İyonlarının İki Kademli Kesikli Kaptaki *Clodophora crispata* İle Giderilmesi” , *Turk. J. Eng. Environ. Sci.*, 22: 305- 313, 1998.
4. Wilde, E. W., Beneman, J. R., “Bioremoval Of Heavy Metals By The Use Of Microalgae”, *Biotechnol. Adv.*, 11: 781-812, 1993.
5. Arshad, M., Silvestre, J., Pinelli, E., Kallerhoff, J., “Kaemmerer, M. ve Tarigo, A., A Field Study of Lead Phytoextraction by Various Scented Pelargonium Cultivars”, *Chemosphere*, 71, 2187-2192, 2008
6. Shi, W.Y., Shao, H.B., Li, H., Shao, M.A. ve Du, S. “Co-Remediation of the Lead Polluted Garden Soil by Exogenous Natural Zeolite and Humic Acids”. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 136-140, 2009.
7. Clemens, S., “Toxic Metal Accumulation, Responses to Exposure and Mechanisms of Tolerance in Plants”, *Biochimie*, 88, 1707-1719, 2006.
8. Brooks, R.R., “General Introduction. In: Brooks, R.R. (ed.). Plants That Hyperaccumulate Heavy Metals: Their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining”, *CAB International*, New York, pp. 1–14, 1998.
9. Markert, B., “Plants as Biomonitors Indicators For Heavy Metals İn The Terrestrial Environment”, *VCH Publisher, Weinheim*, 1993.
10. Stankovic, Z. et al., “Concentrations Of Trace Metals İn Dominant Aquatic Plants Of The Lake Provala”, *Biologia Plantarum*, 43, 583-585, 2000.
11. Chaney, R.L., Angle, J.S., McIntosh, M.S., Reeves, R.D., Li, Y.M., Brewer, E.P., Chen, K.Y., Roseberg, R.J., Perner, H. ve Synkowski, E.C., “Using Hyperaccumulator Plants to Phytoextract Soil Ni and Cd.”, *Zeitschrift Naturforschung*, 60, 190-198, 2005.

12. Meyers, B., Zaitsman, A., Lacroix, B., Kozlovsky, S.V. ve Krichevsky, A., “Nuclear and Plastid Genetic Engineering of Plants: Comparison of Opportunities and Challenges”, *Biotechnology Advances*, 6, 747-756, 2010.
13. Clemens, S., Palmgren, M.G. ve Kramer, U., “A Long Way Ahead: Understanding and Engineering Plant Metal Accumulation”, *Trends in Plant Science*, 7, 309- 315, 2002.
14. İnternet: TMMOB Metalurji Mühendisleri Odası “Metallerin Çevresel Etkileri”, http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf.
15. European Commission DG ENV., “Heavy Metals in Waste”, *E3 Project ENV.E.3/ETU/2000/0058*, Danimarka, 2002.
16. Urano, K., Kurihara, Y., Seki, M. and Shinozaki, K., ““Omics’ Analyses of Regulatory Networks in Plant Abiotic Stress Responses”. *Current Opinion in Plant Biology*, 13, 132-138, 2010.
17. Bobak, M., “Ultrastructure Changes of The Nucleus and Its Components in Meristematic Root Cells of The Horse-Bean After Zinc Intoxication”, *Plant Physiology*, 15, 31–36, 1985.
18. Khurana, N., Chatterjee, C., “Influence of Variable Zinc on Yield, Oil Content and Physiology of Sunflower”, *Communications Soil Science and Plant Analysis*, 32, 3023-3030, 2001.
19. Özbek, T., “Toprak Bilimi”, *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak.*, No:458, Adana. 225, 1993.
20. Bekiaroglou, P., Karataglis, S., “The Effect of Lead and Zinc on *Mentha Apicata*”, *Journal of Agronomy Crop Science*, 188 (3), 201-205, 2002.
21. Vural, N., “Toksikoloji”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, s. 1-20, Ankara, 2005.
22. Saygıdeğer, S., “*Lycopersicum esculentum* L. Bitkisinin Çimlenmesi ve Gelişimi Üzerine Kurşunun Etkileri”, *II. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi*, s. 588-597, Ankara, 1995.
23. Kalinowska, A., “Lead Concentration in the slug *Arion rufus* from sites at the different distances from a tourist road”, *Ecological Bulletins*, 36, 46, 1984.
24. Mark, K. F., Hendershot, H., “Trace metals in montreal urban soils and the leave of *Taraxacum officinale*”, *Canadian Journal of Soil Science*, 79, 385-387, 1997.

25. Aksoy, A., “Kayseri-Kırşehir karayolu kenarında yetişen bitkilerde ağır metal kirlenmesi”, *II. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi*, s. 1-8, Kayseri, 1995.
26. Dürüst, N., ve ark., “Heavy metal contents of *Pinus radiata* trees of İzmit (Turkey)”, *Asian Journal of Chemistry*, 16 (2), 1129-1134, 2004.
27. Sharma, P., Dubey, R. S., “Lead toxicity in plants”, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17 (1), 35-52, 2005.
28. Kaçar, B., Katkat, A.V., “Bitki Besleme”, *Nobel Yayınları*, Ankara, 2006.
29. Özbek, H., ve ark., “Toprak Bilimi”, *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayını*, Adana, 1995.
30. Mishra, D., Kar, M., “Nickel in plant growth and metabolism”, *Botanical Review*, 40, 395-452, 1974.
31. Marschner, H., “Mineral nutrition of higher plants”, *Academic Press*, London, 1995.
32. Prasad, M.N.V., “Trace Elements as contaminants and nutrients: Consequences in ecosystems and human health”, *Wiley Publication*, pp 31-32, 2008.
33. Dunand, V. F., et al., “Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants”, *Plant Science*, 163, 53-58, 2002.
34. World Health Organization, “Environmental health criteria 134- Cadmium, Geneva”, *WHO*, 1992.
35. Haktanır, K., “Çevre Kirliliği”, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notu*, s. 140, 1987.
36. Salt, D., et al., “Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard”, *Plant Physiology*, 109, 1427-1433, 1995.
37. Kimbrough, D. E., et al., “A Critical Assessment of Chromium in the Environment”, *Critical Reviews in Environmental Science Technology*, 29, 1-46, 1999.
38. Tok HH, “Çevre Kirliliği”, *Anadolu Matbaacılık*, İstanbul, 1997.
39. Kacar B ve İnal A, “Bitki Analizleri”, *Nobel Yayınları* No: 1241, 2008.
40. Özdemir, F., “İçme Sularından Arsenik Giderimi”, *Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya Üniversitesi, Nisan, 2010
41. Markert, B., “Plants as Biomonitors indicators for heavy metals in the terrestrial environment”, *VCH Publisher, Weinheim*, 1993.
42. Uthus, E.O., Seaborn, C.D., “Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for dietary recommendations of the other trace elements”, *J. Nutr* 126: 2452-2459, 1996.

43. Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar Nanda, P.B.A., Dushenkov, V., Ensley, B.D., Chet, I. ve Raskin, I., "Phytoremediation: A Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals From the Environment Using Plants", *Bio/Technology*, 13, 468-474, 1995.
44. Glass, D.J., "The 2000 Phytoremediation Industry. Glass Associates," Needham, MA, 2000.
45. Yalçın, V., "Bazı Ağır Metallerin (Pb, Cd, Ni) Sucul Bitkiler (*Salvinia natans*, *Lemna minor*) Üzerinde Yaptığı Stres ve Biyolojik Yanıtlar", *Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü*, Nevşehir, 2014.
46. Arshad, M., Silvestre, J., Pinelli, E., Kallerhoff, J., Kaemmerer, M. ve Tarigo, A., "A Field Study of Lead Phytoextraction by Various Scented Pelargonium Cultivars", *Chemosphere*, 71, 2187-2192, 2008.
47. Brooks, R.R., "General Introduction. In: Brooks, R.R. (ed.). Plants That Hyperaccumulate Heavy Metals: Their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology", *Mineral Exploration and Phytomining. CAB International, New York*, pp. 1-14, 1998.
48. Brun, L.A., et al., "Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soil", *Environmental Pollution*, 111, 293-302, 2001.
49. Botstein, D., White, R., Skolnick, M. and Davis, R.W., "Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms", *Am. J. Of Human Genetic*, 32; 314-331, 1980.
50. Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V., "DNA Polimorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers", *Nucl. Acids Res.*, 18, 6531-6535, 1990.
51. Rafalski, A., Morgante, M., Powell, W., Vogel, J.M. and Tingey, S.V., "Generating and Using DNA Markers in Plants. In: Birren B., Lai E. (Eds.): Analysis of Non-Mammalian Genomes - A Practical Guide", *Academic Pres.*, New York, 1996.
52. Lowe, A.J., Hinotte, O. and Guarino, L., "Standardization of Molecular Genetic Techniques for The Characterization of Germplasm Collections: The Caase of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD).", *Plant Genetic Resources Newsletter*, 107,50-54, 1996.

53. Zietkiewicz, E., Rafalski, J.A. & Labuda, D., "Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification.", *Genomics* 20: 176–183, 1994.
54. 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. Genetics*, 89: 998-1006, 1994.
55. Reddy, M.P., Sarla, N. & Siddiq, A., "Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding", *Euphytica* 128: 9–17, 2002.
56. Bornet, B. & Branchard, M., "Nonanchored inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting.", *Plant Mol Biol Reporter* 19: 209–215, 2001.
57. Wang, Mahalingan, G., R. & Knap, H.T., "(C-A) and (GA) anchored simple sequence repeats (ASSRs) generated polymorphism in soybean, *Glycine max* (L.) Merr", *Theor Appl Genet* 96: 1086–1096, 1998.
58. Nagaoka, T. and Ogihara, Y., "Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers", *Theor Appl Genet* 94: 597-602, 1997.
59. Blair, M.W., Panaud, O. & McCouch, S.R., "ISSR amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.)", *Theor Appl Genetics* 98: 780–792, 1999.
60. Fernandez, M.E., Figueiras, A.M. & Benito, C., "The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin.", *Theor Appl Genetics* 104: 845–851, 2002.
61. Kantety, R.V., Zeng, X.P., Bennetzen, J.L. & Zehr, B.E., "Assessment of genetic diversity in Dent and Popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification.", *Mol Breed* 1: 365–373, 1995.
62. Iruela, M., Rubio, J., J.I. Cubero, Gil, J. & Millán, T., "Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers." *Theor Appl Genet* 104: 643–651, 2002.
63. Matos, M., Pinto-Carnide, O. & Benito, C., "Phylogenetic relationships among Portuguese rye based on isozyme. RAPD and ISSR markers", *Hereditas* 134(3): 229–236, 2001.

64. Prevost, A. & Wilkinson, M.J., "A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars", *Theor Appl Genet* 98: 107–112, 1999.
65. Leblebici, Z., Aksoy, A. and Duman, F., "Influence of nutrient addition on growth and accumulation of cadmium and copper in *Lemna gibba*", *Chemical Speciation and Bioavailability*, 22 (3), 157-164, 2010.
66. Hou, W., et al., "Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*L. minor*)", *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 62-69, 2007.
67. Seth, S.C., Chaturvedi, P.K., Mishra, V., "Toxic effect of arsenate and cadmium alone and in combination on giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza* L.) in response to its accumulation", *Environmental Toxicology*, 10, 539-549, 2007.
68. Duman, F., Leblebici, Z., Aksoy, A., "Bioaccumulation of nickel, copper, and cadmium by *Spirodela polyrhiza* and *Lemna gibba*", *Journal of Freshwater Ecology*, 24, 177-179, 2009
69. Dhir , B. et al., "Physiological and antioxidant responses of *Salvinia natans* exposed to chromium-rich wastewater", *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 (2009) 1790–1797
70. Mohan, B., S., and Hosetti , B., B., "Phytotoxicity of cadmium on the physiological dynamics of *Salvinia natans* L. grown in macrophyte ponds", *Journal of Environmental Biology*, October 2006, 27(4) 701-704 (2006)
71. Srivastav, R. K., et al., "Treatment of chromium and nickel in wastewater by using aquatic plants", *Water Research*, 28 (7), 1631-38, 1994.
72. Soudek, P., Katrusakova, A., Sedlacek, L., Petrova, S., Koci, V., Marsik, P., Griga, M., Vanek, T., "Effect of heavy metals on inhibition of root elongation in 23 cultivars of flax (*Linum usitatissimum* L.)", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 59 , 194–203, 2010.
73. Zengin, F. K. ve Munzuroğlu, O., "Effect of lead and copper (Cu) on the growth of root, shoot and leaf of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings", *G.U. Journal of Science*, 17, 1-10, 2004.
74. Menke, M., Chena, P., Angelis, K. J. and Schubert, I., "DNA damage and repair in *Arabidopsis thaliana* (L.) as measured by the comet assay after treatment with different classes of genotoxins", *Mutation Research*, 493, 87–93, 2001.

75. Körpe, D. A. ve Aras, S., "Evaluation of copper-induced stress on eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings at the molecular and population levels by use of various biomarkers", *Mutat. Res.*, 719, 29-34, 2011.
76. Criado, M. N., et al., "Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and caretenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars", *Food Chemistry*, 100 (2), 748-755, 2005.
77. Witham, F. H., Blaydes, D. F., Deulin, R. M., "Experiments In Plant Physiology", *Van Nostrand Reinhold Company*, s. 245, New York, 1971.
78. Heath, R. L., Packer, L., "Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 25, 189-198, 1968.
79. APHA, "Standard methods for the examination of water and wastewater", *American Public Health Association*, New York, s. 1268, 1998.
80. Loneragan, J., Webb, M., "Interactions between zinc and other nutrients affecting the growth of plants. In:Robson, A. (Ed.), Zinc in soils and plants.", *Kluwer, Dordercht*, pp.119-131, 1993.
81. Leblebici, Z., Aksoy, A. and Duman, F., "Influence of salinity on the growth and heavy metal accumulation capacity of *Spirodela polyrhiza* (Lemnaceae)", *Turkish Journal of Biology*, 35 (2), 215-220, 2011.
82. Megateli, S., Semsari, S., Couderchet, M., "Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1774-1780, 2009.
83. Cardwell, A., Hawker, D., Greenway, M., "Metal accumulation in aquatic macrophytes from Southeast Queensland. Australia", *Cheomosphere*, 48, 653-663, 2002.
84. Rahmani, G.N.H., Sternberg, S.P.K., "Bioremoval of lead from water using *Lemna minör*", *Bioresource Technology*, 70, 225-230, 1999.
85. Duman, F., Leblebici, Z. and Aksoy, A., "Growth and bioaccumulation characteristics of watercress (*Nasturtium officinale* R. BR.) exposed to cadmium, cobalt and chromium", *Chemical Speciation and Bioavailability*, 21(4) 257-265, 2009.

86. Doncheva, S., Nikolov, B. and Ogneva, V., “Effect of excess copper on the morphology of the nucleus in maize root meristem cells”, *Physiologia Plantarum*, 96, 1, 118-122, 1996.
87. Doyle JJ, Doyle JL, “Isolation of plant DNA from fresh tissue”, *Focus* 12: 13-15, 1990.
88. Drost, W., Matzke, M., Backhaus, T., “Heavy metal toxicity to *L. minor*: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure”, *Chemosphere*, 67, 36-43, 2007.
89. Sadık, Ç.S., Doğanlar, B.Z., “Yanık, Telat., Mangan ve Nikel Uygulaması Yapılan *Lemna gibba* (Lemnaceae) Bitkisinde Metal Alınımı ve Bazı Fizyolojik Değişimler”, *21. Ulusal Biyoloji Kongresi, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye*, 528, 3-7 Eylül, 2012.
90. Leblebici, Z. and Aksoy, A., “Growth and heavy metal accumulation capacity of *Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza* (Lemnaceae): Interactions with nutrient enrichment”, *Water Air and Soil Pollution*, 214, 175-184, 2011.
91. Uysal, Y., Taner, F., *Lemna minor* L., “Kurşun ve Kadmiyum İçeren Sularda Büyüme Hızının Zamanla Değişimi ve Metal Akümülayonu”, *X. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Çanakkale*, 84, 4-7 Ekim, 2011.
92. Appenroth, K.J., et al., “Effects of nickel on the chloroplasts of the duckweeds *Spirodela polyrhiza* and *Lemna minor* and their possible use in biomonitoring and phytoremediation”, *Chemosphere*, 78, 216-223, 2010.
93. Prasad, D.D.K., Prasad, A.R.K., “Effect of lead and mercury on chylorophyll synthesis in mung bean seedlings”, *Phytochemistry*, 26 (4), 881-88, 1987.
94. Betrand, M., Poirier, I., “Photosynthetic organisms and excess of metals”, *Photosynthetica*, 43, 345-353, 2005.
95. Pandey, N., Sharma, CP., “Effect of heavy metals Co^{+2} , Ni^{+2} and Cd^{+2} on growth and metabolism of cabbage”, *Plant Science*, 163, 753-758, 2002.
96. Zengin, K.F., Munzuroğlu, Ö., “Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. Strike) Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Bazı Ağır Metallerin (Ni^{+} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Zn^{+2}) Etkileri”, *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17 (1), 164-172, 2005.

97. Hassan, M.J., Shao, G., Zhang, G., "Influence of Cadmium Toxicity on Growth and Antioxidant Enzyme Activity in Rice Cultivars with Different Grain Cadmium Accumulation", *Journal of Plant Nutrition*, 28 (7), 1259-1270, 2005.
98. Yu, F., et al., "Effects of Cadmium on Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidative Defences of Rice (*Oryza sativa* L.)", *International Journal of Phytoremediation*, 15 (6), 513-521, 2013.
99. Dhir, B., Sharmila, P., Saradhi, P.P., "Hydrophytes Lack Potential to Exhibit Cadmium Stress Induced Enhancement in Lipid Peroxidation and Accumulation of Proline", *Aquatic Toxicology*, 66, 141-147, 2004.
100. Dong, J., Wu F., Zhang, G., "Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*)", *Chemosphere*, 64 (10), 1659-1666, 2006.
101. Eichhorn, G. L., Butzow, J. J., Shin, Y. A., "Some effects of metal ions on DNA structure and genetic information transfer", *Suppl. J. Biosci.*, 8, 3, 4, 527-535, 1985.
102. Cobbett, C.S., "Phytochelatins: biosynthesis and function in heavy-metal detoxification", *Current Opinion in Plant Biology*, 3, 211-216, 2000.
103. Mengoni, A., Gonnelli, C., Galardi, F., Gabbriellini, R., Bazzicalupo, M., "Genetic diversity and heavy metal tolerance in populations of *Silene paradoxa* L. (Caryophyllaceae): a random amplified polymorphic DNA analysis", *Molecular Ecology*, 9, 1319-1324, 2000.
104. Muller, L.A.H., Lambaerts, M., "Vangronsuelde, J., Colpaert, J.V., AFLP-based assessment of the effects of environmental heavy metal pollution on the genetic structure of Pioneer populations of *Suillus luteus*", *New Phytologist*, 164, 297- 303, 2004.
105. Rascio, N. and Navari-Izzo, F., "Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting?", *Plant Science*, 180, 169-181, 2011.
106. Robert J. B, *Genetics: analysis & principles* - 4th ed., 868 p, 2011

ÖZGEÇMİŞ

Sümeyye YILMAZ 1992 yılında Ankara 'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Ankara'da tamamladı. 2010 yılında Ankara Halide Edip Lisesi'nden mezun oldu. 2010- 2014 yılları arasında Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. 2014 yılında Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başlamış olup, öğrenimi halen devam etmektedir.

Adres: Serhat Mah. Anılar Sit. 1304. Sok. No:17/6
Yenimahalle/ANKARA
Telefon: 0 544 402 10 32
e-posta: smyyilmz0@gmail.com

