



**VERMİKOMPOSTUN GENOTOKSİK VE ANTİGENOTOKSİK
ETKİLERİNİN BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜNDE ALLIUM TESTİ İLE
İNCELENMESİ**

Busenaz TUNCAY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Busenaz TUNCAY

...../...../.....

VERMİKOMPOSTUN GENOTOKSİK VE ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜNDE ALLIUM TESTİ İLE İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Busenaz TUNCAY

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2021

ÖZET

Vermikompost, çeşitli organik atıkların solucanlar tarafından besleyici "organik gübrelere" dönüştürülmesi amacıyla yapılan vermikültür çalışmaları sonucunda elde edilmektedir. Doku kültürü, besleyici kültür ortamı ve bitki hücrelerinin, dokularının ve organlarının büyümesi için kontrollü aseptik koşullar ile gerçekleştirilir. Bu çalışmada solucan gübresinin 24 ve 48 saatlik uygulama süresince doku kültüründe Allium testi ile genotoksik ve antigenotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Kök uçlarına üç farklı protokol uygulanmıştır; 1) *A. cepa* kök uçları, genotoksik potansiyeli belirlemek için 24 ve 48 saat boyunca 0, 5000, 10000, 20000, 40000 ve 80000 µg/mL konsantrasyonlarda vermikompost ile muamele edilmiştir. 2) *A. cepa* kök uçları, antigenotoksik potansiyellerini belirlemek için 23 ve 47 saat boyunca aynı konsantrasyonlarda vermikompost ve son 1 saat boyunca H₂O₂ ile muamele edilmiştir (ön muamele). 3) *A. cepa* kök uçları da ilk 1 saat H₂O₂ ile ve ardından aynı konsantrasyonlarda vermikompost ile 23 ve 47 saat boyunca muamele edilmiştir (geç muamele). Sonuç olarak, neredeyse tüm vermikompost konsantrasyonları, negatif kontrole kıyasla 24 (5000 ve 20000 µg / mL hariç) ve 48 saatlik uygulamalarda mitotik indeksi (Mİ) önemli ölçüde artırmıştır. Ek olarak, vermikompost uygulaması mitotik anormallikleri önemli ölçüde artırmamıştır. Antigenotoksisite test protokolünde, vermikompostun ön ve geç muamelelerinde tüm konsantrasyonlar, her iki muamele süresinde de kök ucu hücrelerinde mitotik indeksi artırmıştır. Dahası, vermikompostun ön ve geç muamelelerinde tüm konsantrasyonlar, H₂O₂'in neden olduğu mitotik anormalliklerin sıklığını azaltmıştır. Bu sonuçlar, vermikompostun tek başına genotoksik etkilere neden olmadığını ve H₂O₂'e karşı koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma, geleneksel tarımda yaygın olarak kullanılan vermikompostun genotoksik kimyasallara karşı antigenotoksik potansiyelini ortaya koymuştur. Ayrıca vermikompostun doku kültürü koşullarında kullanılabileceğini gösteren ilk araştırmadır.

Bilim Kodu : 20316
Anahtar Kelimeler : Genotoksisite, antigenotoksisite, vermikompost, Allium testi, bitki doku kültürü
Sayfa Adedi : 94
Danışman : Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU
İkinci Danışman : Doç. Dr. Çiğdem Alev ÖZEL

THE EXAMINATION OF THE GENOTOXIC AND ANTIGENOTOXIC EFFECTS OF
VERMICOMPOST AT PLANT TISSUE CULTURE WITH ALLIUM TEST

(M. Sc. Thesis)

Busenaz TUNCAY

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2021

ABSTRACT

Vermicompost is obtained as a result of vermiculture studies carried out to turn various organic wastes into nutritious "organic fertilizers" by worms. Tissue culture performed with the nutritious culture medium and controlled aseptic conditions for the growth of plant cells, tissues, and organs. This study aimed to investigate the genotoxic and antigenotoxic effects of vermicompost during 24 and 48 hours on Allium test in tissue culture. Three different protocols were applied to the root tips; 1) *A. cepa* root tips were treated with 0, 5000, 10000, 20000, 40000 and 80000 µg/mL of vermicompost for 24 and 48 hours to determine its genotoxic potential. 2) *A. cepa* root tips were treated with the same concentrations of vermicompost for 23 and 47 hours and H₂O₂ for the last 1 hour to determine their antigenotoxic potential (pretreatment). 3) *A. cepa* root tips were also treated with the H₂O₂ for the first 1 h and then same concentrations of vermicompost for 23 and 47 hours in the presence (post-treatment). As a result almosts all concentrations of vermicompost were significantly increased the mitotic index (MI) at 24 h (except 5000 and 20000 µg / mL) and 48 h treatments compared with the negative control. In addition, vermicompost treatments did not significantly increase the mitotic abnormalities. In antigenotoxicity test protokol, all the concentrations of pre- and post-treatment of vermicompost increased the frequency of MI in root tip cells at both treatment periods. Furthermore all the concentrations of pre- and post-treatment of vermicompost decreased the frequency of mitotic abnormalities induced by H₂O₂. These results show that while vermicompost treatment alone does not induce genotoxic effects, and vermicompost revealed protective effect against H₂O₂. This study indicated antigenotoxic potential of vermicompost, which has been extensively used in traditional agriculture, against genotoxic chemicals. This is the first research indicating that vermicompost can be used in tissue culture conditions

Science Code : 20316

Key Words : Genotoxicity, antigenotoxicity, vermicompost, Allium test, plant tissue culture

Page Number : 94

Supervisor : Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU

Co-Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Çiğdem Alev ÖZEL

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince her konuda beni destekleyen, tecrübesi, bilgileri ve önerileri ile beni yönlendiren danışman hocalarım sayın Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU'a ve sayın Doç. Dr. Çiğdem Alev ÖZEL'e içten teşekkürlerimi sunarım. Bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Fatma ÜNAL'a ve genetik laboratuvarında çalışan lisansüstü eğitim öğrencisi arkadaşlarıma katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim. Eğitim sürem bir kısmında teknik editör olarak çalışmış olduğum Gazi Journal of Science dergisinin sayın yönetici editörleri Doç. Dr. Bayram ÇEKİM, Doç. Dr. Murat DENER ve Doç. Dr. Tarık ASAR hocalarıma bilgi, tecrübe ve önerilerini benden eksik etmedikleri için teşekkür ederim. Çalışma kapsamında kullanmış olduğum vermikompostun teminini sağlayan Ankara Solucan Firması'na, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümdeki kıymetli hocalarıma ve Fen Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına katkılarından ve desteklerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca destek, sevgi ve inançlarını benden esirgemeyen kıymetli annem Ruhan TUNCAY'a, babam Cahit TUNCAY'a, ablam Buket Nadide KÖZ'e, abim Ahmet KÖZ'e ve teyzelerim Songül ÇINAR SEYİS ve Evşen KILIÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Son olarak her zaman yanımda olup cesaretlendiren arkadaşlarım Ayşe Aysun SAVCI'ya, Derya KIZILKAYA'ya ve kuzenim İremnaz KILIÇ'a teşekkür ederim.

Bu tez 05/2020-01 nolu BAP projesi ile desteklenmiştir. Katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bitki Biyoteknolojisi	3
2.1.1. Bitki doku kültürü	3
2.1.2. Bitki biyoteknolojisinin tarihçesi	4
2.1.3. Bitki doku kültürü hazırlama yöntemi	6
2.1.4. Bitki doku kültürünün avantaj ve dezavantajları	8
2.2. Toprağın Bileşenleri.....	8
2.3. Kompost Solucanlar	11
2.4. Vermikompost ve Vermikompostlama	13
2.4.1. Kimyasal gübrelemenin verimikompostlama ile kıyaslanması.....	15
2.4.2. Vermikompostta hümitik asidin rolü.....	16
2.4.3. Vermikompost ile üretilen bitkilerden elde edilen parametreler	19
2.4.4. Vermikompostun direkt ve dolaylı etkileri	20
2.5. Genotoksisite ve Antigenotoksisite.....	20
2.5.1. Bitki test sistemleri.....	25

	Sayfa
2.5.2. Allium testi.....	25
2.5.3. Vermikompost ile gerçekleştirilen genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmaları	27
3. MATERİYAL METOT	31
3.1. Materyal	31
3.1.1. Bitki materyali.....	31
3.1.2. Kullanılan test materyalleri	31
3.1.3. Sıvı vermikompost	31
3.2. Metod	33
3.2.1. Çalışmada kullanılacak konsantrasyonların belirlenmesi	33
3.2.2. Test materyallerinin hazırlanması	34
3.2.3. Sterilizasyon.....	36
3.2.4. <i>Allium cepa</i> 'nın köklendirilmesi.....	38
3.2.5. Test materyallerinin <i>Allium cepa</i> 'ya uygulanması.....	39
3.2.6. Kök uçlarının alınması	42
3.2.7. Preparatların hazırlanması.....	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	45
4.1. Ön Deneme Sonuçları	45
4.2. Vermikompostun Genotoksisite Uygulamalarında Mitotik İndeks ve Mitotik Faz Frekanslarına Etkileri	45
4.2.1. Genotoksisite uygulamaları.....	45
4.2.2. Vermikompostun genotoksisite uygulamalarında gözlenen mitotik anormallik tipleri ve oranları.....	48
4.3. Vermikompostun Antigenotoksisite Uygulamalarında Mitotik İndeks ve Mitotik Faz Frekanslarına Etkileri	52
4.3.1. Antigenotoksisite 24 saat ön muamele ve geç muamele uygulamaları	52
4.3.2. Antigenotoksisite 48 saat ön muamele ve geç muamele uygulamaları	54

Sayfa

4.3.3. Vermikompostun antigenotoksisite uygulamalarında neden olduğu mitotik anormallik tipleri ve oranları	56
5. TARTIŞMA	63
KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ	93



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bitki biyoteknolojisinin tarihsel gelişim süreci	5
Çizelge 2.2. Bitki doku kültürlerinde kullanılan besiyerleri ve genel özellikleri	6
Çizelge 2.3. Bitki doku kültürünün avantaj ve dezavantajları	8
Çizelge 2.4. Verimli bir toprakta bulunan tahmini canlı tür sayısı ve ağırlıkları	10
Çizelge 2.5. Vermikompostun bileşimi	15
Çizelge 2.6. Vermikomposttan üretilen hümmik asitlerin çeşitli bitkilere uygulanması sonucu elde edilen parametreler	19
Çizelge 2.7. Genotoksisite ve antigenotoksisite uygulamalarında kullanılan bitki materyalleri	25
Çizelge 3.1. MS temel besin ortamında bulunan besin maddeleri ve konsantrasyonları	36
Çizelge 4.1. Ön denemede elde edilen mitotik indeks değerleri.....	45
Çizelge 4.2. Vermikompost uygulanmış <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik faz frekanslar	46
Çizelge 4.3. Vermikompostun genotoksik etkilerinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları (24-48 saat)	49
Çizelge 4.4. Vermikompostun ön muamele ve geç muamele uygulamalarında <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik faz frekansları (24 saat)	53
Çizelge 4.5. Vermikompostun ön muamele ve geç muamele uygulamalarında antigenotoksik etkilerinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik faz frekansları (48 saat)	55
Çizelge 4.6. Vermikompostun ön muameleme ve geç muamele uygulamalarında antigenotoksik etkilerinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları (24 saat)	58
Çizelge 4.7. Vermikompostun ön muameleme ve geç muamele uygulamalarında antigenotoksik etkilerinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları (48 saat)	60
Çizelge 4.8. Vermikompost uygulamasının <i>Allium cepa</i> kök ucu hücreleri üzerine etkilerinin genel görünümü.....	62

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Besin ortamının temel içerikleri	7
Şekil 4.1. Vermikompost uygulaması sonucunda <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde mitotik indeks değişiklikleri	47
Şekil 4.2. Vermikompostun farklı konsantrasyonlarda genotoksik etkisinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik ve oranları	50
Şekil 4.3. Vermikompostun 24 saatlik antigenotoksisite uygulaması sonucunda <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde mitotik indekste değişiklikler.....	54
Şekil 4.4. Vermikompostun 48 saatlik antigenotoksisite uygulaması sonucunda <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde mitotik indekste değişiklikler.....	56
Şekil 4.5. Vermikompostun farklı konsantrasyonlarda antigenotoksik etkinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik oranları.....	59
Şekil 4.6. Vermikompostun farklı konsantrasyonlarda antigenotoksik etkinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları	61

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Sağlıklı bir toprağın bileşenleri	9
Resim 2.2. <i>Eisenia fetida</i>	11
Resim 2.3. Stevenson'a göre hümik asidin yapısal modeli	17
Resim 2.4. Farklı mutajen çeşitleri ve mutasyon tipleri	21
Resim 3.1. <i>Allium cepa</i> (2n=16) karyotipi.....	31
Resim 3.2. (a) Sıvı vermikompost üretim tesisi ve tesiste bulunan (b) <i>Eisenia fetida</i> türü solucanlar	32
Resim 3.3. Ön deneme çalışması	34
Resim 3.4. Çalışma konsatrasyonlarının hazırlaması	35
Resim 3.5. (a-b) <i>Allium cepa</i> 'ların sterilizasyonu	37
Resim 3.6. Soğanın köklendirilmesinde (a) steril kabin çalışması, (b) köklenen bitkilerin (<i>A. cepa</i>) ortama aktarılması (c-d) köklenen <i>A. cepa</i> 'ların görüntüsü	39
Resim 3.7. Çimlenmiş soğanların konsantrasyonları içeren besi ortamlarına aktarılması	40
Resim 3.8. Antigenotoksisite çalışmasından görüntüler.....	41
Resim 3.9. Hücre kültürünün son aşaması olan kök uçlarının alınması	42
Resim 3.10. (a-e) Preparatların hazırlanma aşamaları ve (f) hazırlanan preperatların görüntülenmesi	44
Resim 4.1. Vermikompost uygulaması sonucunda <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde görülen anormallikler a) Yapısı bozulmuş profaz b) Metafazda yapışiklık c) C-metafaz d) Anafazda köprü	50
Resim 4.2. Vermikompost uygulaması sonucunda <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde görülen anormallikler e) Anafazda köprü f) Anafazda fragment g) Multipolarlık h) Anafazda ileri gitme ı) Anafazda geri gitme i-j) Star anafaz k) Telofazda köprü	51
Resim 4.3. Vermikompost uygulaması sonucunda <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde görülen anormallikler l) Telofazda köprü.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
µg/mL	Mikrogram/mililitre
mL	Mililitre
mg	Miligram
mg/L	Miligram/litre
mg/kg	Miligram/kilogram
g/saksı	Gram/saksı
g/L	Gram/litre
M	Molarite
pH	Power of hydrogen
kPa	Kilo Paskal
mmHg	Milimetre civa
nm	Nanometre
µM	Mikrometre
µmol	Mikromol
χ ²	Ki kare
cwt/dönüm	Yüz libre /dönüm
C	Karbon
N	Azot
O	Oksijen
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar	Açıklamalar
2,4-D	2,4-Diklorofenoksiasetik asit
AgNO ₃	Gümüş nitrat
BAP	Benzilaminopürin

Kısaltmalar**Açıklamalar****BBD**

Bitki büyüme düzenleyicisi

CaOCl

Kalsiyum hipoklorit

DNA

Deoksiribonükleik asit

EtOH

Ethanol

H₂O₂

Hidrojen peroksit

HgCl₂

Civa klorür

IAA

İndol-3-asetik asit

KA

Kromozomal anormallik

KKD

Kardeş kromatid değişimi

Mİ

Mitotik indeks

MN

Mikronükleus

MS

Murashige ve Skoog

NAA

1-Naftalenasetik asit

NaOCl

Sodyum hipoklorit

SH

Standart hata

UNEP

Birleşmiş Milletler Çevre Örgütü

WHO

Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Her geçen gün artan dünya nüfusu için doğal kaynaklardan ödün vermeden bitkisel üretimi sağlamak, tarımdaki en büyük zorluklardan biridir. Bu nedenle günümüzde sürdürülebilir tarım için iyileştirici yeni yaklaşımlar kullanılmaktadır. Bitki doku kültürü uygulamaları ile kısa sürede ve küçük alanlarda bitki üretimi yapılması bu yaklaşımlardan biridir. Bitki doku kültürü ile yeni bir bitki çeşidi geliştirmek, bitkilerin maruz kaldığı çevresel kirleticilerin ve stres faktörlerinin belirlenmesini sağlamak, nesli tükenmekte olan türleri ya da çoğaltılması zor olan türleri üretmek mümkün olabilmektedir.

Tarım alanlarında kimyasal gübre, pestisit vb. uygulamaların zararları ile ilgili birçok veri elde edilmiş ve kimyasalların kullanımının azaltılması yönünde çalışmalar başlatılmıştır. Toprağın daha verimli kullanılması ve sürekliliği için organik kökenli materyallerin ilavesi gündeme gelmiştir (Bender ve diğerleri, 2016). Vermikompost (Solucan gübresi) son yıllarda oldukça tercih edilen tarımsal organik ilavelerden biridir. Solucanların bitki ve hayvan atıkları ile beslenmesi sonucu bu atıkları sindirerek humus benzeri dışkı haline dönüştürülmesine “vermikompost” adı verilmektedir (Kuş, 2019). Vermikompostun toprağa sağladığı çeşitli yararların yanı sıra içeriğinde bulunan hümik asitin büyüme düzenleyicisi gibi görev yapması tarımsal üretimde tercih nedeni olmaktadır. Ayrıca vermikompostun bitkilerde gelişim, verim, çimlenme, çiçeklenme, meyve tutumu ve yapraklanma özelliklerine katkı sağladığını gösteren çeşitli araştırmalar da mevcuttur (Kuş, 2019; Türkmen, 2016). Siyah altın olarak da adlandırılan vermikompostun bitkileri koruyucu etkisi olduğu ve bitki hastalıklarını azaltarak ürün kalitesini arttırdığı açıklanmıştır (Kuş, 2019; Abacıoğlu ve diğerleri, 2020). Vermikompost bir ekolojik dönüşüm ürünü olup ülkemizde yeni kurulan tesislerle birlikte kullanımı giderek artmaktadır. Bu uygulama herhangi bir kirliliğe neden olmamakla birlikte maliyeti düşük ve ekolojik döngünün devamı için uygun bir adım olarak görülmektedir (Yemişçi, 2018).

Vermikompostun tarım alanlarında kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte doku kültürü uygulamasında yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Oysa vermikompostun toprağa sağladığı katkılar doku kültüründe de elde edilebilirse, bu alanda yeni avantajlar ortaya çıkarabilecektir. Bitki doku kültürü şartlarının güçlendirilmesine olanak sağlayabilecektir.

Bu tez çalışmasında geliştirilen doku kültürü şartlarında vermikompost uygulaması bir ilk niteliği taşımaktadır. Vermikompostun doku kültüründe genetik hasar oluşturmaması ve/veya oluşan bir genetik hasarı önleme ya da iyileştirme etkisinin olup olmayacağı bu çalışmanın belirlemeye çalıştığı sorunların başında gelmektedir. Bu amaçla çalışmada genotoksisite testlerinden *Allium* testi uygulanmıştır.

Genotoksisite testleri, DNA üzerinde çeşitli fiziksel veya kimyasal ajanlar sebebiyle herhangi bir hasar meydana gelip gelmediğini anlamayı sağlayan testlerdir. Antigenotoksisite ise genetik materyal üzerinde meydana gelebilecek olan değişiklikleri önleyici ya da koruyucu etkiye sahip olan maddelerin tespit edilmesi için kullanılmaktadır. Çeşitli çevresel ajanların genotoksik-antigenotoksik etkilerini belirlemede güvenilir olması nedeniyle yaygın olarak kullanılan genotoksisite testlerinden biri *Allium* testi'dir. Bu çalışmada doku kültürü şartlarında köklendirilmiş *Allium cepa*'nın kök ucu hücrelerinde 24 ve 48 saatlik vermikompost muamelesinin mitoz bölünmeye etkisi ve mitotik hasara neden olup olmadığı *Allium* testi ile incelenerek genotoksik ve hidrojen peroksit'e karşı antigenotoksik etkililerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Gerçekleştirilen bu çalışma vermikompost ile ilgili doku kültüründe yapılan ilk çalışmadır. Vermikompostun genotoksik ve antigenotoksik etkilerine dair önemli ön bilgilerin edinilmesine olanak sağlamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bitki Biyoteknolojisi

Hızla gelişen sanayileşme ve kentleşme oranı sonucunda bitkisel kaynakların artan nüfusun gereksinimlerine yetmemesi günümüzde de, gelecekte de karşılaşılabilecek problemlerden birisidir. Giderek artan nüfus ve yetersiz bitkisel kaynaklar daha etkin bir tarımın gerçekleştirilmesi zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır (Özden Çiftçi ve Altinkut Uncuoğlu, 2019: 73,94).

1960'lı yıllarda ortaya çıkan Yeşil Devrim sayesinde tarımsal faaliyetlere olan ilginin artması, kaynakların geliştirilmesi ve tarımda gübre, pestisit vb. kullanımı ürün verimlerinin artmasına vesile olmuştur. Ancak bu kullanımlar bitkisel çeşitliliğin yok olmasına ve biyotik-abiyotik strese dayanıklı olmayan bitkilerin üretimine neden olmuştur. Ayrıca yoğun miktarda kullanılan tarımsal gübreler ve pestisitler çevre kirlenmesine neden olmuştur. 1970'lerin başında bu problemin çözümü amacıyla, modern genomik ve biyoteknolojik yöntemlerin tarımda kullanımı ortaya çıkmıştır. Günümüzde bitki biyoteknolojisi denildiğinde, bitki doku kültürleri ve bitki genetik mühendisliği çalışmaları anlaşılmaktadır (Özden Çiftçi ve Altinkut Uncuoğlu, 2019: 73,94; Yurtseven ve diğerleri, 2020).

Bu olumsuzlukların dışında bitkilerin biyoteknolojik çalışmalarda kullanılmasının asıl nedenlerinden biri de kendi enerjilerini kendilerinin üretebilmelerinin yanında (fotosentez) her bir hücresinden yeni bir bitki meydana getirebilme (totipotansi) yetenekleridir. Bitkilerde yapılacak çalışmalarla genetik ve biyoteknolojik araştırmalarda sadece verimli ürün yetiştirmek ile ilgili değil birçok mekanizmaya ışık tutacak sonuçlara ulaşılabileceği açıktır (Özden Çiftçi ve Altinkut Uncuoğlu, 2019 73,94; Sezgin ve Kapdan, 2019).

2.1.1. Bitki doku kültürü

Bitki doku kültürü; bitkisel hücre, doku, organ veya tüm bitkiyi, fiziksel ve kimyasal koşulları uygun bir şekilde düzenlenmiş, yapay bir besin ortamında (katı veya sıvı) *in vitro* koşullarda mikroorganizmalardan arındırılmış olarak yaşatma tekniğidir. Kontrollü koşullar kültürdeki bitkilerin büyümeleri ve çoğalmaları için uygun bir ortam sağlar. Temel olarak

bitki büyümesi için gerekli olan vitaminler, mikro ve makro besin elementleri, karbonhidrat içeren uygun pH'ya sahip katı veya sıvı besin ortamında eksplantların (doku kültüründe kullanılan bitki kısmı) büyümesi ve beslenmesi sağlanır. Günümüzde bitki doku kültürü yöntemleri, *in vitro* koşullarda hücre bölünmesini ve yeniden genetik programlamayı teşvik eden koşulları inceleyen temel ve uygulamalı araştırmalarda kullanıldığı gibi ticari açıdan bitkisel üretimde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Hedef bitkinin ya da hedef bitki parçasının kısa sürede ve yüksek verimde üretilmesini sağlayan bu yöntem, morfogenez germplazmın (bitkisel gen kaynakları) korunması, bitki fizyolojisi, moleküler biyoloji gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Gomez-Martinez ve diğerleri, 2019).

Doku kültürünün sağladığı avantajların yanı sıra doku kültürünü etkileyen birçok faktör vardır. Bunlardan ilki genetik faktörlerdir. Kullanılan bitkinin genotipik özelliklerinden, yaş ve doku tipine kadar birçok faktörün doku kültürünü etkilediği söylenebilir. Patojen oluşma riski doku kültürünün seyrini en çok etkileyen faktörlerden biridir. Patojen kontrolü doku kültürünün başarısını etkilemektedir. Kullanılan tüm ekipmanlar, besi ortamları ve eksplantların sterilizasyonu son derece önemlidir ve gerekli tedbirlerin alınması gerekir. Ayrıca bitkinin büyümek ve gelişmek için ihtiyaç duyduğu çevresel faktörlerin farklılığı da doku kültürünün verimini etkilemektedir. Besin ortamının içeriği, nem ve ısı dengesinin bitki büyümesine uygunluk durumu, ışık-karanlık periyodu, ışık yoğunluğu vb. faktörler doku kültürünün verimliliğini etkileyen faktörler arasındadır (Atar ve Çölgeçen, 2013).

2.1.2. Bitki biyoteknolojisinin tarihçesi

Bitki doku kültürünün keşfedilmesi ve gelişmesinin ilk adımları hücre teorisinin gelişimi ile başlamaktadır. Mikroorganizmaların basit bir şekilde agar ortamında veya diğer birçok karmaşık ortamda kültürlenebilmesi, çok daha eski zamanlardan beri gerçekleştirilen yaygın bir uygulamadır. Bitki hücrelerinin rejenerasyonu, farklılaşması ve totipotent potansiyeli keşfedildikten sonra, *in vitro* çoğaltma tekniği ile bitki doku kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Espinosa-Leal ve diğerleri, 2018; Özden Çiftçi ve Altinkut Uncuoğlu, 2019: 73,94). Çizelge 2.1'de 1900'lu yıllardan itibaren bitki biyoteknolojisinin gelişiminde önemli rol oynayan dönüm noktaları verilmiştir (Thorpe, 2012; Özden Çiftçi ve Altinkut Uncuoğlu, 2019: 73,94).

Çizelge 2.1. Bitki biyoteknolojisinin tarihsel gelişim süreci (Özden Çiftçi ve Altıncut Uncuoğlu, 2019: 73,94)

Tarih	Dönüm Noktaları
1839	Schwann ve Schleiden tarafından geliştirilen hücre teorisi ve totipotansi kavramları
1902	Haberlandy izole yaprak hücrelerini kültüre aldı ve doku kültürü temellerini formüle etti.
1904	Hannig <i>Cruciferae</i> (turpgiller) ailesine ait birçok türde olgun embriyo kültür çalışmalarını gerçekleştirdi.
1920	Knudson <i>in vitro</i> bitki üretim kavramını geliştirdi.
1922	Robbins kök ve kök uçlarını başarılı bir şekilde kültüre etti.
1926	Went, belirlenen ilk bitki büyüme hormonu olan indol asetik asidi (IAA) keşfetti.
1939	Gautheret, White ve Nobecourt kallus kültürlerinin sonsuz çoğalabildiklerini keşfettiler.
1941	Van Overbeek <i>Datura</i> 'nın hücre bölünmesi için kullanılan ilk besin ortamına Hindistan cevizi sütü ekledi.
1952	Morel ve Martin hastaliksız bitkiler yetiştirmek amacıyla meristem kültürünü geliştirdi.
1957	Skoog ve Miller <i>in vitro</i> organ oluşumunda horman kontrolü (oksin: sitokinin) kavramını geliştirdi.
1958	Muir vd. kallus dokularını tek hücrelere ayırmayı başarılı bir şekilde gerçekleştirdi.
1959	Reinert havuç bitkisinde hücre süspansiyon ve kallus kültürlerinden embriyolar rejenere etti.
1960	Cocking hücre duvarını enzimatik olarak parçalayarak ilk defa protoplastı elde etti.
1960	Bergmann hücre süspansiyonlarını filtereden geçirdikten sonra kültürden tek hücreler, izole etti.
1962	Kanta vd. test tüpünde bitki yetiştirme yöntemini keşfettiler.
1962	Murashige ve Skoog <i>in vitro</i> çalışmalar için ilk hazır içerikli besin ortamını geliştirdiler (MS besin ortamı).
1963	Wimber orkidelerin <i>in vitro</i> çoğaltımını yaptı.
1964	Guha ve Maheshwari <i>Datura</i> bitkisinin anter kültürünü yaparak ilk defa haploid bitkiler üretti.
1966	Steward vd. havucun tek bir hücresinden tüm bitkiyi rejenere ederek totipotansi özelliğini göstermiş oldu.
1970	Power vd. ilk defa protoplast füzyonunu gerçekleştirdi.
1971	Takebe vd. ilk defa protoplastlardan bitki rejenerasyonunu gerçekleştirdi.
1974	Reinhard ve Wibberenz bitki doku kültüründe biyotransformasyonu başlattı.
1977	Chilton vd. <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 'in Ti plazmidini başarıyla bitkilerin DNA'sına aktardı.
1978	Melchers vd. domates ve patates bitkilerinin somatik melezlemesini gerçekleştirdi.
1981	Larkin ve Scowcroft ilk defa somaklonal varyasyon terimini kullandılar.
1983	Peller vd. turp ve üzümde cinsler arası sitoplazmik hibridizasyonu gerçekleştirdi.
1984	Horch vd. <i>Agrobacterium</i> ile transformasyon yöntemi ile transgenik tütün üretti.
1987	Klein vd. bitki transformasyonu için biyolistik gen transfer yöntemini geliştirdi.
2003	Birnbaum vd. <i>Arabidopsis</i> bitkisi köklerinde gen ifadesi haritasını geliştirdi.
2005	Wind vd. Uluslararası Pirinç Genom Dizileme Projesi kapsamında, pirinç için DNA haritası yayınladı.
2009	Dolgin vd. Mısır bitkisinin genomunu haritaladı.
2012	Domates Genom Birliği tarafından domates bitkisinin genomu yayınlandı.
2015	Tekoah vd. bitki hücre kültüründe büyük ölçekli farmasötik protein üretimini sağladılar.
2017	Kim vd. nanoteknolojinin bitki doku kültürü ile uygulanması ile ilgili çalışmalar gerçekleştirdiler.

2.1.3. Bitki doku kültürü hazırlama yöntemi

Toprak içerisinde bulunan makro ve mikro elementlerin, bitkilerin sağlıklı ve güçlü bir şekilde büyümesi için gerekli unsurlar olduğu bilinmektedir. Bu elementlerin bitki kültürü ortamlarının çoğunun önemli bir parçası olarak kullanılması gerektiği anlaşılmıştır. Toprak ve bitki mineral analizleri sonucunda bitkilerin temel gereksinimleri hakkında detaylı bilgiler elde edilmiştir. Her bitki türünün farklı gereksinimleri vardır. Bazı bitki türleri basit ortamda (inorganik besinler, karbon kaynakları, büyüme düzenleyicileri ve jelleştirici maddeler) kolayca büyürken, bazıları esas olarak vitaminlerin ve belirli seçici maddelerin takviyesini gerektirir. *In vitro* kültürleme işlemi sırasında bitki dokusu, inorganik besinleri (iyonları) ortamdan toprakta olana benzer bir şekilde emer. Besleyici ortamda (zayıf sulu çözelti) bu inorganik tuzlar ayrışır ve ardından katyonlar ve anyonlar şeklinde bitki hücreleri tarafından emilir. Her iyonun alımı genellikle ortamdaki ilgili tuz konsantrasyonuyla orantılıdır (Phillips ve Garda, 2019).

Bitki doku kültürlerinde kullanılan besiyerlerinin genel özellikleri Çizelge 2.2’de verilmiştir (Alremi ve diğerleri 2014; Özkul, 2016; Dinçer ve diğerleri, 2016).

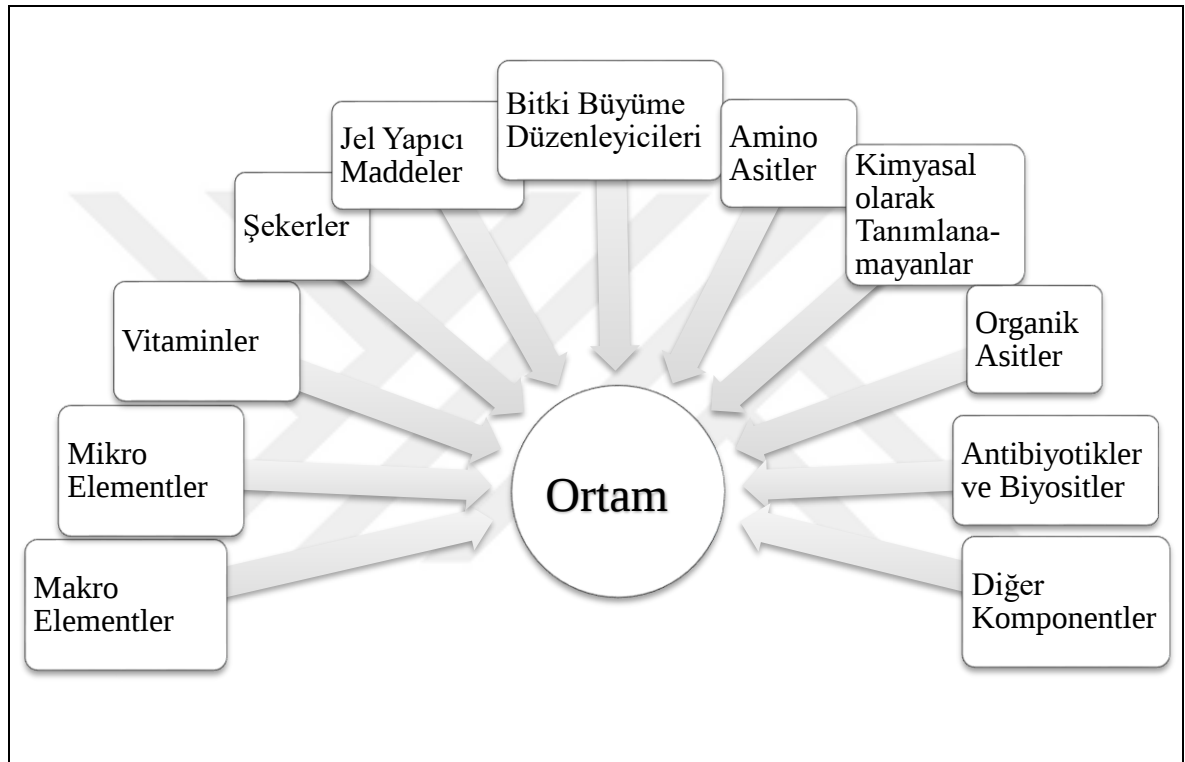
Çizelge 2.2. Bitki doku kültürlerinde kullanılan besiyerleri ve genel özellikleri (Dinçer ve diğerleri, 2016)

Besin Ortamı	Özellikleri
MS ortamı (Murashige ve Skoog, 1962)	Yüksek tuz içeren bir ortamdır
B5 ortamı (Gamborg ve diğerleri, 1968)	Soya kallus kültürleri için geliştirdiği nitrat azotu yüksek bir ortamdır.
LS ortamı (Linsmaier ve Skoog, 1965)	Organik bileşikler bakımından MS’in bir versiyonudur.
(WH)White ortamı (White, 1963)	Domates kök kültürlerinin kültürleri için geliştirdiği düşük tuz içeren bir ortamdır.

En yaygın olarak kullanılan temel besin ortamı ise MS (Murashige ve Skoog 1962) besin ortamıdır. MS mineral, tuz ve vitamin ile genellikle 30 g/L sükröz ve 7 g/L agardan oluşan besiyeridir (Özel ve diğerleri, 2020).

Bitki dokularını kültürlemek için çeşitli mineral formülasyonları mevcuttur. Bitki besin ortamının temel içerikleri genel olarak; su, makroelementler (azot, fosfor, sodyum, magnezyum, kükürt, vb.), mikroelementler (demir, manganez, çinko, bakır, vb.), vitaminler

(thiamin, nikotinik asit, vb.), amino asitler (glisin, arginin, vb.), şekerler (glukoz, sukroz vb.), bitki büyüme düzenleyicileri, karbon kaynağı ve katı ortam olması durumunda bazı jelleştirme (agar, fitajel, jelatin, vb.) ajanlarından oluşmaktadır (Şekil 2.1) (Kumar ve Loh, 2012; Phillips ve Garda, 2019). Yapılan çalışmalarda eksplantların istenilen yönde uyarılması için ortam içeriğine bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) eklenebilir (Rout ve diğerleri, 2006; Phillips ve Garda, 2019).



Şekil 2.1. Besin ortamının temel içerikleri (Phillips ve Garda, 2019)

Doku kültüründe bulunan mikroorganizmalar bitkiden daha hızlı büyüyerek bitkinin büyümesini engelleyebilir veya büyüme süresinin gecikmesine sebep olabilir. Bu nedenle kullanılacak olan bitki parçalarının hazırlanması ve sterilizasyonunun dikkatlice gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bu işlem yüzey sterilizasyonu olarak adlandırılır. Bromlu su, kalsiyum hipoklorit (CaOCl), etanol (EtOH), hidrojen peroksit (H_2O_2), sodyum hipoklorit (NaOCl), civa klorür (HgCl_2), gümüş nitrat (AgNO_3), antibiyotikler, fungusitler gibi birçok sterilasyonu sağlayan kimyasallar, steril eksplantlar elde etmek için kullanılır (Özden Çiftçi ve Altınkut Uncuoğlu, 2019). Yüzey sterilizasyonuna tabi tutulacak olan eksplant yukarıda bahsedilen kimyasallarla en uygun süre ve konsantrasyon ile muamele edilmelidir (Özel, 2020).

2.1.4. Bitki doku kültürünün avantaj ve dezavantajları

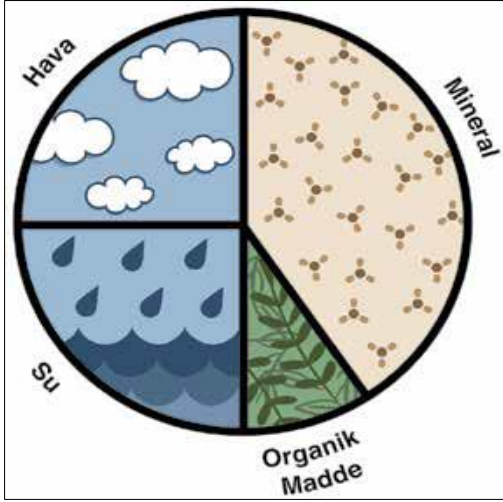
Bitki doku kültürü uygulamasının avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.3’de verilmiştir (Acemi, 2011; Bhatia, 2015).

Çizelge 2.3. Bitki doku kültürünün avantaj ve dezavantajları (Acemi, 2011; Bhatia, 2015)

Avantajları	Dezavantajları
Doku kültüründe ayıklama, ilaçlama, sulama gibi zahmetli işlemlerin yapılmasına gerek yoktur.	Pahalı bir tesis ve gelişmiş beceri gerektirmek ile birlikte uygulama yapılabilmesi için özel bir prosedür gerektirir.
Doku kültüründe yetiştirilmiş olan bitki materyali uzun süre taze saklanabilir.	Tarla bitkilerinin aksine doku kültüründe üretilen bitkiler besin kaynaklarına bağımlıdır.
Sürekli, güvenilir bir fitokimyasal için kaynak sağlamakla birlikte, bitki hücrelerinin büyük ölçekli kültürü için kullanılabilir.	Kültürlerde zamanla somaklonal varyasyon artışı ile bitki materyalinin genetik bütünlüğünü kaybetme riski mevcuttur.
Çeşitli mutajenlerin etkilerini incelemek, biyotransformasyon veya biyokimyasal reaksiyonlar için ve hücrelerin immobilizasyonunu gözlemlemek için en iyi tekniklerden birisidir.	Genç bitkicikler dış ortamda su kaybına karşı çok hassastırlar. Bu yüzden kademeli olarak düşen nem ve artan ışık koşullarında yavaş yavaş dış ortama alıştırılmaları gerekmektedir
Doku kültürü süreci, toprak koşullarındaki ve iklim koşullarındaki değişikliklerden bağımsızdır. Kimyasal olarak sentezlenmesi zor veya imkansız olan tıbbi bileşiklerin sentezini her zaman mevcut olan tek tip biyokütle sunar.	Doku kültürü ile plastik veya cam kaplarda yetiştirilen bitkicikler yüksek neme maruz kalırlar ve fotosentetik olarak kendi kendilerine yetecek kapasitede değildirler.
Bitki doku kültürü ile çok sayıda klonla birlikte istenilen özelliklere sahip yüksek kaliteli bitkiler veya ikincil metabolitler üretilebilir.	

2.2. Toprağın Bileşenleri

Toprak, jeolojik olarak “ana materyal” adı verilen çeşitli kayaların, fiziksel ve kimyasal ayrışması sonucu oluşmaktadır. Toprağın içinde bakterilerden solucanlara, mantarlardan bitkilere kadar farklı canlı organizmalar bulunmaktadır. Toprak, bitkilere besin sağlayan ve kalınlığı birkaç milimetre ile birkaç metre arasında değişen bir örtüdür. Sağlıklı bir toprağın bileşenlerini; %45 mineral, %5 organik madde, ve %25’i su geriye kalan %25’i ise boşluk yani havadan oluşur (Resim 2.1) (Özdemir ve Kahraman, 2015).



Resim 2.1. Sağlıklı bir toprağın bileşenleri (Özdemir ve Kahraman, 2015)

Mineraller; Düzenli atomik yapıya sahip olan homojen inorganik maddelerdir. Toprağın yapısında en sık bulunan minerallere demirli silikat, apatit, biyotit, ojit, olivin, sodalit mineralleri örnek verilebilir (Bolat ve Kara, 2017).

Havadan alınan makro-mikro besin maddeleri; bitkilerin besin maddeleri bazı kimyasal elementlerden oluşur. Dolayısı ile yeşil bitkilerce gerek duyulan besinler, inorganik niteliklidir (Bolat ve Kara, 2017).

Kimyasal elementler;

- Bulunmadığı veya noksan olduğu durumda bitki normal yaşam döngüsünü tamamlayamıyorsa,
- Gerekli bir bitki besininin yerini ve işlevini başka bir kimyasal element üstlenemiyorsa,
- Beslenme ile ilişkisi dolaylı değil doğrudan ise bu element bitki besini olarak sayılmaktadır (Bolat ve Kara, 2017).

Bitkinin havadan aldığı makro- mikro besin maddelerine Karbon (C), Hidrojen (H), Oksijen (O), Azot (N), Fosfor (P), Potasyum (K), Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg), Kükürt (S), Manganez (Mn), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn) örnek olarak verilebilir (Bolat ve Kara, 2017).

Organik madde; Toprak organik maddesi bitki ve hayvanların değişik düzeylerde ayrıışmış kalıntılarından oluşur. Organik maddenin bir ortamdaki oranına göre o materyal organik veya mineral toprak materyali olarak tanımlanır (Özdemir ve Kahraman, 2015).

Kompost- humus; kompost, etrafındaki bitkilere çeşitli vadelerde farklı besin maddeleri sunan, bu nedenle bol miktarda canlıya ev sahipliği yapan, dolayısıyla çürüme işlemi az da olsa devam eden “canlı” bir oluşumdur. Humus kompostun alabileceği son haldir, yani toprağın içinde çürüme sürecini devam ettirecek azot, fosfor bileşikleri kalmamıştır (Rona ve Labriga, 2017; Rona, 2015).

Hava-su; bakteri, mantar ve diğer canlıların, dolayısıyla bitkilerin sağlıklı gelişebilmesi için toprakta devamlı hava akışı gerekir. Su, topraktaki besin döngüsünde önemli görevler üstlenir (Rona, 2015).

Toprak solucanları, toprağın fiziksel özelliklerini düzeltip, toprakta organik madde ayrışmasına ve humus oluşumuna katkı sağlayan önemli bir canlı grubudur. Toprak solucanları, özellikle besin maddesince zengin olan toprağın 30-45 cm derinliklerinde bulunarak, toprak sıcaklığı ve nemin optimum seviyelerde kalmasına yardımcı olarak verimli toprakların oluşumuna olumlu etkilerde bulunurlar (Çizelge 2.4) (Abacıoğlu ve diğerleri, 2020).

Çizelge 2.4. Verimli bir toprakta bulunan tahmini canlı tür sayısı ve ağırlıkları (Abacıoğlu ve diğerleri, 2020)

Toprak Canlıları	Miktar (adet)	Ağırlığı (g)
Mikroorganizmalar (Bakteriler, Algler)	$1,5 \times 10^{12}$	200
Rotatoria (1500 tür) (Silindirik canlılar)	25 000	0,1
Nematodlar	1 milyar	1
Kırmızı örümcekler	100 000	2
Collembola (Kuyrukla sıçrayanlar)	50 000	0,6
Fırçalı solucanlar	10 000	2
Sümüklüböcekler	50	10
Örümcekler	50	0,2
Isopoda	50	0,5
Diğer böcek larvaları	100	1,5
Çiftkanatlılar (Diptera) larvası	100	1
Solucanlar	80	40

2.3. Kompost Solucanlar

Kırmızı Kaliforniya Solucanı (*Eisenia fetida*) (Resim 2.2) gibi kompost solucanları toprak verimliliğini koruyan ve böylece sürdürülebilirlikte kilit rol oynayan en önemli toprak hayvanlarından biridir. Kompost solucanı toprak oluşumunda ve toprak ekosisteminin değişen tür çeşitliliği ile bileşiminde ve işleyişinde önemli bir role sahiptir. Dolayısıyla ekosistem mühendisleri olarak bilinirler (Singh, 2018). Kompost solucanları, bitki kalıntılarının toprak agregatlarına katılmasını artırır, toprak gözenekliliğini oluşturur ve ayrıca toprakta organik madde lokalizasyonunu etkiler (Tavuç, 2017). Toprakta ortalama sayıda solucan bulunmalıdır ve organik atıkların verimli geri dönüşümü ile toprak sağlığı korunmalıdır. Tarımda uzun vadeli toprak verimliliği için, kompost solucanı önemli bir yer tutar (Rajhova ve diğerleri, 2015).



Resim 2.2. *Eisenia fetida* (Pfiffner, 2014)

Kompost solucanları, toprak mikroflorası ile mutualist bir ilişki sürdürme, düşük kaliteli organik maddeleri sindirme ve besin açısından zengin bir ürüne dönüştürme yeteneğine sahiptir (Abacıoğlu ve diğerleri, 2020). Solucan aktivitesinin ayrıca besin döngüsüne, humus oluşumuna ve toprağın yapısal gelişimine yardımcı olduğu sonucuna varılmıştır (Datta ve diğerleri, 2016; Singh ve diğerleri, 2016). Solucan bağırsağı, organik minarelleri değiştirebilir. Mevcut formları bitkilerin kullanabileceği formlara dönüştürmek için birçok ekzojenik ve endojenik enzim içerir (Yayla ve Şenol, 2020). Çeşitli bitkisel ve hayvansal organik atıkların solucanlar tarafından sindirilip humusa benzeyen maddelere dönüştürülmesi “vermikompost” olarak adlandırılmaktadır (Bellitürk, 2016). Vermikompost, toprağın su tutma kapasitesini, gözenekliliğini ve yumuşaklığını artırır,

böylece daha az toprak işleme ve sulama gerektirir. Toprak solucanları veya vermikompostun toprağa eklenmesi metal dengesini, havalandırma, pH ve elektrik iletkenliği açısından en uygun toprak ortam seviyesini stabil halde tutar (Gökmen, 2020). Vermikompost mikrobiyal çeşitlilik, besinler, bitki büyüme düzenleyicileri bakımından da zengindir ve patojenik etkileri inhibe etme özelliklerine sahiptir (Soylu ve diğerleri, 2020).

Bouche; toprak solucanlarını topraktaki ekolojik dağılım temeline göre 3 gruba ayırmıştır (Singh, 2018):

Epigeik solucanlar; küçük boyutlu, düzgün vücut rengine sahip olmakla birlikte yüzeysel olarak çöp veya gübre gibi ortamlarda yaşamayı tercih ederler. Değişken sıcaklık aralığını tolere edebilirler. Toprakta meydana gelen humus oranının artışında önemli bir yeri vardır. Bu türler genellikle vermikompostlama için idealdir. Bu türler arasında *Eisenia fetida*, *Dendrobaena rubida*, *Perionyx excavatus* ve *Eudrilus eugeniae* bulunur.

Anekik solucanlar; gövdelerinin sadece ön ve arka uçlarında pigmentasyon bulunan büyük boyutlu solucan türleridir. Çoğunlukla topraktaki besinleri derin katmanlardan yüzeye dökerek karıştırmada görev alırlar. Bu türler arasında *Lampito mauritii*, *Aporrectodea longa* ve *Lumbricus terrestris* bulunur.

Endogeik solucanlar; bu türdeki solucanlar zayıf pigmentasyonlu olup büyük veya küçük boyutta olabilirler. Genellikle toprak yiyen solucanlar bu tür içerisinde yer alır ve yaşadığı toprak katmanında organik madde ve minaralize madde bulunur. Örnekleri arasında *Metaphire posthuma*, *Octochaetona thurstoni*, *Allolobophora caliginosa*, *Aporrectodea rosea* ve *Octolaseon synaeum* bulunur.

Bununla birlikte, 1985 yılında Lee, solucanları beslenme alışkanlıkları temelinde iki gruba ayırmıştır (Singh,2018):

Çürükçül solucanlar; toprak solucanları toprak yüzeyinde veya yakınında yaşar ve esas olarak bitki çöpü veya memeli gübresi vb. ile beslenirler. Örnekler arasında *Eisenia fetida*, *Lampito mauritii*, *Perionyx excavatus* ve *Eudrilus eugeniae* bulunur.

Toprak yiyen solucanlar; toprağın yüzeyinin altında ve daha derin yerlerinde yaşar ve beslenirler. Büyük miktarda, bulundukları toprağın organik maddece zenginleşmesini sağlarlar. Örnekler arasında *M. posthuma*, *Octochaetona thurstoni* bulunur.

Solucanlar yaşadıkları toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini önemli ölçüde değiştirir. Kompost solucanları varlığında artan ürün artışı, solucan türleri ve farklı toprak dokuları arasındaki etkileşim sonucudur (Tavuç, 2017; Singh, 2018). Solucanlar tarımsal sistemin, geleneksel tarımdan çok sürdürülebilir tarıma yönelmesine yardımcı olmaktadır. Briones ve diğerleri (2011) organik gübre ilavesi ile solucan biyokütlesinin artmasının, C ve N mineralizasyonu ve aynı zamanda Mg, K ve çözülmüş P gibi besin maddelerinde toprak yapısında bulunabilirliği üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu bildirilmişlerdir (Singh, 2018).

Vermikompostlama faaliyetlerinde kullanılan ve aerobik kompost veya sığır gübresi yığınlarında sıklıkla rastlanan kompost solucanı türleri şunlardır (Edwards ve Bohlen 1996; Ciritoglu ve diğerleri, 2019):

- *Eisenia fetida* (Kırmızı kaliforniya solucanı),
- *Eisenia andrei* (Kırmızı toprak solucanı),
- *Dendrobaena veneta* (Avrupa gece gezgini)
- *Lumbricus rubellus* (Kırmızı solucan),
- *Perionyx excavatus* (Hint mavi solucanı),
- *Eudrilus eugeniae* (Afrika gece gezgini)

Vermikompost üretiminde kullanılan en yaygın iki solucan türü *Lumbricus rubellis* ve *Eisenia fetida* solucanlarıdır (Abacıoğlu ve diğerleri, 2020).

2.4. Vermikompost ve Vermikompostlama

Dünya üzerinde yaşayan toplumların üretimi arttırma çabası her geçen gün artmaktadır. Ancak bu arayışlar bazen mevcut doğal kaynakların yanlış veya aşırı kullanımına neden olmakta ve çevresel bir yük oluşturmaktadır. Aslında endüstriyel, tarımsal veya evsel

atıkların yaklaşık %60'ı biyolojik olarak parçalanabilir ve ekonomik açıdan önemli olan bitkilerin üretimi için kullanılabilir (Singh, 2018).

Toprak solucanlarının kültür ortamında çoğaltılarak yetiştirilmesi ve dışkı (gübre) elde edilmesi şeklinde ortaya çıkan vermikültür kavramının doğuşu yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren olmuştur (Kuş, 2019). Vermikompostlama, mikrobiyal bozunmayı, solucanların atıkları daha kısa sürede azaltma, yeniden kullanma ve geri dönüştürme faaliyetleriyle birleştiren bir teknolojidir (Singh, 2018). Toprak solucanları ile bakterilerin ortak hareketi sayesinde, solucanlara oksijen sağlanırken aynı anda atıkların organik maddelere dönüştürülmesi sağlanır. Solucan bağırsaklarındaki organik atıkların modülasyonu ile elde edilen ürün, atık malzemesinden oldukça farklıdır ve siyah altın veya vermikompost olarak da bilinir (Türkmen, 2016).

Vermikompost bitkiyi koruma görevi görür ve içeriği sayesinde bitkide yüksek N, P ve K içeriğinin oluşmasını sağlar (Çizelge 2.5) (Singh, 2018; Abacıoğlu ve diğerleri, 2020). Bitki büyümesini destekleyen vermikompostta; gibberellinler, oksinler ve sitokinler gibi bitki büyüme düzenleyicileri de bulunur (Tomati ve diğerleri, 1983). Topraklı sistemde açık koşullarda ve örtü altı üretimde çoğu kez denenen ve olumlu sonuçlar gösteren vermikompostun; bitki gelişimi, verim, çimlenme, yapraklanma, çiçeklenme, meyve tutumu gibi özellikleri desteklediği, toprak özelliklerini düzenlediği tespit edilmiştir (Kuş, 2019). Türkmen (2016) toprakta fiziksel, kimyasal ve biyolojik iyileşmeler ve zengin besin içeriği sebebiyle vermikompostun son zamanların en gözde organik gübresi olduğunu ifade etmiştir.

Çizelge 2.5. Vermikompostun bileşimi (Singh, 2018; Abacıoğlu ve diğerleri, 2020)

İçerik	Birim	Miktar	İçerik	Birim	Miktar
pH	0-14	7,2-7,4	Magnezyum	%	1-1,5
Nem	%	35-40	Demir	%	1-1,5
Organik Madde	%	35-45	Mangan	mg/kg	600-750
Organik Karbon	%	15-20	Bor	mg/kg	400-500
Toplam Azot (N)	%	1,5-2,5	Krom	mg/kg	0,041
Toplam Forfor (P_2O_5)	%	2-2,5	Nikel	mg/kg	36
Toplam Potasyum (K_2O)	%	2,5-3	Bakır	mg/kg	54
Kalsiyum	%	5-6			

Günümüzde vermikompost sebze ve meyve yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır ve ülkemizde birçok üretim tesisi bulunmaktadır. Vermikompost gübreleri, toprak düzenleyicisi olarak, kaliteli ve verimli ürünler elde etmek için kullanılır. Toprağın yapısını iyileştirip, verimliliği arttırdığı, bitki hastalıklarını azaltıp, ürünlerin verimini ve kalitesini arttırdığı bilinen bir organik gübredir. Bitki büyüme ortamı olarak da kullanılabilir (Kuş, 2019).

Vermikompostun üretim aşamaları aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- Solucan besini üretme (Fermantasyon)
- Solucanların beslenmesi
- Solucanların sistemden ayrılması
- Vermikompostun küçük parçalara ayrılması ve sterilizasyon
- Proses adımları bitmiş vermikompost (48 saat boyunca su ile santrifüjlenen sıvı vermikompost) (Ciritöğlu ve Erman, 2019).

2.4.1. Kimyasal gübrelemenin vermikompostlama ile kıyaslanması

Tarımsal üretimde bitkinin iyi gelişim sağlayabilmesi, yetiştiği toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri ile yakından ilişkilidir. Kimyasal gübrelerin toprak ve bitkilerdeki olumsuz etkileri de bilinmektedir. Bu nedenle, toprağın daha verimli olması ve sürekliliği için organik kökenli materyallerin ilavesi çok sık kullanılan yöntemlerden biridir (Singh, 2018; Yüzbaşoğlu, 2020).

Kimyasal gübreleme ve vermikompostlama katı organik atıkların stabilizasyonu için en iyi bilinen iki işlemdir. Vermikompost, kimyasal gübrelemeye göre bazı avantajlara sahiptir: (Singh, 2018):

- Aşırı kimyasal gübreleme azot ve fosfor gibi minerallerin besin maddelerinde kayıplara veya minerallerin toprakta hareketsizleşmesine neden olabilir.
- Kimyasal gübreleme ve vermikompostlamanın birlikte kullanımı, günümüzde masrafları ve iyileştirme sürecinin süresini azalttığı için sürekli ürün elde etmenin daha iyi bir yolu olarak kabul edilmektedir.
- Toprak solucanı ile bakterilerin birleşik aktivitesi, elektrik iletkenliğinde bir azalma ve tarımsal kullanım için daha kaliteli bir ürün ile birlikte azotun tutulmasını ve kademeli fosfor salınımını artırır.
- Solucanlar, yapısı bozulmuş topraklarda aerobik durumun, optimum nem ve sıcaklıkla korunmasına yardımcı olur.

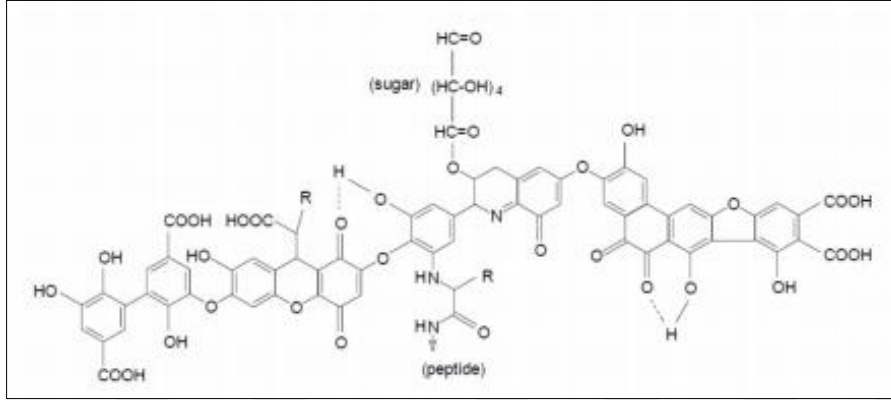
Vermikompostlama işlemi ayrıca depolama, taşınma, uygulama aşamalarında kirliliğe yol açmamakla birlikte ekolojik döngünün de devamına katkı sağlamaktadır (Kara, 2013; Sezgin ve Şimşek 2017). Vermikompostun aynı zamanda düşük girdili olması ve ürün kaybını azaltabilmesi de diğer bir avantajdır (Yemişçi, 2018).

2.4.2. Vermikompostta hümik asidin rolü

Hümik maddelerin en önemli kısımlarından biri hümik asitlerdir. Hümik asitler ve fulvik asitler alkali ortamda çözünebilen “humus yapılarını” temsil ederler. Hümik asitler (HA) renkleri sarıdan siyaha değişen, bozulmaya dayanıklı, yüksek moleküler ağırlığa sahip, heterojen doğal kaynaklar olarak tanımlanırlar. Torf, turbiyer, hayvan gübreleri, linyitler ve leonardit gibi kaynaklarda değişik konsantrasyonlarda bulunabilirler (Orman ve diğerleri, 2020).

Hümik maddeler ile yapılan çalışmalardan biride element analizidir. Yapılan bu çalışmalar sonucunda yapılarında en fazla karbon (C), hidrojen (H), oksijen (O), azot (N) ve kükürt (S olduğu tespit edilmiştir (Resim 2.3) (Stevenson, 1982).

Hümik asitlerin bileşiminde bu elementlerin bulunma oranları; karbon % 53,8– 58,7, oksijen % 32,7- 38,3, hidrojen % 3,2-6,2, azot % 0,8- 5,5 ve kükürt ise % 0,1- 1,5’dir (Schnitzer, 1978; Akıncı, 2011).



Resim 2.3. Stevenson’a göre hümik asidin yapısal modeli (Stevenson, 1982)

Solucanların mikrobiyotiklerindeki mikrobiyal aktiviteleri sonucu ortaya çıkan hümik madde olarak isimlendirilen hümik ve fülvik asit gibi metabolitlerin bitki gelişimine çok önemli katkılar sağladığı bilinmektedir (Akıncı, 2011; 2017).

Hümik maddeler öncelikle lignin ve diğer ölü partikül organik materyallerin mikrobiyolojik dönüşüm ürünleridir. Herhangi bir kimyasal bileşik sınıfı olarak sınıflandırılmazlar ve geleneksel olarak çözünürlüklerine göre tanımlanırlar. Canlı yapısının dört temel elementi C, O, H ve N’nin yanında, bileşimlerinde önemli oranda karboksilik asit grupları, fenolik ve alkolik hidroksil keton ve kinon gibi organik kimyanın önemli öğelerini barındırırlar. Hümik asitler, günümüz tarımında giderek daha etkin bir rol oynamaktadır. Hümik maddeler topraktaki suyun buharlaşma hızını düşürmenin yanında, toprakların katyon değişim kapasitelerini artırır ve toprak verimliliğini yükseltir. Hümik asitler, toprakta suda-çözünebilir inorganik gübreleri muhafaza ederek, büyümekte olan bitkilere gerektiği kadarını serbest bırakırlar. Özellikle kimyasal gübrelerin olumsuz etkilerini azaltırlar. Hümik maddelerin eşsiz özelliği ise geniş bir pH aralığında tampon özelliği göstermesidir. Hümik asitler negatif yükleri sayesinde katyonları bağ yaparak tutarlar, böylece bitki kökleri tarafından kolayca emilirler (Akıncı, 2011; 2017). Bitki gelişiminde bitki büyüme düzenleyicilerinin yeri tartışmasızdır. Vermikompostta yer alan hümik asit mikroorganizmalar tarafından salgılanan bitki büyüme teşvik edici hormonlarını da içermektedir (Cacco ve Dell’ Angola 1984; Nardi vd., 2002; Canellas vd. 2002; Quaggiotti

vd., 2004; Joshi ve Pal Vig, 2010; Aydın ve Demirsoy, 2020). Hümik asitlerin etkileri şöyle sıralanabilir:

- Hümik asit özellikle kök gelişimini sağlayarak bitki büyüme ve gelişimini olumlu olarak desteklemektedir. Hümik asidin yaratmış olduğu bu olumlu etki köklerde daha fazla ortaya çıktığından iyi bir köklendirici olarak işlev yapabilir (Akıncı, 2011; 2017).
- Hümik asit kök oluşumunu desteklediği gibi, kökteki hücrelerinin H-ATPaz enzim aktivitesini de uyararak bitkilerin besin ve su alımını arttırmaktadır. Hümik asit kullanımına paralel olarak ürün miktarı ve kalitesinde yükselme söz konusudur (Akıncı, 2011; 2017).
- Hümik asidin yapısında bulunan fonksiyonel grupların, metallerle bağ yapabilme özelliğinden dolayı, bu molekül, kumlu topraklar gibi katyon değişim kapasitesi düşük olan topraklarda kullanılarak besin maddelerinin topraktan akıp gitmesi engellenebilir. Ayrıca besin maddelerini şelatlayarak kök çevresinde tutup bitki kullanımına her zaman hazır halde bulundurabilir (Akıncı, 2011; 2017).
- Üreticiler genellikle ürün kalitesini ve miktarını yükseltmek için aşırı miktarlarda kimyasal gübre kullanmaktadırlar. Toprağa uygulanan fazla gübre hem toprakların yapısını bozmakta hem de ekonomik açıdan büyük bir külfet getirmektedir. Hümik asidin şelatlama kabiliyetinden dolayı topraklarda meydana gelen besin elementlerinin kayıplarının önüne geçilerek bu sayede, uygulanan gübre miktarında bir azalma olacağı şüphesizdir. Böylece hümik asit kullanımı ülke ekonomisine büyük bir katkıda bulunulabilir (Akıncı, 2011; 2017).
- Hümik asitler vermikompost, taş kömürü, hayvan gübresi, toprak ve arıtma çamuru gibi doğal kaynaklardan elde edilebildiğinden ve ayrıca kimyasal maddeler içermediğinden organik tarımda kullanılmasında hiçbir sakınca yoktur. Böylece hümik asit kullanımıyla bitki gelişimini desteklerken insan sağlığı da korunmuş olacaktır (Akıncı, 2011; 2017). Vermikompost üretimi için farklı atıklar değerlendirilebilir. Çoğu çiftlik hayvanlarının dışkıları (sığır, koyun, keçi, at, deve, hindi, ördek, tavşan vb.), mutfak-yemekhane gıda atıkları, çim atıkları, budama ve hasat atıkları, orman ürünleri atıkları, kağıt atıkları ve diğer birçok organik atıklar solucanlara besin olarak verilip solucanların bu besini sindirmesi ile vermikomposta dönüştürülebilir (Bellitürk, 2016).

2.4.3. Vermikompost ile üretilen bitkilerden elde edilen parametreler

Toprak solucanlarının topraklar üzerinde yararlı fiziksel, biyolojik ve kimyasal etkilere sahip olduğu iyi bilinmektedir. Birçok araştırmacı bu etkilerin hem doğal hem de ekosistemlerde bitki büyümesini ve mahsul verimini arttırabildiğini göstermiştir. Bu yararlı etkiler, toprak özellikleri ve yapılarındaki gelişmeler, bitkilerdeki mineral besinlerinin daha fazla bulunabilirliği ve artmış bitki büyüme düzenleyicilerin etkisine bağlanmıştır (Singh, 2018).

Araştırmalar vermikomposttaki hümik asitin bitki büyümesi üzerinde yararlı etkileri olduğunu göstermiştir (Çizelge 2. 6) (Singh, 2018). Vermikompost kullanımı devamlı olarak tohum çimlenmesini, fide büyümesini ve gelişimini ve bitki verimliliğini arttırmıştır. Vermikomposttan ekstrakte edilen hümik asitler çeşitli bitkilerin parametrelerinin değişimine neden olmuştur. Hümik asitlerin bitki büyümesi üzerindeki etkisi, uygulanan konstrasyonlarına, bitki türlerine, büyüme ortamına ve vermikompost kaynağına bağlı olarak değişim göstermektedir (Singh, 2018).

Çizelge 2.6. Vermikomposttan üretilen hümik asitlerin çeşitli bitkilere uygulanması sonucu elde edilen parametreler (Singh, 2018)

	Bitki Türü	Geliştirilmiş Parametreler	Kaynaklar
1	Buğday (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Hızlı bitki büyümesi, Zn ve Cu biyo yararlanımını iyileştirir.	Mackowiak ve diğerleri (2001)
2	Domates (<i>Lycopersicum esculentum</i> L.) ve salatalık	Bitki boyu, yaprak alanı, kök kuru ağırlığı, gövde kuru ağırlığını arttırmıştır.	Atiyeh ve diğerleri (2002)
3	Patates (<i>Solanum tuberosum</i>)	Verim 18 cwt / dönüm artmıştır.	Hopkins ve Stark (2003)
4	Domates, kadife çiçeği, biber, ve çilek	Bitki uzunlukları, yaprak alanları, kuru ağırlıklar, kök kuru ağırlıkları, meyve sayısını arttırmıştır.	Arancon ve diğerleri (2004)
5	Gerbera (<i>Gerbera jamesonii</i>)	Artan kök büyümesi, yüksek düzeyde mikro ve makro besin içeriğinde artış görülmüştür.	Nikbakht ve diğerleri (2008)
6	Mısır (<i>Zea mays</i>)	Kuru ağırlığı ve azotu arttırmıştır.	Khaled ve Fawy (2011)
7	Marul (<i>Ocimumbasilicum</i> L.)	Islak ve kuru ürün, esas verim, klorofil içeriğinde artış görülmüştür.	Befrozfar ve diğerleri (2013)
8	Cam güzeli (<i>Impatiens walleriana</i> L.)	Bitki boyu, çapı, çiçek sayısı, kuru kök ve sürgün ağırlığında artış görülmüştür.	Esringu ve diğerleri (2015)

2.4.4. Vermikompostun direkt ve dolaylı etkileri

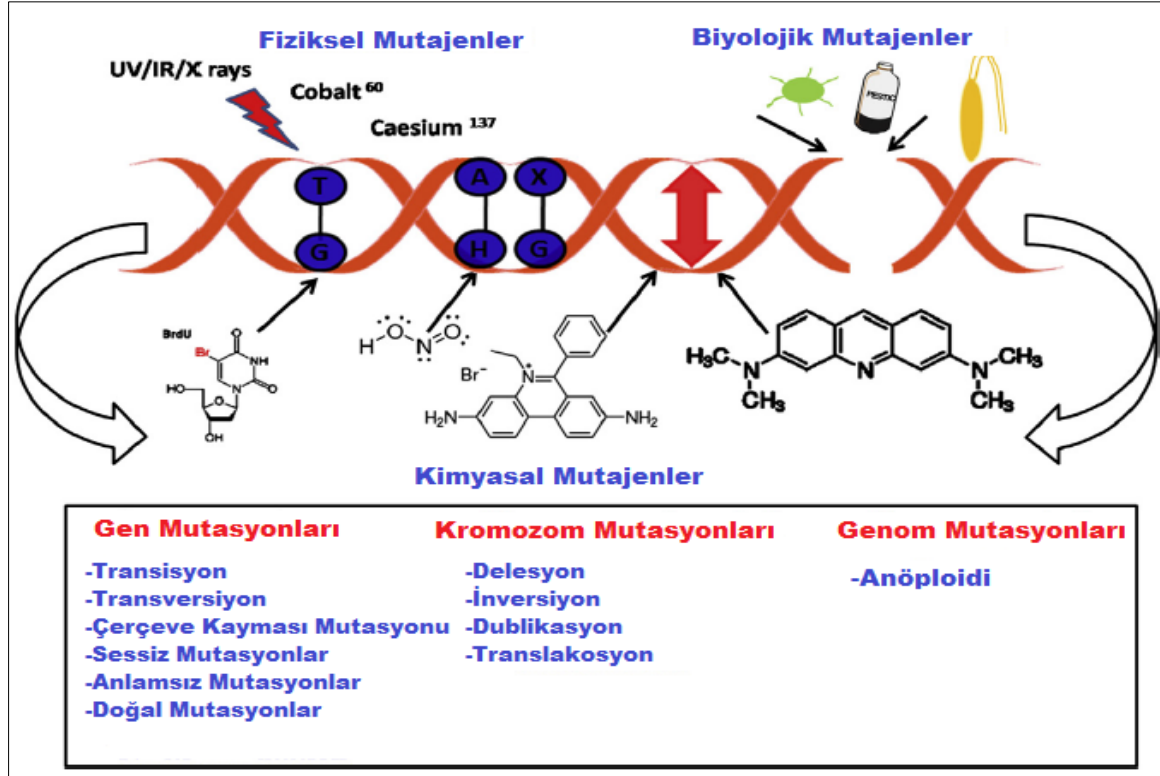
Bitki besin elementleri ve bitki gelişimi düzenleyici maddeler içermesi ile toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini düzenleyici etkisi vermikompostun direkt etkilerindendir. Besin elementlerinin miktarı ve çeşidi vermikompost üretiminde kullanılan materyalin özellikleri, işleme zamanı ve olgunluk düzeyine göre değişiklik göstermektedir. Solucanın işlenmesi sonucu organik materyalin mineralizasyonu sağlanmakta ve besin maddeleri bitkiye yararışlı şekilde bulunmaktadır. Vermikompost toprağın önemli fiziksel özelliklerinden olan toprak yapısı üzerine etkili olmakta ve makro agregat sayısı ve agregat stabitesinde önemli artış sağlanmaktadır. Böylece toprağın havalanma, su tutma kapasitesi ve organik maddenin mineralizasyonu önemli düzeyde etkilemektedir. Ayrıca oksin, giberellin, sitotoksin ve benzeri etki gösteren hümkik maddeleri kapsamı nedeniyle de lateral kök gelişimi, çiçeklenme ve bitki gelişimini uyarıcı diğer etkiler göstermektedir (Singh, 2018; Dehsorkh ve diğerleri, 2018; Liu ve diğerleri, 2020).

Vermikompost uygulanmasının dolaylı etkileri ise hastalık etmeni, zararlılar ve bitki parazit nematodların önemli bir kısmının baskılanması ile ortaya çıktığı iddia edilmektedir. Böylece vermikompostun toprak mikrobiyal biyokütlesini arttırması ve toprak faunasının çeşitliğini değiştirmesinin, bu etkilerin ortaya çıkmasını sağladığı birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir (Singh, 2018; Lv ve diğerleri, 2020; Balachandar ve diğerleri, 2020).

2.5. Genotoksisite ve Antigenotoksisite

Genetik materyal her hücrenin temelini oluşturur ve bilgiyi bir nesilden diğerine aktarmalarına izin verir. Hücrenin maruz kaldığı herhangi bir hasar, değiştirilmiş genetik materyale ve dolayısıyla karmaşık hücre mekanizmasına zarar verir ve son olarak hücre ölümüne yol açar. İnsanlar, ultraviyole ışınlarına, tütün dumanı, gıda katkı maddeleri vb. kanserojenler nedeniyle sürekli olarak bu mutajenlere maruz kalmakta ve bu ajanlar genetik problemlere neden olmaktadır (Ataseven ve diğerleri, 2016). Bu bileşikler DNA'ya entegre olur ve mutasyonlara ve dolayısıyla DNA hasarına neden olur (Resim 2.4) (Dixit ve Kumar, 2018). Bu nedenle DNA'yı hasarlı hale getirebilen herhangi bir kimyasal genotoksik olarak adlandırılır (Phillips ve Arlt, 2009; Manur ve diğerleri, 2018; Azqueta ve diğerleri, 2020).

Genotoksisite, kimyasal ve fiziksel ajanların genetik materyal veya deoksiribonükleik asit (DNA) üzerindeki etkilerini ve genomun yapısal bütünlüğünde değişikliklere neden olan olası etmenlerin araştırıldığı toksikolojinin alt uzmanlık dalıdır (Phillips ve Arlt, 2009; Beedanagar, 2017). Son birkaç on yıl içinde, çeşitli genotoksik etkileri tanımlamamıza yardımcı olan toksikolojik çalışmalarda büyük ilerlemeler kaydedilmiştir.



Resim 2.4. Farklı mutajen çeşitleri ve mutasyon tipleri (Dixit ve Kumar, 2018)

Genetik materyalde meydana gelen hatalar replikasyon sırasında ortaya çıkar, hücre döngüsünün durmasına ve nihayetinde hatalı bir fenotip veya hücre ölümüne neden olabilir. Kromozomlara veya DNA'ya zarar veren herhangi bir maddeye “genotoksin” denir. Bu genotoksik ajanların neden olduğu kalıtsal değişiklikler, somatik hücreleri etkileyebilir. Kalıtsal değişiklikler kansere neden olan somatik mutasyonlara yol açabilir veya bir germ hattı mutasyonu meydana getirerek nesilden nesile aktarılabilir. Genotoksik ajanlar üç ana kategoriye ayrılır: fiziksel (ultraviyole ışık, iyonlaştırıcı radyasyon, sıcaklık), kimyasal (hidrojen peroksit, aromatik hidrokarbonlar, antikanser ajanlar, ağır metaller, asbest, organik çözücüler, gıda katkı maddeleri, pestisitler) ve biyolojik (mikotoksinler, parazitler, bakteriler, virüsler). Genotoksik olaylar doğrudan veya dolaylı olarak tetiklenir ve oksidatif hasarı ve DNA'nın yapısal modifikasyonlarını içerir. Bu ajanların çoğu, genotoksik

özelliklerini göstermeleri için metabolik aktivasyona ihtiyaç duyar (Aprotosoae ve diğerleri, 2019).

Kromozom sapmaları, DNA (sentez veya replikasyon) veya nükleoproteinler üzerindeki etkiden kaynaklanır, bu da kromozomlar üzerinde doğrudan kırılma etkisine veya kromozomların anormal ayrılmasına yol açabilir. Sapmalar genel olarak klastojenik sapmalar (kromozomlar üzerinde doğrudan kırılma etkisi) ve anojenik sapmalar (iğ proteinleri üzerindeki etki) olarak sınıflandırılabilir. Klastojenik etkiler, kromozomal/kromatid kırılmaları, halkalar ve köprüler şeklinde gözlenir. DNA'nın sürekli olarak gerçekleştirdiği onarım mekanizmalarının bitirilememesi veya yanlış tamir süreci sonucunda kromozom kırıkları meydana geldiği düşünülmektedir (Evans, 1977; Kirkland ve diğerleri, 2016; Avuloglu-Yilmaz ve diğerleri, 2020; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2020).

Kromozom köprüleri, kardeş kromatitler, kırılmalar veya terminal bölgeler arasındaki delesyonlar nedeniyle farklı kromozomlar arasındaki yapısal değişikliklerden kaynaklanır. Anafazın sonunda kalıcı olan köprüler, kromatin ayrımı sırasında kromozomal fragmentlere neden olabilir (yani kırılmalara) (Humphrey ve Brinkley, 1969). Kromozom kırılmalarına, kromatinin dinamiklerini etkileyen dış etkenler de neden olabilir ve DNA onarım sürecine zarar verebilir (Terzoudi ve diğerleri, 2011). Mitotik iğ ipliklerinin işlev bozukluğu kromozomal yapışmalara neden olabilir (Ventura-Camargo ve diğerleri, 2011). C-mitoz, bir hücre veya soyu poliploid olduğunda ortaya çıkar (Gaulden, 1987). 'C-mitoz' terimi, kolşisin etki ettiği gibi disülfid bağlarının ayrılmasıyla iğ mikrotübül birleşmesini önleyen bir kimyasalın etkisini tasvir etmek için Levan tarafından türetilmiştir (Levan, 1938). Yapışıklık, DNA'nın kendisinden ziyade proteinli kromatin matrisini içeren ve genellikle hücre ölümüne yol açan geri dönüşü olmayan bir anormalliktir (Fiskesjo, 1988). Mitotik iğ polimerizasyonundaki bozukluk, birleşik kromozomlara tek taraflı bağlanmasını teşvik ederek kutuplara hareketini olanaksız hale getirebilir ve kromozom kayıplarına yol açabilir (Shamina ve diğerleri, 2003). Kromozomların ayrılması sırasında, bir kromozom grubu kutba doğru hareket ettiğinde önde veya geri kalması durumu söz konusu olabilir. Bu anormallik çeşidi ileri/geri kalmış kromozom olarak adlandırılırken, ayrılma sırasında bir kromozomun iğ ipliğine bağlanmadığı için kromozom grubun geride kaldığı bir durum söz konusudur. İleri/geri kalmış kromozomlar, yeni oluşan hücrelerde kromozomların eşit olmayan dağılımına neden olur. Artmış kromozomal etkileşim, DNA'nın depolimerizasyonu

veya nükleoproteinlerin çözünmesine neden olur. Bu etkileşim sonucu kromozomlar yoğunlaşır ve bu anormallik yapışkanlık olarak adlandırılır (Santos Filho ve diğerleri, 2019).

Genotoksisite testi, somatik veya gamet hücre değişikliğinden sorumlu hatayı tanımlamaya yardımcı olur. Düşük konsantrasyona sürekli maruz kalma da hasarlı DNA ile sonuçlanabilir. Belirli bir bileşiğin bir genotoksik ajan olup olmadığını test etmek için, Avrupa Birliği OECD kılavuzları uyarınca *in vitro-in vivo* genotoksisite test yöntemleri benimsenmiştir. Genotoksisite için çok çeşitli kısa süreli testlerin geliştirilmesi, birçok mutajeni ve bunların kansere neden olan ajanlarla (karsinogenler) ilişkisini tanımlamaya yardımcı olur. Çeşitli mekanizmalarla direkt veya indirekt olarak genetik materyalde hasara neden olan bileşiklerin hasarını belirleyebilmek amacıyla birçok genotoksisite testleri geliştirilmiştir (Beedanagar, 2017; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2018; Erikel ve diğerleri, 2019; Avuloglu-Yilmaz ve diğerleri, 2020).

Bunların bir kısmı,

- Salmonella / mikrozom mutajenite (AMES) testi: *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* (WP2) ters mutasyon testleri, mutajenite/antimutajenite taramalarında yaygın olarak kullanılan testlerden biridir (Becerren ve diğerleri, 2017; Memarian ve diğerleri, 2021).
- Comet testi (Single cell gel electrophoresis): Comet testi veya tek hücreli jel elektroforezi, bireysel hücre düzeyinde ölçülen tek veya çift iplikli kırılmaları tespit eder. Agoroza gömülen hücrelere, alkali şartlar altında proteinleri uzaklaştırılır, elektroforeze tabi tutulur ve ardından floresans bir boya ile boyanarak mikroskop altında incelenir. Hasarsız DNA yuvarlak bir bütün olarak görünürken, hasarlı DNA'da meydana gelen zincir kırıklarından dolayı kuyruk görünümü ortaya çıkar (Beedanagar, 2017; Liman ve diğerleri, 2019; Azqueta ve diğerleri, 2020).
- Kromozom anormallikleri (KA) Testi: Genotoksik hasarı tespit etmek için geleneksel sitogenetik yöntemlerinden biri de, bir hücre grubunun kimyasal bir ajana maruz kaldıktan sonra kromozomlarındaki değişikliklerin doğrudan gözlemlenmesine dayanır (Beedanagari, 2017; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2020).
- Kardeş kromatit değişim (KKD) testi: Metafaz kromozomlarının kardeş kromatitleri arasında DNA değişimleri sonucunda meydana gelmektedir (Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2014; Kwasniewska ve Bara, 2020).

- Mikronukleus (MN) testi: Bir mikronukleus (MN) genellikle kırık bir kromozom parçası veya nadiren hücre bölünmesinden sonra çekirdeğin dışında kalan bütün bir kromozomdur. MN oluşumu DNA hasarının (klastojenik mekanizma) ardından veya DNA replikasyon içeriğinde meydana gelen hatalar (dolaylı anöjenik mekanizma) nedeniyle oluşabilir. Hücre bölünmesi sürecinin anafaz aşaması sırasında, DNA hasarı nedeniyle oluşan temel DNA parçaları çekirdeğe dahil edilmeyebilir. Bu nedenle, kromozom parçaları, hücre bölünmesinin telofaz ve sitokinez aşamalarından sonra MN oluşumuna neden olur. Artan mikronukleus oluşum insidansı, genotoksik hasar için iyi bir biyobelirteç görevi görür (Beedanagari, 2017; Borges da Silva ve diğerleri, 2020).

Genotoksisite testleri kimyasalların ve insanların kullandığı ürünlerin çevresel güvenliğini değerlendirme konusunda yardımcı olur. Karsinojen olduğu bilinen ya da şüphelenilen kimyasal ajanların biyokimyasal mekanizmalarını açığa kavuşturmak için de kullanılmaktadır. *In vivo* ve *in vitro* genotoksisite testlerinde uygulama yapılan hücrelerdeki mutasyonlar incelenmektedir (Phillips ve Arlt, 2009; Beedanagari, 2017).

Genotoksisite testleri sadece genotoksik ajanları ve onların etki mekanizmasını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmez. Genotoksisite testleri ile doğal ürünlerin anti-mutajenik/anti-genotoksik ve anti-karsinojenik olası potansiyelleri de incelenmektedir. Antigenotoksisite çalışmalarında bir mutajenin neden olduğu DNA hasarına karşı, incelenecek olan maddenin olası etkileri değerlendirilir. Antigenotoksisite kavramı, genetik hasarın ilerlemesini önlemek veya doğal durumun korunması özelliğine sahip doğal ya da sentetik kullanımına atıfta bulunur (Prajitha ve Thoppil, 2016). Fiziksel ve kimyasal maddelerin DNA üzerinde meydana getirdiği genotoksik etkinin en düşük seviyede tutulması amacıyla antigenotoksik maddelerin etkilerinin araştırılması son yıllarda sıklıkla gerçekleştirilen çalışmalar arasındadır. Canlılarda meydana gelen genotoksik etkileri en az seviyeye indirebilmek amacıyla antigenotoksik maddelerin kullanımının artması, mutasyonlar sonucunda meydana gelen kanser gibi hastalıklardan korunmada çok önemli sayılmaktadır. Genotoksite ve antigenotoksisite çalışmaları insanların günlük hayatlarında kullandıkları veya maruz kaldıkları çeşitli ürünlerin güvenilirliğini ve etkinliğini değerlendirmeye yardımcı olmaktadır (Verschaeve, 2015; Cristóbal-Luna ve diğerleri, 2018).

2.5.1. Bitki test sistemleri

Çevrenin olumsuz etkilerin belirlenmesine yönelik temel araştırmalarda, bitki materyalinin kullanılması yerinde ve faydalı bir metottur. Çünkü bitkilerin depolanması, taşınması ve kullanılması çok kolaydır, ucuzdur, genellikle güzel ve iyi gözlenebilen kromozomları vardır. Buna ilaveten bitki kökleri biyolojik testler için uygun materyallerdir. Çünkü kök uçları, doğada toprağa ve suya karışan kimyasallara maruz kalan ilk yapılardır (Liman ve diğerleri, 2015; Bonciu ve diğerleri, 2018). Antigenotoksisite ve genotoksisite uygulamalarında kullanılan türlere ait örnekler Çizelge 2.7’de verilmiştir.

Çizelge 2.7. Genotoksisite ve antigenotoksisite uygulamalarında kullanılan bitki materyalleri (Özkara ve Aykıl, 2015)

Kullanılan Bitki Türleri	Kaynaklar
<i>Allium cepa</i>	Levan, 1938
<i>Vicia faba</i>	Amer ve Ali, 1983
<i>Tradescantia paludosa</i>	Dryanosvka, 1987
<i>Hordeum vulgare</i>	Kluge ve Podlesak, 1985
<i>Crepis capillaris</i>	Dimitrov, 1994
<i>Triticum aestivum</i>	Aybeke ve diğerleri, 2000
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Öztürk ve diğerleri, 2004

2.5.2. Allium testi

Yüksek bitkiler çevresel mutajenleri tespit etmek için mükemmel genetik modeller olarak kabul edilir ve ön izlem çalışmalarında sıklıkla kullanılır. Bitki türleri arasında, *Allium cepa*, mitotik döngüdeki kromozom sapmaları gibi DNA hasarlarını değerlendirmek için sıklıkla kullanılan türler arasındadır. Toplanan veriler ile ökaryotik hücrelerde de kimyasal maddelerin potansiyel zararları konusunda ön değerlendirmede bulunulabilmektedir (Leme ve Martin-Morales, 2009; Bonciu ve diğerleri, 2018).

Allium cepa'nın mutajenleri tespit etmek için bir test sistemi olarak kullanılması 40'lı yıllara dayanmaktadır. Levan, kolşisinin mitotik iğ malformasyonu üzerindeki etkilerini göstererek bir test organizması olarak *Allium cepa*'yı tanıtmıştır (Levan, 1938; Bhat ve diğerleri, 2017). Fiskeşjö (1985) tarafından yapılan çalışmalar, Allium testinin genotoksisite değerlendirilmesindeki önemini ve *Allium cepa* hücrelerinin polisiklik hidrokarbonatları

metabolize eden bir oksidaz enzim sistemini, içerdığını göstermiştir. Allium testi, mutajenik etkilerin görüntülenmesinde oldukça etkili bir biyo-izlem testi olarak Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP) ile Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS) tarafından 1991 yılında sertifikalandırılmıştır. *Allium cepa*'nın kromozom sayısı az, kromozomları büyük, elde edilmesi kolay ve ucuz olması, bütün bir yıl boyunca köklenerek bolca mitotik hücre elde edilebilmesi nedeniyle birçok genotoksisite testlerinde kullanılmaktadır ($2n=16$) (Leme ve Morales, 2009; Bonciu ve diğerleri, 2018; Ozel ve diğerleri, 2018; Oney-Bırol ve Gündüz, 2019).

Günümüzde çevresel ortamda artan çok sayıda kimyasal ajanı değerlendirmek için Allium testi kullanılmaktadır. *A. cepa* düşük maliyetli bir test olarak bilinir. Mitotik indeks ve bazı nükleer anormallikler incelenerek, sitotoksisteyi değerlendirmek ve farklı kimyasalların mutajenitesini doğrulamak için kullanılır. Ayrıca, Allium test sistemi, bir ajanın genetik materyal üzerindeki etki (klastojenik ve/veya aneugenik etkiler) mekanizmalarını değerlendirmek için önemli bilgiler sağlar (Leme ve Morales, 2009; Bonciu ve diğerleri, 2018).

A. cepa'nın çevresel mutajenleri tespit etmek için başlıca model sistemlerden biri olarak hareket edebilmesi için bazı özel nedenler vardır. Bunları sıralayacak olursak; (Leme ve Morales, 2009; Akyıl ve Ozkara, 2015)

- Allium testi uygun maliyetli ve hızlıdır.
- Laboratuvarla kolaylıkla uygulanabilir ve elde edilen sonuçlar güvenilirler.
- Diğer sistemlerle karşılaştırıldığında ve laboratuvardaki farklı çevresel kirlenici karışımlarına kolayca maruz bırakılabilirler.
- Optik mikroskopi ile farklı kromozomal anormallikleri kolayca kontrol etmeye uygun hale getiren, büyük boyutlu kromozomlar içeren büyük hücrelere sahiptirler.
- Toksisitenin bir göstergesi olarak, farklı morfolojik ve sitogenetik faktörler; kök büyümesi ve yapısı, mitotik indeks (Mİ) hesaplanması, mikronükleus oluşumu (MN), kromozomal anormalliklerin (KA) değerlendirilmesi *A. cepa* kök ucu hücrelerinde değerlendirilebilir.
- *A. cepa* kök uçlarının meristematik bölgesi yüksek oranda çoğalır ve bu nedenle daha yüksek oranda bölünen hücreler içerir.

- Mitotik fazlar açıkça görülebilir; kromozom sayısı sabittir, kromozomlar arasında morfolojik çeşitlilik mevcuttur ve kromozomal mutasyonların nadir görülme olasılığı *A. cepa* bitkisini kirletici maddelerin toksisitesini test etmek için olağanüstü bir sistem yapan önemli özelliklerdendir.
- Tüm bunlara ek olarak, hem Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS, WHO) hem de Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP), çevre kirliliğinin genotoksitesini belirlemek için *A. cepa* kök uçları testini standart bir test olarak kabul etmiştir.
- Duyarlılığından dolayı *A. cepa*, toksik maddelerin genotoksitesini değerlendirmek için ABD Çevre Koruma Dairesi'nin Gene-Tox Programı tarafından kullanılan ilk dokuz bitkiden biridir.
- *A. cepa*'nın bir diğer önemli yararı, mutajenleri aktive edebilen bir oksidaz enzim sisteminin varlığıdır. Ames testi gibi diğer testlerde, enzimin (sıçan karaciğerinden) eklenmesi gerekmektedir. Bu nedenle *A. cepa*, eksojen kaynaklardan enzim eklenmeden mutajenlerin saptanması için kullanılabilir.

2.5.3. Vermikompost ile gerçekleştirilen genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmaları

Vermikompostun genotosik potansiyeline dair çalışmalar yok denecek kadar azdır. Literatürde antigenotoksik etkiye dair çalışmalar da sınırlıdır. Datta vd. (2018) Atrataf 50 WP herbisitinin uygulandığı ve ardından vermikompost uygulanmış toprak örneklerinden 10, 20, 40, 60, 80 ve %100'lük çözeltiler hazırlamışlardır. 24 ve 48 saatlik genotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Klastojenik sapm6aların, %100 herbisitte %100 vermikompost solüsyonuna göre %54,5 oranında fazla olduğu görülmüştür. Sonuçlar, tarım alanında vermikompost eklenmesinin toprak iyileştirici etki gösterdiği hücre bölünmesi ve çoğalmasının desteklenmesinde önemli bir rol oynadığını, bu nedenle bitki sağlığı ve mahsul verimliliğine olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.

Singh ve arkadaşları (2018) bir tarım alanı ve botanik bahçesinden alınan toprakları ve vermikompost uygulanmış hallerini karşılaştırmışlardır. Test materyali olarak *Allium cepa* soğanlarının kök uçları kullanılmıştır. Tarımsal alanda mitotik indes değeri (MI), kontrole göre daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeninin tarımsal alanda daha fazla kimyasal gübre ve tarım ilacı uygulamaları olabileceği şeklinde açıklanmıştır. Vermikompost uygulanmış tarımsal toprak ve botanik bahçe toprağında normal hallerine göre Mitotik indeksin arttığı

gözlemlenmiştir. Kromozom anormallik seviyesi tarımsal alan örneğinde %14.88 botanik bahçesi örneğinden % 9.11 olduğu bulunmuştur. Vermikompost uygulanmış tarım toprağında kromozomal anormallik seviyesi %8'e düşerken, vermikompost uygulanmış botanik bahçe toprağında kromozomal anormallik %6.88 olduğu görülmüştür. Araştırmacılar bu çalışma sonucunda vermikompostun kromozom anormalliklerini düşürdüğü sonucuna ulaşmışlardır.

Başka bir çalışmada *Eisenia fetida* toprak solucanına besin maddesi olarak şeker endüstrisinin atık yan ürünleri olarak üretilen şeker pancarı çamuru (SBM) ve küspe (SBP), ile kuru ağırlık bazında farklı oranlarda sığır gübresi (CD) vermişlerdir. Şeker kamışı atığı olan presmud inek gübresi ile karıştırılmış ve bu karışım PM çamur ekstresi olarak adlandırılmıştır. Vermikompost uygulanmış ve uygulanmamış konsantrasyonların genotoksik ve antigenotoksik etkileri değerlendirilmiştir. SBM konsantrasyonları vermikompost elde edilemeden ve vermikompost elde edildikten sonra *A. cepa* kök uçlarında mitotik indeks üzerindeki etkileri ve mitotik anormallik frekansı incelenmiştir. Vermikompost uygulaması sonucu mitotik indekste anlamlı bir artış görülmüştür. Kontrole göre vermikompost verilmeden önce SBM ekstraktları daha yüksek seviyelerde kromozomal anormallikler sergilerken *E. fetida*'nın ağır metallerin çoğunu detoksifiye etme kapasitesinden dolayı, vermikompostlanmış SBM ekstraktları kromozomal sapma sıklıklarında %18-75 düşüşe neden olmuştur (Bhat ve diğerleri, 2015).

Benzer bir çalışmada *E. fetida* yardımı ile şeker kamışı atığı ile elde edilen presmud'un optimizasyonu ve genetik etkileri değerlendirilmiştir. Araştırmada presmud çeşitli oranlarda (presmud: sığır gübresi 0:100 (V0), 25:75 (V25), 50:50 (V50), 75:25 (V75) ve 100:0 (V100)) sığır gübresi ile karıştırılmıştır. Bu karışım Presmud çamur ekstresi olarak adlandırılmıştır. Elde edilen presmud çamur ekstresi uygulama konsantrasyonları; %10, 20, 40, 60, 80 ve 100 olarak belirlenmiştir. Vermikompost uygulanmamış presmud çamur ekstresindeki konsantrasyon arttıkça mitotik indeks buna ters orantılı olarak düşmüştür. Vermikompost uygulamasından sonra ise mitotik indeks artmıştır. %100 presmud ekstraktına maruz kaldıktan sonra yüzde sapma en fazla %30,8 olarak belirlenmiş olup vermikompost uygulamasından 6 saat sonra bu oran %20,3'e düşmüştür. Vermikompost uygulanmayan presmud uygulamalarında önemli derecede kromozomal sapmalar oluşurken, vermikompost eklenmesi ile kontrole kıyasla bu kromozomal sapmaların azaldığını tespit etmişlerdir (Bhat ve diğerleri, 2014).

Başka bir çalışmada inek gübresi içeren ortamlara uçucu külün konsantrasyonları (%0, 20, 40, 60 ve 80) uygulanmıştır. Sadece inek gübresi-toprak (CS) ortamları ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Uçucu kül içeren ortamlara *Eisenia fetida* toprak solucanı ilave edilerek 30 gün boyunca vermikomplaştırılmıştır. *Vicia faba* bitkisi %20, 40, 60 ve 80'lik uçucu kül - inek gübresi-toprak içeren karışıma dikilmiştir. *Vicia faba* kök meristemlerinde sitogenetik etkileri incelenmiştir. Vermikompostsuz numunelerde kimyasal analizde Cr, Cu, Pb, Zn ve Ni gibi yüksek konsantrasyonlarda ağır metallere rastlanılmıştır. Ayrıca bu muamelelerde mitotik indeks değerinde düşüş, kromozom anormalliklerinde artış gözlemlenmiştir. Sapmaların artışının uçucu kül konsantrasyonlarına bağlı olduğu ifade edilmiştir. Vermikompostlanmış örneklerde aberasyon sıklığı %15–45 düşüş gösterirken, kimyasal analiz sonuçları ağır metal konsantrasyonlarında %10-50 düşüş olduğu görülmüştür. Bu çalışma, vermikompostun uçucu küllerin genotoksisite potansiyelini ve ayrıca toksisiteyi/genotoksisiteyi hafifletmek amacıyla metalle kirlenmiş toprağı temizlemek için karışım komplikasyonunun uygulanabilirliğini göstermektedir (Jain ve diğerleri, 2004).

Yukarıda anlatılan çalışmalardan anlaşıldığı üzere vermikompostun tarımsal uygulamalarda olumlu etkisi olduğuna dair bulgular elde edilmiştir. Ancak vermikompostun doku kültüründe genotoksik ve antigenotoksik etkilerine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Oysa bitki doku kültürlerinde besin ortamına eklenen komponentlerin bitki gelişimine önemli katkılar sağlayabileceği bilinmektedir. Vermikompostun geri dönüşüm ürünleri ile üretilmesi, ekosisteme katkı sağlamak ile birlikte bitki büyüme ve gelişmesine de katkıda bulunmaktadır. Vermikompostun doku kültüründe kullanılması sonuçları ilgi uyandırıcıdır. Bu nedenle bu çalışmada vermikompostun doku kültüründe genotoksik ve antigenotoksik etkileri araştırılmıştır.

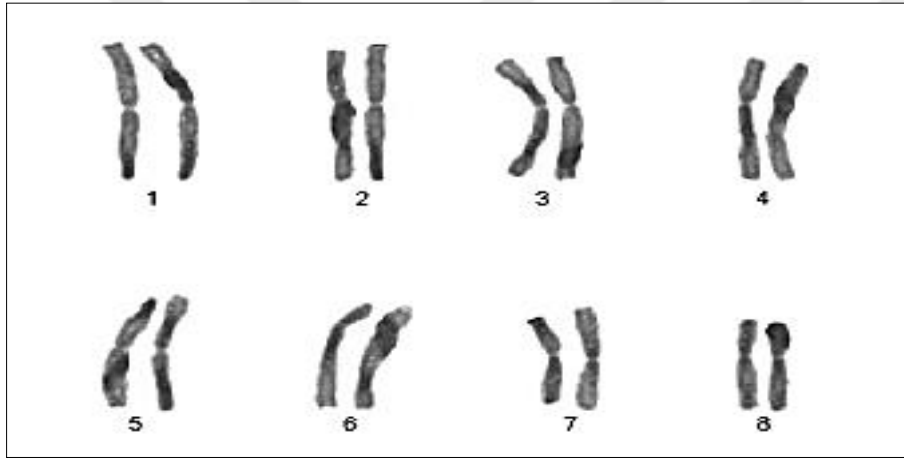


3. MATERİYAL METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Bu çalışmada temininin kolay, ucuz olması, kromozom sayısının azlığı, kromozomların büyüklüğü (Resim 3.1) yıl boyunca köklenip bol miktarda kök verebilmesi gibi sebepler nedeniyle sitogenetik ve biyoteknolojik çalışmalarda sıkça tercih edilen *A. cepa* ($2n=16$) bitkisi kullanılmıştır.



Resim 3.1. *Allium cepa* ($2n=16$) karyotipi (Leme, Marin-Morales, 2009)

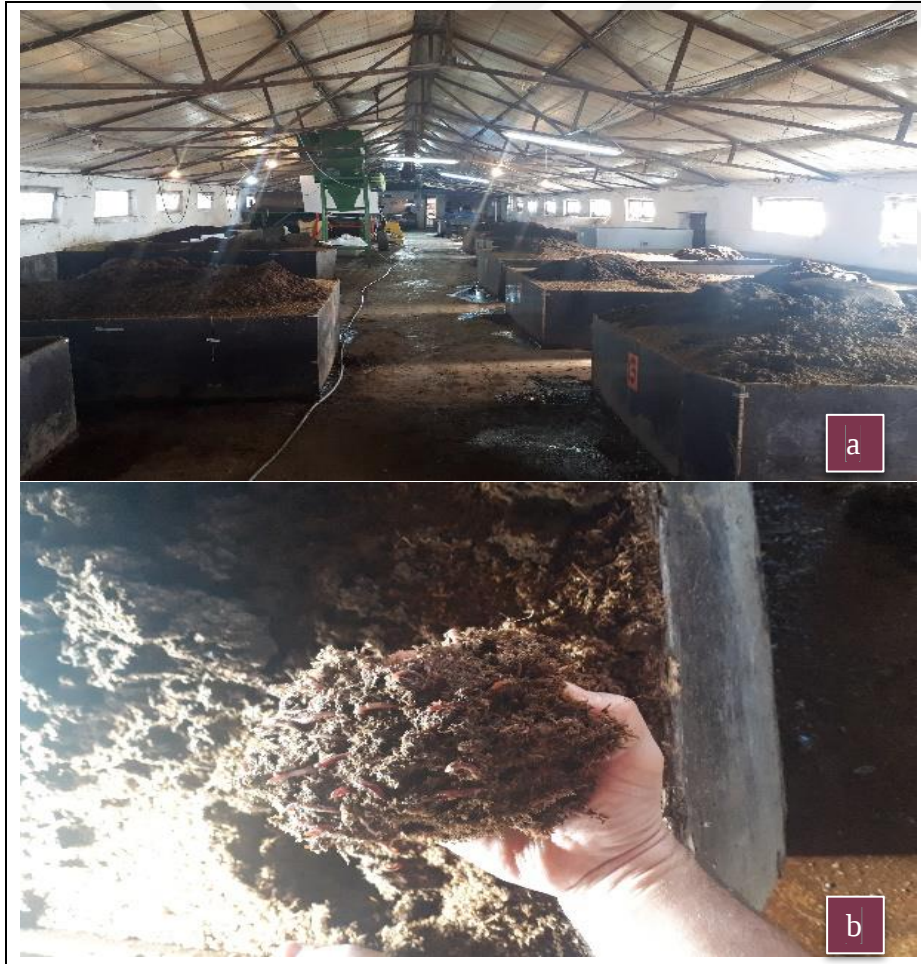
3.1.2. Kullanılan test materyalleri

Bu araştırmada test materyali olarak sıvı vermikompost (Solucan Gübresi) kullanılmıştır.

3.1.3. Sıvı vermikompost

Organik Sıvı Ekstresi, kontrollü bir ekstraksiyon işlemi ile vermikompost'tan elde edilen tamamen doğal bir sıvıdır. Ürün içeriğinin organik madde oranı %5, organik azot %1 toplam hümitik+fulvik asit oranı %5'tir. Çalışmamızda kullanılan sıvı vermikompostun oluşumunda kullanılan solucan türü *Eisenia fetida* (tiger worm)'dir. Bu çalışmada sıvı vermikompost (solucan gübresi) Ankara'daki bir firmadan temin edilmiştir. Kullanma talimatında, sıvı vermikompostun kullanım şekli için; "yaprak gübresi olarak, 1 ölçü sıvı gübre 200 ölçü suyla

kariştırılıp yapraklar çıkarken, çiçekler tomurcukta iken ve meyveler olgunlaşmadan önce olmak üzere en az 3 defa bitkiye püskürtülür. Kök gübresi olarak, 1 ölçü sıvı gübre 200 ölçü suyla kariştırılıp sulama suyuna kariştırılarak (damlama veya yağmurlama) uygulanır” ifadesi yer almaktadır. *Eisenia fetida* vermikompost üretiminde en çok tercih edilen kırmızı renkli 8-10 cm boyunda, kokon adı verilen yumurtalarıyla çoğalan, sölom adlı sıvı üreten ve faydalı mikroorganizmalarla simbiyotik yaşayan solucan türüdür. Katı ve sıvı olarak üretilabilen vermikompost organik madde, enzimler ve hormonlar ile zengin mikro element içeriğı ile tercih edilen bir üründür. Organik tarım uygulamalarında vazgeçilmez ürün olan vermikompost; beton zeminde, torba havuzlarda veya otomatik kesme aparatlı modern kasalarda üretilmektedir (Çıkırıkcı ve Okumuş, 2019) (Resim 3.2).



Resim 3.2. (a) Sıvı vermikompost üretim tesisi ve tesiste bulunan (b) *Eisenia fetida* türü solucanlar (Ankara’da bir vermikompost üretim tesisi)

3.2. Metod

Bu çalışma ile vermikompostun genotoksik ve bir mutajen tarafından indüklenen genetik hasarı önlemedeki ve/veya iyileştirmedeki antigenotoksik rolü *Allium* testi ile bitki doku kültürü şartlarında incelenmiştir. Vermikompostun tek başına 24 ve 48 saatlik uygulamaları yapılmıştır. Ayrıca hidrojen peroksitin (H_2O_2) oluşturduğu hasar üzerine etkisini belirlemek için 24 ve 48 saatlik antigenotoksisite testi de gerçekleştirilmiştir. Antigenotoksisite çalışması ön ve geç muamele olmak üzere iki uygulama tipi ile yapılmıştır.

3.2.1. Çalışmada kullanılacak konsantrasyonların belirlenmesi

Kullanma talimatında, sıvı vermikompostun kullanım şekli için; “yaprak gübresi olarak, 1 ölçü sıvı gübre 200 ölçü suyla karıştırılıp yapraklar çıkarken, çiçekler tomurcukta iken ve meyveler olgunlaşmadan önce olmak üzere en az 3 defa bitkiye püskürtülür. Kök gübresi olarak, 1 ölçü sıvı gübre 200 ölçü suyla karıştırılıp sulama suyuna karıştırılarak (damlama veya yağmurlama) uygulanır” ifadesi yer almaktadır. Buradan yola çıkarak çalışmada kullanılacak konsantrasyonlar 5000, 10000, 20000, 40000, 80000, 160000 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Uygulama konsantrasyonları öncelikle ppm birimide hesaplanmış ancak daha yaygın olarak kullanıldığı için $\mu\text{g/mL}$ birimi tercih edilmiştir. Konsantrasyonların hazırlanması için stoktan alınan vermikompost bidistile saf su ile karıştırılmış ve belirlenen oranlara seyreltilmiştir. Ayrıca yapılan ön çalışma ile vermikompostun konsantrasyonlarının otoklav sonrası MS besin ortamında herhangi bir kontaminasyona sebep olmadığı gözlenmiştir. 24 saatlik uygulama süresince doku kültüründe ön deneme yapılmıştır (Resim 3.3). Her bir konsantrasyon için 1 soğan, toplamda kontrol grupları ile birlikte 8 soğan kullanılmıştır. Doku kültüründe gerçekleştirilen bu deneyde köklenen her bir soğanlardan ise 5 şer kök alınarak Feulgen metoduna göre (Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2003) hazırlanan boya ile preperasyon işlemi yapılmış ve mitotik indeks sayımı gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.3. Ön deneme çalışması (Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Laboratuvarı 2)

3.2.2. Test materyallerinin hazırlanması

Çalışma konsantrasyonları 5000, 10000, 20000, 40000, 80000 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Çalışmada 4,4 g/L MS (Murashige ve Skoog 1962) (Çizelge 3.1) mineral, tuz ve vitaminler ile, +30 g/L Sukroz ve 7 g/L Agar (Type A, Sigma) içeren besin ortamı kullanılmıştır. MS ortamına yukarıda belirtilen konsantrasyonlar eklendikten sonra besin ortamının pH'sı, 1 M KOH ya da 1 M HCl kullanılarak 5,6 – 5,8'e ayarlanmıştır (Resim 3.4.). Ortam hazırlığında bidistile saf su kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak vermikompost içermeyen MS ortamı hazırlanmıştır. Besiyerlerinin dengeli olarak dağılması için hazırlanan konsantrasyondaki çözeltilere agar eklenerek otaklavlanmıştır (105 kPa basınç 121°C'de 15-20 dk) ve steril kabinde magentalara dağıtılmıştır. Kapakları yarı açık şekilde soğumaya bırakılmıştır. Besin ortamlarını magentalara paylaştırmadan önce steril kabin yaklaşık 15 dakika öncesinden çalıştırılmıştır ve %70'lik etil alkol ile steril hale getirilmiştir.



Resim 3.4. Çalışma konsatrasyonlarının hazırlaması (Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Laboratuvarı 2)

Çizelge 3.1. MS temel besin ortamında bulunan besin maddeleri ve konsantrasyonları

Makro Elementler	(Murashige ve Skoog,1962) (mg/L)
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
CaCl ₂	332,2
KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler	(Murashige ve Skoog,1962) (mg/L)
MnSO ₄ .H ₂ O	16,9
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
H ₃ BO ₃	6,20
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
FeNaEDTA	36,72
Vitaminler	(Murashige ve Skoog,1962) (mg/L)
Myo-inositol	
Pyridoxine-HCl	
Nicotinik Asit	
Amino asit	(Murashige ve Skoog,1962) (mg/L)
Thiamine-HCl	0,4
Glycine	2,0
Diğer	
Sakkaroz(g/L)	30
Agar (g/L)	6,5
pH	5,7

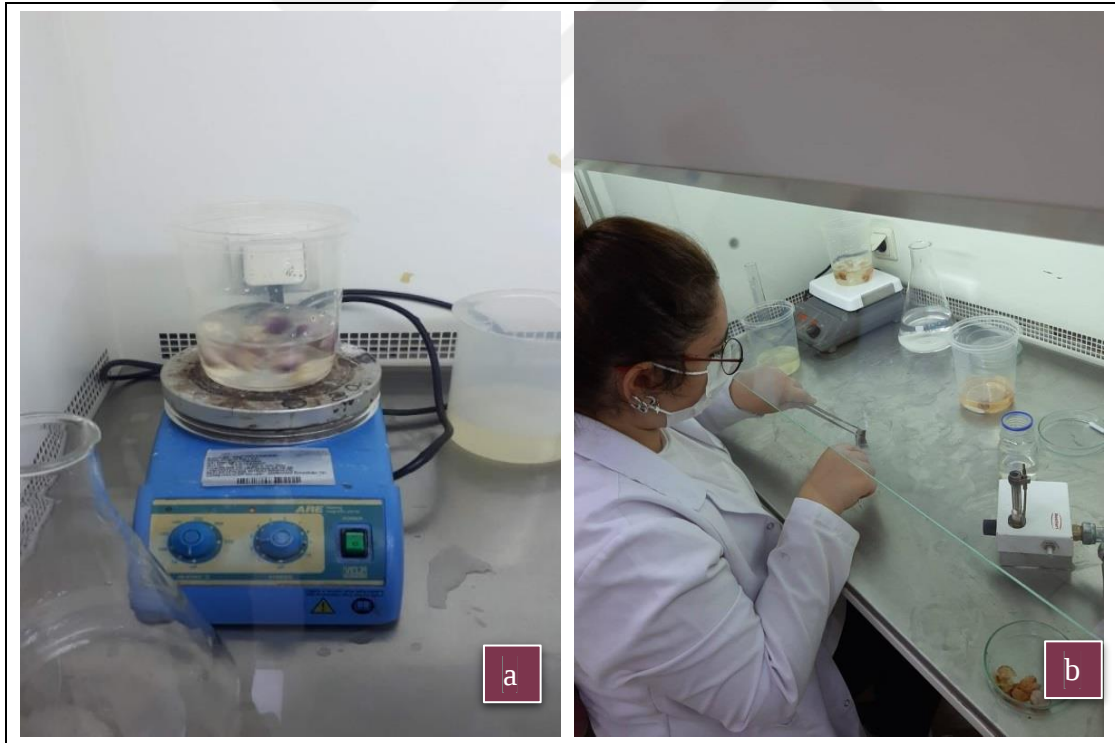
3.2.3. Sterilizasyon

Materyalin mikroorganizmalardan arındırılması ve kullanılan ekipman ve besiyerlerinin sterilizasyonu doku kültürü çalışmalarında en önemli aşamadır. Çalışmada steril koşulların sağlanması 3 basamakta gerçekleştirilmiştir;

Besin ortamı sterilizasyonu; besin ortamın sterilizasyonu otoklavda 104 kPA atmosfer basınçta ve 121 °C’de 20 dakika tutularak sağlanmıştır.

Alet ve ekipmanların sterilizasyonu; metal alet ve ekipmanların sterilizasyonunun otoklavda cam malzemelerin sterilizasyonu ise 160 °C’de 2 saat boyunca Pastör Fırını ile gerçekleştirilmiştir. Deneme steril kabin içinde gerçekleştirilmiş olup, cihazda çalışmaya başlamadan önce 15 dakika çalıştırılıp %70’lik etanol ile silinmiştir.

Bitkilerin sterilizasyonu; doku kültürlerinde en önemli aşama bitkilerin patojenlerden arındırılmasıdır. Ön çalışma amacıyla gerçekleştirilen az sayıda soğanın kullanıldığı bir deneme yapılmış ve soğanlar farklı konsantrasyonlarda (%10, 15, 20, 25, 30, 35,40'lık (v/v)) sodyum hipoklorit (%5 NaOCl) solüsyonu ile manyetik karıştırıcıda 10 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutularak en etkin konsantrasyonun belirlenmesi hedeflenmiştir. Sodyum hipokloritin zararlı etkilerini azaltmak için beşer dakika üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Sonra bu soğanlar $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de beş gün süresince MS besin ortamında bekletilmiştir. Beşinci gün sonunda soğanlardaki bulaşıklık oranı dikkate alınarak en uygun konsantrasyon % 35'lik (v/v) sodyum hipoklorit (Ace %5 NaOCl) olarak belirlenmiştir. Bu ön bilgiler ışığında çalışmada kullanılacak soğanların % 35'lik (v/v) Sodyum hipoklorit (Ace % 5 NaOCl) solüsyonu ile manyetik karıştırıcıda bir kez 10 dk boyunca yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmasına ve beşer dakika üç kez steril saf su ile durulanmasına karar verilmiştir (Resim 3.5).

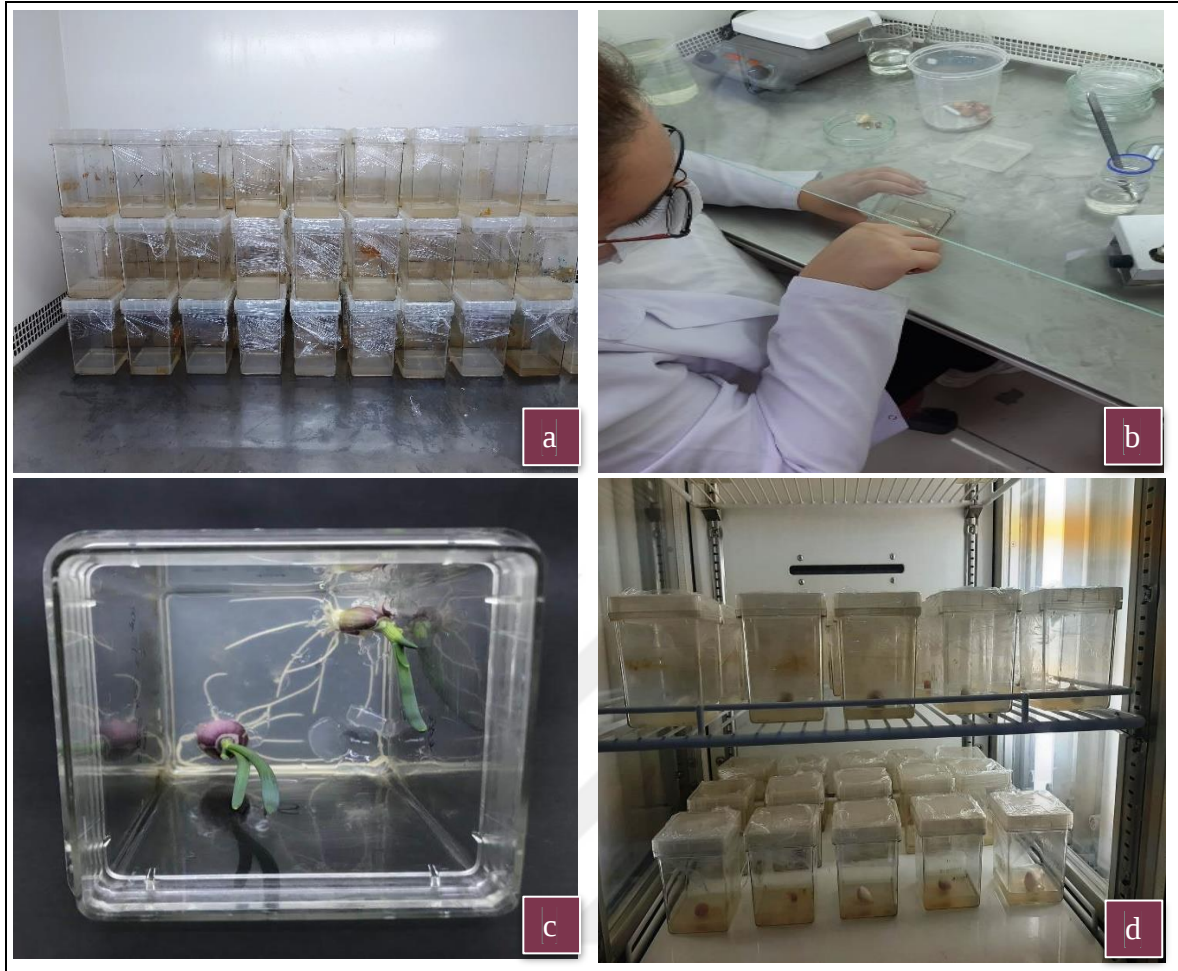


Resim 3.5. (a-b) *Allium cepa*'ların sterilizasyonu (Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Laboratuvarı 2)

3.2.4. *Allium cepa* 'nın köklendirilmesi

Steril edilen soğanlar, hazırlanmış olan MS besiyerine aktarılmış ve kültürler oluşturulmuştur. Soğanlar steril bistüri ve pens ile yardımıyla çamaşır suyundan zarar gören dış pullar kesilerek, steril magentalara aktarılmıştır. Kontaminasyon riskini azaltmak için soğanlar her magentada 2'şerli olacak şekilde koyulmuştur. Tüm bu işlemler steril kabin içinde gerçekleştirilmiştir.

Tüm kültürler Philips beyaz floresan ışığı (Preheat Daylight - 42 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$) altında 24 ± 2 °C'de beş gün süresince MS ortamında bekletilmiştir (Preheat Daylight - 42 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$). 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyodunda kök uzunluğu 1,5 - 2 cm olana kadar bekletilmiş (Resim 3.6) ve deneyin konsantrasyon ekleme aşamasında geçilmiştir. Çalışma sırasında magentalar konsantrasyonlarına ve uygulama şekillerine göre etiketlenilmiştir.

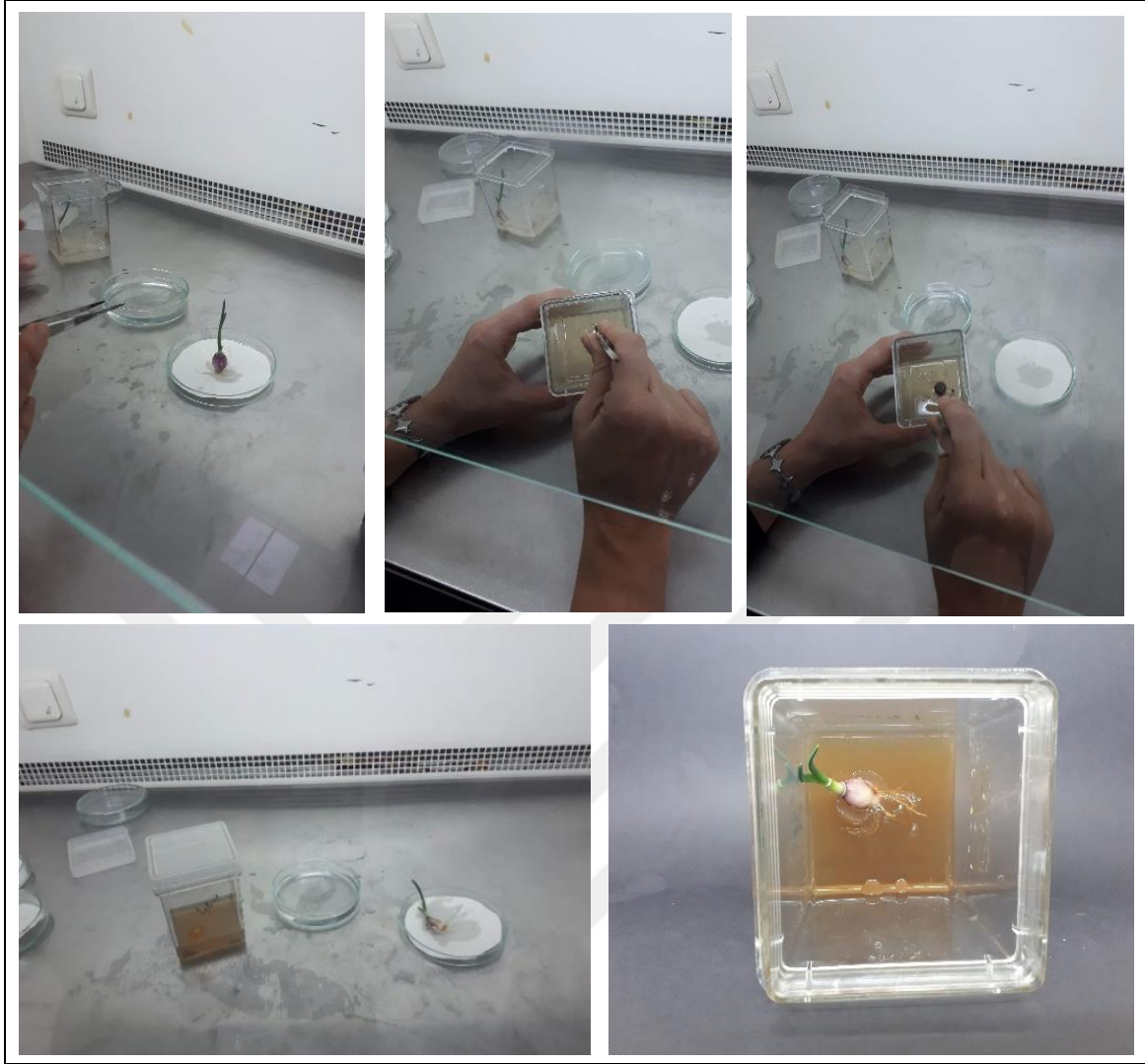


Resim 3.6. Soğanın (*A. cepa*) köklendirilmesinde (a) steril kabin çalışması, (b) köklenen bitkilerin (*A. cepa*) ortama aktarılması (c-d) köklenen *A. cepa*'ların görüntüsü (Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Laboratuvarı 2)

3.2.5. Test materyallerinin *Allium cepa*'ya uygulanması

Genotoksisite Uygulaması; MS besiyeri üzerinde köklenen soğanlar, MS ortamından çıkartılarak steril distile su ile yıkanarak köklerinden agarlar uzaklaştırılmıştır. Genotoksisite uygulaması için vermikompostun beş farklı (5000, 10000, 20000, 40000 ve 80000 $\mu\text{g/mL}$) konsantrasyonunu içeren MS besin ortamına 24 ve 48 saatlik uygulama sürelerince aktarılmıştır (Resim 3.7).

Negatif kontrol grubu olarak herhangi bir vermikompost konsantrasyonu içermeyen MS besin ortamı kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak Hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılmıştır. Her bir konsantrasyon için 4 soğan kullanılmıştır.



Resim 3.7. Çimlenmiş soğanların (*A. cepa*) vermikompost konsantrasyonları içeren besi ortamlarına aktarılması (Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Laboratuvarı 2)

Antigenotoksisite Uygulaması; Antigenotoksik etkilerin belirlenmesinde hidrojen peroksit (H_2O_2) (Pozitif Kontrol) mutajen olarak kullanılmıştır. MS besin ortamında köklendirilen *Allium cepa*'ya, sıvı vermikompostun beş farklı (5000, 10000, 20000, 40000 ve 80000 $\mu g/mL$) konsantrasyonları MS besin ortamında H_2O_2 ile birlikte uygulanmıştır.



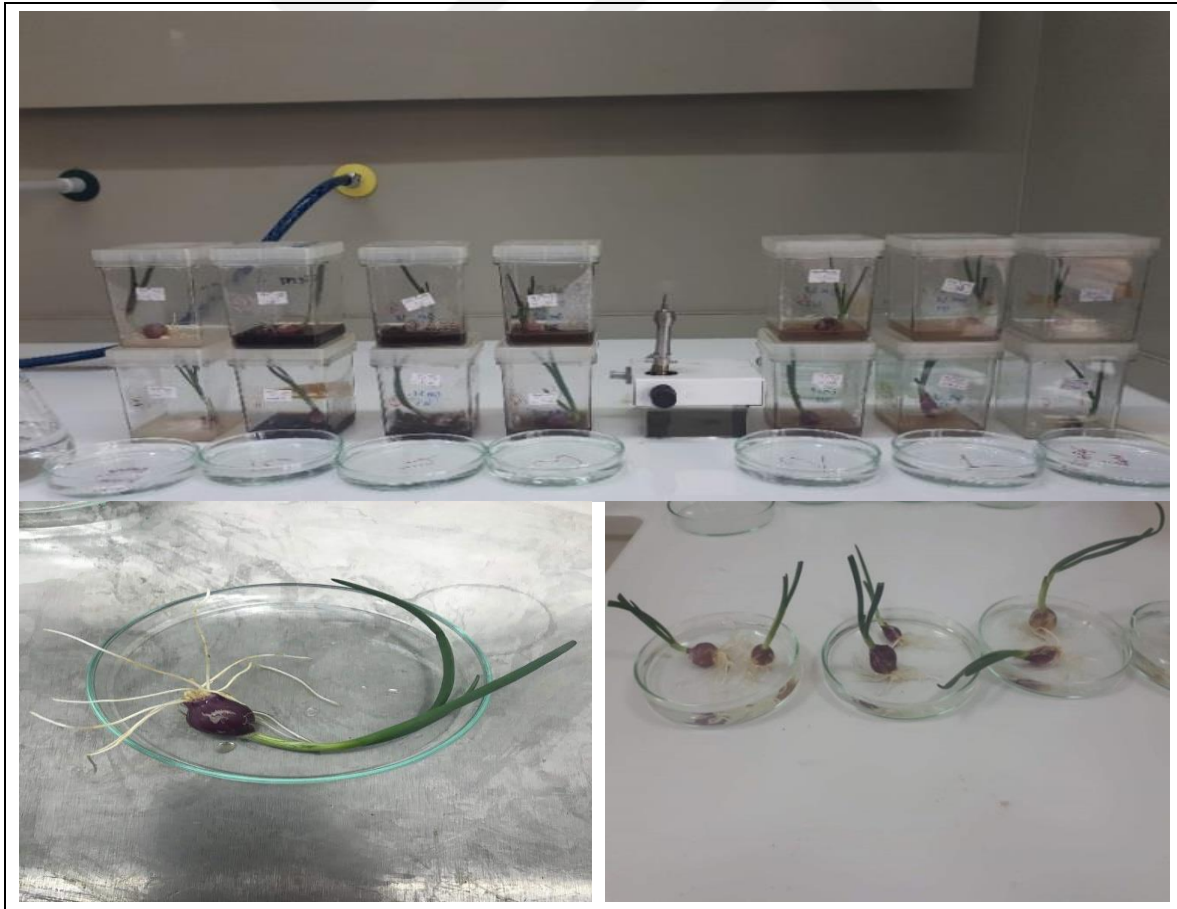
Resim 3.8. Antigenotoksisite çalışmasından görüntüler (Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Laboratuvarı 2)

Antigenotoksisite çalışması iki uygulama tipi (ön muamele-geç muamele) ile yapılmıştır. Ön muamelede, önce vermikompostun konsantrasyonları MS besin ortamında soğanlara uygulanmış, son 1 saatte ise %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren MS ortamına aktarılmıştır. Geç muamelede soğanlar 1 saat %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren MS ortamına aktarılmış sonrasında sırasıyla 24 ve 48 saatlik uygulamalar için, 23 ve 47 saatlik vermikompostun konsantrasyonları içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. Her bir

konsantrasyon için 4 soğan kullanılmıştır (Resim 3.8). Negatif kontrol grubu olarak vermikompost konsantrasyonu içermeyen MS besin ortamı kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılmıştır.

3.2.6. Kök uçlarının alınması

Hücre kültürünün son aşaması kültüre edilen soğan köklerinin alınıp depolanmasıdır (Resim 3.9). Bu aşama soğan köklerinin vejetatif kısımları korunarak gerçekleştirilmiştir. Sonrasında genotoksik ve antigenotoksik etkileri belirlemek için her bir soğana ait kök uçları ayrı ayrı isimlendirilen tüplere aktarılmıştır. Tüpe konulan kökler “Clarke” çözeltisinde (3:etanol / 1:glacial asetik asit) fikse edilmiş, bir gece süreyle buzdolabında bekletilmiştir. Tespit işlemi gerçekleştirilen kök uçları %70’lik alkolde $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ’de saklanmıştır. Bu kök uçları mitotik indeks ve mitozdaki anormalliklerin belirlenmesinde kullanılmıştır.

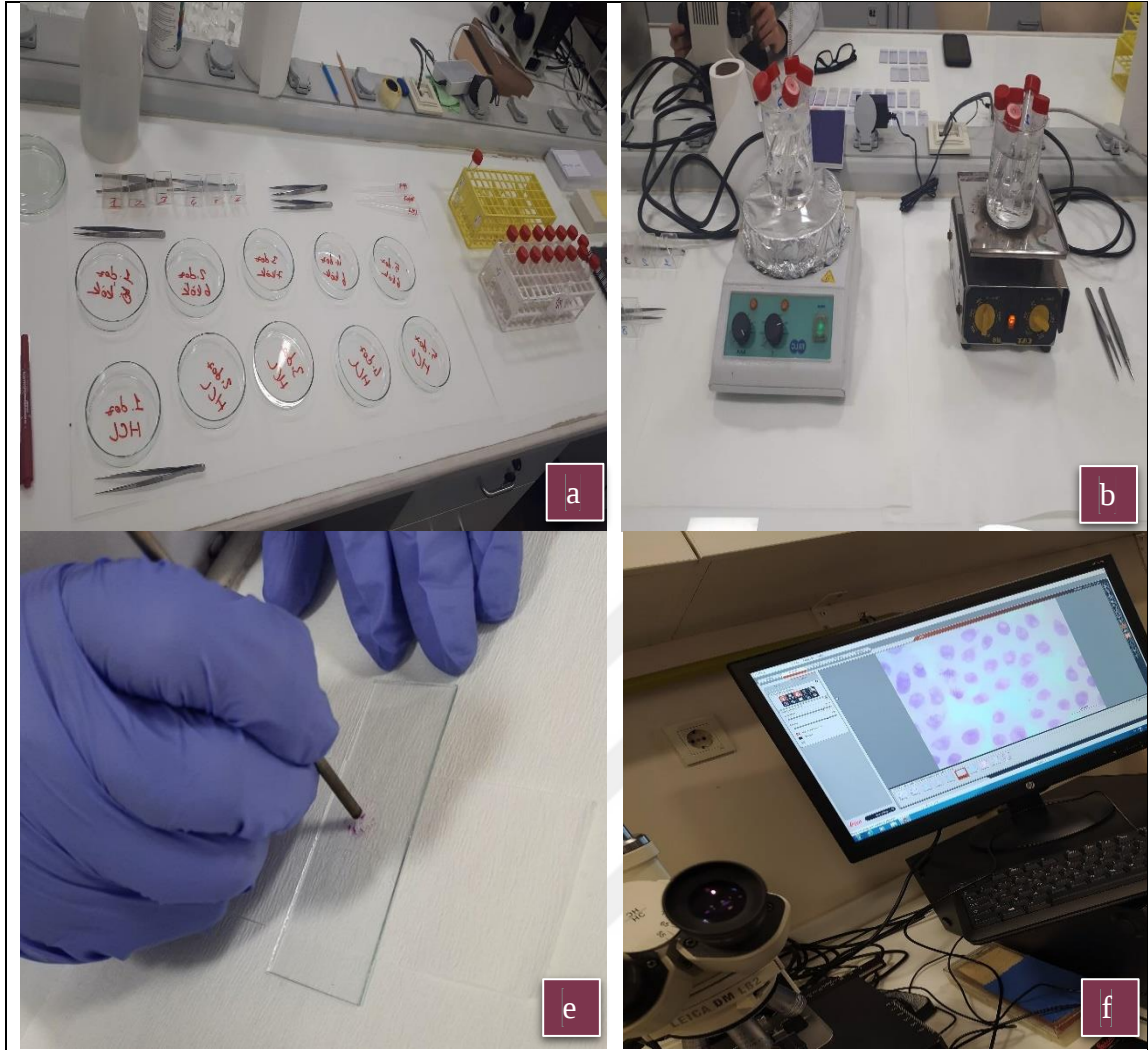


Resim 3.9. Hücre kültürünün son aşaması olan kök uçlarının alınması (Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Laboratuvarı 2)

3.2.7. Preparatların hazırlanması

Preparatlar Feulgen metoduna göre hazırlanmıştır (Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2003). Bunun için her bir konsantrasyonun farklı soğanlarından alınan onar adet kök ucu kullanılmıştır. Kök uçları 60 °C'de 11 dakika 1 N HCl içinde hidroliz edilmiştir. Daha sonra Feulgen boyasında altmış dakika süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kök uçlarının koyu boyanan 2-3 mm'lik uç kısımlarından %45'lik asetik asit ile ezme preparatlar hazırlanmıştır. Yapılan preparatlar mikroskopta incelemenin ardından sıvı azotta dondurulduktan sonra lamelleri kaldırılmıştır. 1 gün boyunca oda sıcaklığında kurutulan preparatların üzerine entellan damlatıldıktan sonra yeni bir lamel kapatılarak daimi hale getirilmiştir. İncelemeler ışık mikroskopunda 40x ve 100x büyütmede gerçekleştirilmiştir. Ayrıca normal fazlar ve anormalliklerin fotoğrafları çekilmiştir (Resim 3.10).

Her bir konsantrasyon için her bir kökten 1000 hücre incelenmiştir. Tüm konsantrasyonlar için mitotik indeks yani bölünen hücrelerin toplam hücrelere oranı (%) belirlenmiştir. Mitozun tüm safhalarındaki hücre sayıları tespit edilerek, anormal safhalar ve bunların frekansları belirlenmiştir. Ayrıca yaygın olarak görülen anormalliklerin fotoğrafları çekilmiştir. Mitotik indeks değerlerinin analizinde z testi, mitotik fazların oranları ve mitotik anormallik değerlerinin analizinde ise χ^2 testi kullanılmıştır.



Resim 3.10. (a-e) Preparatların hazırlanma aşamaları ve (f) hazırlanan preparatların görüntülenmesi (Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Genetik Labratuvarı)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Ön Deneme Sonuçları

Kullanılacak uygun konsantrasyonların belirlenebilmesi için ön deneme yapılmış ve her bir konsantrasyon için yalnızca 5 preparat değerlendirilmiştir. Vermikompostun bu ön çalışmada elde edilen mitotik indeks değerleri Çizelge 4.1. de sunulmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Ön denemede elde edilen mitotik indeks değerleri

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Mİ $\pm$ SH
Negatif kontrol	18,70 $\pm$ 1,23
Pozitif kontrol	8,74 $\pm$ 0,89
5000	19,16 $\pm$ 1,24
10000	15,88 $\pm$ 1,15
20000	18,42 $\pm$ 1,22
40000	16,88 $\pm$ 1,18
80000	21,60 $\pm$ 1,30
160000	14,80 $\pm$ 1,12
Mİ: Mitotik İndeks SH: Standart Hata	

Çalışmada vermikompostun hem genotoksik hem de antigenotoksik etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmanın konsantrasyonlarını belirlemek için ön denemeler yapılmış ve uygun konsantrasyonların seçilmesinde mitotik indeks değerleri göz önünde bulundurulmuştur. Bu veriler ışığında 5000-80000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığı çalışma konsantrasyonları olarak belirlenmiştir. 160000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyon kontrole göre en çok mitotik indeksi düşüren konsantrasyon olması nedeniyle elenmiştir.

4.2. Vermikompostun Genotoksisite Uygulamalarında Mitotik İndeks ve Mitotik Faz Frekanslarına Etkileri

4.2.1. Genotoksisite uygulamaları

Ön denemeler ile belirlenen konsantrasyonlar kullanılarak deney düzeneği oluşturulmuş ve vermikompostun *A. cepa* kök uçlarına uygulanmasında elde edilen mitotik indeks değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

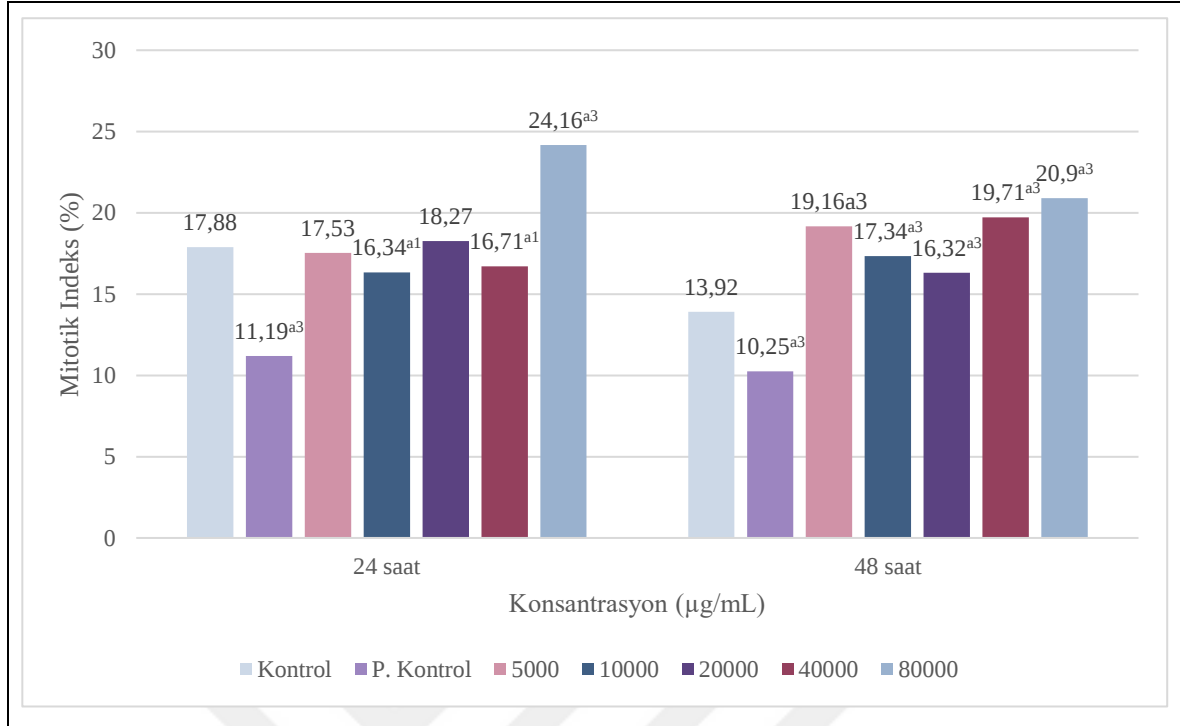
Çizelge 4.2. Vermikompost uygulanmış *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik faz frekansları

Uygulama süresi (saat)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)		Bölünen hücre sayısı	Mitotik Faz (%)				Mİ (%) $\pm$ SH
				Profaz %	Metafaz %	Anafaz %	Telofaz %	
24	Kontrol	-	1788	87,52	6,65	2,40	3,41	17,88 $\pm$ 1,21
	Pozitif Kontrol (H_2O_2)	%3	1119	88,20	6,34	3,22	2,24	11,19 $\pm$ 1,00 ^{a3}
	Vermikompost	5000	1753	79,74	11,86	4,44	3,93	17,53 $\pm$ 1,20
		10000	1634	85,67	8,32	3,24	2,75	16,34 $\pm$ 1,17 ^{a1}
		20000	1827	82,81	9,85	4,59	2,72	18,27 $\pm$ 1,22
		40000	1671	84,73	7,83	3,77	3,65	16,71 $\pm$ 1,18 ^{a1}
		80000	2416	83,09	7,51	3,37	4,18	24,16 $\pm$ 1,35 ^{a3}
48	Kontrol	-	1392	82,61	7,83	5,45	4,09	13,92 $\pm$ 1,09
	Pozitif Kontrol (H_2O_2)	%3	1025	81,46	11,41	1,85	5,26	10,25 $\pm$ 0,96 ^{a3}
	Vermikompost	5000	1916	83,99	7,87	3,75	3,80	19,16 $\pm$ 1,24 ^{a3}
		10000	1734	84,42	7,84	3,51	4,21	17,34 $\pm$ 1,19 ^{a3}
		20000	1632	85,66	7,11	3,98	3,24	16,32 $\pm$ 1,17 ^{a3}
		40000	1971	88,28	5,07	3,19	3,45	19,71 $\pm$ 1,26 ^{a3}
		80000	2090	89,37	4,83	2,98	2,87	20,90 $\pm$ 1,28 ^{a3}

^{a1}Kontrolle göre $p<0.05$ düzeyde anlamlı (z test), ^{a2}Kontrolle göre $p<0.01$ düzeyde anlamlı (z test), ^{a3}Kontrolle göre $p<0.001$ düzeyde anlamlı (z test), Mİ: Mitotik İndeks, SH: Standart Hata

24 saatlik uygulamada mitotik indeks kontrol grubunda 17,88 $\pm$ 1,21'dir. Pozitif kontrol uygulamasına alınan *A. cepa* kök ucu hücrelerinin mitotik indeks değeri 11,19 $\pm$ 1,00 bulunmuştur. En yüksek mitotik indeks değeri 80000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda gözlemlenmiştir. Mitotik indeks kontrole göre 10000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik, 40000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda anlamlı bir şekilde azalırken, 80000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda ise anlamlı bir şekilde artmıştır.

48 saatlik uygulamada, pozitif kontrol uygulamasına alınan *A. cepa* kök ucu hücrelerinin mitotik indeks değeri 10,25 $\pm$ 0,96 bulunmuştur. En yüksek mitotik indeks 24 saatlik çalışmada olduğu gibi 80000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyon da bulunmuştur. Vermikompostun bütün konsantrasyonları mitotik indeks değerlerini kontrole göre anlamlı oranda artmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Vermikompost uygulaması sonucunda *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks değişiklikleri

Vermikompostun mitotik fazlar üzerindeki etkisi incelendiğinde 24 ve 48 saatlik uygulamalarda mitotik fazlardaki değişiklikler kontrole göre anlamlı değildir. 24 saatlik uygulamada bütün konsantrasyonlarda profaz frekansı kontrole göre azalmıştır. 48 saatlik uygulamada ise bütün konsantrasyonlar için profaz frekansında bir artış gözlemlenmiştir. Metafaz frekansı 24 saatlik uygulamada artış gösterirken, 48 saatlik uygulamada 5000 ve 10000 µg/mL’lik konsantrasyonlar haricinde bütün konsantrasyonlar da düşüş göstermiştir. 24 saatlik uygulamada anafaz frekansı kontrole göre bütün konsantrasyonlarda artış göstermiştir. 48 saatlik uygulamada anafaz frekansı kontrole göre bütün konsantrasyonlarda düşmüştür. 24 saatlik uygulamada telofaz frekansı 10000 ve 20000 µg/mL’lik konsantrasyonlarda azalmış ve diğer konsantrasyonlarda artmıştır. 48 saatlik uygulamada telofaz frekansı ise 10000 µg/mL’lik konsantrasyonunda artış gösterirken diğer konsantrasyonlarda azalmıştır. Kontrole oranla gözlenen değişikliklerin hiç biri anlamlı düzeyde değildir (Çizelge 4.2).

4.2.2. Vermikompostun genotoksisite uygulamalarında gözlenen mitotik anormallik tipleri ve oranları

Vermikompostun *A. cepa* kromozomlarında ve mitoz bölünmede hasara neden olup olmadığının kontrol edilmesi amacıyla gerçekleştirilen genotoksisite çalışması sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Toplam anormallik yüzdeleri 24 saatlik uygulamada 0.76 ile 1.71 arasında değişirken; 48 saatlik uygulamada ise 0.72 ile 1.43 arasında değişmektedir. 24 ve 48 saatlik genotoksisite uygulamalarında görülen anormallik sıklığı sırasıyla C-metafaz (%26,26), metafazda yapışıklık (%23,31), anafaz- telofazda köprü (%14,56), anafazda fragment (%14,08), ileri- geri kalmış kalmış kromozom (%9,51), multipolarlık (%7,71), star anafaz (%2,09), metafazda fragment (%1,90) ve yapısı bozulmuş profazdır (%0,57). Genotoksisite uygulamalarında en fazla karşılaşılan anormallik tipi C-metafaz’dır.

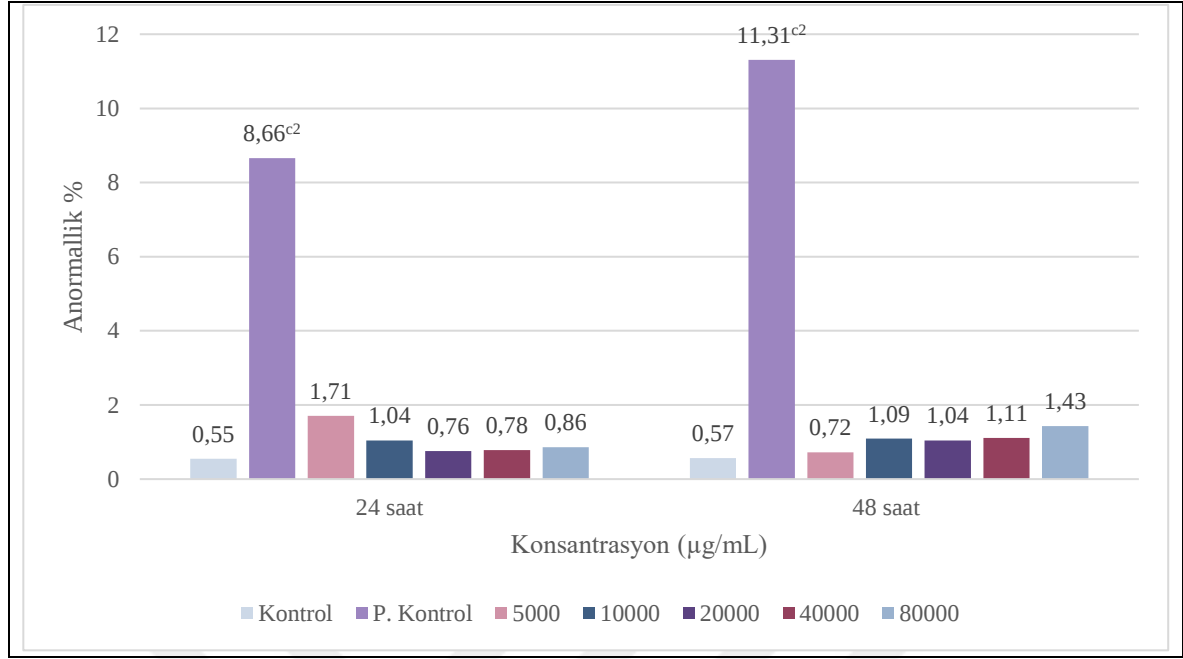
24 saatlik uygulama için kontrol grubu % anormallik oranı 0,75 iken pozitif kontrol için anormalik oranı 8,66’dır. 48 saatlik uygulamada ise kontrol grubu % anormallik oranı 0,57 iken pozitif kontrol için anormali oranı 11,31’dır. 24 ve 48 saatlik uygulamalarında interfaz safhasında hiçbir anormalliğe rastlanmamıştır. Vermikompost uygulamasında bütün konsantrasyonlarda düşük miktarda mitotik anormalliklere rastlanmış olmakla birlikte kontrole kıyasla anlamlı düzeyde bir değişiklik belirlenmemiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.2, Resim 4.1).

Çizelge 4.3. Vermikompostun genotoksik etkilerinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları (24-48 saat)

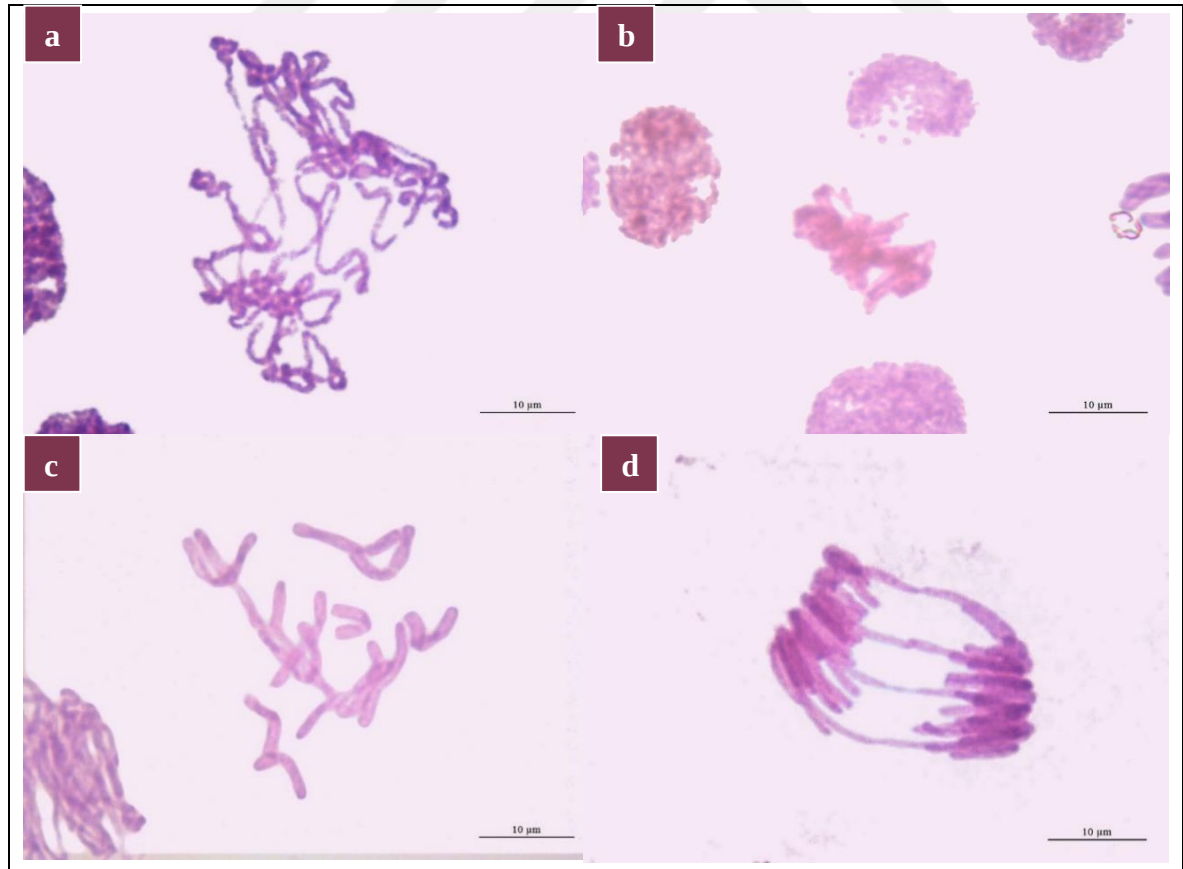
Uygulama Süresi (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)		Bölünen hücre sayısı	Profaz-Metafaz				Anafaz-Telefaz					Total Anormallik (%)
				Yapısı bozulmuş profaz	C-metafaz	Yapışıklık	Fragment	İleri/Geri kalmış kromozom	Anafaz / Telofaz Köprü	Star Anafaz	Anafazda Fragment	Multipolarlık	
24	Kontrol	-	1788	-	0,17	0,22	-	0,05	0,11	-	-		0,55
	Pozitif Kontrol (H ₂ O ₂)	%3	1043	0,18	2,00	3,40	-	2,01	0,71	-	-	0,36	8,66 ^{c2}
	Vermikompost	5000	1753	0,06	0,80	0,34	0,06	0,18	0,06	-	0,15	0,06	1,71
		10000	1634	-	0,18	0,18	-	-	0,25	-	-	0,43	1,04
		20000	1827	-	0,22	0,05	-	0,11	0,16	-	0,22	-	0,76
		40000	1671	-	0,30	0,12	-	-	0,18	0,06	0,06	0,06	0,78
		80000	2416	-	0,24	0,16	0,08	0,08	-	-	0,28	-	0,86
48	Kontrol	-	1392	-	0,14	0,07	-	0,14	0,14	0,07	-		0,57
	Pozitif Kontrol (H ₂ O ₂)	%3	1025	0,29	3,32	5,27	0,39	1,66	-	0,19	-	0,19	11,31 ^{c2}
	Vermikompost	5000	1916	-	0,10	0,37	-	-	0,10	0,05	0,10	-	0,72
		10000	1734	-	0,12	0,34	0,06	0,12	0,23	-	0,06	0,16	1,09
		20000	1632	-	0,12	0,31	-	0,12	0,06	0,06	0,37	-	1,04
		40000	1971	-	0,30	0,25	-	0,15	0,25	-	0,05	0,10	1,11
		80000	2090	-	0,38	0,33	-	0,24	0,24	0,05	0,19	-	1,43
Toplam anormallik sıklığı (%)				0,57	26,26	23,31	1,90	9,51	14,56	2,09	14,08	7,71	

^{c1}Kontrolle göre p<0.05 düzeyde anlamlı (χ2 testi), ^{c2} Kontrolle göre p<0.01 düzeyde anlamlı (χ2 testi), ^{c3}Kontrolle göre p<0.001 düzeyde anlamlı (χ2 testi).

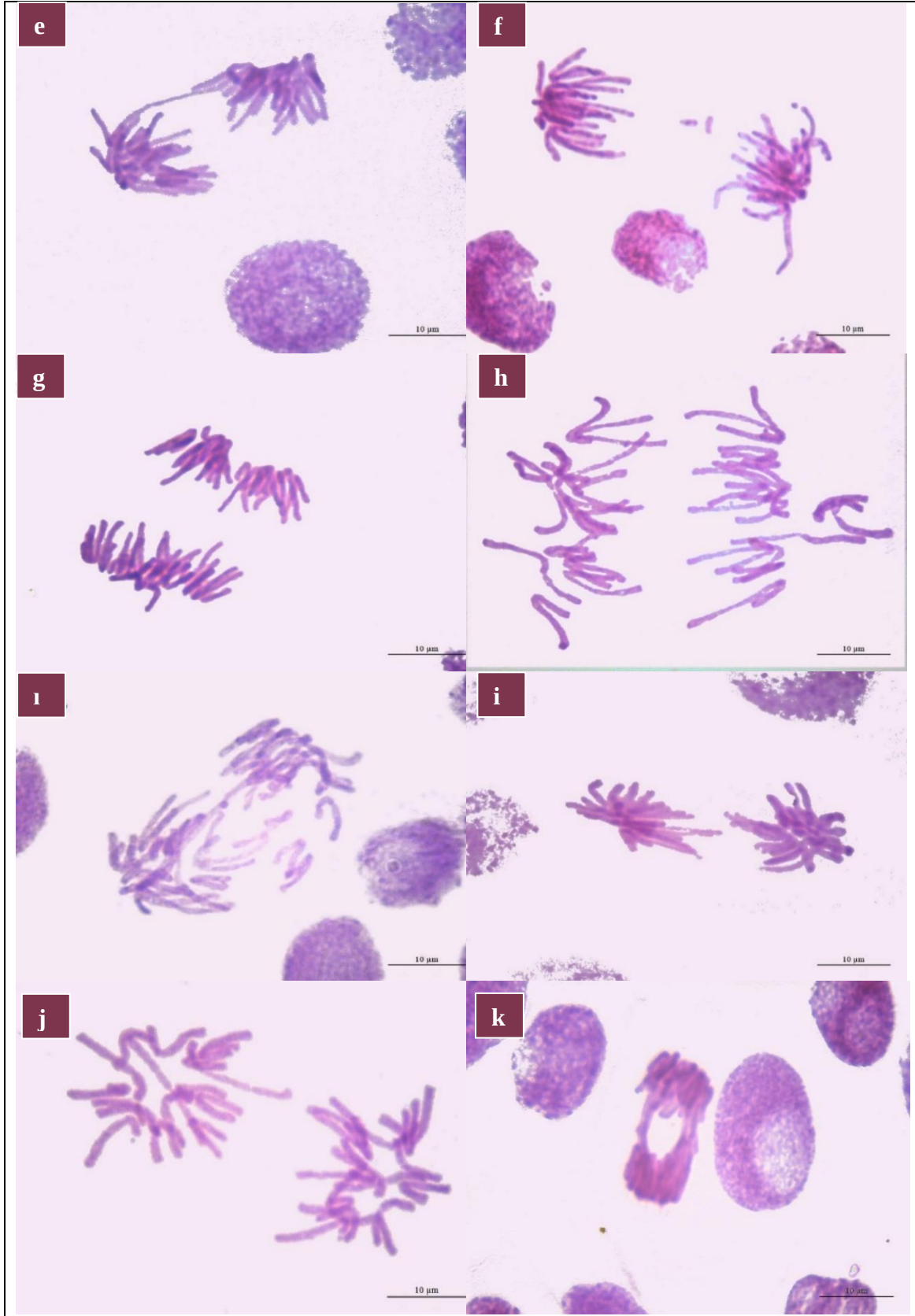
^{c1}Kontrolle göre p<0.05 düzeyde anlamlı (χ^2 testi), ^{c2} Kontrolle göre p<0.01 düzeyde anlamlı (χ^2 testi), ^{c3}Kontrolle göre p<0.001 düzeyde anlamlı (χ^2 testi).



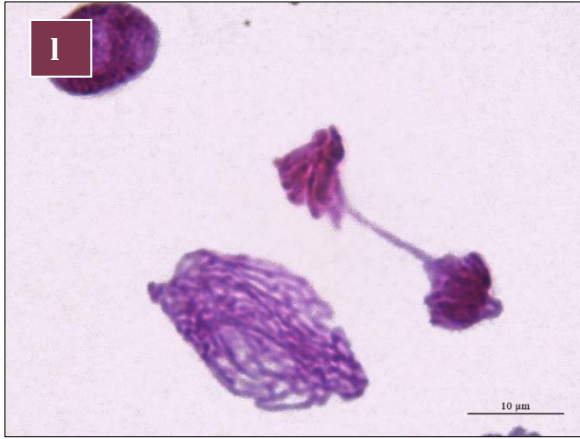
Şekil 4.2. Vermikompostun farklı konsantrasyonlarda genotoksik etkisinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik ve oranları



Resim 4.1. Vermikompost uygulaması sonucunda *A. cepa* kök ucu hücrelerinde görülen anormallikler a) Yapısı bozulmuş profaz b) Metafazda yapışıklık c) C-metafaz d) Anafazda köprü



Resim 4.2. (devam) Vermikompost uygulaması sonucunda *A. cepa* kök ucu hücrelerinde görülen anormallikler e) Anafazda köprü f) Anafazda fragment g) Multipolarlık h) Anafazda ileri gitme ı) Anafazda geri gitme-kalma i-j) Star anafaz k) Telofazda köprü



Resim 4.3. (devam)Vermikompost uygulaması sonucunda *A. cepa* kök ucu hücrelerinde görülen anormallikler 1) Telofazda köprü

4.3. Vermikompostun Antigenotoksisite Uygulamalarında Mitotik İndeks ve Mitotik Faz Frekanslarına Etkileri

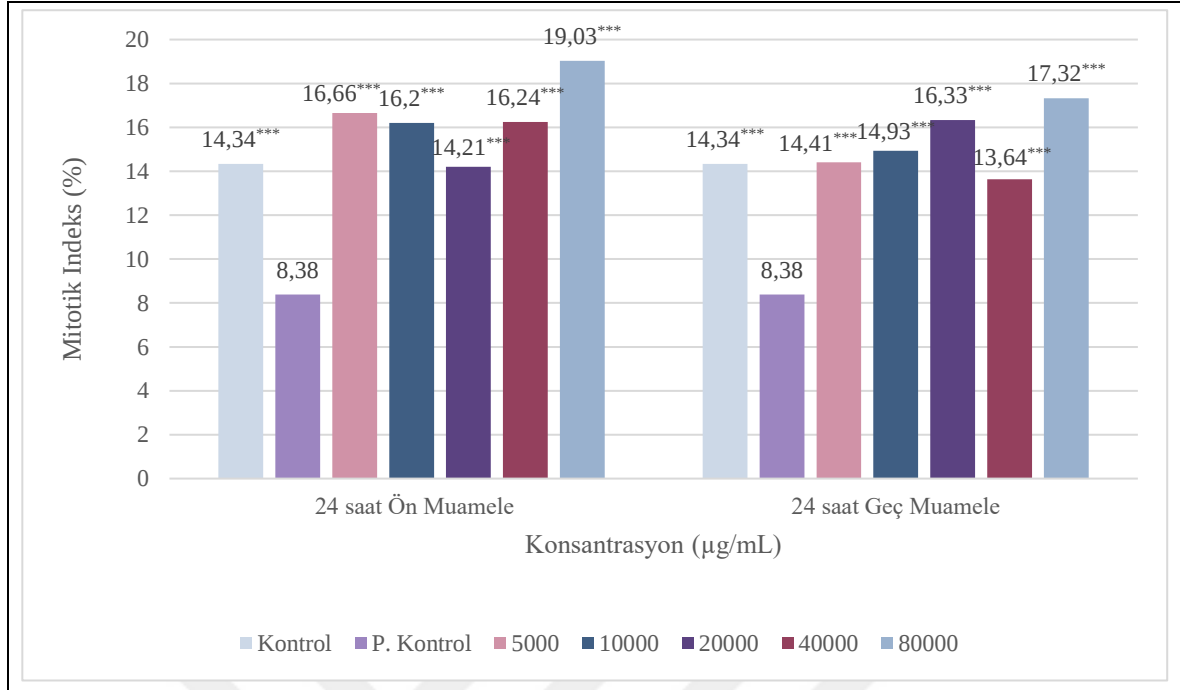
4.3.1. Antigenotoksisite 24 saat ön muamele ve geç muamele uygulamaları

24 saatlik antigenotoksisite uygulaması ön muamele ve geç muamele olmak üzere 2 farklı şekilde gerçekleştirilmiştir. Antigenotoksisite deneylerinin sonuçları incelendiğinde ön muamele uygulamasında vermikompostun *A. cepa* kromozomları üzerinde koruyucu etkisi gözlemlenirken, geç muamele uygulamasında ise *A. cepa* kromozomları üzerinde iyileştirici etkisi gözlemlenmektedir. Vermikompostun 24 saatlik antigenotoksisite uygulamasında elde edilen mitotik indeks sonuçları Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Vermikompostun ön muamele ve geç muamele uygulamalarında *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik faz frekansları (24 saat)

Uygulama süresi (saat)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)		Bölünen hücre sayısı	Mitotik Faz (%)				Mİ (%) $\pm$ SH
				Profaz %	Metafaz %	Anafaz %	Telofaz %	
24 (ÖM-GM)	Kontrol	-	1434	78,24	11,85	5,23	4,68	14,34 $\pm$ 1,11***
	Pozitif Kontrol (H_2O_2)	%3	838	78,04	12,52	4,41	5,01	8,38 $\pm$ 0,88
24 (ÖM)	Vermikompost + H_2O_2 (%3)	5000	1666	81,88	11,89	3,24	3,01	16,66 $\pm$ 1,18***
		10000	1620	74,50	16,30	4,14	5,06	16,20 $\pm$ 1,16***
		20000	1421	80,23	11,26	4,36	3,45	14,21 $\pm$ 1,10***
		40000	1624	83,12	10,47	3,51	2,83	16,24 $\pm$ 1,17***
		80000	1903	79,09	11,77	3,89	5,15	19,03 $\pm$ 1,24***
24 (GM)	Vermikompost + H_2O_2 (%3)	5000	1441	79,74	12,14	3,33	4,79	14,41 $\pm$ 1,11***
		10000	1493	86,60	8,31	3,15	1,94	14,93 $\pm$ 1,13***
		20000	1633	81,45	11,83	3,37	4,10	16,33 $\pm$ 1,17***
		40000	1364	83,43	9,90	3,74	2,93	13,64 $\pm$ 1,08***
		80000	1732	83,66	9,76	3,52	3,06	17,32 $\pm$ 1,20***
*Pozitif Kontrole göre $p<0.05$ düzeyinde anlamlı (z testi), **Pozitif Kontrole göre $p<0.01$ düzeyinde anlamlı (z testi), ***Pozitif Kontrole göre $p<0.005$ düzeyinde anlamlı (z testi) ÖM: Ön Muamele, GM: Geç Muamele, Mİ: Mitotik İndeks, SH: Standart Hata, PK: Pozitif Kontrol								

24 saatlik ön ve geç muamele uygulamasında mitotik indeks kontrol grubu değeri 14,34 $\pm$ 1,11'dir. 23 saatlik MS uygulamasından sonra 1 saat H_2O_2 pozitif kontrol uygulamasına alınan *A. cepa* kök ucu hücrelerinin mitotik indeks değeri 8,38 $\pm$ 0,88 bulunmuştur. Ön ve geç muamelede en yüksek mitotik indeks değeri 80000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda gözlemlenmiştir. Ön ve geç muamele uygulamalarında mitotik indeks pozitif kontrole göre bütün konsantrasyonlarında anlamlı bir artış göstermiştir (Çizelge 4.4; Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Vermikompostun 24 saatlik antigenotoksisite uygulaması sonucunda *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeksteki değişiklikler

Vermikompostun mitotik fazlar üzerindeki etkisi incelendiğinde ise 24 saatlik antigenotoksisite (ön ve geç muamele) uygulamalarında mitotik fazlardaki değişiklikler kontrole göre anlamlı değildir. 24 saatlik ön muamele uygulamasında profaz frekansı 10000 µg/mL’lik konsantrasyonu haricinde bütün konsantrasyonlarında artmıştır. Ön muamele uygulamasında metafaz frekansı 10000 µg/mL’lik konsantrasyonu haricinde düşüş göstermiştir. Anafaz frekansı tüm konsantrasyonlarda azalmıştır. Telofaz frekansı ise 10000 ve 80000 µg/mL’lik konsantrasyonlarda artış gösterirken, diğer konsantrasyonlarda düşüş göstermektedir.

Geç muamele uygulamasının bütün konsantrasyonlarında profaz frekansı artış göstermiştir. Metafaz frekansı 5000 µg/mL’lik konsantrasyon haricinde tüm konsantrasyonlarda azalmıştır. Anafaz ve telofaz frekansı değeri ise bütün konsantrasyonlarda azalmıştır.

4.3.2. Antigenotoksisite 48 saat ön muamele ve geç muamele uygulamaları

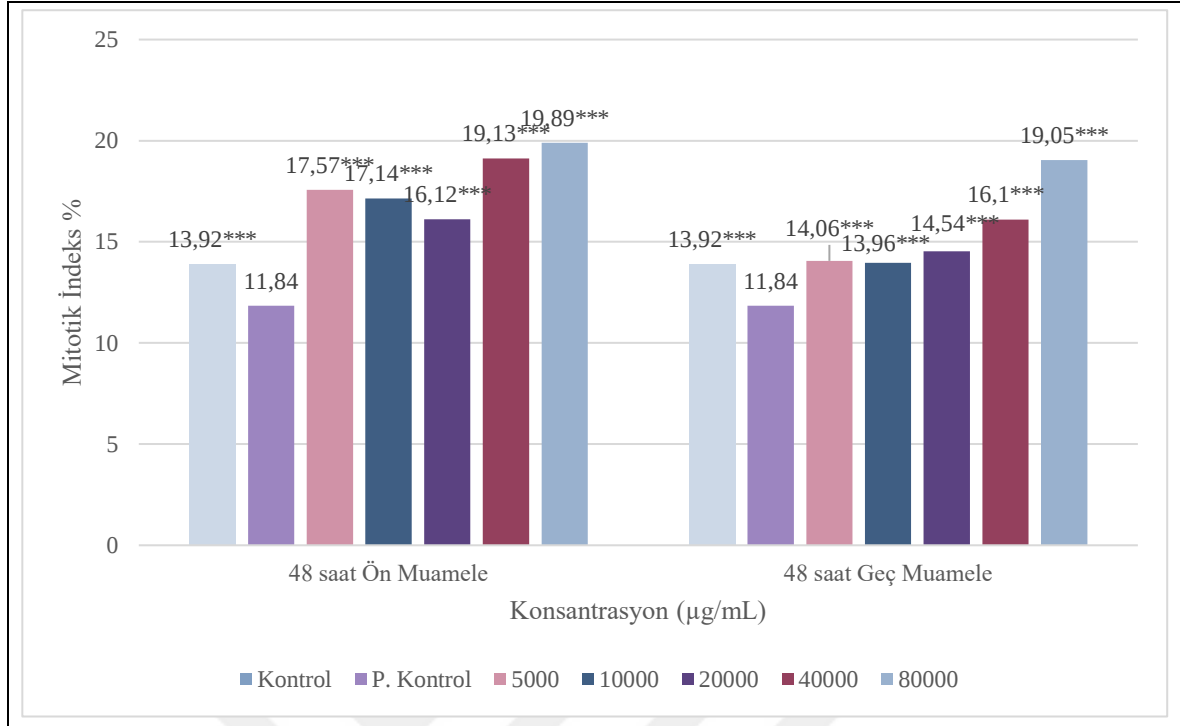
Vermikompostun 48 saatlik antigenotoksisite uygulamasında belirlenen mitotik indeks sonuçları Çizelge 4.5’de verilmiştir. Mitotik indeks kontrol grubu değeri $13,92 \pm 1,09$ ’dir. 47 saatlik MS uygulamasından sonra 1 saat H₂O₂ pozitif kontrol uygulamasına alınan *A. cepa*

kök ucu hücrelerinin mitotik indeks değeri $11,84 \pm 1,02$ bulunmuştur. En yüksek mitotik indeks değeri her iki uygulama (ön ve geç muamele) içinde 80000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda gözlemlenmiştir. Mitotik indeks kontrole göre bütün konsantrasyonlarda anlamlı artış göstermiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.4).

Çizelge 4.5. Vermikompostun ön muamele ve geç muamele uygulamalarında antigenotoksik etkilerinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik faz frekansları (48 saat)

Uygulama süresi (saat)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)		Bölünen hücre sayısı	Mitotik Faz (%)				Mİ (%) $\pm$ SH
				Profaz %	Metafaz %	Anafaz %	Telofaz %	
48 (ÖM-GM)	Kontrol	-	1392	82,61	7,83	5,45	4,09	$13,92 \pm 1,09^{***}$
	Pozitif Kontrol (H_2O_2)	%3	1184	83,36	9,12	4,05	3,46	$11,84 \pm 1,02$
48 (ÖM)	Vermikompost	5000	1757	86,96	8,48	2,95	2,84	$17,57 \pm 1,20^{***}$
	+	10000	1714	82,61	10,90	3,73	2,74	$17,14 \pm 1,19^{***}$
	H_2O_2 (%3)	20000	1612	84,98	10,30	3,03	2,85	$16,12 \pm 1,16^{***}$
		40000	1913	85,72	8,93	3,24	2,09	$19,13 \pm 1,24^{***}$
		80000	1989	87,07	9,80	2,61	2,61	$19,89 \pm 1,26^{***}$
48 (GM)	Vermikompost	5000	1406	89,75	7,53	2,34	1,84	$14,06 \pm 1,10^{***}$
	+	10000	1396	89,97	6,44	2,57	1,71	$13,96 \pm 1,09^{***}$
	H_2O_2 (%3)	20000	1454	91,54	5,50	1,78	1,16	$14,54 \pm 1,11^{***}$
		40000	1610	89,81	6,58	2,54	1,30	$16,10 \pm 1,16^{***}$
		80000	1905	89,18	7,40	2,09	1,31	$19,05 \pm 1,24^{***}$

*Pozitif Kontrole göre $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı (z testi), **Pozitif Kontrole göre $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı (z testi), ***Pozitif Kontrole göre $p < 0.005$ düzeyinde anlamlı (z testi) ÖM: Ön Muamele, GM: Geç Muamele, Mİ: Mitotik İndeks, SH: Standart Hata, PK: Pozitif Kontrol



Şekil 4.4. Vermikompostun 48 saatlik antigenotoksisite uygulaması sonucunda *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeksteki değişiklikler

48 saatlik ön muamele uygulamasında mitotik profaz frekansı incelendiğinde pozitif kontrole göre 10000 µg/mL’lik konsantrasyon haricinde diğer uygulamalarda artış söz konusudur. Metafaz frekansı 5000 ve 40000 µg/mL’lik konsantrasyon haricinde diğer uygulamalarda artış göstermiştir. Anafaz ve telofaz frekansı kontrole göre bütün konsantrasyonlarda düşüş göstermiştir. 48 saat geç muamele uygulamasında bütün konsantrasyonların profaz frekansında artış görülmüştür. Metafaz, anafaz ve telofaz frekansları bütün konsantrasyonlarda pozitif kontrole göre azalmıştır (Şekil 4.4). Vermikompostun mitotik fazlar üzerindeki etkisi incelendiğinde ise ön ve geç muamelede istatistiksel düzeyde anlamlı sonuç elde edilmemiştir.

4.3.3. Vermikompostun antigenotoksisite uygulamalarında neden olduğu mitotik anormallik tipleri ve oranları

Vermikompostun *A. cepa* kromozomları üzerine iyileştirici ve koruyucu etkisi gerçekleştirilen antigenotoksisite uygulaması ile incelenmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Vermikompostun ön muameleme ve geç muamele uygulamalarında antigenotoksik etkilerinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları (24 saat);

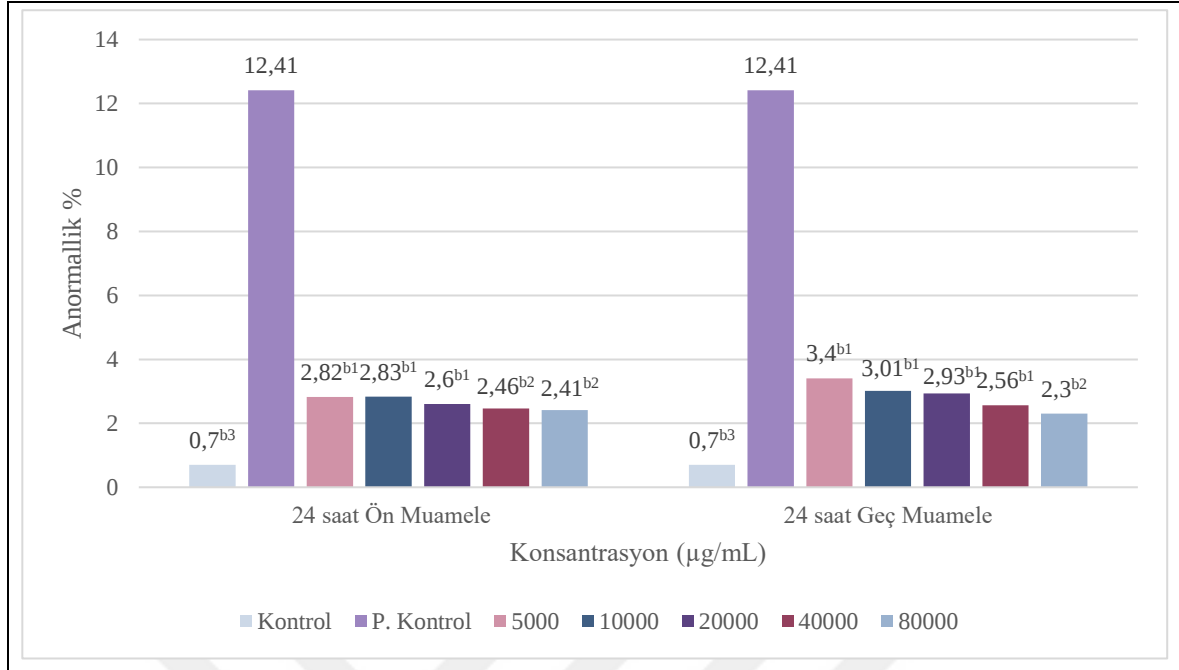
24 saat antigenotoksisite uygulamalarında gözlenen mitotik anormallik tipleri ve oranları Şekil 4.5 ve Resim 4.1’de verilmiştir. 24 saatlik antigenotoksisite uygulamalarında gözlemlenen anormallik tipleri C-metafaz, ileri/geri kalmış kromozom, yapışıklık, köprü, fragmenttir. Anormallik yüzdeleri ön muamele uygulamasında 2,41-2,83 arasında geç muamele uygulamasında 2,30-3,40 arasında değişim göstermektedir. Toplam anormallik sıklıkları sırasıyla metafazda yapışıklık (%71,15), anafaz-telofazda köprü (%19,73), C-metafaz (%8,89), ileri-geri kalmış kromozom’dur (%0,23). 24 saat ön ve geç muamele uygulamalarında en sık rastlanan anormallik tipi metafazda yapışıklıktır (%71,15). Kontrol grubu için % anormallik oranı 0,70 iken pozitif kontrol için anormalik oranı 12,41’dir. Profaz hücrelerinde herhangi bir anormalliğe rastlanmamıştır.

Ön muamele ve geç muamele uygulamalarında mitotik anormallik yüzdesi en yüksek olan konsantrasyonlar sırasıyla ön muamelede 10000 µg/mL iken geç muamelede 5000 µg/mL’dir. 24 saatlik vermikompost uygulamalarında (ön ve geç muamele) istatistiksel olarak pozitif kontrole göre bütün konsantrasyonlarda anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.6. Vermikompostun ön muameleme ve geç muamele uygulamalarında antigenotoksik etkilerinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları (24 saat)

Aberasyonlar/Anormaliler									
Uygulama Süresi (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)		Bölüne n hücre sayısı	Metafaz			Anafaz-Telefaz		Total Anormallik (%)
				C-metafaz	Yapışıklık	Fragment	İleri/Geri kalmış kromozom	Anafaz / Telofaz Köprü	
24 (ÖM-GM)	Kontrol	-	1434	0,14	0,28	-	-	0,28	0,70 ^{b3}
	Pozitif Kontrol (H ₂ O ₂)	%3	838	2,39	8,60	0,35	-	1,06	12,41
24 (ÖM)	Vermikompost + H ₂ O ₂ (%3)	5000	1666	0,54	2,16	-	-	0,12	2,82 ^{b1}
		10000	1620	0,74	1,23	-	-	0,86	2,83 ^{b1}
		20000	1421	0,37	1,54	-	-	0,37	2,60 ^{b1}
		40000	1624	0,43	1,72	-	0,06	0,25	2,46 ^{b2}
		80000	1903	0,05	1,73	-	-	0,58	2,41 ^{b3}
	Toplam anormallik sıklığı (%)			8,89	71,5	-	0,23	19,72	
24 (GM)	Vermikompost + H ₂ O ₂ (%3)	5000	1441	0,14	2,08	-	-	0,55	3,40 ^{b1}
		10000	1493	-	2,01	-	-	1,00	3,01 ^{b1}
		20000	1633	-	2,45	-	-	0,49	2,93 ^{b1}
		40000	1364	0,07	1,90	-	-	0,57	2,56 ^{b1}
		80000	1732	-	1,90	-	-	0,40	2,30 ^{b2}
	Toplam anormallik sıklığı (%)			8,89	71,5	-	0,23	19,72	

^{b1}Pozitif kontrole göre p<0.05 düzeyde anlamlı (χ² testi), ^{b2}Pozitif kontrole göre p<0.01 düzeyde anlamlı (χ² testi), ^{b3}Pozitif kontrole göre p<0.001 düzeyde anlamlı (χ² testi), ÖM: Ön Muamele, GM: Geç Muamele



Şekil 4.5. Vermikompostun farklı konsantrasyonlarda antigenotoksik etkinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik oranları

Vermikompostun ön muameleme ve geç muamele uygulamalarında antigenotoksik etkilerinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları (48 saat);

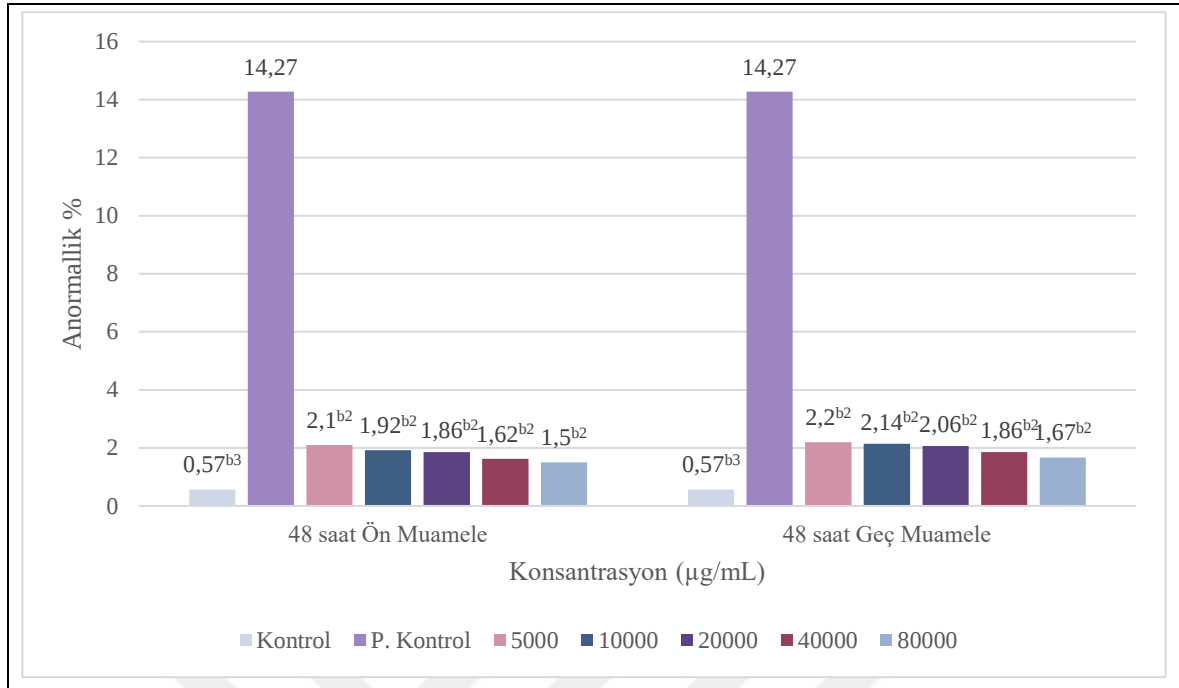
48 saatlik antigenotoksiste uygulamalarında gözlemlenen anormallik tipleri C-metafaz, ileri/geri kalmış kromozom, profazda bozukluk, yapışıklık, köprü, fragment, star anafaz, yapısı bozulmuş metafaz, multipolarlıktır (Resim 4.1). Anormallik sıklıkları sırasıyla, metafazda yapışıklık (%56,52), C-metafaz (%24,51), anafaz-telofazda köprü (%11,46), ileri-geri kalmış kromozom (%4,23), star anafaz (%1,96), multipolarlık (%0,74) ve yapısı bozulmuş profazdır (%0,58). Anormallik yüzdeleri ise ön muamele uygulamasında 1,50-2,10 arasında geç muamele uygulamasında 1,67-2,20 arasında değişim göstermektedir. Kontrol grubu için % anormallik oranı 0,57 iken pozitif kontrol için anormali oranı 14,27'dir. Profaz hücrelerinde gözlemlenen tek anormallik tipi yapısı bozulmuş profazdır. Metafazda en fazla anormallikler sırasıyla metafazda yapışıklık (%56,52) ve C-metafaz (%24,51) olarak tespit edilmiştir. Anafaz ve telofazda en çok görülen anormaliler ise anafaz-telofaz köprü (%11,46) ve ileri/geri kalmış kromozomdur (%4,23) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Vermikompostun ön muameleme ve geç muamele uygulamalarında antigenotoksik etkilerinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik anormallik tipleri ve oranları (48 saat)

Aberasyonlar/Anormaliler													
				Profaz-Metafaz				Anafaz-Telefaz					
Uygulama Süresi (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)		Bölüne n hücre sayısı	Yapısı bozulmuş profaz	C-metafaz	Yapışıklık	Fragment	İleri/Geri kalmış kromozom	Anafaz / Telofaz Köprü	Star Anafaz	Multipolarlık	Total Anormallik (%)	
48 (ÖM-GM)	Kontrol	-	1392	-	0,14	0,07	-	0,14	0,14	0,07	0,57	0,57 ^{b3}	
	Pozitif Kontrol (H ₂ O ₂)	%3	1182	0,59	3,12	6,50	0,34	2,28	1,10	0,17	0,17	14,27	
48 (ÖM)	Vermikompost + H ₂ O ₂ (%3)	5000	1757	0,05	0,91	0,57	-	0,06	0,46	0,05	-	2,10 ^{b2}	
		10000	1714	-	0,58	1,00	-	0,17	0,11	0,06	-	1,92 ^{b2}	
		20000	1612	0,06	0,49	0,80	-	0,06	0,37	0,06	0,02	1,86 ^{b2}	
		40000	1913	-	0,58	0,52	-	-	0,37	0,10	0,05	1,62 ^{b2}	
		80000	1989	-	0,55	0,70	-	0,05	0,10	0,10	-	1,50 ^{b2}	
48 (GM)	Vermikompost + H ₂ O ₂ (%3)	5000	1406	-	0,57	1,42	-	-	0,21	-	-	2,20 ^{b2}	
		10000	1396	-	0,29	1,20	-	0,29	0,36	-	-	2,14 ^{b2}	
		20000	1454	-	0,20	1,79	-	-	0,07	-	-	2,06 ^{b2}	
		40000	1610	-	0,31	1,24	-	0,12	0,12	-	0,07	1,86 ^{b2}	
		80000	1905	-	0,16	1,46	-	0,05	-	-	-	1,67 ^{b2}	
Toplam anormallik sıklığı (%)				0,58	24,51	56,52	-	4,23	11,46	1,96	0,74		
^{b1} Kontrolle göre p<0.05 düzeyde anlamlı (χ2 testi), ^{b2} Kontrolle göre p<0.01 düzeyde anlamlı (χ2 testi), ^{b3} Kontrolle göre p<0.001 düzeyde anlamlı (χ2 testi),ÖM: Ön Muamele, GM: Geç Muamele													

^{b1}Kontrole göre p<0.05 düzeyde anlamlı (χ^2 testi), ^{b2} Kontrole göre p<0.01 düzeyde anlamlı (χ^2 testi), ^{b3}Kontrole göre p<0.001 düzeyde anlamlı (χ^2 testi), ÖM: Ön Muamele, GM: Geç Muamele

Ön muamele ve geç muamele uygulama konsantrasyonlarında mitotik anormallik yüzdesi en yüksek olan konsantrasyon 5000 µg/mL'dir. 48 saatlik vermikompost uygulamalarında anormallik oranlarında (ön ve geç muamele) istatistiksel olarak pozitif kontrole göre bütün konsantrasyonlarda anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir. 48 saatlik antigenotoksisite uygulamalarında gözlenen mitotik anormallik tipleri ve oranları çizelgede verilmiştir (Çizelge 4.7, Şekil.4.6).



Şekil 4.6. Vermikompost uygulaması sonucunda *A. cepa* kök hücrelerinde görülen anormallikler Resim 4.2’de verilmiştir.

Çalışma özeti niteliğinde olan vermikompost uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücreleri üzerine etkilerinin genel görünümü Çizelge 4.8’da verilmiştir.

Çizelge 4.8. Vermikompost uygulamasının *Allium cepa* kök ucu hücreleri üzerine etkilerinin genel görünümü

Vermikompost	Uygulama Süresi	Mİ	MA	Uygulama Süresi	Mİ	MA
5000 µg/mL	24 saat Genotoksisite			48 saat Genotoksisite		
10000 µg/mL						
20000 µg/mL						
40000 µg/mL						
80000 µg/mL						
5000 µg/mL	24 saat Ön Muamele			48 saat Ön Muamele		
10000 µg/mL						
20000 µg/mL						
40000 µg/mL						
80000 µg/mL						
5000 µg/mL	24 saat Geç Muamele			48 saat Geç Muamele		
10000 µg/mL						
20000 µg/mL						
40000 µg/mL						
80000 µg/mL						
Kontrole göre artış/azalış/değişim yok:						
Pozitif kontrole göre artış/azalış/değişim yok:						
Mİ: Mitotik İndeks, MA: Mitotik Anormallik						

5. TARTIŞMA

Geçtiğimiz yüzyıl içerisinde hızla artan dünya nüfusunun dengeli beslenmesi için tarımsal alanların verimli kullanılmaması en önemli sorunlardan birisi olmuştur. Tarımsal arazilerde yüksek verimin sağlanması için gübre kullanımının yaygınlaşması, hastalık ve zararlıların neden olduğu kayıpların kimyasal mücadele ilaçları ile en az düzeye indirilmesi ya da önlenmesi, bitkisel üretimde sulama sistemlerinin yaygınlaştırılması konvansiyonel tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda tarımda kimyasal maddeler yerine organik ilavelerin kullanımı tercih edilmektedir (Arısoy ve Avcı, 2020).

Vermikompost, çeşitli bitki ve hayvan organik atıklarının solucanlar tarafından humus benzeri maddelere sindirilmesiyle elde edilir. Bitki gelişimi için gerekli olan nitrat, fosfat, değiştirilebilir kalsiyum ve çözünür potasyum içermektedir. Tarım alanlarında son zamanlarda kullanılmaya başlayan vermikompostun bitkiler üzerine olan etkileri birçok çalışma ile incelenmiştir (Joshi ve Pal Vig, 2010; Rajkhowa ve diğerleri, 2015; Mir ve diğerleri, 2021).

Vermikompostun bitki içeriğinde bulunan elementler üzerindeki etkisi ile ilgili birçok araştırma bulunmaktadır. Gerçekleştirilen çalışmalar farklı bitki türleri arasında çeşitli gübre türlerinin vermikompost ile karşılaştırılması yönündedir. Karşılaştırmalar genellikle bitki gelişimi ve verim tespiti parametrelerinin değerlendirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar bitkilerin gelişimi için vermikompostun olumlu etkileri olduğunu göstermektedir (Büyükfiliz, 2016; Ceritoğlu, 2019; Eryüksel, 2016; Günhan, 2020; Joshi ve Pal Vig, 2010; Kuş, 2019; Özel, 2019; Peker, 2018; Tankuş, 2019; Taşçı, 2018; Teke ve diğerleri, 2019; Toksoy, 2019; Türkmen, 2019; Uluğ, 2019; Yüksek ve diğerleri, 2019).

Çıtak ve diğerleri (2011) ıspanak bitkisinin gelişimi ve toprak veriminin tespiti için tarla koşullarında farklı konsantrasyonlarda vermikompost (V1 100-V2 200 kg/da) ve ahır gübresi (Ag1 1500-Ag2 3000 kg/da) uygulamaları yapmıştır. Genel olarak bitki gelişimi, verim, mineral madde kapsamı ve toprak verimliliği parametrelerin ahır gübresi (Ag2) uygulamasında daha etkili olurken, vermikompost uygulamalarında da kontrole oranla önemli artışlar göstermiştir. Uygulamalar sonucunda bitkinin Fe içeriği ve toprakta bulunan toplam Ca parametreleri incelendiğinde, vermikompost uygulamasının konsantrasyonları

diğer uygulamalara oranla en iyi sonucu vermiştir. Çalışma sonucunda vermikompostun uygulanan konsantrasyonlarında bitki gelişimi ile ilgili sonuçlarının süre-konsantrasyon miktarının artırılması ile değişebileceği ve daha yüksek konsantrasyonlarda çalışmaların tekrar edilmesi önerilmiştir.

Toksoy (2019), gerçekleştirdiği çalışmada benzer parametreler üzerinde ıspanak bitkisi ile çalışmıştır. Kontrol ortamı olarak %100 BT (Bahçe toprağı) kullanılmıştır. Ayrıca bahçe toprağına vermikompost (Vk) ve karaizopot (Ki) gübresi uygulanmıştır (Vk-Ki %1, %5, %10 ve %20). Araştırma kapsamında; bitkide 14 morfolojik, 1 fizyolojik, 13 kimyasal özellikler ile ortamların ilk ve son yapısal ve kimyasal analizleri yapılmıştır. Morfolojik özellikler incelendiğinde vermikompost uygulamasında bahçe toprağına göre artışlar gözlemlenmiştir. Karaizopot'un %1'lik en düşük konsantrasyonunda bitki boyu, yaprak eni, boyu ve ağırlığı parametrelerinde en yüksek değer gözlemlenmiştir. Morfolojik özelliklerden biri olan toplam bitki ağırlığı ise karaizopotun %20'lik konsantrasyonunda en yüksek değeri vermiştir. Fizyolojik özellikler bakımından uygulama grupları incelendiğinde vermikompostun artan konsantrasyonu ile birlikte bu parametrelerde artış gözlemlenmiştir. Karaizopot uygulamasında fizyolojik parametreler değerlendirildiğinde en yüksek sonuçlar değişkenlik göstermektedir. Kimyasal özellikler açısından uygulama konsantrasyonları incelendiğinde ise toplam yüzde azot elementi, vermikompostun %20'lik konsantrasyonunda, karaizopotun %1'lik konsantrasyonunda en yüksek değerleri vermiştir. En düşük vermikompost ve karaizopot konsantrasyonlarında en yüksek magnezyum (ppm) ve fosfor (ppm) değerleri elde edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bahçe toprağı parametreleri ile vermikompost uygulanmış toprakta yetişen ıspanak bitkisi parametreleri karşılaştırıldığında vermikompostun etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca karaizopot gübresinin parametre sonuçları vermikompost ile yaklaşık sonuçlar verdiği için alternatif olarak kullanılabileceği önerilmiştir.

Çeşitli çalışmalar sonucunda organik tarım ve sürdürülebilir tarım tekniklerinde organik gübre kaynağı ihtiyacının vermikompost ile sağlanabileceği öngörülmüştür. Ayçiçeğı, biber, brokoli, fasulye, soğan, marul, ıspanak, domates, mısır, mercimek, buğday gibi bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Büyükfiliz, 2016; Ceritoğlu, 2019; Günhan, 2020; Özel, 2019; Peker, 2018; Taşçı, 2018; Toksoy, 2019; Türkmen, 2019; Uluğ, 2018; 2019; Tankuş, 2019). Ayrıca gerçekleştirilen çalışmalar

sonucunda VK'un kuraklık stresi altında, bitki içeriğinde bulunan minarel madde içerikleri üzerinde olumlu etki gösterdiği sonucuna varılmıştır (Kıran 2019).

Vermikompostun bitki çimlenmesi üzerine olumlu etkileri olduğuna dair çalışmalar da mevcuttur. Sezgin ve Şimşek (2017) çalışmalarında vermikompostu orman ağaç türlerinin bazılarına uygulayarak çimlenme parametrelerini gözlemlemişlerdir. *Robinia pseudoacacia* L., *Pinus nigra* J. F. Arnold , *Pinus sylvestris* L., *Acer negundo* L., *Capparis spinosa* L. ve *Lycium europaeum* L. orman ağaçlarının çimlenme engelini aşmak için çeşitli oranlardaki vermikompost ile dört hafta boyunca muamele etmiştir. Çalışmada vermikompostun 1:5 oranında çeşme suyu ile seyreltilmesi sonucunda vermikompost çayı elde edilmiştir. Bu çay 1:1, 1:2 ve 1:4 oranında tekrardan seyreltilerek 4 farklı çalışma konsantrasyonu oluşturulmuştur. Vermikompost ortamında olan tohumların, vermikompost içermeyen kontrol gruplarına göre daha iyi çimlenme gösterdiklerini belirlemişlerdir. Çimlenmeyi olumlu yönde etkileyen vermikompost ve ürünlerinin fidanlık çalışmalarında kullanılabilecek hem pratik hem de faydalı bir ürün olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Başay ve Alpsoy tarafından 2019 yılında gerçekleştirilen diğer bir çalışmada biber (*Capsicum annuum* L. var. Sürmeli) tohumlarında farklı konsantrasyonlarda vermikompost çayı uygulaması ile tohum çimlenme testi gerçekleştirilmiş ve bütün vermikompost konsantrasyonlarında kontrole göre anlamlı bir değişim gözlenmiştir. Bu nedenle organik sebze yetiştiriciliği için önemli bir konuma sahip olan vermikompostun doğaya dost bir uygulama olması sebebiyle tarımsal alanda kullanılması önerilmiştir.

Vermikompostların patojen bakteri ve funguslara karşı etkili olduğunu gösteren antimikrobiyal aktivitesine dair çalışmalar da bulunmaktadır. Tutar (2013) *Eisenia fetida* türü toprak solucanlarından elde edilen vermikompostun etanol ve kloroform solventleri kullanarak ekstrakt elde etmiştir. Bu ekstrata dokuz adet patojen bakteri ve dokuz adet fungusa karşı etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla “disk difüzyon” ve “MIC” testleri uygulamıştır. Vermikompostun kloroform solvenleri ile muamelesi sonucunda *Pseudomonas syringae*, *Xhantomonas campestris* ve *Aspergillus fumigatus*’a karşı güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği ayrıca *Erwinia chrysanthemi*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Penicillium brevicompactum*’a karşı etkilerinin daha zayıf olduğu görülmüştür. Etanol solventli muamelede ise *Pseudomonas syringae*, *Xhantomonas campestris* ve *Aspergillus fumigatus*’ a karşı etkilerinin güçlü olduğu, *Erwinia herbicola*, *Erwinia chrysanthemi* ve *Sclerotinia sclerotiorum*’ a karşı ise daha zayıf bir etki gösterdiği saptanmıştır. Soylu ve

diğerlerinin 2020 yılında gerçekleştirdikleri çalışma doğrultusunda sebzelerde önemli fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Vermikomposttan elde edilen mikrobiyomların birçok yaprak ve toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine sebep olan *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae* üzerine antagonistik etkileri incelenmiştir. Yapılan izolasyonlar sonucunda ilk önce 69 adet aday bakteriyel izolat elde edilmiştir. *In vitro* ikili kültür testlemelerinde bakteriyel izolatlar sayesinde fungal hastalık etmenlerinin gelişimi belirli oranlarda engellenmiştir. Antagonistik etkiye sahip olan bakteriyel izolatların çoğunun *Bacillus spp.*'e ait olduğu tespit edilmiştir. Vermikomposttan elde edilen *Bacillus spp.*'lar ve onların izolatları yüksek antagonistik özelliklere sahip olduklarından tarımsal alanlarda fungal aktivite sebebiyle ortaya çıkan bitkisel hastalıklarla mücadelede kullanılabileceği açıklanmıştır. Organik ve sürdürülebilir tarım ürünü olan vermikompostun antagonistik etkileri bitkilerde meydana gelen fungal hastalıklarda kimyasallara alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır. Doğan ve diğerlerinin 2018 yılında gerçekleştirdikleri bir çalışmada zeytin karasuyu atığının (KS) ısıtma işlem görmüş vermikompost ve çiftlik gübresi uygulamaları ile toprak mikrobiyal aktivite değişimine etkilerini araştırmışlardır. Vermikompost (Isıtma işlem görmüş ve görmemiş) ve çiftlik gübresi (Isıtma işlem görmüş ve görmemiş) ile belirli oranlarda karıştırılan KS denemeleri, mikrobiyal açıdan (CO₂ aktivitesi) olumlu sonuçlar göstermiştir. Isıtma işlem uygulanmış olan vermikompost ve çiftlik gübrelerinin toprak mikrobiyal aktivitelerini olumsuz yönde etkiledikleri sonucuna varılmıştır. Toprakta mikrobiyal aktivitenin en büyük göstergelerinden biri olan CO₂ aktivitesi incelendiğinde vermikompost ve çiftlik gübresinin, olumlu etkilere neden olduğu sonucuna varılmıştır. Toksik etkileri bilinen zeytin karasuyunun doğaya olan etkilerinin azaltılması için vermikompost ve çiftlik gübreleri ile birlikte kullanıldığında olumlu sonuçlar meydana getirebileceği bu çalışma ile gösterilmiştir. Toprak kökenli bitki hastalıklarını durdurma kapasitesi ile ilgili çalışmalar incelendiğinde vermikompostun, *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.*, *Pythium spp.* ve *Verticillium spp.* gibi türler üzerinde etkili olduğu ve bu tür hastalıkları baskıladığı sonucuna varılmıştır (Erşahin, 2007; Saygı ve diğerleri, 2019).

Yakın zamanda yapılan çalışmalar vermikompostun ağır metallerin (Pb, Cd, Cr vb.) ve tekstil boya gibi önemli derecede toprağı kirleten maddeleri inhibe edici özelliği olduğu yönündedir (Rorat ve diğerleri, 2015; Suleiman ve diğerleri, 2017). Bazı solucan türlerinden elde edilen vermikompostlar, fabrikaların neden olduğu çeşitli kirliliklere karşı bitkilerin

biyoyararlanımını arttırmıştır. Bu çalışmalar ile vermicompostun toprak düzenleyici olarak kullanılabilirliği kanıtlanmıştır (Goswami ve diğerleri, 2013).

Toksik maddelerin tespitinde fizyolojik ya da sitogenetik parametreler incelenebilmektedir. Toksisitenin sitogenetik göstergeleri, mitotik indeks (Mİ), mikronukleus (MN) ve kromozomal hasar sayılarındaki değişimleridir (Çavuşoğlu ve diğerleri, 2019). Farklı çevresel kirletici maddelere maruz kalınması insan gen havuzunda ve biyolojik çeşitlilikte büyük ölçüde zararlar meydana getirmektedir (Weil ve diğerleri 2012; Brei ve diğerleri 2016; Kim ve diğerleri 2016). Bilim insanları çevresel kirletici maddelerin sadece genetik yükü arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda somatik mutasyonların indüksiyonu yoluyla kansere de neden olduğu sonucuna varmışlardır (Ames ve diğerleri 1983; Popescu ve diğerleri 2010; Xia ve diğerleri 2013). Çevresel kirleticilerin genotoksik etkilerini doğrudan değerlendirilmesi etik ve pratik olmaması nedeniyle mümkün değildir. Bunun için virüsler, bakteriler, böcekler, hayvanlar, bitkiler, insan hücre kültürleri gibi farklı deneysel modellerin kullanıldığı çeşitli testler geliştirilmiştir (Kong ve Ma 1999; Matsumoto ve diğerleri 2006; Mouchet ve diğerleri 2006; Yıldız ve diğerleri 2009; Pohren ve diğerleri 2013). Birçok kimyasalın genotoksik etkilerini saptayabilmek için *Arabidopsis thaliana*, *Vicia faba* ve *Allium cepa* bitkileri yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanılan bu model organizmaların kök meristem mitotik hücrelerinde çeşitli sitolojik bulgular tespit edilebilir (Haq ve diğerleri, 2018). Bitkilerin meristematik dokularındaki sitotoksik yanıt, hayvanlardaki embriyojenik veya spermatojenik dokulara benzerdir (Kristen, 1997). *A. cepa*'da kromozomların daha az sayıda ($2n = 16$) ve uygun boyutta (8-16 μm) olması, bu testin uygulanabilirliğini daha da artırmaktadır (Bolle ve ark. 2004). *A. cepa*'dan elde edilen sonuçların, ökaryotik ve prokaryotik hücreler kullanan diğer test sistemleriyle iyi bir korelasyon içinde olduğu gösterilmiştir (Özkara ve Aykıl, 2015). Bu nedenle genotoksisite testleri, pestisitler gibi çevresel kimyasalların (Nagpal ve Grover 1994; Asita ve Makhobo 2013); kimyasal mutajenlerin (Rank ve Neilson 1997); ağır metallerin (Fiskesjo 1988; Cigerci ve diğerleri 2014) ve hava, su ve toprak gibi çevresel karışımların (Kaur ve diğerleri 2014) genotoksisitelerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu test başlarda genotoksisiteyi değerlendirmek amacıyla kullanılsa da, daha sonra ilaç keşfine yardımcı olabilecek fito-kimyasallar açısından zengin bitki özlerinin antigenotoksisitesini değerlendirmek için başarıyla kullanılmaya başlanmıştır (Fiskesjo, 1969; Srivastava ve diğerleri, 2016; Erikel ve diğerleri, 2020; Figat ve diğerleri, 2021; Dey ve diğerleri, 2021). Mitotik indeks (Mİ) ve kromozom sapma seviyeleri, çeşitli çevresel kirleticilerin genotoksik

potansiyelinin bir göstergesi olarak kabul edilir (de Souza Pohren ve diğ erleri, 2013; Datta ve diğ erleri, 2018).

Benzer şekilde, bu göstergeler bitki özütlerinin ve fitokimyasalların bazı mutajenlere kar   anti-genotoksik, anti-mutajenik veya anti-kanserojen etkilerini tanımlamak için de kullanılabilir.  oğ  bitkide bulunan ikincil metabolitlerin, anti-genotoksik ve anti-karsinojen özelliklere sahip olduğ  yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir. Antimutajenler, DNA ile bir mutajen arasındaki reaksiyonu önleyerek ya da var olan bir mutajeni inaktive ederek etki edebilirler (Verschaeve, 2015).  n muamele uygulamasında test edilen madde için genotoksik ajanın neden olduğ  hasarı  nleme yeteneğinin değerlendirilmesi sağlanabilir.  n muamele uygulamasının sonuçları, serbest radikal  nleme aktivitesini, DNA gibi önemli makromoleküllerin korunması, antioksidan enzim sentezinin uyarılması ve hücrelerin antioksidan kapasitesinin artırılması ile açıklanabilir (Srivastava ve diğ erleri, 2016; Erikel ve diğ erleri, 2020). Geç muamelede ise mekanizma, genellikle test edilen bileşiğ in genotoksik hasarı onarabilme yeteneğ i hakkında bilgi sağlar. Geç muamele uygulamasının, gözlenen oksidatif stres yanıtında rol oynadığ ı düşünülmektedir (Srivastava ve diğ erleri, 2016; Erikel ve diğ erleri, 2020).

Son yıllarda insanların çeşitli genotoksik maddelere maruz kalması dramatik bir şekilde artış göstermiştir. Hem endojen (patolojik süreçlerden kaynaklanan oksidatif stres) hem de eksojen ajanlar (ultraviyole ışık, iyonlaştırıcı radyasyon, hava, su ve gıda kirleticileri, sigara içme), DNA ve diğ er biyomoleküllerin yapısını ve işlevlerini, reaktif oksijen türlerinin (ROT)  retimi nedeniyle tetiklenen bir dizi moleküler olay yoluyla değiştirebilir. Tez çalışmasında pozitif kontrol olarak kullanılmış olan Hidrojen peroksit (H_2O_2), çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerle endojen olarak üretilmektedir. 200'den fazla genotoksik etkiden sorumludur. H_2O_2 , DNA'ya hem doğrudan hem de dolaylı olarak (bir Fenton tipi reaksiyon yoluyla hidroksil radikalleri oluşturarak) zarar verir ve oksidatif DNA hasarına neden olarak DNA tek iplik kırımlarına, kromozomal anormalliklere ve gen mutasyonlarına yol açabilir (Aprotosoae ve diğ erleri, 2019). Bu nedenle tez çalışmasında genotoksik hasarı oluşturması amacıyla hidrojen peroksit kullanılmıştır.

Vermikompost ile ilgili genotoksisite-antigenotoksisite çalışmaları incelendiğinde çalışmaların daha çok vermikompostun avantajlarının belirlenmesine yönelik olduğ  görülmektedir. Gerçekleştirmiş olduğ umuz tez çalışmasında ise vermikompostun farklı

uygulama sürelerinde genotoksik ve antigenotoksik etkileri doku kültüründe üretilen *A. cepa* kök ucu meristematik hücrelerinde ilk kez incelenmiştir. *A. cepa* meristem kök ucu hücrelerinden elde edilen preparatlar üzerinde mitotik indeks ve mitotik anormallik parametreleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 24 saatlik genotoksisite uygulamasında en yüksek konsantrasyonda (80000 µg/mL) mitotik indeks değeri kontrole göre anlamlı bir artış gösterirken, 10000 ve 40000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda kontrole göre bir düşüş görülmüştür. 48 saatlik genotoksisite uygulamasında bütün konsantrasyonlarda mitotik indeks değeri anlamlı bir artış göstermiştir. Antigenotoksisite çalışmasında ise bütün konsantrasyonlarda ve uygulama sürelerinde mitotik indeks değerleri pozitif kontrole göre artış olduğu tespit edilmiştir. Mitotik anormallik düzeyleri genotoksisite çalışmasında kontrole göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Antigenotoksisite çalışmalarının bütün uygulamalarında mitotik anormallik düzeyleri pozitif kontrole göre anlamlı düzeyde düşmüştür. Çalışma sonucunda vermikompostun *A. cepa* üzerinde genotoksik bir etkisinin olmadığı ve H₂O₂'ye karşı antigenotoksik etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır.

Vermikompostun genotoksik etkisini araştıran çalışma sayısı yok denecek kadar azdır. Vermikompost ile yapılmış antigenotoksisite çalışmaları da sınırlıdır. Datta ve diğerleri (2018) herbisit uygulaması yapılan ve herbisit uygulamasından sonra vermikompost uygulanmış toprak örneklerinden 10, 20, 40, 60, 80 ve % 100'lük çözeltiler hazırlamışlardır. Çalışma *A. cepa* bitkisi üzerinde gerçekleştirilmiş ve Allium testi uygulanmıştır. Sonuç olarak mitotik indeksler %100 herbisit solusyonunda 24 saat uygulamada 10.3 ± 0.9 ve 48 uygulamada 9.7 ± 0.6 bulmuştur. %100 vermikompost solüsyonunda ise 24 saat uygulamada 24.4 ± 1.7 ve 48 saat uygulamada 25.4 ± 0.8 olarak tespit edilmiştir. Klatojenik sapmaların, %100 herbisitte %100 vermikompost solüsyonuna göre %54,5 oranında fazla olduğu görülmüştür. Tarım alanlarına vermikompost eklenmesinin toprakta iyileştirici etki göstereceği belirtilmiştir. Ayrıca vermikompostun hücre bölünmesi ve çoğalmasının desteklenmesinde önemli bir rol oynadığı tesit edilmiştir. Bu çalışma vermikompostun etkilerini Allium testi ile incelemesi açısından çalışmamız ile paralellik göstermektedir.

Bir başka çalışmada ise Singh ve diğerleri (2018) bir tarım alanı ve botanik bahçesinden alınan toprakları ve vermikompost uygulanmış hallerini karşılaştırmışlardır. Test materyali olarak *A. cepa* soğanlarının kök uçları kullanılmıştır. Tarımsal alanda Mİ, kontrole göre daha

düşük bulunmuştur. Bunun nedeninin tarımsal alanda daha fazla kimyasal gübre ve tarım ilacı uygulamaları olabileceği şeklinde açıklanmıştır. Vermikompost uygulanmış tarımsal toprak ve botanik bahçe toprağında normal hallerine göre mitotik indeksin arttığı gözlemlenmiştir. Kromozomal anormallik seviyesi tarımsal alan örneğinde (%14.88) botanik bahçesi örneğinden (%9.11) fazla bulunmuştur. Vermikompost uygulanmış tarım toprağında kromozomal anormallik seviyesi %8'e düşerken, vermikompost uygulanmış botanik bahçe toprağında kromozomal anormallik %6.88 olduğu görülmüştür. Vermikompost uygulanmış tarımsal toprak ve botanik bahçe toprağında normal hallerine göre mitotik indeksin arttığı gözlemlenmiştir. Çalışma kapsamında botanik bahçesinde bulunan solucanların aktivitesinin tarım alanından daha aktif olduğu gözlemlenmiştir. Tarımsal alanda solucanların azalan aktivitesinin, farklı tarımsal uygulamalara, pestisitlerin ve kimyasal gübre kullanımının yaygın olmasından kaynaklanıyor olabileceği sonucuna varılmıştır. Böylelikle, solucanların besleme ve sindirim faaliyetleri sadece toprağın besin içeriğini arttırmakla kalmamış, aynı zamanda solucanların sürdürülebilir tarımda potansiyel bir role sahip olduğunu gösteren toksisiteyi de azaltmıştır.

Bhat ve diğerleri (2015), *Eisenia fetida* toprak solucanına besin maddesi olarak şeker endüstrisinin atık yan ürünleri olan şeker pancarı çamuru (SBM) ve küspe (SBP), ile kuru ağırlık bazında farklı oranlarda sığır gübresi (CD) vermişlerdir. Şeker kamışı atığı presmud, inek gübresi ile karıştırılmış ve bu karışım PM çamur ekstratı olarak adlandırılmıştır. Vermikompost uygulanmış ve uygulanmamış konsantrasyonların genotoksik ve antigenotoksik etkileri değerlendirilmiştir. SBM konsantrasyonları vermikompost elde edilmeden ve vermikompost elde edildikten sonra *A. cepa* kök uçlarında mitotik indeks üzerindeki etkileri ve mitotik anormallik frekansı incelenmiştir. Vermikompost uygulaması sonucunda Mİ değerleri anlamlı bir artış göstermiştir. Kontrole göre vermikompost verilmeden önce SBM ekstraktları daha yüksek seviyelerde kromozomal anormallikler sergilerken *E. fetida*'nın ağır metallerin çoğunu detoksifiye etme kapasitesinden dolayı, vermikompostlanmış SBM ekstraktları kromozomal sapma sıklıklarında %18-75 düşüşe neden olmuştur. Şeker pancarı atıklarının vermikompostlama sistemlerinde ham madde olarak kullanılması, bu atığın katma değerli ürünlere dönüştürülmesine potansiyel olarak yardımcı olabileceği çalışma sonuçları arasında yer almaktadır. Genotoksisite çalışmasından elde edilen sonuçlara bakıldığında, vermikompost kullanımının SBM'nin genotoksisite potansiyelini azalttığını göstermektedir.

Bhat ve diğerleri (2014), egzotik solucan *Eisenia fetida* kullanarak şeker kamışı atığının (PM) (presmud) genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi hakkında bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışmaya başlamadan önce şeker kamışı (PM), 0: 100 (V0), 25:75 (V25), 50:50 (V50), 75:25 (V25) farklı oranlarında (PM:CD karışımı) inek gübresi (CD) ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu karışım PM çamur ekstratı olarak adlandırılmıştır. Elde edilen PM: CD karışımları on gün boyunca inkübe edilmiştir. 10. günün sonunda karışımın bulunduğu kaplara yirmi adet genç *E. fetida* eklenmiştir. Çalışma süresince inkübasyon kaplarına su serpilerek nem içeriği yaklaşık %60-70 arasında tutulmuştur. İnkübasyon sonucunda oluşan vermikompost genotoksik değerlendirme için kullanılmıştır. PM çamur ekstratının genotoksik etkilerini belirlemek amacıyla *A. cepa* bitkisi kullanılmıştır. Elde edilen PM çamur ekstratının *A. cepa*'lara uygulanmış konsantrasyonları %10, %20, %40, %60, %80 ve %100 şeklindedir. Bu çalışma sonuçlarına bakıldığında, PM'nin bitkilerde genotoksik etkilere neden olabilecek bir ağır metal kaynağı olduğu sonucuna varılmıştır. PM'nin vermikompostlama sistemlerinde hammadde olarak kullanılması yani vermikomposta dönüştürülmesi sonucunda potansiyel genotoksik etkisinin azalabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmada ayrıca, *E. fetida*'dan üretilen vermikompostun genotoksik etkisinin olmadığı ve PM çamurunun genotoksisitesini azalttığını göstermiştir. Araştırmalar, solucan gübrelemesinin bu çamuru kısa bir süre içinde besin açısından zengin gübreye dönüştürmek için alternatif bir teknoloji olabileceğini, PM'nin bertarafı için faydalı olabileceğini, katı atık yönetiminde önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Jayasree ve diğerleri (2014), çevrenin potansiyel sitotoksik ve genotoksik etkilerini değerlendirmek amacıyla, beş farklı alandan alınan toprak ile değerlendirmeler yapmıştır. Çalışma örnekleri katı atık boşaltma alanı (SWL), açık kompost sahası (OC), vermikompost (VC), katı atık ile muamele edilmiş vermikompost (SWL+VC) (10:1) ve öğütülmüş toprak (GS: kontrol) olarak seçilmiştir. Deney başlangıcında *A. cepa*'nın pulları çıkarılmış ve filizlenmeye bırakılmıştır. Her deneme grubu için en iyi filizlenen 10 soğan seçilmiştir. Ortamlara maruz bırakılan her deneme grubu için tohum çimlenme yüzdesi, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu parametreleri kontrol edilmiştir. Ayrıca sitoksisite seviyesinin tespiti amacıyla soğan kök ucu meristem hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik anormallik parametreleri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda mitotik indeks değerleri yüksekten düşüğe doğru sırasıyla, vermikompost, katı atık ile muamele edilmiş vermikompost, kontrol grubu ve katı atık boşaltma alanları olarak sıralanmıştır. Çalışma sonucu olarak katı atık içeren ve açık kompost sahasında azalmış mitotik indeks değeri ile

yüksek oranda kromozomal anormallikler gözlemlenmiştir. Genotoksik ve toksik kimyasalların etkilerinin azaltılması amacıyla vermikompostun tarım alanlarında kullanılması önerilmiştir.

2004 yılında Jain ve diğerleri tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise *V. faba*'da uçucu kül kaynaklı genotoksisitenin vermikompost uygulanarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Vermikompost uygulanmış ve uygulanmamış *V. faba*'nın kök ucu meristem hücrelerinde sitogenetik etkileri incelenmiştir. Uygulamalar vermireaktör tankları içerisinde gerçekleştirilmiştir. Vermireaktörlerin içerisinde 50 adet genç ve sağlıklı *E. fetida* türü solucan bulunmaktadır. Çalışmada uçucu kül uygulanmış inek gübresi (FCS) (%20, 40, 60, 80) ve sadece inek gübresi içeren iki farklı tür vermi-reaktör çeşidi 30 gün inkübasyon sonucunda oluşturulmuştur. *V. faba*'nın tohumları köklendirilmiş ardından vermi-reaktörlere aktarılmıştır ve 5 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süreci biten *V. faba*'ların meristematik kök ucu hücreleri alınmış ve deneysel işlemleri gerçekleştirilip mitotik indeks, mitotik anormallik ve kromozom anormalliği değerleri incelenmiştir. Çalışma içerisinde vermikompost uygulamadan önce alınan FCS numunelerinde yüksek oranda Cr, Cu, Pb, Zn ve Ni gibi ağır metallerin konsantrasyonlarını belirlenmiştir. FCS uygulamasına maruz bırakılan *V. faba* meristematik kök hücreleri incelendiğinde mitotik indeks (Mİ) inhibisyonu, kromozom aberasyonlarının indüksiyonu (KA) ve önemli ölçüde artmış mitotik aberasyon sıklığı (MA) gözlemlenmiştir. Çalışmada KA ve MA'daki artışın sebebinin, uçucu kül konsantrasyonundaki artış olduğu açıklanmıştır. FCS uygulamasına maruz bırakılan *V. faba*'larda da CA ve MA'lar gözlenmesine rağmen bu anormallikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışma sonucunda, uçucu külün genotoksisite etkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Meydana gelen bu potansiyeli azaltmak için toprak ile vermikompost uygulamasının genotoksisiteyi azalttığı tespit edilmiştir.

Son yıllarda Allium testinin bitki doku kültüründeki uygulamalarına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Sentetik bitki hormonlarından birisi olan 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) ile bitki doku kültüründe yetiştirilen *A. cepa* meristematik kök hücreleri üzerinde genotoksisite çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmada *A. cepa*'lar 0,67; 1,34; 2,01; 2,68; 3,35 ve 4,02 mg/L'lik konsantrasyonları ile 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Genotoksisite testi kapsamında 2,4-D'nin mitotik indeks, mitotik faz frekansları ve mitotik anormallikler belirlenmiştir. Çalışmanın devamında comet testi gerçekleştirilmiş kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti parametreleri incelemiştir. 24 saatlik 2,4-D uygulamasının en düşük üç

konsantrasyonunda mitotik indeks oranında anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. 2,68; 3,35 ve 4,02 mg/L konsantrasyonlarında ise mitotik indekste düşüş gözlemlenmiştir. 48 saatlik uygulamada ise en yüksek doz (4,02 mg/L) haricinde bütün konsantrasyonlarda mitotik indekste anlamlı bir artış görülmüştür. 2,4-D'nin bütün konsantrasyonlarında toplam mitotik anormallikler anlamlı düzeyde artış göstermemiştir. Çalışma sonucunda 2,4-D'nin düşük dozlarında ise genotoksik bir etki gözlemlenmemiştir. Comet çalışması sonucunda elde edilen verilere göre 48 saatlik uygulamanın en yüksek dozunun toksik etki göstermiş olduğu ve hücre sayılamadığı belirtilmiştir. Diğer comet sonuçları ise kontrole göre anlamlı bulunmamıştır (Özkul ve diğerleri, 2016).

Bir diğer çalışmada ise ayçiçeği kallus dokularındaki bitki büyüme düzenleyicilerinin ve diğer parametrelerin genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Kallus dokusu elde etmek için *in vitro* anter kültürü gerçekleştirilmiştir. Farklı bitki büyüme düzenleyicileri eklenmiş besiyerlerinde anter büyümesi sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan konsantrasyonlar 0,5 mg/L NAA+0,5 mg/L BAP (A1); 0,5 mg/L 2,4D+ 0,5 mg/L BAP (A2); 0,5 mg/L IAA+0,5 mg/L BAP (A3) ve 2 mg/L NAA+1 mg/L BAP (A4)'dir. Kallus dokuları bitki kültüründen alınmış ve comet protokolü uygulanmıştır. Comet sonucunda bitki büyüme düzenleyicilerinden 0,5 mg/ L 2,4-diklorofenoksiasetik asit ve 2 mg / L α -naftalen asetik asit genotoksik etki gösterirken, 0,5 mg /L indol-3-asetik asit ve 0,5 mg/ L α -naftalen asetik asit genotoksik etki göstermemiştir (Çakmak ve diğerleri, 2019).

Sentetik bitki hormonlarından birisi olan Picloram ile bitki doku kültüründe yetiştirilen *A. cepa* meristematik kök hücreleri üzerinde genotoksisite çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmada *A. cepa*'lar 0,67; 1,34; 2,01; 2,68; 3,35 ve 4,02 mg/L'lik konsantrasyonları ile 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Genotoksisite testi kapsamında Picloramın mitotik indeks, mitotik faz frekansları ve mitotik anormallikler üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmanın devamında comet testi gerçekleştirilerek kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti parametreleri incelemiştir. Picloramın 2,01; 2,68; 3,35 ve 4,02 mg/L konsantrasyonlarında hem 24 hem de 48 saatlik uygulamaları mitotik indeksi düşürmüştür. 24 saatlik Picloram uygulamasında en yüksek (4,02 mg/L) konsantrasyonda profaz frekansı anlamlı düzeyde artış göstermiştir. 24 saatlik uygulamanın 3,35 mg/L'lik konsantrasyonunda telofaz frekansı önemli düzeyde azalmıştır. Picloramın 24 ve 48 saatlik uygulamasında mitotik anormallik düzeyleri kontrole göre artış göstermiştir. Picloram, her iki uygulama süresinde de kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde mitotik anormallikleri

artırmamıştır. Bu sonuçlar, Picloram ile doku kültüründe muamele edilmiş *A. cepa* kök uçlarında düşük konsantrasyonlarının genotoksik potansiyele sahip olmadığını göstermiştir (Özel ve diğerleri, 2018).

Tarımsal alanlarda kullanılan ve bitkilerin gelişimde hayvan gübresine göre pek çok avantajı bulunan vermikompostun doku kültürlerinde kullanılabilir olduğu çalışmalarımız sonucunda kanıtlanmıştır. Vermikompostun bitkiler için çeşitli olumlu etkiler sergilemesinin yanı sıra içeriğinde oksin ve diğer hormonların etkilerini gösterebilen hümitik maddeleri bulunması bir diğer avantajıdır (Cacco ve Dell' Angola 1984, Nardi ve diğerleri, 2002; Canellas ve diğerleri, 2002; Quaggiotti ve diğerleri, 2004). Soyergin (2013) hümitik asitin bitki enzimlerini uyardığını, bitki kök gelişimini desteklediğini, kök hücre zarlarının geçirgenliğini artırarak topraktan alınan besin miktarını artırdığını ve bitkinin fotosentezi miktarını artırdığını ifade etmiştir. Birçok çalışma, hümitik maddelerin (HM) çeşitli toprak tiplerinde, durağan toprak tabakalarında ve suda yetiştirilen birçok bitki türünü etkilendiğini göstermiştir (Chen ve diğerleri, 2004; Trevisan ve diğerleri, 2010). Bununla birlikte, hümitik maddelerin bitki gelişimi üzerindeki bu etkilerinden sorumlu ana mekanizmalarının kaynağı belirsizdir. Genel olarak, bitki gelişimi üzerindeki bu mekanizmaları açıklamak için iki ana hipotez önerilmiştir: (i) Hümitik maddelerin etkisinin esas olarak dolaylı olduğunu savunan "beslenme hipotezi": toprak özelliklerine ve bitkide bulunan besin havuzuna etki edebilir (temelde Fe ve Zn gibi mikro besinler) (Chen ve diğerleri, 2004) (ii) Hormon benzeri hipotezde ise: HM' nin kök hücreleri ile etkileşimi sonucunda bitki metabolizması üzerinde doğrudan etki edebileceği savunulur (Trevisan ve diğerleri, 2010).

Beslenme hipotezi esas olarak, hümitik maddelerin yapılarında bulunan fonksiyonel grupların yardımı ile metal komplekslerini şelat aktivitesi yeteneğini temel alır (Stevenson, 1994). Gerçekleştirilen çalışmalar, çeşitli bitki türlerinin hümitik maddeler ile muamele edilmesinin HM-metal komplekslerinin oluşumuna neden olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu kompleks toprakta bulunan mevcut mikro besinlerin (Fe, Zn ve Cu) bitki büyümesi için sınırın üzerinde alımını engellemektedir. Çalışmalar HS'lerin mikro besinlerin toprakta bulunma durumunu sınırlandırmasının bitki büyümesini artırdığını göstermiştir. Bazı çalışmalar, belirli HM türlerinin (özellikle vermikomposttan elde edilen) su veya besin sınırlamaları olmaksızın yetiştirilen bitkileri etkileyebileceğini göstermiştir (Mora ve diğerleri, 2012; Trevisan ve diğerleri, 2010).

Genel olarak hormon benzeri hipotezinde önerilen mekanizma ise, HM'nin supramoleküler kümelenmiş yapıda emilen oksin veya oksin benzeri bileşiklerin potansiyel varlığına dayanmaktadır (Trevisan ve diğerleri, 2010). Bununla birlikte bileşiminde ana bitki kaynaklı düzenleyicilerin saptanabilir konsantrasyonları olmadan saflaştırılmış tortul hümik maddeleri (HM)'nin hem transkripsiyonel hem de transkripsiyon sonrası seviyelerde kök ve sürgün işlevselliğini etkileyebildiğini göstermiştir (Elena ve diğerleri, 2009; Jannin ve diğerleri, 2012; Mora ve diğerleri, 2012). Elde edilen bulgular, HM'nin muhtemelen nitratin kökten alımını ve sürgün translokasyonunu iyileştirerek büyümesini etkilediğini göstermektedir (Jannin ve diğerleri, 2012; Mora ve diğerleri, 2010). Bu hipoteze göre sitokinlerin aktifleşmesini teşvik eder ve kökten sürgüne doğru translokasyonu artırır. Böylece sürgünde gerçekleşen aktifleşmiş translokasyon aktivitesi bitki besin durumunda ve gelişiminde artış görülmesine sebep olur. Sürgün gelişimi üzerindeki hümik madde-sitokinin işlevselliği arasındaki bu ilişki, kolza tohumları üzerinde gerçekleştirilen transkripsiyonel ve fizyolojik çalışmalarla desteklenmiştir. Tüm bulgular ele alındığında, rizosferde bulunan aktif-HM (toprak çözeltisindeki HM) konsantrasyonuna bağlı olarak hümik maddelerin bitki büyümesi üzerindeki etkisinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir (Garcia-Mina ve diğerleri, 2012).

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), ekim alanlarında 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) gibi herbisitlerin yoğun kullanımı bir takım toksikolojik sorunlara yol açabilir. Toksik etkilerin zararlarını önlemek, besin alımını iyileştirmek, bitki gelişimini arttırmak ve bitkilerin antioksidan sistemini düzenleyerek strese karşı koruyucu bir rol oynamak için humik asit (HA) kullanılabilir. Bu nedenle, HA'nın, fasulyede 2,4-D stresine karşı DNA hasar seviyeleri ve DNA metilasyon değişiklikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan HA konsantrasyonları 0 (kontrol), 2, 4, 6, 8 ve 10 mg/L'dır. Öncelikle fasulye fidelerinin kök uzunluğu 0,5–1 cm'ye ulaşınca kadar HA konsantrasyonları bulunan toprak kaplarda yetiştirilmiştir. Ardından 2,4-diklorofenoksiasetik asit (Merck, Kat. No. 31518, Pestanal) çözeltileri (5, 10, 20 ve 40 mg / L) arka arkaya üç gün bitkilere uygulanmıştır. DNA hasarındaki değişiklikleri belirlemek için rastgele amplifiye polimorfik DNA (RAPD) ve DNA metilasyon değişiklikleri içinde birleştirilmiş restriksiyon enzim parçalama-rastgele amplifikasyon yöntemleri (CRED-RA) kullanmıştır. Sonuçlara göre 2,4-D (5, 10, 20 ve 40 mg /L) muamelesinde genomik kararlılık (GTS) azalırken HA muamelesi ile birlikte uygulanan 2,4-D'de bu değer nispeten artmıştır (0, 2, 4, 6, 8 ve 10 mg/L). CRED-RA sonuçları, HA dozları arttıkça 2,4-D uygulamalarının neden olduğu polimorfizm oranlarında

(DNA metilasyon değişiklikleri) genel olarak bir azalmaya neden olmuştur. Elde edilen sonuçlar, 2,4-D'nin neden olduğu genotoksik ve DNA metilasyon değişikliklerine karşı HA'nın bir seviyeye kadar iyileştirici bir etkiye sahip olduğunu açıkça göstermiştir (Aydın ve diğerleri, 2021).

Uzun terminal tekrarı (LTR) retrotranspozonları, çevresel faktörlere dayalı olarak çeşitli genom organizasyonlarını incelemek için önemli bir mekanizmadır. Çinko (Zn) ve demir (Fe) stresine maruz kalan mısır tohumlarında genomik kararlılık (GTS) ve LTR retrotranspozon polimorfizmleri üzerindeki hümkik asit (HA) koruyucu etkileri incelenmiştir. Çalışmada üç farklı konsantrasyon uygulanmıştır. Birinci uygulamada tohumlar, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 'in 20, 40 ve 60 mM dozlarına tâbi tutulmuştur. İkinci uygulamada 1500 ppm (0,075 g) HA ve $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (20, 40 ve 60 mM) kombinasyonu ve üçüncü uygulamada ise $FeSO_4$ (20, 40 ve 60 mM); ve 1500 ppm (0,075 g) HA ile $FeSO_4$ (20, 40 ve 60 mM) kombinasyonu kullanılmıştır. Uygulama sonucunda elde edilen bitkilerden sap ve kök kısımları kesilmiştir. DNA izolasyonu için $-80^{\circ}C$ ' de dondurulmuştur. Retrotranspozonlar arası amplifiye polimorfizmin ölçülebilmesi için gerçekleştirilen PCR reaksiyonlarında beş primer (Nikita-57 N (57), Sukkula, Stowaway, Nikita E2647 ve WLTR2105) kullanılmıştır. Genetik analizler için retrotranspozonlar arası güçlendirilmiş polimorfizm ve retrotranspozon-mikrosatellit amplifiye polimorfizm teknikleri kullanılmıştır. Kullanılan tüm dozlarda Zn ve Fe'nin retrotranspozon polimorfizmlerini artırdığını ve DNA hasarı yoluyla GTS yüzdesini azalttığını göstermiştir. Bununla birlikte, HA'nın Zn ve Fe ile birlikte muamelesi, azalmış DNA hasarı ve retrotranspozon polimorfizmleri, artan GTS ile sonuçlanmıştır. Bu gözlemler, HA'nın ağır metallere maruz kalmış tarım alanlarında toksik etkileri azaltmak için uygulanabileceğini göstermektedir (Yigider ve diğerleri, 2020).

Yapılan bir çalışmada pikloram (4-amino-3,5,6-trikloropikolinik asit) herbisitine maruz kalan fasulyede (*Phaseolus vulgaris*) DNA metilasyon değişiklikleri ve DNA hasar düzeyleri ile hümkik asidin (HA) bu değişiklikler üzerinde önleyici etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. DNA hasarının belirlenmesi için rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) tekniği kullanılmıştır. DNA metilasyonun oranını saptamak içinde enzim ile kesim-rastgele amplifikasyon (CRED-RA) tekniği kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre pikloramın konsantrasyonları, (5, 10, 20 ve 40 mg/L) DNA hasar profili değişikliklerinin (RAPD'ler) artmasına, DNA hipometilasyonuna ve genomik şablon stabilitesinin (GTS) azalmasına neden olmuştur. Hümkik asidin genetik hasar üzerindeki etkilerini azalmasının

yanı sıra epigenetik etkisi hipometilasyondur. Deneyin sonuçları, HA'lerin bitkilerdeki genetik hasarı azaltmak için bir alternatif olabileceğini açıkça göstermiştir. Elde edilen veriler, HA'lerin pikloramin epigenetik ve genotoksik etkilerine karşı antagonistik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca organik toprakların hümik ve fulvik asitler gibi bazı bileşenlerinin, bitkideki kimyasal mutajenlere karşı genotoksik hasarı azaltmak için bir alternatif olabileceği açıklanmıştır (Taspınar ve diğerleri, 2017).

Retrotranspozon aktivitesi ve genomik şablon stabilitesi (GTS), çevresel strese en önemli yeniden düzenleme mekanizmalarından biridir. Bu nedenle, bir diğer çalışmada Kobalt (Co) elementinin mısır genomu üzerindeki (*Zea mays*) genomik kararlılığı ve uzun bitiş tekrar retrotranspozon polimorfizmi üzerindeki etkisi hümik asitin (HA) uygulaması ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla, retrotranspozon polimorfizmini ve GTS düzeylerini değerlendirmek için Retrotranspozon-mikrosatellit amplifiye polimorfizm (REMAP) ve Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism (IRAP) markerları kullanılmıştır. Çalışmada mısır bitkisine $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10, 20 ve 40 mM) ve 1500 ppm HA ile birlikte $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10, 20 ve 40 mM) uygulanmıştır. Mısır bitkileri iki hafta boyunca uygulama konsantrasyonlarında yetiştirilmiştir. IRAP ve REMAP primerlerinin, çeşitli Co dozları ile muamele edilmiş mısır bitkileri üzerinde özgün polimorfik bant yapıları oluşturduğu tespit edilmiştir. Co konsantrasyonu artarken retrotranspozon polimorfizmi de artmış ve GTS miktarı azalmıştır. Öte yandan, HA ile muameleden sonra Co'nun retrotranspozon GTS ve polimorfizm üzerindeki olumsuz etkilerinde bir azalma olmuştur. Daha yüksek Co dozları (40 mM) IRAP ve REMAP sonuçlarında toksik etki gösterirken HA'nın bu toksisiteler üzerinde azaltıcı bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar, HA mısır fidelerinde Co toksisitesinin zararlı etkilerinden korunması için kullanılabileceğini göstermektedir.

Vermikompostun hümik asit ve indol asitik asit gibi bitki büyüme düzenleyicileri içermesinden dolayı doku kültürlerinde de maaliyeti düşük ve çimlenme rejenerasyonun etkisini artırıcı organik bir materyal olarak kullanılabileceğine dair veriler elde edilebilmesi devam edecek çalışmalar için oldukça önem arz etmektedir. Bu çalışma doku kültürlerinde vermikompost kullanımı da yenilikçi bir yaklaşım olması nedeniyle özgün değer taşımaktadır. İleride bitki doku kültürleri çalışmalarında farklı bitkiler üzerinde yapılacak denemeler ile desteklenerek etki mekanizmasının aydınlatılabilmesi mümkün olabilir.

Tez çalışmamız doku kültüründe gerçekleştirilen ilk çalışma olup vermikompostun genotoksik ve antigenotoksik etki mekanizmasına ait önemli ön bilgiler vermiştir. Vermikompostun hidrojen peroksit (H_2O_2) karşı iyileştirici ve korucu etkileri uygulamalar sayesinde gözlemlenmiştir. Çalışma sonuçları şöyle özetlenebilir;

- Vermikompost doku kültüründe uygulanan dozlarda ve bu bitki türü için genotoksik değildir ve hücre bölünmesini artırmaktadır.
- Antigenoksisite uygulaması sonuçlarına bakıldığında (24-48 saatlik uygulama) her iki muamele tipinde de pozitif kontrole oranla mitotik indeks ve mitotik anormallik seviyesinde olumlu sonuçlara neden olduğu gözlemlenmiştir.
- Antigenotoksisite uygulamasında mitotik anormallik seviyesi her iki uygulama şeklinde de pozitif kontrole göre düşük bulunmuş olup bu sonuç vermikompostun DNA hasarına karşı koruyucu veya iyileştirici etkisinin olduğunu göstermektedir. İleri çalışmalar ile moleküler mekanizması aydınlatılabilir.
- Aynı zamanda doku kültürünün antigenotoksisite uygulaması sonucunda vermikompostun koruyucu etkisinin iyileştirici etkisine oranla daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.
- Elde edilen sonuçlar vermikompost uygulamasının bitki büyüme ve gelişmesine olumsuz şartlarda dahi katkıda bulunabileceği sonucunu çıkarmamıza yardımcı olabilir. Bu çalışma, vermikompostun etkinliği hakkında önemli bir ışık tutmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmanın uluslararası bilgi birikimine katkı sağlayarak, vermikompostun bitki doku kültürlerinde genotoksisite ve antigenotoksisite verilerine ilişkin literatürdeki önemli bir boşluğu kapatacağı düşünülmektedir. Farklı bitkilere doku kültüründe vermikompost uygulamaları ile vermikompostun bu alanda yaygın kullanımına yönelik sonuçlara ulaşılabileceği düşünülmektedir. Bu bakımdan tez çalışması söz konusu çalışmalara ön bilgi sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abacıoğlu, E., Yatgın, S., Tokel, E., ve Yücesoy, P. (2020). Vermikompostun (Solucan gübresi) üretimi ve bitki beslemesindeki önemi. *Bartın Üniversitesi Uluslararası Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1), 1-10.
- Acemi, A. (2011). *Farklı konsantrasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicilerinin Amsonia orientalis Decne. (Apocynaceae)'in doku kültürü ile çoğaltılmasına olan etkilerinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 3-17.
- Akıncı, Ş. (2011). Hümik asitler, bitki büyümesi ve besleyici alımı. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 23(1), 46-56.
- Akıncı, Ş. (2017). Humik asitlerin stres altındaki bitkilerin büyümesine ve besleyicilerin alınmasına etkileri I: Tuzluluk. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 29(4), 134-143.
- Akyıl, D., ve Ozkara, A. (2015). Bitkilerde genotoksisite çalışmalarında yaygın olarak kullanılan parametreler ve uygulanan test sistemleri. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2), 223-247.
- Alremi, F., Taşkın, H., Sönmez, K., Büyükalaca, S., ve Ellialtıoğlu, Ş. (2014). Biber (*Capsicum annuum* L.)’de genotip ve besin ortamının anter kültürüne etkileri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(2), 108-116.
- Amer, S. M., and Ali, E. M. (1983). Cytological effects of pesticides XIV. Effect of the insecticide Dipterex “trichlorphon” on *Vicia faba* plant. *Cytologia*, 48(4), 761-770.
- Ames, B. N., Lee, F. D., and Durston, W. E. (1973). An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(3), 782-786.
- Aprotosoiaie, A. C., Luca, V. S., Trifan, A., and Miron, A. (2019). Antigenotoxic potential of some dietary non-phenolic phytochemicals. In *Studies in natural products chemistry*, 60, 223-297. Elsevier.
- Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Bierman, P., Metzger, J. D., Lee, S., and Welch, C. (2003). Effects of vermicomposts on growth and marketable fruits of field-grown tomatoes, peppers and strawberries. The 7th international symposium on earthworm ecology Cardiff Wales, *Pedobiologia*, 47(5-6), 731-735.
- Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Lee, S., and Byrne, R. (2006). Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. *European Journal of Soil Biology*, 42, 65-69.
- Atar, H., ve Çölgeçen, H. (2013). Bitki doku kültüründe iridoit glikozitler. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 25(3), 115-133.
- Ataseven, N., Yüzbaşıoğlu, D., Keskin, A. Ç., and Ünal, F. (2016). Genotoxicity of monosodium glutamate. *Food and Chemical Toxicology*, 91, 8-18.

- Atiyeh, R. M., Lee, S., Edwards, C. A., Arancon, N. Q., and Metzger, J. D. (2002). The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Bioresource Technology*, 84(1), 7-14.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbasioğlu, D., and Ünal, F. (2020). *In vitro* genotoxicity assessment of monopotassium glutamate and magnesium diglutamate. *Toxicology in vitro*, 65(2020),104780.
- Awad, K. M., Salih, A. M., Khalaf, Y., Suhim, A. A., and Abass, M. H. (2019). Phytotoxic and genotoxic effect of Aluminum to date palm (*Phoenix dactylifera L.*) *in vitro* cultures. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 17(1), 1-8.
- Aybeke, M., Olgun, G., Sıdal, U., ve Kolankaya, D. (2000). Zeytinyağı fabrikası atık suyunun buğday (*Triticum aestivum L.*) kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünme ve total protein miktarı üzerine etkisi. *Turkish Journal Biology*, 24, 127-140.
- Aydın, M., and Demirsoy, M. (2020). The effects of seaweed extracts and the applications of vermiwash on organic lettuce (*Lactuca sativa L.*) seedlings. *Turkish Journal of Food and Agriculture Sciences*, 2(1), 1-4.
- Azqueta, A., Ladeira, C., Giovannelli, L., Boutet-Robinet, E., Bonassi, S., Neri, M., Gajski, G., Duthie, S., Bo, C. D., Riso, P., Koppen, G., Basaran, N., Collins, A., and Möller, P. (2020). Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 783(108288), 1-20.
- Balachandar, R., Baskaran, L., Yuvaraj, A., Thangaraj, R., Subbaiya, R., Ravindran, B., Chang S. W., and Karmegam, N. (2020). Enriched pressmud vermicompost production with green manure plants using *Eudrilus eugeniae*. *Bioresource Technology*, 299(122578), 1-11.
- Başay, S., ve Alpsoy, H. C. (2019). Biber (*Capsicum annuum L. var. Sürmeli*) tohumlarına yapılan vermikompost çayı ön uygulamasının çimlenme parametreleri ve fide kalite özelliklerine etkisi. *Alatarım*, 18(1), 23-29.
- Beceren, A., Sarıkaya, B., Tatlıpınar, E., Omurtag, G. Z., and Şardaş, S. (2017). Investigation of antioxidants's antimutagenic effects by the ames test. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(3), 455-460.
- Beedanagari, S. (2017). Genetic Toxicology. *Comprehensive Medicinal Chemistry III*, 4, 195-203.
- Befrozfar, M. R., Habibi, D., Asgharzadeh, A., Sadeghi-Shoae, M., and Tookaloo, M. R. (2013). Vermicompost, plant growth promoting bacteria and humic acid can affect the growth and essence of basil (*Ocimum basilicum L.*). *Annals of Biological Research*, 4(2), 8-12.
- Bellitürk, K. (2016). Sürdürülebilir Tarımsal Üretimde Katı Atık Yönetimi İçin Vermikompost Teknolojisi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 31(3), 1-5.
- Bender, S. F., Wagg, C., and van der Heijden, M. G. (2016). An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(6), 440-452.

- Bhat, S. A., Singh, J., and Vig, A. P. (2014). Genotoxic assessment and optimization of pressmud with the help of exotic earthworm *Eisenia fetida*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(13), 8112-8123.
- Bhat, S. A., Singh, J., and Vig, A. P. (2015). Vermistabilization of sugar beet (*Beta vulgaris* L) waste produced from sugar factory using earthworm *Eisenia fetida*: Genotoxic assessment by *Allium cepa* test. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(15), 11236-11254.
- Bhat, S. A., Singh, J., and Vig, A. P. (2016). Effect on growth of earthworm and chemical parameters during vermicomposting of pressmud sludge mixed with cattle dung mixture. *Procedia Environmental Sciences*, 35, 425-434.
- Bhat, S. A., Singh, J., Singh, K., and Vig, A. P. (2017). Genotoxicity monitoring of industrial wastes using plant bioassays and management through vermitechnology: A review. *Agriculture and Natural Resources*, 51(5), 325-337.
- Bhatia, S. (2015). Plant tissue culture. *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences*, 31-107.
- Bolat, İ., ve Kara, Ö. (2017). Bitki besin elementleri: Kaynakları, işlevleri, eksik ve fazlalıkları. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 19(1), 218-228.
- Bolle, P., Mastrangelo, S., Tucci, P., and Evandri, M. G. (2004). Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 43(2), 137-141.
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D.S., Popescu, A., Romanovsky, A.V., Schiff, S., Ślusarczyk, J., de Souza C. P., Srivastava, A., Sutan, A., and Papini, A. (2018). An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*, 71(3), 191-209.
- Borges da Silva, E., Brayner Cavalcanti, M., Ferreira Da Silva, C. S., de Salazar e Fernandes, T., Azevedo Melo, J., Lucena, L., Netto, A. M., and Amaral, A. (2021). Micronucleus assay for predicting side effects of radiotherapy for cervical cancer. *Biotechnic and Histochemistry*, 96(1), 60-66.
- Brei, M., Pérez-Barahona, A., and Strobl, E. (2016). Environmental pollution and biodiversity: Light pollution and sea turtles in the Caribbean. *Journal of Environmental Economics and Management*, 77, 95-116.
- Briones, M. J. L., Barreal, M. E., Harrison, A. C., and Gallego, P. P., (2011). Earthworms and nitrogen application to improve soil health in an intensively cultivated kiwifruit orchard. *Applied Soil Ecology*, 49, 58–166.
- Büyükfıllız, F. (2016). *Vermikompost gübrelemesinin ayçiçeği (Helianthus annuus L.) bitkisinin verim ve bazı kalite parametreleri üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 1-51.
- Cacco, G., and Dell'Agnola, G. (1984). Plant growth regulator activity of soluble humic complexes. *Canadian Journal of Soil Science*, 64(2), 225-228.

- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Okorokova-Façanha, A. L., and Façanha, A. R. (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*, 130(4), 1951-1957.
- Casillas-Figueroa, F., Arellano-García, M. E., Leyva-Aguilera, C., Ruíz-Ruiz, B., Vázquez-Gómez, R. L., Radilla-Chávez, P., and Bogdanchikova, N. (2020). Argovit™ silver nanoparticles effects on *Allium cepa*: plant growth promotion without cyto genotoxic damage. *Nanomaterials*, 10(7), 1386.
- Ceritoğlu, M. (2019). *Farklı Ekim Zamanlarında Uygulanan Vermikompostun Mercimek (Lens Culinaris Medik.)'te Verim ve Verim Ögeleri Üzerine Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Siirt, 1-72.
- Ceritoğlu, M., Şahin, S., ve Erman, M. (2019). Vermikompost üretim tekniği ve üretimde kullanılan materyaller. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 6(2), 230-236.
- Ciğerci, İ. H., Liman, R., Özgül, E., and Konuk, M. (2015). Genotoxicity of indium tin oxide by *Allium* and Comet tests. *Cytotechnology*, 67(1), 157-163.
- Cristóbal-Luna, J. M., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., and Chamorro-Cevallos, G. (2018). Grapefruit and its biomedical, antigenotoxic and chemopreventive properties. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 224-234.
- Cvjetko, P., Milošić, A., Domijan, A. M., Vrček, I. V., Tolić, S., Štefanić, P. P., and Balen, B. (2017). Toxicity of silver ions and differently coated silver nanoparticles in *Allium cepa* roots. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 18-28.
- Çakmak, E., Uncuoğlu, A. A., and Aydın, Y. (2019). Evaluation of in vitro genotoxic effects induced by in vitro anther culture conditions in sunflower. *Plant Signaling and Behavior*, 14(9), 1633885.
- Çavuşoğlu, K., Üstündağ, Ü., Yalçın, E., Acar, A., ve Yapar, K. (2019). *Allium cepa* L.(Soğan)'da Dithane'nin Sebep Olduğu Toksisite: Fizyolojik ve Sitogenetik Değerlendirme. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 8(1), 10-19.
- Çıkrıkcı, S., ve Okumuş, A. (2019). *Solucan Gübre Teknolojisi: Kalite & Bitki Besleme Etkisi*. 2. International Next Generation Scientific Approachments Congress, Samsun.
- Çıtak, S., Sönmez, S., Koçak, F., ve Yaşın, S. (2011). Vermikompost ve ahır gübresi uygulamalarının ıspanak (*Spinacia oleracea* var. *L.*) bitkisinin gelişimi ve toprak verimliliği üzerine etkileri. *Derim*, 28(1), 56-69.
- Çorapçı, K. (2019). *Vermikompostun potasyum alınımlı üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 1-45.
- Datta, S., Singh, J., Singh, J., Singh, S., and Singh, S. (2018). Assessment of genotoxic effects of pesticide and vermicompost treated soil with *Allium cepa* test. *Sustainable Environment Research*, 28(4), 171-178.
- Datta, S., Singh, J., Singh, S., and Singh, J., (2016). Earthworm, pesticides and sustainable agriculture: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 8227–8243.

- De Souza Pohren, R., da Costa, T. C., and Vargas, V. M. F. (2013). Investigation of sensitivity of the *Allium cepa* test as an alert system to evaluate the genotoxic potential of soil contaminated by heavy metals. *Water, Air, and Soil Pollution*, 224(3), 1-10.
- Dehsorkhi, A. N., Makarian, H., Ghandali, V. V., and Salari, N. (2018). Investigation of effect of humic acid and vermicompost application on yield and yield components of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Applied Research in Field Crops*, 31(1), 16-18.
- Dimitrov, B. D. (1994). Types of chromosomal aberrations induced by seed aging in *Crepis capillaris*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 23(4), 318-322.
- Dinçer, D., Bekçi, B., ve Bekiryazıcı, F. (2016). Türkiye'deki doğal bitki türlerinin üretiminde doku kültürü tekniklerinin kullanımı. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 295-302.
- Dixit, M., and Kumar, A. (2018). *In Vitro* Gene Genotoxicity Test Methods. *In vitro Toxicology*, 67-89.
- Doğan, K., Sarioğlu, A., Şakar, E., ve Karanlık, S. (2018). Zeytin Karasuyu, Isıl İşlem Görmüş Solucan Gübresi ve Çiftlik Gübresi Uygulamalarının Toprak Mikrobiyal Aktivite Değişimlerine Etkisi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 151-159.
- Dryanovska, O. A. (1987). Mutagenic effect of the herbicide alachlor during meiosis in *Tradescantia paludosa*. *Acad'Emie Bulgare des Sciences*, 40, 73-76.
- Edwards, C. A., and Bohlen, P. J. (1996). Biology and ecology of earthworms. *Springer Science and Business Media*, 3, 1-5.
- Erikel, E., Yuzbasioglu, D., and Unal, F. (2019). *In vitro* genotoxic and antigenotoxic effects of cynarin. *Journal of Ethnopharmacology*, 237, 171-181.
- Erşahin, Ş. Y. (2007). Vermikompost ürünlerinin eldesi ve tarımsal üretimde kullanım alternatifleri. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(2), 99-107.
- Eryüksel, S. (2016). *Farklı oranlarda vermicompost uygulamasının bazı sebzelerin besin elementi içerikleri üzerine olan etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 2-54.
- Espinosa-Leal, C. A., Puente-Garza, C. A., and García-Lara, S. (2018). *In vitro* plant tissue culture: means for production of biological active compounds. *Planta*, 248(1), 1-18.
- Esringü, A., Sezen, İ., Aytatlı, B., and Ercişli, S. (2015). Effect of humic and fulvic acid application on growth parameters in *Impatiens walleriana* L. *Akademik Ziraat Dergisi*, 4(1), 37-42.
- Evans, H. J. (1977). *Molecular mechanisms in the induction of chromosome aberrations. Progress in genetic toxicology*. Amsterdam: Elsevier/North-Holland and Biomedical Press, 57.
- Fiskesjö, G. (1969). Some results from *Allium* tests with organic mercury halogenides. *Hereditas*, 62(3), 314-322.

- Fiskesjö, G. (1985). The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102(1), 99-112.
- Fiskesjö, G. (1988). The Allium test—an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 197(2), 243-260.
- Gomez-Martinez, M., Swapna, T.S., Castillo-Reyes, F., Soriano-Melgar, L., A., A., Ramirez-Godina, F., Garcia-Osuna, H., Vera-Reyes, I., Flores-Gallegos, A., C., and Rodriguez-Herrera, R. (2020). *Advances in Food Bioproducts and Bioprocessing Technologies*, Florida: CRC Press, 109-144.
- Goswami, L., Patel, A. K., Dutta, G., Bhattacharyya, P., Gogoi, N., and Bhattacharya, S. S. (2013). Hazard remediation and recycling of tea industry and paper mill bottom ash through vermicomversion. *Chemosphere*, 92(6), 708-713.
- Gökmen, F. (2020). Toprak solucanı kullanımının ağır metal giderimine etkisi. *Journal of Agriculture*, 2(2), 92-99.
- Günhan, T. (2020). *Azaltılmış azot gübresi uygulamaları ve solucan gübresi kombinasyonlarının pehlivan ekmeklik buğday çeşidinde (Triticum aestivum L.) verim ve verim öğeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, 1-34.
- Haq, I., and Raj, A. (2018). Biodegradation of Azure-B dye by *Serratia liquefaciens* and its validation by phytotoxicity, genotoxicity and cytotoxicity studies. *Chemosphere*, 196, 58-68.
- Hopkins, B., and Stark, J. (2003). *Humic acid effects on potato response to phosphorus*. In Idaho Potato Conference, 87-92.
- Jain, K., Singh, J., Chauhan, L. K. S., Murthy, R. C., and Gupta, S. K. (2004). Modulation of flyash-induced genotoxicity in *Vicia faba* by vermicomposting. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(1), 89-94.
- Jayasree, S., Jishma, K. B., Princy T. V., Shahina Beegum P. P., Sharfuneesa K. A., Sheeba N. R., Smitha M., Sreeja A. S., Tharakan Nisha A. and Thulasi N. R. (2014). Studies on toxicity prediction of different soil samples by mitotic activity and chromosomal behavior in root meristems of *Alliucepa L.* *Journal of Global Biosciences*, 3(7), 1046-1052.
- Joshi, R., and Vig, A. P. (2010). Effect of vermicompost on growth, yield and quality of tomato (*Lycopersicum esculentum L.*). *African Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(3-4), 117-123.
- Kara, H. (2013). Organik tarım ve çevre koruma açısından; solucan kültürü ve kompostunun değerlendirilmesi. *Tema Vakfı Ulusal Vermikültür Çalıştayı*, Ankara, 46-70.
- Kaur, K., Rani, G., Widodo, N., Nagpal, A., Taira, K., Kaul, S. C., and Wadhwa, R. (2004). Evaluation of the anti-proliferative and anti-oxidative activities of leaf extract from in vivo and in vitro raised *Ashwagandha*. *Food and Chemical Toxicology*, 42(12), 2015-2020.

- Khaled, H., and Fawy, H. A. (2011). Effect of different levels of humic acids on the nutrient content, plant growth, and soil properties under conditions of salinity. *Soil and Water Research*, 6(1), 21-29.
- Kıran, S. (2019). Vermikompost uygulamalarının kuraklık stresi altındaki kıvırcık salatanın (*Lactuca sativa* var. *crispa*) mineral içerikleri üzerine etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22, 133-140.
- Kim, K. H., Kabir, E., and Jahan, S. A. (2016). A review on the distribution of Hg in the environment and its human health impacts. *Journal of Hazardous Materials*, 306, 376-385.
- Kirkland, D., Kasper, P., Martus, H. J., Müller, L., van Benthem, J., Madia, F., and Corvi, R. (2016). Updated recommended lists of genotoxic and non-genotoxic chemicals for assessment of the performance of new or improved genotoxicity tests. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 795, 7-30.
- Kluge, R., and Podlesak, W. (1985). Plant critical levels for the evaluation of boron toxicity in spring barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant and Soil*, 83(3), 381-388.
- Kong, M. S., and Ma, T. H. (1999). Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassays. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 426(2), 221-228.
- Kristen, U. (1997). Use of higher plants as screens for toxicity assessment. *Toxicology in vitro*, 11(1-2), 181-191.
- Kumar, P. P., and Loh, C. S. (2012). Plant tissue culture for biotechnology. In *Plant Biotechnology and Agriculture*, 131-138.
- Kuş, M. (2019). *Topraksız tarım biber (Capsicum annuum L.) yetiştiriciliğinde farklı vermikompost dozlarının verime etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1-64.
- Kwasniewska, J., and Bara, A. (2020). EdU-Based Step-by-Step Method for the Detection of Sister Chromatid Exchanges for Application in Plant Genotoxicity Assessment. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1146.
- Leme, D. M., and Marin-Morales, M. A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 682(1), 71-81.
- Levan, A. (1938). The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. *Hereditas*, 24(4), 471-486.
- Liman, R., Acikbas, Y., and Cigerci, İ. H. (2019). Cytotoxicity and genotoxicity of cerium oxide micro and nanoparticles by *Allium* and Comet tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 168, 408-414.
- Liman, R., Cigerci, İ. H., and Öztürk, N. S. (2015). Determination of genotoxic effects of Imazethapyr herbicide in *Allium cepa* root cells by mitotic activity, chromosome aberration, and comet assay. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 118, 38-42.

- Liu, M., Wang, C., Liu, X., Lu, Y., and Wang, Y. (2020). Saline-alkali soil applied with vermicompost and humic acid fertilizer improved macroaggregate microstructure to enhance salt leaching and inhibit nitrogen losses. *Applied Soil Ecology*, 156(103705), 1-10.
- Lv, M., Li, J., Zhang, W., Zhou, B., Dai, J., and Zhang, C. (2020). Microbial activity was greater in soils added with herb residue vermicompost than chemical fertilizer. *Soil Ecology Letters*, 2, 209-219.
- Mackowiak, C. L., Grossl, P. R., and Bugbee, B. G. (2001). Beneficial effects of humic acid on micronutrient availability to wheat. *Soil Science Society of America Journal*, 65(6), 1744-1750.
- Mamur, S., Ünal, F., Yılmaz, S., Erikel, E., and Yüzbaşıoğlu, D. (2020). Evaluation of the cytotoxic and genotoxic effects of mycotoxin fusaric acid. *Drug and Chemical Toxicology*, 43(2), 149-157.
- Matsumoto, S. T., Mantovani, M. S., Malagutti, M. I. A., Dias, A. L., Fonseca, I. C., and Marin-Morales, M. A. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29(1), 148-158.
- Memarian, P., Sartor, F., Bernardo, E., Elsayed, H., Ercan, B., Delogu, L. G., Zavan, B., and Isola, M. (2021). Osteogenic properties of 3D-Printed Silica-Carbon-Calcite composite scaffolds: Novel approach for personalized bone tissue regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 475.
- Mir, R. A., Shrivastava, S., Pawaiya, P. S., and Agarwal, O. P. (2021). Vermicomposting: Sustainable tool for agriculture environs. In *Microbiota and Biofertilizers*, Berlin: Springer, 57-67.
- Modlitbová, P., Pořízka, P., Novotný, K., Drbohlavová, J., Chamradová, I., Farka, Z., and Kaiser, J. (2018). Short-term assessment of cadmium toxicity and uptake from different types of Cd-based Quantum Dots in the model plant *Allium cepa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 153, 23-31.
- Mouchet, F., Gauthier, L., Mailhes, C., Jourdain, M. J., Ferrier, V., Triffault, G., and Devaux, A. (2006). Biomonitoring of the genotoxic potential of aqueous extracts of soils and bottom ash resulting from municipal solid waste incineration, using the comet and micronucleus tests on amphibian (*Xenopus laevis*) larvae and bacterial assays (Mutatox® and Ames tests). *Science of the Total Environment*, 355(1-3), 232-246.
- Murashige, T., and Skoog, F., (1962). A revised medium for the rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., and Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(11), 1527-1536.
- Nikbakht, A., Kafi, M., Babalar, M., Xia, Y. P., Luo, A., and Etemadi, N. A. (2008). Effect of humic acid on plant growth, nutrient uptake, and postharvest life of gerbera. *Journal of Plant Nutrition*, 31(12), 2155-2167.

- Oney Birol, S., ve Gündüz, F. (2019). L-Karnitinin Sitotoksik ve genotoksik etkilerinin *Allium cepa* Kök ucu testi ile değerlendirilmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(4), 650-658.
- Oney-Birol, S., ve Gündüz, F. (2019). L-Karnitinin Sitotoksik ve genotoksik etkilerinin *Allium cepa* Kök ucu testi ile değerlendirilmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(4), 650-658.
- Orman, Ş., Hüseyin, O. K., Fahad, M., ve Özgür, A. Z. (2020). Stabilize ve kurutulmuş evsel arıtma çamurundan humik asit eldesi ve çim (*Lolium Perenne L.*) yetiştiriciliğinde kullanımı. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(3), 411-416.
- Ozel, C. A., Ozkul, M., Unal, F., and Yuzbasioglu, D. (2018). Evaluation of genotoxicity of picloram by *Allium* test in plant tissue culture. *Feb-Fresenius Environmental Bulletin*, 8133.
- Özdemir, A., ve Kahraman, S. (2015). *Toprak bilgisi ve bitki besleme*. URL: <http://www.kitapark.com/pdf/toprak-bilgisi-ve-bitkibesleme.pdf>. [accessed 14.04.2021].
- Özden Çiftçi, Y. ve Altinkut Uncuoğlu, A. (Editörler). (2019). *Bitki Biyoteknolojisinde Güncel Yaklaşımlar*, Ankara: Palme Yayınevi, 73-94.
- Özel, Ç. A., İşcen, C. F., ve Gülnaz, O. (2020). *Biyoloji 3*. İstanbul: Lisans Yayınevi, 217-224.
- Özel, M. R. (2019). *Farklı düzeylerdeki organik solucan gübresinin atdışı mısırın (zea mays l. indentata) verim ve verim unsurlarına etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 1-46.
- Özkara, A., Akyıl, D., Eren, Y., and Erdoğan, S. F. (2015). Potential cytotoxic effect of Anilofos by using *Allium cepa* assay. *Cytotechnology*, 67(5), 783-791.
- Özkul, M., Özel, Ç. A., Yüzbaşıoğlu, D., and Ünal, F. (2016). Does 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) induce genotoxic effects in tissue cultured *Allium* roots?. *Cytotechnology*, 68(6), 2395-2405.
- Öztürk, İ., ve Tosun, N. (2004). Famoxadone ve Cymoxanil Etkili Maddeli Bir Fungisitinin Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Bitkisi Üzerine Fizyolojik Etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(3), 77-87.
- Peker, D. (2018). *Vermikompost ve atık mantar kompostu uygulamalarının biberde verim ve kalite üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 16-67.
- Phillips, D. H., and Arlt, V. M. (2009). Genotoxicity: damage to DNA and its consequences. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, 87-110.
- Phillips, G. C., and Garda, M. (2019). Plant tissue culture media and practices: an overview. In *Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 55(3), 242-257.

- Popesku, J. T., Tan, E. Y., Martel, P. H., Kovacs, T. G., Rowan-Carroll, A., Williams, A., and Trudeau, V. L. (2010). Gene expression profiling of the fathead minnow (*Pimephales promelas*) neuroendocrine brain in response to pulp and paper mill effluents. *Aquatic Toxicology*, 99(3), 379-388.
- Prajitha, V., and Thoppil, J. E. (2016). Genotoxic and antigenotoxic potential of the aqueous leaf extracts of *Amaranthus spinosus* Linn. using *Allium cepa* assay. *South African Journal of Botany*, 102, 18-25.
- Prajitha, V., and Thoppil, J. E. (2016). Genotoxic and antigenotoxic potential of the aqueous leaf extracts of *Amaranthus spinosus* Linn. using *Allium cepa* assay. *South African Journal of Botany*, 102, 18-25.
- Quaggiotti, S., Ruperti, B., Pizzeghello, D., Francioso, O., Tugnoli, V., and Nardi, S. (2004). Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany*, 55(398), 803-813.
- Rajkhowa, D. J., Bhattacharyya, P. N., Sarma, A. K., Mahanta, K., (2015). Diversity and distribution of earthworms in different soil habitats of Assam, North-East India, an Indo-Burma biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B*, 85, 389–396.
- Rona, E. (2015). *Sağlıklı toprak ve sağlıklı bitkiler için kompost rehberi*. İstanbul: Buğday Ekolojik Yaşamı Destekleme Derneği.
- Rona, E., ve Labriga, L. (2017). *Türkiye Çöpünü Dönüştürüyor! Belediyeler İçin Kompost Rehberi*. İstanbul: Buğday Ekolojik Yaşamı Destekleme Derneği.
- Rout, G. R., Mohapatra, A., and Jain, S. M. (2006). Tissue culture of ornamental pot plant: A critical review on present scenario and future prospects. *Biotechnology Advances*, 24(6), 531-560.
- Saygı, S., Türkkan, M., and Erper, İ. (2019). Usage possibilities of biofumigation in controlling of soil-borne plant pathogenic fungi. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(9), 1245-1248.
- Schnitzer, M., and Khan, S. U. (1978). *Soil Organic Matter*. New York: Elsevier Scientific Publishing Company.
- Sezgin, M., and Kapdan, E. (2019). Propagation of some medicinal and aromatic plants in Turkey by biotechnological methods, *Commagene Journal Biology*, 3(2), 124-131.
- Sezgin, M., ve Şimşek, E. (2017). Bazı orman ağacı ve çalı türleri tohumlarının çimlendirilmesinde vermikompost ürünlerinin etkileri. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 18(1), 78-82.
- Sharma, S., Nagpal, A., and Vig, A. P. (2012). Genoprotective potential of *Brassica juncea* (L.) Czern. against mercury-induced genotoxicity in *Allium cepa* L. *Turkish Journal of Biology*, 36(6), 622-629.

- Singh, J. (2018). Role of earthworm in sustainable agriculture. In *Sustainable Food Systems from Agriculture to Industry*, 83-122.
- Singh, J., Singh, S., Vig, A. P., Bhat, S. A., Hundal, S. S., Yin, R., and Schädler, M. (2018). Conventional farming reduces the activity of earthworms: Assessment of genotoxicity test of soil and vermicast. *Agriculture and Natural Resources*, 52(4), 366-370.
- Singh, J., Singh, S., Vig, A. P., Bhat, S. A., Hundal, S. S., Yin, R., and Schädler, M. (2018). Conventional farming reduces the activity of earthworms: Assessment of genotoxicity test of soil and vermicast. *Agriculture and Natural Resources*, 52(4), 366-370.
- Singh, S., Singh, J., and Vig, A. P. (2016). Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: Soil vs vermicast. *Ecological Engineering*, 90, 1-5.
- Soyergin, S. (2003). *Organik tarımda toprak verimliliğinin korunması, gübreler ve organik toprak iyileştiricileri*. Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü.
- Soylu, E. M., Soylu, S., Kara, M., ve Kurt, Ş. (2020). Sebzelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların in vitro antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(1), 7-18.
- Stevenson, F. J. (1982). *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. New York: John Wiley & Sons, 1-2.
- Tankuş, Ö. (2019). *Farklı dozlarda vermikompost uygulamalarının mısır (Zea mays L.) bitkisinin gelişimine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 1-37.
- Taspınar, M. S., Aydın, M., Sigmaz, B., Yildirim, N., and Agar, G. (2017). Protective role of humic acids against picloram-induced genomic instability and DNA methylation in *Phaseolus vulgaris*. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(29), 22948-22953.
- Taşçı, T. F. (2018). *Brokoli'de vermikompost uygulamasının verim ve bazı kalite parametrelerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 22-56.
- Tavuç, İ. (2017). Orman ekosisteminde toprak solucanlarının önemi ve popölasyonlarının örneklenmesinde kullanılan metotlar üzerine bir bakış. *Orman Genel Müdürlüğü Ormancılık Araştırma Dergisi*, 1(4), 22-29.
- Teke, Ş., Coşkan, A., ve Aktaş, H. (2019). Vermikompostun domateste verim ve kalite parametreleri üzerine etkileri. *Türk Bilim ve Mühendislik Dergisi*, 1(1), 23-27.
- Thorpe, T. (2012). History of plant tissue culture. In *Plant Cell Culture Protocols*, 9-27.
- Toksoy, E. (2019). *Ispanakta Vermikompost (Solucan Gübresi) ve Karaizopot (Porcellio Laevis) Gübresi Uygulamalarının Bitki Gelişimi ve Besin İçerikleri Üzerine Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 1-105.

- Tokur, O., ve Aksoy, A. (2017). In vitro sitotoksosite testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112-118.
- Tomati, U., Grappelli, A., and Galli, E., (1988). The hormone-like effect of earthworm casts on plant growth. *Biology and Fertility of Soils*, 5, 288–294.
- Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S., and Nardi, S. (2010). Humic substances biological activity at the plant-soil interface: From environmental aspects to molecular factors. *Plant Signaling and Behavior*, 5(6), 635-643.
- Tutar, U. (2013). Toprak solucanlarından elde edilen vermikompostun bazı bitki patojenleri üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 34(2), 1-12.
- Türkmen, G. L. (2019). *Çaycuma ilçesinde tarla koşullarında solucan gübresinin domates (Solanum Lycopersicum L.) bitkisi verimi üzerine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, 19-36.
- Türkmen, M. A. (2016). Çevre odaklı üretim ve tarımsal girişimcilik bağlamında: Vermikültür. *Journal of Life Economics*, 3(2), 1-18.
- Uluğ, Z. (2018). *Solucan gübresi ve mikoriza kullanımının fasulye ve soğanda bitki gelişimi ve verim üzerine etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1-51.
- Verschaeve, L. (2015). Genotoxicity and antigenotoxicity studies of traditional medicinal plants: How informative and accurate are the results?. *Natural Product Communications*, 10(8), 1934578X1501000843.
- Vurgun, E., ve Müftüoğlu, N. M. (2019). Bitkinin fosfor alımına vermikompost ve farklı fosfor dozlarının birlikte etkisi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32(3), 437-441.
- Weil, R. E., Spade, D. J., Knoeb, I., Hemming, J. M., Tongue, M. L., Szabo, N. J., and Denslow, N. D. (2012). Evaluation of water quality threats to the endangered Okaloosa darter (*Etheostoma okaloosae*) in East Turkey Creek on Eglin Air Force Base. *Aquatic Toxicology*, 110, 177-186.
- Xia, Z., Duan, X., Tao, S., Qiu, W., Liu, D., Wang, Y., and Hu, X. (2013). Pollution level, inhalation exposure and lung cancer risk of ambient atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China. *Environmental Pollution*, 173, 150-156.
- Yayla, Ş. R., ve Şenol, N. (2020). Tarımda kullanılan bazı mikrobiyal gübrelerin *Eisenia Foetida* deri dokusu üzerinde etkisinin morfolojik açıdan değerlendirilmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 15(2), 213-223.
- Yemişçi, A. (2018). *Vermikompost gübresinin toprakların bazı özellikleri üzerine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1-6.
- Yıldız, M., Cığerci, İ. H., Konuk, M., Fidan, A. F., and Terzi, H. (2009). Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. *Chemosphere*, 75(7), 934-938.

- Yigider, E., Taspınar, M. S., Aydın, M., and Agar, G. (2020). Cobalt-induced retrotransposon polymorphism and humic acid protection on maize genome. *Biologia Futura*, 1-8.
- Yurtseven, E., Semiz, G. D., Avcı, S., ve Çolak, M. S. (2020). *Tarımda Su ve Tuzluluk Yönetimi*. Türkiye Ziraat Mühendisliği IX. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-1, 119-140.
- Yüksek, T., Atamov, V., ve Türüt, K. (2019). Demlenmiş çay atığı ve evsel yemek atıkları ile beslenen kırmızı kaliforniya solucanından elde edilen katı solucan gübresindeki bazı besin elementlerinin belirlenmesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(2), 263-271.
- Yüzbasioglu, D., Enguzel-Alperen, C., and Unal, F. (2018). Investigation of in vitro genotoxic effects of an anti-diabetic drug sitagliptin. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 235-241.
- Yüzbasioglu, D., Mahmoud, J. H., Mamur, S., and Unal, F. (2020). Cytogenetic effects of antidiabetic drug metformin. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-8.
- Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N., ve Ünal, F. (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *Gıda*, 39(3), 179-186.
- Yüzbaşıoğlu, R. (2020). Üreticilerin kimyasal gübre kullanım bilinç düzeylerinin incelenmesi: Tokat merkez ilçe örneği. *Turkish Journal of Agricultural Engineering Research*, 1(2), 452-465.
- Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Sancak, C., and Kasap, R. (2003). Cytological effects of the herbicide racer “flurochloridone” on *Allium cepa*. *Caryologia*, 56(1), 97-105.





GAZİ GELECEKTİR..