
BİTKİ BİYOTEKNOLOJİSİNE MOLEKÜLER YAKLAŞIMLAR



Editör

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ



BİTKİ BİYOTEKNOLOJİSİNE MOLEKÜLER YAKLAŞIMLAR

EDİTÖR

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ

YAZARLAR

Prof. Dr. Alev KURAL

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY

Prof. Dr. Yusuf SERT

Doç. Dr. Halime Hanım PENÇE

Dr. Öğr. Üyesi Hatice BEKÇİ

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ

Arş. Gör. Melike KAYA

Arş. Gör. Dr. Sibel KURAŞ

PhD(c) Merve Nur AL

PhD(c) Nazlı HELVACI

Adnan AYDIN

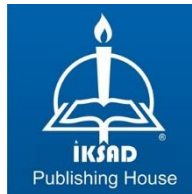
PhD(c) Amjad ALİ

PhD(c) Fatma Eda TUTAR

Gökhan OVALIOĞLU

PhD(c) Hale YILDIZ

Sedanur GÜMÜŞ



Copyright © 2024 by iksad publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, distributed or transmitted in any form or by any means, including photocopying, recording or other electronic or mechanical methods, without the prior written permission of the publisher, except in the case of brief quotations embodied in critical reviews and certain other noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic Development and Social Researches Publications®

(The Licence Number of Publicator: 2014/31220)

TÜRKİYE TR: +90 342 606 06 75

USA: +1 631 685 0 853

E mail: iksadyayinevi@gmail.com

www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.

Iksad Publications – 2024©

ISBN: 978-625-378-132-3

Cover Design Yeter ÇİLESİZ

December / 2024

Ankara / Türkiye

Size = 16x24 cm

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ.....1

BÖLÜM 1

BİTKİLERDE GEN DÜZENLEME TEKNİKLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ

Fatma Eda TUTAR

Hale YILDIZ

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY 3

BÖLÜM 2

MUTASYON ISLAHINA GENEL BİR BAKIŞ

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ

Gökhan OVALIOĞLU..... 23

BÖLÜM 3

BİTKİ ISLAHINDA MOLEKÜLER MARKÖRLER VE UYGULAMALARI

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ

Arş. Gör. Melike KAYA

Amjad ALİ

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY39

BÖLÜM 4

BİTKİLERDE MARKÖR-KARAKTER İLİŞKİSİ

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ

Hale YILDIZ

Fatma Eda TUTAR

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY61

BÖLÜM 5

MOLEKÜLER MARKÖRLERİN ABİYOTİK STRES KOŞULLARINA UYGUN BİTKİ ISLAHI ÇALIŞMALARINDA KULLANIMI

Arş. Gör. Melike KAYA

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY87

BÖLÜM 6

ABİYOTİK STRES KOŞULLARINA DAYANIKLI /TOLERANSLI BUĞDAY ISLAHI ÇALIŞMALARININ FİZYOLOJİK ESASLARI

Arş. Gör. Melike KAYA

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY109

BÖLÜM 7

BİTKİLERİN EPİGENETİK İLE İLİŞKİSİ

Sedanur GÜMÜŞ

Adnan AYDIN.....137

BÖLÜM 8

KANSER AKTİVİTESİNDE KULLANILAN TIBBİ AROMATİK BİTKİLER I

Dr. Öğr. Üyesi Hatice BEKÇİ.....157

BÖLÜM 9

KANSER AKTİVİTESİNDE KULLANILAN TIBBİ AROMATİK BİTKİLER II

Dr. Öğr. Üyesi Hatice BEKÇİ.....175

BÖLÜM 10

ZEYTİNYAĞI FENOLİĞİ OLEOKANTAL'IN MEME KANSERİNDEKİ ANTİKANSER MOLEKÜLER MEKANİZMASI

Merve Nur AL PhD(c).....193

BÖLÜM 11

ZEYTİN YAPRAĞINDAN MOLEKÜLER MEKANİZMAYA: OLEUROPEİN

PhD(c) Nazlı HELVACI

Prof. Dr. Alev KURAL..... 219

BÖLÜM 12

ELAJİK ASİTİN MOLEKÜLER ETKİ MEKANİZMALARI

Arş. Gör. Dr. Sibel KURAŞ

Doç. Dr. Halime Hanım PENÇE..... 241

BÖLÜM 13

KANSER TEDAVİSİNDE KİŞİSELLEŞTİRİLMİŞ YAKLAŞIMLAR VE MOLEKÜLER MODELLEME: HEDEFE YÖNELİK İLAÇ GELİŞTİRMENİN YENİ UFUKLARI

Prof. Dr. Yusuf SERT..... 267

ÖNSÖZ

Biyoteknoloji, modern bilimin en dinamik ve çok yönlü disiplinlerinden biri olarak, yaşamımıza katkılar sunmaya devam etmektedir. Özellikle bitki biyoteknolojisi; sürdürülebilir tarım, çevre dostu uygulamalar ve küresel gıda güvenliği gibi çağımızın en kritik sorunlarına yenilikçi çözümler sunabilme potansiyeliyle öne çıkmaktadır. Bu bağlamda, bitkiler üzerinde moleküler düzeyde çalışan araştırmacılar, biyoteknolojinin sunduğu imkânları insanlığın yararına olacak şekilde kullanmaktadır. Bu kitapta, bitki genetiği, genom düzenleme teknolojileri, genetik modifikasyonlar, moleküler biyoloji, epigenetik ve kanser biyolojisi gibi birçok konu bilimsel yönüyle ele alınmıştır. Hazırlanan bu eserin yalnızca akademik çevrelere değil, biyoteknolojinin farklı sektörlerinde çalışan birçok araştırmacısına da rehber ve ilham kaynağı olacağına inanmaktayım.

Eserin hazırlanmasında emeği geçen yazar ve araştırmacılara teşekkür ederim. Ayrıca tüm aşamalarda katkılarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Seyithan SEYDOŞOĞLU'na ve yayımlanma sürecinde emeği geçen İKSAD yayınevi çalışanlarına şükranlarımı sunarım.

Editör

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ

BÖLÜM 1

BİTKİLERDE GEN DÜZENLEME TEKNİKLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ¹

Fatma Eda TUTAR²

Hale YILDIZ³

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY⁴

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14579978>

¹ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Sivas, Türkiye E-mail: ycilesiz@sivas.edu.tr, Orcid: 0000-0002-4313-352X

² Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye E-mail: fatmaedatutar@gmail.com Orcid: 0000-0003-0733-1112

³ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye E-mail: yildizzhale@gmail.com Orcid: 0009-0007-5454-0466

⁴ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E-mail: tolgakarakoy73@hotmail.com, Orcid: 0000-0002-5428-190.

1. CRISPR/Cas9 Teknolojisi

CRISPR/Cas9, 2012 yılında Jennifer Doudna ve Emmanuelle Charpentier tarafından keşfedilen, genetik mühendisliğinde devrim yaratan bir teknolojidir. Bu teknoloji, genetik materyali çok hassas bir şekilde düzenlemeye olanak tanıyarak bilim dünyasında büyük bir ilgi uyandırmıştır. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) ve Cas9 (CRISPR-associated protein 9), bakterilerin savunma mekanizmalarından ilham alınarak geliştirilmiştir. Bakteriler, yabancı DNA'yı tanıyıp keserek kendilerini korurlar ve bu süreç, genetik mühendisliğinde bir araç olarak kullanılmaktadır (Lander, 2016).

1.1. CRISPR/Cas9 Teknolojisinin Temel Prensipleri

CRISPR/Cas9, genetik düzenlemeyi birkaç temel aşama üzerinden gerçekleştirmektedir.

1.1.1. CRISPR Dizileri ve Cas9 Proteini

CRISPR dizileri, bakterilerde virüslerin genetik bilgilerini hafızalarına kaydeden, kısa, tekrarlayan DNA dizileridir. Bu diziler, her virüs saldırısının ardından, bakterilerin yabancı DNA'yı tanımlarını sağlamaktadır. Cas9 proteini ise bu tanımlanan DNA dizilerini hedef olarak tanımaktadır. Cas9, çift sarmallı DNA'yı kesen bir enzimdir ve CRISPR dizileriyle eşleşen hedef DNA'yı bulduğunda, bu bölgeyi keserek genetik materyalin düzenlenmesini sağlamaktadır (Ledford, 2015; Lander, 2016).

1.1.2. Rehber RNA (gRNA)

CRISPR/Cas9 sisteminin hassasiyetini sağlayan unsurlardan biri de rehber RNA'dır. Rehber RNA, hedef DNA dizisinin tam yerini tanıyan bir dizidir ve Cas9 proteinine, hangi bölgeyi kesmesi gerektiğini bildirmektedir. Bu sayede, CRISPR/Cas9 teknolojisi son derece özgül bir şekilde DNA'yı hedef alıp ve kesmektedir (Jackson ve ark., 2017).

DNA Kesme ve Onarma: Cas9, hedef DNA bölgesini kestiğinde, hücre bu kesilen yeri onarmaya çalışmaktadır. Bu süreç, iki şekilde gerçekleşebilir:

Doğal Onarım (NHEJ - Non-Homologous End Joining): Bu onarım mekanizması sırasında, hücre kesilen bölgeyi yeniden bağlar. Ancak bu bağlama sırasında hatalar meydana gelebilmekte ve bu da genetik

değişikliklere yol açabilmektedir. Bu yöntem, genetik mutasyonlar veya gen kaybı oluşturmak için kullanılmaktadır.

Homolog Düzeltme (HDR - Homology-Directed Repair): Bu mekanizma, hücreye ek bir DNA parçası verildiğinde, kesilen DNA bölgesini doğru şekilde onarmaktadır. Bu yöntem, genetik materyale yeni diziler eklemek veya mevcut bir geni değiştirmek için kullanılmaktadır.

1.2. CRISPR/Cas9 Teknolojisinin Bitki Islahındaki Kullanımı

CRISPR/Cas9 teknolojisi, bitki ıslahında geleneksel yöntemlere göre çok daha hızlı, daha hassas ve daha kontrollü genetik değişiklikler yapmaya olanak sağlamaktadır. Bu teknoloji, tarım bitkilerinde istenilen özelliklerin (verim, hastalık direnci, kuraklık toleransı, vb.) geliştirilmesinde büyük bir potansiyele sahiptir (Chen ve ark., 2019). Buğday gibi tarım bitkilerinde CRISPR/Cas9 teknolojisi, özellikle verim, kalite ve çevresel streslere karşı dayanıklılığın artırılması amacıyla kullanılmaktadır. Buğday, genetik yapısının karmaşıklığı ve poliploid yapısı nedeniyle genetik mühendisliği açısından zorlu bir bitkidir. Ancak, CRISPR/Cas9 teknolojisi ile bu zorlukların üstesinden gelinebilmektedir. CRISPR/Cas9, buğdayın hastalıklara karşı dayanıklılığını artırmak amacıyla kullanılabilir. Örneğin, *Fusarium graminearum* gibi buğdayı etkileyen patojenlere karşı dirençli genetik varyasyonlar oluşturulabilmektedir. Buğdayda kuraklık ve yüksek sıcaklıklara karşı dayanıklı türlerin geliştirilmesi, CRISPR/Cas9 ile mümkün hale gelmiştir. Genetik düzenleme, stres toleransını artırarak verimi güvence altına alabilir. Verim artırıcı genetik modifikasyonlar da CRISPR/Cas9 teknolojisi ile yapılabilmektedir. Örneğin, karbon fiksasyonunu artıran ve büyümeyi hızlandıran genlerin düzenlenmesiyle verim artışı sağlanabilmektedir (Gardiner ve Kazan, 2018; Wolter ve ark., 2019). Bu teknolojinin, kuraklık ve hastalıklara karşı dirençli mısır, pirinç ve soğan gibi diğer tarım bitkilerinde de kullanıldığına dair birçok başarılı örnek bulunmaktadır. Bu bitkilerde, CRISPR/Cas9 ile çevresel faktörlere karşı daha dayanıklı ve daha verimli çeşitler geliştirilmiştir. Bitkilerdeki potansiyel olarak zararlı veya istenmeyen genetik özelliklerin ortadan kaldırılması veya iyileştirilmesi de CRISPR/Cas9 ile sağlanabilir. Bu sayede bitkilerin çevresel koşullara adaptasyonu iyileştirilebilmektedir (Mushtaq, 2018; Nadeem ve ark., 2021; Shimira ve ark., 2021).

1.3. CRISPR/Cas9 Teknolojisinin Avantajları

Yüksek Hassasiyet ve Doğruluk: CRISPR/Cas9, istenilen genetik değişiklikleri çok yüksek doğrulukla gerçekleştirebilir. Bu, istenmeyen yan etkilerin ve rastgele mutasyonların önüne geçilmesini sağlamaktadır.

Hızlı ve Verimli Genetik Düzenleme: Geleneksel bitki ıslahı yöntemlerine kıyasla CRISPR/Cas9, genetik düzenleme sürecini önemli ölçüde hızlandırır. Yeni genetik özelliklerin ortaya çıkması, yıllarca süren seleksiyon ve melezleme süreçlerine kıyasla daha kısa sürede gerçekleşebilir.

Çok Yönlülük: CRISPR/Cas9 teknolojisi, farklı bitkilerde çok çeşitli genetik düzenlemeler yapabilme kapasitesine sahiptir. Bu sayede, pek çok tarım bitkisine uygulanabilir ve farklı hedefler doğrultusunda istenilen değişiklikler yapılabilir.

İstenmeyen Genetik Özelliklerin Düzenlenmesi: CRISPR/Cas9, bitkilerdeki zararlı genetik özelliklerin ortadan kaldırılmasında oldukça etkilidir. Örneğin, hastalık duyarlılığını artıran veya verimi düşüren genler hedeflenebilmektedir.

Çevre Dostu: Geleneksel kimyasal yöntemlere ihtiyaç duyulmadan, doğrudan genetik düzeyde değişiklikler yapılabilmesi çevre dostu bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir.

1.4. CRISPR/Cas9 Teknolojisinin Dezavantajları

Teknik Zorluklar: CRISPR/Cas9, poliploid organizmalarda, özellikle buğday gibi çok kromozumlu bitkilerde bazen istenen başarı elde edilemeyebilir. Poliploidi, genetik değişikliklerin hedeflenmesinde daha karmaşık bir durum yaratabilir.

Hedef Dışı Etkiler: CRISPR/Cas9 teknolojisinin hassasiyeti yüksek olsa da, bazen hedef dışı DNA bölgeleri de kesilebilir. Bu da istenmeyen genetik değişikliklere yol açabilir ve bu değişikliklerin bitkilerde olumsuz etkiler yaratması söz konusu olabilir.

Regülasyon ve Etik Sorunlar: CRISPR/Cas9 teknolojisinin tarımsal ürünlerde kullanımı, birçok ülkede regülasyonlar ve etik tartışmalarla karşılaşmaktadır. Genetik olarak değiştirilmiş organizmalar (GDO) ile ilgili farklı yasalar ve düzenlemeler, bu teknolojinin geniş çapta uygulanmasını kısıtlayabilmektedir.

Tüketici Endişeleri: Genetik mühendislik uygulamaları, tüketici ve halk arasında bazı endişelere yol açabilir. GDO'ların sağlık üzerindeki uzun vadeli etkileri konusunda halen belirsizlikler bulunmaktadır ve bu durum tüketicuyu etkileyebilmektedir.

CRISPR/Cas9 teknolojisi, genetik mühendisliği alanında çığır açan bir yenilik olup, bitki ıslahını daha hızlı, hassas ve verimli hale getirmektedir. Bu teknoloji, özellikle buğday gibi tarım bitkilerinin verimini, hastalık direncini ve çevresel dayanıklılığını artırmak noktasında büyük bir potansiyele sahiptir. Ancak, uygulamada karşılaşılan bazı teknik ve etik zorluklar, bu teknolojinin potansiyelini sınırlayabilmektedir. Yine de doğru kullanıldığında CRISPR/Cas9, geleceğin tarımına yön verebilecek bir araçtır (Karaca, 2018).

2. CRISPR/Cas9'un Uygulama Örnekleri

CRISPR/Cas9 teknolojisi, tarımda verimlilik, dayanıklılık ve kaliteyi artırmak için önemli bir araç haline gelmiştir. Dünyada farklı araştırma grupları ve tarım şirketleri, bu teknolojiyi kullanarak pek çok bitkide istenilen genetik özellikleri kazandırmak amacıyla projeler yürütmektedir. Aşağıda, CRISPR/Cas9'un tarım bitkilerindeki başarılı uygulama örnekleri detaylandırılmıştır.

2.1. Buğdayda CRISPR/Cas9 Uygulamaları

Buğday, dünya çapında önemli bir gıda kaynağı olmasının yanı sıra, genetik yapısının karmaşıklığı nedeniyle ıslahı zorlu bir bitkidir. Ancak CRISPR/Cas9 teknolojisi, buğdayın ıslahını hızlandırma konusunda önemli bir rol oynamaktadır. Aşağıda buğdayda yapılan bazı önemli uygulamalara değinilmektedir.

Fusarium graminearum'a Karşı Direnç: *Fusarium graminearum*, buğdayda başak yanıklığına yol açan önemli bir patojendir. Bu hastalık, hem verimi düşürmekte hem de gıda güvenliğini tehlikeye atmaktadır. CRISPR/Cas9 teknolojisi ile, buğdayda *Fusarium*'a karşı dirençli genler hedeflenmiştir. Özellikle *Fhb1* adlı gen, bu hastalığa karşı dayanıklılığı artırmak için düzenlenmiştir. Yapılan çalışmalar, buğdayda bu genin etkinliğini artırarak hastalık direncini güçlendirmeyi amaçlamıştır (Figlan ve Mwadzingeni, 2022).

Verim Artışı İçin Genetik Modifikasyonlar: CRISPR/Cas9 ile, buğdayda verim artışını sağlamak amacıyla karbon fixasyonunu artıran genetik düzenlemeler yapılmıştır. Örneğin, TaCKX geninin düzenlenmesiyle, bitkilerin daha fazla karbonu bağlaması sağlanarak, daha yüksek verim elde edilmiştir. Ayrıca, TaHKT1 geninin hedeflenmesi ile tuz stresine karşı dayanıklılık sağlanarak, verim kaybı önlenmiştir (Zhang ve ark., 2019).

Kuraklık Toleransı: Kuraklık, buğdayın verimliliğini ciddi şekilde etkileyen çevresel bir faktördür. CRISPR/Cas9 ile kuraklık toleransı artırılmak üzere DREB (Dehydration Responsive Element Binding) proteinleri hedef alınmıştır. Bu proteinler, bitkilerin su kaybına karşı tepki vermesini sağlayarak kuraklık koşullarında hayatta kalmalarına yardımcı olmaktadır. Genetik düzenlemeler ile kuraklık toleransının artırılması sağlanmıştır (Chennakesavulu ve ark., 2021).

2.2. Pirinçte CRISPR/Cas9 Uygulamaları

Pirinç, dünya çapında en yaygın ekilen gıda bitkilerinden biridir. CRISPR/Cas9 teknolojisi, pirinçte çevresel streslere karşı dayanıklılığı artırmak, verimliliği yükseltmek ve besin değerini iyileştirmek için kullanılmaktadır.

Tuz Stresine Karşı Dayanıklılık: Tuzluluk, pirinç ekimi için önemli bir sorun teşkil etmektedir. CRISPR/Cas9 teknolojisi ile OsRR22 geninin düzenlenmesi, tuzluluk stresine karşı daha dayanıklı pirinç çeşitlerinin geliştirilmesini sağlamıştır. Bu gen, tuz stresine karşı bitkilerin daha iyi tepki vermesini sağlayarak, verim kaybını engellemiştir (Zhang ve ark., 2019).

Süper Pirinç Geliştirilmesi: CRISPR/Cas9, pirincin besin değerini artırmak için de kullanılmıştır. Golden Rice (Altın Pirinç) projesi, pirinçte provitamin A (beta-karoten) üretimini artırmak amacıyla CRISPR/Cas9 ile düzenlenmiştir. Bu uygulama, pirinçte A vitamini eksikliği çeken bölgelerde besin değerinin artırılmasını sağlamıştır (Majumder, 2024).

Verim Artışı İçin Genetik Modifikasyon: Pirinçte verim artışı sağlamak amacıyla OsSPL14 geninin düzenlenmesi, bitkilerin daha verimli olmasını sağlamıştır. Bu genin aktivasyonu, pirinç bitkisinin daha fazla başak üretmesine neden olmuş ve verim artışı elde edilmiştir (Li ve ark., 2023).

2.3. Mısırdaki CRISPR/Cas9 Uygulamaları

Mısır, dünya çapında yaygın olarak yetiştirilen bir başka önemli tarım bitkisidir. CRISPR/Cas9, mısırdaki çeşitli çevresel faktörlere karşı dayanıklılığın artırılması, verimliliğin iyileştirilmesi ve besin kalitesinin artırılması amacıyla kullanılmaktadır.

Hastalık Direnci: Mısırdaki en yaygın hastalıklardan biri Maize Lethal Necrosis (MLN) hastalığıdır. CRISPR/Cas9, bu hastalığa karşı dirençli mısır çeşitleri geliştirmek için kullanılmıştır. MLN hastalığına yol açan virüslere karşı dayanıklılık sağlayan genetik modifikasyonlarla, mısırın verim kaybı önlenmiştir (Johnmark, 2022).

Tuz ve Kuraklık Toleransı: Mısırdaki tuz ve kuraklık gibi çevresel streslere karşı dayanıklılığı artırmak için ZmDREB1 geninin düzenlenmesi hedeflenmiştir. Bu düzenleme, mısırın kuraklık koşullarında hayatta kalmasını ve verim kaybını önlemesini sağlamıştır. Aynı zamanda, ZmHKT1 geninin düzenlenmesi ile tuz stresine karşı daha dayanıklı mısır çeşitleri elde edilmiştir (Jogam, 2022).

Besin Kalitesinin İyileştirilmesi: Mısırın besin kalitesini artırmak için provitamin A seviyesinin yükseltilmesi hedeflenmiştir. CRISPR/Cas9 ile yapılan genetik düzenlemeler, mısırdaki A vitamini eksikliğini gidermek için başarılı bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Sun ve ark., 2021).

2.4. Soğanda CRISPR/Cas9 Uygulamaları

Soğan, özellikle tat ve besin içeriği açısından değerli bir bitkidir. CRISPR/Cas9, soğanda hastalıklara karşı direnç geliştirme, verimliliği artırma ve kalitesini iyileştirme amacıyla uygulanmaktadır.

Soğan Kök Nematodlarına Karşı Direnç: Soğan, kök nematodları gibi zararlılara karşı savunmasızdır. CRISPR/Cas9 ile soğanda kök nematodlarına karşı dirençli çeşitler geliştirilmiştir. Glucanase enziminin aktivasyonu ile bu zararlılara karşı dayanıklılık sağlanmıştır (Steenjens ve ark., 2021).

Verim Artışı ve Tuz Dayanıklılığı: Soğan bitkilerinde verimi artırmak için SoDRE 1 geninin düzenlenmesi, kuraklık ve tuz stresine karşı dayanıklılığı artırmıştır. Bu, soğanın daha verimli ve çevresel streslere karşı daha dayanıklı hale gelmesini sağlamıştır.

CRISPR/Cas9 teknolojisi, tarımda bitki ıslahının en etkili araçlarından biri haline gelmiştir. Bu teknoloji, bitkilerde verim artışı, hastalık direnci, çevresel streslere karşı tolerans ve besin değerinin iyileştirilmesi gibi pek çok önemli özelliğin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Buğday, pirinç, mısır ve soğan gibi temel tarım bitkilerinde yapılan uygulamalar, CRISPR/Cas9'un potansiyelini ortaya koymaktadır. Bu teknoloji, tarımın geleceğinde önemli bir rol oynayacak ve dünya çapında gıda güvenliğini sağlama noktasında önemli katkılarda bulunacaktır (Shams ve Khadivi, 2023).

3. CRISPR ve Geleneksel Melezleme

Genetik ıslah, bitki çeşitlerinin iyileştirilmesi için kullanılan en temel yöntemlerden biridir. Buğdayda abiyotik streslere karşı dayanıklılığın artırılması amacıyla hem geleneksel melezleme yöntemleri hem de modern biyoteknolojik araçlar, özellikle CRISPR teknolojisi, etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Her iki yöntem de bitkilerin genetik yapısını değiştirerek istenilen özelliklerin kazanılmasını sağlar, ancak her birinin avantajları, sınırlamaları ve uygulama alanları farklıdır.

3.1. Geleneksel Melezleme Yöntemi

Geleneksel melezleme, genetik ıslahın en eski ve yaygın kullanılan yöntemlerinden biridir. Bu yöntem, iki farklı genetik yapıya sahip bireyin çaprazlanarak yeni bireylerin elde edilmesini sağlamaktadır. Buğdayda, geleneksel melezleme genellikle yerel çeşitler ile yabancı akrabalar veya farklı ıslah hatları arasındaki çaprazlamalarla yapılmaktadır. Geleneksel melezleme, genetik çeşitliliği artırmak ve istenilen özelliklerin (verim, kalite, dayanıklılık) aktarılmasını sağlamak için kullanılmaktadır (Demirel ve ark., 2020; Baloch ve ark., 2022; Baloch ve ark., 2023; Karaköy ve ark., 2024).

3.1.1. Avantajları

Genetik Çeşitliliğin Artırılması: Geleneksel melezleme, farklı genetik yapıları bir araya getirerek yeni genetik kombinasyonlar oluşturmaktadır. Bu, özellikle stres toleransı gibi çok faktörlü özelliklerin geliştirilmesinde oldukça önemlidir.

Uzun Süreli Deneyim ve Uygulama: Bu yöntem uzun yıllardır kullanılmakta olup, pek çok tarım bitkisi üzerinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Buğdayda, kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik streslere dayanıklı

çeşitlerin geliştirilmesinde geleneksel melezleme yaygın olarak kullanılmaktadır.

Doğal Seçilim ve Adaptasyon: Melezleme, doğal seleksiyon mekanizmalarına dayalı olarak, bitkilerin çevresel streslere karşı daha uyumlu hale gelmesini sağlamaktadır. Bu süreç, çevreye özgü adaptasyonları güçlendirmektedir (Öztürk ve ark., 2021).

3.1.2. Dezavantajları

Zaman Alıcı ve Maliyetli: Geleneksel melezleme, çok sayıda çaprazlama ve ardışık nesiller gerektirmektedir. Yeni çeşitlerin oluşturulması ve bu çeşitlerin istenilen özellikleri taşıması yıllar sürebilir, bu da süreçte maliyet artışına yol açmaktadır.

Sınırlı Genetik Havuz: Geleneksel melezleme, bazen istenilen genetik özellikleri elde etme açısından sınırlı olabilir. Özellikle, belirlenen özellikler için doğru genetik materyali bulmak zordur. Ayrıca, bazı istenilen özellikler, karmaşık ve çok sayıda gen tarafından kontrol ediliyorsa, başarı şansı azalabilir. Buğdayda, özellikle verim veya kalite gibi özellikler için yoğun bir seleksiyon yapılması, genetik havuzun daralmasına neden olabilir. Genetik çeşitliliğin kaybolması, uzun vadede bazı çevresel streslere karşı duyarlılığı artırabilmektedir (Öztürk ve ark., 2021).

4. Diğer Gen Düzenleme Yaklaşımları

4.1. RNAi (RNA interference)

RNA interferansı (RNAi), hücredeki gen ekspresyonunu baskılamak için kullanılan doğal bir mekanizmadır. Bu mekanizma, spesifik mRNA moleküllerinin parçalanmasına veya translasyonlarının inhibe edilmesine yol açarak, belirli genlerin ifade edilmesini engellemektedir. RNAi, genomik mühendislik ve biyoteknoloji alanında, özellikle bitki ıslahı ve tarımda pest kontrolü, hastalık direnci ve çevresel streslere karşı dayanıklılık geliştirme gibi birçok önemli uygulama alanına sahiptir (Boettcher ve McManus, 2015).

4.1.1. RNAi'nin Temel Prensipleri

RNA interferansı, hücredeki çift sarmallı RNA (dsRNA) moleküllerinin varlığıyla başlar. Bu dsRNA'lar, genetik mühendisliğinde hedeflenen genlerin ekspresyonunu engellemek amacıyla sentezlenmektedir. İşleyiş süreci şu adımlardan oluşmaktadır:

dsRNA Sentezi: RNAi süreci, belirli bir hedef gene ait uzun çift sarmallı RNA (dsRNA) moleküllerinin hücreye uygulanmasıyla başlamaktadır. Bu RNA molekülleri, genetik mühendisliği yoluyla bitkilerde veya hücre kültürlerinde sentezlenebilmektedir.

Dicer Enzimi: Hücredeki Dicer enzimi, çift sarmallı RNA molekülünü küçük parçalara, yani kısa interfere edici RNA (siRNA) moleküllerine ayırmaktadır. SiRNA, hedef mRNA ile uyumlu olmalıdır.

siRNA'nın Hedef MRNA'ya Bağlanması: SiRNA molekülleri, hedef mRNA molekülüne bağlanır. Bu bağlanma, hedef mRNA'nın spesifik olarak tanınmasını ve işlevsiz hâle gelmesini sağlamaktadır.

mRNA'nın Parçalanması veya Translasyonunun Engellenmesi: siRNA, hedef mRNA'yı tanıyıp bağlandıktan sonra, RNA-induced silencing complex (RISC) adı verilen bir protein kompleksi, mRNA'nın parçalanmasına veya translasyonunun engellenmesine yol açmaktadır. Böylece bu genin ekspresyonu baskılanmaktadır (Boettcher ve McManus, 2015; Unniyampurath ve ark., 2016).

4.1.2. RNAi'nin Tarımdaki Uygulamaları

RNAi teknolojisi, tarımda genetik mühendisliği ve biyoteknolojinin devrim niteliğindeki araçlarından biri olarak kabul edilmektedir. RNAi, çeşitli bitki türlerinde zararlı organizmalara karşı dayanıklılığı artırmak, hastalıkları önlemek ve çevresel streslere karşı toleransı yükseltmek için kullanılmaktadır. Aşağıda RNAi'nin tarımdaki bazı temel uygulama alanları sunulmuştur.

Zararlı Kontrolü: RNAi teknolojisi, zararlıların genetik yapısını hedefleyerek, bitkilere zarar veren organizmaların kontrolünü sağlamada kullanılmaktadır. Özellikle zararlı böceklerin beslenme ve gelişme süreçlerini hedefleyen genetik modifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. *Spodoptera frugiperda*, mısırdaki büyük zararlıya yol açan bir böcektir. RNAi teknolojisi, bu böceğin beslenmesini engelleyen ve gelişmesini inhibe eden genleri hedef almaktadır. Bu uygulama, mısır bitkilerinin zararlı böceklere karşı dirençli hale gelmesini sağlamıştır. *Helicoverpa armigera*, pamuk ve diğer tarım bitkileri üzerinde önemli zararlıya yol açan bir diğer zararlıdır. RNAi kullanılarak, bu zararlının beslenmesini engelleyen genler hedef alınmış ve pamuk bitkilerinin böceklere karşı daha dirençli hale gelmesi sağlanmıştır (Xu ve ark., 2023).

Hastalık Direnci: RNAi, bitkilerdeki viral hastalıkları kontrol etmek için de etkin bir araçtır. RNAi ile, bitki hastalıklarına yol açan virüslerin çoğalması engellenebilmektedir. Pirinç, viral enfeksiyonlardan ciddi şekilde etkilenebilen bir bitkidir. Örneğin, *Rice Tungro Virus* (RTV), pirinçte verim kaybına yol açan bir virüstür. RNAi teknolojisi ile bu virüsün çoğalmasını engelleyen genetik düzenlemeler yapılmıştır. Böylece, pirinç bitkileri viral enfeksiyonlara karşı daha dirençli hale gelmiştir. *Tobacco Mosaic Virus* (TMV), domateste yaygın görülen bir virüs enfeksiyonudur. RNAi kullanılarak domates bitkilerinde TMV'ye karşı dayanıklılık sağlanmış ve virüsün yayılması engellenmiştir. RNAi, bu tür viral hastalıkların tarımsal üretim üzerindeki etkilerini azaltmada önemli bir araç olarak kullanılmıştır (Mohamed ve ark., 2023).

Çevresel Streslere Karşı Dayanıklılık: RNAi teknolojisi, bitkilerin çevresel streslere karşı daha dayanıklı hale gelmesini sağlamak için de kullanılmaktadır. Özellikle kuraklık, tuzluluk ve sıcaklık gibi çevresel faktörlere karşı dayanıklılığı artırma çalışmaları mevcuttur. RNAi, kuraklık stresine karşı dayanıklı bitkiler geliştirmek amacıyla kullanılmıştır. OsDREB1A geninin RNAi ile baskılanması, pirinçte kuraklık toleransını artırmış ve bitkilerin su eksikliğine daha iyi dayanmasını sağlamıştır. AtNHX1 geninin RNAi ile düzenlenmesi, tuz stresine karşı daha dayanıklı bitkilerin geliştirilmesini sağlamıştır. Bu tür genetik modifikasyonlar, tuzlu topraklarda yetişen bitkilerin hayatta kalmasını ve verimliliğini artırmaktadır (Yang ve ark., 2023).

Besin Değeri Artışı: RNAi, bitkilerdeki besin değerlerini artırmak için de kullanılabilir. Bu teknoloji ile, bitkilerin içerdiği besin maddelerinin miktarını artırmak veya bazı besinlerin biyoyararlanımını iyileştirmek mümkündür. RNAi, pirinçte beta-karoten seviyesinin artırılmasında kullanılmıştır. Bu, özellikle A vitamini eksikliği çeken bölgelerde besin değerini artırmak amacıyla önemlidir. RNAi ile psy (phytoene synthase) geninin ekspresyonu artırılarak, pirinçte beta-karoten miktarı yükseltilmiştir. Soğan, flavonoidler açısından zengin bir sebzedir. RNAi, soğanda flavonoid seviyelerinin artırılması amacıyla kullanılmıştır. Özellikle F3H (flavonoid 3-hydroxylase) geninin baskılanması ile soğanların besin değerinin artırılması sağlanmıştır (Zhang ve ark., 2023).

4.1.3. RNAi'nin Avantajları ve Dezavantajları

RNAi'nin tarımda kullanımı, birçok avantaj sunmaktadır. Bu teknoloji, çevresel streslere, hastalıklara ve zararlılara karşı dayanıklılığı artırırken, aynı zamanda çevre dostu ve hedeflenmiş bir yaklaşım sağlamaktadır. Bununla birlikte, RNAi uygulamalarının tarımsal üretim üzerindeki etkileri, hedef genlerin işlevselliğine ve bitkinin türüne bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Ayrıca, RNAi ile yapılan genetik değişikliklerin kalıcılığı ve uzun vadeli etkileri üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. RNAi teknolojisi, tarımda verimliliği artırma, hastalık ve zararlılara karşı direnç sağlama, çevresel streslere karşı dayanıklılık geliştirme ve besin değerini iyileştirme gibi birçok alanda etkili bir araçtır. Bu teknoloji, bitki ıslahı ve tarımsal üretimdeki potansiyelini giderek daha fazla kanıtlamaktadır. Gelecekte RNAi uygulamalarının, sürdürülebilir tarım uygulamalarının geliştirilmesinde önemli bir rol oynaması beklenmektedir (Unniyampurath ve ark., 2016).

4.2. ZFN (Zinc Finger Nucleases) Teknolojisi

Zinc Finger Nucleases (ZFN) ve TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases), genetik mühendisliği alanında kullanılan iki farklı gen düzenleme aracıdır. Bu teknolojiler, belirli bir genetik hedefi kesmek veya düzenlemek için kullanılan sınırsız potansiyele sahip olup, bitki ıslahında genetik çeşitliliği artırma, hastalık direnci sağlama, çevresel streslere karşı dayanıklılığı artırma ve verimliliği artırma gibi bir dizi uygulamada kullanılmaktadır.

ZFN, DNA'ya özgü bir çift sarmallı kesici (nükleaz) enzimi olan ve hedeflenen DNA sekanslarına bağlanan proteinlerdir. Zinc finger proteinleri, doğal olarak DNA'ları tanıyıp bağlanabilen küçük protein yapılarıdır. Bu proteinler, genetik mühendisliğinde belirli DNA dizilerini tanımak için tasarlanabilmektedirler. Zinc finger proteinlerine bağlı nükleazlar, hedef DNA dizisinin çift sarmallı yapısını keserek, genetik materyali düzenlemektedir (Gaj ve ark., 2013).

4.2.1. ZFN Teknolojisinin Temel Prensipleri

Zinc finger domainleri, tek bir çinko atomu tarafından stabilize edilen ve DNA'ya bağlanan küçük proteindir. Her zinc finger, genetik dizinin üç bazına özgüdür. Birden fazla zinc finger proteini birleşirse daha uzun DNA dizilerini tanıma kapasitesine sahip olmaktadır. Zinc finger proteinleri, FokI

nükleaz enzimi ile birleştğinde, bu enzimin DNA çift sarmalını kesme işlevi devreye girerek hedef DNA dizisini keser. ZFN kullanılarak, belirli genetik bölgelerde kırılmalar oluşturulur ve hücre bu kırılmaları onarmak için doğal onarım mekanizmalarını kullanır. Bu süreç, homoloji temelli onarım (HR) veya hatalı bir onarım yolu olan non-homologous end joining (NHEJ) yoluyla yapılabilir. Bu tür onarımlar genetik değişikliklere yol açar ve hedeflenen genetik modifikasyon gerçekleştirilir (Gupta ve Musunuru, 2014).

4.2.2. ZFN Teknolojisinin Tarımda Uygulamaları

Kuraklık ve Tuz Stresine Karşı Dayanıklılık: ZFN, bitkilerdeki su kaybı ve tuz birikimi gibi çevresel streslere karşı dayanıklılığı artırmak için kullanılmıştır. Örneğin, OsRR22 gibi tuz stresine duyarlı genlerin düzenlenmesi ile bitkilerin tuza karşı dirençleri artırılabilir (Sheng ve ark., 2023).

Hastalık Direnci: ZFN teknolojisi, bitkilerdeki viral, fungal veya bakteriyel hastalıklara karşı direnç sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır. ZFN ile bitkilerde hastalıklarla ilgili genlerin ekspresyonu baskılanabilir veya istenen direnç genleri eklenebilir.

Verim Artışı: Verimi artırmak amacıyla, ZFN kullanılarak tarım bitkilerinde büyüme ve gelişmeyi etkileyen genler üzerinde düzenlemeler yapılabilmektedir. Örneğin, BRI1 geninin modifikasyonu ile daha verimli tarım bitkileri elde edilebilmektedir.

4.3. TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) Teknolojisi

TALEN, bakteriyel Transcription Activator-Like Effectors (TALEs) proteinlerinden türetilen bir gen düzenleme aracıdır. Bu proteinler, bitki ve hayvan hücrelerinde genetik düzenleme yapabilen kesici nükleazlar ile birleştirilir. TALE proteinleri, DNA dizilerini tanımda son derece yüksek özgüllüğe sahiptir. Bu sayede TALEN, hedeflenen DNA dizisini keserek genetik materyalin değiştirilmesini sağlamaktadır. (Malzahn ve Lowder, 2017)

4.3.1. TALEN Teknolojisinin Temel Prensipleri

TALEN, TALE proteinleri olarak bilinen ve genetik dizilere özgü bağlanabilen proteinlerden oluşmaktadır. Her TALE proteini, sık tekrar eden

yapı birimine sahiptir. Bu tekrar birimleri, DNA'nın belirli bazlarına bağlanır. Her bir tekrar, 2 baz ile bağlanacak şekilde özelleştirilmiştir, bu da TALEN'in çok yüksek doğrulukla hedef sekansları tanımasına olanak tanımaktadır. TALEN, bir FokI nükleaz enzimi ile birleştiğinde, hedef DNA dizisini kesebilmektedir. Bu kesilme, hedef DNA'da çift sarmallı kırılmalar oluşturmakta ve doğal onarım mekanizmaları kullanılarak genetik değişiklikler yapılmaktadır. TALEN teknolojisi, hücrelerin doğal DNA onarım süreçlerini kullanarak, hedeflenen genetik değişikliklerin yapılmasına olanak tanımaktadır.

4.3.2. TALEN Teknolojisinin Tarımda Uygulamaları

Tuz Stresine Karşı Dayanıklılık: TALEN, tuz stresine karşı dayanıklı bitkiler geliştirmek için kullanılmıştır. Özellikle AtNHX1 gibi tuz toleransı sağlayan genlerin düzenlenmesiyle tuzlu topraklarda daha iyi verim sağlanabilmektedir (Mann ve ark., 2024).

Hastalıklar ile Mücadele: TALEN, bitkilerdeki viral hastalıklar ile mücadele etmek için de kullanılmıştır. Özellikle domates ve patates gibi bitkilerde, viral patojenlere karşı dirençli çeşitler geliştirilmiştir. TALEN ile yapılan genetik düzenlemeler, virüslerin bitkilerde çoğalmasını engellemiştir.

Gelişmiş Besin Değerleri: TALEN teknolojisi, bitkilerin besin değerlerini artırmak amacıyla da kullanılmaktadır. Örneğin, pirinçte provitamin A (beta-karoten) üretimi artırılarak, besin değerinin yükseltilmesi sağlanabilmektedir.

4.3.3. ZFN ve TALEN Karşılaştırması

ZFN ve TALEN, her ikisi de genetik modifikasyonları gerçekleştirmek için kesici nükleazlar kullanmaktadır. Ancak bu iki teknoloji arasındaki bazı temel farklar bulunmaktadır (Gaj ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2019):

Hedefleme Yöntemi: Zinc finger proteinleri, DNA dizilerini tanımak için her bir zinc finger protein birimini birer baz üzerinde bağlamaktadır. ZFN'ler, daha karmaşık dizilere ve spesifik hedeflere yönelmek için daha fazla sayıda zinc finger gerektirmektedir. TALE proteinleri, DNA dizilerini tanımak için daha basit ve esnek bir yapıya sahiptir. Bu nedenle, TALEN'ler daha kolay özelleştirilebilmekte ve yüksek özgüllükle hedef DNA dizilerine bağlanabilmektedir.

Hedef Dizi Doğruluğu: Zinc finger proteinleri, hedef diziyi tanımda daha az özgüllüğe sahiptir. Bu da hedef dışı etkilerin oluşma ihtimalini artırmaktadır. TALEN'ler, DNA dizileri üzerinde çok daha yüksek özgüllükle çalışabildikleri için hedef dışı etkilerin oluşma ihtimali daha düşüktür.

Teknolojik Zorluklar: ZFN tasarımı daha karmaşık olmakla birlikte belirli genetik dizilere yüksek özgüllükle bağlanabilmesi için daha fazla mühendislik gerektirmektedir. TALEN'lerin tasarımı daha kolaydır ve daha esnek hedefleme özelliklerine sahiptir. Bu da onları daha tercih edilir hâle getirmektedir.

ZFN ve TALEN teknolojileri, bitki ıslahında kullanılan güçlü araçlardır ve genetik mühendisliği alanında önemli ilerlemeler sağlanmasına katkıda bulunmaktadır. Bu teknolojiler, bitkilerin çevresel streslere karşı dayanıklılığını artırma, hastalıklarla mücadele etme ve verimliliği iyileştirme gibi hedeflere ulaşmak için kullanılmaktadır. TALEN'in daha esnek ve yüksek doğruluklu hedefleme yeteneği, onu özellikle genetik modifikasyonlarda tercih edilen bir araç haline getirmiştir. Ancak, her iki teknolojinin de tarımda kullanımı, genetik güvenliği, etik ve çevresel açıdan etkileri gibi konularda daha fazla araştırmaya ve değerlendirmeye ihtiyacı vardır.

KAYNAKÇA

- Baloch, F.S., Altaf, M.T., Bedir, M., Nadeem, M.A., Tatar, M., Karaköy, T., & Aasim, M. (2023). iPBS-retrotransposons variations: DNA fingerprinting and the evaluation of genetic diversity and population structure in international cowpea germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 70(6), 1867-1877.
- Baloch, F.S., Guizado, S.J.V., Altaf, M.T., Yüce, I., Çilesiz, Y., Bedir, M., ... & Gómez, J.C.C. (2022). Applicability of inter-primer binding site iPBS-retrotransposon marker system for the assessment of genetic diversity and population structure of Peruvian rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) germplasm. *Molecular Biology Reports*, 1-12.
- Boettcher, M., McManus, M.T. (2015). Choosing the right tool for the job: RNAi, TALEN, or CRISPR. *Molecular Cell*, 58(4), 575-585.
- Chen, K., Wang, Y., Zhang, R., Zhang, H., Gao, C. (2019). CRISPR/Cas genome editing and precision plant breeding in agriculture. *Annual Review of Plant Biology*, 70(1), 667-697.
- Chennakesavulu, K., Singh, H., Trivedi, P.K., Jain, M., Yadav, S.R. (2021). State-of-the-art in CRISPR technology and engineering drought, salinity, and thermo-tolerant crop plants. *Plant Cell Reports*, 1-17.
- Demirel, S., Usta, M., Demirel, F. (2020). Fitopatojenlere karşı dayanıklılıkta CRISPR/Cas teknolojisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (20), 693-702.
- Figlan, S., Mwadzingeni, L. (2022). Breeding tools for assessing and improving resistance and limiting mycotoxin production by *Fusarium graminearum* in wheat. *Plants*, 11(15), 1933.
- Gaj, T., Gersbach, C.A., Barbas, C.F. (2013). ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends in biotechnology*, 31(7), 397-405.
- Gardiner, D.M., Kazan, K. (2018). Selection is required for efficient Cas9-mediated genome editing in *Fusarium graminearum*. *Fungal Biology*, 122(2-3), 131-137.
- Gupta, R.M., Musunuru, K. (2014). Expanding the genetic editing tool kit: ZFNs, TALENs, and CRISPR-Cas9. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(10), 4154-4161.
- Jackson, S.A., McKenzie, R.E., Fagerlund, R.D., Kieper, S.N., Fineran, P.C., Brouns, S.J. (2017). CRISPR-Cas: adapting to change. *Science*, 356(6333), eaal5056.

- Jogam, P., Sandhya, D., Alok, A., Peddaboina, V., Allini, V.R., Zhang, B. (2022). A review on CRISPR/Cas-based epigenetic regulation in plants. *International Journal of Biological Macromolecules*, 219, 1261-1271.
- Johnmark, O., Indieka, S., Liu, G., Gowda, M., Suresh, L.M., Zhang, W., Gao, X. (2022). Fighting death for living: recent advances in molecular and genetic mechanisms underlying maize lethal necrosis disease resistance. *Viruses*, 14(12), 2765.
- Karaca, M. (2018). Yeni nesil bitki ıslahı yöntemleri (moleküler bitki ıslahı) bazı avantaj & dezavantajları. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 11(1), 39-49.
- Karaköy, T., Toklu, F., Karagöl, E.T., Uncuer, D., Çilesiz, Y., Ali, A., ... & Özkan, H. (2024). Genome-wide association studies revealed DArTseq loci associated with agronomic traits in Turkish faba bean germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(1), 181-198.
- Lander, E.S. (2016). The heroes of CRISPR. *Cell*, 164(1), 18-28.
- Ledford, H. (2015). CRISPR, the disruptor. *Nature*, 522(7554).
- Li, Y., Liang, J., Deng, B., Jiang, Y., Zhu, J., Chen, L., ... Li, J. (2023). Applications and prospects of CRISPR/Cas9-mediated base editing in plant breeding. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(2), 918-935.
- Majumder, P. (2024). Golden opportunities: harnessing bioinformatics to revolutionize plant research and unleash the power of golden rice in crop breeding. *Bioinformatics for Plant Research and Crop Breeding*, 505-537.
- Malzahn, A., Lowder, L., Qi, Y. (2017). Plant genome editing with TALEN and CRISPR. *Cell & Bioscience*, 7, 1-18.
- Mann, A., Ranga, P., Choudhary, P., Yadav, S., Kaul, N., Dahiya, A., ... Sanwal, S.K. (2024). Genome editing technologies for enhancing plant resilience to biotic and abiotic stresses-brief review. *Journal of Soil Salinity and Water Quality*, 16(2), 180-193.
- Mohamed, N.A., Ngah, N.M.F.N.C., Abas, A., Talip, N., Sarian, M.N., Hamezah, H. S., ... Bunawan, H. (2023). Candidate miRNAs from *Oryza sativa* for silencing the rice tungro viruses. *Agriculture*, 13(3), 651.
- Mushtaq, M., Bhat, J.A., Mir, Z.A., Sakina, A., Ali, S., Singh, A.K., ... Bhat, R. (2018). CRISPR/Cas approach: A new way of looking at plant-abiotic interactions. *Journal of Plant Physiology*, 224, 156-162.

- Nadeem, M.A., Yeken, M.Z., Shahid, M.Q., Habyarimana, E., Yılmaz, H., Alsaleh, A., ... & Baloch, F.S. (2021). Common bean as a potential crop for future food security: an overview of past, current and future contributions in genomics, transcriptomics, transgenics and proteomics. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 759-787.
- Öztürk, S.K., Yıldırım, B., Yıldız, H., Tek, A.L. (2021). Geçmişten günümüze genetik ve kromozom mühendisliği çalışmalarının sürdürülebilir tarım ve bitki ıslahına katkısı. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 31(1), 246-258.
- Shams, M., Khadivi, A. (2023). Mechanisms of salinity tolerance and their possible application in the breeding of vegetables. *BMC Plant Biology*, 23(1), 139.
- Sheng, X., Ai, Z., Tan, Y., Hu, Y., Guo, X., Liu, X., ... Yuan, D. (2023). Novel salinity-tolerant third-generation hybrid rice developed via CRISPR/Cas9-mediated gene editing. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 8025.
- Shimira, F., Boyaci, H.F., Çilesiz, Y., Nadeem, M.A., Baloch, F.S., & Taşkin, H. (2021). Exploring the genetic diversity and population structure of scarlet eggplant germplasm from Rwanda through iPBS-retrotransposon markers. *Molecular Biology Reports*, 48(9), 6323-6333.
- Steenjtes, M.B., Tonn, S., Coolman, H., Langebeeke, S., Scholten, O.E., van Kan, J.A. (2021). Visualization of three Sclerotiniaceae species pathogenic on onion reveals distinct biology and infection strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1865.
- Sun, T., Zhu, Q., Wei, Z., Owens, L.A., Fish, T., Kim, H., ... Li, L. (2021). Multi-strategy engineering greatly enhances provitamin A carotenoid accumulation and stability in Arabidopsis seeds. *Abiotech*, 2(3), 191-214.
- Unniyampurath, U., Pilankatta, R., Krishnan, M.N. (2016). RNA interference in the age of CRISPR: will CRISPR interfere with RNAi?. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(3), 291.
- Wolter, F., Schindele, P., Puchta, H. (2019). Plant breeding at the speed of light: the power of CRISPR/Cas to generate directed genetic diversity at multiple sites. *BMC plant biology*, 19(1), 176.
- Xu, H.M., Zhao, H.Z., Pan, M.Z., Smagghe, G., Li, Z.Y., Liu, T.X., Shi, Y. (2023). Regulating role of neuropeptide PTH released in Spodoptera

- frugiperda using RNAi-and CRISPR/Cas9-based functional genomic tools. *Entomologia Generalis*, 43(2), 451-459.
- Yang, C., Wang, H., Ouyang, Q., Chen, G., Fu, X., Hou, D., Xu, H. (2023). Deficiency of auxin efflux carrier OsPIN1b impairs chilling and drought tolerance in rice. *Plants*, 12(23), 4058.
- Zhang, A., Liu, Y., Wang, F., Li, T., Chen, Z., Kong, D., ... Luo, L. (2019). Enhanced rice salinity tolerance via CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the OsRR22 gene. *Molecular Breeding*, 39, 1-10.
- Zhang, H.X., Zhang, Y., Yin, H. (2019). Genome editing with mRNA encoding ZFN, TALEN, and Cas9. *Molecular Therapy*, 27(4), 735-746.
- Zhang, S., Wang, B., Li, Q., Hui, W., Yang, L., Wang, Z., ... Wu, A.M. (2023). CRISPR/Cas9 mutated p-coumaroyl shikimate 3'-hydroxylase 3 gene in *Populus tomentosa* reveals lignin functioning on supporting tree upright. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 126762.
- Zhang, Z., Hua, L., Gupta, A., Tricoli, D., Edwards, K.J., Yang, B., Li, W. (2019). Development of an *Agrobacterium*-delivered CRISPR/Cas9 system for wheat genome editing. *Plant Biotechnology Journal*, 17(8), 1623-1635.

BÖLÜM 2

MUTASYON ISLAHINA GENEL BİR BAKIŞ

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ¹

Gökhan OVALIOĞLU²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14579984>

¹ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Sivas, E-mail: ycilesiz@sivas.edu.tr, Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4313-352X>

² Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı, Sivas, E-mail: gokhanovalioglu@gmail.com, Orcid: <https://orcid.org/0009-0004-6235-8435>

1. Mutasyon Islahı

Dünya genelinde nüfusla birlikte ihtiyaç duyulan gıda miktarı da artmaktadır. Güvenli gıda temini noktasında geleceğe dönük çalışmalar; hastalık ve zararlıların etkin biçimde denetlenmesi, yüksek verimli yeni çeşitlerin geliştirilmesi ve bu çeşitlerin uygun yetiştirme yöntemleri ile üretime alınması yönünde gelişmektedir (Sağel ve ark., 1994). Islah çalışmaları kapsamında, istenilen özelliklere sahip (kaliteli, yüksek verimli, hastalık ve zararlılara dayanıklı vb.) farklı birçok bitkinin yeni çeşitleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu kapsamda klasik ıslah çalışmalarına gelişen modern moleküler genetik yöntemler eklenmiştir. Çünkü bir ıslah çalışmasının başarısını doğrudan etkileyen en önemli unsur, üzerinde çalışılacak materyaldeki genetik varyasyonun büyüklüğüdür. Genetik çeşitlilik ne kadar geniş olursa seleksiyonda o kadar fazla başarı elde edilmektedir. Bu kapsamda bitki ıslahında ihtiyaç duyulan varyasyonu oluşturmak için mutasyon çalışmaları yapılmaktadır (Yılmaz ve Soysal, 2021).

Kalıtım materyalinde meydana gelen ani ve kalıcı değişikliklere mutasyon, mutasyona neden olan faktörlere ise mutajen denilmektedir (Filiz ve Arı, 2010). Bitkilerde doğal yoldan veya çevresel sebeplerle meydana gelen mutasyonlar fenotipik kalıtım açısından oldukça önemlidir (Till ve ark., 2007a; Simsek ve ark., 2009). Mutasyon genetik materyalde değişimlere neden olduğu için ilk bakışta olumsuz bir durum olarak düşünülse de, aslında canlılar arasında çeşitlilik yaratan, organizmaların gelişmesine ve evrimine yardımcı olan önemli bir olgudur (Lüleyap, 2008). Bitki ıslahında mutasyon uygulaması ile; daralan genetik çeşitlilik artırılmakta, biyotik, abiyotik streslere tolerans ve dayanıklılık arttırılmakta ve genetik özelliklerin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır. Mutasyon ıslahı çalışmalarında, seleksiyon aşamasında yaşanan en önemli zorluk, kimyasal veya fiziksel mutajen uygulamasını takiben kimerik yapıların oluşmasıdır. Mutasyonlar sonucunda fenotipik karakterlerdeki değişim (verim, yaprak şekli, meyve rengi ve büyüklüğü) oldukça kolay seçilebilirken, hastalıklara dayanıklılık veya çevre koşullarına tolerans gibi bazı özelliklerin stres koşulları oluşturulmadan izlenmesi mümkün olamamaktadır (Maluszynski, 1990; Karaköy ve ark., 2024).

2. Bitki Islahında Mutasyon Uygulamasının Tarihçesi

Bitki mutasyonlarının tarihinin M.Ö. 300'lere kadar uzandığı, mutant tarım ürünlerine dair raporlarla Çin'de başladığı öne sürülmüştür. Mutasyonlar, değişkenlik oluşturma mekanizması olarak ilk kez Hugo de Vries tarafından 19. Yüzyılın sonlarında, Mendel'in kalıtım yasalarını yeniden keşfetme deneyleri sırasında tanımlanmıştır (van Harten, 1998; Kharkwal, 2012). De Vries, bu değişkenliği, ayrıcalıklı olarak ayırma ve rekombinasyondan meydana gelen kalıtımla farklı mekanizmalardan miras alınan değişiklikler olarak görmüştür. Bu olayı, organizmalarda ani değişiklikler olarak tanımlamış ve bu değişikliklerin kalıtımla aktarıldığını ve dolayısıyla organizmanın fenotipik görünümünde oldukça büyük etkiler yarattığını belirtmiştir. Ardından "mutasyon" terimini kullanmıştır.

Tablo 1. Bitki mutasyon araştırması ve uygulama geçmişi

Periyot 1: Erken spontan mutantların gözlenmesi ve belgelenmesi	
M.Ö. 300	Çin'deki erken mutant mahsuller
1590	Chelidonium majus'un "incisa" mutanı
1692	Bitkilerde değişkenlik
1741	Carl von Linné'nin çeşitli mutantların tanımı.
1859	Charles Darwin'in yayımladığı "Türlerin Kökeni"
1865	"Bitkilerde çeşitlerin üretimi ve sabitlenmesi" adlı kitabın yayınlanması
Periyot 2: Mutasyon ve mutasyon ıslahının kavramlaştırılması	
1895-1900	Çeşitli radyasyon türlerinin keşfi (X ışınları ve radyasyon).
1897-1908	Bitkilerin ışınlanması üzerine ilk çalışmalar, çoğunlukla fizyolojik etkiler, çekirdek ve hücre bölünmesine verilen zarar.
1901	Hugo de Vries, mevcut özelliklerin ani, çok benzeri değişiklikleri için "mutasyon" terimini kullanmıştır. Hugo de Vries'in "Die Mutationstheorie" adlı eseri yayımlanmıştır. S. Korschinsky tarafından "Heterojenez Teorisi" adlı eser yayımlanmıştır.
1901 ve 1911	İlk kez bakterilerde kimyasallar tarafından indüklenen mutasyonların kanıtı.
1904 ve 1905	Hugo de Vries, radyasyon ile mutasyonların yapay olarak indüksiyonunu önerdi.
1909-1913	W. Johannsen, tohum indeksini etkileyen ani drastik mutasyonları ve hafif mutasyonları tanımladı.
1910	Thomas Hunt Morgan, Drosophila melanogaster ile yapılan ilk mutasyon deneyleri.
1920	N.I. Vavilov'un "varyasyon homolog serileri yasası"
Periyot 3: İndüklenmiş mutasyonların kanıtlanması ve ilk ticari mutant çeşitlerinin piyasaya sürülmesi	
1926	N.I. Vavilov'un gen çeşitlilik merkezleri veya "Menş Merkezleri" teorisi
1928-34	Mutasyon teorisi ve pratik uygulanabilirliği üzerine devam eden çalışmalar
1930'lar	Åke Gustafsson tarafından İsveç'te mutasyon araştırma programının başlatılması
1934-1938	D. Tollenaar tarafından tütünde X ışınması sonucu elde edilen ilk ticari mutant çeşidi "Chlorina" Endonezya'da piyasaya sürüldü.
1934 ve sonraki yıl	N.W. Timofeëff-Ressovsky ve meslektaşları tarafından fiziksel mutasyon teorisi- Vuruş ve Hedef Teorisi kuruldu.
1937	Bitki kromozomları üzerinde kolşisinin kromozom iki katına çıkma etkisi.
1941	Kimyasal mutajenez; C. Auerbach, I.A. Rapoport, F. Oehlkers ve diğerleri.
1942	Arpadaki X-ışınıyla indüklenen direnç hakkında ilk rapor.
1953	Watson-Crick gen modeli.
1950'lerin başı	Gama ışınları tarafından indüklenen mutasyonlar, kronik ışınlama ile gama alanında üretilirdi ancak gama ışınlarının mutasyon indüklediğine dair ilk kanıt net değildi.
1956	E.R. Sears, radyasyonla indüklenen translokasyon yoluyla Aegilops'tan buğdaya direnci aktardı.
1958 ve sonraki yıl	Yüksek bitkilerde kimyasal mutajenlerin uygulanması.
Periyot 4: Mutasyon ıslahının büyük ölçekli uygulanması	
1964	Viyana, Avusturya'da Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)/ Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı (IAEA) Nükleer Tekniklerin Gıda ve Tarım Alanındaki Kullanımı Bölümü'nün kurulması; Uluslararası olarak koordine edilen mutasyon ıslahı araştırma programları başlatıldı.
1969	Bitki ıslahından dolayı kaynaklanan sorunlar konulu Pullman Sempozyumu: İlk sınıflandırılmış mutant çeşitleri listesi yayımlandı.
1981	Viyana, Avusturya'da FAO/IAEA tarafından "Bitki Araştırmalarında İndüklenmiş Mutasyonların Araç Olarak Kullanımı" konulu ilk büyük sempozyum düzenlendi.
1990	Viyana, Avusturya'da FAO/IAEA tarafından 25 yıllık uygulamalı mutasyon ıslahı sonuçlarının değerlendirildiği bir sempozyum düzenlendi.
Periyot 5: Bitki mutasyonunun biyoteknoloji ve genomikle bütünleştirilmesi	
1983	Dört grup bağımsız olarak ilk transgenik bitkilerin üretimini rapor etti ve T-DNA inserter mutagenезinin temelini attı.
1983	Taşınabilir kontrol elemanları Ac ve Ds izole edildi, Ac-Ds ve modifiye edilmiş genetik sistemler kullanılarak transpozon mutagenезinin temeli atıldı.
1997	Pirinçte doku kültürü aracılığıyla retrotranspozonlar yeniden etkinleştirildi ve büyük Tos 17 mutant koleksiyonunun oluşturulmasına yol açtı.
2000	İlk bitki genomu (Arabidopsis genomu) dizilindi. İndüklenmiş mutasyonların hedeflenmiş tarama metodolojisi, şimdi TILLING (Genomlardaki Hedeflenmiş İndüklenmiş Yerel Lezyon) olarak geniş bir şekilde bilinmektedir.
2002-2005	İndika ve japonica pirinç alt türlerinin genomları dizildi.
2005	TILLING ve T-DNA inserter mutant popülasyonlarının da dahil olduğu fonksiyonel genomik çalışmalar için mutant popülasyonlarının oluşturulması.
2008	Viyana, Avusturya'da Bitkilerde İndüklenmiş Mutasyonlar Sempozyumu, genomik dönemde bitki mutasyon araştırması ve ıslahatında indüklenmiş mutasyonların uygulamalarını değerlendirmek için düzenlendi.

Stadler'ın mısır, arpa ve buğdayda X ışınlarının mutajenik etkisinin keşfiyle birlikte, bitkilerde yeni genetik çeşitlilik oluşturmak için radyasyonla indüklenen mutasyonlar bir araç olarak ilerlemiştir. 1950'lerden 1980'lere kadar mutasyon aktiviteleri doruğa ulaşmış ve mutant çeşitlerin yayınlanması açısından önemli başarılar elde edilmiştir (Stadler, 1930; Shu, 2009). Mutasyon teknolojileri, 21. yüzyılın başlarında yeniden önem kazanmıştır (Nazarenko ve ark., 2018). Moleküler ve genomik araçların tarama ve karakterizasyon çalışmalarında kullanılması sayesinde bitki genomları ve moleküler biyoloji araştırmalarındaki en son sonuçlar ve teknolojik buluşlar benimsenmeye ve kullanılmaya başlanmıştır (Koorneef ve Meinke, 2010).

3. Bitki Islahında Mutasyon Türleri

Bitki genom analiz araçlarının son dönemlerde keşfedilmiş olması nedeniyle, bitkilerde mutasyonlar üzerinde yapılan çalışmaların çoğu gözlemlenebilir özelliklere odaklanmıştır. Bu nedenle, mutant bitkiler başlangıçta sergiledikleri fenotipe göre sınıflandırılmıştır (Bado ve ark., 2015). Mutantları tespit etmek için geleneksel yöntem, fenotipleri belirtmek olmuştur. Genetik çalışmalar ise altında yatan genetik nedenleri ortaya çıkarmak için kullanılmıştır. Farklı yazarlar tarafından birçok mutant sınıflandırma sistemi önerilmiştir (van Harten 1998; Dunnen ve Antonarakis, 2000). En son tanımlanan sınıflandırma genom, kromozom ve gen mutasyonları olarak üç kategoriye ayrılmıştır.

3.1. Genom Mutasyonları

Genom mutasyonları, genomun ploidisinde değişikliklere yol açmaktadır ve aynı zamanda bir genom içindeki kromozomların kazanımı veya kaybına (aneuploidi) neden olmaktadır. Polen ışınlanması, genom sayılarını azaltmak için haploid embriyoların üretilmesi amacıyla kullanılmıştır. Haploidler, bitki ıslahında kullanışlı araçlardır (Gustafson ve Ekberg, 1995; Forster ve Thomas, 2005; Murovec ve Bohanec, 2011).

3.2. Kromozom Mutasyonları

Kromozom mutasyonu, kromozom kırıkları ve yeniden düzenlemelerin bir sonucudur. Bu tür değişiklikler fiziksel ve kimyasal mutajenler tarafından indüklenabilmektedir ancak çoğunlukla iyonlaştırıcı ışınlama ile indüklenirler. Onarıma ilişkin mekanizmalardaki hatalar,

silinmelere, duplikasyonlara, invertasyonlara ve translokasyonlara yol açabilmektedir. İyonlaştırma radyasyonunun neden olduğu çoğu silme mutasyonu (%90 civarı) ölümcül olabilmektedir (Jeng ve ark., 2009). Kromozomal mutasyonlar genellikle bir dizi geni kapsamaktadır. Kromozomal mutasyonlar dört tiptir: (i) delesyonlar veya eksiklikler, (ii) duplikasyonlar, (iii) inversiyonlar ve (iv) translokasyonlar. Bu tür mutasyonlar ayrıca kromozom yeniden düzenlemeleri veya yapısal mutasyonlar olarak da adlandırılmaktadır. Bitki yetiştiriciliği için genellikle gen mutasyonları kadar değerli değildir (Toker ve ark., 2007). Duplikasyonlar, genin fonksiyon kaybına neden olmaz ve bitki evrimi açısından önemlidir (Perfectti ve Werren, 2001; Pathirana, 2011). Aneuploidiler, bir veya daha fazla kromozomdaki eksiklikleri, ek kromozomları, kromozom değişimlerini ve kromozom yeniden düzenlenmelerini içermektedir. Bunlar doğal olarak ortaya çıkabilmekte veya özellikle ebeveynlerden eşit olmayan sayıda kromozom veya genom alındığı kombinasyonlarda, melezleme yoluyla üretilebilmektedir. Işınlama, kromozomların rastgele silinmesi yoluyla anöploidiliği indükleyebilmektedir. Buğday anöploidileri, genetik çalışmalarda ve bitki ıslahında sıkça kullanılmaktadır (Sears, 1956; Law ve Worland, 1987; Friebe ve ark., 1996; Shimelis ve Spies, 2011; Wang ve ark., 2012). Mutasyonlar hem çekirdek içindeki kromozomlarda hem de çekirdek dışında meydana gelebilmektedir. Bir bitki hücresinde kloroplast ve mitokondri olmak üzere iki ek çekirdek dışı (ekstra kromozomal) genetik sistem bulunmaktadır. Ekstra kromozomal mutasyonlar yaprak çeşitliliği, bodur bitki ve herbisitlere tolerans gibi etkilere neden olabilmektedir. Ayrıca mitokondriyal genom tarafından kodlanan genler sitoplazmatik erkek kısırlığına sebep olabilmektedir (Lonsdale, 1987). Ekstra kromozomal mutasyonlar, bitki yetiştiriciliğinin pratik uygulamalarında önemli bir yer tutmaktadır (Toker ve ark., 2007; Nadeem ve ark., 2021; Shimira ve ark., 2021).

3.3. Gen Mutasyonları

Mutasyonlar teorik olarak, DNA dizisinde meydana gelen ve genetik kodda değişikliklere yol açan tüm değişikliklerdir. Bir gen mutasyonu veya nokta mutasyonu, tek bir genin sınırları içinde meydana gelen tüm kalıtsal değişikliklerdir. Gen mutasyonlarının çoğu resesif kalıtıma sahiptir ancak baskın gen mutasyonları çok düşük bir frekansta meydana gelmektedir (Micke, 1999). Bir çerçeve kayması mutasyonu, üçten farklı bir sayıda

nükleotidin silinmesi ve eklenmesidir (van Harten, 1998; Baloch ve ark., 2022).

4. Bitki Islahında Mutasyon Türleri

4.1. Radyasyon Mutajenezi

Fiziksel mutajenler kullanılarak radyasyon mutagenезisi, genellikle iyonlaştırıcı radyasyonun kullanılmasıyla doğal mutasyon hızını 1000 ile 1 milyon kat artırabilmektedir ve kalıtsal genetik değişikliklerin indüklenmesiyle birlikte yaygın olarak kullanılmaktadır. İndüklenen ve serbest bırakılan mutant bitki çeşitlerinin %70'ten fazlası fiziksel mutajenler kullanılarak geliştirilmiştir. Başlangıçta X ışınları kullanılmıştır ancak ^{60}Co ve ^{137}Cs gibi radyoaktif kaynaklardan gelen gama ışınları, IAEA aracılığıyla birçok gelişmekte olan ülkeye sunulduğu için popüler hale gelmiştir. Nükleer reaktörlerden hızlı nötronlar da kullanılabilir. Özellikle bu radyasyon hizmeti iyonlaştırıcı radyasyon kromozomal kırılmaları sağlayarak DNA ipliklerinin çapraz bağlanmasına izin vermektedir. İyonlaştırıcı radyasyonlar arasında gama ışınları daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü bitki veya polen de dahil olmak üzere bitki parçalarının radyasyonuna daha az zarar vermektedir. Ayrıca iyi nüfuz edebilme gücü ve hassas dozimetreye sahiptirler (Liew ve ark., 2008). Gama ışınları hücrenin derinlerine nüfuz edebilmekte ve atomlar veya moleküllerle etkileşime girerek serbest radikaller oluşturabilmektedir. Bu radikaller, ışınlama seviyesine bağlı olarak bitkilerin önemli bileşenlerini değiştirebilmektedir (Wi ve ark., 2005).

4.2. İyon Işını

İyon demeti radyasyonu; süs bitkilerinin geliştirilmesinde etkili ve benzersiz bir mutajen olarak son 20 yıldır ortaya çıkmıştır. İyon demetleri, proton ve helyum gibi yüklü parçacıkları içermekte ve daha ağır yüklü parçacıklar, bir siklotron gibi hızlandırıcılar tarafından hızlandırılmakta, gama ışınları ve X ışınlarına göre daha yüksek enerjiyi depolamaktadırlar. Bunların düşük LET radyasyonu olan gama ve X ışınlarına kıyasla çok daha yüksek bir lineer enerji transferi (LET) ve nispi biyolojik etkililik (RBE) ile ölümcüllük ve hücre etkinleştirme kapasitesine sahip oldukları belirlenmiştir (Tanaka ve ark., 1997; Hase ve ark., 2002; Shikazono ve ark., 2002; Blakely, 1992; Lett, 1992). İyon ışınları yüksek enerjiyi bir hedef bölgesine odaklama potansiyeline sahiptir. Bu sayede iyon ışını, yüksek düzeyde mutajenik etki indükleyebilmektedir (Yamaguchi ve ark., 2010).

4.3. Kimyasal Mutajenez

Mutasyonlar kimyasal olarak alkileyici ajanlarla indüklenebilmektedir. Kimyasal mutajenlerin alkil grubu, DNA ile reaksiyona girer, bu da nükleotid dizisini değiştirebilir ve nokta mutasyona neden olabilir ancak bu bileşikler az kromozom mutasyonu indükler (Broertjes ve van Harten, 1988). Buna karşılık, hücrelerin iyonlaşan radyasyonu absorbe etmesi, kromozomlarda yapısal sapmaların oluşmasına neden olmaktadır (FAO/IAEA, 1977). Mutajenik bileşik sayısının çok olmasına rağmen bunların birkaçı bitkilerde test edilmiştir. Bunlar arasında, sadece çok sınırlı bir grup alkile edici ajan, bitki mutasyon ıslahı çalışmalarında oldukça fazla çalışılmıştır (FAO/IAEA, 2017). FAO/IAEA (2017) tarafından bildirilen yeni mutant bitki çeşitlerinin %80'den fazlası, kimyasal mutajenez yoluyla elde edilmiş alkile edici ajanlar tarafından indüklendirilmiştir. Bu ajanların %64'ünü oluşturan üç bileşik önemlidir: etil metansülfonat (EMS), 1-metil-1-nitrozourea (MNU) ve 1-etil-1-nitrozourea (ENU). Diğer kimyasal mutajenler arasında etilenimin (EI), dimetil sülfat (DMS), dietil sülfat (DES), kolşisin ve NaN₃ (sodyum azid) bulunmaktadır (Fang ve Traore, 2011). EMS en çok kullanılan kimyasaldır. Yüksek frekansta gen mutasyonuna ve düşük frekansta kromozom anormalliklerine neden olmaktadır (Lai ve ark., 2004; van Harten, 1998). EMS, TILLING popülasyonları gibi yüksek verimli mutasyonlu popülasyonların geliştirilmesi için tercih edilen mutajen haline gelmiştir (Mccallum ve ark., 2000a,b; Jain, 2005; Till ve ark., 2007b). Kimyasal mutajenez; tohumlar, fideler ve in vitro kültürlü hücreler gibi tüm bitki materyalleriyle gerçekleştirilebilmektedir. Bununla birlikte, en yaygın olarak kullanılan bitki materyali tohumdur. Bitki vegetatif çoğaltımı için kullanılan eksplantlar, yaprak ve sap eksplantları, anterler, kalluslar, mikrosporlar, ovüller, propagüller gibi in vitro kültürlü dokular bitki çoğaltımı için kullanılmaktadır (İbrahim ve ark., 2018).

4.4. Oligonükleotit Destekli Mutajenez (ODM)

Oligonükleotit destekli mutajenez teknolojisi, hedeflendirilmiş gen onarımı, genoplasti, kemoroplasti ve oligonükleotit destekli gen düzenlemesi olarak da adlandırılmaktadır (Igoucheva ve ark., 2006; de Semir ve Aran, 2006). Bu teknoloji kullanılarak hedef genomun hedef DNA dizisinde değişiklikler, eklemeler veya çıkarmalar yapılabilmektedir. Ayrıca mutasyon tekrar düzeltilenmektedir (de Semir ve Aran, 2006; Jiang ve ark., 2017).

ODM yöntemi kullanılarak hedef DNA dizilerinde özel mutasyonlar oluşturularak;

- Amaca yönelik olarak proteinlerin amino asit dizileri değiştirilebilmektedir,
- Hedef DNA dizisinde durdurma kodonu (TAA, TGA ve TAG) oluşturulabilmekte veya belirli DNA dizilerinin eklem/çıkarmaları yapılarak gen susturması, çerçeve kayması mutasyonlar ortaya çıkartılabilmektedir,
- Gen ekspresyon seviyesi ilgili genin regülatör dizilerinde örneğin promotör, enhenser, susturucu veya izolatör elementleri değiştirilerek ifade düzeyleri kontrol edilebilmektedir (Breyer ve ark., 2009; Sauer ve ark., 2016).

5. Mutasyon İslahının Avantajları ve Dezavantajları

5.1. Avantajlar

Mutasyon ıslahı, bir bitki türünde değişkenlik yaratmakla kalmaz, aynı zamanda melezleme yoluyla elde edilen çeşitliliklere kıyasla mutant çeşitlerin geliştirilmesi için geçen süreyi kısaltmaktadır. Mutasyonlar hem kalitatif hem de kantitatif karakterleri kısa sürede değiştirmektedir. İstenilen çeşitlilik, mutasyonlar aracılığıyla familyada çeşitlilik oluşturabilirken (Toker ve Çağırğan, 2004), melezleme programları aracılığıyla oluşturulan çeşitlilik çaprazlanan ebeveynlerin genotipleri ve fenotipleri ile sınırlıdır (Gottschalk, 1988; Baloch ve ark., 2023).

5.2. Dezavantajlar

İstenilen mutasyonların frekansı çok düşüktür (yaklaşık olarak %0.01). Mutasyon frekansı farklı bitki türleri arasında değişmektedir. Aynı tür içinde bile çeşitler, mutasyona farklı tepki gösterebilmektedir. Mutasyonda başarı; kullanılan yöntemlere, etkin tarama tekniklerine, M1 ve ardışık nesillerde yetiştirilen popülasyona bağlıdır. M1'deki popülasyon ne kadar büyükse, istenilen mutantların seçiminde o kadar başarılı olunmaktadır (Yali ve Mitiku, 2022). Araştırmacılar, istenilen mutasyonları taramak için büyük popülasyonlara ihtiyaç duymaktadır. Büyük popülasyonlardaki tarama prosedürleri zaman ve emek gerektirmektedir. Bazı mutasyonlar, bağlı genler nedeniyle pleiotropik etkilere sahiptir. Bu mutantlar genellikle ebeveynlere veya adapte olmuş çeşitlere geri melezlenmek zorundadır. Geri melezlemede

genler arasındaki bağlantılar kolayca kırılmadığı gibi zaman alıcı bir çalışmadır (Toker ve ark., 2007).

KAYNAKÇA

- Bado, S., Forster, B.P., Nielen, S., Ali, A.M., Lagoda, P.J., Till, B.J., Laimer, M. (2015). Plant mutation breeding: current progress and future assessment. *Plant Breeding Reviews*: 39: 23-88.
- Baloch, F.S., Altaf, M.T., Bedir, M., Nadeem, M.A., Tatar, M., Karaköy, T., & Aasim, M. (2023). iPBS-retrotransposons variations: DNA fingerprinting and the evaluation of genetic diversity and population structure in international cowpea germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 70(6), 1867-1877.
- Baloch, F.S., Guizado, S.J.V., Altaf, M.T., Yüce, I., Çilesiz, Y., Bedir, M., ... & Gómez, J. C. C. (2022). Applicability of inter-primer binding site iPBS-retrotransposon marker system for the assessment of genetic diversity and population structure of Peruvian rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) germplasm. *Molecular Biology Reports*, 1-12.
- Blakely, E.A. (1992). Cell inactivation by heavy charged particles. *Radiation and Environmental Biophysics*, 31(3): 181-196.
- Breyer, D., Herman, P., Brandenburger, A., Gheysen, G., Remaut, E., Soumillion, P., ... & Reheul, D. (2009). Commentary: Genetic modification through oligonucleotide-mediated mutagenesis. A GMO regulatory challenge?. *Environmental Biosafety Research*, 8(2): 57-64.
- Broertjes, C., Van Harten, A.M. (1988). Applied Mutation Breeding For Vegetatively Propagated Crops. Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam. 345pp
- de Semir, D., Aran, J.M. (2006). Targeted gene repair: the ups and downs of a promising gene therapy approach. *Current Gene Therapy*, 6(4): 481-504.
- Dunnen, J.T.D., Antonarakis, S.E. (2000). Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. *Human Mutation*, 15(1): 7-12.
- Fang, J.Y., Traore, S. (2011). In vitro mutation induction of *Saintpaulia* using ethyl methanesulfonate. *HortScience*, 46(7): 981-984.
- FAO/IAEA, (1977). Manual on mutation breeding second edition. Technical reports series No. 119. International Atomic Energy Agency, Vienna, 288pp

- FAO/IAEA, (2017). FAO/IAEA mutant variety database of the joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture. Accessed March 2017.
- Filiz, F., Arı, C. (2010). Mutasyonlar ve Mutageniz. Moleküler Biyoloji geliştirilmiş 2. Baskı. Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi Yayın No: 2. Ss: 297.
- Forster, B.P., Thomas, W.T. (2005). Doubled haploids in genetics and plant breeding. *Plant Breed Rev*, 25: 57-88.
- Friebe, B., Jiang, J., Raupp, W.J., McIntosh, R.A., Gill, B.S. (1996). Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to diseases and pests: current status. *Euphytica*, 91: 59-87.
- Gottschalk, W. (1988). Homologous mutation in pea and lentil. *Legume Research* 11: 32-34
- Gustafson, A., Ekberg, I. (1995). Chromosome mutations: changes in chromosomes, generally without alteration. p. 108-113. In: IAEA (eds.), *Manual on mutation breeding*. Vol. 119, IAEA, Vienna
- Hase, Y., Yamaguchi, M., Inoue, M., & Tanaka, A. (2002). Reduction of survival and induction of chromosome aberrations in tobacco irradiated by carbon ions with different linear energy transfers. *International Journal of Radiation Biology*, 78(9): 799-806.
- Ibrahim, R., Ahmad, Z., Salleh, S., Hassan, A.A., Ariffin, S. (2018). Mutation breeding in ornamentals. *Ornamental Crops*, 175-211.
- Igoucheva, O., Alexeev, V., Scharer, O., Yoon, K. (2006). Involvement of ERCC1/XPF and XPG in oligodeoxynucleotide-directed gene modification. *Oligonucleotides*, 16(1): 94-104.
- Jain, S.M. (2005). Major mutation-assisted plant breeding programs supported by FAO/IAEA. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82: 113-123.
- Jeng, T.L., Wang, C.S., Tseng, T.H., Wu, M.T., & Sung, J.M. (2009). Nucleotide polymorphisms in the waxy gene of NaN₃-induced waxy rice mutants. *Journal of Cereal Science*, 49(1): 112-116.
- Jiang, W.Z., Dumm, S., Knuth, M.E., Sanders, S.L., Weeks, D.P. (2017). Precise oligonucleotide-directed mutagenesis of the *Chlamydomonas reinhardtii* genome. *Plant Cell Reports*, 36: 1001-1004.
- Karaköy, T., Toklu, F., Karagöl, E.T., Uncuer, D., Çilesiz, Y., Ali, A., ... & Özkan, H. (2024). Genome-wide association studies revealed DArTseq loci associated with agronomic traits in Turkish faba bean germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(1), 181-198.

- Kharkwal, M.C. (2012). A brief history of plant mutagenesis. *In Plant mutation breeding and biotechnology* (pp. 21-30). Wallingford UK: CABI.
- Koornneef, M., Meinke, D. (2010). The development of Arabidopsis as a model plant. *The Plant Journal*, 61(6): 909-921.
- Lai, Y.P., Huang, J., Wang, L.F., Li, J., Wu, Z.R. (2004). A new approach to random mutagenesis in vitro. *Biotechnology and Bioengineering*, 86(6): 622-627.
- Law, C.N., Snape, J.W., Worland, A.J. (1987). Aneuploidy in wheat and its uses in genetic analysis. *In Wheat breeding: its scientific basis* (pp. 71-108). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Lett, J.T. (1992). Damage to cellular DNA from particulate radiations, the efficacy of its processing and the radiosensitivity of mammalian cells: emphasis on DNA double strand breaks and chromatin breaks. *Radiation and Environmental Biophysics*, 31(4): 257-277.
- Liew, O.W., Chong, P.C.J., Li, B., Asundi, A.K. (2008). Signature optical cues: emerging technologies for monitoring plant health. *Sensors*, 8(5): 3205-3239.
- Lonsdale, D.M. (1987). Cytoplasmic male sterility: a molecular perspective. *Plant Physiology and Biochemistry* 25: 265–271
- Lüleyap, Ü. 2008. Moleküler Genetiğin Esasları, Adana.
- Maluszynski, M. (1990). Induced mutations—an integrating tool in genetics and plant breeding. In *Gene Manipulation in Plant Improvement II: 19th Stadler Genetics Symposium* (pp. 127-162). Boston, MA: Springer US.
- McCallum, C.M., Comai, L., Greene, E.A., Henikoff, S. (2000a). Targeted screening for induced mutations. *Nat Biotechnol*, 18(4):455–457
- McCallum, C.M., Comai, L., Greene, E.A., Henikoff, S. (2000b). Targeting induced local lesions in genomes (Tilling) for plant functional genomics. *Plant Physiol* 123(2): 439–442.
- Micke, A. (1999). Mutations in plant breeding. *Breeding in crop plants: mutations and in vitro mutation breeding*. Kalyani Publishers, Ludhiana, India, 1-19.
- Murovec, J., Bohanec, B. (2011). Haploids and doubled haploids in plant breeding. *Plant Breeding*, 87-106.
- Nadeem, M.A., Yeken, M.Z., Shahid, M.Q., Habyarimana, E., Yılmaz, H., Alsaleh, A., ... & Baloch, F.S. (2021). Common bean as a potential crop for future food security: an overview of past, current and future

- contributions in genomics, transcriptomics, transgenics and proteomics. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 759-787.
- Nazarenko, M., Lykholat, Y., Grygoryuk, I., & Khromikh, N. (2018). Optimal doses and concentrations of mutagens for winter wheat breeding purposes. Part I. Grain productivity. *Journal of Central European Agriculture*, 19(1): 194-205.
- Pathirana, R. (2011). Plant mutation breeding in agriculture. *CABI Reviews*, 1-20.
- Perfectti, F., Werren, J.H. (2001). The interspecific origin of B chromosomes: experimental evidence. *Evolution*, 55: 1069–1073.
- Sağel, Z., Tutluer, M. İ., Peşkirioğlu, H. (1994). Bitki Islahında Mutasyonlar. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 3(1-2).
- Sauer, N.J., Mozoruk, J., Miller, R.B., Warburg, Z.J., Walker, K.A., Beetham, P.R., ... Gocal, G.F. (2016). Oligonucleotide-directed mutagenesis for precision gene editing. *Plant Biotechnology Journal*, 14(2): 496-502.
- Sears, E.R. (1956). The transfer of leaf-rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. The transfer of leaf-rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat.
- Shikazono, N., Tanaka, A., Kitayama, S., Watanabe, H., Tano, S. (2002). LET dependence of lethality in *Arabidopsis thaliana* irradiated by heavy ions. *Radiat Environ Biophys* 41:159–162.
- Shimelis, H., Spies, J.J. (2011). Aneuploids of wheat and chromosomal localization of genes. *African Journal of Biotechnology*, 10(29): 5545-5551.
- Shimira, F., Boyaci, H.F., Çilesiz, Y., Nadeem, M.A., Baloch, F.S., & Taşkin, H. (2021). Exploring the genetic diversity and population structure of scarlet eggplant germplasm from Rwanda through iPBS-retrotransposon markers. *Molecular Biology Reports*, 48(9), 6323-6333.
- Shu, Q.Y. (2009). Turning plant mutation breeding into a new era: molecular mutation breeding. *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*, 425-427.
- Simsek, O., Aka Kacar, Y., Yesiloglu, T., Ollitrault, P. (2009). Determination by SSCP markers of the allelic diversity of candidate genes for tolerance to iron chlorosis in citrus germplasm. In II International Symposium on Citrus Biotechnology 892 (pp. 85-91).

- Stadler, L.J. (1930). Some genetic effects of X-rays in plants. *Journal of Heredity*, 21(1): 3-20.
- Tanaka, A., Tano, S., Chantes, T., Yokota, Y., Shikazono, N., Watanabe, H. (1997). A new Arabidopsis mutant induced by ion beams affects flavonoid synthesis with spotted pigmentation in testa. *Genes & Genetic Systems*, 72(3): 141-148.
- Till, B.J., Comai, L., Henikoff, S. (2007a). TILLING and ecoTILLING for crop improvement. Genomics-assisted crop improvement. *Genomics Approaches and Platforms*, 1: 333- 349.
- Till, B.J., Cooper, J., Tai, T.H., Colowit, P., Greene, E.A., Henikoff, S et al (2007b). Discovery of chemically induced mutations in rice by TILLING. *BMC Plant Biology* 7:19.
- Toker, C., Cagirgan, M.I. (2004). Spectrum and frequency of induced mutations in chickpea. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*, 11: 8–10.
- Toker, C., Yadav, S.S., Solanki, I.S. (2007). Mutation breeding. Lentil: an ancient crop for modern times, 209-224.
- Van Harten, A.M. (1998). Mutation breeding: theory and practical applications. Cambridge: Cambridge University Press.
- Wang, H.Y., Liu, Z.H., Chen, P.D., Wang, X.E. (2012). Irradiation-facilitated chromosomal translocation: wheat as an example. In *Plant mutation breeding and biotechnology* (pp. 223-239). Wallingford UK: CABI.
- Wi, S.G., Chung, B.Y., Kim, J.H., Baek, M.H., Yang, D.H., Lee, J.W., Kim, J.S. (2005). Ultrastructure changes of cell organelles in Arabidopsis stem after gamma irradiation. *Journal of Plant Biology*, 48(2):195–200.
- Yali, W., Mitiku, T. (2022). Mutation breeding and its importance in modern plant breeding. *Journal of Plant Sciences*, 10(2): 64-70.
- Yamaguchi, H., Shimizu, A., Hase, Y., Tanaka, A., Shikazono, N., Degi, K., Morishita, T. (2010). Effect of ion beam irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in chrysanthemum. *Breed Science*, 60: 398–404.
- Yılmaz, A., Soysal, Ö. (2021). Tarla Bitkilerinde Mutasyon Islahı Tekniklerinin Kullanımı.

BÖLÜM 3

BİTKİ ISLAHINDA MOLEKÜLER MARKÖRLER VE UYGULAMALARI

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ¹

Arş. Gör. Melike KAYA²

Amjad ALİ³

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY⁴

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14579988>

¹ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Sivas, Türkiye E-mail: ycilesiz@sivas.edu.tr, Orcid: 0000-0002-4313-352X

² Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E-mail: mkaya@sivas.edu.tr, Orcid: 0009-0001-1606-0134.

³ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E-mail: amjadbzu11@gmail.com, Orcid: 0000-0003-0816-1872.

⁴ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E-mail: tolgakarakoy73@hotmail.com, Orcid: 0000-0002-5428-190.

1. GİRİŞ

Genom araştırmalarındaki son gelişmeler, biyoteknoloji ve moleküler markör teknolojilerinin kullanımıyla birleştirilerek geleneksel bitki ışlah tekniklerine entegre edilmiştir. Bu entegrasyon, bitki verimliliğini artırmaya yönelik yenilikçi yöntemlerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Moleküler markörler, bitkisel genetik araştırmaların vazgeçilmez araçlarından biri hâline gelmiş olup, disiplinler arası yaklaşımlar çerçevesinde bitki ışlahında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Garrido-Cardenas ve ark., 2018). DNA parmak izi yöntemlerinde kullanılan bu markörler, genetik varyasyonları tespit etme yetenekleri sayesinde, ürün geliştirme süreçlerinde kilit bir rol oynamaktadır. (Ahmad ve ark., 2010).

Moleküler markörlerin 1970'lerin sonlarında kullanılmaya başlanması, tarımsal ürünlerin verimliliğini artırmaya yönelik önemli bir ilerleme olarak kabul edilmiştir. Bu teknoloji, tarımsal üretimde moleküler markörlerin sunduğu büyük potansiyelin ilk işaretlerini ortaya koymuştur (Choudhury ve ark., 2022). Bitki genetiği alanında, genomik yaklaşımlara dayalı olarak geliştirilen moleküler markörler konusunda kayda değer ilerlemeler sağlanmıştır. Bu gelişmelerin önemli bir kısmı, Poczai ve ark. (2013) gerçekteşirdiği genomik çalışmalara dayanmaktadır. Bu yöntemler, organizmaların genomlarındaki polimorfizmleri tespit etmeye odaklanmış olup, doğada yaygın olarak bulunan genetik varyasyonların belirlenmesine olanak tanımaktadır. Moleküler markörlerin etkinliği, polimorfizmin özelliklerine ve bu markörlerin sınıflandırılmasına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Arabidopsis, pirinç ve hardal gibi model bitkiler üzerinde yürütölen genom dizileme çalışmaları, bitki genomlarının yapısal ve işlevsel açıdan daha iyi anlaşılmasına önemli katkılar sağlamıştır. Günümüzde, farklı amaçlar için çeşitli moleküler markörler kullanılmakta olup, hedeflenen çalışmanın gereksinimlerine uygun markörlerin dikkatle seçilmesi büyük önem taşımaktadır. İdeal bir moleküler markör, yüksek düzeyde polimorfizm göstermeli, eş baskınlık özelliğine sahip olmalı, kolay ve güvenilir bir şekilde tespit edilebilmeli, genom boyunca dengeli bir şekilde dağılmalı, düşük maliyetli olmalı, tarafsızlık ve tekrarlanabilirlik sunmalı ve kullanıcı dostu olmalıdır. Smulders ve De Klerk (2011), DNA markör polimorfizminin, gelişim aşamasından bağımsız olarak tüm bitki hücrelerinde ve dokularında tutarlı bir şekilde ifade edilmesinin kritik bir öneme sahip olduğunu vurgulamaktadır (Nadeem ve ark., 2021; Shimira ve ark., 2021; Baloch ve ark., 2022).

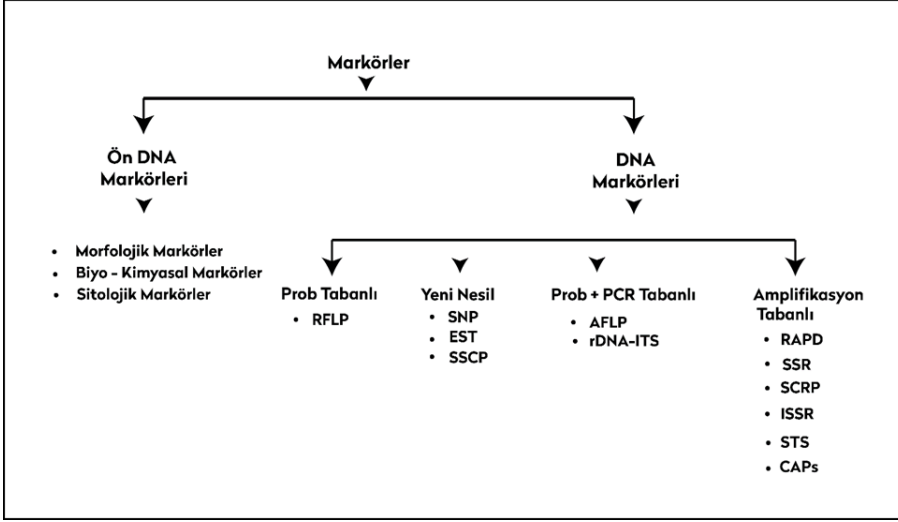
Moleküler markörlerin geliştirilmesi ve kullanımı, bitki ıslahı uygulamalarıyla entegre edilerek tarım ürünlerinin verimliliğini ve üretkenliğini artırmada önemli bir rol oynamıştır. Markör tabanlı yaklaşımlar, tarımsal ürünlerde belirli genetik lokusların tanımlanmasını ve bu lokusların etkili bir şekilde çoğaltılmasını sağlayarak, sonraki ıslah uygulamaları için büyük bir kolaylık sunmaktadır. Bitki ıslahı çalışmaları, öncelikli olarak hastalıklara karşı direnç veya tolerans genlerinin tanımlanması, abiyotik stres koşullarına dayanıklılığın geliştirilmesi ve ürün verimliliği ile su kullanım etkinliğinin artırılması gibi kalite özelliklerini hedeflemektedir. Bu çalışmalar, artan dünya nüfusunun gıda talebine sürdürülebilir çözümler sunmak açısından kritik bir öneme sahiptir. Bu bağlamda, bitki ıslahı ile moleküler markör teknolojilerinin entegrasyonu, hem tarımsal verimliliği artırmada hem de küresel gıda güvenliğini sağlamada kilit bir araç olmaya devam etmektedir (Baloch ve ark., 2023; Karaköy ve ark., 2024).

Bir gen, belirli bir özelliğin ortaya çıkmasını sağlayan kalıtsal bir DNA segmenti olarak tanımlanırken, genetik lokuslar, bu özelliklerin aktarımıyla ilişkilidir. Genetik bir özellik, belirli bir fenotipin ifade edilmesi ve bu durumun genetik analizlerle doğrulanması sonucunda genetik olarak kanıtlanmış kabul edilir. Doyle ve Egan (2010)'a göre, bitkilerdeki birçok genetik lokus, poliploid özellikler sergilemektedir. Bu nedenle, güvenilir ve net bir fenotip, ilişkili genlerin tamamını temsil eden bir genetik gösterge olarak işlev görebilir. Moleküler markörlerin etkin bir şekilde kullanılabilmesi için, daha önceki markör teknolojilerinden elde edilen bilgi birikimi kritik bir öneme sahiptir (Farooq ve Azam, 2002).

Genetik markörler, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler markörler olmak üzere üç ana kategoriye ayrılmaktadır. DNA tabanlı markörlerin geliştirilmesinden önce, 'DNA öncesi markörler' olarak bilinen morfolojik ve biyokimyasal markörler, genetik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmıştır (Ahmad ve ark., 2017). Morfolojik markörler, bitkilerin fenotipik özelliklerinin görsel olarak tanımlanmasına dayanır ve bu yöntem, DNA tabanlı tekniklerin yaygınlaşmasından önce temel bir yaklaşım olarak benimsenmiştir.

İzozimler, belirli genetik lokuslar tarafından kodlanan ve elektroforez yöntemiyle ayrılabilen proteinler ya da enzimler olarak bir dönem yaygın şekilde genetik markör olarak kullanılmıştır. Proteinler ve enzimler, organizmaların metabolik süreçlerinde kritik roller üstlenirken, amino

asitlerdeki elektrostatik yük farklılıkları, kodlayan genlerdeki nükleotid dizilimindeki değişikliklere işaret etmektedir. Her ne kadar amino asit değişiklikleri genellikle enzimlerin yapısal bütünlüğünü etkilemese de, elektrostatik yükleri değiştirerek farklı bitki türlerinin ayırt edilmesini kolaylaştırmaktadır. Bu metodoloji, bitkilerin yaşam döngüsünün herhangi bir aşamasında uygulanabilir ve Mendel genetiği ilkeleri çerçevesinde popülasyon genetiği çalışmalarında etkili bir araç olarak kullanılabilir. Silvertown ve Charlesworth (2009), bitki ıslahı araştırmalarında izozim markörlerinin kapsamlı şekilde kullanıldığını bildirmiştir. Shafqat Farooq ve Sayyed (1999) ise farklı çevresel koşullar altında pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmalarda, biyokimyasal markörlerin nicel ve nitel özelliklerinde belirgin farklılıklar tespit etmiştir. Bu bulgular, başlangıçta nötr olarak kabul edilen biyokimyasal markörlerin çevresel faktörlerden etkilenebileceğini göstermektedir. Zamanla, izozim markörlerin yerini daha gelişmiş ve güvenilir olan moleküler markörler almıştır. İzozim markörlerde gözlemlenen nötr olmayan davranışlar, sınırlı genetik çeşitlilik ve tutarlı protokollerin eksikliği, moleküler markörlere geçişi kaçınılmaz kılmıştır. Bunun yanı sıra, bazı araştırmacılar kromozomların karyotipine dayanan sitolojik markörleri de kullanmış; bu markörler, heterokromatin ve ökromatin bölgelerinin dağılımına ilişkin önemli veriler sunmuştur. Ancak, sitolojik markörlerin genetik haritalama ve bitki ıslahındaki kullanımı sınırlı kalmıştır. Moleküler tekniklerin gelişimi, morfolojik markörlerin fizyolojik ve fiziksel haritalarının oluşturulmasına olanak sağlayarak genetik bağlantıların daha etkili bir şekilde belirlenmesini mümkün kılmıştır. Bu yenilikler, genetik araştırmalar ve bitki ıslahı çalışmalarında daha hassas ve kapsamlı analizlerin yapılmasına önemli katkılar sunmuştur.



Şekil 1. Genetik markörleri karakterize etmede kullanılan akış şeması

2. Moleküler Markörler

Moleküler markörler, bireyler arasındaki nükleotid dizilimlerdeki farklılıkları temsil eden ve bu varyasyonların analiz edilmesine olanak tanıyan genetik araçlardır. Bu varyasyonlar; inversiyonlar, delesyonlar, nokta mutasyonları, duplikasyonlar ve translokasyonlar gibi polimorfik değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Ancak, bu tür polimorfizmlerin her zaman gen fonksiyonuna doğrudan bir etkisi olmayabileceği unutulmamalıdır. İdeal bir DNA markörü, eş baskınlık özelliğine sahip olmalı, genom boyunca homojen bir şekilde dağılmalı, yüksek derecede tekrarlanabilirlik sunmalı ve genetik varyasyonu etkili bir şekilde tanımlayabilmelidir. (Mondini ve ark., 2009).

Moleküler markörler, çeşitli kriterlere göre farklı kategorilere ayrılmaktadır. Bu kriterler arasında tespit yöntemi (hibridizasyon tabanlı veya PCR tabanlı markörler), genetik ifade biçimi (eş baskın veya baskın markörler) ve kalıtım şekli (baba organel, iki ebeveynli nükleer, anne organel veya anne nükleer kalıtım) yer almaktadır (Semagn ve ark., 2006). Genetik araştırmalar ile tarım ve bitki ıslahı alanlarında yaygın olarak kullanılan moleküler markörler, çok çeşitli işlemlere sahiptir ve modern biyoteknolojide kritik bir rol oynamaktadır.

Aşağıdaki bölümde, moleküler markörlerin temel özellikleri ve işlevlerine dair genel bir çerçeve sunularak özellikle tespit metodolojilerine yönelik detaylı bir inceleme yapılmıştır.

2.1. Hibridizasyon Tabanlı Markörler

Moleküler markörler arasında öncü bir teknik olarak kabul edilen RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), hibridizasyon prensibine dayanan ve tanıma bölgelerine bağlı özgünlüğü ile dikkat çeken bir yöntemdir (Singh ve ark., 2015). Bu teknik, ekleme/silme (InDel), nokta mutasyonları, translokasyonlar, duplikasyonlar ve inversiyonlar gibi genetik olayların neden olduğu polimorfizmleri tespit etmek için etkili bir araçtır. RFLP analizinin ilk adımı, saflaştırılmış DNA örneklerinin hazırlanmasıdır. Hazırlanan DNA örnekleri, bakteriyel kaynaklardan elde edilen restriksiyon enzimleri ile işleme tabi tutulur. Restriksiyon enzimleri, tanıma bölgeleri olarak bilinen belirli DNA dizilimlerini hedef alarak DNA'yı bu noktalardan spesifik bir şekilde keser. Bu işlem sonucunda, farklı uzunluklarda DNA parçaları oluşur. Oluşan DNA parçalarının ayrıştırılması için agaroz jel elektroforezi veya poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) gibi teknikler kullanılır. Bu ayrıştırma işlemi, farklı uzunluktaki DNA parçalarının belirgin bantlar şeklinde görünmesini sağlar ve bu bantlar, genetik analizlerde kullanılır.

RFLP modellerinde gözlemlenen polimorfizm, delesyonlar, mutasyonlar, inversiyonlar, translokasyonlar ve transpozisyonlar gibi genetik modifikasyonlarla ilişkilidir. Bu tür genetik değişiklikler, tanıma bölgelerinin kazanılması veya kaybolmasıyla sonuçlanarak, farklı uzunluktaki DNA parçalarının oluşmasına ve dolayısıyla polimorfizmin ortaya çıkmasına yol açar. Örneğin, tanıma bölgesindeki tek bir baz çifti varyasyonu, restriksiyon enziminin ilgili DNA dizisini kesmemesine neden olabilir. Bu tür bir nokta mutasyonu, bir kromozomda mevcut olup diğerinde bulunmadığında, birey işaretleyici açısından heterozigot olarak kabul edilir. Bu durum, elektroforez sonuçlarında her iki bant tipinin varlığıyla açıklanır (Madhumati, 2014). RFLP tekniği, DNA'nın fiziksel haritalanması ve genetik varyasyonların analizi gibi uygulamalarda yaygın bir şekilde kullanılmış olup, moleküler markör teknolojisinin gelişiminde önemli bir adım teşkil etmiştir.

2.2. PCR Bazlı Markörler

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), canlı organizmalara ihtiyaç duymadan küçük miktarlardaki DNA'nın çoğaltılmasını sağlayan bir tekniktir ve 1983 yılında Cary Mullis tarafından geliştirilmiştir (Mullis ve ark., 1992). PCR, denatürasyon, tavlama ve uzatma aşamalarından oluşur ve genetik araştırmalarda temel bir araç olarak kullanılmaktadır (Joshi ve Deshpande, 2011).

PCR teknolojisiyle geliştirilen RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) yöntemi, Williams ve ark. (1990) ile Welsh ve McClelland (1990) tarafından bağımsız olarak tanımlanmıştır. Bu teknikte, genomik DNA, 10 nükleotid uzunluğunda rastgele bir primer kullanılarak çoğaltılır. Ancak, RAPD markörlerinin tekrarlanabilirliği, DNA kalitesi, magnezyum konsantrasyonu ve tavlama sıcaklığı gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir (Wolff ve ark., 1993).

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RAPD ve RFLP yöntemlerinin sınırlamalarını aşan bir tekniktir ve restriksiyon enzimleriyle DNA'nın sindirilmesinin ardından PCR amplifikasyonu yapılır (Vos ve ark., 1995). Bu yöntem, önceden dizi bilgisi gerektirmeden hem yüksek kaliteli hem de kısmen bozulmuş DNA'yı kullanabilir. AFLP, farklı enzimlerle DNA'yı keser ve adaptörler aracılığıyla amplifikasyona özgün hale getirir.

SSR (Basit Dizi Tekrarları) veya mikrosatellitler, DNA'da 1-6 nükleotid uzunluğunda tekrar eden dizilerdir ve yüksek polimorfizm gösterir. SSR'ler, genomların çeşitli bölgelerinde, kloroplastlar ve mitokondriler dahil olmak üzere, bol miktarda bulunur. Eş baskın özellikleri ve yüksek tekrarlanabilirlikleri nedeniyle, bitki genetiği ve haritalama çalışmalarında sıklıkla kullanılır. SSR markör geliştirme süreçleri, kütüphane oluşturma, primer tasarımı ve polimorfizm analizini içerir. Zietkiewicz ve ark. (1994) tarafından önerilen inter basit dizi tekrarı (ISSR) markör yöntemi, aynı ancak zıt yönelimleri sergileyen iki mikrosatellit tekrar alanı arasında yer alan DNA segmentlerinin amplifikasyonunu gerektirir. Bu bölgeler, amplifikasyonu kolaylaştırmak için stratejik olarak en uygun mesafede konumlandırılmıştır. Mikrosatellitlerde kullanılan primerler, tri-, tetra- veya penta-nükleotit tekrarlarından oluşabilmektedir.

ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) tekniği, 15-30 baz uzunluğundaki primerlerle çalışarak DNA'nın amplifikasyonunda etkili bir

yöntem sunar. Primerler, genellikle 3' veya 5' ucunda 1-4 dejenere baz içerecek şekilde ankrılanabilir ve bu yapı, yan dizilere genişlemeyi destekler. Teknik, 45-60 °C aralığında yüksek tavlama sıcaklıklarında çalışabilir ve 200-2000 baz çifti uzunluğunda ürünler elde edilir. Bu ürünler, agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezi kullanılarak analiz edilir (Fang ve Roose, 1997). ISSR, Mendel'in kalıtım ilkelerine uygun şekilde baskın markörler olarak sınıflandırılrsa da, eş baskın markörlerin geliştirilmesine de olanak tanır (Ng ve Tan, 2015). ISSR'nin, RAPD tekniklerine kıyasla daha net ve anlaşılır sonuçlar sağladığı belirtilmektedir. Uygulama için DNA dizisi bilgisine önceden ihtiyaç duyulmaması, önemli bir avantajdır. Ancak, ISSR'nin baskın bir markör türü olması ve homolog dizilere göre daha düşük tekrarlanabilirlik göstermesi gibi bazı sınırlamaları da bulunmaktadır.

SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) markörleri, Paran ve Michelmore (1993) tarafından marulda tüylü küf direnç genlerinin tanımlanması amacıyla geliştirilmiştir. SCAR markörleri, RAPD markörlerine kıyasla daha yüksek özgüllük ve tekrarlanabilirlik sunarak, onları genetik çalışmalar için daha uygun bir seçenek haline getirir (Yang ve ark., 2013).

SCAR markörleri eş baskınlık sergiler ve doğaları gereği monolokusludur. Öncelikle fiziksel haritalama amacıyla kullanılırlar. SCAR markörlerinin üretimi, PCR ürünlerinin saflaştırılmasını ve ardından istenen markörlere özgü SCAR primerlerinin oluşturulmasını gerektirir (Bhagyawant, 2016; Kiran ve ark., 2010). Polimorfik bantlar, agaroz jel elektroforezi kullanılarak tespit edilir ve ardından bu spesifik DNA parçasının nükleotid dizisi analiz edilir. Bu analiz, ayırt ediciliği doğrulamak için NCBI veritabanındaki yerleşik DNA dizileriyle karşılaştırmayı içerir. Sonrasında, polimorfik DNA'nın nükleotid dizisi, belirli SCAR primerlerinin sentezinde kullanılır (Bhagyawant, 2016).

SNP'ler (Single Nucleotide Polymorphisms), bir bireyin genom dizisindeki tek baz çifti değişiklikleri ile karakterize edilen genetik varyasyonlardır. Nükleotidlerde gözlenen değişiklikler geçişler (C/T veya G/A) veya transversiyonlar (C/G, A/T, C/A veya T/G) şeklinde olabilir. Ayrıca, mesajcı RNA (mRNA) molekülündeki tek bir nükleotid bazını içeren ve genellikle InDel olarak adlandırılan ekleme ve silme olaylarını da kapsar. SNP'ler, kolayca tespit edilebilen ve bol miktarda bulunan markörler olarak işlev görür ve hem bitki hem de hayvan organizmalarında yaygın olarak dağılmıştır. Bitki genomlarında SNP'ler, genellikle 100-300 baz çifti başına

bir sıklıkla bulunur (Xu, 2010). SNP'ler, genlerin kodlayan ve kodlamayan kısımlarının yanı sıra genler arasındaki intergenik alanlar da dahil olmak üzere genom boyunca birçok yerde bulunur. SNP'ler genom boyunca farklı oranlar sergileyebilmektedir.

SNP genotiplenmesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir; bunlar arasında alel ayrımcılığı ve çoklu tespit sistemleri de bulunmaktadır. Yaygın kullanılan yöntemlerden biri SNP-RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi) olup, bu yöntemde belirli konumlardaki alellere seçici olarak bağlanan ancak diğerlerine bağlanmayan restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA parçaları enzimatik olarak sindirilir. SNP'leri tanımlama süreci, veritabanlarında tutulan dizi verilerinin incelenmesini ve analiz edilmesini gerektirir (Sobrinho, Brión ve Carracedo, 2005). Primer uzatma, müdahaleci bölünme, oligonükleotid ligasyonu ve alele özgü hibridizasyon gibi teknikler kullanılarak genotipleme testleri geliştirilmiştir.

Modern genotipleme uygulamalarında, yüksek verimli genotipleme için gelişmiş tekniklerin kullanımı artmıştır. Bu teknikler arasında NGS (Next Generation Sequencing), GBS (Genotyping-by-Sequencing), çip tabanlı NGS ve alel spesifik PCR yer almaktadır. Bu metodolojiler, SNP'lerin genotipleme hedefleri için markör olarak cazibesini önemli ölçüde artırmıştır. Çeşitlilik dizisi teknolojisi (DArT Seq), genom boyunca dağılmış olan ve sayıları birkaç yüz ile birkaç bin arasında değişen polimorfizm lokuslarının genotipini çıkarmak için mükemmel bir fırsat sunmaktadır. Mikroarray hibridizasyonu ise çok tekrarlanabilir bir teknolojidir. Bu teknoloji, ilgi duyulan özelliğe karşılık gelen lokusları bulmak için önceden dizi bilgisi gerektirmez (Huttner ve ark., 2005; Wenzl ve ark., 2004). Bu teknolojinin temel avantajları yüksek verim ve düşük maliyettir. DArT Seq ile, polimorfik markörleri bulmak için tek bir yanıt tahlili kullanılarak binlerce genomik lokus genotiplenebilir. Genotipleme için yalnızca 50-100 ng kadar az miktarda genomik DNA yeterlidir. Skorlama ve markör bulma işlemlerinin her ikisi de aynı platformda yapılabilir. Bir markör tanımlandıktan sonra, genotipleme için özel testlere gerek kalmaz. Bu polimorfik markörler, genotipleme dizilerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Huttner ve ark., 2005).

3. Bitki Islahında Moleküler Markörlerin Seçilmesinin Nedenleri

Moleküler çağdan önce, genetik çalışmalar yalnızca kontrollü koşullar altında melezlenebilen ve veri takibini kolaylaştıran birkaç bitki türüyle sınırlıydı. Moleküler metodolojilerin geliştirilmesi, bilimsel alanda büyük bir

paradigma değişikliğine yol açmış ve farklı yaşam formlarındaki genetik bilginin eksiksiz bir şekilde analiz edilmesini kolaylaştırmıştır. Genetik alanı, geniş kapsamı sayesinde sınırsız bir bilgi birikimi sunmaktadır. Organizmalarda benzer ve homolog özelliklerin ayırt edilmesinde DNA hibridizasyonu gibi yöntemler kullanılmıştır. Genetik farklılaşma düzeylerinin incelenmesi, araştırmacıların doğal seçim ve evrimsel farklılaşma süreçlerini değerlendirmelerine olanak sağlamaktadır. Geleneksel bitki ıslahında, görsel seçim, DNA varyasyonlarını tanımlamak için kullanılmıştır. Bununla birlikte, moleküler markörlerin kullanımı, moleküler düzeyde doğru tanımlama yapmayı önemli ölçüde kolaylaştırmıştır. DNA ekstraksiyonu sonrasında, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), hibridizasyon ve jel elektroforezi gibi birçok prosedür, bu tekniklerin bütüncül bir şekilde hızlı tanı imkânı sunduğunu göstermektedir (Bernardo, 2008; Crossa ve ark., 2017; Scott ve ark., 2020).

Genetik markörler, bireylerin, hücrelerin, dokuların, çekirdeklerin, genlerin ve kromozomların tanımlanması ve izlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. DNA örneklerindeki genetik varyasyonlar, bu markörlerin kullanıldığı çalışmalarda tanımlanır ve izlenir. Bir genetik lokusta polimorfizmin varlığı, genomla ilgili varyasyonun bir göstergesidir. Jombart ve ark. (2009)'a göre, bu markörler ağırlıklı olarak genetik araştırmalarda kullanılmaktadır. Moleküler markörler, güvenilir sonuçlar sağladıkları için bitki ıslahı laboratuvarlarında yaygın olarak tercih edilmektedir. Geleneksel markörlere kıyasla, genetik markörlerin önemli bir avantajı, çevresel faktörlerden etkilenmeyen doğal genetik yapıları temsil etmeleridir. Moleküler markörler, genetik kalıtımla olan ilişkileri sayesinde filogenetik araştırmalarda kritik bir öneme sahiptir. Buna karşılık, morfolojik özellikler, özellikle çevresel faktörlerin etkisi nedeniyle sıklıkla tutarsız veya hatalı sonuçlar verebilmektedir. Avise (2012), bitkilerin bu morfolojik özelliklere hayvanlardan daha yüksek düzeyde uyum sağladığını belirtmiştir. Aşağıda, moleküler markörlerin başlıca faydaları tartışılacaktır.

4. Bitki Islahında Moleküler Markörlerin Uygulanması

4.1. QTL Haritalama ve Linkage Haritaları Oluşturma

Moleküler markörler, genetik haritaların oluşturulmasında önemli bir rol oynadığı için tarım bilimleri alanında büyük öneme sahiptir. Bu haritaların kullanımı, kromozomlar üzerinde belirli gen özelliklerinin ve kantitatif özellik lokuslarının (QTL) tanımlanması ve lokalizasyonu için kritik bir araçtır

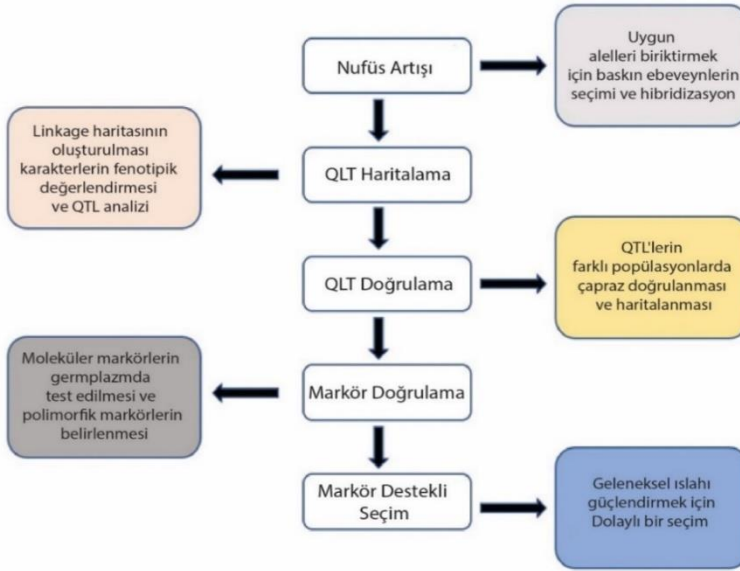
(Mohan ve ark., 1997). Bitki genomunun kapsamlı bir şekilde anlaşılması, moleküler markörler aracılığıyla elde edilen genetik verilerin en verimli şekilde kullanılabilmesi için hayati önem taşır. Bu nedenle, genetik haritalar, kromozomlar üzerinde bulunan genetik markörler arasındaki göreceli mesafeleri gösteren grafiksel temsillerdir (Wu ve ark., 2007). QTL'lerin ve diğer genlerin keşfi, mayoz bölünme sırasında Mendel'in ayrışma yasaları ve genetik rekombinasyon ilkelerinin temel alındığı anlayışlarla kolaylaştırılmıştır (Tondelli ve ark., 2014).

Sonraki nesillerde, genlerle yakından ilişkili markörler, yavrularda ortak kalıtım gösterme eğiliminde olduklarından, bu veriler değerlendirilerek analiz edilebilir. Moleküler markörlerin kullanımıyla genetik haritaların oluşturulması, genotipleme teknolojilerinin ve kullanılan moleküler markör türlerinin dikkatlice seçilmesine bağlıdır. Yüksek genetik çeşitliliğe sahip ebeveyn hatlarının seçici ıslahı, çok çeşitli markör lokuslarına sahip döllerin elde edilmesini sağlar. Genetik haritalar, genomlarında bulunan markörler dikkate alınarak her bir hattın analiz edilmesiyle oluşturulur. Bu haritalarda kullanılan genetik mesafe birimleri, fiziksel mesafenin genetik mesafeye oranı hesaplanarak belirlenir ve rekombinasyon frekansı ile ölçülür. Aktif rekombinasyon olaylarıyla karakterize edilen bölgeler genellikle 'rekombinasyon sıcak noktaları' olarak adlandırılır.

QTL'ler başlangıçta biparental popülasyonlarda tanımlanmış olsa da, bu kantitatif özellik lokuslarının (QTL'ler) farklı popülasyonlar arasında aktarılabilirliğinin sınırlı olduğu gösterilmiştir. Popülasyonlar arasındaki ayrışma sorununu çözmek amacıyla bilim insanları meta-QTL tanımlamış ve ortak QTL popülasyon analizi gerçekleştirmiştir. Günümüzde, poliploid bitkilerde markörlerin kullanımı ve tüm ürün genomlarının dizilimi gibi yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (Varshney ve ark., 2009). Moleküler markörlerin gelişimiyle birlikte, araştırmacılar MAS (Marker-Assisted Selection) amacıyla QTL'lerle ilişkili fonksiyonel markörlerin tanımlanmasının önemini kabul etmişlerdir.

4.2. Markör Destekli Seleksiyon (MAS)

Kantitatif özellik lokuslarının (QTL) belirlenmesi, özellikle fenotipik özelliklerin karakterizasyonu açısından bilimsel araştırmalarda önemli bir kilometre taşıdır. Marker-assisted selection (MAS) (Şekil 2), bitki ıslahında önemli bir gelişmeyi temsil etmekte ve bitki ıslahçıların kullanımını için yeni bir olanak sunmaktadır (MacKill, 2006).



Şekil 2. Bitkisel Ürünlerde Markör Destekli Seleksiyon Akış Şeması

QTL'nin tanımlanması ve linkage haritalamasının ardından, bu markörlerin başlangıçta doğrudan marker-assisted selection (MAS) için kullanılabilirliği düşünülmüştür. Ancak, fenotipik özelliklerin doğru bir şekilde tahmin edilebilmesi için, sıklıkla bağlantılı olan markörlerin güvenilirliğinin test edilmesi gereklidir. Bu nedenle, QTL doğrulaması, QTL etkilerinin karakterizasyonu ve daha hassas bir şekilde ince haritalama yapılması, bu alanda ilerleme sağlamak için kritik adımlar olmuştur (MacKill, 2006). MAS, fenotipik seçim sürecini yönlendirmek amacıyla bir markörün genotipinin kullanılmasını içeren bir metodolojidir. Geleneksel bitki ıslah yöntemlerinin zorluklarına çözüm olarak, MAS, moleküler ıslah stratejileri arasında önemli bir yer tutar. Seleksiyon standardı, bu metodolojiyle önemli

bir dönüşüm geçirmiştir (Mohan ve ark., 1997; Tabor ve ark., 2002). Bitki ıslahçıları, MAS'ı genellikle bir nesil içinde arzu edilen dominant veya resesif alelleri tanımlamak için kullanmanın yanı sıra, ayrıışan dölller arasında en avantajlı bireyleri seçmek amacıyla bir yöntem olarak da kullanmaktadır.

4.3. Evrim ve Filogeni

Tarihsel olarak, evrim teorisine yönelik ilk araştırmalar, hayvanlar arasındaki coğrafi ve morfolojik varyasyonların incelenmesine dayanıyordu. Ancak, moleküler biyoloji alanında son yıllarda kaydedilen önemli ilerlemeler, evrimsel biyoloji ve genetik araştırmalarda yeni yaklaşımların gelişmesini sağlamıştır. Bu gelişmeler, genetik yapıya dair daha kapsamlı ve ayrıntılı bilgilerin elde edilmesine olanak tanımıştır. Günümüzde, genetik haritaların oluşturulmasında moleküler markörlerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu teknikler, organizmaların filogeni ve evrimsel geçmişi hakkında daha derinlemesine bilgi edinmek için etkili bir araç olarak kullanılmaktadır. Moleküler filogenetik araştırmalarında kloroplast genom dizisi verilerinin kullanımı önemli bir yer tutmaktadır. Kloroplastların genetik özelliklerinin genellikle basit, tutarlı ve hızlı bir şekilde kalıtıma geçiyor olması, onları bitki filogenisi üzerine yapılan çalışmalarda oldukça değerli bir markör haline getirmektedir (Awise, 2012; Koch ve Mummenhoff, 2006).

4.4. Genetik Çeşitliliğin Değerlendirilmesi

Moleküler markörlerin kullanımı ve genom dizilimi, geniş germlazm koleksiyonlarındaki genetik çeşitliliği araştırma konusunda önemli bir fırsat sunmaktadır. Genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi, bitki evrimi ve karşılaştırmalı genomik çalışmalar için büyük önem taşımaktadır, çünkü bu yöntemler, farklı popülasyonların genetik yapıları hakkında değerli bilgiler elde edilmesini sağlar. Genetik markörlerin uygulaması, genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ve genetik materyallerin sınıflandırılmasında etkili bir araç olarak kanıtlanmıştır. Literatürdeki güncel çalışmalar, genetik çeşitliliği incelemek amacıyla çeşitli tahıl türlerinde DArT ve SNP markörlerinin kapsamlı bir şekilde kullanıldığını göstermektedir.

4.5. İlgilenilen Bir Gen İçin Geri Çaprazlamada Moleküler Markörlerin Kullanılması

İntrogresyon süreci, belirli genlerin bitki genetik kaynaklarından (PGR) kültür bitkilerine aktarılmasını içeren bir stratejidir. Bu süreç, egzotik germlazmdan istenilen özelliklerin seçilmesi ve ardından geri çaprazlama

yöntemiyle kültür bitkilerine aktarılmasını kapsamaktadır (Melchinger, 1990). Yabani genlerin kullanımı ve bunların kültür bitkilerine dahil edilmesi, özellikle Markör Destekli Seleksiyon (MAS) tekniklerinin entegrasyonu ile önemli ölçüde kolaylaştırılmıştır. Yabani bitki türlerinden elde edilen birçok önemli gen, ticari olarak değerli kültür bitkisi çeşitlerinin genetik yapısına başarıyla entegre edilmiştir. Bu amaçla sıklıkla SSR (Mikrosatellit) markörleri kullanılmaktadır. Bir çalışmada, Japonica pirincinde düşük gluten içeriği ile ilişkili Lgc-1 lokusunun transferini kolaylaştırmak amacıyla iki SSR markörü etkin bir şekilde kullanılmıştır. Bu süreçte, seleksiyon verimliliği %93 ile %97 arasında değişmiştir. Ayrıca, arpa sarı mozaik virüsü, arpa mahsullerinde önemli bir hastalık etkenidir ve Rym4 ile Rym5 genlerinin bu hastalığa karşı direnç sağladığı tespit edilmiştir. Bu genlerin seçilmesini kolaylaştırmak için çeşitli markörler geliştirilmiştir (Yang ve ark., 2012).

4.6. Genetik Haritalama

Genetik haritalama alanında, bir genin kesin lokusunun belirlenmesi ve iki gen arasındaki genetik mesafenin ölçülmesi için çeşitli metodolojiler kullanılmaktadır. Moleküler markörlerin kullanımı, genetik haritalama çalışmalarında önemli bir araştırma alanı olarak kabul edilmektedir (Bhat ve ark., 2017). Genetik haritalamanın teorik temeli, mayoz bölünme sırasında gerçekleşen kromozomal rekombinasyon olgusuna dayanmaktadır. Bu süreç, genlerin ayrışmasını ve dağılımını sağlar. Bağlantılı markörler, aynı kromozom üzerinde bulunan ve ilgilenilen genle yakın konumda yer alan markörlerdir (Grover ve Sharma, 2016).

4.7. Germplazmın Korunması ve Yönetimi

Germplazm ve doğal popülasyonlarda mevcut genetik çeşitliliğin anlaşılması, hem doğal ortamda (in situ) hem de doğal ortam dışında (ex situ) etkili koruma stratejilerinin geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır. Yabani türlerin doğal popülasyonlarındaki genetik varyasyonun anlaşılması, genetik çeşitlilik bakımından en zengin bölgelerin belirlenmesini kolaylaştırır (Barcaccia, 2009). Moleküler markörler, popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin incelenmesini kolaylaştırarak ve etkili örnekleme yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunarak, koruma biyolojisi alanında büyük bir öneme sahiptir (Barcaccia, 2009). Geniş germplazm kaynaklarından çekirdek koleksiyonların oluşturulması, bu kaynakların etkili bir şekilde yönetilmesi için son derece kritik bir adımdır. Moleküler markörler, bu koleksiyonlardaki tekrarlayan örneklerin tanımlanmasında önemli bir rol oynar ve böylece

yönetim uygulamalarının etkinliğini artırır. Çekirdek koleksiyonlarının oluşturulmasının ardından, genetik çeşitliliği izlemek ve korumak amacıyla moleküler markörler kullanılarak genetik erozyon riskinin azaltılması sağlanır (Börner ve ark., 2012). Bu bağlamda, türlerin korunmasında RAPD, ISSR ve AFLP gibi yaklaşımlar özellikle sınırlı dizilim verileri ve sınırlı genomik temsillere sahip durumlarda büyük değer taşımaktadır (Badri ve Ludidi, 2022).

5. Sonuç ve Öneriler

Devam eden ıslah çalışmalarında farklı metodolojilerin kullanılması, tarımsal ürünlerin iyileştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. DNA verilerinin elde edilmesindeki ilerlemeler, genlerin ve genomların karşılaştırılması ve analizi için dizi ve harita tabanlı yöntemlerin kullanılmasını kolaylaştırmıştır. DNA, moleküler etiketleme tekniklerine genetik bir temel sağlayarak, herhangi bir genomik bölgenin etiketlenmesine imkân verir. Moleküler markörler, organizmaların gelişim aşamasından bağımsız olarak herhangi bir doku veya organın analizinde kullanılabilir. Geleneksel fenotipik markörlere kıyasla, moleküler markörler bitki ıslahının etkinliğini artırma potansiyeline sahiptir ve özellikle araştırma karakterleriyle ilişkili moleküler markörlerin kullanıldığı seçim süreçlerinde büyük avantajlar sunmaktadır. Moleküler markörler, genetik analizlerin yanı sıra hassas gen konumu belirleme, gözle görülemeyen ancak bitki gelişimi için önemli etkileri olan değişiklikleri tespit etme ve filogenetik analizlerde kullanım gibi pek çok ek fayda sağlamaktadır. Polimorfizm kavramı, çeşitli zorlukları beraberinde getirir de, aynı zamanda tek nükleotid polimorfizmi (SNP) markörlerini genetikçiler ve ıslahçılar için vazgeçilmez araçlar haline getirmektedir. SNP markörleri, genom genelinde yaygın olarak bulunmaları ve verimli tespit yöntemleriyle uyumlu olmaları nedeniyle bitki moleküler genetiğinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Gelişen markör teknolojileri, markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemleriyle ilişkili maliyetleri önemli ölçüde azaltma potansiyeline sahiptir. Bu teknolojiler etkin ve erişilebilir hale geldiğinde, markör bazlı ıslahın uygulanabilirliğini daha da artırabilir. En yeni markör teknolojileri, özellikle pirinç, buğday, mısır ve pamuk gibi temel tarım ürünlerinde verim artışı sağlamak için kullanılmakta ve bitki ıslahı alanındaki gelişmelere önemli katkılar sunmaktadır.

Son yıllarda moleküler markörlerin kullanımındaki artış, tarımsal faaliyetlerde önemli gelişmelere yol açmıştır. Özellikle Markör Destekli Seçim (MAS) gibi tekniklerin uygulanması, bitki ıslahı süreçlerinde önemli bir etki yaratmıştır. Bu markörler, bitki popülasyonları içindeki önemli özelliklerin hızlı bir şekilde belirlenmesini sağlayarak ıslah süreçlerini daha verimli ve optimize hale getirmektedir. Araştırmacılar, ıslah uygulamalarını kolaylaştırmanın yanı sıra genomik araştırmalara kadar uzanan geniş bir yelpazede moleküler markörlerin sunduğu avantajlardan faydalanmaktadır. Moleküler markörler, tarımsal araştırmalarda hayati bir rol oynayarak, gıda güvenliğini sağlama çabalarına küresel ölçekte katkı sunmakta ve tarım sektöründe sürdürülebilir gıda üretimi için etkili çözümler üretmektedir. Bu uygulamalar, hızla artan küresel nüfusun gıda talebini karşılamada büyük avantajlar sunmaktadır.

KAYNAKÇA

- Ahmad, F., Akram, A., Farman, K., Abbas, T., Bibi, A., Khalid, S., Waseem, M. (2017). Molecular markers and marker assisted plant breeding: Current status and their applications in agricultural development. *Journal of Environmental and Agricultural Sciences*, 11: 35-50.
- Ahmad, F., Khan, A., Awan, F., Sadia, B., Sadaqat, H., Bahadur, S. (2010). Genetic diversity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm in Pakistan as revealed by RAPD analysis. *Genetics and Molecular Research*, 9(3): 1414-1420.
- Atwell, S., Huang, Y. S., Vilhjálmsson, B. J., Willems, G., Horton, M., Li, Y., Hu, T. T. (2010). Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature*, 465(7298):627-631.
- Avise, J. C. (2012). Molecular markers, natural history and evolution. *Springer Science Business Media*.
- Badri, M., Ludidi, N. (2022). Germplasm conservation for biotechnology and plant breeding. In *Technologies in Plant Biotechnology and Breeding of Field Crops* (pp. 67-80). *Springer*.
- Baloch, F.S., Altaf, M.T., Bedir, M., Nadeem, M.A., Tatar, M., Karaköy, T., & Aasim, M. (2023). iPBS-retrotransposons variations: DNA fingerprinting and the evaluation of genetic diversity and population structure in international cowpea germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 70(6), 1867-1877.
- Baloch, F.S., Guizado, S.J.V., Altaf, M.T., Yüce, I., Çilesiz, Y., Bedir, M., ... & Gómez, J. C. C. (2022). Applicability of inter-primer binding site iPBS-retrotransposon marker system for the assessment of genetic diversity and population structure of Peruvian rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) germplasm. *Molecular Biology Reports*, 1-12.
- Barcaccia, G. (2009). Molecular markers for characterizing and conserving crop plant germplasm. *Molecular Techniques in Crop Improvement*: 2:231-254.
- Bernardo, R. (2008). Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. *Crop Science*, 48(5):1649-1664.
- Bhagyawant, S. S. (2016). RAPD-SCAR markers: An interface tool for authentication of traits. *Journal of Biosciences and Medicines*, 4(01): 1.

- Bhat, S.A., Malik, A.A., Ahmad, S.M., Shah, R.A., Ganai, N.A., Shafi, S.S., Shabir, N., (2017). Advances in genome editing for improved animal breeding: A review. *Veterinary World*, 10(11):1361– 1366.
- Börner, A., Khlestkina, E. K., Chebotar, S., Nagel, M., Arif, M. A. R., Neumann, K., Röder, M. S. (2012). Molecular markers in management of ex situ PGR—A case study. *Journal of Biosciences*, 37:871-877.
- Choudhury, A., Deb, S., Kharbyngar, B., Rajpal, V. R., Rao, S. R. (2022). Dissecting the plant genome: Through new generation molecular markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 69(8):2661-2698.
- Crossa, J., Pérez-Rodríguez, P., Cuevas, J., Montesinos-López, O., Jarquín, D., De Los Campos, G., Beyene, Y. (2017). Genomic selection in plant breeding: Methods, models, and perspectives. *Trends in Plant Science*, 22(11): 961-975.
- Doyle, J. J., Egan, A. N. (2010). Dating the origins of polyploidy events. *New Phytologist*, 186(1): 73-85.
- Eathington, S. R., Crosbie, T. M., Edwards, M. D., Reiter, R. S., Bull, J. K. (2007). Molecular markers in a commercial breeding program. *Crop Science*, 47: 154-163.
- Fang, D., Roose, M. (1997). Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 95, 408-417.
- Farooq, S., Azam, F. (2002). Molecular markers in plant breeding-I: Concepts and characterization. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5(10):1135-1140.
- Farooq, S., Sayyed, H. (1999). Isozyme markers in cotton breeding-III. Variation in the intensity of isozymes of enzyme peroxidase exhibited by different loci of different cotton varieties and their relationship with cotton leaf virus disease. *Pakistan Journal of Botany*, 31(2): 361-370.
- Garrido-Cardenas, J. A., Mesa-Valle, C., Manzano-Agugliaro, F. (2018). Trends in plant research using molecular markers. *Planta*, 247:543-557.
- Grover, A., & Sharma, P. C. (2016). Development and use of molecular markers: Past and present. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(2), 290–302. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.959891>.
- Huttner, E., Wenzl, P., Akbari, M., Caig, V., Carling, J., Cayla, C., Patarapuwadol, S. (2005). Diversity arrays technology: A novel tool

- for harnessing the genetic potential of orphan crops. In *Discovery to Delivery: BioVision Alexandria 2004, Proceedings of the 2004 Conference of The World Biological Forum*. CABI Publishing: UK.
- Hyman, E. D. (1988). A new method of sequencing DNA. *Analytical Biochemistry*, 174(2): 423-436.
- Ibraheem, O., Adigun, R., Olatunji, I. (2018). Omics technologies in unraveling plant stress responses; using sorghum as a model crop, how far have we gone. *Vegetos*, 31(2): doi: 10.4172/2229, 4473.
- Jaiswal, V., Bandyopadhyay, T., Gahlaut, V., Gupta, S., Dhaka, A., Ramchiary, N., Prasad, M. (2019). Genome-wide association study (GWAS) delineates genomic loci for ten nutritional elements in foxtail millet (*Setaria italica* L.). *Journal of Cereal Science*, 85: 48-55.
- Jiang, G.-L. (2013). Molecular markers and marker-assisted breeding in plants. In *Plant Breeding from Laboratories to Fields*, 3: 45-83.
- Jombart, T., Pontier, D., Dufour, A.-B. (2009). Genetic markers in the playground of multivariate analysis. *Heredity*, 102(4): 330-341.
- Jones, C., Edwards, K., Castaglione, S., Winfield, M., Sala, F., Van de Wiel, C., Daly, A. (1997). Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding*, 3: 381-390.
- Joshi, M., Deshpande, J. (2011). Polymerase chain reaction: Methods, principles and application. *International Journal of Biomedical Research*, 2(1):81-97.
- Karaköy, T., Toklu, F., Karagöl, E.T., Uncuer, D., Çilesiz, Y., Ali, A., ... & Özkan, H. (2024). Genome-wide association studies revealed DArTseq loci associated with agronomic traits in Turkish faba bean germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(1), 181-198.
- Khouni, S., Laiadi, Z., Bertazzon, N., Angelini, E., Migliaro, D. (2023). Preservation and sanitary status of Algerian grapevine germplasm: Management and improvement. *South African Journal of Botany*, 153:346-356.
- Kiran, U., Khan, S., Mirza, K. J., Ram, M., Abdin, M. (2010). SCAR markers: A potential tool for authentication of herbal drugs. *Fitoterapia*, 81(8):969-976.
- Koch, M. A., Mummenhoff, K. (2006). Evolution and phylogeny of the Brassicaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 259(2/4):81-83.

- MacKill, D. J. (2006). Breeding for resistance to abiotic stresses in rice: The value of quantitative trait loci. In *Plant Breeding: The Arnel R. Hallauer International Symposium*.
- Madhumati, B. (2014). Potential and application of molecular markers techniques for plant genome analysis. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 2(1):169-188.
- Melchinger, A. (1990). Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. *Plant Breeding*, 104(1):1-19.
- Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T., Yano, M., Bhatia, C., Sasaki, T. (1997). Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding*, 3:87-103.
- Mondini, L., Noorani, A., Pagnotta, M. A. (2009). Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity*, 1(1):19-35.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., Erlich, H. (1992). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Biotechnology Series*, 17-1
- Mundada, P., Kadam, S., Pable, A., Barvkar, V. (2022). Recent advances and applicability of GBS, GWAS, and GS in millet crops. In *Advances in Crop Genomics*. Wiley.
- Nadeem, M.A., Yeken, M.Z., Shahid, M.Q., Habyarimana, E., Yılmaz, H., Alsaleh, A., ... & Baloch, F.S. (2021). Common bean as a potential crop for future food security: an overview of past, current and future contributions in genomics, transcriptomics, transgenics and proteomics. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 759-787.
- Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J. P., & Hyvönen, J. (2013). Advances in plant gene-targeted and functional markers: A review. *Plant methods*, 9(1):1-32.
- Semagn, K., Bjørnstad, Å., Ndjiondjop, M. N. (2006). An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(25): 2540–2568.
- Shimira, F., Boyaci, H.F., Çilesiz, Y., Nadeem, M.A., Baloch, F.S., & Taşkin, H. (2021). Exploring the genetic diversity and population structure of scarlet eggplant germplasm from Rwanda through iPBS-retrotransposon markers. *Molecular Biology Reports*, 48(9), 6323-6333.

- Singh, B., Singh, A., Singh, B., Singh, A. (2015). Hybridization-based markers. *Marker-Assisted Plant Breeding: Principles and Practices*, 19-46.
- Smulders, M., De Klerk, G. (2011). Epigenetics in plant tissue culture. *Plant growth regulation*, 63:137-146.
- Tondelli, A., Pagani, D., Ghafoori, I. N., Rahimi, M., Ataei, R., Rizza, F., Cattivelli, L. (2014). Allelic variation at FR-H1/VRN-H1 and FR-H2 loci is the main determinant of frost tolerance in spring barley. *Environmental and Experimental Botany*, 106(1):148–155.
- Varshney, R. K., Nayak, S. N., May, G. D., Jackson, S. A. (2009). Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding. *Trends in biotechnology*, 27(9): 522-530.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. Hornes, M., . . . Kuiper, M. (1995). Aflp: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23(21): 4407-4414.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22):6531-6535.
- Wolff, K., Schoen, E., Rijn, J. P.-V. (1993). Optimizing the generation of random amplified polymorphic dnas in chrysanthemum. *Theoretical and Applied Genetics*, 86:1033-1037.
- Wu, R., Ma, C., Casella, G. (2007). Statistical genetics of quantitative traits: Linkage, maps and qtl. *Springer Science & Business Media*.
- Xu, Y. (2010). *Molecular plant breeding*. Cabi.
- Yang, Y., Li, Y., Tong, J., Qasim, S. M., Chen, Z., Wang, L., ...Lu, Y. (2012). Wide-compatibility gene s5n exploited by functional molecular markers and its effect on fertility of intersubspecific rice hybrids. *Crop science*, 52(2):669-675.

BÖLÜM 4

BITKİLERDE MARKÖR-KARAKTER İLİŞKİSİ

Dr. Öğr. Üyesi Yeter ÇİLESİZ¹

Hale YILDIZ²

Fatma Eda TUTAR³

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY⁴

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14579990>

¹ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Sivas, Türkiye E-mail: ycilesiz@sivas.edu.tr, Orcid: 0000-0002-4313-352X

² Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye. E-mail: yildizzhale@gmail.com Orcid: 0009-0007-5454-0466

³ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye. E-mail: fatmaedatutar@gmail.com Orcid: 0000-0003-0733-1112

⁴ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E-mail: tolgakarakoy73@hotmail.com, Orcid: 0000-0002-5428-190.

1. Markör-Karakter İlişkisi Nedir?

Genetik markörler, belirli bir fenotipik özelliğin genetik temellerini araştırarak bu özellik ile ilişkili genler veya kromozom bölgelerinin belirlenmesine olanak tanır. Bu ilişki, bitki ıslahı ve genetik araştırmalarında, belirli bir karakteri kontrol eden genetik bölgelerin belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Bu, özellikle çoklu genetik faktörlerin etkili olduğu ve genetik çeşitliliğin fazla olduğu özelliklerde (örneğin, verim, kalite, dayanıklılık) önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Genetik markörlerin tarımsal özellikler ile nasıl ilişkilendiğini anlamak ve bu bilgiyi kullanarak daha etkili ve hedef odaklı ıslah programları geliştirmek oldukça önemlidir. Markör-karakter ilişkisi, genetik markörlerin, bitkilerde belirli fenotipik özellikleri (karakterleri) yansıtmaları durumudur. Bu ilişki, bitkilerdeki genetik varyasyonları inceleyerek, istenilen özelliklerin genetik temellerini keşfetmeye olanak sağlamaktadır. Genetik markörler, genetik çeşitliliği ortaya koyarak, tarımsal amaçlar doğrultusunda seleksiyon yapılmasına yardımcı olur. Bu ilişki iki temel unsurdan oluşmaktadır (Ali ve ark., 2022; Altaf ve ark., 2023).

Genetik markörler, genetik çeşitliliği temsil eden ve belirli bir karakter ile ilişkili olan DNA dizileri veya işaretleri olarak tanımlanmaktadır. Örneğin, belirli bir bitkide kuraklık toleransı ile ilişkili bir genetik işaret, bu özelliği taşıyan bireyleri belirlemek için kullanılabilir.

Fenotipik karakterler, bitkilerin dışarıdan gözlemlenebilen morfolojik, fizyolojik veya biyokimyasal özellikleridir. Bu özellikler arasında verim, hastalıklara direnç, kalite parametreleri ve büyüme hızı gibi faktörler yer almaktadır. Fenotipik özelliklerin oluşumu, genetik faktörlerin yanı sıra çevresel koşulların etkileşimiyle şekillenir; dolayısıyla bu karakterler genotip ve çevre faktörlerine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Gezeljeh ve ark., 2018; Baloch ve ark., 2023a; Baloch ve ark., 2023b).

2. Markör-Karakter İlişkisinin Önemi

Markör-karakter ilişkisi, bitki ıslahında istenilen özelliklerin erken dönemde seçimi gibi önemli avantajlar sunmaktadır. Genetik markörler, geleneksel fenotipik seleksiyon yöntemlerinden farklı olarak, bitkilerin genetik yapısının fenotipik ifadesinden önce değerlendirilmesine olanak tanımaktadır. Bu yaklaşım, hedef özelliklere sahip bireylerin daha hızlı, etkin ve yüksek doğrulukla seçilmesini sağlamaktadır. Fenotipik özelliklerin

genetik temellerinin belirlenmesi, bu özelliklerin kalıtım mekanizmalarının anlaşılmasını sağlamaktadır. Genetik markörler kullanılarak yapılan ilişkilendirme analizleri, belirli fenotipik karakterlerin oluşumunda rol oynayan genetik bölgelerin veya genlerin tespit edilmesine olanak tanımaktadır.

Kompleks karakterlerin iyileştirilmesi, birden fazla gen ve gen-çevre etkileşimleri tarafından kontrol edilen özelliklerin geliştirilmesini ifade etmektedir. Tarımsal açıdan önemli olan verim ve hastalıklara dayanıklılık gibi kompleks özellikler, genetik markörlerin bu karakterlerle ilişkilendirilmesi sayesinde daha etkin bir şekilde ıslah edilebilmektedir. Hedefe yönelik ıslah programları, genetik markörler ile fenotipik karakterler arasındaki ilişkilerin kullanılması sayesinde, belirli özelliklere sahip bireylerin daha hassas ve bilinçli bir şekilde seçilmesini sağlamaktadır. Bu yaklaşım, ıslah sürecinin etkinliğini artırarak hedeflenen genotip ve fenotiplere daha hızlı ve verimli bir şekilde ulaşılmasını mümkün kılmaktadır (Gezeljeh ve ark., 2018; Barut ve ark., 2020; Baloch ve ark., 2022).

3. Markör-Karakter İlişisini Kurma Yöntemleri

Markör-karakter ilişkisinin belirlenmesi için genetik analizler ve ileri istatistiksel yöntemler kullanılmaktadır. Bu süreç, genetik markörler ile fenotipik veriler arasındaki bağlantıyı çözümleyerek, ilgili genetik bölgelerin hedef karakterlere etkisini anlamayı amaçlamaktadır.

3.1. QTL (Quantitative Trait Locus) Haritalama

QTL (Kantitatif Özellik Lokusları) haritalaması, bir fenotipik özelliği etkileyen genetik bölgelerin tespitinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. QTL'ler, genetik markörler ile fenotipik verilerin birlikte analiz edilmesi yoluyla tanımlanmaktadır. Bu yöntem, bitkilerde belirli bir fenotipik karakterin bir veya birden fazla genetik lokus tarafından kontrol edilip edilmediğini ve bu lokusların fenotip üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır (van Houten ve ark., 1994; Mart ve ark., 2016; Karaköy ve ark., 2024).

Adım 1- Genetik markörlerin belirlenmesi: İlk aşamada, tarımsal açıdan önemli özelliklerle ilişkili genetik markörler seçilir. Bu markörler, fenotipik karakterlerle bağlantı kurmak ve QTL haritalaması için gerekli temel veriyi sağlamak amacıyla kullanılır.

Adım 2- Fenotipik verilerin elde edilmesi: Bitki populasyonlarından verim, kalite ve dayanıklılık gibi tarımsal açıdan önemli fenotipik veriler toplanır. Bu veriler, genetik markörlerle ilişkilendirme analizlerinde kullanılmak üzere kaydedilir.

Adım 3- İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesi: Genetik markörler ile fenotipik veriler arasındaki ilişkiyi belirlemek için istatistiksel yöntemler, örneğin Pearson korelasyonu ve QTL analizi, uygulanır. Bu analizler, belirli genetik lokusların fenotipik özelliklerle ilişkisini ortaya koyarak, markörlerin hangi genetik bölgelerle etkileşime girdiğini belirler.

3.2. Genetik Haritalama ve GWA (Genome-Wide Association) Analizleri

GWA analizleri, genomdaki tüm genetik varyasyonların belirli bir fenotipik özellik ile ilişkisini inceleyen bir yöntemdir. Bu analiz, geniş genetik çeşitliliğe sahip populasyonlarda uygulanır ve genetik markörler, özellikle SNP'ler (Tek Nükleotid Polimorfizmleri), ile fenotipik özellikler arasındaki ilişkileri belirleyerek, genetik temellerin daha kapsamlı bir şekilde haritalanmasını sağlamaktadır (Nadeem ve ark., 2021a; Nadeem ve ark., 2021b; Çilesiz, 2023).

Adım 1- Popülasyonun seçimi: Yüksek genetik çeşitliliğe sahip ve geniş bir popülasyon seçilir. Bu popülasyonda, fenotipik varyasyonların belirgin şekilde gözlemlenmesi gerekmektedir.

Adım 2- Genetik verilerin toplanması: Popülasyondan genetik veriler toplanır. Bu veriler, genetik markörler (özellikle SNP'ler) ve bu markörlerin fenotipik özelliklerle ilişkisini belirleyen fenotipik verilerden oluşur.

Adım 3- GWA analizi: Genetik ve fenotipik veriler arasındaki ilişkiyi belirlemek için uygun istatistiksel modeller uygulanır. GWA analizleri, genetik varyasyonların hangi fenotipik karakterlerle ilişkili olduğunu ve bu ilişkilerin genetik temellerini ortaya koyar.

4. Markör-Karakter İlişkilerinin Tarımda Kullanımı

Markör-karakter ilişkisi, bitki ıslahı ve tarımsal üretimin çeşitli alanlarında kullanılmaktadır.

4.1. Verim Düzeyinin Artırılması

Verim, tarımda kritik bir fenotipik özellik olup, genetik temelleri bitki ıslahının en önemli odak noktalarından birini oluşturmaktadır. Markör-karakter ilişkilendirme yöntemleri aracılığıyla, verimle ilişkili genetik lokuslar tespit edilebilmektedir. Bu lokuslar, verim özelliklerinin kalıtımını belirleyen ve fenotipik ifadesini yönlendiren genetik bölgeler olarak tanımlanmaktadır. Genetik markörler, özellikle SNP'ler gibi moleküler işaretçiler, bu lokuslarla ilişkilendirildiğinde, yüksek verim potansiyeline sahip bireylerin genetik olarak belirlenmesi mümkün hale gelmektedir. Böylece, verim kapasitesini artırma amacıyla yapılan seçimler daha hızlı, daha hassas ve daha verimli bir şekilde gerçekleştirilebilmekte, ıslah süreci hızlandırılabilir (Nadeem ve ark., 2021c; Shimira ve ark., 2021).

4.2. Dayanıklılık ve Tolerans

Bitkilerin abiyotik (kuraklık, tuzluluk gibi çevresel stresler) ve biyotik (hastalıklar, zararlılar gibi organizmalarla kaynaklanan stresler) streslere karşı dayanıklılığı, genetik markörler ve fenotipik karakterler arasındaki ilişkiyi belirleyerek önemli ölçüde iyileştirilebilmektedir. Markör-karakter ilişkilendirme analizleri, bu stres faktörlerine karşı direnç gösteren genetik faktörlerin tespit edilmesine olanak tanımaktadır. Örneğin, kuraklık toleransı ile ilişkili genetik markörler, kuraklık koşullarında daha iyi gelişim gösteren bitkilerin belirlenmesini sağlamaktadır. Bu markörler, özellikle su stresine dayanıklı fenotipleri hızla işaretleyerek, dayanıklı bireylerin seçilmesine yardımcı olmaktadır. Böylece, abiyotik ve biyotik stres koşullarına dayanıklılığı artırmak için hedeflenen ıslah programları daha verimli ve hızlı bir şekilde uygulanabilmektedir (Bretting ve Widrlechner, 1995; Saran ve Patel, 2021).

4.3. Kalite İyileştirmeleri

Ürün kalitesini artırma amacıyla, kaliteye dair fenotipik özelliklerle ilişkili genetik markörler belirlenebilmektedir. Bu genetik markörlerin tespiti, özellikle gıda ürünlerinin besin değerlerini iyileştirme ve ticari kaliteyi artırma hedefleri doğrultusunda büyük önem taşımaktadır. Kaliteyle ilişkili genetik markörler, örneğin, besin maddelerinin içeriği (protein, yağ, vitamin ve mineral düzeyleri), lezzet, doku, renk gibi fiziksel özellikler veya hasat sonrası özellikler (raf ömrü, dayanıklılık) gibi kriterleri belirleyen genetik varyasyonları işaret etmektedir. Bu markörler kullanılarak, istenilen kalite

özelliklerini taşıyan bireyler seçilebilir ve bu sayede ürünlerin ticari değerini artıran, besin içeriklerini iyileştiren ve genel tüketici tercihlerini karşılayan bitkiler hızla üretilebilmektedir (Samadia, 2005).

5. Genetik Düzenleme Araçları

5.1. RNAi (RNA interference)

RNA interferansı (RNAi), gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde inhibe etmek için kullanılan bir moleküler biyoloji tekniğidir. Bu mekanizma, çift sarmallı RNA (dsRNA) moleküllerinin, hedef genin mRNA'sına bağlanarak onun stabilitesini bozmasına ve translasyonunu engellemesine dayanmaktadır. RNAi, genetik materyalin spesifik olarak sessizleştirilmesi sürecini başlatarak, belirli genlerin ekspresyonunu hedefleyerek kontrol altına almaktadır. Bu teknoloji, özellikle genetik hastalıkların tedavisinde, kanser, viral enfeksiyonlar, nörolojik bozukluklar gibi durumların tedavisinde potansiyel bir strateji olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, RNAi'nin bitki biyoteknolojisinde hedef genlerin işlevlerini araştırmak ve bitkilerde istenen özelliklerin kazandırılması amacıyla da yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir (Sellamuthu, 2024).

RNA interferansının (RNAi) prensibi, çift sarmallı RNA (dsRNA) moleküllerinin, hedef genlerin mRNA'sına spesifik olarak bağlanarak bu mRNA'nın degradasyonunu tetiklemesidir. Bu süreç, RNAi'nin temel mekanizması olan 'dicer' enzimi aracılığıyla başlamakta; dicer, çift sarmallı RNA'yı küçük interferan RNA (siRNA) moleküllerine keserek, bu siRNA'ların hedef mRNA'ya bağlanmasını sağlamaktadır. SiRNA ve hedef mRNA arasındaki etkileşim, RNA-induced silencing complex (RISC) olarak bilinen protein kompleksi tarafından gerçekleştirilen mRNA'nın parçalanmasına yol açmaktadır. Sonuç olarak, hedef mRNA'nın stabilitesi azalır ve translasyon süreci engellenmekte, böylece ilgili genin ekspresyonu baskılanır ve genetik bilginin fenotipik ifadesi engellenmiş olmaktadır. Uygulama Alanları: RNA interferansı (RNAi), bitki ıslahında çeşitli genetik modifikasyonlar sağlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknoloji, istenmeyen genlerin ekspresyonunun spesifik olarak baskılanması için etkili bir araçtır. RNAi, özellikle bitkilerde hastalık direncinin artırılması amacıyla, patojenlere karşı duyarlılığı artıran genlerin sessizleştirilmesi veya hastalığa karşı koruyucu genlerin aktif hale getirilmesi için kullanılabilir. Ayrıca, çevresel stres faktörlerine karşı dayanıklılığı artırmak için RNAi, kuraklık, tuzluluk ve diğer abiyotik stres koşullarına karşı

bitkilerin adaptasyonunu sağlayan genetik yolların modülasyonu amacıyla da kullanılabilir. Bunun yanı sıra, RNAi, bitkilerde istenmeyen metabolik yollara müdahale edilerek verim, kalite ve besin değeri gibi istenen fenotipik özelliklerin iyileştirilmesi için de uygulanmaktadır (Tang ve Khvorova, 2024).

5.2. Epigenetik Düzenleme

Epigenetik, genetik materyalin kendisinde herhangi bir değişiklik olmaksızın, gen ekspresyonunu düzenleyen ve çevresel faktörlerin etkisiyle değişebilen biyolojik süreçlerdir. Bu süreçler, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve RNA düzenlemeleri gibi mekanizmaları içermektedir. DNA metilasyonu, genetik materyalin belirli bölgelerindeki sitozin bazlarının metilasyonu ile gen ekspresyonunun inhibe edilmesine veya aktivasyonuna yol açabilmektedir. Histon modifikasyonları ise kromatin yapısını değiştirerek, genlerin açılmasını veya kapanmasını sağlayarak genetik bilginin ifadesini düzenlemektedir. RNA düzenlemeleri, özellikle uzun non-kodlayıcı RNA'lar ve miRNA'lar aracılığıyla gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde kontrol etmektedir. Bu epigenetik mekanizmalar, bitki ıslahında çevresel streslere karşı dayanıklılığı artırmak, özellikle kuraklık, tuzluluk ve hastalık gibi abiyotik ve biyotik streslere karşı direnci güçlendirmek için kullanılabilir. Ayrıca, bu süreçler, bitkilerde verimi artırmak ve istenilen fenotipik özellikleri geliştirmek amacıyla da potansiyel bir strateji olarak uygulanmaktadır (Pikaard ve Scheid, 2014).

5.3. Omik Teknolojiler

Omik teknolojiler, organizmaların biyolojik fonksiyonlarını derinlemesine anlamak ve genetik, transkriptomik, proteomik, metabolomik ve fenomik verilerin entegrasyonunu sağlamak amacıyla kullanılan ileri düzey biyoteknolojik araçlardır. Genetik veriler, organizmaların genom yapısını ve genetik varyasyonları incelerken, transkriptomik analizler, gen ekspresyon seviyelerini ve RNA profillerini ortaya koymaktadır. Proteomik, organizmanın tüm protein bileşenlerini ve bunların etkileşimlerini analiz ederken, metabolomik veriler, hücresel metabolizma süreçlerini ve biyokimyasal yolları ortaya koymaktadır. Fenomik veriler ise bu moleküler düzeydeki değişimlerin organizmanın fenotipik özelliklerine yansımalarını inceleyen verileri içermektedir. Bu omik veri kümelerinin entegrasyonu, bitki ıslahında genetik ve fenotipik bilgilerin bir araya getirilmesini sağlar, böylece daha verimli, dayanıklı ve sürdürülebilir tarım uygulamaları için yeni fırsatlar yaratmaktadır. Omik teknolojiler, bitkilerde verim artırma, çevresel streslere

karşı dayanıklılığı geliştirme ve kaliteyi iyileştirme gibi hedeflere ulaşmada önemli bir strateji sunmaktadır (Yang ve ark., 2021).

5.3.1. Genomik ve Proteomik Çalışmalar

Genomik ve proteomik analizler, bitkilerdeki genetik ve protein düzeyindeki değişiklikleri izlemek, genetik varyasyonları belirlemek ve biyolojik süreçleri daha derinlemesine incelemek için güçlü araçlardır. Genomik analizler, bitkilerin genom yapısını, genetik varyasyonları, mutasyonları ve genetik farklılıkları inceleyerek, belirli fenotipik özelliklerin kalıtımını ve genetik temellerini ortaya koymaktadır. Bu analizler, bitkilerdeki genetik çeşitliliği ve evrimsel adaptasyonları izlemeye imkân tanımaktadır. Proteomik analizler ise bitkilerdeki tüm proteinlerin profillemesini, post-translasyonel modifikasyonları ve protein-protein etkileşimlerini analiz ederek, organizmanın biyolojik işlevlerini ve metabolik süreçlerini anlamaya yardımcı olmaktadır. Bu tür analizler, bitkilerin çevresel faktörlere, özellikle abiyotik (kuraklık, tuzluluk, sıcaklık) ve biyotik (hastalıklar, zararlılar) streslere nasıl yanıt verdiği hakkında ayrıntılı bilgi sağlamakta, bu da bitkilerin stres yönetim mekanizmalarını, uyum sağlama stratejilerini ve adaptasyonlarını daha iyi anlamamıza olanak vermektedir (Park, 2004; Jain ve ark., 2024).

5.3.2. Fenomik Çalışmalar

Fenomik araştırmalar, bitkilerin çevresel koşullara yanıtlarını anlamak için kullanılmaktadır. Bu teknoloji ile bitkilerin dışsal özellikleri, çevresel faktörler ve biyolojik yanıtları hakkında kapsamlı veriler elde edilmektedir. Yeni gen düzenleme teknolojileri ve omik araçlar, bitki ıslahını hızlandırmak ve daha verimli, dirençli bitkiler geliştirmek için büyük bir potansiyel taşımaktadır. CRISPR/Cas9, TALEN, ZFN ve RNAi gibi teknolojiler, daha hassas ve hedeflenmiş genetik değişiklikler yapmayı mümkün kılarken, genomik ve fenomik verilerin entegrasyonu, bitki ıslahında daha doğru ve hızlı sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır. Bu teknolojilerin geliştirilmesi ve uygulamaları, gelecekte tarımsal üretimi daha sürdürülebilir ve verimli hale getirmesinde büyük önem taşımaktadır (Kumari ve ark., 2024).

6. Genomik Araçlar ve Gelişmeler

6.1. Genom Dizi Analizleri ve Temel Prensipleri

Genom dizi analizleri, bir organizmanın tüm genetik materyalini, yani genomunu, ayrıntılı bir şekilde incelemek, haritalamak ve genetik yapısını anlamak amacıyla gerçekleştirilen yüksek teknolojiye dayalı bilimsel çalışmalardır. Bu analizler, organizmanın DNA'sındaki genetik bilgiye ulaşmayı, genetik varyasyonları ve mutasyonları belirlemeyi, ayrıca bu varyasyonların biyolojik süreçler üzerindeki etkilerini anlamayı sağlayarak, organizmanın gelişimsel, fizyolojik ve adaptasyonel özelliklerini daha iyi kavramamıza olanak tanımaktadır. Bitki ıslahında, genom dizi analizleri, genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi, üstün özelliklere sahip genetik kaynakların tespiti ve hedeflenen iyileştirmelerin yapılabilmesi için temel bir araç olarak kullanılmaktadır. Bu analizler, özellikle hastalık direncini artırmak, verimi iyileştirmek, kaliteyi yükseltmek ve çevresel streslere karşı dayanıklılığı geliştirmek gibi ıslah hedeflerine ulaşılmasında kritik bir rol oynamaktadır. Ayrıca, genomik veriler sayesinde, istenilen özellikleri taşıyan bitkilerin seçilmesi ve bu özelliklerin kalıtımını yönlendiren genetik lokusların belirlenmesi, ıslah sürecini hızlandırmak ve verimliliği artırmak için önemli fırsatlar sunmaktadır (Alinizi ve ark., 2024; Amezrou ve ark., 2024).

Genom dizi analizi, temel olarak, bir organizmanın tüm genetik materyalinin sıralanması ve analiz edilmesi sürecidir. Bu süreç, biyoteknoloji, moleküler biyoloji ve bioinformatik alanlarının bir arada çalışmasını gerektirmektedir. Genom dizi analizinin temel aşamaları şu şekildedir.

DNA İzolasyonu: Genom dizi analizi için ilk adım, araştırılan organizmadan yüksek kaliteli ve saf DNA izolasyonudur. Bitkilerden, hayvanlardan veya mikroorganizmalardan DNA izole edilir ve ardından dizileme işlemi için hazır hale getirilir.

Dizi Analizinin Yapılması (Sequencing): DNA'nın dizilenmesi, organizmanın genomunu oluşturan nükleotid sırasının belirlenmesidir. Bu işlem, yüksek verimli dizileme teknolojileri kullanılarak yapılır. Günümüzde en yaygın kullanılan dizileme yöntemleri arasında Sanger dizilemesi ve Yüksek Verimli Dizileme (Next-Generation Sequencing, NGS) yer almaktadır (Garg, 2024).

Sanger dizilemesi: DNA dizilerinin belirlenmesinde kullanılan, 1977 yılında Frederick Sanger ve ekibi tarafından geliştirilmiş, klasik bir dizileme yöntemidir. Bu teknik, DNA'nın belirli bir bölgesinin sıralanmasını sağlamak için dideoksi-nükleotitleri (ddNTP'ler) kullanarak, bir polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile dizilenen DNA'nın sonlandırılmasına dayanmaktadır. Her ddNTP, bir nükleotidin yerini alır ve bu işlem, diziyi okuyan özel bir dedektör ile izlenmektedir. Yüksek doğruluk oranı ve düşük hata payı nedeniyle Sanger dizilemesi, genetik analizlerde ve referans dizilerinin doğruluğunun teyit edilmesinde tercih edilmektedir. Ancak, bu yöntem, genellikle küçük ölçekli projeler ve belirli gen bölgelerinin analizi için uygundur çünkü yüksek maliyetli ve zaman alıcı olabilmektedir. Büyük ölçekli genom dizileme projelerinde, daha hızlı ve daha ekonomik alternatif yöntemler, örneğin, yeni nesil dizileme (NGS) teknolojileri tercih edilmektedir (Mota ve ark., 2024).

Yüksek Verimli Dizileme (Next-Generation Sequencing NGS): Genomik araştırmalarda büyük miktarda veriyi hızlı ve düşük maliyetle elde edebilme kapasitesine sahip ileri düzey bir dizileme teknolojisidir. NGS, paralel dizileme yöntemini kullanarak, milyonlarca DNA parçacığının aynı anda dizilmesini sağlayarak geleneksel Sanger dizilemesi gibi yöntemlere kıyasla büyük bir hız ve verimlilik avantajı sunmaktadır. Bu teknoloji, her bir DNA fragmanının yüzlerce veya binlerce kopyasını aynı anda dizileyerek, yüksek doğrulukla büyük ölçekli genom verisi elde edilmesine imkân tanımaktadır. NGS, DNA dizilerinin derinlikli analizine olanak tanıırken, genetik varyasyonları, mutasyonları, gen ekspresyon seviyelerini (RNA-seq), epigenetik modifikasyonları (ChIP-seq) ve mikrobiyom analizlerini içeren çeşitli uygulamalara imkân vermektedir. Yüksek verimli dizileme, özellikle geniş çaplı genom projeleri, metagenomik analizler ve kişisel genomik araştırmalar gibi alanlarda önemli bir rol oynamaktadır ve bitki ıslahı, hastalık araştırmaları ve biyomedikal uygulamalarda sıklıkla tercih edilen bir teknolojidir (Song ve ark., 2024).

Veri Analizi ve Bioinformatik İşleme: Genom dizisi elde edildikten sonra, bu ham verilerin analiz edilmesi gerekir. Bu aşama, verilerin doğru şekilde yorumlanmasını sağlamak için bioinformatik araçlar kullanmayı gerektirmektedir. Veri analizi, dizilerin hizalanması, genetik varyasyonların tespiti (SNP'ler, INDEL'ler vb.), genetik haritaların oluşturulması ve biyolojik anlamlılıkların belirlenmesini içermektedir (Rajkumar ve ark., 2024).

Genom haritalama, bir organizmanın genomunun belirli bölümlerindeki genetik işlevlerin ve özelliklerin tespit edilmesi amacıyla dizilenmiş DNA verileri üzerinde yapılan ayrıntılı bir analiz sürecidir. Bu işlem, genetik markörlerin, özellikle moleküler markörlerin (örneğin, mikrosatellitler, SNP'ler, AFLP'ler) genom üzerindeki konumlarının belirlenmesini sağlamaktadır. Genetik markörlerin yerlerinin tespiti, genetik özelliklerin fenotipik özelliklerle ilişkilendirilmesine olanak tanımakta, böylece belirli fenotipik karakterlerin arkasındaki genetik temeller daha net bir şekilde ortaya konulabilmektedir. Genom haritalama, QTL analizi gibi yöntemlerle birleştirildiğinde, genetik varyasyonların bitkilerdeki önemli tarımsal özelliklere, örneğin verim, hastalık direnci, çevresel stres toleransı ve kalite gibi fenotipik özelliklere nasıl etki ettiği anlaşılabilir. Ayrıca, genetik ilişki haritaları, bitki ıslahında, özellikle istenilen özelliklerin hızlı bir şekilde seçilmesi ve yeni çeşitlerin geliştirilmesi için kritik bir araç olarak kullanılmaktadır. Bu haritalama işlemi, genetik iyileştirmeler yaparken hedeflenen fenotipik özelliklerin kalıtımını daha iyi yönlendirebilmek adına, genetik çeşitliliğin anlaşılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Ito ve ark., 2024).

6.2. Genom Dizi Analizlerinin Kullanım Alanları

Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi: Genom dizi analizleri, farklı bitki çeşitlerinin genetik çeşitliliğini belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Bu sayede, genetik çeşitliliği yüksek olan bireyler seçilerek, ıslah çalışmalarında kullanılabilir. Ayrıca, endemik bitki türlerinin korunmasında ve genetik kaynaklarının yönetilmesinde de bu analizler önemli bir rol oynamaktadır (Chen ve ark., 2024).

Hastalık Direnci ve Stres Toleransı: Genom dizi analizleri, hastalık direnci genlerinin ve çevresel streslere (kuraklık, soğuk, tuzluluk vb.) karşı dayanıklılığı artıran genetik işaretçilerin tespit edilmesinde kullanılmaktadır. Bu sayede, bitkilerin dayanıklı çeşitlerinin hızlıca geliştirilmesi sağlanabilmektedir. Özellikle, bitki hastalıklarına karşı dayanıklı türlerin geliştirilmesi, gıda güvenliğini artırmak açısından büyük bir önem taşımaktadır (Xu ve ark., 2024).

Verim ve Kalite İyileştirmeleri: Bitkilerin verim ve kalite özelliklerini artırmak amacıyla genom dizi analizlerinden faydalanılmaktadır. Özellikle verim, besin değeri, tat ve renk gibi özelliklerin genetik temelleri

belirlenebilmekte, bu sayede, yüksek verimli ve kaliteli ürünler elde etmek için seleksiyon yapılabilmektedir (Dong ve ark., 2024).

Genetik Markörlerin Kullanımı: Genetik markörler, bir organizmanın genomundaki belirli genetik varyasyonları temsil eden, genetik yapıyı yansıtan biyomoleküler işaretçilerdir. Bu markörler, genom dizi analizleri ve diğer moleküler biyoloji teknikleri ile tespit edilebilmekte ve bitki ıslahında, belirli fenotipik özellikleri taşıyan bireylerin genetik seçilmesine olanak tanımaktadır. Genetik markörler, özellikle istenilen özelliklerin (örneğin, verim, hastalık direnci, çevresel stres toleransı) genetik temellerini izlemek ve bu özellikleri gelecek nesillere aktarmak için kullanılmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), mikrosatellitler (SSRs) ve geniş kapsamlı genetik markör setleri (örneğin, AFLP, RAPD, SSR) bu amaçla sıklıkla tercih edilen markör türleridir. SNP'ler, genetik varyasyonların en yaygın biçimlerinden biri olup, bir nükleotid değişimi ile meydana gelir ve çok hassas bir genetik işaretçi olarak kullanılmaktadır. Mikrosatellitler ise, genetik çeşitliliği yüksek, genetik haritalamada ve ilişkilendirme çalışmalarında yaygın olarak kullanılan kısa tekrarlanan dizilerdir. Genetik markörler aracılığıyla yapılan ilişkilendirme analizi, hedeflenen fenotipik özelliklere sahip bitkilerin hızla ve doğru bir şekilde tespit edilmesini sağlamaktadır. Bu sayede, bitki ıslahı süreçlerinde daha verimli, hızlı ve hedeflenmiş iyileştirmeler yapılabilmektedir (Liang ve ark., 2024).

Evrimsel ve filogenetik araştırmalar, organizmaların evrimsel geçmişlerini, türler arası ilişkilerini ve genetik evrim süreçlerini anlamak amacıyla yapılan bilimsel incelemelerdir. Genom dizi analizleri, organizmaların DNA dizilerini ayrıntılı bir şekilde inceleyerek, türler arasındaki genetik çeşitliliği ve evrimsel ilişkileri anlamada kritik bir araçtır. Bu analizler, bitki türlerinin kökenlerini, evrimsel süreçlerini ve bu süreçler sırasında meydana gelen genetik değişiklikleri belirlemek için kullanılmaktadır. Genom dizi verileri, fosil kayıtları veya morfolojik verilerle desteklenerek, türlerin evrimsel gelişim yolları hakkında daha kapsamlı bilgiler sağlamaktadır. Filogenetik analizler, organizmalar arasındaki ortak ataları ve evrimsel ilişkileri haritalamak amacıyla genetik verileri kullanarak filogenetik ağaçlar oluşturmaktadır. Bu ağaçlar, türler arası evrimsel mesafeleri, genetik benzerlikleri ve farklılaşma süreçlerini daha iyi anlamaya yardımcı olmaktadır. Ayrıca, bu tür analizler, bitkilerin adaptasyon süreçlerini, evrimsel adaptasyonları ve çevresel faktörlere verilen yanıtları incelemekte önemli bir yer tutmaktadır. Filogenetik ağacın oluşturulması,

bitkilerin genetik çeşitliliği ve adaptasyon potansiyellerinin daha iyi değerlendirilmesine imkân tanımakta, böylece ıslah ve koruma stratejileri için sağlam bir bilimsel temel sağlamaktadır (Sun ve ark., 2024; Mao ve ark., 2024). Genetik özelliklerin haritalanması ve QTL analizi, bitki ıslahında genetik temellerin anlaşılması ve istenilen fenotipik özelliklerin geliştirilmesi için kritik bir rol oynar. QTL'ler, karmaşık ve çok genli özelliklerin, örneğin verim, hastalık direnci, çevresel stres toleransı gibi karakterlerin kalıtımını belirleyen genetik bölgeleri ifade etmektedir. Bu analizler, genomik haritalama teknikleri ve moleküler markörlerin kullanımıyla, belirli fenotipik özellikleri etkileyen genetik lokusların tam yerlerini ve bu lokusların etkilerini belirlemeyi amaçlamaktadır. Genom dizi analizleri, bitkilerin genetik materyalini ayrıntılı bir şekilde inceleyerek, QTL'lerin belirlenmesinde güçlü bir araç sağlar. Bu analizler sayesinde, genetik varyasyonları daha hassas bir şekilde tespit edebilmekte ve QTL'lerin genetik etkilerini ölçerek, fenotipik özelliklerin kalıtımını yönlendirebilmektedir. QTL analizi, bitki ıslahında hedeflenen fenotiplerin hızlı ve doğru bir şekilde seçilmesini sağlamaktadır. Genetik haritalama ile belirlenen QTL'ler, istenilen özelliklerin gelişiminde kullanılan seleksiyon stratejilerinin optimize edilmesine olanak tanımaktadır. Bu süreç, özellikle yüksek verimli, hastalıklara dirençli ve çevresel faktörlere dayanıklı bitkilerin yetiştirilmesi için oldukça faydalı olmaktadır. Ayrıca, QTL analizi, ıslah programlarında genetik iyileştirmeleri hızlandıran ve daha hedeflenmiş sonuçlar elde edilmesini sağlayan bir yöntem olarak bitki ıslahçıları tarafından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Asif ve ark., 2024; Tian ve ark., 2024).

6.3. Genom Dizi Analizlerinin Avantajları

Yüksek doğruluk ve hassasiyet, genom dizi analizlerinin en belirgin avantajlarından biridir ve bu özellik, diğer geleneksel genetik analiz yöntemlerine kıyasla belirgin bir üstünlük sağlamaktadır. Genom dizi analizleri, organizmanın tüm genetik materyalini (DNA) ayrıntılı bir şekilde inceleyerek, genetik varyasyonları, mutasyonları ve polimorfizmleri yüksek çözünürlükle tespit edebilmektedir. Özellikle tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), genetik mikro varyasyonları ve diğer yapısal değişikliklerin doğru bir şekilde saptanmasında büyük avantajlar sunmaktadır. Bu yüksek doğruluk, daha önce tespit edilemeyen veya sınırlı çözünürlükle belirlenen genetik varyasyonların ayrıntılı bir şekilde ortaya konmasını sağlamaktadır. Ayrıca, genom dizi analizleri, düşük frekansta bulunan varyasyonları ve heterojen bölgeleri bile hassas bir şekilde belirleyerek, genetik çeşitliliği daha kapsamlı

bir şekilde anlamamıza yardımcı olmaktadır. Bu hassasiyet, özellikle karmaşık özelliklerin (verim, hastalık direnci, stres toleransı vb.) genetik temellerinin anlaşılmasında ve bu özelliklere yönelik ıslah programlarının geliştirilmesinde büyük bir avantaj sunmaktadır. Sonuç olarak, genom dizi analizleri, bitki ıslahında daha hedeflenmiş, hızlı ve doğruluğu yüksek genetik seçim süreçlerinin uygulanmasını mümkün kılmaktadır (Huang ve ark., 2024).

Yüksek verimli dizileme teknolojileri sayesinde, binlerce bitkinin genomu hızla analiz edilebilmektedir. Bu, bitki ıslah süreçlerini hızlandırır ve daha kısa süre içinde sonuç alınmasını sağlamaktadır.

Genom dizi analizleri, organizmanın tüm genetik bilgisini sağlayarak, çok sayıda genetik varyasyonu belirleme imkânı sunmaktadır. Bu, daha kapsamlı ve geniş bir genetik veri tabanının oluşturulmasına olanak tanımaktadır.

Genetik haritalama ve markör tabanlı seleksiyon, bitki ıslahında genetik çeşitliliğin hızla ve etkili bir şekilde yönlendirilmesine olanak tanımaktadır. Genetik haritalama, genom üzerinde belirli genetik markörlerin konumlarını tespit ederek, bu markörlerin fenotipik özelliklerle ilişkisini belirlemeye yönelik bir yöntemdir. Bu süreç, bitkilerin genetik yapıları ile fenotipik özellikleri arasındaki ilişkiyi netleştirir ve istenilen genetik özelliklere sahip bireylerin hızlı bir şekilde seçilmesine olanak tanımaktadır. Marker tabanlı seleksiyon, moleküler markörlerin (örneğin, SNP'ler, mikrosatellitler) kullanılmasıyla gerçekleştirilmekte ve bu markörler, belirli genetik özellikleri taşıyan bireylerin kolayca tanımlanmasını sağlamaktadır. Bu sayede, daha verimli ve dayanıklı bitki çeşitlerinin geliştirilmesi süreci hızlandırılabilir. Markör tabanlı seleksiyon, özellikle karmaşık ve çok genli özelliklerin (örneğin, verim, hastalık direnci, çevresel stres toleransı) iyileştirilmesinde etkili bir araçtır, çünkü genetik varyasyonları fenotipik gözlemlerden çok daha hızlı ve doğrusal bir şekilde tespit edebilmektedir. Bu yöntem, bitki ıslahında zaman ve kaynak tasarrufu sağlarken, aynı zamanda hedeflenen özelliklerin daha hızlı bir şekilde sabitlenmesine olanak tanmaktadır.

Genetik haritalama ve marker tabanlı seleksiyon, sürdürülebilir tarım uygulamaları için genetik olarak optimize edilmiş bitki çeşitlerinin geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Ousmael ve Hansen, 2024; Ramirez-Ramirez ve ark., 2024).

6.4. Genom Dizi Analizlerinin Dezavantajları

Yüksek Maliyet: Genom dizi analizleri, özellikle yüksek verimli dizileme teknolojileri kullanıldığında oldukça maliyetli olup, düşük bütçeli araştırmalar için sınırlı erişilebilirlik söz konusu olabilmektedir.

Veri Yönetimi ve Analizinin Zorluğu: Genom dizi analizlerinden elde edilen büyük veri setlerinin yönetilmesi ve işlenmesi karmaşık olabilmekte, bioinformatik analizler ve uygun yazılım altyapısı gerektirmektedir.

Yüksek Teknolojik Gereksinimler: Genom dizi analizlerinin gerçekleştirilmesi, yüksek teknolojiye sahip laboratuvarlar ve uzmanlık gerektirmektedir. Bu nedenle, küçük ölçekli araştırma projeleri için uygulanabilirlik sınırlı olabilmektedir.

Genom dizi analizleri, bitki ıslahında devrim yaratacak potansiyele sahip güçlü bir araçtır. Genetik çeşitliliğin anlaşılması, verim iyileştirmeleri, hastalık direnci ve çevresel streslere dayanıklılığın artırılması gibi hedeflere ulaşmada önemli bir rol oynamaktadır. Ancak, bu teknolojinin kullanımının daha geniş bir kitleye yayılması için maliyetlerin düşürülmesi ve verilerin yönetimi konusunda iyileştirmeler yapılması gerekmektedir. Genom dizi analizlerinin ilerleyen yıllarda daha da yaygınlaşması ve gelişmesiyle, tarımda daha sürdürülebilir ve verimli üretim sistemlerinin geliştirilmesi beklenmektedir (Abdullayeva, 2024).

6.5. Genomik Seçim (GS)

Genomik Seçim (GS), genetik markörler kullanarak, bitkilerin gelecekteki fenotipik performanslarını tahmin etmeyi amaçlayan, modern bir bitki ıslah teknolojisidir. Bu yaklaşım, bitkilerin genetik özelliklerini belirlemek ve bu bilgileri kullanarak gelecekteki fenotipik performanslarını modellemek için yüksek verimli genetik verilerin analizi üzerine odaklanmaktadır. Genomik seçim, geleneksel fenotipik seleksiyon yöntemlerinin sınırlamalarını aşmayı sağlar, çünkü fenotipik gözlemler genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu zaman alıcı ve bazen belirsiz olabilmektedir. Genomik seçimde, genetik markörler (özellikle SNP'ler ve diğer moleküler markörler) kullanılarak, her bir bitkinin genetik yapısı hakkında ayrıntılı bilgi edinilir ve bu genetik veriler, bitkilerin fenotipik performanslarını tahmin etmek için istatistiksel ve matematiksel modellerle ilişkilendirilir. Bu yöntem, bitki ıslahında daha hızlı, daha hassas ve daha verimli sonuçlar elde edilmesine olanak tanır, çünkü genetik markörler

fenotipik gözlemlerden önce analiz edilebilir, böylece erken seçim yapılabilir. Genomik seçim, büyük ölçekli genetik verilerin toplanmasını, bu verilerin kapsamlı bir şekilde analiz edilmesini ve ıslah programlarına entegre edilmesini içeren bir yaklaşımdır. Bu teknoloji, bitki ıslahı süreçlerini hızlandırarak, verim, kalite, hastalık direnci, çevresel stres toleransı gibi istenilen özelliklerin daha hızlı bir şekilde ıslah edilmesini sağlamaktadır. Ayrıca, genomik seçim, hedeflenen özelliklerin kalıtımını daha doğru bir şekilde tahmin ederek, ıslah programlarında seleksiyon baskısının daha verimli ve hassas bir şekilde uygulanmasını mümkün kılmaktadır (Alemu ve ark., 2024; Gebremedhin ve ark., 2024).

6.5.1. Genomik Seçimin Temel Prensipleri

Genomik seçim, genetik markörlerin fenotipik özelliklerle olan ilişkisini kullanarak hızlı ve doğru seçimler yapmaktadır. Genetik markerler, genetik varyasyonun belirli bir fenotipik özelliği etkileyen kısmı hakkında bilgi vermektedir. Bu işlem, aşağıdaki adımlarla yapılmaktadır.

Genetik Verilerin Toplanması: Bitkilerin genetik verisi, DNA analizleri yoluyla toplanır. Bu aşamada, genetik markerler, genetik varyasyonun haritalandığı yerler olarak seçilmektedir. Bu veriler genellikle SNP'ler gibi tek nükleotid polimorfizmlerinden elde edilmektedir (Sood ve ark., 2024).

Fenotipik Verilerin Toplanması: Genetik verilerin yanı sıra, bitkilerin fenotipik verileri de toplanmaktadır. Bu veriler, bitkilerin tarla koşullarındaki performansları, verim, hastalık direnci, kuraklık toleransı gibi özellikleri içermektedir.

Genomik Seçim Modelinin Kurulması: Genetik ve fenotipik veriler kullanılarak bir model oluşturulmaktadır. Bu model, genetik veriler ile fenotipik özellikler arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Makine öğrenimi algoritmaları ve istatistiksel yöntemler, bu modeli daha doğru ve güvenilir hale getirmek için kullanılmaktadır.

Tahmin ve Seçim: Kurulan genomik seçim modeli, genetik markörler ve fenotipik veriler ışığında, yeni nesillerin fenotiplerini tahmin etmektedir. Bu tahminler, hangi bitkilerin istenilen özelliklere sahip olacağı konusunda bilgi vermekte ve seleksiyon yapılacak bireyler belirlenmektedir (Mota ve ark., 2024; Resende, 2024).

6.5.2. Genomik Seçimin Avantajları

Genomik seçim, geleneksel seleksiyon yöntemlerine kıyasla birçok avantaja sahiptir (Ehoche, 2024; Yadav ve ark., 2024).

Daha Hızlı Seçim: Genomik seçim, bitkilerin fenotipik özelliklerini gözlemlenmek için yıllarca beklemek yerine, erken yaşta (tohumdan ya da fide aşamasından önce) genetik verilerle seçim yapılmasına olanak tanımaktadır. Bu, ıslah sürecini önemli ölçüde hızlandırmaktadır.

İleri Seçim Yapma İmkânı: Genomik seçim, çok daha fazla sayıda bitkinin erken aşamalarda değerlendirilmesini sağlamaktadır. Bu sayede, az sayıda örnekle doğru seçimler yapılabilir ve genetik çeşitlilik korunmaktadır.

Daha Yüksek Hassasiyet: Fenotipik veriler, çevresel faktörlerden etkilenebilmektedir. Genetik markörler, çevresel etmenlerden bağımsız olarak genetik varyasyonu yakalayabilme gücüne sahiptir. Bu, seleksiyonun doğruluğunu artırmaktadır.

Çevresel Etkilerden Bağımsız Seçim: Genomik seçim, çevresel koşulların fenotipik özellikler üzerindeki etkilerini minimize etmektedir. Fenotipik özelliklerin yalnızca genetik temelini dikkate alarak, daha güvenilir seçimler yapılmaktadır.

Çoklu Özellik Seçimi: Genomik seçim, birden fazla özelliğin aynı anda seçilmesine olanak tanmaktadır. Örneğin, verim ve hastalık direncinin aynı anda artırılması, genomik seçimle mümkündür.

6.5.3. Genomik Seçimin Dezavantajları

Genomik seçim, çok sayıda avantaj sunmasına rağmen, bazı sınırlamalara da sahiptir.

Yüksek Başlangıç Maliyeti: Genetik verilerin toplanması ve analiz edilmesi, oldukça pahalı olabilmektedir. Yüksek kaliteli DNA analizleri ve genetik markerlerin belirlenmesi, başlangıç maliyetlerini artırmaktadır.

Modelin Güvenilirliği: Genomik seçim modeli, genetik ve fenotipik verilerin doğru bir şekilde ilişkilendirilmesine dayanmaktadır. Eğer model yanlış kurulmuşsa veya eksik veri varsa, tahminler yanıltıcı olabilmektedir.

Genetik Kaynakların Yetersizliği: Eğer bitki popülasyonunda yeterli genetik çeşitlilik yoksa, genomik seçim başarılı olmayabilir. Ayrıca, mevcut genetik çeşitliliğin doğru şekilde haritalanması önemlidir.

Çevresel Etkiler ve Genetik-Çevre Etkileşimi: Genomik seçim, çevresel faktörlerin ve genetik-çevre etkileşimlerinin etkisini tam olarak yakalayamayabilmektedir. Özellikle çevresel koşullara karşı duyarlı özelliklerde, genomik seçim zorluklar yaratabilmektedir.

6.5.4. Genomik Seçim ve Tarım Uygulamaları

Genomik seçim, özellikle tarımda büyük bir potansiyele sahiptir. Tarımda genomik seçimin kullanıldığı başlıca alanlar şunlardır.

Kuraklık ve Su Stresi Toleransı: Kuraklık gibi çevresel streslere karşı dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi, genomik seçimle hızlandırılabilmektedir. Genetik markörler kullanılarak, su stresine dayanıklı genotipler erken yaşlarda seçilebilmektedir.

Verim Artışı: Genomik seçim, yüksek verimli bitkilerin hızlı bir şekilde seçilmesini sağlamaktadır. Bu, gıda üretiminin artırılması açısından önem taşımaktadır.

Hastalık ve Zararlılara Karşı Direnç: Genomik seçim, hastalık ve zararlılara karşı dirençli bitkilerin geliştirilmesinde de etkili olmaktadır. Genetik markörler kullanılarak, hastalık direnci taşıyan bitkiler erken aşamalarda tespit edilebilmektedir.

Besin Değeri ve Kalite İyileştirmeleri: Genomik seçim, bitkilerin besin değerlerini artırmaya yönelik ıslah çalışmalarında da kullanılmaktadır. Genetik markörler sayesinde, daha besleyici ürünler geliştirmek mümkün olmaktadır.

Sera Koşullarında Yetiştirme: Sera tarımında, bitkilerin çevresel streslere dayanıklılığını artırmak için genomik seçim teknikleri kullanılabilir. Bu, daha verimli ve sürdürülebilir sera üretimi sağlamaktadır.

Genomik seçim, bitki ıslahında devrim niteliğinde bir yöntemdir ve tarımsal verimliliği artırma, çevresel streslere dayanıklılığı yükseltme ve daha sağlıklı, besleyici ürünler elde etme hedeflerine ulaşmada büyük bir potansiyele sahiptir. Ancak, yüksek maliyetler, genetik çeşitlilik eksiklikleri

ve çevresel etkilerin hesaba katılması gibi bazı sınırlamalar da göz önünde bulundurulmalıdır. Gelecekte, genomik seçimin daha geniş bir şekilde kullanılabilmesi için bu sınırlamaların aşılması ve teknolojinin daha erişilebilir hâle gelmesi beklenmektedir (Singh, 2024; Nazzicari ve ark., 2024).

KAYNAKÇA

- Abdullayeva, A. (2024). Analysis of the role of molecular marker technologies in the research of genetic diversity of plants. *Nature & Science/Təbiət və Elm*, 6(7).
- Alemu, A., Astrand, J., Montesinos-Lopez, O.A., y Sanchez, J.I., Fernandez-Gonzalez, J., Tadesse, W., ... Chawade, A. (2024). Genomic selection in plant breeding: Key factors shaping two decades of progress. *Molecular Plant*.
- Ali, A., Altaf, M.T., Nadeem, M.A., Karaköy, T., Shah, A.N., Azeem, H., Baloch, F.S., Baran, N., Hussain, T., Duangpan, S., Aasim, M., Boo, K.H., Abdelsalam, N.R., Hasan, M.E., Chung, Y.S. (2022). Recent advancement in OMICS approaches to enhance abiotic stress tolerance in legumes. *Frontiers in Plant Science*, 13: 952759.
- Alinizi, H.R., Moradi, Z., Mehrvar, M. (2024). Genome sequence analysis of two recombinant isolates of watermelon mosaic virus from Iran and Iraq. *Journal of Plant Pathology*, 1-7.
- Altaf, M.T., Bedir, M., Liaqat, W., Cömertpay, G., Çatalkaya, V., del Cueto, J., Hermans, C., Barutçular, C., Çoban, N., Cerit, İ., Nadeem, M.,A., Karaköy, T., Baloch, F.S. (2023). Natural genotypic variation in response to soil resources limitation and whole genome sequencing for GWAS in sorghum. In *PAG Australia*, PAG.
- Amezrou, R., Ducasse, A., Compain, J., Lapalu, N., Pitarch, A., Dupont, L., ... & Marcel, T.C. (2024). Quantitative pathogenicity and host adaptation in a fungal plant pathogen revealed by whole-genome sequencing. *Nature Communications*, 15(1): 1933.
- Asif, S., Kim, N., Jan, R., Asaf, S., Farooq, M., Khan, W., ... & Kim, K.M. (2024). Determining arsenic stress tolerance genes in rice (*Oryza sativa* L.) via genomic insights and QTL mapping with double haploid lines. *Plant Physiology and Biochemistry*, 214: 108941.
- Baloch, F.S., Altaf, M.T., Bedir, M., Nadeem, M.A., Tatar, M., Karaköy, T., Aasim, M. (2023b). iPBS-retrotransposons variations: DNA fingerprinting and the evaluation of genetic diversity and population structure in international cowpea germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 70(6): 1867-1877.
- Baloch, F.S., Altaf, M.T., Liaqat, W., Bedir, M., Nadeem, M.A., Cömertpay, G., Çoban, N., Habyarimana, E., Barutçular, C., Cerit, I., Ludidi, N., Karaköy, T., Aasim, M., Chung, Y. S., Nawaz, M.A., Hatipoğlu, R.,

- Kökten, K. Sun, H.J. (2023a). Recent advancements in the breeding of sorghum crop: current status and future strategies for marker-assisted breeding. *Frontiers in Genetics*, 14: 1150616.
- Baloch, F.S., Guizado, S.J.V., Altaf, M.T., Yüce, I., Çilesiz, Y., Bedir, M., ... Gómez, J.C.C. (2022). Applicability of inter-primer binding site iPBS-retrotransposon marker system for the assessment of genetic diversity and population structure of Peruvian rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) germplasm. *Molecular Biology Reports*, 1-12.
- Barut, M., Nadeem, M.A., Karaköy, T., Baloch, F.S. (2020). DNA fingerprinting and genetic diversity analysis of world quinoa germplasm using iPBS-retrotransposon marker system. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(5).
- Bretting, P.K., Widrechner, M.P. (1995). Genetic markers and plant genetic resource management. *Plant Breeding Reviews*, 13: 11-86.
- Chen, W., Wang, Z., Xu, W., Hu, Y. (2024). Genome sequence of *Leclercia adecarboxylata* QDSM01 with multiple plant growth promoting properties. *Plant Growth Regulation*, 102(2): 445-459.
- Çilesiz, Y. (2023). Türkiye'nin farklı yörelerinden toplanan fasulye gen kaynaklarında, a vitamini ile ilişkili genotipik çeşitliliğin ve DARtseq markörlerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Dong, B., Liu, W., Zhao, Y., Quan, W., Hao, L., Wang, D., ... & Hao, J. (2024). Genome sequencing and comparative genomic analysis of attenuated strain *Gibberella fujikuroi* GbVn. 1 causing mild wilt in sunflower. *Journal of Fungi*, 10(12): 838.
- Ehoche, G., Arojju, S., Jahufer, Z., Jauregui Sandoval, R., Larking, A., Cousins, G., ... & Griffiths, A. (2024). Genomic selection shows improved expected genetic gain over phenotypic selection of agronomic traits in allotetraploid white clover.
- Farooq, A., Khan, U.M., Khan, M.A., Ali, Z., Maqbool, R., Sajjad, M. (2024). Male sterility systems and their applications in hybrid wheat breeding. *Cereal Research Communications*, 52(1): 25-37.
- Garg, S., Nain, P., Kumar, A., Joshi, S., Punetha, H., Sharma, P. K., ... & Mittal, A. (2024). Next generation plant biostimulants & genome sequencing strategies for sustainable agriculture development. *Frontiers in Microbiology*, 15: 1439561.
- Gebremedhin, A., Li, Y., Shunmugam, A.S., Sudheesh, S., Valipour-Kahrood, H., Hayden, M.J., ... & Kaur, S. (2024). Genomic selection for target

- traits in the Australian lentil breeding program. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1284781.
- Gezeljeh Ali, S., Darvishzadeh, R., Ebrahimi, A., Bihamta, M.R. (2018). Identification of SSR and retrotransposon-based molecular markers linked to morphological characters in oily sunflower (*Helianthus annuus* L.) under natural and water-limited states. *Journal of Genetics*, 97(1): 189-203.
- Huang, P.H., Wang, T.R., Li, M., Fang, O.Y., Su, R.P., Meng, H.H., ... & Li, J. (2024). Different reference genomes determine different results: Comparing SNP calling in RAD-seq of *Engelhardia roxburghiana* using different reference genomes. *Plant Science*, 344: 112109.
- Ito, M., Ohashi, H., Takemoto, M., Muto, C., Seiko, T., Noda, Y., ... & Naito, K. (2024). Single candidate gene for salt tolerance of *Vigna nakashimae* (Ohwi) Ohwi & Ohashi identified by QTL mapping, whole genome sequencing and triplicated RNA-seq analyses. *Breeding Science*, 74(2): 93-102.
- Jain, A., Sarsaiya, S., Singh, R., Gong, Q., Wu, Q., & Shi, J. (2024). Omics approaches in understanding the benefits of plant-microbe interactions. *Frontiers in Microbiology*, 15: 1391059.
- Karaköy, T., Toklu, F., Karagöl, E.T., Uncuer, D., Çilesiz, Y., Ali, A., ... & Özkan, H. (2024). Genome-wide association studies revealed DArTseq loci associated with agronomic traits in Turkish faba bean germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(1): 181-198.
- Kumari, R., Saha, T., Kumar, P., Singh, A.K. (2024). CRISPR/Cas9-mediated genome editing technique to control fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in crop plants with special reference to maize. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 30(7): 1161-1173.
- Liang, R., Zhou, S., Li, J., Huang, H. (2024). Genome-wide discovery of polymorphic simple sequence repeat (SSR) markers through comparative analysis of closely related hami melon cultivars. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-13.
- Mao, C., Rao, R., Lei, Q., Chen, W., Yue, L. (2025). Complete chloroplast genome sequence of *Buchanania latifolia*: genome structure, and phylogeny of basal Anacardiaceae family relationships. *Brazilian Journal of Botany*, 48(1): 1-14.
- Mart, D., Anlarsal, A.E., Yücel, D., Türkeri, M., Öktem, A.G., Cankaya, N., Karaköy, T., Dumlu, S. (2016). Nohutta ascochyta yanıklığı

- etmeninin popülasyon karakterizasyonu ve moleküler işaretleyiciler kullanılarak bu etmene karşı dayanıklı genotiplerin araştırılması.
- Mota, A.P.Z., Dossa, K., Lechaudel, M., Cornet, D., Mournet, P., Santoni, S., ... & Chair, H. (2024). Whole-genome sequencing and comparative genomics reveal candidate genes associated with quality traits in *Dioscorea alata*. *BMC genomics*, 25(1): 248.
- Nadeem, M.A., Guizado, S.J.V., Shahid, M.Q., Nawaz, M.A., Habyarimana, E., Ercişli, S., Ali, F., Karaköy, T., Aasim, M., Hatipoğlu, R., Gómez, J.C.C., Aguila, J.L.M., Julca, P.M.A., Canales, ET., Yang, S. H., Chung, G., Baloch, F.S. (2021a). In-Depth genetic diversity and population structure of endangered peruvian amazon rosewood germplasm using genotyping by sequencing (GBS) technology. *Forests*, 12(2): 197.
- Nadeem, M.A., Yeken, M.Z., Shahid, M.Q., Habyarimana, E., Yılmaz, H., Alsaleh, A., ... Baloch, F.S. (2021c). Common bean as a potential crop for future food security: an overview of past, current and future contributions in genomics, transcriptomics, transgenics and proteomics. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1): 759–787.
- Nadeem, MA., Habyarimana, E., Karaköy, T., Baloch, F.S. (2021b). Genetic dissection of days to flowering via genome-wide association studies in Turkish common bean germplasm. *Physiology and Molecular Biology of Plants: an International Journal of Functional Plant Biology*, 27(7): 1609–1622.
- Nazzicari, N., Franguelli, N., Ferrari, B., Pecetti, L., Annicchiarico, P. (2024). The effect of genome parametrization and snp marker subsetting on genomic selection in autotetraploid alfalfa. *Genes*, 15(4): 449.
- Ousmael, K.M., Hansen, O.K. (2024). From phylogenomics to breeding: Can universal target capture probes be used in the development of SNP markers for kinship analysis?. *Applications in Plant Sciences*, e11624.
- Park, O.M.K. (2004). Proteomic studies in plants. *Bmb Reports*, 37(1): 133-138.
- Pikaard, C.S. Scheid, O.M. (2014). Epigenetic regulation in plants. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(12): a019315.
- Rajkumar, A., Dash, T.K., Bhattacharya, S., Singh, S. (2024). Bioinformatic in plant breeding. *Amalgamation of Recent Efforts in Plant Breeding and Biotechnology*, 63.

- Ramirez-Ramirez, A.R., Bidot-Martínez, I., Mirzaei, K., Rasoamanalina Rivo, O.L., Menéndez-Grenot, M., Clapé-Borges, P., ... & Bertin, P. (2024). Comparing the performances of SSR and SNP markers for population analysis in *Theobroma cacao* L., as alternative approach to validate a new ddRADseq protocol for cacao genotyping. *Plos One*, 19(5): e0304753.
- Resende, R.T. (2024). Balancing genomic selection efforts for allogamous plant breeding programs. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 1-10.
- Samadia, D.K. (2005). Genetic variability studies in Lasora (*Cordia myxa* Roxb.). *Indian Journal of Plant Genetic Resources*, 18(03): 236-240.
- Saran, P.L., Patel, R.B. (2021). Field marker character for essential oil content in green herbage through leaf colour intensity in holy basil (*Ocimum sanctum* L.). *Vegetos*, 34(4): 889-897.
- Sellamuthu, G., Chakraborty, A., Vetukuri, R.R., Sarath, S., Roy, A. (2024). RNAi-biofungicides: a quantum leap for tree fungal pathogen management. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1-28.
- Shimira, F., Boyaci, H.F., Çilesiz, Y., Nadeem, M.A., Baloch, F.S., Taşkin, H. (2021). Exploring the genetic diversity and population structure of scarlet eggplant germplasm from Rwanda through iPBS-retrotransposon markers. *Molecular Biology Reports*, 48(9): 6323-6333.
- Singh, S.K. (2024). Molecular plant breeding: achievements and opportunities. In *th Souvenir for 4 National Conference*, p. 28.
- Song, B., Buckler, E.S., Stitzer, M.C. (2024). New whole-genome alignment tools are needed for tapping into plant diversity. *Trends in Plant Science*, 29(3): 355-369.
- Sood, S., Bhardwaj, V., Mangal, V., Kumar, A., Singh, B., Dipta, B., ... & Singh, B. (2024). Genome-wide association mapping to identify genetic loci governing agronomic traits and genomic prediction prospects in tetraploid potatoes. *Scientia Horticulturae*, 328: 112900.
- Sun, N., Chen, J., Wang, Y., Hussain, I., Lei, N., Ma, X., ... & Yu, X. (2024). Development and utility of SSR markers based on Brassica sp. whole-genome in triangle of U. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1259736.
- Tang, Q., Khvorova, A. (2024). RNAi-based drug design: considerations and future directions. *Nature Reviews Drug Discovery*, 23(5): 341-364.
- Tian, Z., Wang, X., Dun, X., Zhao, K., Wang, H., Ren, L. (2024). An integrated QTL mapping and transcriptome sequencing provides

- further molecular insights and candidate genes for stem strength in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 137(2): 38.
- van Houten, W., van Raamsdonk, L., Bachmann, K. (1994). Intraspecific evolution of *Microseris pygmaea* (*Asteraceae*, *Lactuceae*) analyzed by cosegregation of phenotypic characters (QTLs) and molecular markers (RAPDs). *Plant Systematics and Evolution*, 190: 49-67.
- Xu, Y., Liu, Y., Wang, Y., Liu, Y., Zhu, G. (2024). Whole-genome sequencing and genome annotation of pathogenic *elsinoë* batatas causing stem and foliage scab disease in sweet potato. *Journal of Fungi*, 10(12): 882.
- Yadav, S., Ross, E.M., Wei, X., Liu, S., Nguyen, L.T., Powell, O., ... & Hayes, B.J. (2024). Use of continuous genotypes for genomic prediction in sugarcane. *The Plant Genome*, 17(1): e20417.
- Yang, Y., Saand, M.A., Huang, L., Abdelaal, W.B., Zhang, J., Wu, Y., ... & Wang, F. (2021). Applications of multi-omics technologies for crop improvement. *Frontiers in Plant Science*, 12: 563953.

BÖLÜM 5

MOLEKÜLER MARKÖRLERİN ABİYOTİK STRES KOŞULLARINA UYGUN BİTKİ ISLAHI ÇALIŞMALARINDA KULLANIMI

Arş. Gör. Melike KAYA¹
Prof. Dr. Tolga KARAKÖY²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14579992>

¹Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E-mail: mkaya@sivas.edu.tr, Orcid ID: 0009-0001-1606-0134.

²Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E- mail: tolgakarakoy73@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0002-5428-190.

1. Moleküler Markör Türleri

Moleküler markörler, bitkilerin genetik yapısındaki polimorfizmleri tespit etmek için kullanılan güçlü araçlardır. Bu markörler, abiyotik stres koşullarına dayanıklılığı sağlayan genetik varyasyonları belirlemede ve bu varyasyonları bitki ıslahında kullanmada büyük bir rol oynar. Buğdayda, farklı moleküler markör türleri, hem genetik haritalama hem de dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Uysal ve Devran, 2024).

1.1. RAPD

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), genetik çeşitliliği belirlemek ve markör keşfi yapmak için kullanılan hızlı, basit ve etkili bir moleküler biyoloji tekniğidir. 1990'ların başında Williams ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu yöntem, özellikle genetik analizlerde yerel genetik çeşitlilik ve polimorfizm tespiti için önemli bir araç haline gelmiştir. RAPD, karmaşık genomları hedef alırken dahi düşük maliyetle hızlı sonuçlar verebilmesiyle öne çıkar.

RAPD, DNA'nın rastgele bölgelerinden elde edilen PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ürünleriyle analiz edilen bir yöntemdir. RAPD tekniği, genetik markörler elde etmek için hiçbir önceden bilinen DNA dizisine ihtiyaç duymaz. Bu nedenle, genomik verinin oldukça az olduğu türlerde bile rahatlıkla kullanılabilir (Alhasnawi ve ark., 2024).

RAPD tekniği, özellikle primerlerin belirli bölgeleri tanıyarak DNA'nın kısa ve spesifik fragmentlerini çoğaltmasını sağlar. Temel aşamalar şu şekildedir:

DNA İzolasyonu: İlk adımda, çalışılan organizmadan genomik DNA izole edilir. Bu DNA, bitki, hayvan veya mikroorganizmalar olabilir.

Rastgele Primer Seçimi: RAPD'de kullanılan primerler, çok kısa (genellikle 10 baz uzunluğunda) ve rasgele dizilerden oluşur. Bu primerler, DNA'nın rastgele yerlerinde bağlanır ve DNA'yı çoğaltır. RAPD'de, primerler tamamen rastgele diziler olduğu için, hedeflenen dizilerin bulunduğu bölgelere tam uyumlu olma zorunluluğu yoktur.

PCR Amplifikasyonu: Rastgele primerlerin DNA'da hedef yerlerine bağlanması sonucunda, PCR ile amplifikasyon yapılır. Bu işlemde, sadece

primerin bağlandığı bölgelerdeki DNA fragmentleri çoğaltılır. PCR sırasında primerlerin bağlandığı genetik bölgeler arasındaki DNA parçaları seçilerek çoğaltılır.

Elektroforez ile Görselleştirme: PCR sonrası, DNA fragmentleri agaroz jel elektroforezi ile ayrılır ve analiz edilir. Bu işlemde farklı uzunluktaki PCR ürünleri (bantlar) görünür hale gelir. Bantların varlığı ve uzunluğu, genetik polimorfizmleri temsil eder. Bu bantlar, bireyler arasındaki genetik farkları gösterir (Khadivi ve ark., 2024).

1.1.1. RAPD'nin Avantajları

RAPD tekniği, pek çok avantaja sahip olup, genetik çeşitlilik araştırmalarında geniş bir uygulama alanı sunmaktadır (Doveri, 2024).

Hızlı ve Basit Uygulama: RAPD, birçok genetik analizde hızlı ve etkili sonuçlar sağlayan basit bir tekniktir. Geleneksel genetik analiz yöntemlerine göre daha az zaman ve laboratuvar materyali gerektirir. PCR amplifikasyonu, kısa sürede sonuç elde edilmesine olanak tanır.

Bilinen Dizilere Gereksinim Yoktur: RAPD'nin en büyük avantajlarından biri, hedeflenen DNA dizilerinin önceden bilinmesine gerek olmamasıdır. Bu, genomik verisi sınırlı olan türlerde dahi RAPD tekniğinin uygulanabilmesini sağlar. Bu sayede, bilinmeyen türler veya genetik olarak az çalışılmış organizmalar üzerinde de kullanıma olanak tanır.

Yüksek Polimorfizm: RAPD, genomun geniş bir bölgesinden polimorfizm tespit edilmesini sağlar. Primerlerin rastgele diziler olması, genetik varyasyonu tespit etme yeteneğini artırır. Bu, özellikle geniş popülasyonlarda genetik farklılıkların ortaya konması açısından önemlidir.

Düşük Maliyet: RAPD, genetik analizlerde düşük maliyetli bir yöntemdir. PCR ve elektroforez gibi temel biyoteknolojik tekniklerle yapılabildiği için pahalı ekipmanlar ve yüksek düzeyde teknolojik altyapıya gerek duymaz.

1.1.2. RAPD'nin Dezavantajları

RAPD'nin bazı sınırlamaları ve zorlukları da vardır. Bu sınırlamalar, tekniğin belirli durumlarda verimliliğini ve doğruluğunu etkileyebilir (Ramesh, 2020).

Tekrarlanabilirlik Sorunları: RAPD tekniği, bazen düşük tekrarlanabilirlik gösterebilir. Aynı koşullar altında yapılan farklı deneyler arasında elde edilen sonuçlar tutarsız olabilir. Bu durum, primerlerin bağlanma yerlerindeki küçük farklılıklar nedeniyle PCR amplifikasyonunda dalgalanmalara yol açabilir. Bu nedenle, RAPD'nin güvenilir sonuçlar verebilmesi için titiz deneysel koşullar gereklidir.

Genetik Duyarlılık ve Hedef Seçiciliği: RAPD'nin sağladığı polimorfizm, belirli genom bölgelerine özgü olamayabilir. Yani, primerlerin bağlandığı bölgeler, farklı organizmalarda benzer olabilir ve bu da genetik varyasyonların doğru bir şekilde izlenmesini zorlaştırabilir. Ayrıca, bazı organizmalarda yeterli polimorfizm sağlanamayabilir, bu da düşük genetik çeşitlilik içeren popülasyonlarda sorun oluşturur.

Veri Analizindeki Zorluklar: RAPD sonuçları, genellikle oldukça karmaşıktır ve büyük veri setlerinin analizi zaman alıcı olabilir. Elektroforez bantları arasındaki küçük farkları doğru bir şekilde yorumlamak ve doğru genetik ilişkiyi çıkarmak için gelişmiş biyoinformatik analizlere ihtiyaç duyulabilir.

Genetik Haritalamada Kullanılabilirlik: RAPD'nin en büyük sınırlamalarından biri, genetik haritalama çalışmalarında kullanımının zorluğudur. Çünkü RAPD markörlerinin, genetik haritalama için yeterince güvenilir ve kalıcı olamayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, RAPD tekniği, bazı lokusları tespit etmekte zorluk yaşayabilir, bu da genetik harita oluşturma sürecini zorlaştırabilir.

1.1.3. RAPD'nin Uygulama Alanları

RAPD tekniği, genetik çeşitliliği araştırmak, türler arası ilişkileri incelemek, hibridleri tespit etmek, genetik haritalama ve marker-assisted selection (MAS) gibi birçok biyolojik ve tarımsal uygulamada kullanılmaktadır (Younis ve ark., 2020).

1.1.3.1. Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi

RAPD, bitkiler ve hayvanlar gibi organizmalarda genetik çeşitliliği belirlemek için sıklıkla kullanılır. Çeşitli popülasyonlar arasındaki genetik farklılıklar, RAPD markörleri ile tespit edilebilir. Bu, doğal kaynakların korunması ve biyolojik çeşitliliğin yönetilmesi için önemlidir.

1.1.3.2. Bitki Islahında ve Marköre Destekli Seçim

RAPD, ıslah çalışmalarında, genetik çeşitliliği artırmak ve istenilen özelliklere sahip bireyleri seçmek için kullanılabilir. Özellikle marker-assisted selection (MAS) programlarında, RAPD markörleri ile istenilen fenotipik özelliklere sahip bitkilerin seçilmesi sağlanabilir.

1.1.3.3. Türler Arası İlişkilerin İncelenmesi

RAPD, türler arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde de kullanılır. Genetik çeşitlilik ile ilgili bilgi sağlayarak, evrimsel ilişkileri ve türlerin soy kütüğü üzerindeki etkileri anlamaya yardımcı olabilir.

1.1.3.4. Hibrid Tespiti

RAPD, hibrid bireylerin belirlenmesinde de etkili bir araçtır. Özellikle, iki farklı türün melezleşmesi sonucu ortaya çıkan genetik profillerin incelenmesi, hibridlerin doğruluğunu belirlemek için kullanılabilir. RAPD, genetik çeşitliliği hızlı bir şekilde belirlemek ve polimorfizmi tespit etmek için oldukça etkili bir yöntemdir. Ancak, bazı sınırlamaları ve düşük tekrarlanabilirlik sorunları göz önünde bulundurulmalıdır. Yine de, düşük maliyetli ve pratik bir çözüm sunması nedeniyle, genetik analizlerde geniş çapta kullanılabilir. Özellikle bitki ve hayvan ıslahı, türler arası ilişkiler ve genetik çeşitlilik çalışmalarında, RAPD önemli bir moleküler markör aracı olarak kullanılmaktadır (Rai, 2023).

1.2. SSR

SSR (Simple Sequence Repeats), aynı zamanda Mikrosatellitler veya Short Tandem Repeats (STR) olarak da bilinir, genomda kısa, tekrarlanan DNA dizileridir. Bu diziler, belirli bir motifin (örneğin, "AT" veya "CAG") birkaç kez tekrarlanmasıyla oluşur ve bu tekrarlamalar, genetik çeşitliliğin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. SSR'ler, genetik markör olarak, özellikle bitki ve hayvan ıslahı, genetik haritalama, soy kütüğü analizi ve popülasyon genetiği gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılır (Oliveira ve ark., 2023; Li ve ark., 2024) SSR'ler, genetik haritalama, popülasyon genetiği ve ıslah çalışmaları için faydalı olan çok sayıda özelliğe sahiptir:

Kısa DNA Dizileri: SSR'ler genellikle 1-6 baz uzunluğunda motiflerden oluşur (örneğin, "CA", "AAT" veya "GATA"). Bu kısa diziler, hızlı ve doğru analizler için ideal hale gelir.

Yüksek Polimorfizm: SSR'ler, farklı bireyler arasında farklı tekrar sayıları ile karakterizedir. Bu polimorfizm, SSR'lerin çok etkili genetik markörler olmasını sağlar.

Yerel Genetik Farklılıkların Tespiti: Bu markörler, özellikle yerel genetik farklılıkları tespit etmek için oldukça faydalıdır. Genetik çeşitliliği belirlemek ve genetik haritalar oluşturmak için kullanılır.

Genomun Geniş Bir Bölgesinde Dağılım: SSR'ler, tüm genom boyunca yaygın olarak bulunur. Bu, farklı kromozomlarda birden fazla SSR markörü kullanılarak, daha ayrıntılı ve güvenilir genetik haritalar elde edilmesine olanak sağlar.

Kalıtım: SSR'ler Mendel genetiğine tabidir ve kalıtımla taşınırlar, bu da onları genetik analizlerde güvenilir hale getirir.

1.2.1. SSR'nin Çalışma Prensipleri

SSR analizi, genetik materyalin belirli bölgelerinin, yani tekrarlanan DNA dizilerinin amplifikasyonuna dayalı bir tekniktir. Aşağıda SSR'nin temel adımları yer almaktadır (Yin ve ark., 2023):

DNA İzolasyonu: Çalışmak istenilen organizmadan genomik DNA izole edilir. SSR analizi, genetik analiz yapılacak her türlü organizmadan DNA örnekleri ile gerçekleştirilebilir.

Primer Tasarımı: SSR'lerin özelliklerine göre uygun primerler tasarlanır. Her primer, SSR bölgesinin hemen çevresindeki sabit dizilere bağlanacak şekilde tasarlanır. Primerler, genetik varyasyonları tespit etmek için çok önemlidir.

PCR Amplifikasyonu: Tasarlanan primerlerle, hedef SSR bölgeleri PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile çoğaltılır. Bu adımda, her bireyden alınan DNA örneklerinde, belirli SSR markörleri amplifiye edilir.

Elektroforez ile Ayrım: PCR ile çoğaltılan DNA fragmanları, genellikle agaroz jel elektroforezi ile ayrılır. Farklı tekrar sayısına sahip fragmentler farklı uzunluklara sahiptir, bu yüzden elektroforezde farklı bantlar olarak görünürler.

Veri Analizi: Ayrılan bantlar arasında polimorfizm gözlemlenir. Bantların varlığı ve uzunluğu, analiz edilen bireylerin genetik çeşitliliği

hakkında bilgi verir. Bu, farklı bireylerin genetik profilinin çıkarılmasına yardımcı olur.

1.2.2. SSR'lerin Avantajları

SSR'ler, genetik analizlerde kullanılan en yaygın markörlerden biridir ve birçok avantaj sunar (Doveri ve ark., 2024):

Yüksek Polimorfizm ve Duyarlılık: SSR'ler, yüksek polimorfizm gösterir ve genetik çeşitliliği hassas bir şekilde tespit edebilir. Bu, özellikle genetik haritalama ve varyasyon analizlerinde faydalıdır. Küçük varyasyonlar bile SSR ile tespit edilebilir, bu da SSR'lerin hassas bir araç olmasını sağlar.

Çift Allelik Doğası: SSR'ler, çift allelik (biri anneden, biri babadan) bir kalıtım düzenine sahip olduğu için, heterozigotluk ve homozigotluk durumları açıkça görülebilir. Bu durum, genetik çeşitliliğin ve eşeyli üremenin değerlendirilmesinde faydalıdır.

Yüksek Tekrarlanabilirlik ve Güvenilirlik: SSR'ler, yüksek tekrarlanabilirlik ve güvenilirlik sağlar. Bu, genetik analizlerde, özellikle popülasyon genetiği ve ıslah çalışmalarında güvenilir sonuçlar elde edilmesine olanak tanır.

Çeşitli Uygulama Alanları: SSR'ler, bitki ıslahı, hayvan ıslahı, genetik haritalama, türler arası ilişkilerin belirlenmesi, soyağaçları analizi ve marker-assisted selection (MAS) gibi pek çok alanda kullanılabilir. Bunun dışında, mikroorganizmalarda genetik çeşitlilik çalışmaları için de kullanılabilirler.

Genetik Haritalamada Güçlü Performans: SSR markörleri, genetik haritalama çalışmalarında sıklıkla kullanılır. Bu markörler, genetik çeşitliliğin haritalanmasında ve genetik bağlantıların belirlenmesinde oldukça etkilidir. Genetik mesafe hesaplamaları ve bireyler arasındaki ilişkilerin analizi, SSR'ler kullanılarak yapılabilir (Liu ve ark., 2018; Pelegrines ve Almeida, 2018).

1.2.3. SSR'lerin Dezavantajları

SSR'ler, genetik analizlerde güçlü bir araç olmakla birlikte, bazı sınırlamaları da vardır (Doveri ve ark., 2024):

Yüksek Maliyet: SSR analizi, diğer moleküler markörlere göre genellikle daha pahalıdır. Çünkü SSR'lerin tasarımında kullanılan özel

primerler ve PCR işlemleri daha maliyetli olabilir. Ayrıca, elektroforez ve genetik analiz için daha fazla laboratuvar altyapısı gerekebilir.

Teknik Zorluklar: SSR'lerin amplifikasyonu, bazen teknik zorluklar oluşturabilir. Özellikle karmaşık ve büyük genomlara sahip organizmalarda, SSR'ler bazen güçlükle amplifiye edilebilir. Ayrıca, bazı SSR lokusları tek bir organizma türü üzerinde bulunmayabilir.

Genetik Haritalama ve Markör Destekli Seleksiyon (MAS) Uygulamalarında Zorluklar: Bazı SSR markörleri, genetik haritalamada çok fazla rekombinasyon göstererek analizlerde belirsizliklere neden olabilir. Ayrıca, marker-assisted selection (MAS) gibi uygulamalarda, SSR markörlerinin her zaman istenen özelliklerle doğrudan ilişkili olmayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

1.2.4. SSR'nin Uygulama Alanları

SSR'ler, geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir ve biyoteknoloji, tarım ve genetik araştırmalarında sıklıkla kullanılır:

Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi: SSR'ler, bitkiler ve hayvanlar gibi organizmalar arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek için yaygın olarak kullanılır. Popülasyonlar arasında genetik farklılıkların izlenmesinde ve korunmasında önemli bir araçtır.

Islah Programları: SSR'ler, bitki ve hayvan ıslahında marker-assisted selection (MAS) yöntemlerinin temelini oluşturur. Bu markörler, istenilen fenotipik özelliklerin seleksiyonunda önemli rol oynar ve hızlı ıslah programlarını destekler.

Türler Arası İlişkiler ve Filogenetik Çalışmalar: SSR'ler, farklı türler arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde de kullanılır. Türler arasındaki evrimsel bağları ve soy kütüğünü incelemek için yararlı bir araçtır.

Adli Genetik ve Soy Kütüğü Analizi: SSR'ler, adli genetik çalışmalarda ve soy kütüğü analizlerinde sıklıkla kullanılır. İnsanlar, hayvanlar veya bitkiler üzerinde, bireylerin kimliklerini tespit etmek ve genetik ilişkilerini analiz etmek için yaygın bir şekilde kullanılır.

SSR (Simple Sequence Repeats), genetik çeşitliliği tespit etmek ve genetik analizler yapmak için oldukça değerli bir moleküler markör aracıdır. Yüksek polimorfizm, tekrarlanabilirlik ve hassasiyet gibi avantajları ile

SSR'ler, bitki ve hayvan ıslahı, genetik haritalama, popülasyon genetiği ve diğer biyoteknolojik araştırmalar için güçlü bir araçtır. Bununla birlikte, yüksek maliyet ve teknik zorluklar gibi bazı sınırlamaları da mevcuttur (Adamek ve ark., 2023; Tripathi ve ark., 2023).

1.3. AFLP

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), moleküler markörler arasında yaygın olarak kullanılan, özellikle genetik çeşitliliği belirlemek ve genetik haritalama yapmak için kullanılan güçlü bir tekniktir. AFLP, DNA'daki spesifik bölgelerdeki uzunluk değişikliklerini tespit etmek için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve restriksiyon enzimlerinin kombinasyonunu kullanır. Bu yöntem, özellikle birçok birey arasında genetik farkları ve polimorfizmleri belirlemek için son derece hassas ve güvenilir bir araçtır. AFLP, hem bitki hem de hayvan genomlarında, çeşitli biyolojik soruları çözmeye ve ıslah çalışmalarında kullanılır (Medraoui ve ark., 2024).

AFLP, üç temel adımdan oluşur (Safhi ve ark., 2023; Guler ve İmamoğlu, 2023):

DNA İzolasyonu: İlk olarak, test edilen organizmadan (buğday, mısır, soya vb.) DNA izolasyonu yapılır. Bu, tipik olarak taze bitkilerden veya hayvan örneklerinden alınan genomik DNA'dır.

Restriksiyon Enzimleri ile Kesim: İzolasyon sonrasında, DNA, belirli restriksiyon enzimleri kullanılarak kesilir. Bu enzimler, belirli dizilerdeki nükleotidleri tanıyıp keserler. Bu aşama, DNA'yı daha küçük parçalara böler ve bunları analiz edilebilir hale getirir. En sık kullanılan restriksiyon enzimleri, örneğin EcoRI ve MseI, DNA'da spesifik dizilere göre kesim yaparlar.

Ligasyon ve PCR Amplifikasyonu: Restriksiyon enzimi ile kesilen DNA fragmanları, adaptörlerle ligat edilir. Adaptörler, PCR amplifikasyonu için gerekli olan bağlanma noktalarını sağlamak için kullanılan kısa DNA dizileridir. Ardından, bu ligasyon sonucu elde edilen DNA fragmanları, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile çoğaltılır. PCR amplifikasyonu sırasında, sadece belirli uzunluktaki DNA fragmanları çoğaltılır. Genellikle, her iki tarafı da belirli primerler ile işaretlenen kısa DNA dizileri hedef alınır.

Elektroforez ve Analiz: Son olarak, PCR ile çoğaltılan bu fragmanlar agaroz jel elektroforezi kullanılarak ayrılır. Bu yöntemle, farklı uzunluktaki

DNA fragmanları ayrılır ve analiz edilir. Her bir fragment, bir band olarak görünür ve bu bantlar arasında oluşan varyasyonlar, belirli bireyler arasındaki genetik farklılıkları temsil eder.

1.3.1. AFLP'nin Avantajları

AFLP, birçok açıdan diğer moleküler markör yöntemlerine kıyasla bazı avantajlar sunar (Abdullayeva, 2024):

Yüksek Polimorfizm ve Duyarlılık: AFLP, farklı organizmalar arasında oldukça yüksek polimorfizm (genetik çeşitlilik) tespit etme yeteneğine sahiptir. Bu teknik, genetik varyasyonu yüksek çözünürlükle algılayarak, popülasyonlar arasındaki küçük genetik farklılıkları dahi tespit edebilir. Çünkü AFLP, genom boyunca çok sayıda farklı bölgeyi hedef alır ve çok sayıda polimorfik markör sağlar. Bu, çok sayıda genetik varyasyonun tespit edilmesine olanak tanır.

Bireysel Polimorfizmleri Yüksek Hassasiyetle Tespit Edebilme: AFLP, genetik varyasyonları hassas bir şekilde tespit edebilme kapasitesine sahiptir. Bu özellik, özellikle çok düşük düzeyde genetik farklılıkları belirlemenin kritik olduğu durumlarda faydalıdır. Ayrıca, bu yöntem ile genetik haritalama, QTL (Quantitative Trait Loci) analizleri ve biyomarker keşifleri yapılabilir.

Genetik Haritalama İçin İdeal: AFLP, çok sayıda polimorfik lokus elde edilmesini sağlayarak genetik haritalama çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılır. Bu yöntem ile büyük genetik çeşitlilik gösteren popülasyonlarda, genetik ilişkilerin haritalanması sağlanabilir. Böylece, istenilen fenotipik özelliklerin belirli genetik lokuslar ile ilişkisi ortaya çıkarılabilir.

Üstün Teknolojik Altyapı Gereksinimleri: AFLP, genetik çeşitliliği incelemek için diğer yöntemlere kıyasla daha az teknoloji gerektiren bir tekniktir. Genellikle, erişilebilir laboratuvar ekipmanları ve temel PCR cihazlarıyla uygulanabilir. Bu da, AFLP'nin geniş çaplı uygulamalar için uygun olmasını sağlar.

AFLP'nin, ıslahçılar için avantaj sağlayan bazı önemli uygulamaları:

Genetik Haritalama: AFLP, bitki türlerinde çok sayıda polimorfik genetik lokus sağladığı için, bu türlerin genetik haritalarını oluşturmak için

yaygın olarak kullanılır. Bu haritalar, istenilen fenotipik özelliklerin kontrolünde rol oynayan genetik lokusları belirlemede yardımcı olabilir.

Marker-Assisted Selection (MAS): AFLP, marker-assisted selection (MAS) çalışmalarında da etkili bir şekilde kullanılır. MAS, bitki ıslahında, istenilen fenotipik özelliklere sahip bireylerin moleküler markörler aracılığıyla seçilmesini sağlar. AFLP, genetik varyasyonların izlenmesini ve istenilen özelliklerin seleksiyonunu kolaylaştırır.

Hibridlerin Tespiti ve Genetik Dengeleme: AFLP, hibridlerin tespitinde ve genetik dengenin belirlenmesinde de kullanılır. Farklı genetik kaynakların birleşmesiyle elde edilen hibridler, AFLP kullanılarak analiz edilebilir. Böylece, hibridlerin genetik yapısı daha iyi anlaşılır.

1.3.2. AFLP'nin Dezavantajları

AFLP'nin güçlü yönlerinin yanı sıra bazı sınırlamaları da bulunmaktadır. Bu sınırlamalar, belirli durumlarda AFLP'nin etkinliğini kısıtlayabilir (Biswas ve Kumar, 2023).

Yüksek Maliyet ve Zaman Tüketimi: AFLP'nin uygulanması zaman alıcı olabilir. Çünkü birçok aşama içerir ve her aşama titizlikle yapılmalıdır. Özellikle PCR amplifikasyonu ve elektroforez işlemleri, zaman alıcı ve yüksek maliyetli olabilir. Ayrıca, her bir yeni örnek için tekrar eden analizler gerektirilebilir, bu da süreci daha pahalı hale getirebilir.

Veri Analizi Karmaşıklığı: AFLP, çok sayıda veri noktası üretir, çünkü birden fazla PCR markörü hedef alınır ve bunlar birçok genetik varyasyonu ortaya çıkarabilir. Bu büyük veri setlerini analiz etmek, zaman alıcı ve karmaşık olabilir. Sonuçları doğru bir şekilde yorumlamak için gelişmiş yazılımlar ve biyoinformatik bilgi gereklidir.

Teknik Hatalar ve Tekrarlanabilirlik: AFLP'nin verimliliği ve doğruluğu, kullanılan ekipmanın kalitesine ve deneyiminize bağlıdır. Teknik hatalar, özellikle PCR amplifikasyonu aşamasında oluşabilir ve bu da bazı veri kayıplarına yol açabilir. Ayrıca, AFLP'nin tekrarlanabilirliği, deneysel koşullara bağlı olarak değişebilir.

İleri Genetik Analizlerde Kısıtlamalar: AFLP, büyük ve karmaşık genomların analizinde zorluklar yaşanabilir. Genellikle, genetik haritalama ve

QTL analizi gibi büyük ölçekli genetik analizler için daha gelişmiş teknikler gerekebilir.

AFLP'nin Bitki İslahında Kullanımı: AFLP, bitki ıslahında genetik çeşitliliği incelemek, genetik haritalama yapmak ve marker-assisted selection (MAS) gibi uygulamalarda önemli bir rol oynar. AFLP, bitki ıslahında önemli bir araçtır ve özellikle genetik çeşitliliği belirlemek ve genetik haritalama yapmak için oldukça güçlüdür. AFLP'nin yüksek polimorfizm ve genetik varyasyonları belirlemedeki hassasiyeti, onu bitki türlerinde ve diğer organizmalarda geniş çaplı genetik analizler için ideal bir yöntem haline getirir. Bununla birlikte, bazı sınırlamaları ve yüksek maliyetli olabilecek yönleri göz önünde bulundurularak, bu tekniğin en etkili şekilde kullanılması gerekmektedir.

1.4. SNP

SNP (Single Nucleotide Polymorphism), bir genetik materyaldeki yalnızca bir nükleotid (A, T, C veya G) değişikliğini ifade eden bir çeşit genetik varyasyondur. Bir SNP, belirli bir genom bölgesinde, bir bireyden diğerine sadece bir nükleotid farklılığı gösterdiğinde meydana gelir. Bu tek nükleotid değişiklikleri, genetik çeşitliliği anlamak, bitki türleri arasında önemli özellikleri takip etmek ve ıslah programlarında seçim yapabilmek için oldukça değerli bir biyomarker olarak kullanılır. SNP'ler, genetik varyasyonların en yaygın ve temel şekli olarak bilinir. Genetik düzeyde, bu varyasyonlar her bireyde genellikle %99.9 oranında aynıdır, ancak %0.1'lik bir fark, SNP'lerin temelini oluşturur. Herhangi bir bitki veya organizmanın genomunda milyonlarca SNP bulunabilir. Bu varyasyonlar, özellikle fenotipik özelliklerdeki farklılıkların incelenmesinde önemli bir rol oynar. SNP'ler, her bitki bireyinde genetik çeşitliliği temsil ettiği için, genetik haritalama ve marker-assisted selection (MAS) gibi ıslah tekniklerinde yaygın bir şekilde kullanılır (Ashwath ve ark., 2023).

1.4.1. SNP ve Genetik Çeşitlilik

SNP'ler, organizmalarda ortaya çıkan genetik çeşitliliğin temel kaynaklarından biridir. Çeşitli fenotipik özelliklerin oluşumu, genetik varyasyonlarla ilişkilidir ve SNP'ler bu varyasyonların belirlenmesinde önemli rol oynar. Örneğin, bitkilerde kuraklık toleransı, sıcaklık stresine dayanıklılık veya verimlilik gibi özelliklerin genetik temelleri SNP'lerle haritalanabilir. Bu tür özelliklerin belirlenmesi ve genetik haritaların oluşturulması, bitki

ıslahçılarında daha etkili ve hızlı seçim yapma imkânı tanır. SNP'ler, polimorfizm açısından oldukça zengindir. Bu, bir popülasyon içinde, farklı bireyler arasında çok sayıda farklı SNP'nin var olduğu anlamına gelir. Bu nedenle, SNP'ler, fenotipik varyasyonların genetik temellerini incelemek için oldukça kullanışlıdır. Ayrıca, SNP'ler bitki türlerinde her zaman polimorfik olduğu için, bu markörler farklı türlerdeki genetik varyasyonları izlemek için yaygın olarak tercih edilir.

1.4.2. SNP'nin Tespiti ve Analiz Yöntemleri

SNP'lerin tespit edilmesi, genetik analizlerin ilk aşamasıdır. Çeşitli SNP

tespit teknikleri, bitki ıslahında kullanılan markör sistemlerinin temelini oluşturur. Aşağıda bu yöntemler detaylı şekilde açıklanmıştır (Prihatini ve ark., 2023; Zhang ve ark., 2023)

1.4.2.1. PCR Tabanlı Yöntemler

PCR, SNP'lerin tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Özellikle, SNP'lerin belirli bir bölgede hangi nükleotid olduğunu belirlemek amacıyla PCR kullanılır. SNP'ler, PCR ile çoğaltılan DNA segmentlerinde hedef alınarak analiz edilebilir. Bu yöntem sayesinde, SNP'ler genetik materyallerdeki küçük varyasyonları belirlemek için oldukça hassas bir şekilde tespit edilebilir. PCR temelli yöntemler, özellikle belirli SNP'leri hedef alarak genetik analizlerin yapılmasını sağlar.

1.4.2.2. DNA Dizileme

SNP'lerin tespiti için DNA dizileme teknikleri de oldukça etkilidir. Bu yöntem, bitki genomunun belirli bir bölgesinin dizilenmesi ve burada bulunan nükleotid değişikliklerinin tespit edilmesiyle çalışır. Genetik analizlerde en yüksek hassasiyeti sağlayan tekniklerden biri olan DNA dizileme, SNP'lerin belirlenmesinde en doğru sonuçları verir. Özellikle, yüksek çözünürlüklü genetik haritalama ve çoklu SNP analizlerinde tercih edilir.

1.4.2.3. SNP Genotiplleme Teknolojileri

Günümüzde, SNP'lerin tespiti için genotiplleme teknolojileri kullanılır. Bu teknolojiler, SNP'lerin hızlı ve doğru bir şekilde tespit edilmesini sağlar. TaqMan genotiplleme, AluI RFLP (Restriction Fragment

Length Polymorphism), ve bead-array platformları gibi yöntemler, SNP genotipleme işlemleri için kullanılan yaygın teknolojiler arasındadır. Bu tür teknolojiler, büyük popülasyonlar üzerinde yapılan çalışmalarda SNP'lerin hızlı bir şekilde belirlenmesini sağlar.

1.4.2.4. Yüksek Verimli Dizileme

Yüksek verimli dizileme (NGS) teknolojisi, SNP'lerin daha geniş bir popülasyonda ve çok daha düşük maliyetle tespit edilmesini sağlar. NGS, çok sayıda genetik lokusun eşzamanlı olarak dizilenmesine olanak tanır ve bu sayede SNP'ler yüksek hassasiyetle tespit edilebilir. Ayrıca, NGS teknolojisi, genom düzeyinde SNP'lerin dağılımını daha ayrıntılı şekilde inceleme fırsatı sunar (Morrison ve Green, 2012).

1.4.3. SNP'nin Bitki İslahındaki Rolü

SNP'ler, bitki ıslahında önemli bir araçtır. Özellikle, abiyotik streslere karşı tolerans gibi kompleks karakterlerin genetik temellerini anlamak için SNP'ler kullanılır. SNP'ler, bitki türlerinde belirli özelliklerle ilişkilendirilen genetik varyasyonları haritalamak ve bu varyasyonlar üzerinden genetik iyileştirme yapmak için kullanılır. SNP'ler, ıslahçıların aşağıdaki alanlarda başarılı olmalarına yardımcı olabilir:

1.4.3.1. Hedefli İslah ve Markör Destekli Seleksiyon (MAS)

SNP'ler, bitki ıslahında marker-assisted selection (MAS) tekniklerinin temelini oluşturur. MAS, belirli genetik markörler ve SNP'ler aracılığıyla istenilen fenotipik özelliklere sahip bireylerin hızlı ve etkili bir şekilde seçilmesine olanak tanır. Bu, daha hızlı bir ıslah süreci ve daha doğru seçim yapılmasını sağlar (Tharun ve ark., 2024).

1.4.3.2. Genetik Haritalama ve QTL Haritalaması

SNP'ler, genetik haritalama çalışmalarında kullanılır. Bu haritalama çalışmaları, bir bitki türünde belirli genetik lokuslarla (QTL) ilişkilendirilen fenotipik özelliklerin haritalanmasını sağlar. SNP'ler, bu QTL'leri daha hassas bir şekilde belirlemeye yardımcı olur ve bu da istenilen özelliklerin seleksiyonunu kolaylaştırır (Rani ve ark., 2023).

1.4.3.3. Genetik Modifikasyon ve İyileştirme

SNP'ler, bitki genomlarında istenen genetik değişikliklerin doğruluğunu kontrol etmek için genetik modifikasyon çalışmalarında kullanılır. Özellikle, belirli abiyotik stres toleransını artırmaya yönelik genetik değişikliklerin doğruluğunu sağlamak için SNP'ler ile genetik modifikasyonlar izlenebilir.

1.4.4. SNP'nin Avantajları ve Sınırlamaları

SNP'ler, birçok avantajı bünyesinde barındırmakla birlikte, bazı sınırlamalara da sahiptir. Bu avantajlar ve sınırlamalar, SNP'lerin uygulama alanlarını ve etkinliğini etkileyebilir (Doveri ve ark., 2024).

1.4.4.1. Avantajları

Yüksek Polimorfizm: SNP'ler, geniş bir popülasyonda genetik çeşitliliği yüksek doğrulukla belirleyebilir.

Küçük ve Stabil Değişiklikler: SNP'ler, küçük genetik değişiklikleri tespit eder, bu da onların stabil bir şekilde analiz edilmesini sağlar.

Yüksek Çözünürlük: SNP'ler, yüksek çözünürlükle genetik varyasyonları analiz edebilir, bu da ıslah çalışmalarında hassas seçimler yapılmasını sağlar (Morrison ve Green, 2012).

1.4.4.2. Sınırlamaları

Düşük Etki Alanı: Bazı SNP'ler, fenotipik varyasyonlar üzerinde düşük etkiye sahip olabilir, bu da onların pratikte sınırlı kullanılmasını sağlar.

Yüksek Maliyetli Tespit Yöntemleri: NGS ve diğer genotipleme yöntemleri genetik analizlerde yüksek maliyetli olabilir.

Genetik Bağlantı: SNP'ler her zaman hedeflenen özelliklerle güçlü bir genetik bağlantıya sahip olmayabilir, bu da bazen zayıf sonuçlara yol açabilir.

SNP'ler, bitki ıslahında önemli bir araçtır ve abiyotik stres toleransı gibi karmaşık özelliklerin haritalanmasında yaygın olarak kullanılır. SNP'lerin yüksek polimorfizm, hassasiyet ve geniş popülasyonlarda kullanım kolaylığı gibi avantajları, bitki ıslahı çalışmalarında önemli katkılar sağlar. Ancak, bu markörlerin bazı sınırlamaları da bulunmakta olup, doğru yöntem ve teknolojilerin seçilmesi gerekmektedir (Doveri ve ark., 2024).

1.5. İdeal Moleküler Markör Özellikleri

Moleküler markörler, bitki ıslahı ve genetik araştırmalarında oldukça önemli araçlardır. Abiyotik stres toleransı gibi karmaşık özelliklerin belirlenmesinde ve geliştirilmesinde kullanılır. İdeal moleküler markörlerin özellikleri, bu markörlerin etkinliğini, doğruluğunu ve verimliliğini artırarak, tarımsal üretimin sürdürülebilirliğini sağlamada büyük rol oynamaktadır. Moleküler markörlerin, bitki ıslahı çalışmalarında etkili bir şekilde kullanılabilmesi için belirli kriterlere sahip olması gerekmektedir. Bu bölümde, ideal moleküler markörlerin sahip olması gereken temel özellikler detaylı bir şekilde ele alınacaktır.

İdeal moleküler markörlerin özellikleri, hem bitki ıslahında hem de genetik araştırmalarında verimli sonuçlar elde edilmesi için önemlidir. Aşağıda bu markörlerin taşınması gereken temel özellikler sıralanmıştır:

Bir markör, yüksek polimorfizm göstermelidir, yani belirli bir popülasyonda çok sayıda farklı genetik varyasyonun bulunmasını sağlamalıdır. Bu, markörün, hedeflenen özellikler ile ilişkili genetik varyasyonları tespit etme kapasitesini artırır. Yüksek polimorfizm, bitki türleri arasındaki genetik çeşitliliği etkili bir şekilde izlemek ve izole etmek için kritik öneme sahiptir. Örneğin, yüksek polimorfizme sahip markörler, kuraklık, tuzluluk veya sıcaklık toleransı gibi abiyotik streslere dayanıklı bitkilerin seleksiyonunda daha etkili olur (Đuračka, 2023).

Kolay ve Hızlı Uygulama (Pratiklik): İdeal moleküler markörler, kullanımı kolay, hızlı ve pratik olmalıdır. Bu, markörlerin laboratuvar çalışmalarında ve saha koşullarında etkin bir şekilde kullanılabilmesini sağlar. Markörlerin analizi sırasında, karmaşık prosedürlerin ve uzun analiz sürelerinin olmaması, markörlerin geniş bir uygulama yelpazesinde kullanılmasını mümkün kılar. Örneğin, PCR tabanlı markörler (RAPD, SSR, AFLP) genetik analizlerde hızlı sonuçlar verir ve yaygın olarak kullanılır.

Tekrarlanabilirlik: Moleküler markörlerin tekrarlanabilir olması, özellikle geniş popülasyonlarda ve farklı laboratuvarlarda yapılan analizlerde doğru sonuçlar elde edilmesini sağlar. Tekrarlanabilirlik, aynı örnek üzerinde farklı zamanlarda veya farklı laboratuvarlarda yapılan testlerin benzer sonuçlar vermesini ifade eder. Bu özellik, genetik haritalama ve marker-assisted selection (MAS) çalışmalarında oldukça önemlidir çünkü doğruluk ve güvenilirlik sağlar.

Etkili Farklılık Gösterme Yeteneği: Markörlerin, istenen fenotip ile ilişkili olan genetik varyasyonları belirlemede yeterli segregasyon göstermesi gerekir. Bu, markörün belirli bir genetik özelliği doğru bir şekilde temsil etmesi ve bu özellik ile fenotip arasında güçlü bir ilişki kurabilmesi anlamına gelir. Bu özellik, genetik varyasyonların daha ayrıntılı bir şekilde analiz edilmesine olanak tanır. Örneğin, bir markör, kuraklık toleransına sahip bitkilerin fenotipik özelliklerini doğru bir şekilde yansıtmalı ve farklı bitki genotipleri arasında ayırım yapabilmelidir (Baloch ve ark., 2022; Baloch ve ark., 2023; Karaköy ve ark., 2024).

Genetik Temel ile İlişki (Genetik Bağlantı): Moleküler markörlerin, hedeflenen fenotip ile genetik olarak ilişkilendirilmesi çok önemlidir. İdeal markörler, genetik olarak seçilen özelliklerle yakından bağlantılı olmalıdır. Bu özellik, markörün belirli bir karakteristiği (örneğin, kuraklık toleransı) fenotipik olarak yansıtan bir gen veya genetik bölgede yer almasını sağlar. Genetik temele olan bu ilişki, ıslah çalışmaları için belirli bir genin ve özelliklerin hızla izole edilmesini sağlar (Nadeem ve ark., 2021; Shimira ve ark., 2021).

Morfolojik veya Fenotipik Özelliklere Bağımlılık: İdeal moleküler markörler, morfolojik veya çevresel faktörlerden bağımsız olarak çalışmalıdır. Yani, çevresel değişimlerden veya genetik heterojenlikten etkilenmemelidir. Bu özellik, markörlerin güvenilirliğini ve doğruluğunu artırır. Fenotipik özellikler, çevresel koşullardan veya yetiştirme yöntemlerinden etkilenebilir, ancak moleküler markörler, yalnızca genetik varyasyonu yansıtır ve bu yüzden çevresel etkilerden bağımsızdır (Haklı ve ark., 2009).

İdeal moleküler markörler, bitki ıslahı ve genetik araştırmalarında daha verimli, doğru ve hızlı sonuçlar elde edilmesine yardımcı olur. Yüksek polimorfizm, kolaylıkla uygulanabilirlik, tekrarlanabilirlik, genetik temel ile güçlü ilişki ve çevresel faktörlerden bağımsızlık gibi özelliklere sahip markörler, abiyotik stres toleransı gibi karmaşık özelliklerin belirlenmesinde büyük rol oynar. Bu markörler, ıslah çalışmalarının hızlandırılması, genetik haritalama, marker-assisted selection (MAS) ve genetik çeşitlilik araştırmalarının etkinliğinin artırılmasında önemli araçlardır. Sonuç olarak, ideal moleküler markörlerin özellikleri, tarımsal üretim ve sürdürülebilirlik için kritik öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

- Abdullayeva, A. (2024). Analysis of the role of molecular marker technologies in the research of genetic diversity of plants. *Nature & Science/Təbiət və Elm*, 6(7).
- Adamek, K., Grainger, C., Jones, A.M.P., Torkamaneh, D. (2023). Genotyping-by-sequencing (GBS) reveals greater somatic mutations than simple sequence repeats (SSRs) in micropropagated cannabis plants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 59(6), 757-766.
- Alhasnawi, A.N., Alasadiy, Y.D.K., & Doni, F. (2024). Assessment of the genetic diversity in plants using molecular markers: a review and perspective. *Tropical Agriculture*, 101(1), 120-134.
- Ashwath, M.N., Lavale, S.A., Santhoshkumar, A.V., Mohapatra, S.R., Bhardwaj, A., Dash, U., ... & Wani, S.H. (2023). Genome-wide association studies: an intuitive solution for SNP identification and gene mapping in trees. *Functional & integrative genomics*, 23(4), 297.
- Baloch, F.S., Altaf, M.T., Bedir, M., Nadeem, M.A., Tatar, M., Karaköy, T., & Aasim, M. (2023). iPBS-retrotransposons variations: DNA fingerprinting and the evaluation of genetic diversity and population structure in international cowpea germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 70(6), 1867-1877.
- Baloch, F.S., Guizado, S.J.V., Altaf, M.T., Yüce, I., Çilesiz, Y., Bedir, M., ... & Gómez, J. C. C. (2022). Applicability of inter-primer binding site iPBS-retrotransposon marker system for the assessment of genetic diversity and population structure of Peruvian rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) germplasm. *Molecular Biology Reports*, 1-12.
- Biswas, P., Kumar, N. (2023). Application of molecular markers for the assessment of genetic fidelity of in vitro raised plants: current status and future prospects. *Molecular Marker Techniques: A Potential Approach of Crop Improvement*, 233-256.
- Doveri, S., Lee, D., Maheswaran, M., Powell, W. (2024). Molecular markers-history, features and applications. In *Principles and Practices of Plant Genomics, Vol. 1* (pp. 23-67). CRC Press.
- Ďuračka, M., Benko, F., Tvrđá, E. (2023). Molecular markers: a new paradigm in the prediction of sperm freezability. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3379.

- Guler, B.A., Imamoglu, E. (2023). Molecular marker technologies in food plant genetic diversity studies: an overview. *Foods Raw Mater*, 11(2), 282-292.
- Haklı H., E., Ozkan, H., Toklu, F., Karaköy, T., Kilian, B., Bicer, T., Brandolini, A., (2009). Genetic Variation Among Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Landraces From Southeast Turkey. *Plant Breeding*. 128. 178.
- Karaköy, T., Toklu, F., Karagöl, E.T., Uncuer, D., Çilesiz, Y., Ali, A., ... & Özkan, H. (2024). Genome-wide association studies revealed DArTseq loci associated with agronomic traits in Turkish faba bean germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(1), 181-198.
- Khadivi, A., Hosseini, A.S., Kashi, F. (2024). Association between quantitative morphological traits and RAPD molecular markers in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Food Science & Nutrition*, 12(1), 105-115.
- Li, Z., Zhao, L., Yang, T., Tang, J., Miao, Y., Ren, T. (2024). Genome-wide simple sequence repeat analysis and specific molecular marker development of rye. *BMC Genomics*, 25(1), 780.
- Medraoui, L., Rabeh, K., Ater, M., Filali-Maltouf, A. (2024). Genetic diversity analysis of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) landraces from northwestern Morocco using ISSR and AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(2), 835-850.
- Nadeem, M.A., Yeken, M.Z., Shahid, M.Q., Habyarimana, E., Yılmaz, H., Alsaleh, A., ... & Baloch, F.S. (2021). Common bean as a potential crop for future food security: an overview of past, current and future contributions in genomics, transcriptomics, transgenics and proteomics. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 759-787.
- Oliveira, A.J.D., Barelli, M.A.A., Oliveira, T.C.D., Sander, N.L., Azevedo, R.F., Silva, C.R.D. (2023). Genetic variability in genotypes of safflower via SSR molecular marker. *Ciência e Agrotecnologia*, 47, e011922.
- Prihatini, R., Dinarti, D., Sutanto, A., Sudarsono, S. (2023). Sex-linked Single Nucleotide Polymorphism (SNP) identification and molecular marker development of salacca (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(2).
- Rai, M.K. (2023). Start codon targeted (SCoT) polymorphism marker in plant genome analysis: current status and prospects. *Planta*, 257(2), 34.

- Ramesh, P., Mallikarjuna, G., Sameena, S., Kumar, A., Gurulakshmi, K., Reddy, B. V., ... & Sekhar, A.C. (2020). Advancements in molecular marker technologies and their applications in diversity studies. *Journal of biosciences*, 45, 1-15.
- Rani, K., Kumar, M., Razzaq, A., Ajay, B.C., Kona, P., Bera, S.K., & Wani, S.H. (2023). Recent advances in molecular marker technology for QTL mapping in plants. *QTL Mapping in Crop Improvement*, 1-15.
- Safhi, F.A., Alshamrani, S.M., Alshaya, D.S., Hussein, M.A., Abd El-Moneim, D. (2023). Genetic diversity analysis of banana cultivars (*Musa* sp.) in Saudi Arabia based on AFLP marker. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(3), 1810-1819.
- Shimira, F., Boyaci, H.F., Çilesiz, Y., Nadeem, M.A., Baloch, F.S., & Taşkin, H. (2021). Exploring the genetic diversity and population structure of scarlet eggplant germplasm from Rwanda through iPBS-retrotransposon markers. *Molecular Biology Reports*, 48(9), 6323-6333.
- Tharun, P.S., Talekar, N., Akkati, V.R. (2024). Applications of Molecular Marker Implementation for Enhanced Oilseed Breeding through Marker-Assisted Selection (Mas). *Journal of Experimental Agriculture International*, 46(5), 865-876.
- Tripathi, M. K., Tripathi, N., Tiwari, S., Mishra, N., Sharma, A., Tiwari, S., & Singh, S. (2023). Identification of Indian soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) genotypes for drought tolerance and genetic diversity analysis using SSR markers. *Scientist*, 3(3), 31-46.
- Uysal, G., Devran, Z. (2024). Comparison of effectiveness of molecular markers linked to Me1 and N genes in pepper (*Capsicum annum* L.)(Solanales: Solanaceae). *Turkish Journal of Entomology*, 48(2), 239-247.
- Yin, J., Zhao, H., Wu, X., Ma, Y., Zhang, J., Li, Y., ... & Xu, Z. (2023). SSR marker based analysis for identification and of genetic diversity of non-heading Chinese cabbage varieties. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1112748.
- Younis, A., Ramzan, F., Ramzan, Y., Zulfqar, F., Ahsan, M., Lim, K.B. (2020). Molecular markers improve abiotic stress tolerance in crops: a review. *Plants*, 9(10), 1374.
- Zhang, J., Ren, J., Yang, J., Fu, S., Zhang, X., Xia, C., ... & Wen, C. (2023). Evaluation of SNP fingerprinting for variety identification of tomato by DUS testing. *Agriculture Communications*, 1(1), 100006.

BÖLÜM 6

ABİYOTİK STRES KOŞULLARINA DAYANIKLI/TOLERANSLI BUĞDAY ISLAHI ÇALIŞMALARININ FİZYOLOJİK ESASLARI

Arş. Gör. Melike KAYA¹

Prof. Dr. Tolga KARAKÖY²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14579996>

¹Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E-mail: mkaya@sivas.edu.tr, Orcid ID: 0009-0001-1606-0134.

²Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sivas, Türkiye, E- mail: tolgakarakoy73@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0002-5428-190.

1. GİRİŞ

Abiyotik stres, tarımsal üretimin sürdürülebilirliğini tehdit eden ve bitkilerin biyolojik fonksiyonlarını bozan, çevresel faktörlerin yol açtığı stres durumlarından bir tanesidir. Bu stres koşulları, kuraklık, toprak tuzluluğu, aşırı sıcaklık, düşük sıcaklık, metal toksisitesi ve diğer çevresel etmenleri içermektedir. Bu faktörler, dünya genelindeki tarım arazilerinin büyük bir kısmını olumsuz etkileyerek, tarımsal verimliliği ve ürün kalitesini önemli ölçüde düşürmektedir. Özellikle buğday gibi temel gıda ürünleri üzerinde meydana gelen abiyotik stres, fotosentez, su alımı, besin madde metabolizması ve hücre büyümesi gibi temel biyolojik süreçlerin bozulmasına yol açmakta, bu da verim kayıplarına ve dolayısıyla gıda güvenliği üzerinde ciddi tehditler oluşturmaktadır. Kuraklık ve tuzluluk gibi faktörler, su ve besin maddelerinin alımını engelleyerek bitkilerin gelişimini kısıtlamakta; aşırı sıcaklık ve soğuk koşullar ise enzimatik aktiviteleri ve hücresel yapıları olumsuz yönde etkilemektedir. Metal toksisitesi ise bitkilerde toksik etki yaparak hücresel hasar ve oksidatif stresin artmasına neden olabilmektedir. Bu abiyotik stres koşulları, tarımsal üretim ve verimliliği doğrudan etkileyerek, dünya genelinde gıda güvenliği için ciddi riskler teşkil etmektedir (Zhang ve ark., 2024).

Buğday (*Triticum spp.*), dünya genelinde geniş bir tüketici kitlesi için hayati önem taşıyan bir besin kaynağı olup, ekonomik olarak da büyük bir öneme sahiptir. Ancak, buğdayın tarımsal üretim potansiyeli, özellikle iklim değişikliği ve çevresel abiyotik stres faktörlerinin etkisiyle ciddi şekilde kısıtlanmaktadır. İklim değişikliği, aşırı sıcaklık dalgalanmaları, su kıtlığı, toprak tuzluluğu ve diğer abiyotik stres etmenlerinin buğday bitkisi üzerindeki olumsuz etkileri, verim düşüşlerine yol açmakta ve gıda güvenliği açısından riskler oluşturmaktadır.

Geleneksel bitki ıslah yöntemleri, abiyotik stres koşullarına daha dayanıklı buğday çeşitlerinin geliştirilmesinde kısmi başarılar elde etmiş olsa da, bu yöntemler genellikle uzun bir zaman dilimi gerektirmekte ve sınırlı genetik çeşitliliğe dayanarak düşük genetik doğruluk oranları ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca, bu süreçlerin genetik temellerinin tam olarak anlaşılması ve stres dayanıklılığını artıran allellerin tespitinin zorluğu, buğday ıslahındaki ilerlemeyi yavaşlatmaktadır. Dolayısıyla, buğdayda abiyotik stres toleransını artırmak amacıyla daha hızlı ve kesin yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. (Bi ve ark., 2024).

Moleküler markör teknolojileri, bitkilerin genetik varyasyonlarını hızlı, hassas ve doğrusal bir şekilde tespit etme imkânı sunarak, genetik ıslah süreçlerini daha verimli ve etkin hale getirmiştir. Bu teknolojiler, özellikle abiyotik stres toleransı gibi kompleks ve çok yönlü özelliklerin ıslahında önemli bir araç haline gelmiştir. Moleküler markörler, stres toleransına sahip genetik materyali tanımlayarak, hedeflenen özelliklerin daha hızlı bir şekilde seleksiyonunu sağlamakta ve genetik çeşitliliği daha etkin bir şekilde yönlendirmektedir. Bu bağlamda, abiyotik stres koşullarına (kuraklık, tuzluluk, aşırı sıcaklık, vb.) dayanıklı buğday çeşitlerinin geliştirilmesinde moleküler markörler hayati bir rol oynamaktadır. Bu kitap bölümü, moleküler markörlerin abiyotik streslere dayanıklı buğday çeşitlerinin geliştirilmesindeki potansiyelini kapsamlı bir şekilde incelemektedir. İlk olarak, abiyotik stres faktörlerinin buğday üzerindeki fizyolojik ve biyokimyasal etkileri detaylı bir şekilde ele alınmış, stres koşullarının buğdayın büyüme, gelişme ve verimliliği üzerindeki olumsuz etkileri açıklanmıştır. Ardından, moleküler markörlerin sınıflandırılması ve ıslah çalışmalarındaki kullanımı ayrıntılı bir biçimde açıklanmıştır. Bu markörler arasında DNA tabanlı markörler (örneğin, mikrosatellitler, SNP'ler) ve genetik çeşitliliği belirlemek için kullanılan diğer moleküler işaretler yer almaktadır. Ayrıca, moleküler markör destekli seleksiyon (MAS) yöntemleri ve genetik düzenleme teknolojileri gibi modern ıslah yaklaşımları da bu bölümde ele alınmış, bu yöntemlerin buğdayda abiyotik stres toleransını artırmak için nasıl uygulandığı ve gelecekteki potansiyeli üzerinde durulmuştur. Bu yenilikçi tekniklerin, buğdayda stres toleransını geliştirmedeki hız ve doğruluk açısından önemli avantajlar sunduğu vurgulanmıştır (Robles-Zazueta ve ark., 2024; Bhandari ve ark., 2024).

2. Buğdayda Abiyotik Stres Koşullarına Moleküler Bakış

Abiyotik stresler, bitkilerin gelişimini olumsuz yönde etkileyen çevresel faktörlerdir ve bu faktörler, bitkilerin metabolik süreçlerini, büyümelerini, gelişimlerini ve verimliliklerini olumsuz şekilde bozarak, tarımsal üretim üzerinde büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Bu faktörler arasında kuraklık, toprak tuzluluğu, aşırı sıcaklık ve düşük sıcaklık gibi stres koşulları öne çıkmaktadır. Buğday (*Triticum aestivum* L.), dünya genelinde en yaygın olarak yetiştirilen ve temel gıda kaynağı olan tahıl türlerinden biridir. Ancak, buğday bitkisi, abiyotik stres koşullarına, özellikle su kaybı (kuraklık), yüksek tuz konsantrasyonu (toprak tuzluluğu), sıcaklık dalgalanmaları ve aşırı soğuk koşullarına karşı son derece hassastır. Bu stres faktörleri, buğdayın

fizyolojik süreçleri üzerinde doğrudan etkiler yaparak, fotosentez, su alımı, besin madde metabolizması ve hücrel yapıların bütünlüğü gibi temel biyolojik işlevleri bozmaktadır. Sonuç olarak, bu faktörler, buğdayda büyüme geriliği, verim kaybı ve kalite düşüşüne neden olabilmektedir.

Abiyotik streslerin buğdayın biyolojik ve moleküler süreçleri üzerindeki etkilerini anlamak, bu stres koşullarına daha dayanıklı buğday çeşitlerinin geliştirilmesi açısından büyük bir öneme sahiptir. Bu süreçler, bitkilerin stres yanıtlarını modüle eden genetik ve moleküler mekanizmaların keşfi ile doğrudan ilişkilidir. Bu bölümde, abiyotik stres koşullarına karşı buğdayın biyolojik ve moleküler yanıtları detaylı bir şekilde incelenecek ve bu yanıtların tarımsal üretim üzerindeki olumlu etkileri ve potansiyel faydaları ele alınacaktır. Ayrıca, bu stres koşullarına dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılan modern moleküler yaklaşımlar, genetik modifikasyon teknikleri ve moleküler markörlerin rolü tartışılacaktır (Shokri-Gharelo ve ark., 2024; Chaouachi ve ark., 2024).

2.1. Abiyotik Stres Türleri ve Etkileri

Abiyotik stres koşulları, bitkiler üzerinde çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere yol açmaktadır. Buğdayda en yaygın karşılaşılan abiyotik stres türleri şunlardır.

Kuraklık Stresi: Buğdayda kuraklık stresi, su eksikliği nedeniyle bitkilerin hücrel su dengesinin bozulmasına ve osmotik stresin artmasına yol açmaktadır. Su kaybı, hücrelerin turgor basıncını düşürerek hücrel yapıların bütünlüğünü tehdit etmekte ve osmotik potansiyelin yükselmesine sebep olmaktadır. Bu durum, suyun hücrelere girişini engellemekte ve bitkilerin suya karşı dayanıklılık mekanizmalarını zorlamaktadır. Buğdayda kuraklık stresi, fotosentetik aktiviteyi azaltarak enerji üretimini sınırlamata ve büyüme süreçlerini yavaşlatmaktadır. Ayrıca, osmotik basıncın artması, hücre içi metabolizmanın dengesizleşmesine neden olmakta ve bu, bitkinin biyokimyasal ve fizyolojik işlevlerini olumsuz etkilemektedir. Kuraklık şartlarında, buğdayda yaprak dökülmesi, kök gelişiminin kısıtlanması ve azalan su alımı nedeniyle besin maddelerinin taşınmasında bozulmalar meydana gelmektedir. Sonuç olarak, kuraklık stresinin uzun süreli etkileri, buğdayda verim kaybına yol açarak, tarımsal üretimi ciddi şekilde tehdit etmektedir (Bouremani ve ark., 2024).

Sıcaklık Stresi: Buğdayda sıcaklık stresi, aşırı sıcaklık koşullarının bitkinin fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerini olumsuz yönde etkilemesiyle ortaya çıkmaktadır. Yüksek sıcaklıklar, fotosentez verimliliğini önemli ölçüde azaltarak, kloroplastların verimli çalışmasını engellemekte ve dolayısıyla karbon fiksasyonunda düşüşe yol açmaktadır. Bu durum, bitkinin enerji üretimini sınırlayarak büyüme süreçlerini yavaşlatmaktadır. Ayrıca, yüksek sıcaklıklar hücre zarlarının yapısını bozarak zar geçirgenliğini artırmakta, bu da hücre içi metabolik dengenin bozulmasına ve hücre hasarına yol açmaktadır. Buğdayda sıcaklık stresinin etkisi, özellikle başak gelişimi ve tohum olgunlaşma aşamalarında daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Sıcaklık stresinin etkisiyle tohumların olgunlaşma süreci aksamakta, bu da kalitenin düşmesine ve olgunlaşmamış tohumların oluşmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, aşırı sıcaklıklar, buğdayın verimliliğini ciddi şekilde etkileyerek, tarımsal üretim üzerinde olumsuz sonuçlar doğurmaktadır (Zhang ve ark., 2024).

Soğuk Stresi: Buğdayda soğuk stresi, düşük hava sıcaklıklarının bitkinin fizyolojik süreçlerini bozmakta ve özellikle hücre düzeyinde ciddi hasarlara yol açabilmektedir. Soğuk hava koşulları, hücre içindeki suyun donmasına ve buz kristallerinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu buz kristalleri, hücre duvarlarını mekanik olarak tahrip etmekte ve hücre zarlarının yapısını bozmakta, bu da hücresel bütünlüğün kaybolmasına ve su dengesinin bozulmasına yol açmaktadır. Ayrıca, donma esnasında suyun genişmesi, hücre içi organellerin zarar görmesine sebep olabilmektedir.

Buğdayda soğuk stres, özellikle kış dönemi boyunca toprak sıcaklıklarının düşük olduğu, don olaylarının sık yaşandığı bölgelerde belirgindir. Soğuk stres, buğdayın büyümesini yavaşlatır, kök gelişimini engeller ve fotosentez süreçlerini kısıtlar. Aynı zamanda, tohum embriyosunun gelişimini olumsuz etkileyerek, düşük verim ve düşük kaliteye yol açabilir. Soğuk hava koşullarının etkisi, özellikle başaklanma ve tohum olgunlaşma süreçlerinde daha belirgin hale gelir ve bu da tarımsal üretimin verimliliğini düşürür (Deryabin ve ark., 2024).

Tuzluluk Stresi: Buğdayda tuzluluk stresi, yüksek düzeyde çözünmüş tuzların (özellikle Na^+ ve Cl^- iyonlarının) toprak solüsyonunda birikmesi sonucu ortaya çıkmakta ve bitki metabolizması üzerinde çok yönlü olumsuz etkilere neden olmaktadır. Yüksek tuz konsantrasyonları, toprak su potansiyelini düşürerek bitkilerin su alımını sınırlamakta ve osmotik dengenin

bozulmasına yol açmaktadır. Osmotik stresin bir sonucu olarak, hücrelerde turgor kaybı yaşanmakta ve su kullanım etkinliği azalmaktadır. Ayrıca, Na^+ ve Cl^- iyonlarının hücre içinde birikmesi iyon dengesizliği ve iyon toksisitesine neden olmaktadır. Bu durum, bitkide besin alımını ve hücrel metabolizmayı olumsuz etkilemektedir. Tuzluluk stresi altında buğday bitkilerinde büyüme hızında yavaşlama, kök gelişiminde gerileme ve yapraklarda kloroz, nekroz gibi belirtiler gözlemlenmektedir. Özellikle kloroz, klorofil sentezinin azalması ve fotosentez kapasitesinin düşmesiyle ilişkilidir. Bu süreçler, nihayetinde bitkinin biyokütlesini ve verim potansiyelini ciddi şekilde sınırlamaktadır (Shahzadi ve ark., 2024).

2.2. Buğdayın Abiyotik Streslere Tepkileri

Buğday bitkisi, abiyotik stres koşullarına karşı hayatta kalabilmek ve adaptasyon sağlayabilmek için karmaşık bir moleküler ve fizyolojik yanıt mekanizması geliştirmiştir. Bu mekanizmalar, stresin algılanmasıyla başlayan sinyal iletim yollarını, gen ekspresyonundaki düzenlemeleri ve metabolik uyum stratejilerini içermektedir. Buğdayın abiyotik streslere verdiği tepkiler, hücrel düzeyde hasarı en aza indirirken, bitkinin gelişimini ve verimliliğini korumayı hedeflemektedir. Söz konusu tepkiler, su stresine karşı osmotik düzenleyici moleküllerin (prolin, trehaloz ve glisin betain gibi) birikimi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonu için antioksidan enzimlerin (örneğin süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz) aktivasyonu, iyon homeostazını sağlamak için iyon taşıyıcılarının düzenlenmesi ve stresle ilişkili genlerin (örneğin DREB, HSP ve NAC transkripsiyon faktörleri) ekspresyonunu içermektedir. Ayrıca, buğdayın savunma stratejileri arasında epidermal su kaybını azaltmak için stomaların kapanması, hücre zarlarının stabilitesini korumak ve protein yapısını dengelemek için membran lipid bileşimindeki değişiklikler ve hormon sinyal yolları (örneğin ABA, etilen ve salisilik asit) aracılığıyla stres cevabının koordinasyonu bulunmaktadır. Bu tepkiler, bitkinin abiyotik stres ortamında hayatta kalabilmesi ve adaptasyon kapasitesini artırması için kritik öneme sahiptir (Qi ve ark., 2024).

Osmotik Dengeyi Sağlama: Kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres faktörleri, bitki hücrelerinde su potansiyelinin düşmesine neden olarak osmotik stres yaratmakta ve hücre içi su kaybına yol açmaktadır. Bu durum, hücre zarlarının bütünlüğünün korunması, enzim aktivitelerinin sürdürülebilmesi ve metabolik süreçlerin devam ettirilmesi için hücrel osmotik dengenin yeniden sağlanmasını zorunlu kılmaktadır. Buğday bitkisi,

su kaybını telafi etmek ve ozmotik potansiyelini düzenlemek amacıyla prolin, trehaloz, sorbitol, glisin betain ve fruktoz gibi ozmolitler olarak adlandırılan küçük moleküllu osmotik koruyucuları sentezlemekte ve biriktirmektedir. Bu bileşikler, hücre içi suyu tutma kapasitesini artırarak hücresel turgor basıncını stabilize etmekte ve aynı zamanda proteinlerin, zarların ve diğer makromoleküllerin yapısal bütünlüğünü korumaktadır. Ayrıca, bu bileşenler, reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimiyle ilişkili oksidatif stresin azaltılmasında da rol oynayarak hücrelerin stres koşullarına adaptasyonuna katkı sağlamaktadır. Osmotik düzenleyicilerin bu çok yönlü işlevleri, buğdayın kuraklık ve tuzluluk gibi stres koşullarında hayatta kalma ve büyüme kabiliyetini artırmaktadır (Ayaz ve ark., 2024).

Prolin ve Şekerler: Bu bileşikler, hücre içindeki osmotik basıncı artırarak suyun tutulmasını ve hücresel turgorun korunmasını sağlamaktadır. Prolin, kuraklık stresine karşı en önemli ozmolitlerden biri olup, yalnızca osmotik düzenleyici olarak değil, aynı zamanda serbest radikal temizleyici, hücresel zarların stabilizatörü ve proteinlerin yapısal bütünlüğünü koruyucu bir molekül olarak da işlev görmektedir. Prolin, stres koşullarında artan biyosentez hızı ve azalan yıkımı sayesinde hücre içinde birikerek stres toleransına katkıda bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, trehaloz ve sukroz gibi çözünür şekerler, hücre içinde ozmolitleme işlevi görerek hücre içi su kaybını sınırlamaya yardımcı olmaktadır. Trehaloz, oksidatif strese karşı hücresel savunmayı desteklerken proteinlerin katlanmasını ve zar fosfolipitlerinin stabilitesini koruyarak stres koşullarında metabolik süreçlerin devamlılığını sağlamaktadır. Sukroz ise hem enerji deposu olarak işlev görür hem de hücre içindeki osmotik dengeyi düzenleyerek suyun tutulmasına katkıda bulunmaktadır. Bu ozmolitlerin kombinasyonu, bitkilerin abiyotik stres koşullarında büyüme ve hayatta kalma kabiliyetini önemli ölçüde artırmaktadır (Iacob ve ark., 2023).

Stomaların Kontrolü: Stomalar, bitkilerde gaz alışverişini ve su kaybını düzenleyen mikroskobik gözeneklerdir ve çevresel stres koşullarında su kaybını sınırlamada hayati bir role sahiptir. Buğdayda kuraklık ve yüksek sıcaklık gibi stres faktörlerine maruz kalındığında, stomaların kapanması su kaybının azaltılması ve hücresel su dengesinin korunması için kritik bir adaptasyon mekanizmasıdır. Stomaların kapanma süreci, abscisic asit (ABA) adı verilen bir stres hormonu tarafından düzenlenmektedir. Kuraklık ve sıcaklık stresi koşullarında toprak ve bitki dokularındaki su potansiyelinin düşmesi, ABA seviyelerinde hızlı bir artışa yol açmaktadır. Artan ABA,

stomaları çevreleyen koruyucu hücrelerde iyon kanallarını aktive ederek potasyum (K^+) ve diğer anyonların hücre dışına taşınmasını sağlamaktadır. Bu iyon kaybı, koruyucu hücrelerin turgor basıncını düşürerek stomaların kapanmasına neden olmaktadır. ABA aynı zamanda oksidatif stresle ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenleyerek hücrel savunma mekanizmalarını desteklemektedir. Stomaların kapanması, fotosentez hızını sınırlayabilmesine rağmen, bitkinin aşırı su kaybını önleyerek kuraklık ve sıcaklık stresine toleransını artırmasında hayati bir rol oynamaktadır (Meddya ve ark., 2023).

Antioksidan Savunma Sistemlerinin Aktifleşmesi: Abiyotik stresler, özellikle kuraklık ve yüksek sıcaklık gibi çevresel faktörler, bitki hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine yol açmaktadır. ROS, süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$) gibi yüksek reaktiviteye sahip moleküller olup, hücrel makromoleküllere (lipidler, proteinler, DNA) zarar vererek oksidatif stresin oluşmasına neden olmaktadır. Bu durum, hücre zarlarının peroksidasyonu, proteinlerin denatürasyonu ve genetik materyalin hasarı gibi sonuçlarla bitkinin fizyolojik işlevlerini ciddi şekilde bozmaktadır.

Buğday bitkisi, oksidatif stresin zararlı etkilerini en aza indirmek için etkili bir savunma sistemi geliştirmiştir. Bu savunma mekanizmasının merkezinde, ROS'un nötralizasyonunu sağlayan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar yer almaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit anyonlarını hidrojen peroksit'e dönüştürerek oksidatif stresle mücadelede ilk savunma hattını oluşturmaktadır. Peroksidazlar (örneğin askorbat peroksidaz, glutatyon peroksidaz) ve katalaz (CAT) gibi enzimler, H_2O_2 'yi su ve oksijene parçalayarak hücrel hasarı sınırlandırmaktadır. Bunun yanı sıra, glutatyon (GSH), askorbat ve tokoferoller gibi küçük moleküllü antioksidanlar, ROS'un doğrudan temizlenmesine ve enzimatik antioksidan sistemlerin işlevselliğinin desteklenmesine katkıda bulunmaktadır. Stres koşullarında bu enzimlerin ve moleküllerin üretimindeki artış, buğdayın oksidatif dengeyi sağlamasına ve abiyotik streslerin olumsuz etkilerine karşı direnç kazanmasına olanak tanımaktadır. ROS düzeylerini etkili bir şekilde kontrol eden bu sistem, bitkinin hayatta kalması ve metabolik süreçlerin devamlılığı için kritik bir öneme sahiptir (Kononenko ve ark., 2023).

Hormon Yanıtları: Bitkisel hormonlar, buğdayın abiyotik stres koşullarına adaptasyonunda ve bu streslere karşı geliştirdiği moleküler

tepkilerin düzenlenmesinde temel düzenleyici moleküller olarak işlev görmektedir. Bu hormonlar, stresin algılanması, sinyal iletimi ve gen ekspresyonunun modülasyonu gibi süreçlerde çok yönlü roller üstlenmektedirler. Kuraklık, tuzluluk ve sıcaklık gibi abiyotik stres faktörlerine karşı yanıt sırasında birden fazla hormonun etkileşimi, bitkinin metabolik süreçlerini yeniden programlayarak stres toleransını artırmaktadır (Tiwari ve ark., 2023). Bu bağlamda, başlıca hormonlar şunlardır:

Abcisic Asit (ABA): Abscisic asit (ABA), bitkilerde stres yanıtlarını düzenleyen önemli bir hormondur ve özellikle kuraklık ve tuzluluk gibi durumlara karşı güçlü bir rol oynamaktadır. Bu stres koşullarında, bitkilerde ABA üretimi önemli ölçüde artmaktadır. ABA, stomal hareketin düzenlenmesinde başlıca rol oynamakta; kuraklık ve tuzluluk stresi altında stomaların kapanmasını teşvik ederek su kaybını azaltmakta ve suyun daha verimli kullanılmasını sağlamaktadır. Ayrıca, ABA, kuraklık koşullarında kök gelişimini destekleyerek, bitkinin suya erişimini artırmak amacıyla köklerin daha derine inmesini teşvik etmektedir. ABA'nin bu işlevleri, bitkilerin hayatta kalması ve stresle başa çıkabilmesi için kritik öneme sahip olup, kuraklık gibi zorlu çevresel koşullarda bitkilerin adaptasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu mekanizmalar, buğdayda ve diğer bitkilerde kuraklık toleransının artırılmasında önemli bir biyolojik stratejidir (Li ve Ahammed, 2023).

Gibberellinler (GA) ve Auxinler: Gibberellinler (GA) ve auxinler, bitkilerin büyüme ve gelişim süreçlerinde önemli rol oynayan fitohormonlardır. Bu hormonlar, stres koşullarına, özellikle abiyotik streslere, bitkilerin adaptasyonunu sağlamak amacıyla büyüme ve gelişim süreçlerini modüle ederler. Gibberellinler, genellikle bitkilerin büyüme hızını artırırken, auxinler hücre uzaması, diferansiyasyon ve kök gelişimi üzerinde etkili olmaktadır. Ancak, kuraklık gibi stres koşullarında, gibberellinlerin ve auxinlerin etkisi değişkenlik gösterebilmektedir. Bu durumlarda, gibberellinlerin (GA) etkisi genellikle büyüme hızını sınırlamak üzere baskılanmaktadır. Böylece, bitkiler enerji tasarrufu sağlamak ve su kaybını azaltarak daha verimli bir şekilde stres koşullarına adapte olmaktadır. Auxinler ise, su kısıtlaması ve stres altında kök gelişimini destekleyerek, su alımını artırmak ve köklerin derinleşmesini sağlamak amacıyla rol oynamaktadır. Bu hormonların birlikte çalışarak bitkilerin enerji tüketimini sınırlaması, kuraklık koşullarında hayatta kalmalarını sağlayan önemli bir stratejidir. Bu büyüme düzenlemeleri, bitkilerin gelişimini sürdürebilmeleri ve

abiyotik stres koşullarına karşı dirençlerini artırmaları için gereklidir (Song ve ark., 2024).

2.3. Genetik Tepkiler ve Gen Ekspresyonu

Buğdayda abiyotik stres koşullarına karşı genetik tepki, belirli genlerin aktivasyonu ile sağlanmaktadır. Bu tepkiler, stresin türüne ve şiddetine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Örneğin, kuraklık stresi altında şu tür genler aktif hale gelmektedir.

LEA (Late Embryogenesis Abundant) Genleri: LEA (Late Embryogenesis Abundant) genleri, bitkilerde kuraklık, soğuk, tuzluluk ve diğer abiyotik stresler gibi zorlu çevresel koşullar altında hayatta kalmaya yardımcı olan önemli genetik elemanlardır. Bu genler, özellikle embriyo gelişiminin son evrelerinde ve stres koşulları altında, su kaybı ve hücresel bozulma gibi zararlı etkilerle başa çıkabilmek için üretilen bir dizi protein kodlamaktadır. LEA proteinleri, hücredeki su dengesinin korunmasına yardımcı olmakta, osmotik baskıyı düzenlemekte, proteinlerin ve hücresel yapıları koruyarak denatürasyon ve agregasyon oluşumunu engellemektedir. Ayrıca, kuraklık gibi su stresine maruz kalan bitkilerde LEA proteinleri, hücredeki su kaybını sınırlamak amacıyla makromoleküllerin stabilitesini artırarak bitkinin adaptasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu proteinler, hücre zarlarını, enzimleri ve DNA'yı koruyarak bitkilerin kuraklık gibi zorlu koşullarda hayatta kalmalarına yardımcı olmaktadır. LEA genlerinin ekspresyonu, bitkilerin stres koşullarına karşı biyokimyasal bir savunma mekanizması olarak işlev görmektedir. Bu genlerin tanımlanması, bitkilerin stres toleransının artırılması ve tarımda verimliliğin iyileştirilmesi için son derece önemlidir (Wang ve ark., 2023).

Kuraklığa Duyarlı Genler: Kuraklıkla ilişkili genler, bitkilerin su stresine karşı adaptasyonunu sağlamak için bir dizi biyokimyasal ve fizyolojik yanıtı başlatan önemli genetik elemanlardır. Bu genler, osmotik dengenin korunmasında kritik rol oynayan proteinlerin, su taşınımını düzenleyen proteinlerin ve stres yanıtını koordine eden düzenleyici proteinlerin ekspresyonunu tetiklemektedir. Osmotik dengeyi sağlayan proteinler, hücre içindeki su kaybını dengelemek için osmolitleyici bileşiklerin sentezini artırarak hücrelerin su kaybını minimize etmektedir. Bu proteinler, kuraklık koşullarında bitkilerin su alımını sürdürebilmeleri için önemli bir mekanizma sağlamaktadır. Su taşınımını düzenleyen proteinler ise, köklerden suyun verimli bir şekilde yapraklara iletilmesi için suya duyarlı taşıma proteinlerinin

(örneğin, su kanalları ve aquaporinler) ekspresyonunu artırarak, bitkinin suya erişimini optimize etmektedir. Stres yanıtı düzenleyici proteinler, abscisic asit (ABA) gibi büyüme hormonlarının sinyal iletim yollarını aktive ederek, stomaların kapanmasını ve su kaybını sınırlayan diğer adaptif mekanizmaların devreye girmesini sağlamaktadır. Bu kuraklıkla ilişkili genlerin ekspresyonu, bitkilerin hücresel düzeyde kuraklık stresine karşı dayanıklılık kazanmasını sağlayarak, verim kayıplarını en aza indirmekte ve tarımsal üretimde sürdürülebilirliği artırmaktadır (Adel ve Carels, 2023).

Genetik mühendislik uygulamaları ve moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak, buğdayda kuraklık ve diğer abiyotik streslere karşı dayanıklı çeşitler geliştirilmiştir. Örneğin, DREB Kuraklığa Duyarlı Genler (Dehydration-Responsive Element Binding), kuraklık stresine karşı tepki gösteren transkripsiyon faktörleridir ve genetik mühendislik ile bu genlerin aktif hale getirilmesi, buğdayın kuraklık toleransını artırabilmektedir.

3. Buğdayda Abiyotik Stresle Mücadelede Genetik Modifikasyonlar

Genetik modifikasyonlar, buğdayda abiyotik streslere karşı dayanıklılığın artırılması açısından önemli bir yöntemdir. Buğdayda yapılan genetik mühendislik çalışmaları ile, stres toleransı arttırılabilmektedir.

Transgenik Çalışmalar: Buğdayda genetik mühendislik tekniklerinin kullanılması, kuraklık, tuzluluk ve sıcaklık gibi abiyotik streslere karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde önemli bir ilerleme kaydedilmesini sağlamıştır. Bu tür transgenik çeşitler, bitkilerin çevresel streslere karşı daha yüksek tolerans göstermelerini sağlamak amacıyla, genetik mühendislik yöntemleri ile spesifik dayanıklılık genlerinin bitki genomuna entegrasyonu ile elde edilmiştir. Bu çeşitler, genellikle osmotik dengeyi düzenleyebilen, hücresel su dengesini koruyan ve stres koşulları altında bitkilerin hayatta kalmalarını sağlayan genetik bileşenlere sahip olurlar. Örneğin, buğdaya kuraklık ve tuzluluk stresine karşı direnç kazandırmak amacıyla, osmolitleyici bileşiklerin (örneğin, prolin ve trehaloz) sentezini artıran genler, veya hücresel yapıları koruyarak stresin olumsuz etkilerini sınırlayan koruyucu proteinlerin üretimini sağlayan genler transfer edilmektedir. Bu genler, hücresel zarların stabilitesini artırarak, enzimlerin ve proteinlerin denatürasyonunu engellemekte ve stres altında bitkinin metabolik süreçlerinin sürdürülebilirliğini sağlamaktadır. Ayrıca, bu tür transgenik bitkiler, su taşınımını artıran veya stomal kapanmayı düzenleyen genetik özellikler

taşıyarak, su kaybını minimize etmekte ve çevresel streslerin olumsuz etkilerinden korunmaktadır. Genetik mühendislik ile geliştirilen bu buğday çeşitleri, tarımsal üretimde verimliliği artırmak ve gıda güvenliğini sağlamak amacıyla büyük bir potansiyele sahiptir (Mondal ve ark., 2023).

Moleküler Markörler ve Seçim: Genetik modifikasyonların hızlandırılması için moleküler markörler kullanılmaktadır. Bu markörler, stres toleransını artıran genetik varyasyonları hızlıca tespit ederek, seleksiyon işlemini daha verimli hale getirmektedir. Buğdayda abiyotik streslere karşı gelişen moleküler tepkiler, bitkinin stresle başa çıkmasını sağlamakta ve hayatta kalma şansını artırmaktadır. Osmotik dengeleme, hormon yanıtları, antioksidan savunma sistemleri, genetik modifikasyonlar ve moleküler markörler, buğdayın kuraklık, tuzluluk, sıcaklık ve soğuk streslerine karşı gösterdiği adaptasyonlardır. Abiyotik streslerin etkilerine karşı dirençli buğday çeşitlerinin geliştirilmesi, gelecekteki tarımsal üretim için büyük önem taşımaktadır. Buğdayda stres toleransını artıran genetik ve biyoteknolojik yaklaşımlar, tarımda verimliliği artırarak dünya genelindeki gıda güvenliğine katkı sağlayacaktır (Zribi ve ark., 2024).

4. Kuraklık Stresine Karşı Tepkiler

Kuraklık, bitkiler için en yaygın abiyotik stres faktörlerinden biridir ve dünya genelinde tarımsal verimliliği ciddi şekilde etkileyebilmektedir. Kuraklık stresi, toprakta su eksikliğinin meydana gelmesi ve bitkilerin su alımını kısıtlaması ile ortaya çıkmaktadır. Bu durum, bitkilerin büyüme, gelişme ve verimliliği üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Kuraklık, bitkilerde osmotik dengeyi bozmakta, hücresel yapıların zarar görmesine yol açmakta ve biyokimyasal yolları etkileyerek metabolik süreçlerde aksamalara neden olmaktadır. Ancak, bitkiler bu zorlu koşullara karşı hayatta kalabilmek için çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirmiştir (El-Mouhamady ve ark., 2023).

4.1. Kuraklık Stresinin Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Kuraklık, bitkiler üzerinde bir dizi olumsuz etkiye yol açmaktadır.

Osmotik Stres ve Su Kaybı: Kuraklık, toprakta yeterli suyun bulunmaması nedeniyle bitkilerin su alımını kısıtlamaktadır. Bu da hücresel düzeyde osmotik stresi artırmakta ve su kaybına yol açmaktadır. Hücrelerdeki su kaybı, hücresel yapıları, enzimleri ve metabolik yolları bozmaktadır.

Ayrıca, su kaybı bitkilerin turgor basıncını düşürerek büyümelerini engellemektedir.

Yavaşlayan Büyüme ve Gelişme: Kuraklık, bitkilerin fotosentez, hücre bölünmesi ve hücre genişlemesi gibi temel büyüme süreçlerini yavaşlatmaktadır. Bu da genel büyüme geriliği ve düşük verim ile sonuçlanabilmektedir.

Yaprakların Sararması ve Dökülmesi: Su eksikliği, bitkilerde yaprak dökülmesine neden olabilmektedir. Yapraklar kurumakta, sararmakta ve zamanla dökülmekte, bu da fotosentez kapasitesinin azalmasına yol açmaktadır.

Tuz Birikimi: Kuraklık, toprakta tuz birikimini teşvik edebilmektedir. Azalan su miktarı nedeniyle tuzlar toprakta daha yoğun hale gelmekte ve bu da bitkilerde tuzluluk stresine neden olabilmektedir.

4.2. Kuraklık Stresine Karşı Bitkilerde Gelişen Tepkiler

Bitkiler, kuraklık stresine karşı hayatta kalabilmek ve bu zorlu çevresel koşullarda sağlıklı bir şekilde gelişebilmek için bir dizi biyolojik, moleküler ve fizyolojik adaptasyon mekanizması geliştirmiştir. Bu adaptasyonlar, bitkilerin su kaybını minimize etmelerine, suyu daha verimli kullanmalarına ve kuraklık koşullarının olumsuz etkileriyle başa çıkmalarına yardımcı olmaktadır. Moleküler düzeyde, kuraklık stresi, bitkilerde su kaybını telafi etmek için ozmotik dengeyi düzenleyen genlerin aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu genler, su kaybını sınırlamak amacıyla osmolitleyici bileşiklerin (örneğin, prolin ve trehaloz) sentezini artırmaktadır. Fiziksel düzeyde, kuraklık koşullarına tepki olarak stomaların kapanması, su kaybını sınırlayan önemli bir adaptif stratejidir ve bu süreç, absisik asit (ABA) gibi büyüme hormonlarının etkisiyle kontrol edilmektedir. Ayrıca, kök sistemi kuraklık koşullarında daha derinlere gitmekte ve köklerin su alım kapasitesini artırarak bitkilerin suya erişimini sağlamaktadır. Bitkilerde kuraklık stresine karşı gelişen diğer önemli tepkiler, hücresel düzeyde koruyucu proteinlerin (örneğin, LEA proteinleri) üretiminin artması ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkilerinin nötralize edilmesine yardımcı olan antioksidan enzimlerin aktivasyonudur. Bu mekanizmalar, bitkilerin kuraklık altında hücresel yapılarının bozulmasını önleyerek hayatta kalmalarını sağlamaktadır. Genel olarak, kuraklık stresine karşı gelişen bu adaptasyonlar, bitkilerin su

kısıtlaması koşullarında metabolik süreçlerini sürdürebilmelerini ve çevresel streslere karşı dirençlerini artırmalarını sağlamaktadır (Wang ve ark., 2023).

Osmotik Koruma ve Osmoregülasyon: Kuraklık stresine karşı en yaygın savunma mekanizmalarından biri, osmotik koruyucu bileşiklerin birikmesidir. Bu bileşikler, bitkilerin hücre içindeki osmotik basıncı artırarak su kaybını engellemekte ve hücrelerin turgorunu korumaktadır. Bu bileşiklerin üretimi, bitkilerin kuraklıkla başa çıkmasına yardımcı olmaktadır.

Prolin ve Şekerler: Prolin, bitkilerde kuraklık stresine karşı önemli bir osmotik koruyucu bileşik olarak işlev görmektedir. Prolinin, hücresel osmotik basıncı artırarak suyun hücre içinde tutulmasını sağladığı ve böylece su kaybını engellediği bilinmektedir. Bu molekül, özellikle kuraklık koşullarında, hücresel su dengesinin korunmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca, prolin, hücresel proteinlerin denatürasyonunu engelleyerek proteinlerin yapısal stabilitesini artırmakta ve bu sayede stres altında proteinlerin işlevsel bozulmalarını sınırlayarak hücresel fonksiyonların sürdürülmesini sağlamaktadır. Prolin, aynı zamanda hücre zarlarının lipid çift tabakasının stabilitesini artırarak zarların yapısal bütünlüğünü kormakta, bu da hücresel su kaybını ve zar hasarını önlemeye yardımcı olmaktadır. Bunun yanı sıra, sukroz, trehaloz ve diğer şekerler gibi osmolitler de bitkilerde kuraklık koşullarında önemli rol oynamaktadır. Bu şekerler, hücrede birikerek, osmotik basıncı artırmakta ve böylece hücrelerin su dengesini korumaktadır. Osmolitlerin, hücresel yapıları koruyarak stres altındaki hücrelerin su kaybına karşı direnç göstermelerini sağladığı gösterilmiştir. Örneğin, trehaloz gibi şekerler, hücre zarlarının stabilitesini artırarak, proteinlerin ve enzimlerin doğru katlanmasını ve işlevini sürdürebilmesini sağlamaktadır. Şekerlerin ayrıca, reaktif oksijen türlerinin (ROS) olumsuz etkilerine karşı hücreyi koruyarak, oksidatif stresin etkilerini azaltmaya yardımcı oldukları da bilinmektedir. Genel olarak, prolin ve şekerler, bitkilerin kuraklık stresine karşı geliştirdiği etkili savunma stratejileridir ve hücresel düzeyde su dengesini koruyarak, bitkilerin hayatta kalmalarını sağlamaktadırlar (Zulfiqar ve Ashraf, 2023).

4.3. Su Kaybını Azaltan Fizyolojik Tepkiler

Kuraklıkla mücadelede bitkiler, su kaybını azaltmaya yönelik çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Bu stratejiler, suyun daha verimli kullanılmasını sağlamaktadır (Leipner ve Ruta, 2024).

Stoma Kapanışı: Bitkiler, stomalarını (gözeneklerini) kapatarak su kaybını azaltmaya çalışmaktadırlar. Stomal kapanma, bitkilerin su kaybını sınırlayarak suyun korunmasına yardımcı olmaktadır. Bu, özellikle kuru koşullarda kritik bir adaptasyon stratejisidir.

Kök Gelişimi: Kuraklık altında bitkiler, kök sistemlerini derinleştirerek topraktaki suyu daha iyi alabilmektedirler. Derin kök gelişimi, bitkilerin su kaynaklarına erişimini artırarak kuraklık stresini hafifletmektedir.

5. Tuzluluk Stresine Karşı Tepkiler

Tuzluluk stresi, özellikle suyun tuzlu olduğu bölgelerde tarım ürünlerinin büyüme ve verimliliğini ciddi şekilde etkileyebilmektedir. Tuzluluk, toprakta ve sulamada çözünmüş tuzların (özellikle sodyum klorür - NaCl) yüksek konsantrasyonlara ulaşması ile ortaya çıkmakta ve bitkilerin fizyolojik, biyokimyasal ve genetik işlevlerini olumsuz yönde etkilemektedir. Tuzluluk stresi, bitkilerin su alımını kısıtlayarak hücrel osmotik dengenin bozulmasına, toksik iyon birikimine ve büyüme gerilemesine yol açmaktadır. Bu nedenle, tuzlu ortamlarda hayatta kalabilmek ve verimli üretim yapabilmek için bitkilerin bir dizi adaptif tepki geliştirmesi gerekmektedir (Shahzadi ve ark., 2024).

5.1. Tuzluluk Stresinin Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Tuzluluk, bitkilerde çeşitli olumsuz etkiler yaratmaktadır. Başlıca etkiler şu şekilde izah edilebilmektedir (Sharma ve ark., 2023).

Osmotik Stres ve Su Kaybı: Tuzlu ortamlarda, yüksek iyon konsantrasyonu nedeniyle toprak çözeltisi osmotik olarak daha yoğun hale gelmektedir. Bu durum, bitkilerin su alımını zorlaştırmakta ve dehidrasyona yol açmaktadır. Su kaybı, hücrel yapılar üzerinde tahribata yol açarak büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır (Karaköy ve ark., 2012).

Tuzlu İyonların Birikimi: Tuzluluk, bitkilerin hücrelerinde toksik iyonların birikmesine neden olabilmektedir. Özellikle, sodyum (Na^+) ve klorür (Cl^-) iyonlarının hücrelerde aşırı birikmesi, bitkilerin normal hücrel işlevlerini engellemektedir. Bu iyonlar, hücre zarlarında hasara yol açmakta ve enzimatik aktiviteleri bozarak bitkilerin sağlıklı gelişmesini engellemektedir.

Fizyolojik ve Metabolik Bozulmalar: Tuz stresi, bitkilerin biyokimyasal ve metabolik süreçlerini etkilemektedir. Fotosentez oranları düşmekte, klorofil sentezi azalmakta, solunum hızında değişiklikler görülmektedir. Bunun yanı sıra, bitkilerde büyüme hormonlarının üretimi değişmekte ve bu da büyüme geriliğine neden olabilmektedir.

5.2. Tuzluluk Stresine Karşı Bitkilerde Gelişen Tepkiler

Bitkiler, tuzluluk stresine karşı hayatta kalabilmek için çeşitli biyolojik, moleküler ve fizyolojik adaptasyonlar geliştirmiştir. Bu adaptasyonlar, bitkilerin tuzlu ortamlarda büyümesini ve gelişmesini sağlayan mekanizmaları içermektedir. Tuzluluk stresi ile başa çıkmak için başlıca gelişen tepkiler şu şekildedir.

5.3. Osmotik Dengeyi Sağlamak için Koruyucu Bileşiklerin Üretimi

Tuzlu ortamlarda, bitkilerdeki su kaybını telafi etmek ve hücrelerin su dengesini sağlamak için osmotik koruyucu bileşiklerin üretimi artmaktadır. Bu bileşikler, hücrelerdeki osmotik basıncı artırarak suyun hücre içinde tutulmasını sağlamaktadır.

Prolin: Tuzluluk stresi altında prolin, hücredeki su kaybını engelleyen önemli bir osmotik koruyucu bileşik olarak birikmektedir. Prolin, aynı zamanda hücredeki proteinlerin denatürasyonunu engelleyerek hücresel zararları azaltmaktadır (Hosseinifard ve ark., 2022).

Sukroz ve Trehaloz: Bu şekerler, hücre zarlarının stabilitesini artırarak su kaybını önlemektedir. Ayrıca, tuzlu ortamlarda hücrelerin su dengesini sağlamaya yardımcı olmaktadır.

5.4. Tuzlu İyonların Birikimini Engelleyen Mekanizmalar

Tuzluluk, sodyum (Na^+) ve klorür (Cl^-) iyonlarının hücrelerde birikmesine yol açmaktadır. Bitkiler, bu toksik iyonların hücrelerde birikimini engellemek veya etkilerini azaltmak için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir.

Na^+/H^+ Antiport Sistemi: Bu sistem, hücre içindeki sodyum iyonlarını hücre dışına atmaya yardımcı olurken, bunun yerine hidrojen iyonlarını (H^+) hücre içine almaktadır. Bu, hücre içindeki sodyum birikimini azaltmakta ve asidik bir ortam oluşumunu engellemektedir (Alam ve ark., 2024).

İyon Taşıma ve Depolama: Sodyum iyonlarının toksik etkilerini azaltmak için bitkiler, bu iyonları vakuol gibi hücre içi depolama alanlarında biriktirmektedir. Bu şekilde, sodyum iyonları sitoplazmaya zarar vermeden hücrelerde tutulmaktadır.

5.5. Antioksidan Aktivite ve Hücresel Koruma

Tuzluluk stresi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı birikmesine yol açmaktadır. ROS, hücrelerde oksidatif strese neden olarak lipid peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve DNA hasarına yol açabilmektedir. Bitkiler, bu zararı azaltmak için antioksidan sistemlerini aktive etmektedir (Patil ve Ram, 2024).

Glutasyon (GSH) ve Askorbik Asit: Bu bileşikler, hücredeki oksidatif hasarı azaltmaya yardımcı olan önemli antioksidanlardır. Tuzluluk stresi sırasında bu antioksidanların seviyeleri artmaktadır.

Peroksidaz ve Süperoksit Dismutaz (SOD): Bu enzimler, ROS'un etkilerini ortadan kaldırarak hücreyi oksidatif hasara karşı korumaktadır. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini, peroksidaz ise hidrojen peroksidi nötralize etmektedir.

5.6. Genetik ve Moleküler Tepkiler

Tuzluluk stresi, bitkilerde bir dizi genetik ve moleküler tepkimeyi tetiklemektedir. Bu tepkiler, bitkilerin stres altında hayatta kalmasını sağlayan mekanizmaların koordine edilmesinde kritik rol oynamaktadır.

SOS (Salt Overly Sensitive) Yolu: SOS yolu, tuzluluk stresiyle başa çıkmak için hücre içinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu yol, tuzlu ortamda sodyum iyonlarının hücre içine girmesini engelleyerek sodyum birikimini azaltmaktadır. SOS genleri, bu süreci düzenlemektedir (Gholizadeh ve ark., 2024).

Hormon Yanıtları: Tuzluluk, abscisic asit (ABA), gibberellin (GA) ve auxin gibi büyüme düzenleyici hormonların seviyelerini etkileyebilmektedir. ABA, özellikle tuz stresine karşı önemli bir hormon olup, su kaybını önleyerek stomaların kapanmasını sağlamaktadır. Ayrıca, tuz stresine karşı dayanıklılığı artıran genlerin ekspresyonunu düzenlemektedir.

5.7. İyon Dengeleme ve Tuz Toleransını Artıran Genetik Modifikasyonlar

Son yıllarda, tuzluluk stresi ile başa çıkabilen bitki çeşitlerinin geliştirilmesi amacıyla genetik mühendislik çalışmaları artmıştır. Tuz toleransı sağlamak için bazı genetik modifikasyonlar yapılmaktadır.

Tuz Toleransı Genlerinin Aktif Hale Getirilmesi: Bitkilerde tuz toleransı genleri, genetik mühendislik ile aktive edilebilmektedir. Bu genler, sodyum iyonlarının hücrelerden uzaklaştırılmasını ve osmotik dengeyi sağlayarak bitkilerin tuzlu ortamlarda hayatta kalmasını desteklemektedir.

Genetik Seçim ve Moleküler Markörler: Tuz stresine dayanıklı bitki çeşitlerini hızla geliştirebilmek için moleküler markörler kullanılarak genetik varyasyonlar tespit edilebilmektedir. Bu, tarımsal üretimin verimliliğini artıran önemli bir tekniktir (Ahmed ve ark., 2024).

Tuzluluk stresi, bitkilerde büyüme, gelişme ve verimlilik üzerinde ciddi olumsuz etkiler yaratmaktadır. Ancak, bitkiler bu zorlu koşullara karşı bir dizi biyokimyasal, fizyolojik ve genetik tepki geliştirerek adaptasyon sağlamaktadır. Osmotik koruyucu bileşiklerin üretimi, iyon dengesinin sağlanması, antioksidan aktivitelerin artırılması ve genetik yanıtların aktive edilmesi, tuz stresine karşı gelişen başlıca mekanizmalardır. Bu adaptasyonların anlaşılması, tuzluluk stresine dayanıklı bitki çeşitlerinin geliştirilmesinde ve tarımsal verimliliğin artırılmasında önemli bir rol oynamaktadır.

6. Sıcaklık Stresine Karşı Tepkiler

Sıcaklık stresi, bitkiler için önemli bir abiyotik stres faktörüdür ve özellikle yüksek sıcaklıklar, tarımsal üretimin verimliliğini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Sıcaklık stresinin bitkiler üzerindeki etkisi, sıcaklıkların artış derecesine ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Bitkiler, çevresel koşullara adapte olabilmek için bir dizi biyokimyasal ve fizyolojik yanıt geliştirmektedir. Sıcaklık stresi genellikle, yüksek sıcaklık (veya ısınma stresi) ve aşırı sıcaklık dalgaları olmak üzere iki şekilde ortaya çıkmaktadır. Bu stres koşulları bitkilerde hücresel yapıları ve işlevleri etkileyerek büyüme, gelişme ve verim üzerinde olumsuz etkiler yaratabilmektedir (Yadav ve ark., 2022).

6.1. Sıcaklık Stresinin Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Sıcaklık stresi, bitkilerin farklı biyolojik süreçleri üzerinde bir dizi olumsuz etki yaratmaktadır. Başlıca etkiler şu şekildedir (Zhang ve ark., 2024).

Enzim Aktivitesinin Azalması: Yüksek sıcaklıklar, bitkilerdeki enzimlerin yapısını bozmakta ve bu da enzimlerin etkinliğini azaltmaktadır. Enzimlerin bozulması, bitkilerin metabolik süreçlerini engellemekte, bu da fotosentez, solunum ve diğer biyokimyasal süreçlerin verimsiz hale gelmesine yol açmaktadır.

Proteinin Denatürasyonu: Sıcaklık stresi, proteinlerin denatürasyonuna yol açabilmektedir. Proteinin doğal yapısının bozulması, hücrelerin normal işlevlerini yerine getirememeye durumuna yol açmaktadır. Ayrıca, bu durum hücresel stresin artmasına ve hücre ölümüne neden olabilmektedir (Poudel ve Poudel, 2020).

Fotosentezde Azalma: Yüksek sıcaklıklar, fotosentez için gerekli olan enzimlerin aktivitesini engellemektedir. Bu, bitkilerin enerji üretiminde ve büyümesinde azalmaya yol açmaktadır. Aynı zamanda, stomaların açılması zorlaşır ve bu, su kaybına neden olabilmektedir.

Su Kaybı ve Dehidrasyon: Yüksek sıcaklık, bitkilerin su kaybını artırmaktadır. Stomaların açık kalması daha fazla su buharlaşmasına yol açmakta ve bitkilerde dehidrasyon riski artmaktadır. Su kaybı, hücrelerde osmotik dengenin bozulmasına ve bitkilerin hayatta kalmasını zorlaştırmaktadır.

Hücresel Membran Zararları: Yüksek sıcaklıklar, hücre zarlarının yapısını etkileyerek zarlarda sızıntı ve geçirgenlik artışına yol açabilmektedir. Bu durum, hücrelerin iç yapılarının zarar görmesine ve zarların bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır (Macar ve ark., 2023).

6.2. Sıcaklık Stresine Karşı Bitkilerde Gelişen Tepkiler

Bitkiler, sıcaklık stresine karşı hayatta kalabilmek için biyokimyasal ve fizyolojik bir dizi yanıt geliştirmiştir. Bu yanıtlar, bitkilerin sıcaklık stresine adapte olmasına yardımcı olmaktadır (Sihag ve ark., 2024).

6.3. Isı Şok Proteini (Heat Shock Proteins - HSP) Üretimi

Sıcaklık stresi, bitkilerde heat shock proteinleri (HSP'ler) üretimini teşvik eder. HSP'ler, bitkilerdeki proteinlerin doğru katlanmasını sağlamakta ve bu sayede sıcaklık stresi altında proteinlerin denatürasyonunu engellemektedir. HSP'ler, hücreleri zararlı sıcaklık koşullarından koruyarak, hücresel işlevlerin düzgün devam etmesine yardımcı olmaktadır.

HSP70 ve HSP90: Bu iki tip HSP, sıcaklık stresine karşı bitkilerdeki en yaygın proteindir. HSP70, proteinin katlanmasında ve zararlı sıcaklıklara karşı korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. HSP90 ise, stres altındaki hücresel işlevlerin düzenlenmesinde yer almaktadır (Shahbaz, 2024).

6.4. Osmotik Koruyucu Bileşiklerin Sentezi

Sıcaklık stresi, bitkilerde hücresel su kaybına ve dehidrasyona yol açabilmektedir. Bitkiler bu durumu engellemek için osmotik koruyucu bileşikler (örneğin, şekerler, amino asitler ve prolin) üretmektedir. Bu bileşikler, hücrelerin su dengesini koruyarak hücre içindeki su kaybını engellemekte ve osmotik basıncı düzenlemektedir.

Prolin: Yüksek sıcaklıklar, bitkilerde prolin birikimini artırabilmektedir. Prolin, hücredeki osmotik dengeyi korumaya yardımcı olmakta ve hücrelerin su kaybını engellemektedir.

Sukroz ve Trehaloz: Bu şekerler, hücrelerin su kaybını engellemeye yardımcı olmaktadır. Aynı zamanda, hücre zarlarının stabilitesini koruyarak protein ve lipitlerin denatürasyonunu önlemektedir (Hou ve ark., 2024).

6.5. Membran Stabilizasyonu

Yüksek sıcaklıklar, bitkilerdeki hücre zarlarının yapısını bozarak membran stabilitesini etkilemektedir. Bitkiler, sıcaklık stresi altında hücre membranlarının sıvı fazını korumak için çeşitli biyokimyasal yanıtlar geliştirmektedir. Membran lipitlerinin kompozisyonunda değişiklikler meydana gelir, bu da hücre zarlarının daha esnek olmasını sağlamakta ve ısıya dayanıklılığını artırmaktadır.

Fosfolipitlerin ve Sterollerin Düzenlenmesi: Sıcaklık stresi, fosfolipitlerin ve sterollerin üretimini artırabilmektedir. Bu bileşikler, hücre zarlarının sıvı fazını artırarak zarın stabilitesini korumaktadır.

6.6. Hormon Yanıtları

Sıcaklık stresinin bitkilerdeki hormon seviyeleri üzerinde önemli bir etkisi vardır. Bu hormonlar, sıcaklık stresine karşı bitkilerin yanıtlarını düzenlemekte ve adaptasyonlarını kolaylaştırmaktadır (Ma ve ark., 2024).

Abcisic Asit (ABA): ABA, sıcaklık stresi yanıtında önemli bir rol oynamaktadır. Yüksek sıcaklıklar, ABA seviyelerinin artmasına neden olabilmektedir. ABA, stomaların kapanmasına yol açarak su kaybını azaltmaktadır. Ayrıca, stresle ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenleyerek bitkilerin sıcaklık stresine karşı savunma mekanizmalarını aktive etmektedir.

Giberellin (GA) ve Auxin: Sıcaklık stresi, giberellin ve auxin gibi büyüme düzenleyici hormonların seviyelerini etkileyebilmektedir. Bu hormonlar, bitkilerin büyüme süreçlerini düzenlemekte ve sıcaklık stresine karşı hayatta kalmalarını sağlamaktadır.

6.7. Genetik ve Moleküler Tepkiler

Sıcaklık stresine karşı genetik ve moleküler tepkiler, bitkilerin soğuk koşullara karşı dayanıklılığını arttıran önemli faktörlerdir. Bu tepkiler, sıcaklık stresi altında gen ekspresyonunun düzenlenmesini içermektedir (Toklu ve ark., 2015).

Sıcaklık Şoku Faktörleri (HSF): Sıcaklık stresine karşı bitkilerde heat shock faktörleri (HSF'ler) aktif hale gelmektedir. Bu faktörler, HSP'lerin ekspresyonunu artırarak bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı direnç kazanmasını sağlamaktadır.

CBF Genleri: Soğuk stresinde olduğu gibi, sıcaklık stresi altında da bazı genler aktive olabilmektedir. Sıcaklık stresinin etkisini azaltabilen ve toleransı artıran genlerin belirlenmesi, modern ıslah tekniklerinde kullanılarak sıcaklık stresine dayanıklı bitki çeşitleri geliştirilebilir (Yang ve ark., 2024).

6.8. Sıcaklık Stresine Dayanıklı Bitki Geliştirme

Sıcaklık stresi, tarımsal verimi etkileyen önemli bir faktördür. Sıcaklık stresine dayanıklı bitkiler geliştirmek için çeşitli ıslah yöntemleri kullanılmaktadır.

Geleneksel Seçim Yöntemleri: Sıcaklık stresine dayanıklı bitkilerin elde edilmesinde geleneksel ıslah yöntemleri önemli bir yer tutmaktadır. Bu

yöntem, doğrudan bitki çeşitlerinin seçiminde ve yeni ıslah edilen çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır.

Genetik Mühendislik: Genetik mühendislik yöntemleri, bitkilerin sıcaklık stresine karşı daha dayanıklı hale gelmesini sağlayan genetik modifikasyonları içermektedir. Bu yöntemle, sıcaklık stresine dayanıklı genler bitkilere aktarılabilir.

Genomik Seçim ve Moleküler Markörler: Genetik markörler ve genomik seçim yöntemleri, bitkilerdeki sıcaklık toleransı ile ilişkili genetik varyasyonları hızlı bir şekilde tanımlamayı mümkün kılmaktadır. Bu yöntemler, hedeflenen bitki çeşitlerinin geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Mallem ve ark., 2024).

Sıcaklık stresi, bitkilerin büyümesi ve gelişmesi üzerinde önemli olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Ancak bitkiler, sıcaklık stresine karşı gelişen bir dizi biyolojik ve moleküler tepki ile bu stresi hafifletebilmektedirler. Isı şok proteinleri, osmotik koruyucu bileşiklerin üretimi, hormon düzeylerindeki değişiklikler ve genetik düzeydeki yanıtlar, bitkilerin sıcaklık stresine karşı dayanıklılığını artırabilmektedir. Bu yanıtları anlamak, sıcaklık stresi altında verimli tarım yapabilmek ve bitki ıslahı için yeni stratejiler geliştirmek açısından kritik öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

- Adel, S., Carels, N. (2023). Plant tolerance to drought stress with emphasis on wheat. *Plants*, 12(11), 2170.
- Ahmed, M.I.Y., Kamal, N.M., Gorafi, Y.S.A., Abdalla, M.G.A., Tahir, I.S.A., Tsujimoto, H. (2024). Heat Stress-Tolerant Quantitative Trait Loci Identified Using Backcrossed Recombinant Inbred Lines Derived from Intra-Specifically Diverse *Aegilops tauschii* Accessions. *Plants*, 13(3), 347.
- Alam, M.N., Islam, M.Z., Farukh, M.A., Chan, Z., Akhter, M.M., Abedin, M.T., Hossain, M.M. (2024). Detrimental effects of abiotic stress on wheat and its management techniques. *Cereal Research Communications*, 1-14.
- Ayaz, M., Ali, A., Ullah, Z., Ahmad, M., Sher, H., Hamayun, M., Khawaja, S. (2024). Screening Diverse *Aegilops tauschii* for osmotic stress tolerance through physio-biochemical and anatomical Characterization. *Genetic Resources And Crop Evolution*, 1-21.
- Bhandari, R., Paudel, H., Nyaupane, S., Poudel, M.R. (2024). Climate resilient breeding for high yields and stable wheat (*Triticum aestivum* L.) lines under irrigated and abiotic stress environments. *Plant Stress*, 11, 100352.
- Bi, H., Liu, Z., Liu, S., Qiao, W., Zhang, K., Zhao, M., & Wang, D. (2024). Genome-wide analysis of wheat xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH) gene family revealed TaXTH17 involved in abiotic stress responses. *BMC Plant Biology*, 24(1), 640.
- Bouremani, N., Cherif-Silini, H., Silini, A., Rabhi, N.E.H., Bouket, A.C., Belbahri, L. (2024). Osmotolerant plant growth promoting bacteria mitigate adverse effects of drought stress on wheat growth. *AIMS microbiology*, 10(3), 507.
- Chaouachi, L., Marín-Sanz, M., Barro, F., Karmous, C. (2024). Genetic diversity of durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. durum) to mitigate abiotic stress: Drought, heat, and their combination. *Plos one*, 19(4), e0301018.
- Deryabin, A., Zhukova, K., Naraikina, N., Venzhik, Y. (2024). Effect of Low Temperature on Content of Primary Metabolites in Two Wheat Genotypes Differing in Cold Tolerance. *Metabolites*, 14(4), 199.

- El-Mouhamady, A.B.A., El-Hawary, M.M., Habouh, M.A.F. (2023). Transgenic wheat for drought stress tolerance: A review. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 12(1), 77-94.
- Gholizadeh, F., Mirmazloum, I., Janda, T. (2024). Genome-wide identification of HKT gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.): Insights from the expression of multiple genes (HKT, SOS, TVP and NHX) under salt stress. *Plant Stress*, 13, 100539.
- Hosseini-fard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyła, Ł., Garnczarska, M. (2022). Contribution of exogenous proline to abiotic stresses tolerance in plants: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5186.
- Hou, Q., Gao, J., Qin, Z., Sun, H., Wang, H., Yuan, S., ... Yang, W. (2024). Genome-wide identification and expression analysis of sucrose transporter gene family in wheat lines under heat stress. *Agronomy*, 14(7), 1549.
- Iacob, I.N., Bonciu, E., Păunescu, G., Roşculete, E., Păunescu, R.A., Roşculete, C.A. (2023). Osmotic Adjustment And Drought Resistance Of Wheat (*Triticum Aestivum* L.)-A Short Review. " *Annals Of The University Of Craiova-Agriculture Montanology Cadastre Series*", 53(1), 149-156.
- Kononenko, N.V., Lazareva, E.M., Fedoreyeva, L.I. (2023). Mechanisms of Antioxidant Resistance in Different Wheat Genotypes under Salt Stress and Hypoxia. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23), 16878.
- Leipner, J., Ruta, N. (2024). Discovery of anisiflupurin, an inhibitor of cytokinin dehydrogenase that mitigates heat-induced yield reduction in rice. *Pest Management Science*.
- Li, Z., Ahammed, G.J. (2023). Hormonal regulation of anthocyanin biosynthesis for improved stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 201, 107835.
- Ma, Z., Zhao, B., Zhang, H., Duan, S., Liu, Z., Guo, X., ... Li, G. (2024). Upregulation of Wheat Heat Shock Transcription Factor TaHsfC3-4 by ABA Contributes to Drought Tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 977.
- Macar, O., Macar, T.K., Karaköy, T. (2023). Trifloxystrobin Pretreatment Alleviates Excessive Copper Stress in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cumhuriyet Science Journal*, 44(2), 268-275.

- Mallem, H., Nakkab, S., Houyou, Z. (2024). Biochemical Mechanisms in Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) under Abiotic Stress, Grown in a Hydroponic System. *Russian Journal of Plant Physiology*, 71(1), 7.
- Meddya, S., Meshram, S., Sarkar, D., Datta, R., Singh, S., Avinash, G., ... Thulasinathan, T. (2023). Plant stomata: An unrealized possibility in plant defense against invading pathogens and stress tolerance. *Plants*, 12(19), 3380.
- Mondal, S., Atta, K., Mukherjee, S., Chowdhury, S. R., Pal, A., Maitra, S., Hossain, A. (2023). Advancement of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) to survive against abiotic stresses in the era of the changing climate. In *Abiotic Stresses in Wheat* (pp. 357-374). Academic Press.
- Patil, A., Ram, M. (2024). Breeding for heat stress tolerance in wheat: A review. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 27(7), 227-237.
- Poudel, P.B., Poudel, M.R. (2020). Heat stress effects and tolerance in wheat: A review. *J. Biol. Today's World*, 9(3), 1-6.
- Qi, J., Mao, Y., Cui, J., Lu, X., Xu, J., Liu, Y., ... Li, C. (2024). The role of strigolactones in resistance to environmental stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 176(4), e14419.
- Robles-Zazueta, C.A., Crespo-Herrera, L.A., Piñera-Chavez, F.J., Rivera-Amado, C., Aradottir, G. I. (2024). Climate change impacts on crop breeding: Targeting interacting biotic and abiotic stresses for wheat improvement. *The Plant Genome*, 17(1), e20365.
- Shahbaz, M. (2024). Heat and Wheat: Adaptation strategies with respect to heat shock proteins and antioxidant potential; an era of climate change. *International Journal of Biological Macromolecules*, 256, 128379.
- Shahzadi, A., Noreen, Z., Alamery, S., Zafar, F., Haroon, A., Rashid, M., ... Fiaz, S. (2024). Effects of biochar on growth and yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Scientific Reports*, 14(1), 20024.
- Sharma, P., Mishra, S., Pandey, B., Singh, G. (2023). Genome-wide identification and expression analysis of the NHX gene family under salt stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 14, 1266699.
- Shokri-Gharelo, R., Derakhti-Dizaji, M., Dadashi, D., Chalekaei, M., Rostami-Tobnag, G. (2024). Bioinformatics and meta-analysis of

- expression data to investigate transcriptomic response of wheat root to abiotic stresses. *BioSystems*, 237, 105165.
- Sihag, P., Kumar, U., Sagwal, V., Kapoor, P., Singh, Y., Mehla, S., ... Dhankher, O. P. (2024). Effect of terminal heat stress on osmolyte accumulation and gene expression during grain filling in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *The plant genome*, 17(1), e20307.
- Song, M., Xu, X., Dong, Y., Bimpong, D., Liu, L., Li, Y., ... & Wang, Y. (2024). The Roles of Glutaredoxins in Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Biotic and Abiotic Stress Conditions, including Fungal and Hormone Treatments. *Agronomy*, 14(9), 2057.
- Tiwari, S., Muthusamy, S. K., Roy, P., Dalal, M. (2023). Genome wide analysis of BREVIS RADIX gene family from wheat (*Triticum aestivum*): A conserved gene family differentially regulated by hormones and abiotic stresses. *International Journal of Biological Macromolecules*, 232, 123081.
- Toklu, F., Baloch, F. S., Karaköy, T., Özkan, H. (2015). Effects of different priming applications on seed germination and some agromorphological characteristics of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(6), 1005-1013.
- Wang, X., Liu, H., Yu, Z., Zhu, W., Zhang, L., Wang, B. (2023). Characterization of wheat Wrab18 gene promoter and expression analysis under abiotic stress. *Molecular Biology Reports*, 50(7), 5777-5789.
- Yadav, M.R., Choudhary, M., Singh, J., Lal, M. K., Jha, P.K., Udawat, P., ... Prasad, P.V. (2022). Impacts, tolerance, adaptation, and mitigation of heat stress on wheat under changing climates. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2838.
- Yang, Y., Zhou, T., Xu, J., Wang, Y., Pu, Y., Qu, Y., Sun, G. (2024). Genome-Wide Identification and Expression Analysis Unveil the Involvement of the Cold Shock Protein (CSP) Gene Family in Cotton Hypothermia Stress. *Plants*, 13(5), 643.
- Zhang, K., Yan, F., Liu, P. (2024). The application of hyperspectral imaging for wheat biotic and abiotic stress analysis: A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 221, 109008.
- Zhang, L., Li, T., Wang, L., Cao, K., Gao, W., Yan, S., ... Zhang, H. (2024). A wheat heat shock transcription factor gene, TaHsf-7A, regulates seed dormancy and germination. *Plant Physiology and Biochemistry*, 210, 108541.

- Zribi, I., Ghorbel, M., Jrad, O., Masmoudi, K., Brini, F. (2024). The wheat pathogenesis-related protein (TdPR1. 2) enhanced tolerance to abiotic and biotic stresses in transgenic *Arabidopsis* plants. *Protoplasma*, 1-15.
- Zulfiqar, F., Ashraf, M. (2023). Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8), 4629-4651.

BÖLÜM 7

BITKİLERİN EPİGENETİK İLE İLİŞKİSİ

Sedanur GÜMÜŞ¹

Adnan AYDIN²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14580005>

¹ Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Iğdır, Türkiye, 0009-0009-9819-6948, gsgedanur0@gmail.com

² Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Iğdır, Türkiye, 0000-0002-8284-3751, adnan.aydin@igdir.edu.tr

1.GİRİŞ

Epigenetiğin “epigenesis” kavramı olarak antik Yunan dönemlerinde yeni bir canlının gelişimini açıklamak için Democritus, Aristoteles ve Leucippus gibi filozoflar tarafından ortaya atılmıştır (Tsafaris ve ark., 2008). Kelime anlamı eski Yunancada “epi” ön eki “üstü”, “ötesi” anlamlarını alırken “genesis” kelimesi ise “oluşum”, “köken” “doğuş”, anlamlarını içermektedir. Epigenesis kelimesinin ilk kullanıldığı dönemlerde “oluşum/ gelişim öncesi” aşama aşama gerçekleşen gelişme dönemleri kastedilmiştir (Chen ve ark., 2010). İlk kez de 1950 yılında Conrad Waddington tarafından bir bilim dalı adıyla kullanılmıştır. Epigenetik terimi günümüzde “DNA dizisindeki değişiklikler olmadan, mitoz ya da mayoz bölünme ile kalıtılabilen, gen fonksiyonunda meydana gelen değişiklikler” olarak tanımlanmaktadır. Son on yılda yapılan araştırmalarda, epigenetik olayların, özellikle yüksek organizasyonlu canlılarda önemli etkileri olduğu ileri sürülmüştür (Yokuş, 2013).

Holiday tarafından 1990 yılında moleküler terimler kullanarak DNA metilasyonunu epigenetik bir mekanizma olarak adlandırarak, epigenetik kavramını farklılaşmış hücreleri olan organizmalarda ortaya çıkan gen ifadesindeki değişiklikleri ve verilen gen ifadesi paternlerinin mitotik olarak kalıtımının incelenmesi şeklinde adlandırmıştır. Gen ifadesinde ortaya çıkan değişiklikler sadece mitotik olarak kalıtımı sağlanmamaktadır. Mitotik kalıtımın yanında mayotik olarak kalıtımının gerçekleştiği de kanıtlandıktan sonra epigenetiğin DNA molekülünün dizisinde herhangi bir değişim gerektirmeden gen ifadesinde mayotik ve mitotik olarak kalıtılabilir olan değişikliklerin incelenmesi olarak adlandırılmasına yol açmıştır. (Wu ve Morris, 2001).

Epigenetik başta tıp olmak üzere eczacılık, hayvansal ve bitkisel üretim ve temel bilimlerde çalışmakta olan bilim insanları için daha çok merak duygusu olmuştur. Bunun temel sebebi epigenetik bilim dalı ile moleküler biyolojinin Santral Dogma kuralında belirtilen ve hücredeki bütün fenotipsel ve fizyolojik olayların tek DNA molekülünün dizisinden şifrelenmesinin yapılmadığının ortaya konmuş olmasıdır (İnce ve ark., 2019). Tamamen aynı olan DNA dizisine sahip olup organizmanın farklı organlarında yer alan hücrelerin nasıl birbirinden bağımsız işlevlere sahip olabildikleri, örneğin aynı nükleoplazma içinde yer alan ve hemen hemen aynı DNA dizilerine sahip olan XX kromozomundan hangisinin inaktif hale

getirilebileceğinin nasıl belirlendiği, hücre bölünmesi ile insanda lenfositlerin nasıl fenotiplerini sabit bir şekilde koruyabildikleri, özdeş genetik materyale sahip olan tek yumurta ikizlerinin hastalıklara yakalanma ihtimallerinin nasıl farklı olabildiği, bir bitkinin sahip olduğu yapraklardaki farklılıkların sebebi, iki hücrenin aynı genetik materyale sahip olup nasıl farklı gelişimler gösterebildikleri gibi olayların bir bölümünün modern moleküler biyolojik teknikler ve yaklaşımları ile ortaya konulamaması üzerine epiallel ve epigenetik gibi kavramlar ortaya çıkmıştır Karaca ve İnce, 2015; İnan, 2021).

1.1.Epiallel ve epigenom

Epigenetik modifikasyonlar DNA dizisinde herhangi bir değişim olmadan histon asetilasyonu, kodlanmayan RNA'lar ve DNA metilasyonu aracılığı ile çeşitli mekanizmalar kullanarak kromatin yapısını değiştirmektedir. Bu epigenetik değişiklikler, çevreden gelen sinyallere karşı yanıt olarak gen ifadesinde değişiklikler ortaya çıkarabilen ve normal gelişimi düzenleyen bir epigenom ortaya koymaktadır (Yıldırım ve ark., 2024). Epigenomik kavramı ise kodlama yapmayan RNA'lar, genetik materyalin paketlenmesi, DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi genetik materyalin bütün modifikasyonlarını inceleyen alan olarak bilinmektedir. Bu tür modifikasyonlar farklı hücrelerde çeşitlilik gösterdiğinden dolayı gen ekspresyonunda değişikliğe neden olmaktadır (Srivastava ve ark., 2024).

Bir organizmanın tüm hücrelerinde aynı genom bulunmaktadır fakat epigenetik modifikasyonlar sonucunda meydana gelen epigenom ise, hücrenin tipine özgü olarak bulunur. Epigenom, çevresel şartlara yanıt olarak yaşam süresi boyunca değişkenlik gösterir (Klug ve ark., 2015; Dündar ve ark., 2016). Epigenetik varyasyon transkripsiyonu ve dolayısı ile fenotiplerde etki bıraktıklarından dolayı adaptasyona katkıda bulunabilmektedir (Kawakatsu ve ark., 2016). Epigenetik özellik taşımakta olan allellere epialleller denilmektedir. Farklı özellikteki epialleller arasında DNA dizisi farklı bulunmaz (Karaca ve Ince, 2017).

Agrio ve arkadaşları epiallel kavramını nesiller arasında kalıtsal olarak aktarılan epigenetik işaretlere dayanmakta olan gen varyantları olarak adlandırmışlardır. Yabani türlerde bulunan epiallellerin birçoğunun bitki popülasyonları içerisinde tanımlanmış olduğu fakat bulunan bu epiallellerden az miktarının ise agronomik veya fenotipik özellikler ile bağlantılı olduğundan söz etmişlerdir (Agrio ve ark., 2017)

Karaca ve arkadaşları epiallel kavramını çoğu sözlükte metilasyon açısından farklı olan aynı gruptan herhangi biri veya genetik olan bir lokusun spesifik DNA metilasyon modeli olarak adlandırılabilir olduğunu ortaya atmışlar. Ayrıca bu tanımların içerisine epigenetik mekanizmaların dahil edilmesi ile geniş bir tanıma sahip olduğundan söz etmişlerdir. Epialleli herhangi bir grubun aynı lokusta olup farklı kalıtsal kimyasal modifikasyonlar bulunduran sumoylasyon, metilasyon, ubikitinasyon ve fosforilasyon olarak adlandırmışlardır (İnce ve Karaca, 2019). Bitki epiallelleri patojen direnci, tohum ve bitki pigmentasyon düzeyleri ve çiçek tipinin yanı sıra çeşitli fenolojik özellikler de dahil olmakla beraber önemli ekolojik özellikleri de etkilemektedir. Epialleller ya da epigenetik alleller spesifik olan gen dizilerinde, gen dizilerinde metillenmiş olan nükleotitlerin dağılımı ve sayısı farklılık göstermektedir. Farklı epialleller içeren bitkiler, farklı fenotipler oluşturabilmektedir. Bitki epiallelleri genel olarak mitotik açıdan ve çoğu durumda da mayotik açıdan kalıtsallık göstermektedir (Kalisz, 2004; İnce ve Karaca, 2019).

Canlılar içerisinde bitkiler yaşam alanları olan ortamda hareket edemedikleri, buldukları ortamlarda zor koşullar altında hep mücadele ettikleri için epigenetik mekanizmaları çok iyi gelişmiş ve bu mekanizmaları kullanarak gen aktivasyonunda değişiklikler yapabilmektedirler. Bu mekanizmalar sayesinde ortamda beklenmeyen çevre şartlarında hayatta kalabildikleri ve bu epigenetik özellikleri sonraki nesillere kalıtarak soylarını devam ettirdikleri düşünülmektedir (İnce ve ark., 2019).

1.2. Vernalizasyon

Bitkiler, çevreden gelen uyarılara cevap olarak gelişimleri için olan programı değiştirebilme özelliğine sahiptir. Çiçeklenmeye geçiş aşaması gelişim programında önemli değişim olarak bilinir. Geçiş zamanlaması çoğu bitki türünde, bitkiler tarafından algılanmakta olan mevsimsel değişiklikler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Sıcaklık ve fotoperiyot, bitkilerin çiçeklenebilmesinde, doğru zamanın belirlenmesi için dikkat edilen 2 temel çevresel ipucu olarak bilinmektedir (Sung ve ark., 2004).

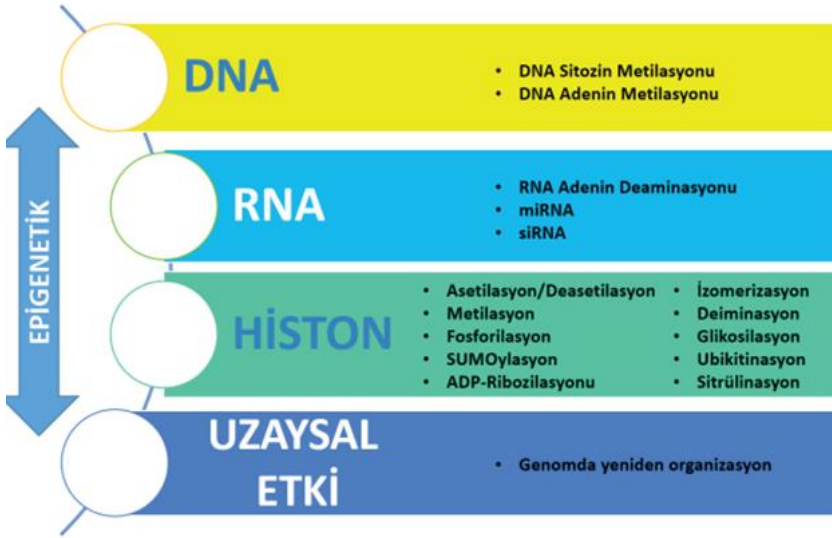
Vernalizasyon olayı, bitkinin soğuk ortama maruz kaldıktan sonra çiçeklenmenin gerçekleşmesini sağlayan bir terim olarak bilinir. Özellikle soğuk bir işlem ile çiçek açma özelliğinin hızlandırılması ya da kazanılması ile sonuçlanmaktadır (Chouard, 1960).

Vernalizasyon işleminden sonra bitkiler çiçeklenme özelliği kazanırlar. Fakat çiçeklenmeyi başlatamazlar. Çoğu bitki türü içerisinde, vernalizasyon işleminde kış mevsiminde düşük sıcaklıklarda uzun zaman bekletilmesi gerekmektedir. Bu faydalı bir adaptasyon olarak bilinir. Çünkü vernalizasyona ihtiyaç duyan çoğu türün iki yıllık ya da kış-yıllık bir alışkanlığı bulunur. Bitkiler bir mevsim içerisinde büyümeyi başlatmaktadırlar fakat çiçek açma süreci ikinci büyümenin olduğu mevsimin ilkbaharında gerçekleşmektedir. Vernalizasyon kavramı Latince’de “VERNUS” kelimesinden türetilen, Türkçede’de “İLKBAHARIN” anlamına gelmektedir. Vernalizasyon ihtiyacı olan çoğu türün, çiçeklenmesi uzun zamanlı periyotlarla desteklenmektedir. Bu periyot ihtiyacı, günlerin kısa olduğu mevsim olan sonbaharın sonlarına doğru çiçeklenme olayının gerçekleşmediğine dair güvence sağlamaktadır (Preston ve Fjellheim, 2022).

Bitkinin yumru, soğan ya da tohum gibi bazı kısımları belirli vejetatif gelişme aşamasına ulaştığı dönem içerisinde düşük sıcaklık derecelerine gereksinim duymaktadır. Bu gereksinim karşılandıktan sonra çiçeklenmenin uyarılması gerçekleşmektedir. Çiçek kök ve yumru kısımları (örneğin; Brüksel lahanası-tomurcuklar; havuç-kök; sapkerevizi-gövde; lahanalar-yaprak) tüketilmekte olan iki ya da tek yıllık bahçe bitkilerde vernalizasyon ihtiyacı fark edilmemektedir. Fakat tohumculukta vernalizasyon dikkat edilmelidir. Örneğin; Sümbül, lale ve nergis gibi bitkilerin çiçeklenmesi için yumrularının vernalizasyon ihtiyacının karşılanması gerekmektedir (Preston ve Fjellheim, 2022).

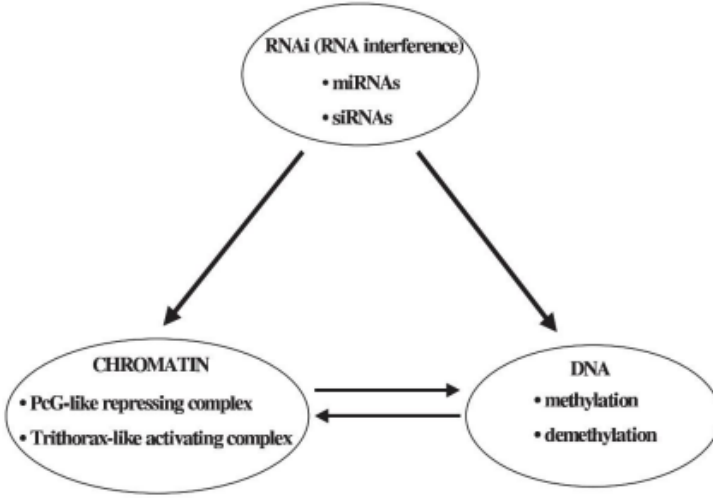
2.EPİGENETİK MEKANİZMALAR

Epigenez olarak da ifadesi yapılan epigenetik mekanizmanın çalışmasında içsel ya da çevresel bir sinyalin oluşumu, bu sinyalin doku ya da hücre tarafından algılanıp ve yanıt verilmesi sonucunda organel genomları veya nükleusta başta sitozin olmak üzere histon ve histon olmayan proteinlerdeki modifikasyonlar, DNA dizisi üzerinde bulunan kimyasal modifikasyonlar ile kromatin yapısında meydana gelen değişiklikler ya da her ikisinin (histon modifikasyonları ve DNA dizi modifikasyonu) birden oluşumuyla yeni bir hücresele fizyolojik olay ya da fenotip meydana gelmektedir (Karaca ve İnce, 2011; Karaca ve ark., 2019).



Şekil 1. Epigenetik mekanizmalar. **Asetilasyon:** Bir asetilin (COCH_3) bir hidrojen atomunun yerine eklenmesi; **Metilasyon:** CH_3 grubunun enzimsel eklenmesi, **Deasetilasyon:** Aminoasitteki asetil grubunun uzaklaştırılması; **Fosforilasyon:** Bir proteindeki aminoasite bir fosfat grubunun eklenmesinin uygun olan bir kina enzimi tarafından gerçekleşmesidir; **SUMOylasyon:** diğer proteinlerde bulunan amino asitlere SUMO proteinlerin (küçük ubikutin benzeri olan proteinler) eklenmesi işlemidir; **Ubikitinasyon:** Bir proteindeki aminoasite bir ya da daha fazla ubikutin eklenmesi olayıdır; **ADP-ribozilasyonu:** bir proteine ADP-riboz molekülünün eklenmesi olayıdır; **Prolin izomerizasyonu:** Bir izomerin konformasyonel olarak dönüşümü işlemidir; **Glikosilasyon:** Baz ile Deoksiriboz/riboz molekülü arasında bulunan kovalent bağın koparılması olayıdır; **Sitrülinasyon:** arginin amino asitinin başka bir aminoasit olan sitrülin aminoasitine dönüştürülmesinin post translyasyon modifikasyonu ile gerçekleşmesi işlemidir (Karaca ve ark., 2019).

Epigenetik mekanizmalar arasında önemli olan üç temel mekanizma bulunmaktadır. Bu mekanizmalar Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Üç epigenetik bilgi sisteminin (EIS) üçgeni ve aralarındaki etkileşim. Kromatin modifikasyonları için DNA metilasyonu ihtiyacı vardır ve bunun tersi de geçerlidir. sRNA tabanlı mekanizmalar (RNAi) her ikisinin de düzenlemesini yapmaktadır (Tsiftaris ve ark., 2007).

Bu tür üç epigenetik bilgi sistemi (EIS) - RNA interferansı, histon modifikasyonu ve DNA metilasyonu şimdiye kadar etki mekanizmaları ile birlikte tanımlanmıştır (Şekil 2).

2.1. RNA tabanlı kontrol mekanizmaları

RNA interferansı (RNAi), hücredeki gen ekspresyonunun düzenlenmesini sağlayan ve belirli genlerin aktivitelerini susturan ya da silen doğal bir mekanizma olarak bilinmektedir. RNA interferansı küçük RNA moleküllerinin (miRNA ve siRNA) aracılığı ile mRNA molekülüne bağlanmaktadır. Bu mRNA'ların translasyonunu ya da parçalanmasını engelleyerek genetik bilgilerin sahip olduğu ifadeyi kontrol etmektedir. RNA interferansı sisteminde siRNA ve miRNA olmak üzere farklı iki kontrol sistemi yer almaktadır. siRNA ve miRNA'nın fonksiyonel olarak görevi olan diğer RNA'lar ile etkileşim kurarak susturmayı ("Silencing") ya da gen aktivasyonu kontrol altına almaktadır. **siRNA (small interfering RNA)** molekülleri, Dışsal olan (eksogenik) kaynaklardan gelen, genellikle yabancı DNA'lar ya da virüsler gibi etkenlerden kaynaklı olan çift sarmallı RNA moleküllerine karşı verilen tepki olarak üretilmektedir. Bu RNA molekülleri,

hedef mRNA'lara bağlanıp, mRNA'ların inaktive olmasına ya da parçalanmasına olmasına yol açmaktadır. **miRNA (microRNA)** ise Endojen (içsel) olarak sentezlenmekte olan küçük RNA molekülleri olarak bilinmektedir. miRNA, hedef mRNA ile bağlanıp translasyonun gerçekleşmesini engellemekte ya da mRNA'nın inhibe olmasına sebep olmaktadır. miRNA, genel olarak daha geniş bir hedef mRNA yelpazesinde etki etmektedir.(Sunkar ve Zhu, 2004).

Aynı genomda sentezlenen küçük ebatlardaki RNA moleküllerine endogenik, başka bir genomdan sentezlenen RNA ebatlarına ekzogenik denir. Bu RNA molekülleri hedef mRNA'nın transkripsiyon işlemi sırasında, hemen translasyon sırasında ya da transkripsiyon sonrasında özel bir şekilde yıkıma uğraması ya da bozulmasındaki işlemler sürecine RNAi (RNA interferans) olarak adlandırılmaktadır (Matzke ve Birchler, 2005). RNA interferans kromatin yapısının değiştirilmesi ile asetilasyon, önkromatin heterokromatin dönüşümlerinde ve metilasyon olayları ile de ilgili süreçlerde görev alması sebebiyle epigenetik etkiye sahip olarak bilinmektedir. Ayrıca transpozon (hareket edebilen olan DNA dizileri) hareketinde kısıtlama yaptığından dolayı genomda önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (Deng ve ark., 2013).

2.2.DNA tabanlı kontrol mekanizması: “DNA metilasyonu”

DNA metilasyonu, Epigenetik kalıtımın temelini oluşturmaktadır (Toparslan ve ark., 2015). DNA metilasyonu işlemi sırasında DNA metiltransferaz enzimi tarafından CpG bölgelerine (guaninin takip ettiği sitozin bazına) bir metil grubu bağlanması işlemi olarak bilinir. Bu metilasyon işlemi sonucunda sitozinden 5-metil sitozin oluşmaktadır. Gen ifadesi üzerinde Me-CpG oluşumunun da önemli büyük etkisi vardır. İnaktif bir DNA molekülünün aktif olarak transkribe olan DNA molekülü ile karşılaştırıldığı zaman genellikle çok fazla ölçüde metillendiği görülür. Farklı dokularda yer alan özdeş genler karşılaştırıldığı zaman da metillenme olayının ifade edilmedikleri genlerin olduğu yerlerde daha fazla miktarda metillendikleri görülmektedir. Tam tersi durumda ise inaktif durumdaki bazı genlerin demetilasyonu, bu genleri aktif duruma getirmektedir (Herceg ve ark., 2008). Kimya biliminde bir metil grubunun (CH₃) kimyasal bileşiğe transferi ya da bağlanması metilasyon olarak adlandırılmaktadır. Metilasyon, sitozinde bulunan 5 nolu karbondaki gerçekleşmekte olan DNA molekülü üzerinde olduğu bilinen ender kovalent modifikasyonlardan biri olarak bilinmektedir. Metilasyon primidin dimerlerin oluşmasına sebep olmaktadır. Bunun yanısıra

X kromozom inaktivasyonu, transkripsiyonun baskılanması, organ ve doku spesifik gen ekspresyonunda, genomik imprinting ve transpozonların hareketlerinin kısıtlanması gibi olayların gerçekleşmesinde önemli etkileri bulunmaktadır (Kravets ve ark., 2010; Fujimoto ve ark., 2012). Bitki genomlarında özellikle de sitozin bazında yer alan metilasyonun oldukça yoğun miktarda yer alması sebebi ile A, G, C, T bazlarının dışında 5-metilsitozin (m5C) da beşinci baz olarak tanımlanmaktadır. Metilasyon durumu CG bazlarınca zengin olan DNA dizilerinde etkin bir şekilde yer almaktadır. CG nükleotidleri bakımından zengin olan DNA dizileri CG adacıkları olarak adlandırılmaktadır. CG adacıklarınca zengin olan DNA dizileri genel olarak hücrenin işleyişinden görevli (housekeeping) genlerin promotör bölgelerinde ya da transkripsiyon başlama bölümlerinde görülmektedir. Farklılaşmaları birlikte olan dokularda az miktarda bulunmaktadır (Kravets ve ark., 2010; Fujimoto ve ark., 2012). Günümüze kadar yapılan araştırmalar boyunca sitozin metilasyonunun, çoğu organizmada kanser, transgen suskunluğu, abiyotik ve biyotik stres, heterosiz, doğum öncesi ve embriyonik gelişim, bakteriyel konuk savunması, hormon regülasyonu, genom katlanması ve imprinting, türleşme olayları üzerinde etkisinin olduğu belirlenmiştir (Martienssen ve Colot, 2001; Demirci ve ark., 2013). DNA sitozin metilasyonu gibi önemli olan diğer bir epigenetik mekanizma işlem demetilasyondur. Demetilasyon işleminde sitozin üzerinde bulunan metil grubunun uzaklaştırılmasıdır. Bu işlemi gerçekleştiren translokasyon ailesine ait (TET) enzimlerdir. Demetilasyon işlemi aktif, pasif veya her ikisi birden olarak gerçekleşebilmektedir. Pasif DNA demetilasyonu genel olarak sentezlenmesi yeni olan DNA molekülü sarmalında DNMT1 enzimi tarafından replikasyon işlemi sırasında, aktif DNA demetilasyon olayı ise TET enziminin oksidasyonun gerçekleşmesinden sonra 5-meC bazının uzaklaştırılması şeklinde gerçekleşen olaylar olarak bilinmektedir (Chen ve ark., 2010; Meyer, 2011).

2.3.Histon ve histon olmayan protein destekli mekanizmalar

Histonlar, ökaryotik hücrelerde kromatin yapısının temel protein bileşenleri olarak bilinir. Her nükleozom, iki kopya halinde bulunan Histon 3 (H3), Histon 2A (H2A), Histon 2B (H2B), ve Histon 4 (H4) proteinlerinden oluşan bir ana histon oktomeri ile çevresindeki yaklaşık 147 baz çiftlik DNA'dan meydana gelmektedir. Bu nükleozom yapıları, histon adı verilen bağlayıcı proteinlerle birbirlerine bağlanarak DNA'nın sıkıca paketlenmesini sağlar. Histon proteinleri yalnızca "DNA paketleme" işleviyle tanımlanmaz,

aynı zamanda kromatin dinamiğinin düzenleyicileri olarak da önemli bir rol oynarlar. Histonların N-terminal kuyrukları üzerindeki modifikasyonlar, kromatin fonksiyonunu değiştirerek gen düzenlenmesi, DNA onarımı ve kromozomların kondansasyonu gibi bir dizi biyolojik süreçte kritik rol oynar. Bu modifikasyonlar, hücrel faaliyetlerin düzenlenmesinde ve genetik materyalin doğru bir şekilde işlenmesinde belirleyici faktörlerdir (Chen ve ark., 2010).

Histonlar nüklear ve DNA molekülü proteinlerle etkileşimlerini değiştirmek amacıyla post-transkripsiyonel modifikasyonlara uğramaktadır. Histon kuyruklarında gerçekleşen modifikasyonlar; Ubikitinasyon (Transkripsiyon aktivasyonunda), Metilasyon (gen regülasyonunda ve Transkripsiyon baskılanması) Asetilasyon (telomerlerin baskılanması, Transkripsiyon aktivasyonu, ve DNA tamirinde), Fosforilasyon (mitozda ve DNA tamirinde), SUMOylasyon (gen regülasyonu ve Transkripsiyon baskılanması), ADP-Ribozilasyon (hücrel sinyalleşme ve DNA onarımı ve), İzomerizasyon (Transkripsiyon işleminde), Deaminasyon (Sitrülinasyon) ve Glikosilasyon önemli bir yere sahip olup tümü geri dönüşümlü olarak bilinir ve spesifik olan bir enzim tarafından gerçekleştirilmektedir (Berger, 2007; Chen ve ark., 2010). Bu modifikasyonlar primer olarak, histon proteinlerinin sahip olduğu N-terminal kuyruklarında oluşmakta ve en az iki şekilde kromozom fonksiyonunu etkilediği bilinmektedir. deasetilasyon ise histonların tekrar oluşmasında, Asetilasyon ise histonların ayrılmasına görev yapmaktadır (Cloos ve ark., 2008; Seffer ve ark., 2013).

2.4.Uzaysal Etki

Hem kromozom yapısında meydana gelen değişiklikler hem de DNA molekülüne bağımlı proteinler, çekirdek içinde bulunan genlerin ve daha büyük alanların konumlandırılmasında etkilidir. Sekansa özgü olan DNA molekülüne bağımlı proteinleri alan cis etkisindeki DNA elemanları ile Tek tek genlerin sahip olduğu sabit çekirdeksel işaretlere göre konumsal olacak şekilde konumlandırılması, kontrol edilebilmektedir. Bu konumlandırma, genomun mekânsal/uzaysal olarak organizasyonunun DNA molekülüne bağlama proteinleri için bağlanma bölgeleri aracılığıyla genetik olacak şekilde kodlanabileceğini ve ayrıca kromatin yapısında meydana gelen değişiklikleri potansiyel olarak genetik olmayan mekanizmalar yolu ile içerebileceğini gösterir. Çekirdek içindeki bulunan kromozomların konumu, hücre tipi ile de ilişkisi bulunmaktadır. Yüksek oranda kopyalanma bulunduğundan gen

açısından zengin kromozomlar, çekirdeğin merkezi yönüne doğru konumlandırılmaya meyilliyken gen açısından fakir olan kromozomlar, nükleer çevre yönüne doğru konumlanma eğiliminde bulunmaktadır (Prada ve ark., 2004). Çoğunlukla Kromatin modifikasyonları, mekansal pozisyonla ilişki bulunmaktadır. Bazı durumlar içim genomun mekansal düzenlemesinin oluşturulmasında ihtiyaç duyulmaktadır. Kromatin değişimleri ve Transkripsiyon faktörleri birbirlerini etkilemektedir. Dolaylı etkilere sahip olduklarından dolayı çoğu durum sırasında bu mekanizmalardan herhangi birinin, tek başına uzaysal konumlandırma için yeterli olup olmadığı hakkında henüz belirli bir bilgiye rastlanılmamıştır. Üstelik, transkripsiyon faktörlerinin işlevi, post-translasyonel modifikasyonlarından SUMOylasyon ve asetilasyon gibi düzenlenebilmektedir (Texari ve ark., 2013). Hem kromatin modifikasyonlarının hem de DNA molekülüne bağımlı proteinlerin, genomun uzaysal/ mekansal organizasyonunu kontrol etmek için önemli etkisinin olduğu durumlarda, bir kombinasyon mekanizması ile ya da aynı lineer yolda işlev gördüğü düşünülmektedir. Transkripsiyon faktörleri gibi sekansa özgü olan DNA bağımlı proteinler için bulunan bağlanma bölgeleri, uzaysal konumlandırmayı ve kromozom katlanmasını etkilemekte olan genetik bilgi anlamında işlev görmektedir. Kromozomal alanların konumlandırılması ve genetik olmayan kromatin değişikliklerden olan değişken histonlar ve histon metilasyonu gibi çekirdek içerisinde bulunan bireysel genlerin kontrolünde önemli rollerinin olduğu bilinmektedir (Bricker, 2017).

3.EPİGENETİK MEKANİZMALARIN BELİRLENMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

3.1.DNA metilasyonunun tespiti

Bu desenlerin tespiti için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler generasyonlar boyunca metilasyon desenlerinin kalıtımının nasıl olduğu hakkında bilgi vermektedir. Bisülfite muamelesi Metilasyon desenlerinin tespiti ile ilgili olan yöntemlerin temelini oluşturmaktadır. DNA molekülü ile Sodyum bisülfite kimyasal tepkimesi sonucunda normal olan sitozin bazları urasil bazlarına dönüşürken metilasyonu olan sitozin (C) bazları meydana gelen tepkimeden etkilenmezler. Polimeraz zincir reaksiyonları (PZR) sırasında da urasil (U) bazları timin (T) bazları replike olacaklarından dolayı yapılan işlem sonunda ilgili dizideki metillenmemiş olan tüm sitozin bazlarının yerini timin bazları alacaktır. DNA metilasyon desenleri meydana gelen bu farklılıklar temel alınarak belirlenmektedir. (Toparslan ve ark., 2015).

3.1.1. Metilasyona özgü polimeraz zincir reaksiyonu (MSP)

İlk olarak bu yöntem 1996 yılında Herman ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu yöntemde sırasında metilasyon deseni belirlenmesi yapılacak olan kısımların dizi bilgisine ihtiyaç duyulmaktadır. DNA molekülünün bisülfite ile muamelesi DNA özütleme işleminden sonra gerçekleşmektedir. DNA molekülünün muhtemel olan metilasyon durumuna göre DNA özütleme işleminin ardından negatif (M-) ve pozitif (M+) adı verilen CpG alanlarına uygun olacak şekilde tasarlanmış olan primer setleri ile polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gerçekleşmektedir. İşlem sırasında Kullanılmakta olan primer setlerinin çoğaltım gerçekleştirip, gerçekleştirilmemesine bakılmakta olup metilasyon deseni belirlenmektedir. Primer tasarımının dikkatli bir şekilde yapılması bisülfite muamelesinin uygun koşul ve sürede gerçekleşmesi değerlendirme açısından kritik bir öneme sahiptir. (Herman ve ark., 1996).

3.1.2. Southern Blot ve COBRA prosedürü

Bu yöntemlerin esası metilasyona duyarlı (insensitive) olan ve metilasyona duyarlı (sensitive) olan restriksiyon endonükleazların kullanım esasına dayanmaktadır. Southern Blot yönteminde DNA özütleme yapıldıktan hemen sonra genomik DNA molekülü üzerinde özdeş dizi için spesifik özellikte olan duyarlı ve duyarlı enzimler ile kesim işlemi yapılmakta ve sonucunda ortaya çıkan fragmentler değerlendirilmektedir. Oluşan bu fragmentler özgü problemler aracılığıyla hibridizasyon işlemi yapılarak otoradyografik ayrımların gerçekleşmesi sağlanmaktadır. Southern Blot yönteminin diğer yöntemlerden farkı ise bisülfite ile muamelede bulunmamasıdır (Herman ve ark., 1996). İşlemden sağlıklı sonuçlar alınabilmesi için endonükleazlar kullanılan kesim aşamasının yine uygun süre ve koşullarda gerçekleştirilmesine gereksinim duyulmaktadır. Birleştirilmiş olan bisülfite- kesim enzimi yöntemi (COBRA - Combined bisulfite restriction enzyme assay) prosedüründe DNA özütleme işleminin sonra PZR çoğaltımı ve bisülfite muamelesi yapılmaktadır. PZR işlemi sonunda DNA molekülü dizisinde sadece metillenmiş olan bölgeler sitozin bazı olarak kalacağından dolayı bu bölgelere tanımlı olan restriksiyon endonükleaz enzimleri kullanılarak kesim olayı gerçekleştirilmektedir. Böylelikle metilasyon desenin tanımlanması yapılmaktadır (Eads ve Liard, 2002).

3.1.3.Tüm genom bisülfıt dizileme (WGBS)

Epigenetiğin manzara, hastalık ve sağlık üzerinde bulunan etkileri hakkında ayrıntılı bilgi sunan tüm genom bisülfıt dizilemesini (WGBS), yeni nesil dizilemedeki (NGS) ve bisülfıt bazlı teknolojilerdeki ilerlemeler mümkün kılmıştır (Marques ve ark., 2018). WGBS, Etkili bir strateji olacak şekilde, dizileme yapılmadan önce genomik DNA molekülünü ayrı ayrı olarak metillenmiş sitozinleri sodyum bisülfıtla işleyerek belirleyebilmektedir (Li ve ark., 2010).

Bisülfıt tedavisi, metillenmiş sitozinleri bozulmaya uğramadan metillenme işlemi gerçekleştirilmemiş sitozin bazlarını urasil bazlarına dönüştürerek bırakır. Bu yapılan değişiklik, metilasyon sitozin tanımlaması ve doğru hizalama için benzer şekilde dönüştürülmüş bir referans genomuyla bisülfıt dönüştürülmüş okumaların eşlenmesine ihtiyaç duyulduğundan WGBS veri işlemeyi karmaşık bir duruma getirebilmektedir (Li ve ark., 2010). WGBS verilerini işleme amacı ile birçok iş akışı ve araç geliştirilmiştir, fakat analizin yürütülmesi, hesaplamalı biyolojide sınırlı deneyime sahip olan biyoinformatik bilgisi olmayanlar için kolay bir işlem olarak bilinmemektedir. Genellikle depolamaya özelliğine sahip yüksek performanslı olan bilgi işlem kaynakları ve önemli hesaplama gücüne gerek duyulmaktadır. Bu arada biyomedikal alanı, son yıllarda üretilmekte olan muazzam miktara sahip veriyi yönetmek için yeni platform ve yöntemler arayışında bulunmaktadır. Aranılan bu yöntemde WGBS veri kümeleri örnek verilebilmektedir (Leonelli, 2019).

3.1.4.Bisülfıt Dizileme

İlk olarak Frommer ve arkadaşları tarafından 1992 yılında tanımlanması yapılmıştır. Bisülfıt ile baz dizisi hakkında herhangi bir bilgi bilinmeyen DNA molekülünün muamelesi sonrasında metillenmemiş sitozin bazlarının urasil bazına dönüşmesi, amplifikasyon işleminin aşamasında ise timin bazının replike olmasına dayanarak gerekli olan metilasyon desenlerinin belirlenmesi olayıdır. Bisülfıt muamelesi sonucunda elde edilen DNA molekülünün dizi verilerinde değişmeden sabit kalan sitozin bazları metillenmiş, dizideki yeni timin bazları ise metillenmesi gerçekleştirilmemiş sitozin bazlarını ifade etmektedir (Frommer ve ark., 1992).

Tablo 1: Bitkiler ve epigenetik üzerine yapılan bazı çalışmalar

	Bitki	Epigenetik Mekanizma	Kaynak
1	Kişniş Bitkisi (<i>Coriandrum sativum</i>)	DNA Metilasyon	(Göçer, 2024)
2	Mısır (<i>Zea mays</i>)	Sitozin metilasyonu	(Göttel ve Messing, 2013)
3	Pamuk (<i>Gossypium L.</i>)	DNA Metilasyonu	(Sağır, 2020)
4	Arabidopsis	Vernalizasyon	(Gao ve He; 2023)
5	Buğday (<i>Triticum aestivum</i>)	Vernalizasyon	(Li ve ark., 2024)
6	<i>Thymus kotschyanus</i>	DNA hipometilasyonu	(Kamali ve ark., 2023)
7	<i>Gossypium hirsutum</i>	Histon modifikasyonu	(Wang ve ark., 2024)
8	Arabidopsis	Histon modifikasyonu	(Nishio ve ark., 2024)
9	Arabidopsis	Histon deasetilasyonu	(Du ve ark., 2024)
10	Rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	DNA Metilasyonu	(Hussein ve ark., 2024)

4.SONUÇLAR

Epigenetik, bitkilerde çevresel faktörlerin genetik ifadeyi değiştirmeden bitki davranışını nasıl şekillendirdiğini anlamamıza yardımcı olan önemli bir alandır. Bitkiler, çevrelerindeki değişikliklere genetik materyallerinde doğrudan bir değişiklik yapmadan uyum sağlarlar. Bu süreç, epigenetik modifikasyonlarla gerçekleşir ve bu modifikasyonlar, bitkinin genetik yapısını değiştirmeden genetik ifadeyi etkiler. Bitkilerdeki epigenetik değişimler, genellikle histon modifikasyonları, DNA metilasyonu ve RNA tabanlı düzenlemeler gibi mekanizmalarla ortaya çıkmaktadır. Bu mekanizmalar, genlerin kapanıp açılmasını kontrol eder. Örneğin, histon modifikasyonları ile de kromatin yapısının yoğunluğu değiştirilerek genlerin erişilebilirliği düzenlenir ya da DNA metilasyonu ile genler kapanabilir veya açılabilir.

Bitkiler, sıcaklık değişiklikleri, çevresel stres koşullarına, besin eksiklikleri ya da su eksikliği gibi etkilere hızlı bir şekilde yanıt verir. Bu stresler, bitkilerin genetik yapısını değiştirmeden, genetik ifade seviyelerini değiştiren epigenetik düzenlemelere yol açar. Örneğin, bir bitki kuraklık altında, su kaybını azaltan genlerin aktif hale gelmesi için epigenetik değişiklikler geçirebilir. Bu değişiklikler, bitkilerin daha verimli bir şekilde hayatta kalmasına yardımcı olabilir.

Epigenetiğin Bitki İslahında da önemli bir yere sahiptir. Bitki ıslahı, gıda ve tarım üretiminde daha kaliteli, dayanıklı ve verimli bitkiler elde etmek için yapılan bilimsel bir süreç olarak bilinir. Bu süreç, bitkilerin genetik özelliklerini değiştirmek ve bu özellikleri iyileştirmek için çeşitli yöntemler kullanarak yeni çeşitler yaratmayı hedefler. Bitki ıslahında epigenetik, bitkilerin çevresel koşullara hızla adapte olabilmelerini sağlamak için kullanılır. Geleneksel ıslah yöntemleri genetik değişikliklere dayalıdır, ancak epigenetik modifikasyonlar bitkilerin adaptasyon yeteneklerini hızla iyileştirebilir. Örneğin, daha dayanıklı bitkiler geliştirmek için çevresel stres koşullarına tepki veren genetik ifadelerin epigenetik yollarla düzenlenmesi sağlanabilir. Epigenetik sayesinde bitki ıslahında bitkilerin genetik yapısında herhangi bir değişim meydana getirilmeden bitkinin morfolojik ve fizyolojik özelliklerinde değişiklik yapılabilir. Bu da ıslah çalışmalarında daha kısa zamanda hızlı bir şekilde istenilen özellikte bitkilerin ortaya çıkarılmasını sağlayabilmektedir.

Bitkilerde epigenetik, genetik yapıyı değiştirmeden çevresel değişimlere hızla uyum sağlama yeteneği sağlar. Bu özellik, bitki ıslahında yeni yaklaşımlar geliştirilmesine yardımcı olur. Epigenetik modifikasyonlar, bitkilerin, dayanıklılığını, verimliliğini ve adaptasyon kapasitesini artırarak daha sürdürülebilir tarım uygulamalarına olanak tanıyabilir. Bu sayede ıslah başta olmak üzere yapılan çalışmalarda kısa zamanda verim alınabilme ihtimali yüksek olabilecektir.

KAYNAKÇA

- Agorio, A., Durand, S., Fiume, E., Brousse, C., Gy, I., Simon, M., ... & Bouche, N. (2017). An Arabidopsis natural epiallele maintained by a feed-forward silencing loop between histone and DNA. *PLoS Genetics*, *13*(1), e1006551.
- Barros-Silva, D., Marques, C. J., Henrique, R., & Jerónimo, C. (2018). Profiling DNA methylation based on next-generation sequencing approaches: new insights and clinical applications. *Genes*, *9*(9), 429.
- Berger, S.L. (2007). The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature*, *447*(7143), 407-412.
- Brickner, J. (2017). Genetic and epigenetic control of the spatial organization of the genome. *Molecular biology of the cell*, *28*(3), 364-369.
- CA, E. (2002). Combined bisulfite restriction analysis (COBRA). DNA methylation protocols. *Methods in Molecular Biology*, *200*, 71-85.
- Chen, M., Lv, S., & Meng, Y. (2010). Epigenetic performers in plants. *Development, growth & differentiation*, *52*(6), 555-566.
- Chouard, P. (1960). Vernalization and its relations to dormancy. *Annual Review of Plant Physiology*, *11*(1), 191-238.
- Cloos, P. A., Christensen, J., Agger, K., & Helin, K. (2008). Erasing the methyl mark: histone demethylases at the center of cellular differentiation and disease. *Genes & development*, *22*(9), 1115-1140.
- Du, X., Gao, Y., Zhang, H., Xu, X., Li, Y., Zhao, L., ... & Wang, H. (2024). HDA6 modulates Arabidopsis pavement cell morphogenesis through epigenetic suppression of ROP6 GTPase expression and signaling. *New Phytologist*, *241*(6), 2523-2539.
- Frommer, M., McDonald, L. E., Millar, D. S., Collis, C. M., Watt, F., Grigg, G. W., ... & Paul, C. L. (1992). A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *89*(5), 1827-1831.
- Fujimoto, R., Sasaki, T., Ishikawa, R., Osabe, K., Kawanabe, T., & Dennis, E. S. (2012). Molecular mechanisms of epigenetic variation in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(8), 9900-9922.
- Gao, Y., Chen, J., Li, K., Wu, T., Huang, B., Liu, W., ... & Gao, S. (2013). Replacement of Oct4 by Tet1 during iPSC induction reveals an important role of DNA methylation and hydroxymethylation in reprogramming. *Cell stem cell*, *12*(4), 453-469.

- Gao, Z., & He, Y. (2024). Molecular epigenetic understanding of winter memory in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 194(4), 1952-1961.
- Goettel, W., & Messing, J. (2013). Epiallele biogenesis in maize. *Gene*, 516(1), 8-23.
- Göçer, E. U. Tuz Stresi Altındaki Kışniş Bitkisinin (Coriandrum sativum) DNA Metilasyon Modlarının RAPD Markırları ile Belirlenmesi. *Journal of Agriculture*, 7(1), 1-9.
- He, G., He, H., & Deng, X. W. (2013). Epigenetic variations in plant hybrids and their potential roles in heterosis. *J. Genet. Genomics*, 40(5), 205-210.
- Herman, J. G., Graff, J. R., Myöhänen, S. B. D. N., Nelkin, B. D., & Baylin, S. B. (1996). Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proceedings of the national academy of sciences*, 93(18), 9821-9826.
- Hussein, A. S., El-Senosi, Y. A., Arafa, M. M., & Elmaghraby, I. (2024). Quercetin or Rosmary extract mitigates Manganese chloride-induced Neurotoxicity through Regulation of DNA Methylation and Histone Acetylation and alleviation of apoptosis in rats. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 14(6), 930-935.
- İnan, S. (2021). Genin Ötesine Geçmek: Biyoloji Eğitiminde Epigenetik. *İnönü Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(15), 74-89.
- İNCE, A. G., & KARACA, M. (2019). Epigenetik Mekanizmalar ve Tarımsal Üretimde Epigenetik Yaklaşımlar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 12(2), 51-58.
- Kalisz, S., & Purugganan, M. D. (2004). Epialleles via DNA methylation: consequences for plant evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(6), 309-314.
- Karaca, M. Ve Ğnce A. G. 2015. Moleküler Biyoloji Ders Notu. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Basımevi Yayınları: 23, Ders Kitabı, Antalya, 221s.
- Karaca, M., & Ince, A. G. (2017). Molecular markers in Salvia L.: past, present and future. *Salvia biotechnology*, 291-398.
- Kawakatsu, T., Huang, S. S. C., Jupe, F., Sasaki, E., Schmitz, R. J., Urich, M. A., ... & Schork, N. J. (2016). Epigenomic diversity in a global collection of Arabidopsis thaliana accessions. *Cell*, 166(2), 492-505.
- Kravets, A. P., Mousseau, T. A., Litvinchuk, A. V., Ostermiller, S., Vengzhen, G. S., & Grodzinskiy, D. M. (2010). Wheat plant DNA

- methylation pattern changes at chronic seed γ irradiation. *Cytology and genetics*, 44, 276-279.
- Leonelli, S. (2019). *Data-centric biology: A philosophical study*. University of Chicago Press.
- Li, N., Ye, M., Li, Y., Yan, Z., Butcher, L. M., Sun, J., ... & Wang, J. (2010). Whole genome DNA methylation analysis based on high throughput sequencing technology. *Methods*, 52(3), 203-212.
- Li, P., Demirci, F., Mahalingam, G., Demirci, C., Nakano, M., & Meyers, B. C. (2013). An integrated workflow for DNA methylation analysis. *Journal of genetics and genomics*, 40(5), 249-260.
- Li, Y., Jin, L., Liu, X., He, C., Bi, S., Saeed, S., & Yan, W. (2024). Epigenetic control on transcription of vernalization genes and whole-genome gene expression profile induced by vernalization in common wheat. *Plant Diversity*, 46(3), 386-394.
- Martienssen, R. A., & Colot, V. (2001). DNA methylation and epigenetic inheritance in plants and filamentous fungi. *Science*, 293(5532), 1070-1074.
- Matzke, M. A., & Birchler, J. A. (2005). RNAi-mediated pathways in the nucleus. *Nature Reviews Genetics*, 6(1), 24-35.
- Meyer, P. (2011). DNA methylation systems and targets in plants. *FEBS letters*, 585(13), 2008-2015.
- Nishio, H., Kawakatsu, T., & Yamaguchi, N. (2024). Beyond heat waves: unlocking epigenetic heat stress memory in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 194(4), 1934-1951.
- Palladino, M. A., Cummings, M. R., Spencer, C. A., & Klug, W. S. (2015). *Concepts of Genetics*. Pearson Higher Ed.
- Parada, L. A., McQueen, P. G., & Misteli, T. (2004). Tissue-specific spatial organization of genomes. *Genome biology*, 5, 1-9.
- Preston, J. C., & Fjellheim, S. (2022). Flowering time runs hot and cold. *Plant Physiology*, 190(1), 5-18.
- Sağır, A. *Pamukta (Gossypium L.) epiallellerin tespitiinde kullanılabilir GS-KUP markırlarının geliştirilmesi* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Seffer, I., Nemeth, Z., Hoffmann, G., Matics, R., Seffer, A. G., & Koller, A. (2013). Unexplored potentials of epigenetic mechanisms of plants and animals—theoretical considerations. *Genetics & Epigenetics*, 5, GEG-S11752.

- Srivastava, U., Kanchan, S., Kesheri, M., Gupta, M. K., & Singh, S. (2024). Types of omics data: Genomics, metagenomics, epigenomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics, and phenomics. In *Integrative Omics* (pp. 13-34). Academic Press.
- Sunkar, R., & Zhu, J. K. (2004). Novel and stress-regulated microRNAs and other small RNAs from Arabidopsis. *The Plant Cell*, *16*(8), 2001-2019.
- Texari, L., Dieppois, G., Vinciguerra, P., Contreras, M. P., Groner, A., Letourneau, A., & Stutz, F. (2013). The nuclear pore regulates GAL1 gene transcription by controlling the localization of the SUMO protease Ulp1. *Molecular cell*, *51*(6), 807-818.
- Toparslan, E., Mercan, L., & Kuran, M. (2015). Kalıtımın epigenetik boyutunda DNA metilasyon desenleri. *Hayvansal Üretim Dergisi*, *56*(2), 38-42.
- Tsaftaris, A. S., Polidoros, A. N., Kapazoglou, A., Tani, E., & Kovaċevic, N. M. (2008). Epigenetics and plant breeding. *Plant breeding reviews*, *30*, 49.
- Turner, B. M. (2002). Cellular memory and the histone code. *Cell*, *111*(3), 285-291.
- Vaissière, T., Sawan, C., & Herceg, Z. (2008). Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, *659*(1-2), 40-48.
- Wang, J., Gong, Z., Zheng, J., Li, Z., Zhou, G., Xu, Y., & Li, X. (2024). Genomic and epigenomic insights into the mechanism of cold response in upland cotton (*Gossypium hirsutum*). *Plant Physiology and Biochemistry*, *206*, 108206.
- Wu, C. T., & Morris, J. R. (2001). Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science*, *293*(5532), 1103-1105.
- Yıldırım, H., & Çoşkunpınar, E. M. Epigenetik ve epigenomik. *Sağlık & Bilim 2024*, 19.
- Yokuş, B. (2013). Epigenom ve epigenetik. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (1), 5-13.

BÖLÜM 8

KANSER AKTİVİTESİNDE KULLANILAN TIBBİ AROMATİK BİTKİLER I

Dr. Öğr. Üyesi Hatice BEKÇİ¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14580009>

¹ Kayseri Üniversitesi, Develi Hüseyin Şahin MYO, Bahçe Tarımı Bölümü Kayseri, Türkiye.
haticebekci@kayseri.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-3268-709X

1. Tıbbi Ve Aromatik Bitkilerin Tarihçesi Ve Önemi

Bitkilerin kullanımına dair bilinen en eski yazılı belgelerin, M.Ö. 3500-3000 yılları arasında Sümerler tarafından çivi yazısıyla kil tabletlere kaydedildiği düşünülmektedir. Bu tabletlerde, tarımsal bilgiler ve tıbbi reçetelere benzer metinler yer almıştır. Geleneksel Çin tıbbının temellerini atan Çin İmparatoru Shennong'un, M.Ö. 3000-2700 yıllarında tıbbi bitkiler ve yetiştiriciliği üzerine çalışmalar yaptığı bilinmektedir. M.Ö. 1700'lerde ise Babil Kralı Hammurabi, tıbbi ve aromatik bitkilerle ilgili bilgilerin yer aldığı bir tür kodeks hazırlamış ve bunları içeren bir yazıt oluşturmuştur. Ayrıca, M.Ö. 1500 yıllarında yazıldığı kabul edilen Ebers Papirüsleri, tıbbi ve aromatik bitkilere dair geçmişten günümüze ulaşan en eski ve önemli yazılı kaynaklar arasında yer almaktadır. (Kendir ve Güvenç 2010). Günümüzde, dünyada tıbbi amaçlarla kullanıldığı bilinen toplam 28.187 bitki türü bulunduğu belirtilmektedir. Ancak bunlardan yalnızca 4.478 tür, bitkisel kaynaklı ilaç olarak tıp literatüründe yer almıştır (Allkin, 2017; Kırcı ve ark., 2020; Boztaş ve ark., 2021). Dünyada geleneksel olarak ticareti yapılan önemli baharat ve tıbbi aromatik bitkilerin genellikle sıcaklık, nem ve yağışın yüksek olduğu tropik iklim bölgelerinde yetiştiği bildirilmektedir. Dünya ticaretinde ekonomik açıdan öne çıkan baharatlar arasında karabiber (*Piper nigrum L.*), kırmızı biber (*Capsicum annuum L.*), hindistan cevizi (*Myristica fragrans L.*), kimyon (*Cuminum cyminum L.*), tarçın (*Cinnamomum verum L.*), zencefil (*Zingiber officinale L.*), zerdeçal (*Curcuma longa L.*), karanfil (*Syzygium aromaticum L.*), kişniş (*Coriandrum sativum L.*), kekik (*Thymus vulgaris L.*), nane (*Mentha piperita L.*, *Mentha spicata L.*), hardal (*Sinapis alba L.*) ve susam tohumu (*Sesamum indicum L.*) yer almaktadır. Bununla birlikte, ihracata konu olan en önemli bitkiler arasında sırasıyla kekik, haşhaş, anason, kimyon, adaçayı ve kırmızı biber olduğu ifade edilmiştir (Temel ve ark., 2018).

Tıbbi ve aromatik bitkiler, insanlık tarihinin ilk zamanlarından beri gıdalarda tat, lezzet, renk, aroma ve koruyucu olarak kullanılmalarıyla birlikte, kozmetik, sağlığın korunması, hastalıkların önlenmesi ve tedavi edilmesi amacıyla hem geleneksel hem de modern tıpta ilaç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca besin takviyeleri, bitkisel çaylar, tat ve çeşni maddesi olarak da beslenme alanında önemli bir yere sahiptir. Bu bitkilerin, drog olarak adlandırılan kurutulmuş ve belirli şekilde hazırlanmış bitki kısımları (kök, kök-sap, yumru, gövde veya odunsu yapı, kabuk, yaprak, çiçek, meyve,

tohum ve herba) kullanılmaktadır. Biyolojik, kültürel ve endüstriyel kaynaklar olarak değerlendirilen tıbbi ve aromatik bitkiler, sentetik yollarla elde edilen etken maddelere kıyasla çok yönlü etkilere sahip olmaları gibi nedenlerle tıp ve sağlık alanında giderek daha fazla değer kazanmaktadır (Karadağ, 2019; Anonim, 2021; Kırıcı, 2015; Toker ve ark., 2015; Temel ve ark., 2018; Aslan ve Karakuş, 2019; Oğan ve Cömert, 2022). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre, geleneksel reçeteler, gelişmemiş ülkelerde nüfusun %80'i tarafından tedavi amaçlı kullanılmakta, gelişmiş ülkelerde ise bu oran %40 düzeyindedir. Ayrıca, günümüzde farmasötik ilaçların %25'i tıbbi bitkilerden üretilmektedir. Gelecekte bu oranın daha da artacağı öngörülmektedir (Acıbuca & Budak, 2018).

2. Türkiye'de Organik Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler

Türkiye, tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından oldukça zengin bir ülke olup, kekik, defne yaprağı ve kimyon gibi ürünlerde dünyanın en önemli ihracatçıları arasındadır. Tıbbi bitki ihracatı yapan 110 ülke arasında ise 18. sırada yer almaktadır (Acıbuca ve Budak, 2018). Tıbbi ve aromatik bitkiler, mükemmel doğal antioksidan kaynaklarıdır ve içerdiği biyoaktif bileşikler, özellikle fenolik maddeler, diyabet, obezite, kanser ve kalp-damar hastalıkları gibi dejeneratif hastalıkların risklerini azaltma potansiyeline sahiptir (Patch ve ark., 2006). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı raporlarına göre, dünyada her yıl yaklaşık 15 milyon yeni kanser vakası ve 8 milyondan fazla kansere bağlı ölüm gerçekleşmektedir. Kanser, günümüzde mortalitenin en önemli sebeplerinden biri olarak öne çıkmaktadır. Gelecek yirmi yıl içinde akciğer, karaciğer, mide, kolorektal, meme, prostat ve özofagus kanserine bağlı ölümlerin %70 oranında artması beklenmektedir. Bu veriler, önümüzdeki yıllarda yeni kemoterapötik ilaçlara olan ihtiyacın ne kadar kritik olduğunu açıkça göstermektedir (Ferlay ve ark., 2012). Türkiye'de yaygın olarak yetişen tıbbi bitkilerin bir kısmı şu şekilde sıralanabilir:

2.1. Yaygın Tıbbi Bitkiler

Adaçayı (*Salvia spp.*)

Kullanımı: Çay olarak tüketilir, antiseptik ve sindirime yardımcı etkileri vardır.

Kekik (*Thymus spp.*)

Kullanımı: Antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahiptir, özellikle uçucu yağlar açısından değerlidir.

Nane (*Mentha spp.*)

Kullanımı: Sindirimi kolaylaştırıcı etkisiyle bilinir, esansiyel yağ aromaterapide kullanılır.

İhlamur (*Tilia spp.*)

Kullanımı: Sakinleştirici, öksürük giderici etkileriyle popülerdir.

Defne (*Laurus nobilis*)

Kullanımı: Uçucu yağı ve yaprakları baharat ve ilaç olarak kullanılır.

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*)

Kullanımı: Antioksidan özellikleri ve hafıza güçlendirici etkileriyle bilinir.

Lavanta (*Lavandula spp.*)

Kullanımı: Uçucu yağları stres azaltıcı ve uyku düzenleyici etkileriyle tercih edilir.

Anason (*Pimpinella anisum*)

Kullanımı: Sindirime yardımcı etkisi bulunur, ayrıca uykusuzluk için kullanılır.

Çörekotu (*Nigella sativa*)

Kullanımı: Tohumları ve yağı bağışıklık sistemini güçlendirmede etkilidir.

Zerdeçal (*Curcuma longa*)

Kullanımı: Anti-enflamatuvar ve antioksidan etkileriyle dikkat çeker.

2.2. Endemik Türler

Türkiye'de yalnızca bu coğrafyaya özgü olan pek çok tıbbi bitki bulunmaktadır:

Kazdağı Göknarı (*Abies equi-trojani*)

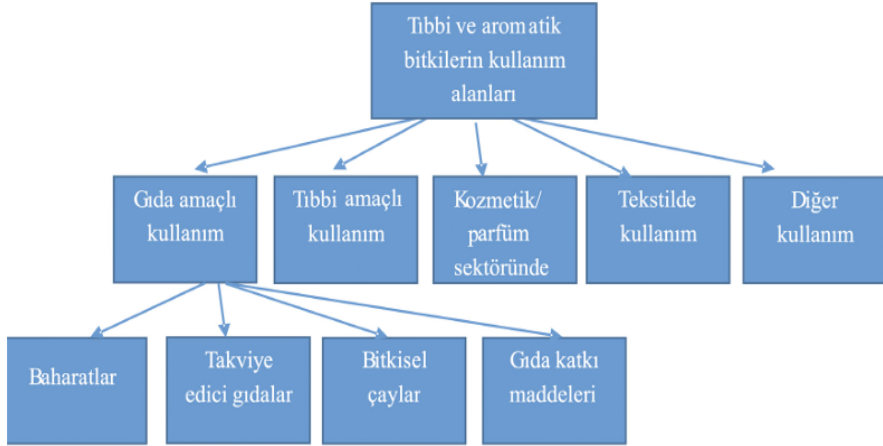
Datça Hurması (*Phoenix theophrasti*)

Tavşancıl Otu (*Thermopsis turcica*)

Bu bitkilerin çoğu ilaç, kozmetik ve gıda sanayinde kullanılmaktadır. (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2024) (Şekil 1)

3. Tıbbi Bitkilerin Kullanım Alanları

Tıbbi bitkiler ve baharatlar, eski çağlardan bu yana ilaç ve gıda endüstrilerinde koruyucu ve tedavi edici amaçlarla kullanılmaktadır. Günümüzde, doğal sağlık ürünleri ve kişisel bakım ürünlerine olan talebin artması, tıbbi ve aromatik bitkilere yönelik endüstriyel talebi de büyük ölçüde artırmıştır. Bu bitkiler, sabit ve uçucu yağlarıyla farklı sektörlerde geniş bir kullanım alanına sahiptir:



Şekil 1: Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları

3.1. Gıda Endüstrisi

Tıbbi bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ve ekstraktlar, alkolsüz içeceklerde, şekerleme ürünlerinde ve çeşitli gıdalarda hem lezzet artırıcı hem de doğal koruyucu olarak kullanılır. Örneğin, kekik yağı gibi doğal bileşenler antimikrobiyal özellikleriyle gıdaların raf ömrünü uzatabilir (Igvillo ve ark., 2019).

3.2. Kozmetik Endüstrisi

Parfümler, cilt ve saç bakım ürünleri ile aromaterapi ürünlerinde sıkça yer alır. Lavanta yağı, hoş kokusu ve stres azaltıcı etkileri nedeniyle bu alanda tercih edilen bir uçucu yağdır.

3.3. İlaç Endüstrisi

Tıbbi bitkiler, biyolojik olarak aktif bileşenleri nedeniyle ilaç üretiminde kullanılmaktadır. Anti-enflamatuar, antikanser ve antimikrobiyal etkileri bulunan bitkiler, geleneksel ve modern tedavi yöntemlerinde önemli bir yer tutar. (Igvillo ve ark., 2019).

3.4. Tüketim Formları

Tıbbi ve aromatik bitkiler, taze, dondurulmuş veya kurutulmuş formlarda kullanılabilir. Bu bitkilerin çeşitli işlenme yöntemleri, içeriklerinin etkinliğini artırmak ve kullanım kolaylığı sağlamak amacıyla uygulanır.

Bu çok yönlü kullanım alanları, tıbbi bitkilerin önemini artırırken sürdürülebilir üretim ve kaynak yönetimi konusunu da gündeme getirmektedir. Endüstriyel talepleri karşılamak için ekim alanlarının genişletilmesi ve biyolojik çeşitliliğin korunması önemlidir.

Tablo 1. Türkiye’ de Kullanılan Tıbbi Aromatik Bitkilerin Üretim Miktarları

Üretim					
Meyveler, içecek ve baharat bitkileri	2023	Pay (%)	2024	Pay (%)	Değişim (%)
Baharat bitkileri - Spices crops	341 590	1.2	389 520	1.4	14.0
Kırmızıbiber - Dry pepper	287 322	1.0	344 000	1.2	19.7
Anason - Anise	4 521	0.0	5 000	0.0	10.6
Kimyon - Cumin	11 480	0.0	15 000	0.1	30.7
Kekik - Thyme	30 129	0.1	18 000	0.1	-40.3
Çörekotu - Black cumin	5 386	0.0	4 600	0.0	-14.6
Rezene - Fennel	1 108	0.0	1 100	0.0	-0.7
Kişniş - Coriander	222	0.0	100	0.0	-55.0
Baharat bitkileri - Spices crops	341 590	1.2	389 520	1.4	14.0

(TUİK,2023)

Tıbbi, aromatik ve boya bitkileri, ekonomik ve ekolojik açıdan önemli bir yere sahiptir. Bu bitkiler doğadan toplananlar ve kültürü yapılanlar olarak iki ana gruba ayrılmaktadır:

3.5. Doğadan Toplananlar

Bu grupta yer alan bitkiler, ormanlar, meralar ve kullanılmayan tarım arazileri gibi doğal alanlarda kendiliğinden yetişir. Meyve, yaprak, çiçek veya kök gibi kısımları kullanılabilir. Aynı zamanda tarım arazilerinde yetişen yabancı otlar da bu gruba dâhil edilebilir. Dünya genelinde ticareti yapılan tıbbi ve aromatik bitkilerin önemli bir kısmı hâlâ doğadan toplanmaktadır. Ancak, bu durum bazı türlerin aşırı sömürülmesine ve habitat kaybına neden olabilir.

3.6. Kültürü Yapılanlar

Kültüre alınmış bitkiler, tarım teknikleri ile özel olarak yetiştirilir. Bu yaklaşım, bitkilerin verimliliğini artırmak ve sürdürülebilirliği sağlamak için tercih edilmektedir (Acıbuca ve Budak, 2018).

3.7. Sınıflandırma ve Ticaretin İzlenmesi Zorlukları

Tıbbi ve aromatik bitkiler için uluslararası bir sınıflandırma sistemi bulunmamaktadır. Bu nedenle, dünya çapında üretilen miktarları ve ticaret hacimlerini belirlemek oldukça zordur. FAO istatistikleri gibi global veri kaynakları, bu bitkilerin tamamını kapsayan detaylı rakamlar sunmamaktadır. Ayrıca, ticareti yapılan ürünlerin hepsine ayrı bir GTİB (Gümrük Tarife İstatistik Pozisyonu) numarası atanmadığı için ticari verilere erişim de sınırlıdır.

4. Sürdürülebilirlik Ve İzleme Gerekliği

Doğadan toplanan bitkilerin ticaretindeki artış, sürdürülebilirlik açısından bir tehdit oluşturabilir. Bu nedenle, bitkilerin doğru sınıflandırılması, üretim ve ticaretin izlenmesi için ulusal ve uluslararası düzeyde daha gelişmiş sistemlerin kurulması gerekmektedir. Aynı zamanda, kültüre alma çalışmaları artırılarak doğal habitatların korunması sağlanmalıdır (Acıbuca ve Budak, 2018)

Türkiye, zengin biyolojik çeşitliliği sayesinde tıbbi ve aromatik bitkiler açısından dünyada önemli bir yere sahiptir. Ülke, yaklaşık 9.222 bitki türü ile bu alanda büyük bir potansiyele sahiptir; bunlardan 3.649 türü

endemik olarak yalnızca Türkiye'ye özgüdür. Ancak, bu çeşitliliğe rağmen, Türkiye'de tıbbi ve aromatik amaçlarla kullanılan bitki sayısı 500 civarında olup, bu rakam diğer ülkelerle kıyaslandığında potansiyelin yeterince kullanılmadığını göstermektedir.

4.1. Uluslararası Karşılaştırmalar

Çin: 4.941 tıbbi ve aromatik bitki türü kullanılmaktadır. Çin, geleneksel Çin tıbbi uygulamalarıyla bu bitkileri hem ilaç hem de gıda takviyesi olarak geniş çapta değerlendirmektedir.

Hindistan: 3.000 bitki türü tıbbi amaçla kullanılmaktadır. Ayurveda tıbbi, bu bitkilerin kullanımını geleneksel ve modern yöntemlerle birleştiren bir sistemdir.

ABD: 2.564 bitki türü kullanılmaktadır. Özellikle modern fitoterapi ve doğal ilaç sanayisi bu bitkilere dayalıdır.

4.2. Türkiye'nin Potansiyeli

Türkiye'nin, sahip olduğu zengin flora çeşitliliğine rağmen, bitki kullanım sayısının bu ülkelerin gerisinde kalması, geliştirilmesi gereken bir alan olduğunu göstermektedir. Özellikle;

-Tıbbi ve aromatik bitkilerin tarımının artırılması,

-Endemik türlerin daha fazla araştırılması ve ekonomiye kazandırılması,

-Geleneksel bilgilerin modern yöntemlerle birleştirilerek sağlık, kozmetik ve gıda sektörlerinde değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Bu doğrultuda, Türkiye'nin mevcut potansiyelini daha verimli kullanabilmesi için ulusal stratejiler ve sürdürülebilir yönetim planları gereklidir. Aynı zamanda, uluslararası düzeyde ticaret hacminin artırılması için üretim ve işleme teknolojilerinin geliştirilmesi önemlidir. (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2021)

5. Tıbbi-Aromatik Bitkilerin Sağlık Üzerine Etkileri

Tıbbi ve aromatik bitkiler, steroidler, flavonoidler, saponinler, alkaloidler, terpenler ve fenolik bileşikler gibi biyoaktif sekonder metabolitler içermektedir. Bu sekonder metabolitler; antimikrobiyal, antifungal, antialerjik,

antidiyabetik, kardiyovasküler koruyucu, antioksidan, antikanser, antitiroid, antihistaminik, antimalaryal, antihelmintik, antienflamatuvar, antihipertansif, spazm çözücü ve ağrı kesici özelliklere sahiptir (Varlı ve ark., 2020).

Tıbbi bitkiler, çok çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek biyolojik olarak aktif maddelerin doğal bir kaynağını oluşturur. Kanser, virüs kaynaklı enfeksiyonlar, AIDS ve hepatit gibi ölümcül hastalıkların tedavisinde tıbbi bitkilerin önemli bir rol oynadığı çeşitli araştırmalarla ortaya konulmuştur (Vital ve ark., 2010; Salehi ve ark., 2018; Rehman ve ark., 2018; Doaei ve ark., 2018). Konuya ilişkin bazı çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

Kolon, mide, meme kanseri gibi pek çok farklı kanser türünde; ayrıca karaciğer ve akciğer tümörleri ile lösemide, bitkisel uçucu yağlarla yapılan tedavi sonrasında gerileme gözlemlendiği rapor edilmiştir. Bu bitki moleküllerinin, potansiyel antikanser özellikleri sayesinde terapötik stratejilerde ve kanserin önlenmesinde faydalı olabileceği değerlendirilmektedir (Kaefer ve Milner, 2008; Hassanein ve ark., 2011; Chen ve ark., 2015; Elansary ve ark., 2018; Fitsiou ve ark., 2019; Magalhaes ve ark., 2020; Mehralikhani ve ark., 2021; Khan ve ark., 2022).

Ayrıca, uçucu yağların antioksidan etkileri sayesinde memeli hücrelerinin mitokondriyal işlevlerine etki edebilme potansiyeline sahip oldukları bildirilmiştir. Bu etkiler, kötü huylu tümörlerin metabolik özelliklerini (örneğin hücrel metabolizma artışı, aşırı mitokondriyal üretim ve kalıcı oksidatif stres) zayıflatabildiğini ortaya koymaktadır (Czarnecka ve ark., 2006; Yang ve ark., 2017; Benchikha ve ark., 2019; Hu ve ark., 2019; Spisni ve ark., 2020; Sökmen ve ark., 2020).

Karadağ (2019), 10 adet tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan ve fenolik bileşikleri kompozisyonu belirlemiştir. Çalışmada incelenen tıbbi ve aromatik bitkilerin radikal yakalama ve metal iyon indirgeme kapasiteleri üzerinden antioksidan potansiyellerini değerlendirmiş; en yüksek antioksidan değerlere ıhlamur, adaçayı, defne yaprağı, melisa ve nane bitkilerinde, en düşük değerlere ise anason, çemen ve rezene bitkilerinde rastlamıştır. Toplam fenolik madde içeriği ile belirlenen antioksidan aktivite ölçümleri arasında güçlü bir korelasyon ($R^2 = 0.87-0.89$) tespit edilmiştir. Çalışmada belirlenen fenolik bileşikler arasında en yaygın olanlar protokatesuik asit, kafeik asit, klorojenik asit, ferulik asit gibi fenolik asitler ile flavonoidlerden kuersetin ve kaempferol olmuştur. Bu bitkiler, günlük beslenmede miktar olarak sınırlı tüketiliyor olsa da, içerdiği biyoaktif bileşikler sayesinde fonksiyonel gıda

ürünlerinde veya doğal antioksidan olarak kullanım açısından önemli bir potansiyele sahip olduğunu belirtmiştir.

Ay (2019), *Hypericum perforatum*, *Thymbra spicata*, *Myrtus communis*, *Laurus nobilis*, *Rosmarinus officinalis* ve *Lavandula angustifolia* bitkilerinin esansiyel yağlarının, insan kolon kanseri (HCT-116), akciğer kanseri (A-549) ve malign melanom (A-2058) hücre hatlarındaki antikanserojen etkileri incelenmiştir. Bu yağların, farklı kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiş ve potansiyel antikanserojen özellikler sergiledikleri tespit edilmiştir. Çalışmada, bu bitkisel esansiyel yağların kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı ve hücre ölümünü indükleyebildiği ortaya konmuştur. Elde edilen bulgular, bu yağların kanser tedavisinde tamamlayıcı terapilerde kullanılma potansiyeline işaret etmektedir. Çalışmada, en güçlü antiproliferatif etkinliğin *Thymbra spicata* esansiyel yağlarının A-2058 malign melanom hücreleri üzerinde, 0.0195 µg/ml'lik düşük bir konsantrasyonda gösterildiği tespit edilmiştir. Buna karşın, en düşük antiproliferatif etkinlik, *Hypericum perforatum* esansiyel yağlarının yine A-2058 hücrelerine karşı 0.312 µg/ml'lik konsantrasyonda elde edilmiştir. Bu bulgular, esansiyel yağların farklı kanser hücre hatlarında değişen derecelerde etkili olabileceğini ve özellikle *Thymbra spicata*'nın melanoma tedavisinde güçlü bir aday olabileceğini göstermektedir. Bu bilgiler ışığında yeni ilaç araştırmaları için umut verici bulmuştur.

Ekşi ve ark., (2019) Rize ve çevresinden toplanan *Arbutus unedo* (Kocayemiş), *Aronia melanocarpa* (Rus yaban mersini), *Fragaria vesca* L. (Yabani çilek), *Frangula alnus* (Barut ağacı), *Ribes rubrum* (Frenk üzümü) ve *Solanum nigrum* (Köpek üzümü) meyvelerinin metanol ekstratlarını insan retina pigment epitel hücreleri (ARPE-19) ve insan serviks adenokarsinoma hücreleri (HeLa) üzerindeki antiproliferatif etkinliklerini incelemişlerdir. *A.unedo*, *A.melanocarpa*, *F.vesca*, *F.alnus*, *R.rubrum* ve *S.nigrum*'un hem ARPE-19 hem de HeLa üzerindeki sitotoksik etkileri ilk defa bu çalışmada araştırmışlardır. *A.unedo*, *F.alnus* özütlerinin serviks kanser hücre hattı (HeLa) üzerinde antiproliferatif etkinlikleri saptamışlar. *R.rubrum* ve *S.nigrum* özütleri iki hücre hattında da doza bağımlı sitotoksik aktivite göstermişler, buna ek olarak *A.melanocarpa* ve *F.vesca* özütleri yüksek konsantrasyonlar da her iki hücre hattı üzerinde sitotoksik etki göstermişlerdir. Çalışmada bitkilerin ham özütleri kullanılmış olup fito-kimyasal içerikleri bilinmemektedir.

Çeşitli bitki molekülleri, antidiyabetik etkileri açısından incelenmiş ve bazı uçucu yağların diyabetle ilişkili sağlık sorunlarında olumlu etkiler gösterebildiği tespit edilmiştir (Misra ve Dey 2013; Tahir ve ark. 2016; Chandra ve ark. 2019; Salehi ve ark. 2019; Heghes ve ark. 2020). Özellikle tarçın, kimyon, rezene, kekik ve mersin yağlarının sinerjistik kombinasyonlarının tip 2 diyabet üzerinde olumlu etkileri olduğu raporlanmıştır. Bu kombinasyonların, fare modellerinde insülin duyarlılığını artırdığı ve açlık kan glukoz değerlerini belirli bir seviyede düşürdüğü belirlenmiştir. Ancak, bu kombinasyonların diyabet semptomlarını tamamen engellemediği de vurgulanmıştır.

Benzer şekilde, Talpur ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmalarda, uçucu yağ kombinasyonları ile yapılan tedavilerin kan şekerinde düşüş sağladığı gösterilmiştir. Reyhan (*Ocimum basilicum*) üzerine yapılan bir başka çalışmada, sulu ekstrakt ve esansiyel yağların diyabetli farelerde kan şekeri üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Kanmaz (2019) tarafından yapılan araştırmada, reyhan sulu ekstraktı ile tedavi edilen farelerde açlık kan glukoz düzeyinde 14. günde %37, 28. günde ise %25.5 oranında azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca, reyhan esansiyel yağı ile tedavi edilen grupta, açlık kan glukoz seviyelerinde 28. günde %26.3 oranında düşüş sağlanmıştır.

Bu çalışmalar, uçucu yağların ve bitki ekstraktlarının diyabet yönetiminde potansiyel bir yardımcı tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir. Ancak, bu etkilerin mekanizmalarının daha detaylı incelenmesi ve insan modellerinde doğrulanması gerekmektedir.

Tüm bu çalışmalar, tıbbi bitkilerin yalnızca tedavi edici değil, aynı zamanda koruyucu potansiyellerinin de dikkate alınması gerektiğini vurgulamaktadır. Ancak bu tedavilerin klinik uygulamalarda kullanımı için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Acıbuca, V., Budak, D. (2018). Dünya' da ve Türkiye' de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi. Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi, 33(1), 37–44.
- Anonim, (2021). Spices and condiments — Determination of moisture content. <https://www.iso.org/standard/71710.html>. ISO 939:2021 (Erişim tarihi: 29.11.2024)
- Allkin, B. (2017). Useful Plants – Medicines: At Least 28,187 Plant Species are Currently Recorded as Being of Medicinal Use. In: State of the World's Plants. Royal Botanic Gardens, Kew, London (UK); PMID: 29144713.
- Aslan, R., Karakuş, Z. (2019). Gelenekten günümüze tıbbi ve aromatik bitkiler. Göller Bölgesi Aylık Hakemli Ekonomi ve Kültür Dergisi, 6 (73), 60-66. <https://www.dergiayrinti.com/index.php/ayr/article/view/1201/2173>. (Erişim tarihi: 29.11.2024)
- Ay, E. (2019). Hatay Bölgesinde Bazı Tıbbi Bitkilerin Çeşitli Kanser Hücre Hatları Üzerinde Antikanserojen Aktivitelerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi) Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji (Tıp) Anabilim Dalı, Hatay.
- Benchikha, N., Rebiai, A., Brahmia, O., Neghmouche, N. S., Ben Amor, M. L.(2019). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of essential oil from *Ammo daucus* *Leucotrichus* *Cosson & Durieu* (Apiaceae) growing in south Algeria. Bull. Chem. Soc. Ethiop., 33(3), 541-549. doi: <https://dx.doi.org/10.4314/bcse.v33i3.14>
- Boztaş, G., Avcı, A. B., Arabacı, O., Bayram, E. (2021). Economic status of medicinal and aromatic plants in Turkey and in the world. Theoretical and Applied Forestry, 1(1), 27–33. <https://doi.org/10.53463/tafor.2021vol1iss1pp27-33>
- Chandra, K., Singh, P., Dwivedi, S., Jain, S. K. (2019). Diabetes mellitus and oxidative stress: A co-relative and therapeutic approach. Journal of Clinical & Diagnostic Research, 13, 7-12. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2019/40628.12878>
- Chen, W., Liu, Y., Li, M., Mao, J., Zhang, L., Huang, R., Jin, X., Ye, L. (2015). Anti-tumor effect of α -pinene on human hepatoma cell lines

- through inducing G2/M cell cycle arrest. *J Pharmacol Sci.*, 127, 332–8. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2015.01.008>
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture*, 2(3), 228-243.
- Czarnecka, A. M., Campanella, C., Zummo, G., Cappello, F. (2006) Mitochondrial chaperones in cancer: From molecular biology to clinical diagnostics. *Cancer Biology & Therapy*, 5(7), 714-720, doi: 10.4161/cbt.5.7.2975
- Doaei, S., Hajiesmaeil, M., Aminifard, A., Mosavi-Jarrahi, S. A., Akbari, M. E., Gholamalizadeh, M. (2018). Effects of gene polymorphisms of metabolic enzymes on the association between red and processed meat consumption and the development of colon cancer; a literature review. *Journal of Nutritional Science*, 7, E26. <https://doi.org/10.1017/jns.2018.17>
- Ekşi, S., Şahin Aktura, S., Ejder, N., Şahin, K. (2019). Rize ve Çevresinde Yetişen Yaban Meyvelerinden Elde Edilen Özütlere Anti-Proliferatif Etkilerinin Araştırılması. *Ahi Evran Medical Journal*, 3(3), 104-111.
- Elansary, H. O., Abdelgaleil, S. A. M., Mahmoud, E. A., Yessoufou, K., Elhindi, K., El-Hendawy, S. (2018). Effective antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of essential oils of horticultural aromatic crops in northern Egypt. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 214. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2262-1>
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. “Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012,” *International Journal of Cancer*. 2015, vol. 136 (5): pp. E359–E386.
- Fitsiou, E., and Pappa, A. (2019). Anticancer activity of essential oils and other extracts from aromatic plants grown in Greece. *Antioxidants*, 8, 290. <https://doi.org/10.3390/antiox8080290>
- Hassanein, H. I., El-ahwany, E. G., Salah, F. M., Hammam, O. A. Refai, L. Hamed, M. (2011). Extracts of five medicinal herbs induced cytotoxicity in both hepatoma and myeloma cell lines. *J Cancer Sci Ther*, 3(10). <http://dx.doi.org/10.4172/1948-5956.1000097>
- Heghes, S. C., Filip, L., Vostinaru, O., Mogosan, C., Miere, D., Iuga, C. A., Moldovan, M. (2020). Essential oil-bearing plants from Balkan Peninsula: promising sources for new drug candidates for the

- prevention and treatment of diabetes mellitus and dyslipidemia. *Front. Pharmacol.* <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00989>
- Hu, J. R., Li, P., Tie, J., Jin, S. (2019). Study on antioxidant and antitumor activity of essential oil from flowers of *Syringa oblata*. *J. Biotechnology Bulletin*, 35(12):16-23. <http://biotech.aijournal.com/EN/10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2019-0144>
- Igwillo U .C, Ola-Adedoyin A. T, Abdullahi M. M., Chukwuemeka A. E. (2019). A review of opportunities and challenges in conservation and use of medicinal and aromatic plants in Nigeria. *International Journal of Advanced Research*, 7 (4). 770-778 (ISSN 2320-5407)
- Kaefler, C. M., Milner, J. A. (2008). The role of herbs and spices in cancer prevention. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 19(6), 347-361. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.11.003>
- Kanmaz, H. (2019). Diyabetik ratlarda reyhan sulu ekstraktı ve esansiyel yağının anti-diyabetik aktivitesinin araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). İnönü Üniversitesi, Malatya.
- Karadağ, A. (2019). Türkiye’deki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Potansiyelleri ve Fenolik Kompozisyonları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (16), 631-637.
- Kendir, G., Güvenç, A. (2010). Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 1,49-80. <https://dergipark.org.tr/en/pub/hujpharm/issue/49839/639119>
- Khan, M. I., Bouyahya, A., Hachlafi, N. E. L., El Menyiy, N., Akram, M., Sultana, S., Zengin, G., Ponomareva, L., Shariati, M. A., Ojo, O A., Dall’Acqua, S., Elebiyo. T. C. (2022) Anticancer properties of medicinal plants and their bioactive compounds against breast cancer: a review on recent investigations. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 24411- 24444. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17795-7>
- Kırıcı, S. (2015). Türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin genel durumu. *Türktob*, 1(15).
- Kırıcı, S., Bayram, E., Tansı, S., Arabacı, O., Baydar, H., Telci, İ., İnan, M., Kaya, D.A, Özel, A. (2020). Tıbbi ve aromatik bitkilerin üretiminde mevcut durum ve gelecek. *Türkiye Ziraat Mühendisliği IX.Teknik Kongresi*, 13-17 Ocak, Ankara.

- Magalhaes, I. F. G., Tellis, C. J. M., Calabrese, K. S., Abreu-Silva, A. L., Almeida- Souza, F. (2020). Essential oils' potential in breast cancer treatment: an overview. *Essential Oils - Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*. doi: 10.5772/intechopen.91781
- Mehralikhani, A., Movahedi, M., Larypoor, M., Golab, F. (2021). Evaluation of the effect of *Foeniculum vulgare* on the expression of e-cadherin, dysadherin and Ki-67 in BALB/C mice with 4T1 model of breast cancer. *Nutrition and Cancer*, 73(2), 318-328. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1746365>
- Misra, B. B., Dey, S. (2013). Evaluation of in vivo anti-hyperglycemic and antioxidant potentials of α -santalol and sandalwood oil. *Phytomedicine*, 20(5), 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.12.017>
- Oğan, Y., Cömert, M. (2022). Artvin yöre gastronomisinde tıbbi ve aromatik bitkiler. *Aydın Gastronomy*, 6(1), 29-38. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/aydingas/issue/68106/891681>
- Patch, C. S., Sullivan, D. R., Fenech, M. (2006). Health benefits of herbs and spices: Cardiovascular disease. *The Medical Journal of Australia*, 185(4), S7-9.
- Rehman S., Ashfaq U. A., Ijaz B., Riazuddin S. (2018). Anti-hepatitis C virus activity and synergistic effect of *Nymphaea alba* extracts and bioactive constituents in liver infected cells. *Microbial Pathogenesis*, 121, 198-209. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.023>
- Salehi B., Kumar N. V. A., Sener B., Sharifi-Rad M., Kilic M., Mahady G. B., Vlaisavljevic S., Iriti M., Kobarfard F., Setzer W. N., Ayatollahi S. A., Ata A., Sharifi-Rad, J. (2018). Medicinal plants used in the treatment of human immunodeficiency virus. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (5), 1459. <https://doi.org/10.3390/ijms19051459>
- Salehi, B., Ata, A., Anil Kumar, N., Sharopov, F., Ramirez-Alarcon, K., Ruiz-Orten, A., Iriti, M. (2019). Antidiabetic potential of medicinal plants and their active compounds. *Biomolecules*, 9, 551– 564. <https://doi.org/10.3390/biom9100551>
- Sökmen, A., Abdel-Baki, A. S., Al-Malki, E. S., Al-Quraishy, S., Abdel-Haleem, H. M. (2020). Constituents of essential oil of *Origanum minutiflorum* and its in vitro antioxidant, scolicidal and anticancer activities. *Journal of King Saud University-Science*, 32(4), 2377-2382. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.03.018>

- Spisni, E., Petrocelli, G., Imbesi, V., Spigarelli, R., Azzinnari, D., Donati Sarti, M., Campieri, M., Valerii, M. C. (2020). Antioxidant, anti-inflammatory, and microbial-modulating activities of essential oils: Implications in colonic pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 4152. <https://doi.org/10.3390/ijms21114152>
- Tahir, H. U., Sarfraz, R. A., Ashraf, A., Adil, S. (2016). Chemical composition and antidiabetic activity of essential oils obtained from two spices (*Syzygium aromaticum* and *Cuminum cyminum*). *International Journal of Food Properties*, 19(10), 2156-2164, doi: 10.1080/10942912.2015.1110166
- Talpur, N., Echard, B., Ingram, C., Bagchi, D., Preuss, H. (2005), Effects of a novel formulation of essential oils on glucose-insulin metabolism in diabetic and hypertensive rats: a pilot study. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 7, 193- 199. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2004.00386.x>
- Tarım ve Orman Bakanlığı, (2021) Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sektör Politika Belgesi 2020-2024
- Temel, M., Tınmaz, A. B., Öztürk, M. Gündüz, O. (2018). Dünyada ve Türkiye’de tıbbi aromatik bitkilerin üretimi ve ticareti. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21, 198-214. doi: 10.18016/ksutarimdogavi.473036
- Toker, R., Gölükçü, M., Tokgöz, H. (2015). Tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda sanayisinde kullanım alanları. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 4(15), 54-59. <https://www.turktob.org.tr/dergi/makaleler/dergi15/54-59.pdf>
- Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK), <https://www.tuik.gov.tr/> (Erişim Tarihi: 28.11.2024)
- Varlı, M., Hancı, H., Kalafat, G. (2020). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretim Potansiyeli ve Biyoyararlılığı. *Research Journal of Biomedical and Biotechnology*, 1(1), 24-32.
- Vital, P. G., Velasco, R. N., Demigillo, J. M., Rivera, W. L. (2010). Antimicrobial activity, cytotoxicity and phytochemical screening of *Ficus septica* Burm and *Sterculia foetida* L. leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(1), 58-63. doi: 10.5897/JMPR09.400
- Yang, C., Chen, H., Chen, H., Zhong, B., Luo, X., Chun, J. (2017). Antioxidant and anticancer activities of essential oil from gannan navel orange peel. *Molecules*, 22(8), 1391. <https://doi.org/10.3390/molecules22081391>

BÖLÜM 9

KANSER AKTİVİTESİNDE KULLANILAN TIBBİ AROMATİK BİTKİLER II

Dr. Öğr. Üyesi Hatice BEKÇİ¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14580021>

¹ Kayseri Üniversitesi, Develi Hüseyin Şahin MYO, Bahçe Tarımı Bölümü Kayseri, Türkiye.
haticebekci@kayseri.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-3268-709X

GİRİŞ

Türkiye, üç farklı fitocoğrafik bölgenin (Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz) kesişiminde bulunması nedeniyle bitki çeşitliliği açısından dünya genelinde önemli bir konuma sahiptir. Yaklaşık 12.500 vasküler bitki taksonu ile bu zenginlik, Türkiye'nin, florasında %30 civarında endemizm oranına sahip olmasını sağlamaktadır. Avrupa'da en fazla endemik bitkiye sahip Yunanistan'ın yaklaşık 800 endemik türü varken, bu sayı Türkiye'de 3000'i aşmaktadır. Özellikle Doğu Karadeniz Bölgesi ve Artvin ili, oldukça küçük coğrafi alanlarına rağmen floristik çeşitlilik açısından zenginlik göstermektedir ve bu durum, Türkiye'nin biyolojik çeşitlilik bakımından önemini ortaya koymaktadır (DOKAP, 2020; Göktaş ve Gıdık, 2019; Karadağ,2019; Kieliszek, 2020; Varlı ve ark., 2020)

Tıbbi ve Aromatik Bitkiler

Doğal floradaki zengin tıbbi ve aromatik bitki çeşitliliği, tıbbi, kozmetik ve gıda sektörlerinde kullanımı nedeniyle ticari önem taşımaktadır. Ancak bu bitkilerin kontrolsüz toplanması, doğal gen kaynaklarının zarar görmesine ve bazı türlerin yok olma tehlikesiyle karşılaşmasına yol açmaktadır. Özellikle ekonomik değeri yüksek olan çay ve fındık gibi geleneksel ürünlere ek olarak, maviyemiş gibi yeni tıbbi ve aromatik bitkilerin bölgedeki ürün çeşitliliğini artırma potansiyeli taşıdığı görülmektedir (DOKAP, 2020; Göktaş ve Gıdık, 2019; Karadağ, 2019; Karataş ve ark., 2019; Turgut, 2022).

Çözüm Önerileri

Sürdürülebilir Toplama: Doğal alanlardan bitki toplamanın kontrollü ve sürdürülebilir hale getirilmesi.

Kültürleme Çalışmaları: Doğal floradan alınan bitkilerin kültüre alınarak yetiştiriciliğinin teşvik edilmesi.

Bilimsel Araştırmalar: Endemik ve ekonomik değeri yüksek bitkilerin genetik ve moleküler düzeyde incelenmesi.

Eğitim ve Farkındalık: Yerel halkın ve toplumların, bitki çeşitliliği ve sürdürülebilirlik konularında eğitilmesi.

Doğu Karadeniz ve Türkiye genelindeki doğal bitki çeşitliliği, ekonomik değer yaratan tıbbi ve aromatik bitkilerin yetiştirilmesi ve korunması için büyük bir potansiyel sunmaktadır. Bu zenginliklerin

korunması, biyolojik mirasın sürdürülebilirliğini sağlamak adına kritik öneme sahiptir (DOKAP, 2021; Turgut, 2022).

Tıbbi Aromatik Bitkileri Neden Üretmeliyiz?

Türkiye'nin tıbbi ve aromatik bitkilerin üretiminde öncü bir ülke olması gerekliliğini şu nedenler temelinde açıklayabiliriz:

Biyçeşitliliğin Korunması: Türkiye, 4000'e yakın endemik bitki türüyle dünya genelinde nadir bir biyolojik zenginliğe sahiptir. Bu gen kaynaklarının korunması, sadece ekosistem dengesini değil, gelecek nesillerin bu zenginlikten faydalanma hakkını da garanti altına alır.

Kontrolsüz Toplamayı Önlemek: Türkiye florasında yer alan ticari değeri yüksek bitkilerin standart dışı ve kontrolsüz toplama yöntemleri, doğal gen kaynaklarına zarar vermektedir. Bu durumun önüne geçmek için bu bitkilerin tarımsal üretimi teşvik edilmelidir.

Tüketici Güvenliğinin Sağlanması: Baharat, sebze, meyve gibi doğrudan tüketilen tıbbi ve aromatik bitkilerin kontrollü ve sertifikalı koşullarda üretilmesi, tüketicilere güvenilir ve kaliteli ürün sunulmasını sağlar.

Katma Değerli Üretim: Tıbbi ve aromatik bitkilerin üretimi, çiftçiler ve üreticiler için yüksek gelir potansiyeli sunar. Bu, tarımda ürün çeşitliliğini artırarak ekonomik kalkınmaya katkı sağlar.

Hammadde Bağımsızlığı: Gıda, ilaç ve kozmetik sektörlerinin ihtiyaç duyduğu hammaddelerin yerel üretimi, ithalat bağımlılığını azaltır ve ekonomik bağımsızlığı destekler. Bu, aynı zamanda Türkiye'nin uluslararası pazarda daha rekabetçi bir konuma gelmesini sağlar.

Tüm bu nedenler, Türkiye'nin sahip olduğu biyolojik ve ekolojik zenginlikleri sürdürülebilir bir şekilde değerlendirerek tıbbi ve aromatik bitkilerde bir üretim merkezi haline gelmesini stratejik bir zorunluluk kılmaktadır. (DOKAP, 2020; Faydalıoğlu ve Sürücüoğlu, 2011; Turgut, 2022; Varlı, 2020).

Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin (TAB) Standardizasyonu ve Sürdürülebilirliği

Tıbbi ve aromatik bitkilerin (TAB) kullanım alanlarının artışı, hammaddenin kalitesi ve sürdürülebilirliği konularını ön plana çıkarmaktadır.

Bu bağlamda TAB üretimi iki temel öncelik doğrultusunda ele alınmalıdır: standardizasyon ve sürdürülebilirlik.

1. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Standardizasyonu

TAB'nin ilaç, gıda, kozmetik ve diğer sektörlerde hammadde olarak kullanımı hızla artmaktadır. Ancak ülkemizde TAB'lerin çoğunluğu, doğal floradan kontrolsüz yöntemlerle toplanmaktadır. Bu durum, hem bitkilerin kalitesini hem de biyolojik çeşitliliği olumsuz etkilemektedir; (Çelik ve Gül, 2022; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011; Turgut, 2022; Varlı ve ark., 2020).

Sorunlar

Yanlış Bitki Türlerinin Toplanması: Toplanan bitkilerin bazen istenmeyen türler olması, kalite kaybına neden olmaktadır.

Yanlış Toplama Dönemi: Çiçeklenme veya tohumlanma döneminde yapılan toplama, hem kaliteyi düşürmekte hem de bitki türlerinin neslini tehlikeye sokmaktadır.

Uygun Olmayan Kurutma ve Depolama: Toplanan bitkiler doğru koşullarda kurutulmadığında ve depolanmadığında, içerikler (sekonder metabolitler) bozulabilmekte, ürün kalitesi düşmektedir.

Standardizasyon Eksikliği: Toplanan bitkiler, farmakope, gıda kodeksi veya kozmetik standartlarına genellikle uygun olmamaktadır.

İzlenebilirlik Eksikliği: Doğal alanlardan toplanan TAB'in sertifikalı ve organik üretim standartlarına uyumunun yetersiz olması, izlenebilirliği zorlaştırmaktadır.

Çözüm Önerileri

Doğru tür ve zamanda toplama teknikleri geliştirilmelidir. Sertifikalı, iyi tarım uygulamalarına uygun üretim yaygınlaştırılmalıdır.

Üreticilere yönelik eğitimlerle yanlış uygulamaların önüne geçilmelidir. Tüm TAB hammadde zinciri, uluslararası geçerliliği olan kalite standartlarına uygun hale getirilmelidir (ör. Good Manufacture Practices, GMP) (Mokhtarzadeh, 2023; Phillipson, 1993; Turgut, 2022).

2. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Sürdürülebilirliği

TAB hammaddelerinin ekonomik değerini artırmak ve rekabetçi bir üretim sistemi oluşturmak için sürdürülebilirlik esastır.

Sürdürülebilirlik İlkeleri

Doğal Floradan Koruma ve Kültürleme: Aşırı toplanan bitki türleri, kültüre alınarak üretime kazandırılmalıdır. Bu işlem özellikle nesli tükenme tehlikesi altında olan türler için önceliklendirilmelidir.

Tür Envanterlerinin Oluşturulması: Türkiye florasında potansiyele sahip tüm TAB türleri kayıt altına alınmalı ve üretim planlamalarına dahil edilmelidir.

Ar-Ge ve Ür-Ge Çalışmaları: Her bölgenin ekolojik koşullarına uygun TAB türleri araştırılmalı ve modern tarım teknolojileri ile üretim süreçleri iyileştirilmelidir.

Sözleşmeli Üretim Modelleri: Üreticiler ile sektör arasında sözleşmeli üretim sistemi yaygınlaştırılarak hem hammadde tedarik riskleri azaltılmalı hem de üreticilerin pazarlama sorunları çözümlenmelidir.

Mekanizasyonun Artırılması: TAB üretim süreçlerinde tarım makineleri kullanımına geçilerek maliyetler düşürülmeli, verimlilik artırılmalıdır.

Hasat Sonrası İşlemler: Bitkilerin hızlı kurutulması, uygun ambalajlama ve depolama sistemleri ile kalite kayıpları minimize edilmelidir.

Enerji Verimliliği ve Yenilenebilir Kaynaklar: Kurutma gibi enerji yoğun işlemler için güneş, rüzgâr gibi yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımını teşvik edilmelidir.

Tıbbi ve aromatik bitkiler, hem ülke ekonomisi hem de biyolojik çeşitliliğin korunması açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Ancak, bu potansiyelin sürdürülebilir bir şekilde değerlendirilebilmesi için:

Standartlara uygun üretim süreçleri benimsenmeli,

Doğal kaynaklar korunmalı,

Katma değeri yüksek ürünler için uluslararası standartlar geliştirilmelidir. Bu adımlar, Türkiye'nin TAB sektöründe global rekabet

gücünü artıracaktır (Bayram ve ark., 2010; Mokhtarzadeh, 2023; Varlı ve ark., 2020).

Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretim Yöntemleri

Tıbbi ve aromatik bitkiler (TAB), ülkemizde farklı üretim yöntemleriyle çoğaltılmaktadır. Bu yöntemler iki ana kategoride sınıflandırılır:

1. Konvansiyonel (Klasik/Geleneksel) Yöntemler

Bu yöntemler, geleneksel tarım uygulamalarını temel alır ve şu şekilde uygulanır:

Tohumla Üretim: Bitkilerin doğal döngüsüyle elde edilen tohumların ekilmesiyle yapılan üretimdir. Genellikle dayanıklı ve yaygın bitki türlerinde tercih edilir.

Fide ve Fidanla Üretim: Tohumlardan ya da ana bitkiden elde edilen genç bitkiler (fide veya fidan) kullanılarak yapılan üretimdir. Örneğin, lavanta ve adaçayı gibi bitkilerde yaygındır.

Sarıhan ve ark., 2002-2004 yılları arasında Ankara koşullarında gerçekleştirdiği çalışmada, *Origanum vulgare var. hirtum* için farklı sıra arası ve sıra üzeri mesafeler incelenmiştir. Bu denemelerde; sıra arası mesafeleri: 30, 40, 50 ve 60 cm, sıra üzeri mesafeleri: 20, 30 ve 40 cm olarak belirlenmiştir.

Çelikle Üretim: Bitkilerin dallarından veya gövdelerinden alınan parçaların köklendirilmesiyle üretim yapılır. Bu yöntem, özellikle kekik, biberiye ve nane gibi aromatik bitkiler için uygundur.

Vejetatif Yöntemler: Soğan, yumru veya rizom gibi bitki parçalarının çoğaltılmasıyla uygulanır. Örneğin, zencefil ve safran üretiminde bu yöntem kullanılır.

Avantajları

Basit ve düşük maliyetlidir.

Çiftçiler arasında yaygın bilgi birikimi bulunur.

Dezavantajları:

Yavaş çoğalma oranı.

Hastalık ve zararlılara karşı hassasiyet.

Genetik çeşitlilik kaybı riski (Bağdat, 2006; Bayram ve ark., 2010; DOKAP, 2021; Göktaş ve Gıdık, 2019; Mokhtarzadeh, 2023, Varlı ve ark., 2020; Yıldıztekin ve ark., 2019).



Şekil 1: Tıbbi Aromatik Bitkilerin Üretim Akış Şeması (DOKAP, 2020)

Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İşlenmesi

Tıbbi ve aromatik bitkilerin tarla ya da bahçede üretilmesinden sonraki süreçte katma değer yaratılması, hasat ile başlamaktadır. Hasat ve sonrası işlemler, belirli standartlara uygun şekilde yapılmadığında verim, kalite ve ticari kayıplar, hasat öncesi süreçlere göre çok daha yüksek olabilmektedir. Bu nedenle, hasat ve işleme süreçlerinin özenle planlanması önemlidir.

Hasat

Tıbbi bitkilerin hasat zamanı, bitkinin içerdiği etken maddeler ve bu maddelerin bulunduğu organlara göre belirlenir. Verim ve kalite kayıplarını en aza indirmek için hasat, uygun ekipmanlarla gerçekleştirilmelidir. Yanlış bir hasat uygulaması, önemli kayıplara yol açabilir. Hasat zamanı, her bir bitkinin özelliklerine bağlı olarak şu dönemlerden birinde gerçekleştirilebilir: Çiçeklenme öncesi, tam çiçeklenme zamanı, çiçeklenme sonrası. Ayrıca, bitkinin uygun gelişim döneminin yanı sıra, hasat için en uygun günün ve hatta gün içindeki saatin doğru seçilmesi büyük önem taşır.

Kurutma

Kurutma, tıbbi ve aromatik bitkilerde hasat sonrası gerçekleştirilen en önemli işleme faaliyetidir ve bitkilerin katma değerini artırmada kritik bir rol oynar. Kalın dokulu bitkiler (örneğin, meyve veya kökler) kurutulmadan önce

küçük parçalara ayrılarak işlem hızlandırılabilir ve kurutma sırasında karşılaşılabilecek problemlerin önüne geçilebilir.

Kurutma yöntemi; bitkinin türüne, ilgili kısmına (kök, yaprak, çiçek, kabuk, meyve vb.) ve kullanım alanına göre değişiklik gösterir. Temel kurutma yöntemleri şunlardır:

Gölgede Kurutma: Güneş ışığından korunmuş bir ortamda, doğal hava akışı ile kurutma yapılır.

Güneşte Kurutma: Doğrudan güneş ışığında kurutma sağlanır.

Makine İle Kurutma: Kontrollü bir ısı ortamında, kurutma makineleri kullanılarak yapılır.

Her yöntemin uygunluğu, bitkinin özellikleri ve hedeflenen kullanım alanına göre değerlendirilmelidir (Bayram ve ark., 2010).

Uçucu Yağlar

Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağlar, kolayca buharlaşabilen, karakteristik kokulu, aromatik, keskin veya acı lezzetli sıvı karışımlardır. Bu yağlar, bitkilerin salgı tüylerinde, iç dokularındaki uçucu yağ hücrelerinde ve salgı ceplerinde bulunur. Uçucu yağlar; bitkilerin yaprak, çiçek, meyve, kök, rizom, sap ve kabuk gibi çeşitli kısımlarından elde edilebilir.

Distilasyon

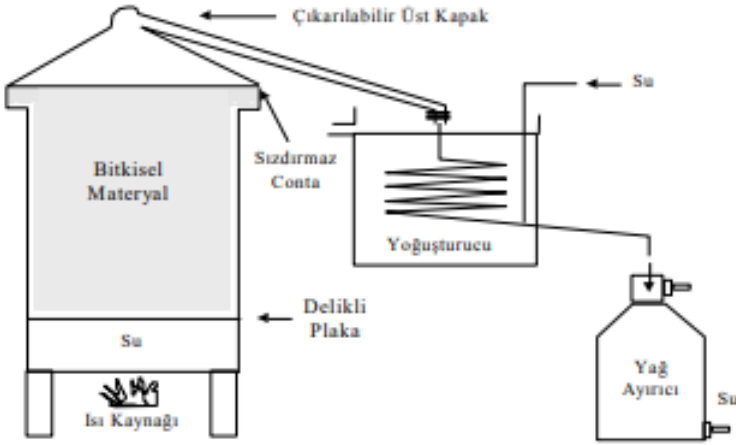
Uçucu yağ üretiminde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri distilasyon (damıtma) yöntemidir. Geleneksel bir yöntem olan distilasyon, küçük ölçekli üretimlerde “Clevenger” tipi aparatlar ile yapılırken, endüstriyel ölçekte büyük distilasyon kazanlarında (imbik) gerçekleştirilir. Distilasyonun temel prensibi, bitki materyalindeki yağ moleküllerini buharlaştırarak toplamak ve bu buharı yoğunlaştırarak sudan ayırmaktır. İki ana distilasyon yöntemi bulunmaktadır:

Su Distilasyonu

Bitki materyali su ile birlikte 2-8 saat süreyle kaynatılır. Su buharı, yağ moleküllerini taşıyarak bir soğutucudan geçirilir. Yoğunlaşan yağ molekülleri sudan ayrıştırılarak uçucu yağ elde edilir. Özellikle gül yağı üretiminde yaygın olarak kullanılır.

Buhar Distilasyonu

Bitki materyali bir kap veya kazan içerisine yerleştirilir. Basınçlı buhar uygulanarak bitki içindeki yağ damlacıkları buharlaştırılır ve soğutucudan geçirilir. Yoğunlaşan yağ molekülleri sudan ayrıştırılarak toplanır. Kekik, nane ve lavanta gibi bitkilerden yağ eldesinde tercih edilir (Lawrance, 1995; Öztekin ve Soysal, 1998).



Şekil 2: Buhar- su destilasyonu (Lawrance, 1995)

Ekstraksiyon

Uçucu yağlar dışında, tıbbi bitkilerde bulunan ticari değere sahip etkili maddeler (flavonoitler, alkaloitler, glikozitler vb.) ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilir. İki temel yöntem bulunmaktadır:

Çözücü Ekstraksiyonu

Konvansiyonel bir yöntemdir. Tıbbi bitki materyali, su, alkol, eter, hekzan gibi çözücülerin veya çözücü karışımlarının içerisine yerleştirilir. Bitkinin türüne göre belirlenen standart süre, ısı ve basınç koşullarında işlem yapılır. Ekstraksiyon sonrasında kullanılan çözücüler ortamdaki uzaklaştırılarak geri kazanılır ve geriye kalan madde "ekstrakt" olarak adlandırılır. Bu ekstrakt, istenilen etkili bileşikler içerir.

Süper Kritik Sıvı Ekstraksiyonu

Çevresel ve sağlık açısından daha güvenli bir yöntemdir. Su veya karbondioksit gibi maddeler, süper kritik sıvı özelliği gösteren çözücüler olarak kullanılır. Isı, basınç ve süre gibi kontrollü koşullarla, tıbbi bitkilerin içerdikleri etkili maddeler ayrıştırılır. Solvent bazlı yöntemlere göre kalıntı bırakmaması nedeniyle giderek daha fazla tercih edilmektedir. Süper kritik sıvı ekstraksiyonu, yenilikçi ve çevre dostu bir teknoloji olarak büyük ilgi görmektedir (Aslan ve ark., 2015; Aslan ve ark., 2021; Lawrance, 1995; Ou ve ark., 2015; Öztekin ve Soysal, 1998).

Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin (TAB) Kullanım Alanlar

Gelir düzeyi yüksek ülkelerde, tıbbi ve aromatik bitkilerin (TAB) kullanımına olan ilginin artması, bu bitkilerin doğal bitkisel ilaçlar şeklinde farklı bir kullanım türü olarak öne çıkmasını sağlamıştır. TAB, fitoterapi ve veterinerlik alanlarındaki kullanımının yanı sıra, aromaterapi, nutrasötikler, kozmesötikler ve hayvan refahını artırmaya yönelik uygulamalar gibi yenilikçi kavramlarla endüstriyel ürünlere dönüştürülmektedir (Şekil 3).

TAB'ın Yeni Kullanım Alanları

TAB'a dayalı yenilikçi ve katma değer sağlayan uygulamalar, bu bitkilerin fonksiyonel gıdalarda, hayvancılıkta ve tarımda (örneğin, bitki koruma ürünlerinde) kullanımına olanak tanımıştır (Christaki ve ark., 2012; Klimek-Szczykutowicz ve ark., 2020).

Uçucu Yağlar

TAB bünyesindeki biyoaktif bileşikler, özellikle uçucu yağlarda bulunur. Uçucu yağlar:

Gıda endüstrisinde: Alkolsüz içecekler, şekerlemeler gibi ürünlerde,

Kozmetik endüstrisinde: Parfüm, cilt ve saç bakım ürünlerinde,

Aromaterapide yoğun şekilde kullanılmaktadır (Christaki ve ark., 2012; Ribeiro-Santos ve ark., 2017).

Kişisel Kullanım ve Antimikrobiyal Özellikler

Uçucu yağlar, antiseptik ve antimikrobiyal maddeler olarak değerlendirilebilir. Bu yağlar: hava temizleme, kişisel hijyen, ağızdan tüketim gibi çeşitli alanlarda kullanılabilir. Ayrıca, mahsullerin ve gıda depolarının

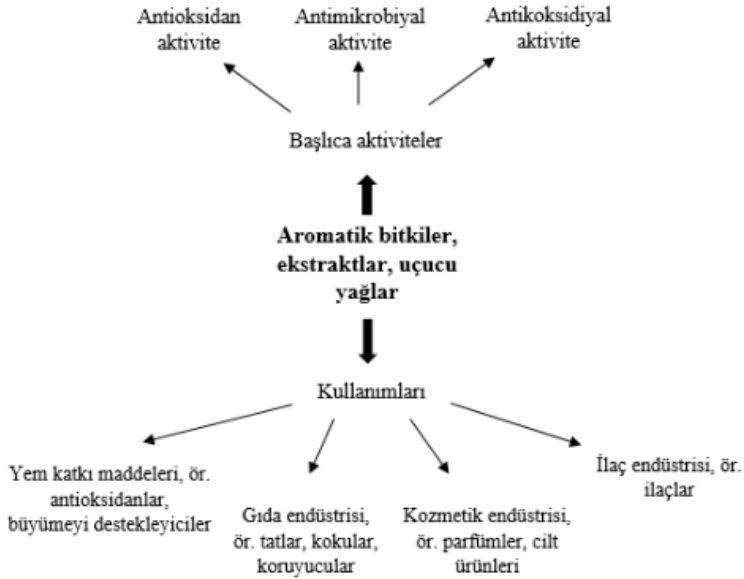
korunmasında böcek kovucu olarak da faydalanılmaktadır (Bakkal ve ark., 2008).

Doğal Ürünlerin İlaç Sanayisindeki Rolü

Mevcut tıbbi ilaçların %50'den fazlası bitkilerden elde edilmektedir (Jamshidi-Kia ve ark., 2018). İlaç sanayisi, yeni sentetik ilaçların keşfine odaklanmış olsa da, doğal ürünler hâlâ yeni bileşiklerin geliştirilmesi için önemli bir kaynak olmaya devam etmektedir.

TAB'ın Ticari ve Sanayi Ürünlerine Dönüşümü

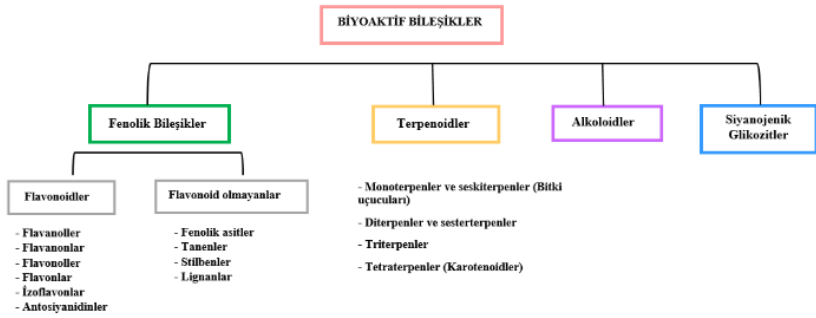
TAB, yalnızca geleneksel ilaç olarak değil, aynı zamanda uzak pazarların taleplerini karşılayan ticari ürünler olarak da merkezî bir rol oynamaktadır. Bu nedenle TAB'ın, gıda sanayisinde şu ürünlere işlenmesi için uygun kalite ve standartlarda üretilmesi gereklidir. Bunlar; gıda katkı maddeleri, baharatlar, bitki çayları, takviye edici gıdalar (Christaki ve ark., 2012; Varlı ve ark., 2020).



Şekil 3: Aromatik bitkilerin aktiviteleri ve kullanımları (Christaki ve ark., 2012)

TAB'lar gıda, kozmetik ve diğer uygulama alanlarının yanı sıra doğal antioksidan formülasyonları geliştirmek için araştırılmaya devam edilmektedirler (Do ve ark., 2014; Karataş ve ark., 2019). Bitki ekstraktlarının

toplam fenolik içeriği, antimikrobiyal aktivitesi, antioksidan aktivitesi ve gıda endüstrisi için geleneksel gıda koruyucularına alternatif olmasıyla son zamanlarda yoğun ilgi duyulmaktadır (Skotti ve ark., 2014). Bu sayede bitkilerin sekonder metabolitlerinin izole edilmesi, karakterizasyonu ve antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde çok fazla sayıda araştırma yapılmaktadır (Dede ve ark., 2019; Elmastaş ve ark., 2018; Erenler ve ark., 2017; Erenler ve ark., 2018; Genç ve ark., 2019; Karataş ve ark. 2019).



Şekil 4: Biyoaktif bileşiklerin başlıca sınıflandırılması (Shirahigue ve Ceccato-Antonini, 2020; Yang ve ark., 2018)

KAYNAKÇA

- Arslan, D., Aydın, M. Türker, S. (2021). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Ekstraksiyon Yöntemleri, Gıdalarda Kullanımı ve Takviye Edici Gıda Alanında Değerlendirilmesi. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 9(5), 926-936.
- Arslan, N., Baydar, H., Kızıllı, S., Karık, Ü., Şekeroğlu, N., Gümüşçü, A. (2015). Tıbbi Aromatik Bitkiler Üretiminde Değişimler Ve Yeni Arayışlar. Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi, 12, 16.
- Bahtiyarca Bağdat, R. (2006). Tıbbi Ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları, Tıbbi Adaçayı (*Salvia Officinalis L.*) Ve Ülkemizde Kekik Adıyla Bilinen Türlerin Yetiştirme Teknikleri. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 15(1-2), 19-28.
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Kızıllı, O. A. S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin arttırılması olanakları. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11, 15.
- Christaki E, Bonos E, Giannenas I, Florou-Paneri P. (2012). Aromatic plants as a source of bioactive compounds. Agriculture,2(3): 228-243. doi: 10.3390/agriculture2030228
- Çelik, A. D., Gül, A. (2022). Hatay yöresinde tıbbi ve aromatik bitkilerde pazarlama organizasyonunun etkinliğinin ve üretici memnuniyetinin belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 25(6), 1465-1478.
- Dede, E., Genc, N., Elmastas, M., Aksit, H., Erenler, R. (2019). Chemical constituents isolated from *Rhododendron ungerii* with antioxidant profile. The Natural Products Journal, 9: 238-243.
- DOKAP Bölge Kalkınma İdaresi (2020), Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretimini Yaygınlaştırılması Projesi Eğitim Kitabı.
- Do QD., Angkawijaya AE., Tran-Nguyen PL., Huynh LH., Soetaredjo FE., Ismadji S., Ju YH., (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. J Food Drug Anal. 22(3):296-302. doi: 10.1016/j.jfda.2013.11.001.

- Elmastaş, M., Celik, S. M., Genc, N., Aksit, H., Erenler R., Gulcin, İ., (2018). Antioxidant activity of an anatolian herbal tea *Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *International Journal of Food Properties*, 21:1, 374-384, DOI: 10.1080/10942912.2017.1416399.
- Erenler, R., Meral, B., Sen, O., Elmastas, M., Aydin, A., Eminagaoglu, O., Topcu, G. (2017). Bioassay-guided isolation, identification of compounds from *Origanum rotundifolium* and investigation of their antiproliferative and antioxidant activities, *Pharmaceutical Biology*, 55:1, 1646-1653.
- Erenler, R., Demirtas, İ., Karan, T., Gul, F., Kayir, O., Karakoc, O. C., (2018). Chemical constituents, quantitative analysis and insecticidal activities of plant extract and essential oil from *Origanum onites* L. *Trends Phytochem. Res.* 2(2) 2018 91-96.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11(1), 52-67.
- Jisieike CF, Betiku E. (2020). Rubber seed oil extraction: Effects of solvent polarity, extraction time and solid-solvent ratio on its yield and quality. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24: 101522. doi: 10.1016/j.bcab.2020.101522
- Karadağ, A. (2019). Türkiye'deki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Potansiyelleri ve Fenolik Kompozisyonları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (16), 631-637.
- Karataş, İ., Karataş, R., Elmastaş, M. (2019). Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Sıcak Su İnfüzyonlarının Sekonder Metabolit İçeriği ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 8(2), 49-57.
- Kieliszek M, Edris A, Kot AM, Piwowarek K. (2020). Biological Activity of Some Aromatic Plants and Their Metabolites, with an Emphasis on Health-Promoting Properties. *Molecules*. 27;25(11):2478. doi: 10.3390/molecules25112478
- Klimek-Szczykutowicz M, Szopa A, Ekiert H. (2020). *Citrus limon* (Lemon) phenomenon—A review of the chemistry, pharmacological properties, applications in the modern

- pharmaceutical, food, and cosmetics industries, and biotechnological studies. *Plants*, 9(1): 119. doi: 10.3390/plants9010119
- Lawrance, B.M. (1995). The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products. In: *A Manual on the Essential Oil Industry*. Edit. K., Tuley De Silva, pp. 58-109.
- Mokhtarzadeh, S., Peker, A., Ertunç, E., Çakır, M. F., (2023). Tıbbi ve Aromatik Bitkileri Konusuna Genel Bir Bakış. *Düzce Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(1), 1-7.
- Ou MC, Liu YH, Sun YW, Chan CF. (2015). The composition, antioxidant and antibacterial activities of cold-pressed and distilled essential oils of *Citrus paradisi* and *Citrus grandis*(L.) *Osbeck*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015: 1-9. doi: 10.1155/2015/804091
- Öztekin, S., Ve Soysal, Y. (1998). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Ekstraksiyon Yöntemleri. *Tarımsal Mekanizasyon 18. Ulusal Kongresi*, Tekirdağ.
- Phillipson, J.D. (1993). Quality Assurance of Medicinal Plants *Acta Horticulturae*, 333:117122.
- Ribeiro-Santos R, Andrade M, Sanches-Silva A, De Melo NR. (2017). Essential oils for food application: Natural substances with established biological activities. *Food Bioprocess Technology*. 11: 43-71. doi: 10.1007/s11947-017-1948-6
- Sarıhan, E. O.; İpek, A.; Arslan, N.; Gürbüz, B., (2006). Farklı sıra arası ve sıra üzeri mesafelerinin kekik (*Origanum vulgare var. hirtum*)' de verim ve verim öğeleri üzerine etkisi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 2006,12(3):246-251.
- Skotti, E., Anastasaki, E., Kanellou, G., Polissiou, M., Tarantilis, P. A., (2014). Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products* 53 46– 54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.013>.
- Shirahigue LD, Ceccato-Antonini SR. (2020). Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. *Ciência Rural*, 50(4): 1-17. doi: 10.1590/0103-8478cr20190857

- Temel, M., Tinmaz, A. B., Öztürk, M., Gündüz, O. (2018). Dünyada ve Türkiye’de Tıbbi -Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Ticareti. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 21, 198-214. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.473036> .
- Turgut K. (2022). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Tarımının Temel İlkeleri, Antalya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü.
- Varlı, M., Hancı, H., Kalafat, G. (2020). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretim Potansiyeli ve Biyoyararlılığı. Research Journal of Biomedical and Biotechnology, 1(1), 24-32.
- Yang L, Wen KS, Ruan X, Zhao YX, Wei F, Wang Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. Molecules, 23(4): 762. doi: 10.3390/molecules23040762
- Yıldıztekin M., Ulusoy H., Tuna A. L., (2019). Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yetiştiriciliği ve Sürdürülebilir Gelişimi, ISAS WINTER, Samsun, Turkey

BÖLÜM 10

ZEYTİNYAĞI FENOLİĞİ OLEOKANTAL'IN MEME KANSERİNDEKİ ANTİKANSER MOLEKÜLER MEKANİZMASI

Merve Nur AL PhD(c)¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14580029>

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Bölümü İstanbul, Türkiye. mervenur.al@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0002-2495-8358

GİRİŞ

Günümüzde, dünya çapında kanser en yaygın mortalite nedenlerinden biridir. Güncel verilere dayanarak 2030 yılına kadar yeni kanser vakalarının 26 milyona ulaşacağını ve yıllık 17 milyon kanser ölümünün görüleceği öngörülmektedir. Bu beklenen artış nüfusun yaşlanması, çevresel kirleticilere maruziyet, sigara kullanımı, sedanter yaşam tarzı, beslenme alışkanlıkları ve genetik yatkınlıklar gibi çeşitli risk faktörleri sebebiyle düşük ve orta gelir düzeyindeki ülkelerde en yüksek seviyede olacaktır (Buja ve ark., 2020).

Kanser oluşumunu önleyici tedbirler ve yeni nesil tedavi yaklaşımlarına rağmen birçok kanser türü için insidans ve mortalite oranlarında artış sürmektedir. Ek olarak, kemoterapi ve diğer kimyasal tedavi ajanlarının hastaların genel sağlığına zarar veren ve yaşam kalitelerini azaltan çeşitli yan etkilerinin bulunması önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır (Schwartz, 2024). Bundan dolayı, sağlıklı hücreler üzerinde daha az sitotoksik olan yeni antikanser etkili ajanların keşfine ihtiyaç vardır. Yapılan son araştırmalar, bitkilerden elde edilen biyoaktif bileşenlerin antikanser aktiviteye sahip olması araştırmacıların dikkatini çekmeye başlamıştır (Infante, 2023).

Bu bölümde, Oleokantal'ın yapısal özellikleri, inflamatuvar ve oksidatif hasarın ve kanser gelişimi üzerindeki terapötik etkileri moleküler düzeyde incelenecektir.

Oleokantal

Akdeniz diyetinin sağlık açısından faydalarının büyük bir kısmı, zeytin ağacının (*Olea europaea* L.) meyvesi olan zeytinlerin, mekanik ekstraksiyon yöntemiyle, yani ezilip preslenerek elde edilen yüksek kaliteli sızma zeytinyağı (EVOO) aracılığıyla sağlanmaktadır (Kusuma ve ark., 2024). Bu bağlamda, Akdeniz diyetinin önemli bir bileşeni olan sızma zeytinyağının inflamasyon, nörodejeneratif hastalıklar, metabolik sendrom, kardiyovasküler bozukluklar, kanser gibi birçok farklı hastalığın azaltılmasında etken olan fenolik antioksidan bileşikler ve yağ asitleri içerir (El Haouari ve ark., 2020).

Zeytinyağı tüketimi, Akdeniz diyeti için temel bir unsurdur. Sızma zeytinyağı (EVOO), başta tekli doymamış yağ asitleri olmak üzere triterpenler ve fenolik alkoller (örneğin, hidroksitirosol), sekoiridoidler (örneğin, oleuropein ve oleocanthal), lignanlar (örneğin, pinosresinol) ve flavonoidler

(örneğin, luteolin) gibi birçok polifenolik bileşik bakımından zengindir (Moral ve Escrich, 2022).

Sızma zeytinyağı, 'lipid profili ve polifenol' içeriğinden kaynaklanan faydalı etkileriyle nutrasötik yağ olarak kabul edilmektedir. Bu özelliklere ilişkin iki sağlık iddiası, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından onaylanmıştır (EFSA Panel, 2011). EVOO tüketiminin sağlık üzerindeki en ilgi çekici bileşeni doymamış yağ asitlerine atfedilmiş olsa da güncel literatür bulguları bu etkiyi polifenol gruplarıyla ilişkilendirmiştir (Moral ve Escrich, 2022; González-Rodríguez ve ark., 2023).

Fenolik bileşikler, hidrofilik antioksidanlar olup serbest radikal avcısı olarak görev yapar ve rafinasyon işlemi sırasında tükenmeleri nedeniyle yalnızca sızma yağda bulunurlar (Olmo-Cunillera, 2023). Bu grup arasında en dikkat çekici olanlar, enflamasyon karşıtı, immünomodülatör, antioksidan etkili, kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu, nöroprotektif ve antikanser aktivite gösteren ligstrosid aglikonu ve bunların ilgili dekarboksile dialdehit türevleri olan oleocanthal (p-hidroksifeniletanolenolik asit dialdehit veya dekarboksimetil ligstrozid aglikon, OC) ve oleacein'i (3,4-dihidroksifeniletanolenolik asit dialdehit, OA) içeren *Olea europaea* L. türündeki secoiridoidlerdir (Filardo ve ark., 2024).

Zeytinyağının içeriği büyük oranda lipitlerden oluşur ve triaçilgliseroller (TAG) bileşimin yaklaşık %99'luk bölümünü oluşturur. Bunun yanı sıra daha az miktarda monoaçilgliserol, diaçilgliserol, sterol, alifatik alkol, serbest yağ asitleri, tokoferol ve pigmentler bulunmaktadır. Sızma zeytinyağındaki TAG'lar bilhassa oleik asit gibi tekli doymamış yağ asitleri (MUFA'lar) açısından zengin olup, ayrıca palmitik asit gibi doymuş yağ asitleri bulundurmaktadır. Ek olarak linoleik ve linolenik asit gibi çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) da içerir (Marrero ve ark., 2024).

Kümülatif bilgilere dayanarak, EVOO'nun kalp-damar sağlığı açısından koruyucu etkileri, başta düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyeleri gibi kardiyoprotektif değişkenlerdeki düzelmelerle bağdaştırılmıştır. Fakat günümüzde bu yararların büyük bölümünün öncelikle fenolik bileşikler olmak üzere, sızma zeytinyağındaki duyuşal niteliklerden ve biyolojik özelliklerden sorumlu karotenoid ve sekoiridoidlerdir. Bu bileşikler hem yağın organoleptik özelliklerinden sorumluyken hem de antioksidan ve antikanser etkilerden sorumludur. Bu fenolik bileşikler yağın kararlılığını

artırmakla kalmayıp biyolojik yararlanım kapasitesine de katkı sağlamaktadır (González-Rodríguez ve ark., 2023).

Sızma zeytinyağının lipid profili iki gruba ayrılabilir: Total lipid ağırlığının çok büyük bir kısmını oluşturan ve sabunlaşmaya katkı sağlayan triaçilgliserollerin olduğu MUFA ve PUFA grubu ile, sabunlaşmaya katılmayan fraksiyon fenolik bileşikler ve antioksidanlardan oluşmaktadır. Lipid profilindeki sabunlaşmaya katkı sağlayan yağ asidi ve triaçilgliserol parametrelerine bakıldığında o yağın oksidatif stabilite ve acılığı hakkında MUFA/PUFA ve oleik/linoleik asit oranları bir belirteç oluşturmaktadır. Bu oran ne kadar yüksekse yağ o kadar kararlı ve tadı daha az acıdır (Velasco ve Dobarganes, 2002).

Sızma zeytinyağının daha az bölümünü oluşturan sabunlaşmayan fraksiyonu oksidasyonun öncül inhibitörleri olarak davranan iki bileşik grubunu oluşturur. Bu grubun ilk üyesi olan fenolik hidrofililik antioksidanlardan hidroksitirazol ve oleosid türevleri (oleokantal, oleasein, oleuropein) oksidatif kararlılığa katkı sağlayan bileşiklerdir. Diğer grup lipofilik antioksidan özelliği taşıyan tokoferollerdir. Tokoferollerin en önemli görevi lipit oksidasyonunu engellemek ve fotostabiliteye katkı sağlamaktır. Sızma zeytin yağındaki baskın tokoferol β – tokoferol, γ - tokoferol ve ayrıca α – tokoferolden oluşur. İçerikteki daha az antioksidan kapasiteye katkı sağlayan skualen grubu fenolik bileşiklere kombine halde etki gösterir (Rahmani ve Csallany, 1998).

***Oleokantal*'ın Yapısal Özellikleri**

Ekstra sızma zeytinyağından elde edilen doğal fenolik bir molekül olan oleokantal (OC), ilk olarak 1993 senesinde sentetik olarak (3S)-4-formil-3-(2-oksoetil) heks-4-enoik asidin 2-(p-hidroksifenil)etil esteri olarak bulundu. Literatür bulgularına göre, oleokantal zeytinyağı dışındaki ürünlerdeki varlığı bildirilmemiştir. Oleokantal, *Olea europaea* L. bitkisinde moleküler formda bulunmaz ancak sızma zeytinyağı üretimi sırasında enzimatik ve mekanik işlemler sonucunda oluşmaktadır (Velasco ve Dobarganes 2002; Olmo-Cunillera ve ark., 2023).

Ayrıca oleokantal, polifeneol açısından zengin ekstra sızma zeytinyağlarının tipik keskin aromasından sorumlu bir bileşiktir. Ancak bu aroma keskinliği ve polifenol zenginliği yalnızca geleneksel yönden olgunlaşma evresindeki ilk hasat zeytinlerinin mekanik yöntemlerle yapılan soğuk sıkım zeytinyağı için geçerlidir (Peyrot des Gachons ve ark., 2011).

Diğer önemli konu ise, oleokantal tarafından oluşan tadın tüm ağız boşluğunu etkilemesinden ziyade sadece orofaringeal bölgeye özel olmasıdır. Terminoloji yönünden ‘oleokantal’ ismi zeytin anlamı taşıyan “oleo“, batma hissi anlamı taşıyan “- kant –“ ve molekülün kimyasal formülündeki iki aldehit grubundan gelen “- al “ kelimelerinden oluşur(Cicerale ve ark., 2012).

Bu aromanın oluşturduğu spesifik duyuşal tat hissinden yola çıkan araştırmacılar, orofaringeal bölgede oleokantal için duyarlı bir spesifik reseptör varlığı olasılığından hareketle Geçici Reseptör Potansiyeli Ankirin 1 (TRPA1) spesifik olmayan katyon kanalını oleokantal duyuşal tat reseptörü olarak literatüre kazandırdılar. Sızma zeytinyağı tadımı esnasında oluşan tat duyarlılığının bireyden bireye değişmesinin sebebinin orofaringeal bölgedeki TRPA1 reseptör ekspresyonunun ve buna bağlı reseptör aktivasyonunun farklılığından ileri geliyor olabilir. Bundan dolayı oleokantal yönünden yoğun polifenol içeriğe sahip ekstra sızma zeytinyağları, test edilen yağ değerlendirme bir kalite standardı oluşturur (Peyrot des Gachons ve ark., 2011), (Beauchamp ve ark., 2005). Sızma zeytinyağındaki oleokantal derişimi 0,2 mg/kg’dan 498 mg/kg’a kadar yüksek bir değişim gösterebilir. Konsantrasyonundaki bu değişiklik zeytin türü ve yetiştirilme koşulları, uygulanan tarım teknikleri, zeytinin olgunluğu, ekstraksiyon şartları ve ayrıca yağın depolama ve ısıtma gibi faktörleriyle ilişkilidir. Coğrafya bakımından, oleokantal miktarlarında değişiklik bulunur. İtalyan sızma zeytin yağı toplam fenolik bileşik ve oleokantal miktarı açısından en yüksek seviyededir. Konsantrasyonu etkileyen bir diğer faktör ise ağaçların sulama sıklığı olup ağaçların sık sulanmasının oleokantal derişimini düşürdüğü görülmüştür (Cicerale ve ark., 2012; Carpi ve ark., 2019).

Oleokantal’ın Anti-inflamatuar ve Anti-oksidan Moleküler Mekanizması

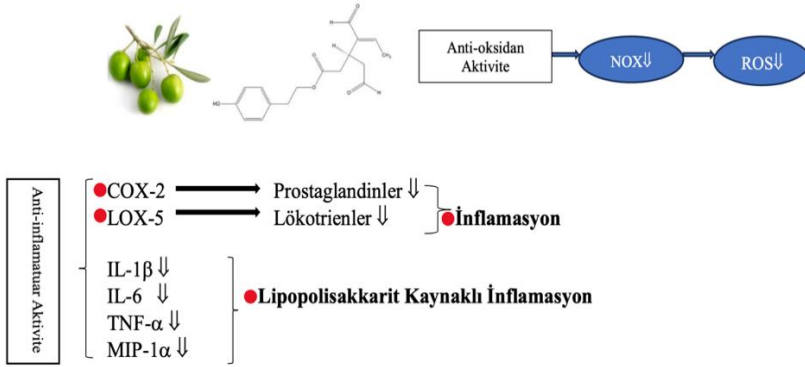
Oleokantal içeriği yüksek ekstra sızma zeytinyağı yutulduğunda tıpkı ibuprofen gibi boğazda karıncalanma hissi bırakır. Bu özellik araştırmacılar da, steroid olmayan bir anti-inflamatuar ilaç (NSAID) olan ibuprofen’e benzeyen etkiler gösterebileceğine yönelik sorular oluşturmuştur. Literatür verilerine göre, oleokantal’ın pro-enflamatuar mediatörlerin sentezinden sorumlu kilit enzimler olan siklooksijenaz-1 (COX-1) ve COX-2’nin aktivitesini doz etkili olarak inhibe ettiği ve böylece doğal bir NSAID olduğu düşünülmektedir (Balamurugan K. 2016).

Oleokantal'ın antioksidan özellikleri, metal iyonları üzerindeki şelatlama etkisiyle reaksiyonlardaki reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltır. Ayrıca katalaz (CAD), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitelerini artırıp, bir transkripsiyon faktörü olan Nrf2'yi uyararak antioksidan sistemleri aktive etmektedir. Yağ dokusunda oluşan inflamasyon, obezite ve diğer kronik rahatsızlıklarla ilgili çok sayıda yolağı etkiler. Oleokantal, yağ hücrelerindeki inflamasyonu, anjiogenezden sorumlu mediatörleri vasküler endotelial büyüme faktörü/kinaz ekleme alanı reseptörü (VEGF/KDR), matriks proteinlerinin yıkımından sorumlu matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2)) ve oksidatif stres belirteçleri (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz ile ilgili genlerin ekspresyonunu baskılamaktadır. Bu bağlamda inflamasyon sürecinde oluşan hipoksik koşullar VEGF gibi faktörlerin indüklenmesi sebebiyle anjiogenez artırıldığından dolayı oleokantal anti-inflamatuar etki göstererek anjiogenez faktörlerin dokuya sızmasına engel olmaktadır (Pang ve Chin, 2018), (Singh ve ark., 2019). Ek olarak, oleokantal lökositlerin kemotaksisinden ve dokuya infiltrasyonundan sorumlu monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1); CXC motif kemokin ligandı 10 (CXCL-10), makrofaj koloni uyarıcı faktörü (MCS-F)'nün ekspresyonunu inhibe etmektedir (Romani ve ark., 2019). Yağ dokusunda yoğun olarak ifade edilen ve metabolik anti-inflamatuar süreçlerin kontrolünden sorumlu PPAR γ (peroksizom proliferatör aktive edici reseptör- γ)'nin ekspresyonunu artırmaktadır. Oleokantal'ın kardiyoprotektif etkileri düşünüldüğünde aterosklerotik plak oluşumlarında trombosit aktivasyonu ile bağlantılı inflamatuvar agregasyon yanıtlarını etkileyebileceğini ve anti-trombosit özellikte doğal etken olacağını göstermektedir (Parkinson ve Keast 2014).

Randomize obezite ve diyabet hastalarından oluşan bir çalışmada kontrol grubuyla birlikte diyetlerine yağlar eklendi. Gruplardan biri oleocanthal ve oleaceince ile zengin yağ tüketirken, diğeri normal yağ tüketimine devam etti. Elde edilen sonuçlar oleokantal ile zenginleştirilmiş yağla beslenen grubun interferon γ seviyelerinde (IFN γ) bir düşüşle beraber, inflamasyon profilinde genel bir iyileşme görülmüştür (Romani ve ark., 2019).

İnflamatuar bir protein olan MIP-1 α (makrofaj inflamatuvar protein 1-alfa)'nın fazla ekspresyonu şiddetli kemik hastalıkları, kemik iliği yetmezliği, multiple miyeloma ile ilişkilidir. Scotece ve arkadaşlarının 2013'te yaptığı bir çalışmada oleocanthal'ın MIP-1 α protein seviyelerini sadece miyelom

hücrelerinde değil kondrositlerde ve makrofajlarda da inhibe ettiğini göstermiştir. Scotece ve diğerleri, buldukların sonucun mekanizmasını interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), nitrik oksit sentaz-2 (NOS2), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), COX-2, MIP-1 α ve lipokalin-2 (LCN2) gibi inflamatuvar sitokin genlerin inhibisyonu ile açıklamıştır (Segura-Carretero ve Curiel 2018).



Şekil 1: Oleocanthal'ın antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinin temelindeki moleküler mekanizmalar (Infante ve ark., 2023)

ADAMTS (trombospondin motifli disintegrin ve metalloproteinaz) gen ailesi, ekstraselüler matriksin (ECM) düzenlenmesinde önemli görevler üstlenen ve inflamatuvar mediatörlerle etkileşim kurabilen proteazlardan oluşur. Bu proteazlar, ECM yeniden düzenlenmesi, anjiyogenez, fibrozis ve kan pıhtılaşması gibi farklı biyolojik süreçlerde çok çeşitli işlevlere sahiptir. Oleokantal, bu katabolik genlerin ifadesini azaltarak eklem kıkırdağı dejenerasyonu ve matriks kaybının önüne geçmiştir (Marrero ve ark., 2024).

Yine farklı bir çalışmada, oleokantal'ın hepatik hücreler üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada oleokantal uygulamasının hücre proliferasyonunu önemli ölçüde azalttığını ve LX2 hücre hattında hücre dışı matriks sentezinin sınırlandırılarak fibroblast aktivitesini düşürmektedir (Francisco ve ark., 2019).

Ayrıca oleokantal, hepatosellüler hücre hattında pro-inflamatuar genlerin aktivitesini azaltarak anti-inflamatuar bir molekül olarak davranmıştır. Ek olarak, karaciğer hücrelerindeki oksidatif stres belirteçlerini

azaltarak fibrozla ilişkili miRNA ifadesindeki değişkenlikleri organize eder (Pei ve ark., 2016).

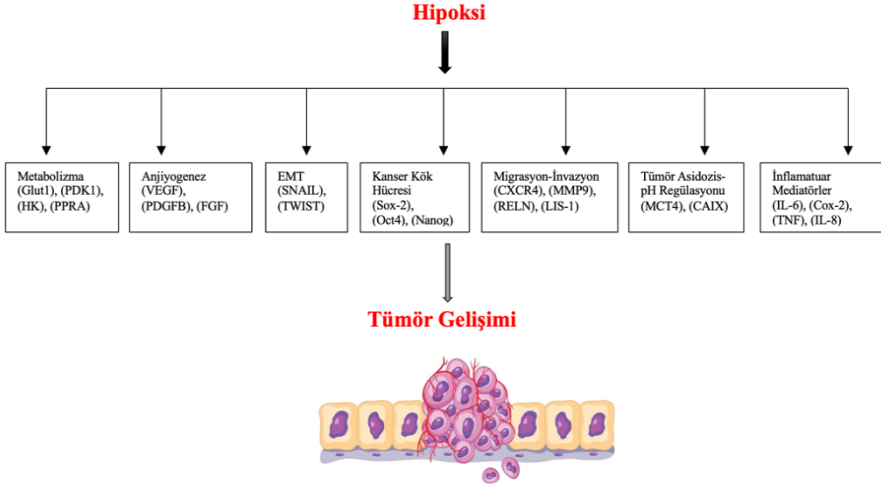
Tümör Metabolizmasında İnflamasyonun Rolü

1863'te Rudolf Virchow, lenforetiküler infiltratın içerisinde lökositlerin bulunduğunu farkederek inflamasyon ve kanser arasındaki ilk ipucunu buldu. Devam eden çalışmalar Virchow'un bu hipotezini destekler nitelikteydi. Çünkü inflamasyonun tümör gelişiminde belirleyici bir rol oynadığını açıkça ortaya koyan bilimsel kanıtlara son on yılda net olarak ulaşıldı (Pei ve ark., 2016).

İnflamasyon akut ve kronik olarak iki farklı şekilde meydana gelmektedir. Akut inflamasyon, organizmayı olası alarm durumlarına karşı hızlı harekete geçiren ve immün sistemi destekleyen sağlıklı biyolojik bir süreçtir. Yapılan araştırmalara göre; diyabet, kanser, artrit, Alzheimer, lupus, kardiyovasküler hastalıklarda kronik inflamasyonun katkı sağladığı bulunmuştur. Kronik inflamasyon, sıklıkla karsinogenezin erken evresinde ve prognozu kötüleştirmede destekleyici bir faktördür. Kanserle bağlantılı inflamasyona neden olan hücreler genetik olarak kararludur, bu da onları kanser hücrelerinde yaygın gözlenen hızlı ilaç direnci gelişimine karşı daha dayanıklı hale getirir (Coussens ve Werb 2002).

Kanser hücreleri ve çevresindeki stromal hücreler arasındaki karmaşık sinyalleşmeler kanser ilerlemesinde kritik öneme sahiptir. Tümör mikroçevresinin şekillenmesini etkileyen birçok farklı unsur arasında, hipoksi kanser yayılımını teşvik eden temel şartlardan biridir. Düşük oksijen seviyeleri organizmanın gelişimi, farklılaşma, yara iyileşmesi gibi fizyolojik süreçlerde önemlidir. Fakat düzensiz hipoksi şartları, dünya genelinde birçok hastalığa zemin hazırlamak ve felç, kronik metabolik hastalıklar, kanser gibi birçok hastalığın ilerlemesinden sorumludur (Korbecki ve ark., 2021).

Oksijen seviyelerinin düşük olduğu düzensiz, hipoksik sinyalleşmeye hücrenin verdiği yanıtların çoğu, hücrenin hipoksik ortama uyum sağlamasına imkan tanıyan genlerin ekspresyonunu etkileyen hipoksi-indüklenebilir faktörler (HIF'ler) tarafından sağlanır. HIF protein ailesi arasında bulunan HIF-1 α karsinogenezde sinyal iletimini aktive eden ve en sık araştırılan transkripsiyon faktörüdür (Coussens ve Werb 2002; Korbecki ve ark., 2021).



Şekil 2: Tümör gelişiminde hipoksi kaynaklı inflamasyonun modülatör mediatörleri (Balamurugan, 2017)

Kanser hücrelerine benzer şekilde, bağışıklık hücreleri de oksijen bakımından zengin inflamasyon alanına geçtiklerinde hipoksik bir ortamla karşılaşır. Bu süreç, bağışıklık hücrelerinde Hipoksi İndüklenebilir Faktör-1'in (HIF-1) etkinleşmesine yol açar. HIF-1 α , lenfanjiyogenik sitokinlerin ifadesini kontrol ederek yara iyileşmesi inflamatuvar lenfanjiyogenez esnasında lenfatik damarların yenilenmesini ve fonksiyonel düzenlenmesini sağlar (Yeung ve ark., 2018).

Ayrıca, HIF-1 α 'nın miyeloid hücrelerde koşullu silinmesi, fareleri lipopolisakkarit (LPS) aracılı ölümden korur ve sepsisle bağlantılı hipotansiyon ile hipotermiyi önler. HIF-1'in inflamatuvar cevapları üzerindeki geniş ve karmaşık etkileri, onun sadece pasif bir rol oynamadığını, aksine bağışıklık ve bağışıklık dışı hücreler aracılığıyla inflamasyona bağlı hastalıklar ve kanserin ilerlemesi üzerinde belirleyici bir rol üstlendiğini ortaya koymaktadır. (Coussens ve Werb 2002).

Katı tümörlerin yaklaşık olarak %60'ında, etrafındaki sağlıklı dokularda görülen 40-65 mmHg arasındaki kısmi oksijen basıncına (pO₂) karşılık, %1'in altında oksijen seviyelerine ve 10 mm Hg'nin altında pO₂

değerlerine sahiptir. Kan akışının yetersiz olduğu durumlarda tümörlerde kısa süreli veya akut hipoksi gelişirken, büyümüş tümörlerde oksijenin dokulara yayılımının sınırlanması kronik hipoksiye yol açar. Solid tümörler büyüdükçe besin ve oksijen tedarikini aşarak dokuda nekroza neden olmaktadır (Yuan ve ark., 2022).

Tümör mikroçevresinde hipoksik ve nekrotik alanlar, proinflamatuvar mediatörler üreterek daha fazla bağışıklık hücrelerini o bölgeye çeker. Bu durum, tümörde bağışıklık yanıtın engellenmesine sebep olurken, kanser hücrelerinin proliferasyonunu, anjiyogenezi ve metastazı tetikleyerek kanser hücrelerinin yayılımına katkıda bulunur (Castillo-Rodríguez ve ark., 2022).

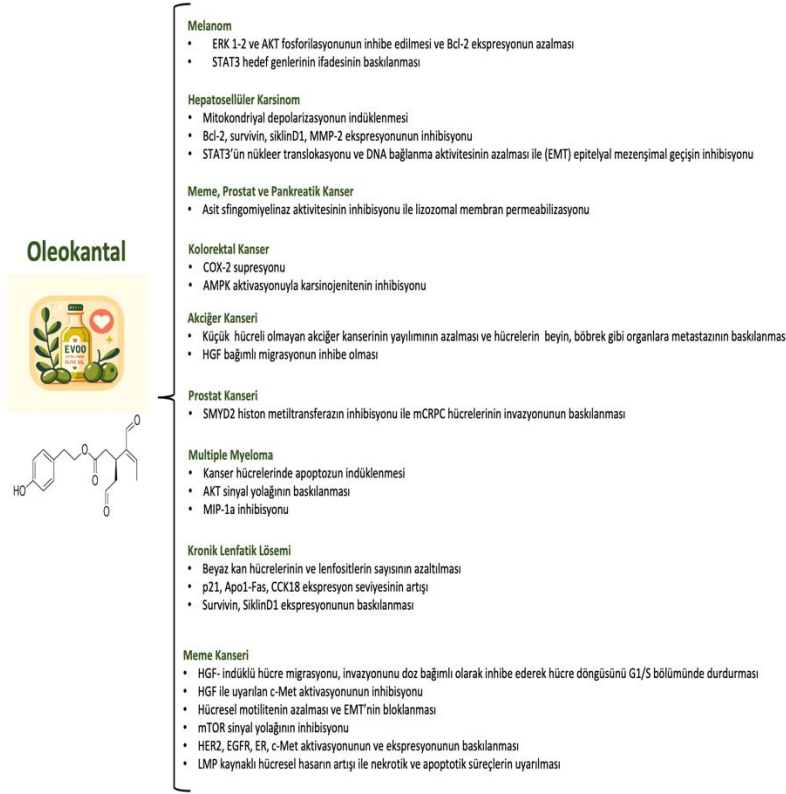
Kronik inflamasyon, bağışıklık sisteminin doğal savunma mekanizmalarını ve inflamatuvar süreçleri yöneten anahtar transkripsiyon faktörü nükleer faktör kappa B'yi (NF- κ B) aktif hale getirir. İleri araştırmalar, NF- κ B ve HIF-1'in inflamatuvar sinyal yollarını hipoksi ile bağdaştıran önemli bir köprü olduğunu ortaya koymaktadır. İnflamasyon sırasında, inhibitör I κ B proteinleri NF- κ B'den uzaklaşır ve NF- κ B'nin nükleusa geçerek interlökin-8 (IL-8), interlökin-6 (IL-6), siklooksijenaz-2 (COX-2), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (NOS2), trombosit endotelial hücre adezyon molekül-1 (PECAM-1) ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP9) gibi tümörle ilişkili genleri aktive etmesine imkân tanır. Buna ek olarak, NF- κ B ve HIF-1, hücrelerin hayatta kalmasını destekleyen BCL2, CXCR1 ve CXCR2 gibi genlerin ifadesini de artırır. HIF-1, tümörle ilişkili metabolik değişim olan Warburg etkisinin önemli bir düzenleyicisidir. Bu süreçte, kanser hücreleri enerji gereksinimini oksidatif fosforilasyon yerine, glukozun oksidatif olmayan bir şekilde parçalanmasıyla gerçekleştirir (Russo ve ark., 2015).

HIF-1'in glikolitik yolaktaki hedeflerinden Glut1, HK2 ve LDH-A gibi bazı genler direkt Bunun yanı sıra, yeni araştırmalar memeli rapamisin hedefi (mTOR) yolunun, Warburg etkisinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığını ve bu düzenlemenin büyük ölçüde mTOR'un HIF-1 α üzerindeki etkisiyle ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır (Yuan ve ark., 2022). Glikolitik dönüşümün en önemli etkilerinden biri, tümör mikroçevresinin asidik bir yapıya bürünmesidir. Artan glikoliz, laktat ve H⁺ seviyelerindeki artışa yol açar ve bu moleküller, MCT1, MCT4 ve Na⁺/H⁺ değiştiricisi 1 (NHE1) gibi hücre içi pH (pHi) düzenleyici proteinlerin ifadesini etkileyerek asidik bir mikroçevreye yol açar. Asidik mikroçevre ve metabolik değişim, inflamatuvar yanıtı etkileyerek kanserin ilerlemesini ve saldırganlığını artıran birçok ara moleköl sağlar (Lucas ve ark., 2011).

Bu veriler, HIF-1'in hem kanser ilerlemesiyle hem de inflamasyonla ilişkili olan Warburg metabolizmasının temel bir düzenleyicisi olarak işlev gördüğünü göstermektedir (Courtney ve ark., 2015).

Oleokantal'ın Anti-kanser Etkisinin Moleküler Mekanizması

Oleocanthal, sızma zeytinyağından (EVOO) ekstrakte edilen ve hem in vitro hem de in vivo sitotoksik antikanser etkileriyle bilinen doğal bir sekoiridoid türüdür (El Haourari ve ark., 2020). Oleokantal'ın antikanser aktivitesine dair bulgular, insanlarda sık görülen ve yüksek ölüm oranlarına yol açan meme, kolon, akciğer, glioblastoma gibi kanser türlerini kapsamaktadır. Oleokantal'ın kanser üzerindeki kapsamlı etkilerini inceleyen çalışmalara göre; bu bileşik kanser hücrelerinin proliferasyonunu engelleme, hücre ölüm yollarını indüklemeye, vaskülerizasyonu ve invazyonu baskılama, metastatik hücre göçünü durdurma, sinyal yollarını düzenleme gibi multi-koruyucu etkilere sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca oleokantal tümör dokusunda redoks homeostazını bozarak tümör immünogenezine katkı sağlayan hücreleri modüle eder (Segura-Carretero ve Curiel 2018; El Haourari ve ark., 2020).



Şekil 3: Oleokantal'ın farklı kanser türlerinde gösterdiği sitotoksik etkilerin moleküler mekanizması (El Haourari ve ark., 2020), (Infante ve ark., 2023)

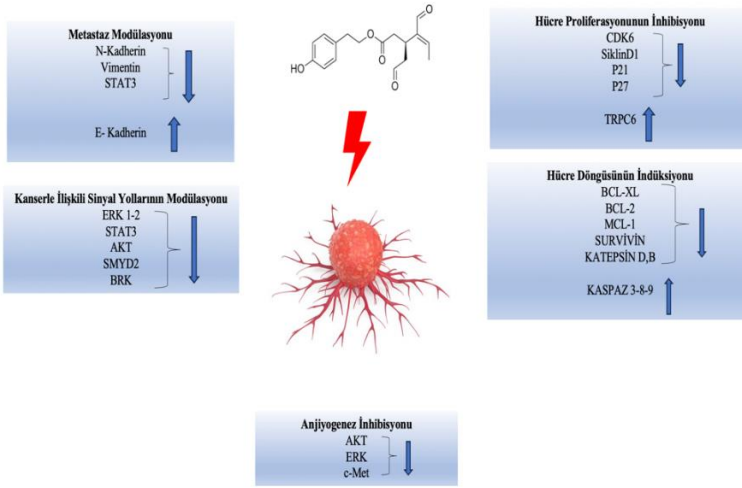
Oleokantal'ın Meme Kanserindeki Anti-kanser Etkisi

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlar arasında en yaygın teşhis edilen kanser türü olup, kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenidir. Meme kanseri, genetik ifade profillerine göre, fenotiplerine ve moleküler görüntülerine göre farklı alt türlere ayrılabilen heterojen özellikte bir hastalıktır. Bu moleküler sınıflandırma arasında lüminal A, lüminal B, HER2 pozitif ve bazal benzeri meme karsinomu yer alır. Her bir moleküler alt tip, kendine göre patolojik özgünlük ve klinik sonuçlarla ilişkilidir. Lüminal alt tipteki meme kanserleri, bütün vakaların %60 kadarını oluşturur ve tedaviye direnç ile agresiflik açısından prognozu etkileyen parametreleri içerir (Marrero ve ark., 2023).

Oleokantal'ın kanser hücreleri üzerindeki anti-proliferatif etkileri ilk olarak 2011 yılında Elnagar ve arkadaşları tarafından raporlanmıştır. Bu çalışmada, oleokantal'ın metastatik meme kanseri MDA-MB-231 hücre hattında hücre göçünü engellediği gösterilmiştir (Elnagar ve ark., 2011). Oleokantal'ın anti-kanser aktivitesinde birkaç farklı mekanizma vardır. Bunlardan biri, oleokantal'ın bir c-met inhibitörü olarak davranmasıdır (Marrero ve ark., 2024).

c-Met, hepatosit büyüme faktörünün bağlanmasıyla aktif hale gelen meme kanseri yayılımından sorumlu bir reseptör tirozin kinazdır. c-Met amplifikasyonu, hareketsiz tümör hücrelerini aktive eden bir moleküler mekanizmadır; bu da kanser hücrelerinin yeniden çoğalmasına ve sonrasında tümörün tekrarlaması ve nüksetmesine yol açmaktadır (Elnagar ve ark., 2011).

c-Met aktivasyonu hücre proliferasyonu ve metastaz ile bağlantılı olan MAPK-ERK ve PI3K-Akt sinyal yolağını uyarmaktadır. c-Met, insan büyüme faktörü (HER) RTK elemanlarıyla çapraz etkileşim kurarak HER2 ile dimerleşme yapabilir. c-Met'in duplikasyonu, çoklu ilaç direnciyle ilişkilidir. Akl ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptığı çalışmada, oleokantal uygulanmış meme kanseri hücrelerinde hepatisit büyüme faktörüyle uyarılan c-met reseptörünün aşağı yönlü akışını inhibe ettiği bulunmuştur. Çalışmada ölüm şeklinin kaspaz-8/3 aktivasyonu ve PARP parçalanmasının indüksiyonuna ve böylece c-Met bozunumuna eşlik eden apoptoz olduğu belirlenmiştir. Ayrıca HGF kaynaklı c-Met indüklenmesinin epitelyal mezenseşimal geçişi inhibe ettiği görülmüştür. (Akl ve ark., 2014).



Şekil 4: Oleokantal'ın kanserle ilişkili genlere etkisi (Phang ve Chin, 2018)

Oleokantal'ın, hücre yüzey reseptörleri üzerindeki inhibitör etkisini; c-Met'in ATP bağlanma alanına olan mükemmel afinitesi, PI3k'ın ATP cebine kenetlenmesi, ER üzerindeki 17β -östradiol bağlanma bölgesine yüksek afinitesi ile açıklanmaktadır (Ayoub ve ark., 2017).

2017 yılında Ayoub ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; Oleokantal'ın mitojen içermeyen ortamda BT-474, MCF-7 ve T-47D hücrelerin farklı IC50 konsantrasyonlarında sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. Diğer yandan, östrojen reseptör (ER) ligandı olan 17β -estradiol destekli ortama Oleokantal uygulanması ile mitojen faktör varlığına rağmen hücre proliferasyonunun baskılandığı görülmüştür. Son olarak ise, tamoksifen ve oleokantal kombinasyonun her üç hücre içinde ciddi oranda sitotoksikite gösterdiği saptanmıştır. İn-silico modellemelerde oleokantal ve 17β -estradiolün östrojen reseptörlerine bağlanma şekillerinin önemli oranda örtüşme gösterdiğini, fakat oleokantal ve tamoksifenin farklı bağlanma modları taşıdığı görülmüştür. Ayrıca oleokantal tedavisi in vivo ve in vitro ortamda hücre yüzeyindeki östrojen reseptörlerinin sayısını azaltarak reseptör amplifikasyonunun önüne geçmektedir. (Akl ve ark., 2014; Ayoub ve ark., 2017).

Bu sonuçlardan yola çıkarak, oleokantal tedavisi, hormona duyarlı meme karsinomunun büyümesini azaltmada ve tamoksifen tedavisinde istenmeyen ilaç direncini iyileştirme açısından potansiyel faydalı bir etki

göstermektedir. Bu veriler, oleocantal'ın lüminal meme kanseri tedavisinde endokrin ajanlarla birlikte kullanımının etkisini saptamak için mantıklı nedenler oluşturmaktadır (Ayoub ve ark., 2017; Siddique ve ark., 2020).

Farklı klinik ve deneysel çalışmalara göre, oleokantal tedavisi uygulanan MCF-7 östrojen pozitif meme kanseri ve BT474 HER2 pozitif meme kanseri hücre hatlarında hücre döngüsü kontrolünden sorumlu p21 ve p27 proteininin ifadesindeki artış ile siklin D1, CDK6 aktivitesini inhibe ederek hücre döngüsünü G1 aşamasında tutuklar ve hücreyi apoptoza yönlendirir (Infante ve ark., 2023).

Oleokantal'ın hücre ölümünde tercih ettiği diğer sitotoksik yolak ise lizozoma bağımlı hücre ölümüdür. Çeşitli stres faktörleri hücrede lizozomal membran geçirgenliği (LMP)'yi indükleyerek sitozolde lizozomal enzim sıvısına neden olur (LeGendre ve ark., 2015).

Yakın zamanda bu yeni hücre ölüm mekanizmasıyla ilgili olarak, karsinojenik özellik kazanan hücrelerde lizozom normale kıyasla genişlemiş bir yapıya sahip olup bu durum lizozomal fonksiyonun farklılaşmasından ileri gelmektedir. Lizozomal süreçlere artan bağımlılık, kanser hücreleri için ciddi bir zaaf noktası oluşturur (LeGendre ve ark., 2015).

Christian DeDuve'un ifade ettiği gibi, lizozomlarda yüksek miktarda bulunan proteolitik enzimler onları adeta 'intihar torbaları'na dönüştürür. Transforme hücrelerde lizozomlar, katepsin gibi hidrolazların sitozole salınmasına yol açan yırtılmalara daha duyarlıdır. Lizozomal membran geçirgenliğinin (LMP) derecesine göre apoptotik ya da apoptotik olmayan hücre ölümü meydana gelebilir. LMP'nin düşük seviyeleri, hücreye zarar vererek apoptotik ölüm süreçlerini tetiklerken, yüksek seviyeleri hücreyi hızla ve doğrudan nekroz yoluyla yok eder (Pei ve ark., 2016; Ünsal ve ark., 2020).

Brk (meme tümörü kinazı) reseptör olmayan bir tirozin kinazdır. Rac1 proteini, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi yoluyla hücre hareketliliğini düzenleyen, küçük GTP bağlayıcı proteindir. Paxillin hücre adhezyonundan sorumlu adaptör bir proteindir. Oleokantal, meme kanseri hücrelerinde Brk/paxillin/Rac1 inhibisyonuyla metastatik göç ve istila karşıtı bir görev üstlenmektedir (Marrero ve ark., 2023).

Yine bu bağlamda farklı bir araştırmada, meme kanseri tümörlerinde sıklıkla aktif olan hücre metabolizmasından ve büyümesinden sorumlu

sinyalleri entegre eden mTOR yolağının oleokantal ile inhibe edildiği gösterilmiştir (Tajmim ve ark., 2019).

Oleokantal'ın in vitro etkilerini destekleyen bulgular, hayvan modellerinde tümör büyümesini önemli ölçüde azalttığını ve meme kansinomun diğer organlara metastazını engellediğini ortaya koymuştur. Dahası, Oleokantal'ın sağlık üzerinde olumlu etkiler sağlama ve kanseri önleme potansiyelini değerlendiren çalışmalar, bu bileşiğin sağlıklı insan meme epitel hücrelerinin canlılık ve büyümesini olumsuz etkilemediğini göstermiştir (Cusimano ve ark., 2017).

Yakın zamanda gerçekleştirilen çalışmalar, Oleokantal'ın hormon duyarlı meme kanseri türünde, hem in vitro hem in vivo (hayvan) modellerinde HER2 tirozin kinaz reseptör inhibitörü ile güçlü sinerjik etki oluşturduğu görülmüştür (Siddique ve ark., 2019).

Kemoterapötik ilaçlarla karşılaştırmalı çalışmalarda, Oleokantal'ın hormon bağımlı meme kanseri modellerinde östrojen reseptörünün (ER) ifadesi ve fonksiyonu olumlu yönden modüle ettiği hem in vitro hem de in vivo modellerde etkili olduğunu doğrulamış ve seçici ER modülatörü tamoksifen ile güçlü bir sinerji oluşturduğunu göstermiştir (Diez-Bello ve ark., 2019).

Başka bir araştırmada, ağız yoluyla alınan Oleokantal'ın fare ortotopik ksenograft modelinde üçlü negatif meme kanserinin (TNBC) büyümesini ciddi oranda azalttığı gösterilmiştir (Buja ve ark., 2020).

Zeytinyağının çok yönlü faydalarına ilişkin önceki araştırmaların sonuçları ve Akdeniz diyetinin kansere karşı koruyucu ve terapötik etkilerinde sızma zeytinyağı (EVOO) tüketiminin temel bir bileşen olduğunu ortaya koyan kapsamlı epidemiyolojik kanıtlarla birlikte ele alındığında, fenolik bir bileşen olan Oleokantal'ın, bu son derece arzu edilen faydalarından sorumlu temel bir bileşen olabileceği hipotezini güçlü bir şekilde desteklemektedir (Ginter ve Simko (2015).

KAYNAKÇA

- Akl, M. R., Ayoub, N. M., Mohyeldin, M. M., Busnena, B. A., Foudah, A. I., Liu, Y. Y., & Sayed, K. A. E. (2014). Olive phenolics as c-Met inhibitors:(-)-Oleocanthal attenuates cell proliferation, invasiveness, and tumor growth in breast cancer models. *PloS one*, 9(5), e97622.
- Akl, M. R., Ayoub, N. M., Mohyeldin, M. M., Busnena, B. A., Foudah, A. I., Liu, Y. Y., & Sayed, K. A. (2014). Olive phenolics as c-Met inhibitors: (-)-Oleocanthal attenuates cell proliferation, invasiveness, and tumor growth in breast cancer models. *PloS one*, 9(5), e97622. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097622>
- Ayoub, N. M., Siddique, A. B., Ebrahim, H. Y., Mohyeldin, M. M., & El Sayed, K. A. (2017). The olive oil phenolic (-)-oleocanthal modulates estrogen receptor expression in luminal breast cancer in vitro and in vivo and synergizes with tamoxifen treatment. *European journal of pharmacology*, 810, 100–111. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.06.019>
- Balamurugan K. (2016). HIF-1 at the crossroads of hypoxia, inflammation, and cancer. *International journal of cancer*, 138(5), 1058–1066. <https://doi.org/10.1002/ijc.29519>
- Beauchamp, G. K., Keast, R. S., Morel, D., Lin, J., Pika, J., Han, Q., ... & Breslin, P. A. (2005). Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature*, 437(7055), 45-46.
- Buja, A., Pierbon, M., Lago, L., Grotto, G., & Baldo, V. (2020). Breast Cancer Primary Prevention and Diet: An Umbrella Review. *International journal of environmental research and public health*, 17(13), 4731. <https://doi.org/10.3390/ijerph17134731>
- Carpi, S., Scoditti, E., Massaro, M., Polini, B., Manera, C., Digiacomio, M., Esposito Salsano, J., Poli, G., Tuccinardi, T., Doccini, S., Santorelli, F. M., Carluccio, M. A., Macchia, M., Wabitsch, M., De Caterina, R., & Nieri, P. (2019). The Extra-Virgin Olive Oil Polyphenols Oleocanthal and Oleacein Counteract Inflammation-Related Gene and miRNA Expression in Adipocytes by Attenuating NF-κB Activation. *Nutrients*, 11(12), 2855. <https://doi.org/10.3390/nu11122855>
- Castillo-Rodríguez, R. A., Trejo-Solís, C., Cabrera-Cano, A., Gómez-Manzo, S., & Dávila-Borja, V. M. (2022). Hypoxia as a Modulator of

- Inflammation and Immune Response in Cancer. *Cancers*, 14(9), 2291. <https://doi.org/10.3390/cancers14092291>
- Cicerale, S., Lucas, L. J., & Keast, R. S. J. (2012). Oleocanthal: A naturally occurring anti-inflammatory agent in virgin olive oil. *Olive Oil-Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*, 357-374.
- Courtney, R., Ngo, D. C., Malik, N., Ververis, K., Tortorella, S. M., & Karagiannis, T. C. (2015). Cancer metabolism and the Warburg effect: the role of HIF-1 and PI3K. *Molecular biology reports*, 42(4), 841–851. <https://doi.org/10.1007/s11033-015-3858-x>
- Coussens, L. M., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420(6917), 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature01322>
- Cusimano, A., Balasus, D., Azzolina, A., Augello, G., Emma, M. R., Di Sano, C., Gramignoli, R., Strom, S. C., McCubrey, J. A., Montalto, G., & Cervello, M. (2017). Oleocanthal exerts antitumor effects on human liver and colon cancer cells through ROS generation. *International journal of oncology*, 51(2), 533–544. <https://doi.org/10.3892/ijo.2017.4049>
- Diez-Bello, R., Jardin, I., Lopez, J. J., El Haouari, M., Ortega-Vidal, J., Altarejos, J., Salido, G. M., Salido, S., & Rosado, J. A. (2019). (-)-Oleocanthal inhibits proliferation and migration by modulating Ca²⁺ entry through TRPC6 in breast cancer cells. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1866(3), 474–485. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.10.010>
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2011). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to olive oil and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1316, 1332), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 1316, 1332), maintenance of normal blood HDL cholesterol concentrations (ID 1316, 1332) and maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 4244) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 9(4), 2044.

- El Haouari, M., Quintero, J. E., & Rosado, J. A. (2020). Anticancer molecular mechanisms of oleocanthal. *Phytotherapy research : PTR*, 34(11), 2820–2834. <https://doi.org/10.1002/ptr.6722>
- Elnagar, A. Y., Sylvester, P. W., & El Sayed, K. A. (2011). (–)-Oleocanthal as a c-Met inhibitor for the control of metastatic breast and prostate cancers. *Planta medica*, 77(10), 1013-1019.
- Filardo, S., Roberto, M., Di Risola, D., Mosca, L., Di Pietro, M., & Sessa, R. (2024). *Olea europaea* L-derived secoiridoids: Beneficial health effects and potential therapeutic approaches. *Pharmacology & therapeutics*, 254, 108595. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2024.108595>
- Francisco, V., Ruiz-Fernández, C., Lahera, V., Lago, F., Pino, J., Skaltsounis, L., González-Gay, M. A., Mobasher, A., Gómez, R., Scotece, M., & Gualillo, O. (2019). Natural Molecules for Healthy Lifestyles: Oleocanthal from Extra Virgin Olive Oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(14), 3845–3853. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06723>
- Ginter, E., & Simko, V. (2015). Recent data on Mediterranean diet, cardiovascular disease, cancer, diabetes and life expectancy. *Bratislavske lekarske listy*, 116(6), 346–348. https://doi.org/10.4149/bll_2015_065
- González-Rodríguez, M., Ait Edjoudi, D., Cordero-Barreal, A., Farrag, M., Varela-García, M., Torrijos-Pulpón, C., Ruiz-Fernández, C., Capuozzo, M., Ottaiano, A., Lago, F., Pino, J., Farrag, Y., & Gualillo, O. (2023). Oleocanthal, an Antioxidant Phenolic Compound in Extra Virgin Olive Oil (EVOO): A Comprehensive Systematic Review of Its Potential in Inflammation and Cancer. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(12), 2112. <https://doi.org/10.3390/antiox12122112>
- Goren, L., Zhang, G., Kaushik, S., Breslin, P. A. S., Du, Y. N., & Foster, D. A. (2019). (–)-Oleocanthal and (–)-oleocanthal-rich olive oils induce lysosomal membrane permeabilization in cancer cells. *PloS one*, 14(8), e0216024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216024>
- Infante, R., Infante, M., Pastore, D., Pacifici, F., Chierighin, F., Malatesta, G., Donadel, G., Tesauro, M., & Della-Morte, D. (2023). An Appraisal of the Oleocanthal-Rich Extra Virgin Olive Oil (EVOO) and Its

- Potential Anticancer and Neuroprotective Properties. *International journal of molecular sciences*, 24(24), 17323. <https://doi.org/10.3390/ijms242417323>
- Karousi, P., Kontos, C. K., Papakotsi, P., Kostakis, I. K., Skaltsounis, A. L., & Scorilas, A. (2023). Next-generation sequencing reveals altered gene expression and enriched pathways in triple-negative breast cancer cells treated with oleuropein and oleocanthal. *Functional & integrative genomics*, 23(4), 299. <https://doi.org/10.1007/s10142-023-01230-w>
- Korbecki, J., Simińska, D., Gąssowska-Dobrowolska, M., Listos, J., Gutowska, I., Chlubek, D., & Baranowska-Bosiacka, I. (2021). Chronic and Cycling Hypoxia: Drivers of Cancer Chronic Inflammation through HIF-1 and NF-κB Activation: A Review of the Molecular Mechanisms. *International journal of molecular sciences*, 22(19), 10701. <https://doi.org/10.3390/ijms221910701>
- Kusuma, I. Y., Habibie, H., Bahar, M. A., Budán, F., & Csupor, D. (2024). Anticancer Effects of Secoiridoids-A Scoping Review of the Molecular Mechanisms behind the Chemopreventive Effects of the Olive Tree Components Oleocanthal, Oleacein, and Oleuropein. *Nutrients*, 16(16), 2755. <https://doi.org/10.3390/nu16162755>
- LeGendre, O., Breslin, P. A., & Foster, D. A. (2015). (-)-Oleocanthal rapidly and selectively induces cancer cell death via lysosomal membrane permeabilization. *Molecular & cellular oncology*, 2(4), e1006077. <https://doi.org/10.1080/23723556.2015.1006077>
- Lucas, L., Russell, A., & Keast, R. (2011). Molecular mechanisms of inflammation. Anti-inflammatory benefits of virgin olive oil and the phenolic compound oleocanthal. *Current pharmaceutical design*, 17(8), 754–768. <https://doi.org/10.2174/138161211795428911>
- Marrero, A. D., Ortega-Vidal, J., Salido, S., Castilla, L., Vidal, I., Quesada, A. R., Altarejos, J., Martínez-Poveda, B., & Medina, M. Á. (2023). Anti-angiogenic effects of oleacein and oleocanthal: New bioactivities of compounds from Extra Virgin Olive Oil. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 165, 115234. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115234>

- Marrero, A. D., Quesada, A. R., Martínez-Poveda, B., & Medina, M. Á. (2024). Anti-Cancer, Anti-Angiogenic, and Anti-Atherogenic Potential of Key Phenolic Compounds from Virgin Olive Oil. *Nutrients*, 16(9), 1283. <https://doi.org/10.3390/nu16091283>
- Marrero, A. D., Quesada, A. R., Martínez-Poveda, B., & Medina, M. Á. (2024). Anti-Cancer, Anti-Angiogenic, and Anti-Atherogenic Potential of Key Phenolic Compounds from Virgin Olive Oil. *Nutrients*, 16(9), 1283. <https://doi.org/10.3390/nu16091283>
- Moral, R., & Escrich, E. (2022). Influence of Olive Oil and Its Components on Breast Cancer: Molecular Mechanisms. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(2), 477. <https://doi.org/10.3390/molecules27020477>
- Olmo-Cunillera, A., Pérez, M., López-Yerena, A., Abuhabib, M. M., Ninot, A., Romero-Aroca, A., Vallverdú-Queralt, A., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). Oleacein and Oleocanthal: Key Metabolites in the Stability of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(9), 1776. <https://doi.org/10.3390/antiox12091776>
- Pang, K. L., & Chin, K. Y. (2018). The Biological Activities of Oleocanthal from a Molecular Perspective. *Nutrients*, 10(5), 570. <https://doi.org/10.3390/nu10050570>
- Pang, K. L., & Chin, K. Y. (2018). The Biological Activities of Oleocanthal from a Molecular Perspective. *Nutrients*, 10(5), 570. <https://doi.org/10.3390/nu10050570>
- Pang, K. L., & Chin, K. Y. (2018). The Biological Activities of Oleocanthal from a Molecular Perspective. *Nutrients*, 10(5), 570. <https://doi.org/10.3390/nu10050570>
- Parkinson, L., & Keast, R. (2014). Oleocanthal, a phenolic derived from virgin olive oil: a review of the beneficial effects on inflammatory disease. *International journal of molecular sciences*, 15(7), 12323–12334. <https://doi.org/10.3390/ijms150712323>
- Pei, T., Meng, Q., Han, J., Sun, H., Li, L., Song, R., Sun, B., Pan, S., Liang, D., & Liu, L. (2016). (-)-Oleocanthal inhibits growth and metastasis by blocking activation of STAT3 in human hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 7(28), 43475–43491. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9782>

- Peyrot des Gachons, C., Uchida, K., Bryant, B., Shima, A., Sperry, J. B., Dankulich-Nagrudny, L., Tominaga, M., Smith, A. B., 3rd, Beauchamp, G. K., & Breslin, P. A. (2011). Unusual pungency from extra-virgin olive oil is attributable to restricted spatial expression of the receptor of oleocanthal. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(3), 999–1009. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1374-10.2011>
- Rahmani, M., & Csallany, A. S. (1998). Role of minor constituents in the photooxidation of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(7), 837-843.
- Romani, A., Ieri, F., Urciuoli, S., Noce, A., Marrone, G., Nediani, C., & Bernini, R. (2019). Health Effects of Phenolic Compounds Found in Extra-Virgin Olive Oil, By-Products, and Leaf of *Olea europaea* L. *Nutrients*, 11(8), 1776. <https://doi.org/10.3390/nu11081776>
- Russo, M. A., Sansone, L., Carnevale, I., Limana, F., Runci, A., Polletta, L., Perrone, G. A., De Santis, E., & Tafani, M. (2015). One Special Question to Start with: Can HIF/NFκB be a Target in Inflammation?. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, 15(3), 171–185. <https://doi.org/10.2174/1871530315666150316120112>
- Schwartz S. M. (2024). Epidemiology of Cancer. *Clinical chemistry*, 70(1), 140–149. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvad202>
- Segura-Carretero, A., & Curiel, J. A. (2018). Current Disease-Targets for Oleocanthal as Promising Natural Therapeutic Agent. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 2899. <https://doi.org/10.3390/ijms19102899>
- Siddique, A. B., Ayoub, N. M., Tajmim, A., Meyer, S. A., Hill, R. A., & El Sayed, K. A. (2019). (-)-Oleocanthal Prevents Breast Cancer Locoregional Recurrence After Primary Tumor Surgical Excision and Neoadjuvant Targeted Therapy in Orthotopic Nude Mouse Models. *Cancers*, 11(5), 637. <https://doi.org/10.3390/cancers11050637>
- Siddique, A. B., Ebrahim, H. Y., Akl, M. R., Ayoub, N. M., Goda, A. A., Mohyeldin, M. M., Nagumalli, S. K., Hananeh, W. M., Liu, Y. Y., Meyer, S. A., & El Sayed, K. A. (2019). (-)-Oleocanthal Combined with Lapatinib Treatment Synergized against HER-2 Positive Breast

- Cancer In Vitro and In Vivo. *Nutrients*, 11(2), 412. <https://doi.org/10.3390/nu11020412>
- Siddique, A. B., Ebrahim, H. Y., Tajmim, A., King, J. A., Abdelwahed, K. S., Abd Elmageed, Z. Y., & El Sayed, K. A. (2022). Oleocanthal Attenuates Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Progression and Recurrence by Targeting SMYD2. *Cancers*, 14(14), 3542. <https://doi.org/10.3390/cancers14143542>
- Siddique, A. B., Ebrahim, H., Mohyeldin, M., Qusa, M., Batarseh, Y., Fayyad, A., Tajmim, A., Nazzal, S., Kaddoumi, A., & El Sayed, K. (2019). Novel liquid-liquid extraction and self-emulsion methods for simplified isolation of extra-virgin olive oil phenolics with emphasis on (-)-oleocanthal and its oral anti-breast cancer activity. *PloS one*, 14(4), e0214798. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214798>
- Siddique, A. B., Kilgore, P. C. S. R., Tajmim, A., Singh, S. S., Meyer, S. A., Jois, S. D., Cvek, U., Trutschl, M., & Sayed, K. A. E. (2020). (-)-Oleocanthal as a Dual c-MET-COX2 Inhibitor for the Control of Lung Cancer. *Nutrients*, 12(6), 1749. <https://doi.org/10.3390/nu12061749>
- Singh, N., Baby, D., Rajguru, J. P., Patil, P. B., Thakkannavar, S. S., & Pujari, V. B. (2019). Inflammation and cancer. *Annals of African medicine*, 18(3), 121–126. https://doi.org/10.4103/aam.aam_56_18
- Tajmim, A., Siddique, A. B., & El Sayed, K. (2019). Optimization of Taste-Masked (-)-Oleocanthal Effervescent Formulation with Potent Breast Cancer Progression and Recurrence Suppressive Activities. *Pharmaceutics*, 11(10), 515. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11100515>
- Ünsal, Ü. Ü., Mete, M., Aydemir, I., Duransoy, Y. K., Umur, A. Ş., & Tuglu, M. I. (2020). Inhibiting effect of oleocanthal on neuroblastoma cancer cell proliferation in culture. *Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission*, 95(3), 233–241. <https://doi.org/10.1080/10520295.2019.1674919>
- Velasco, J., & Dobarganes, C. (2002). Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 661-676.

- Yeung, Y. T., Aziz, F., Guerrero-Castilla, A., & Arguelles, S. (2018). Signaling Pathways in Inflammation and Anti-inflammatory Therapies. *Current pharmaceutical design*, 24(14), 1449–1484. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180327165604>
- Yuan, Y., Li, H., Pu, W., Chen, L., Guo, D., Jiang, H., He, B., Qin, S., Wang, K., Li, N., Feng, J., Wen, J., Cheng, S., Zhang, Y., Yang, W., Ye, D., Lu, Z., Huang, C., Mei, J., Zhang, H. F., ... Zhao, S. M. (2022). Cancer metabolism and tumor microenvironment: fostering each other?. *Science China. Life sciences*, 65(2), 236–279. <https://doi.org/10.1007/s11427-021-1999-2>

BÖLÜM 11

ZEYTİN YAPRAĞINDAN MOLEKÜLER MEKANİZMAYA: OLEUROPEİN

PhD.C. Nazlı HELVACI¹

Prof. Dr. Alev KURAL²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14580033>

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye. tokazitaki.55@gmail.com, Orcid ID: 0000-0001-7496-1208

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye. alev.kural@sbu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-1459-4316

GİRİŞ

Oleuropein (Ole), zeytin ağacının yapraklarında, meyvesinde ve yağında doğal olarak bulunan, biyoaktif özelliklere sahip bir fenolik bileşiktir. Yapısal olarak güçlü bir antioksidan ve antiinflamatuar özelliklere sahip olan Ole, hem geleneksel tıpta hem de modern farmakolojik araştırmalarda önemli bir yere sahiptir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, Ole'nin biyokimyasal ve hücrel süreçler üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamızı sağlamıştır.

İnsan epidermal büyüme faktör reseptörü (HER) ailesi, hücrel büyüme, farklılaşma ve hayatta kalma süreçlerini düzenleyen önemli bir sinyal yolu mekanizmasıdır. Ole'nin, bu reseptör ailesinin aktivitesini modüle ederek, çeşitli hücrel süreçler üzerindeki etkisini ortaya koyduğu gösterilmiştir.

Bununla birlikte, Ole'nin mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolu üzerindeki düzenleyici rolü, hücrel stres yanıtlarını ve inflamasyon süreçlerini etkileyerek, potansiyel terapötik etkilerini daha da genişletmektedir. Benzer şekilde, fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/ protein kinaz B (AKT) sinyal yoluna olan etkileri, hücrel büyüme ve hayatta kalma mekanizmalarını modüle etmesi nedeniyle ilgi çekmektedir.

Apoptoz ve oksidatif stres, hücrel homeostazın bozulmasında kritik roller oynar ve birçok patolojik durumda temel süreçlerdir. Ole'nin antioksidan kapasitesi ve apoptotik süreçler üzerindeki düzenleyici etkileri, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif bozukluklar gibi birçok hastalığın tedavisinde umut vadeden bir ajan olarak değerlendirilmesine neden olmuştur.

Bu bölümde, Ole'nin kimyasal yapısı ve biyolojik özellikleri, hücrel sinyal yolları üzerindeki etkileri ve özellikle EGFR, MAPK ve PI3K/AKT yolları ile olan ilişkileri ele alınacaktır. Ayrıca, apoptoz ve oksidatif stres mekanizmaları üzerindeki etkilerine odaklanarak, bu bileşiğin potansiyel terapötik uygulamaları tartışılacaktır.

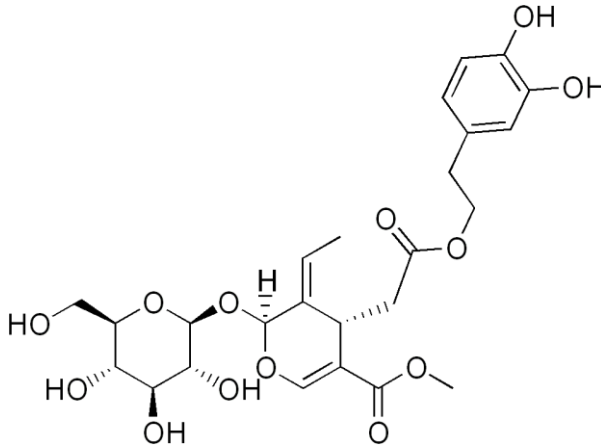
Oleuropeinin doğal kaynakları, kimyasal yapısı ve temel özellikleri

Ole, kumarin benzeri bileşikler sınıfına ait bir secoiridoid olup, Oleaceae, Gentianales ve Cornales familyalarındaki bitkilerde bol miktarda bulunan bir secoiridoid glikozittir (Hassen ve ark., 2015). Zeytin ağacının (*Olea europaea* L.) yapraklarında en yaygın bulunan aktif bileşiklerden biridir

ve arkeolojik kanıtlara göre kullanımını M.Ö. 6000 yıllarına kadar uzanmaktadır (Ryan & Robards, 1998). Zeytinler, düşük kardiyovasküler hastalık insidansı gibi çeşitli sağlık yararlarıyla ilişkilendirilen Akdeniz diyetinin temel lipid kaynağı olan sızma zeytinyağı (EVOO)'nın üretiminde kullanılır. Bu faydalar, EVOO'nun elverişli yağ asidi bileşimi ile karotenoidler ve polifenoller gibi küçük bileşenlerin varlığına bağlanmaktadır (Soler-Rivas et al., 2000).

Evrin sürecinde zeytin bitkisine kazandırılan en önemli özelliklerden biri, oleosidler olarak bilinen ve oldukça dar bir taksonomik dağılıma sahip olan bazı ikincil metabolitlerin üretimidir. Oleosidler, terpen türevi sekoiridoidler olup, glikozile edilmiş elenolik asit konjugatlarıdır ve yalnızca Oleaceae familyasında ve Caiophora cinsinde bulunurlar (Obied ve ark., 2008; Koudounas ve ark., 2021). Oleosid türevleri, zeytinyağının sağlık yararlarına sinerjik katkıda bulunurken, lezzetini ve kalitesini de belirler (Tripoli ve ark., 2005; Vitaglione ve ark., 2015).

Zeytin meyvesinde baskın olan secoiridoid, 2'-(3',4'-dihidroksifenil) etanol (hidroksitirosol) ile elenolik asitin bir esteri olan Ole'dir (Şekil 1). Ole, genç zeytin çekirdeklerinde %14'e kadar birikmekte ve antioksidan, antiinflamatuar, antiproliferatif, antimikrobiyal ve antiviral aktiviteler sergileyerek insanlar için yüksek ilgi gören bir metabolit haline gelmektedir (Amiot ve ark., 1986).



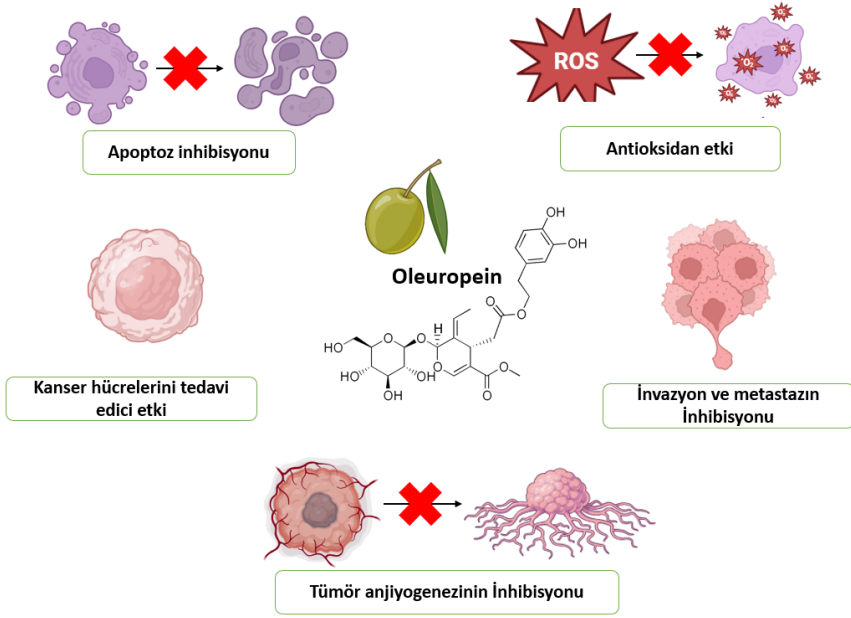
Şekil 1. Oleuropeinin kimyasal yapısı

Tablo 1. Oleuropeinin fiziksel özellikleri (CAS 32619-42-4) (Ahmad Farooqi ve ark., 2017)

Fiziksel Özellikler	Değer
Moleküler ağırlık	540.5148 g/mol
Erime Noktası	88 °C
Atmosferik OH Hız Sabiti	2.59×10^{-10} cm ³ /molekül-saniye (25 °C)

Ole, zeytin meyvelerinin acılığında sorumludur. Zeytin fenollerini ayrıca zeytinyağının oksidatif bozulmaya karşı direncinden de sorumludur (Ahmad Farooqi ve ark., 2017). Ole, zeytin ağacının tüm kısımlarında (kabuk, posa ve çekirdek) bulunmasına rağmen, en yüksek miktarı zeytin yapraklarında tespit edilmiştir. Küçük meyve çeşitleri daha yüksek Ole içeriğiyle ilişkilendirilirken, büyük meyve çeşitlerinde bu içerik daha düşüktür (Soler-Rivas ve ark., 2000). Zeytin yapraklarındaki Ole miktarına ilişkin yapılan analizler, yeşil yaprakların yeşil-sarı yapraklara göre daha yüksek, sarı yapraklara kıyasla ise çok daha fazla Ole içerdiğini göstermiştir (Ranalli ve ark., 2006).

Ole, yalnızca zeytin ağacı ve zeytin meyvesinin biyolojik özelliklerini şekillendirmekle kalmayıp, aynı zamanda insan sağlığı üzerinde güçlü terapötik etkiler gösteren bir bileşik olarak dikkat çeker. Bu etkiler, Ole'nin hücrel ve moleküler düzeyde çeşitli biyokimyasal yollara müdahale etmesiyle ilişkilidir. Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden, hücre döngüsü regülasyonu ve apoptotik süreçlere etkisine kadar geniş bir biyolojik etki yelpazesine sahip olan Ole, özellikle oksidatif stres ve inflamasyon kaynaklı hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir potansiyel taşıyıcıdır (Şekil 2).



Şekil 2. Oleuropeinin etki mekanizmaları (Pessoa ve ark., 2024)

Oleuropeinin HER ailesi üzerindeki modülatör etkileri

Zeytinyağı açısından zengin Akdeniz diyeti, çeşitli malignitelere, özellikle meme kanserine karşı koruyucu etkileri açısından dikkat çekmiştir. Ancak vaka-kontrol, kohort ve prospektif epidemiyolojik çalışmalar bu konuda çelişkili sonuçlar ortaya koymuştur (Perez-Jimenez ve ark., 2005; Colomer & Menéndez, 2006). Bu farklılıkların altında yatan biyolojik mekanizmalar ve diyetin insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) pozitif meme kanserleri üzerindeki etkileri, önemli bir araştırma konusu olmaya devam etmektedir.

Deneysel kanıtlar, HER2'nin kanser gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. HER2, ligandla aktive edilen diğer HER reseptörleriyle etkileşim kurarak PI3K/AKT ve MAPK yollarını aktive eder. HER2'nin bu mekanizmalar aracılığıyla kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını desteklediği bilinmektedir (Menendez ve ark., 2007).

Prospektif epidemiyolojik çalışmalarda, HER2-pozitif ve HER2-negatif meme kanserlerinin birlikte değerlendirilmesinin, Akdeniz diyetinin koruyucu

etkisini azımsayabileceği öne sürülmüştür (Sant ve ark., 2007). Bu bulgular, HER2-pozitif meme kanserlerinde etkili olabilecek diyet faktörlerinin farklı olduğunu düşündürmektedir.

Zeytinyağının ana tekli doymamış yağ asidi olan oleik asit (OA), HER2 gen ekspresyonunu transkripsiyonel düzeyde baskılayarak kanser karşıtı etkiler göstermektedir (Moral ve ark., 2003; Menendez & Lupu, 2006). Ek olarak, EVOO polifenollerinden oleuropein aglikon, anti-HER2 monoklonal antikör trastuzumab'a (Herceptin™) karşı gelişen direnci tersine çevirebilme potansiyeline sahiptir (Menendez ve ark., 2007).

Yakın tarihli çalışmalar, oleuropein aglikon içeren EVOO fraksiyonlarının HER2 aşırı ekspresyonuna sahip hücrelerde apoptotik hücre ölümünü indüklediğini ve güçlü tümör öldürücü etkiler sağladığını göstermiştir (Menendez ve ark., 2008; Fayyaz ve ark., 2016). HER2, Ole tarafından inhibe edilmektedir. İlginç bir şekilde, trastuzumab etkinliği Ole ile tedavi edilen meme kanseri hücrelerinde önemli ölçüde artış göstermiştir (Fayyaz ve ark., 2016).

DeneySEL çalışmalar, EVOO'nun yüksek miktarlarda dahil edildiği bir diyetin, sıçanlarda dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) kaynaklı meme tümörlerinin malignitesini azalttığını ve daha iyi huylu bir klinik davranış kazandırdığını ortaya koymuştur (Solanas ve ark., 2002). EVOO'nun polifenolleri, HER2'nin proteolitik işlenmesini inhibe ederek ve HER2 proteinini azaltarak trastuzumab etkinliğini artırmıştır (Menendez ve ark., 2007, 2008).

Zeytinyağı ve polifenolleri, özellikle oleuropein aglikon, HER2-pozitif meme kanserinde umut vadeden doğal bileşenlerdir. Ole'nin HER2 baskılamadaki rolü ve trastuzumab ile sinerjik etkileri, Akdeniz diyetinin kanser karşıtı potansiyelini vurgulamaktadır. Bu bulgular, diyet müdahalelerinin kişiselleştirilmiş kanser tedavisindeki önemini ortaya koymaktadır.

Oleuropeinin MAPK sinyal yollarına etkisi: hücreSEL perspektifler

MAPK, hücre içi sinyalleri iletebilen önemli bir serin/treonin kinaz ailesidir. Bu kinazlar, hücrelerin çevresel uyarılara yanıt vermesini sağlar ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini, oksidatif stres yanıtlarını ve otofajiyi destekler (Wagner & Nebreda, 2009; Ornatowski ve ark., 2020; Takata ve ark., 2020). Oksidatif stres, çeşitli metabolik bozukluklarla ilişkilendirilirken,

adenozin monofosfat ile aktive olan protein kinaz (AMPK) aktivasyonunun MAPK gibi kinazlarla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Hadrich ve ark., 2016).

Yapılan pek çok çalışmada zeytin yaprakları bitkisel ilaç olarak kullanılmış ve elde edilen sonuçlarda antioksidan, anti-kanser ve anti-obezite gibi faydalı etkiler gösterdiği bilinmektedir (Lee & Lee, 2010).

Zeytin yapraklarının içerdikleri aktif bileşenler arasında Ole, verbasocside ve luteolin bulunur. Bu bileşenler, kan glukoz seviyelerini düşürmek, hiperglisemiye tedavi etmek ve antioksidan aktiviteyi artırmak gibi faydalı etkiler göstermiştir. Wainstein ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir randomize klinik çalışmada, zeytin yaprağı özütü ile tedavi edilen bireylerde HbA1c ve açlık plazma insülin seviyelerinin önemli ölçüde düştüğü rapor edilmiştir (Wainstein ve ark., 2012).

MAPK sinyalleme, glukoz taşıyıcıların işlevini kolaylaştıran kritik bir yolaktır. Ole'nin bu yolak üzerinden glukoz alımını artırabildiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, Ole'nin doza bağlı olarak MAPK fosforilasyonunu teşvik ettiği, insülinle birlikte kullanıldığında ise GLUT4 ekspresyonunu daha da artırdığı görülmüştür (Hadrich ve ark., 2016).

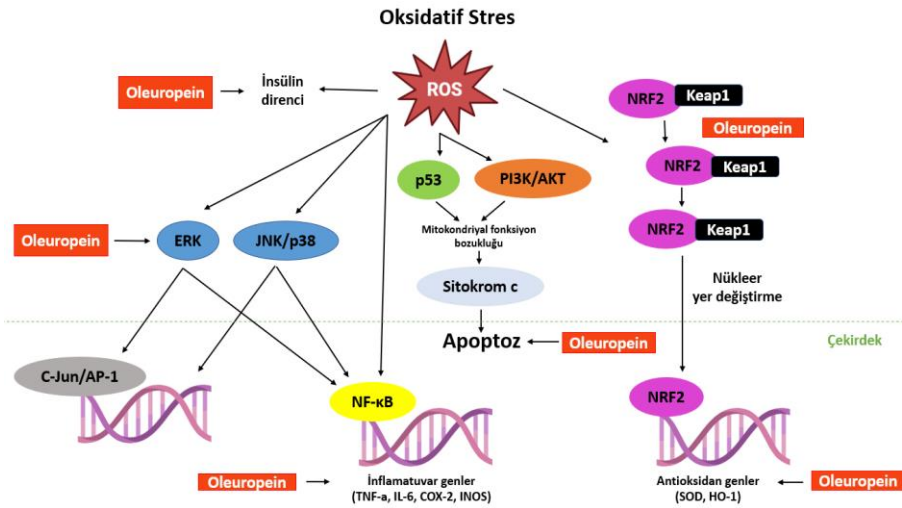
Ole'nin c-Jun N-terminal kinaz (JNK) aktivasyonundan türeyen mitokondriyal apoptotik kaskadları indüklediği ve HeLa hücrelerinde apoptozu artırdığı rapor edilmiştir (Yao ve ark., 2014). Ayrıca, Ole'nin G-protein-eşli östrojen reseptörü 1 (GPER) aracılığıyla hücre dışı sinyal düzenlemeli kinaz 1/2 (ERK1/2) aktivasyonunu düzenlediği ve G proteinine bağlı östrojen reseptörü (GPER) susturulmuş hücrelerde bu etkilerin kaybolduğu belirlenmiştir (Chimento ve ark., 2014).

Ole, Tert-Butil hidroperoksit (tBHP) kaynaklı hücre hasarı azaltmış ve ROS seviyelerini düşürmüştür. Mekanistik olarak, Ole'nin nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (NRF2) ile ilişkili antioksidan yolları aktive ettiği ve toll benzeri reseptör 4 (TLR4)/MAPK sinyal yollarını inhibe ettiği görülmüştür. Bu mekanizma, kardiyak iskemi/reperfüzyon hasarını hafifletmede etkili olmuştur (He ve ark., 2024).

Ole, siklooksijenaz-2 seviyelerini düşürmüş ve antiinflamatuvar protein Hem oksijenaz 1 (HO-1) ekspresyonunu artırmıştır. Ayrıca, nükleer faktör kappa B (NF-κB), JNK1/2 ve p38 MAPK sinyalleme yollarının baskılanmasının inflamatuvar mediatörlerin azalmasında kritik rol oynadığı

gösterilmiştir. Bu bulgular, Ole'nin inflamatuvar hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır (Şekil 3) (Hsu ve ark., 2022). Ole'nin akut böbrek hasarını (AKİ) hafifletmede TLR4-Miyeloid farklılaşma birincil tepki 88 (MyD88)-NF- κ B/MAPK eksenini düzenlediği ve serum kreatinin ile proinflamatuvar sitokinleri azalttığı belirtilmiştir. Bu etkiler hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda doğrulanmıştır (Cui ve ark., 2021).

Ole, NRF2 ve HO-1 ekspresyonunu artırırken, Janus kinaz/Transkripsiyonun sinyal dönüştürücüleri ve aktivatörleri (JAK/STAT), MAPK ve Nod benzeri reseptör pirin alanı içeren 3 (NLRP3) inflamazom yollarının aktivasyonunu iyileştirmiştir. Bu sonuçlar, Ole'nin sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi otoimmün hastalıklarda nefrit tedavisi için umut vadeden bir aday olduğunu göstermektedir (Castejon ve ark., 2019).



Şekil 3. Oleuropeinin etki ettiği moleküler mekanizmalar (Yoon, 2018)

(Ole, ROS'ları azaltarak inflamasyonu tetikleyen NF- κ B ve AP-1 aktivasyonunu engeller. Bu sayede inflamatuvar medyatörlerin üretimini durdurur ve hücrel engelleme süreçlerini düzenler. Ole, PI3K /Akt, MAPK (ERK, JNK, P38) yollarını ve Nrf2'nin çekirdeğe taşınmasını etkileyerek hücreyi koruyucu etkiler gösterir. Ayrıca, Nrf2 yolu üzerinden oksidatif strese karşı MnSOD ve HO-1 ifadelerini artırır.)

Ole, iskemi/reperfüzyon (I/R) kaynaklı akciğer hasarını ve ödemi hafifletmiş, aynı zamanda akciğer dokusunda ve bronkoalveolar lavaj

sıvısında inflamatuvar faktörlerin seviyelerini azaltmıştır. Bu koruyucu etkilerin, TLR4'ün varlığını gerektirdiği görülmüştür. Ole, akciğer dokusu ve alveolar makrofajlarda I/R'nin tetiklediği TLR4 ve onun alt sinyal faktörlerinin ekspresyonunu önemli ölçüde baskılamıştır. Ayrıca, hipoksiye bağlı faktör 1α (HIF- 1α) proteininin, TLR4 aracılı I/R hasarında birikerek inflamatuvar faktörlerin üretimini daha da artırdığı gözlemlenmiştir. Genel olarak, bu bulgular Ole'nin I/R kaynaklı akciğer hasarını iyileştirdiğini ve bu koruyucu etkinin, alveolar makrofajlarda TLR4 sinyal yolunu baskılayarak inflamatuvar cevabı azaltma mekanizmasına dayandığını göstermektedir. (Xu ve ark., 2022).

Ole, MAPK sinyal yolları aracılığıyla antioksidan, antiinflamatuvar ve apoptotik etkiler gösteren bir bileşiktir. Çeşitli hücrel ve moleküler mekanizmalar üzerindeki bu çok yönlü etkileri, onu kardiyovasküler, böbrek ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde umut verici bir aday yapmaktadır.

PI3K/AKT sinyal yolu: oleuropeinin moleküler hedefleri

PI3K/AKT yolu, hücre içi sinyal iletiminde önemli bir rol oynayan ve çeşitli biyolojik süreçleri yöneten bir mekanizmadır. Bu yol, hücreye gelen dış sinyallerin, alt akış efektörlerine etkili bir şekilde iletilmesini sağlar. PI3K, fosfatidilinositol-4,5-bisfosfatın (PIP2) fosforilasyonu ile fosfatidilinositol (3,4,5)-trisfosfat (PIP3) üretir. PIP3 birikimi, pleckstrin homoloji (PH) alanına sahip proteinlerin yer değiştirmesini kolaylaştırır. Fosfoinozimid bağımlı kinaz 1 (PDK1) ve AKT bu PH alanı içeren proteinler arasında yer alır.

Birçok çalışma, Ole'nin PI3K/AKT yolları üzerindeki etkilerini incelemiştir. Örneğin, 3T3-L1 adiposit hücrelerinde ve yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda yapılan araştırmalar, Ole'nin insülin direncine karşı etkili olduğunu göstermiştir. Ole'nin, insülinle birlikte uygulandığında, insülin reseptör substratı (p-IRS), p85-PI3K ve p-AKT ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde artırdığı bulunmuştur (Hadrach ve ark., 2023). Bu bulgular, Ole'nin insülin duyarlılığını iyileştirdiğini ve bu yolun aktifleşmesine yardımcı olduğunu göstermektedir.

Mekanistik hedef rapamisin (mTOR) serin/treonin kinazları arasında yer alır ve mekanistik hedef rapamisin kompleks 1 (mTORC1) ve mTORC2 olarak iki farklı çok bileşenli kompleks halinde bulunur. mTORC2, kanser hücrelerinde AKT aktivitesini ve stabilitesini destekler. AKT, mTORC2 ve Fosfoinozimid bağımlı protein kinaz-1 (PDK-1) tarafından translyasyon sonrası

modifiye edilir ve kanser hücrelerinde önemli bir rol oynar. AKT'nin inhibisyonunun, apoptozu indüklemeye önemli bir adım olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, farklı araştırma grupları, kanser hücrelerinde AKT'yi inhibe etmek için çeşitli doğal ürünleri kullanmayı araştırmıştır.

Ole, bu bağlamda dikkat çekici sonuçlar sunmaktadır. HepG2 insan hepatoma hücrelerinde yapılan çalışmalar, Ole'nin doza bağlı bir şekilde apoptozu indüklediğini göstermiştir. Ole'nin, AKT/PKB'nin aşırı ifade edildiği kanser hücrelerinde pro-sağkalım sinyallerini indüklemeye rol oynadığı bildirilmiştir. AKT/PKB inhibisyonu, Ole aracılı apoptozun en üst düzeye ulaşması için kritik bir aşamadır (Yan ve ark., 2015a).

Ole'nin, kanser hücrelerinde AKT ve hücre dışı sinyal düzenlemeli kinaz (ERK) fosforilasyonunu inhibe etme yeteneği, bu bileşiğin tedavi potansiyelini daha da artırmaktadır. Örneğin, yapılan bir araştırma, Ole tedavisinin tiroid kanseri hücrelerinde fosforile edilmiş ERK ve fosforile edilmiş AKT'nin bazal seviyelerini aşağı düzenlediğini ortaya koymuştur (Bulotta ve ark., 2013). Bu durum, Ole'nin kanser tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olabileceğini ve AKT inhibitörleriyle birlikte kullanımının apoptotik oranı artırmada daha faydalı olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, PI3K/AKT sinyal yolunun, hücrelerin hayatta kalması, büyümesi ve farklılaşmasında kritik bir rol oynadığı anlaşılmaktadır. Ole, bu yolu etkileyerek hücrel yanıtı düzenleyebilir, insülin direncini azaltabilir ve kanser hücrelerinde apoptozu teşvik edebilir.

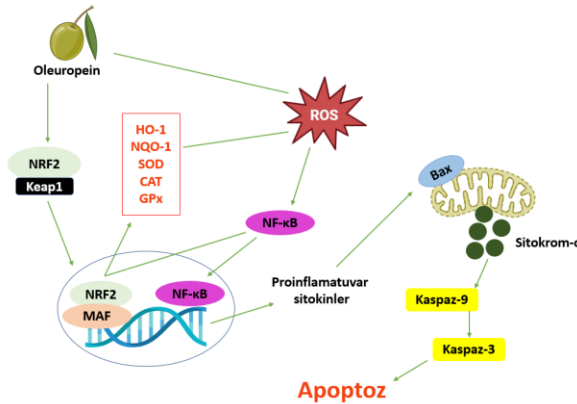
Apoptozun modülatörü olarak oleuropein: moleküler mekanizmalar

Kanserin ilerlemesi, geniş bir yelpazede terapötiklere karşı direncin gelişmesi ve apoptozun kaybolmasıyla ilişkilidir. Apoptotik hücre ölümü, moleküler onkolojinin temel araştırma alanlarından biridir ve bu süreç, kanser tedavisi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Apoptoz, ya ekstrinsik (ölüm reseptörü aracılı) ya da intrinsik (mitokondriyal) yolla düzenlenebilir. Ekstrinsik sinyaller, tümör nekroz faktörü (TNF) ile ilişkili apoptoz indükleyen ligand (TRAIL), TNF- α ve Fas ligand (FasL) gibi moleküllerle hücre içine iletilir. Bu sinyaller, ölüm reseptörleri (DR4/DR5, TNFR, Fas) aracılığıyla hücre içinde iletilir ve kaspaz-8 gibi başlatıcı kaspazları aktive eder. Bu sistemin bağımlı aspartil spesifik proteazlar, apoptozu merkezi olarak düzenler. Öte yandan, ışınlama veya kemoterapötik

ajanlar, BID gibi BH3 motif proteinlerini aktive ederek mitokondriyal yolu başlatır. BID, kaspaz-8 tarafından işlenir ve mitokondriye girerek sitokrom c'nin salınımını kolaylaştırır. B hücreli lenfoma 2 (BCL-2) ile ilişkili X proteini (BAX) ve BCL-2 antagonisti (BAK), dış mitokondriyal membranda konumlanmış pro-apoptotik proteinlerdir. tBID, BAX ve BAK ile etkileşime girerek bunların oligomerizasyonunu tetikler (Czabotar ve ark., 2014).

Ole, kanser tedavisi açısından önemli bir bileşiktir ve apoptoz üzerinde güçlü etkiler göstermektedir. HeLa hücrelerinde yapılan çalışmalarda, Ole'nin hem BAX hem de sitokrom c seviyelerini artırdığı bulunmuştur. Ayrıca, fosforile edilmiş JNK'nın, HeLa hücrelerinde apoptozu başlatmak için gerekli olduğu saptanmıştır. Ole tedavisi, HeLa hücrelerinde p-JNK'nın yukarı regülasyonunu başlatmış ve JNK inhibisyonu, Ole aracılı apoptotik hücre ölümünü ortadan kaldırmıştır (Yao ve ark., 2014b).

MCF-7 hücrelerinde yapılan bir başka çalışmada, Ole tedavisinin BAX ve p53 ekspresyon seviyelerini artırdığı bulunmuş, bunun yanı sıra anti-apoptotik protein olan BCL2'nin ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir (Hassan ve ark., 2014a). Ayrıca, Ole, ER-negatif meme kanseri hücrelerinde (SKBR3) BAX'ı artırırken BCL2'yi baskılamıştır (Chimento ve ark., 2014).



Şekil 4. Oleuropeinin apoptozu karşı koruyucu mekanizması (ALHaithloul ve ark., 2019)

(HO-1, hem oksijenaz-1 geni; NQO-1, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat kinon oksidoredüktaz 1; Bax, Bcl-2 ile ilişkili X proteini; SOD, süperoksit dismutaz; CAT, katalaz; GPx, glutatyon peroksidaz; Keap1, Kelch benzeri-ECH ile ilişkili protein 1)

Ole sadece kanser tedavisinde değil, aynı zamanda diyabet ve diyabetin neden olduğu komplikasyonların tedavisinde de potansiyel göstermektedir. Diyabetik nefropati, diyabetik kardiyovasküler komplikasyonlar, diyabetik retinopati, zayıf yara iyileşmesi, diyabetik nöropati ve diyabetik testis disfonksiyonu gibi komplikasyonlar, Ole tedavisi ile hafifletilebilir. Ole, hücre apoptozunu tersine çevirir, dokuları yeniler, histolojik organizasyonu geri kazandırır ve diyabet komplikasyonlarının tedavisinde oksidatif stresi azaltır. Bu özellikleriyle Ole, diyabet ve diyabet komplikasyonlarının yönetimi için umut verici bir bileşik olup, bir nutrasötik olarak kullanılabilir (Zheng ve ark., 2021).

Ole'nin in vitro aktivitesi, belirli kanser türleri üzerinde iyi bir şekilde karakterize edilmiştir. Örneğin, Ole, p53 yolunun aktivasyonu yoluyla kolon kanseri ve meme kanseri hücrelerinde apoptozu indüklemiştir (Cárdeno ve ark., 2013; Hassan ve ark., 2014). Ayrıca, Ole prostat kanseri hücrelerinde proliferasyonu inhibe etmiş ve tiyol modifikasyonlarını, γ -glutamilsistein sentazını ve ROS'ları indüklemiştir (Acquaviva ve ark., 2012). Ole, PI3K/AKT yolunun baskılanması yoluyla hepatosellüler karsinoma hücrelerinde apoptozu aktive etmiştir (Yan ve ark., 2015b).

Ole, kanser tedavisinde apoptoz yolaklarını aktive etme yeteneği ile dikkat çekerken, diyabet gibi diğer hastalıkların tedavisinde de önemli bir rol oynamaktadır. Kanser hücrelerinde BAX, p53 ve BCL2 üzerindeki etkisi, Ole'nin apoptotik hücre ölümünü indüklemeye güçlü bir bileşik olduğunu göstermektedir.

Oleuropein ve antioksidan aktivitesi: oksidatif hasara karşı koruma

Oksidatif stres, hücresel işlevlerin düzenlenmesinde hayati rol oynayan, ancak aynı zamanda biyolojik makromoleküller üzerinde zararlı etkiler yaratabilen bir mekanizmadır. ROS, lipitler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllerle etkileşime girerek bu moleküllerde yapısal ve işlevsel değişikliklere neden olabilir. Ole, reaktif oksijen ve azot türlerini temizleyerek ve hücresel antioksidan yanıtları artırarak oksidatif stresi önlemede önemli bir role sahiptir (Visioli & Galli, 2002; Nani ve ark., 2021).

Oksidatif stres, özellikle hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit anyonu gibi ROS tarafından tetiklenen önemli bir hücresel uyarandır (Crow ve ark., 2004). H_2O_2 , hücre kültürü çalışmalarında sıkça kullanılan bir oksidatif stres

modeli olarak öne çıkmaktadır. H_2O_2 'nin glial hücrelerde oksidatif hasara neden olduğu ve bu hasarın nörodejeneratif süreçlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Floyd & Hensley, 2002).

Literatür verileri Ole'nin Alzheimer ve Parkinson hastalıklarına karşı nöroprotektif etkileri olduğunu ortaya koymaktadır (Panza ve ark., 2004). Örneğin, Ole'nin PC-12 hücrelerinde oksidatif stres kaynaklı hücre kayıplarını önlediği ve H_2O_2 ile indüklenen β hücre kayıplarını engellediği bildirilmiştir (Maciej Serda ve ark., 2011).

Yaşlanmayla birlikte beyinde artan oksidatif stres, aşırı ROS üretimi ve antioksidan sistemlerdeki bozulmalardan kaynaklanmaktadır (Andreyev ve ark., 2005). Glutasyon (GSH), serbest radikallerin temizlenmesi ve toksik maddelerin detoksifikasyonu gibi rolleriyle oksidatif stresin kontrolünde kilit bir moleküldür. Ole uygulamasının, Alzheimer hastalığı hipokampal modelinde sıçanlarda GSH düzeylerini artırdığı ve bu etkinin doz bağımlı olduğu gösterilmiştir (Domitrović ve ark., 2012). Ayrıca Ole'nin karbon tetraklorür kaynaklı hepatotoksistide de GSH seviyelerini yükselttiği bildirilmiştir.

Nitrik oksit (NO), normal şartlarda beyin devrelerinin gelişim ve düzenlenmesinde önemli bir moleküldür. Ancak, oksidatif stres sırasında NO ve metabolitleri, proteinler, lipitler ve nükleik asitler üzerinde hasara neden olarak nörodejenerasyona yol açabilir (Beckman & Koppenol, 1996; Allan Butterfield ve ark., 2002). Ole ön tedavisinin, NO ve indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) gen ekspresyon düzeylerindeki artışı baskıladığı gösterilmiştir.

Hidroksitirozol, Ole'nin aktif bir metaboliti olarak, hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde antioksidan ve antiinflamatuvar etkiler göstermektedir. Hücre içi GSH seviyelerini artırarak hipoksi kaynaklı NO artışını baskılayabildiği ve iNOS ile COX-2 enzimlerinin aktivitelerini azalttığı bulunmuştur (Richard ve ark., 2011; Cabrerizo ve ark., 2013).

Yapılan çalışmalardan elde edilen bu veriler, Ole'nin oksidatif stresle mücadeledeki etkili rolünü açıkça göstermektedir. Antioksidan ve nöroprotektif özellikleri sayesinde Ole, hem nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi hem de tedavisinde potansiyel bir ajan olarak dikkat çekmektedir.

KAYNAKÇA

- Acquaviva, R., Di Giacomo, C., Sorrenti, V., Galvano, F., Santangelo, R., Cardile, V., Gangia, S., D'Orazio, N., Abraham, N. G., & Vanella, L. (2012). Antiproliferative effect of oleuropein in prostate cell lines. *International Journal of Oncology*, 41(1), 31–38.
- Ahmad Farooqi, A., Fayyaz, S., Silva, A. S., Sureda, A., Nabavi, S. F., Mocan, A., Nabavi, S. M., & Bishayee, A. (2017). Oleuropein and Cancer Chemoprevention: The Link is Hot. *Molecules* (Basel, Switzerland), 22(5).
- ALHaithloul, H. A. S., Alotaibi, M. F., Bin-Jumah, M., Elgebaly, H., & Mahmoud, A. M. (2019). *Olea europaea* leaf extract up-regulates Nrf2/ARE/HO-1 signaling and attenuates cyclophosphamide-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 676–685.
- Allan Butterfield, D., Castegna, A., Lauderback, C. M., & Drake, J. (2002). Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. *Neurobiology of Aging*, 23(5), 655–664.
- Amiot, M. J., Fleuriet, A., & Macheix, J. J. (1986). Importance and Evolution of Phenolic Compounds in Olive during Growth and Maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(5), 823–826.
- Andreyev, A. Y., Kushnareva, Y. E., & Starkov, A. A. (2005). Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry. Biokhimiia*, 70(2), 200–214.
- Beckman, J. S., & Koppenol, W. H. (1996). Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *The American Journal of Physiology*, 271(5 Pt 1).
- Bulotta, S., Corradino, R., Celano, M., Maiuolo, J., D'Agostino, M., Oliverio, M., Procopio, A., Filetti, S., & Russo, D. (2013). Antioxidant and antigrowth action of peracetylated oleuropein in thyroid cancer cells. *Journal of Molecular Endocrinology*, 51(1), 181–189.
- Cabrerizo, S., De La Cruz, J. P., López-Villodres, J. A., Muñoz-Marín, J., Guerrero, A., Reyes, J. J., Labajos, M. T., & González-Correa, J. A. (2013). Role of the inhibition of oxidative stress and inflammatory mediators in the neuroprotective effects of hydroxytyrosol in rat brain slices subjected to hypoxia reoxygenation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(12), 2152–2157.

- Cárdeno, A., Sánchez-Hidalgo, M., Rosillo, M. A., & De La Lastra, C. A. (2013). Oleuropein, a secoiridoid derived from olive tree, inhibits the proliferation of human colorectal cancer cell through downregulation of HIF-1 α . *Nutrition and Cancer*, 65(1), 147–156.
- Castejon, M. L., Sánchez-Hidalgo, M., Aparicio-Soto, M., Montoya, T., Martín-LaCave, I., Fernández-Bolaños, J. G., & Alarcón-de-la-Lastra, C. (2019). Dietary oleuropein and its new acyl-derivate attenuate murine lupus nephritis through HO-1/Nrf2 activation and suppressing JAK/STAT, NF- κ B, MAPK and NLRP3 inflammasome signaling pathways. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 74.
- Chimento, A., Casaburi, I., Rosano, C., Avena, P., De Luca, A., Campana, C., Martire, E., Santolla, M. F., Maggiolini, M., Pezzi, V., & Sirianni, R. (2014). Oleuropein and hydroxytyrosol activate GPER/ GPR30-dependent pathways leading to apoptosis of ER-negative SKBR3 breast cancer cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(3), 478–489.
- Colomer, R., & Menéndez, J. A. (2006). Mediterranean diet, olive oil and cancer. *Clinical & Translational Oncology : Official Publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*, 8(1), 15–21.
- Crow, M. T., Mani, K., Nam, Y. J., & Kitsis, R. N. (2004). The mitochondrial death pathway and cardiac myocyte apoptosis. *Circulation Research*, 95(10), 957–970.
- Cui, Y., Gao, H., Han, S., Yuan, R., He, J., Zhuo, Y., Feng, Y. L., Tang, M., Feng, J., & Yang, S. (2021). Oleuropein Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Acute Kidney Injury In Vitro and In Vivo by Regulating Toll-Like Receptor 4 Dimerization. *Frontiers in Pharmacology*, 12.
- Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., & Adams, J. M. (2014). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 15(1), 49–63.
- Domitrović, R., Jakovac, H., Marchesi, V. V., Šain, I., Romić, Ž., & Rahelić, D. (2012). Preventive and therapeutic effects of oleuropein against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *Pharmacological Research*, 65(4), 451–464.
- Fayyaz, S., Aydin, T., Cakir, A., Luisa Gasparri, M., Benedetti Panici, P., & Ahmad Farooqi, A. (2016). Oleuropein Mediated Targeting of Signaling Network in Cancer. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16(22), 2477–2483.

- Floyd, R. A., & Hensley, K. (2002). Oxidative stress in brain aging: Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. *Neurobiology of Aging*, 23(5), 795–807.
- Hadrich, F., Garcia, M., Maalej, A., Moldes, M., Isoda, H., Feve, B., & Sayadi, S. (2016). Oleuropein activated AMPK and induced insulin sensitivity in C2C12 muscle cells. *Life Sciences*, 151, 167–173.
- Hadrich, F., Mahmoudi, A., Chamkha, M., Isoda, H., & Sayadi, S. (2023). Olive Leaves Extract and Oleuropein Improve Insulin Sensitivity in 3T3-L1 Cells and in High-Fat Diet-Treated Rats via PI3K/AKT Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023.
- Hassan, Z. K., Elamin, M. H., Omer, S. A., Daghestani, M. H., Al-Olayan, E. S., Elobeid, M. A. R., & Virk, P. (2014). Oleuropein induces apoptosis via the p53 pathway in breast cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 14(11), 6739–6742.
- Hassen, I., Casabianca, H., & Hosni, K. (2015). Biological activities of the natural antioxidant oleuropein: Exceeding the expectation – A mini-review. *Journal of Functional Foods*, 18, 926–940.
- He, J., Huang, L., Sun, K., Li, J., Han, S., Gao, X., Wang, Q. Q., Yang, S., Sun, W., & Gao, H. (2024). Oleuropein alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by suppressing oxidative stress and excessive autophagy via TLR4/MAPK signaling pathway. *Chinese Medicine*, 19(1).
- Hsu, M. L., Huang, W. C., Zhou, Y. R., Hu, S., Huang, C. H., & Wu, S. J. (2022). Oleuropein Protects Human Retinal Pigment Epithelium Cells from IL-1 β -Induced Inflammation by Blocking MAPK/NF- κ B Signaling Pathways. *Inflammation*, 45(1), 297–307.
- Koudounas, K., Thomopoulou, M., Rigakou, A., Angeli, E., Melliou, E., Magiatis, P., & Hatzopoulos, P. (2021). Silencing of Oleuropein β -Glucosidase Abolishes the Biosynthetic Capacity of Secoiridoids in Olives. *Frontiers in Plant Science*, 12.
- Lee, O. H., & Lee, B. Y. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101(10), 3751–3754.
- Maciej Serda, Becker, F. G., Cleary, M., Team, R. M., Holtermann, H., The, D., Agenda, N., Science, P., Sk, S. K., Hinnebusch, R., Hinnebusch A, R., Rabinovich, I., Olmert, Y., Uld, D. Q. G. L. Q., Ri, W. K. H. U., Lq, V., Frxqwu, W. K. H., Zklfk, E., Edvhg, L. V, ... (2011). فاطمی, ح. Effects of olive leaf polyphenols against H₂O₂ toxicity in insulin

- secreting beta-cells. *ACTA BIOCHIMICA POLONICA*, 58(1), 343–354.
- Menendez, J. A., Vazquez-Martin, A., Colomer, R., Brunet, J., Carrasco-Pancorbo, A., Garcia-Villalba, R., Fernandez-Gutierrez, A., & Segura-Carretero, A. (2007). Olive oil's bitter principle reverses acquired autoresistance to trastuzumab (Herceptin) in HER2-overexpressing breast cancer cells. *BMC Cancer*, 7.
- Menendez, J. A., Vazquez-Martin, A., Garcia-Villalba, R., Carrasco-Pancorbo, A., Oliveras-Ferraro, C., Fernandez-Gutierrez, A., & Segura-Carretero, A. (2008). Anti-HER2 (erbB-2) oncogene effects of phenolic compounds directly isolated from commercial Extra-Virgin Olive Oil (EVOO). *BMC Cancer*, 8.
- Menendez, J., & Lupu, R. (2006). Mediterranean dietary traditions for the molecular treatment of human cancer: anti-oncogenic actions of the main olive oil's monounsaturated fatty acid oleic acid (18:1n-9). *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 7(6), 495–502.
- Moral, R., Solanas, M., García, G., Colomer, R., & Escrich, E. (2003). Modulation of EGFR and neu expression by n-6 and n-9 high-fat diets in experimental mammary adenocarcinomas. *Oncology Reports*, 10(5), 1417–1424.
- Nani, A., Murtaza, B., Khan, A. S., Khan, N. A., & Hichami, A. (2021). Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential of Polyphenols Contained in Mediterranean Diet in Obesity: Molecular Mechanisms. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(4).
- Obied, H. K., Prenzler, P. D., Ryan, D., Servili, M., Taticchi, A., Esposto, S., & Robards, K. (2008). Biosynthesis and biotransformations of phenol-conjugated oleosidic secoiridoids from *Olea europaea* L. *Natural Product Reports*, 25(6), 1167–1179.
- Ornatowski, W., Lu, Q., Yegambaram, M., Garcia, A. E., Zemskov, E. A., Maltepe, E., Fineman, J. R., Wang, T., & Black, S. M. (2020). Complex interplay between autophagy and oxidative stress in the development of pulmonary disease. *Redox Biology*, 36.
- Panza, F., Solfrizzi, V., Colacicco, A. M., D'introno, A., Capurso, C., Torres, F., ... & Capurso, A. (2004). Mediterranean diet and cognitive decline. *Public health nutrition*, 7(7), 959-963.
- Perez-Jimenez, F., Alvarez De Cienfuegos, G., Badimon, L., Barja, G., Battino, M., Blanco, A., Bonanome, A., Colomer, R., Corella-Piquer, D., Covas, I., Chamorro-Quiros, J., Escrich, E., Gaforio, J. J., Garcia

- Luna, P. P., Hidalgo, L., Kafatos, A., Kris-Etherton, P. M., Lairon, D., Lamuela-Raventos, R., ... Visioli, F. (2005). International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *European Journal of Clinical Investigation*, 35(7), 421–424.
- Pessoa, H. R., Zago, L., Difonzo, G., Pasqualone, A., Caponio, F., & Costa, D. C. F. da. (2024). Olive Leaves as a Source of Anticancer Compounds: In Vitro Evidence and Mechanisms. *Molecules* 2024, Vol. 29, Page 4249, 29(17), 4249.
- Ranalli, A., Contento, S., Lucera, L., Di Febo, M., Marchegiani, D., & Di Fonzo, V. (2006). Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 434–440.
- Richard, N., Arnold, S., Hoeller, U., Kilpert, C., Wertz, K., & Schwager, J. (2011). Hydroxytyrosol is the major anti-inflammatory compound in aqueous olive extracts and impairs cytokine and chemokine production in macrophages. *Planta Medica*, 77(17), 1890–1897.
- Ryan, D., & Robards, K. (1998). Critical Review. Phenolic compounds in olives. *Analyst*, 123(5), 31R-44R.
- Sant, M., Allemani, C., Sieri, S., Krogh, V., Menard, S., Tagliabue, E., Nardini, E., Micheli, A., Crosignani, P., Muti, P., & Berrino, F. (2007). Salad vegetables dietary pattern protects against HER-2-positive breast cancer: a prospective Italian study. *International Journal of Cancer*, 121(4), 911–914.
- Solanas, M., Hurtado, A., Costa, I., Moral, R., Menéndez, J. A., Colomer, R., & Escrich, E. (2002). Effects of a high olive oil diet on the clinical behavior and histopathological features of rat DMBA-induced mammary tumors compared with a high corn oil diet. *International Journal of Oncology*, 21(4), 745–753.
- Soler-Rivas, C., Espin, J. C., & Wichers, H. J. (2000). Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1013–1023.
- Takata, T., Araki, S., Tsuchiya, Y., & Watanabe, Y. (2020). Oxidative Stress Orchestrates MAPK and Nitric-Oxide Synthase Signal. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 1–16.
- Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majò, D., Giammanco, S., & La Guardia, M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews*, 18(1), 98–112.

- Visioli, F., & Galli, C. (2002). Biological properties of olive oil phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(3), 209–221.
- Vitaglione, P., Savarese, M., Paduano, A., Scalfi, L., Fogliano, V., & Sacchi, R. (2015). Healthy virgin olive oil: a matter of bitterness. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(13), 1808–1818.
- Wagner, E. F., & Nebreda, Á. R. (2009). Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development. *Nature Reviews. Cancer*, 9(8), 537–549.
- Wainstein, J., Ganz, T., Boaz, M., Bar Dayan, Y., Dolev, E., Kerem, Z., & Madar, Z. (2012). Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Journal of Medicinal Food*, 15(7), 605–610.
- Xu, Z., Sun, X., Ding, B., Zi, M., & Ma, Y. (2022). Oleuropein ameliorated lung ischemia-reperfusion injury by inhibiting TLR4 signaling cascade in alveolar macrophages. *Transplant Immunology*, 74, 101664.
- Yan, C. M., Chai, E. Q., Cai, H. Y., Miao, G. Y., & Ma, W. (2015a). Oleuropein induces apoptosis via activation of caspases and suppression of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway in HepG2 human hepatoma cell line. *Molecular Medicine Reports*, 11(6), 4617–4624.
- Yan, C. M., Chai, E. Q., Cai, H. Y., Miao, G. Y., & Ma, W. (2015b). Oleuropein induces apoptosis via activation of caspases and suppression of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway in HepG2 human hepatoma cell line. *Molecular Medicine Reports*, 11(6), 4617–4624.
- Yao, J., Wu, J., Yang, X., Yang, J., Zhang, Y., & Du, L. (2014a). Oleuropein induced apoptosis in HeLa cells via a mitochondrial apoptotic cascade associated with activation of the c-Jun NH2-terminal kinase. *Journal of Pharmacological Sciences*, 125(3), 300–311.
- Yao, J., Wu, J., Yang, X., Yang, J., Zhang, Y., & Du, L. (2014b). Oleuropein induced apoptosis in HeLa cells via a mitochondrial apoptotic cascade associated with activation of the c-Jun NH2-terminal kinase. *Journal of Pharmacological Sciences*, 125(3), 300–311.
- Yoon, S. K. (2018). Oleuropein as an Antioxidant and Liver Protect. *The Liver: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 323–335.

Zheng, S., Huang, K., & Tong, T. (2021). Efficacy and Mechanisms of Oleuropein in Mitigating Diabetes and Diabetes Complications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(22), 6145–6155.

BÖLÜM 12

ELAJİK ASİTİN MOLEKÜLER ETKİ MEKANİZMALARI

Arş. Gör. Dr. Sibel KURAŞ¹
Doç. Dr. Halime Hanım PENÇE²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14580040>

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı İstanbul, Türkiye. sibel.kuras@sbu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-1230-7777

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı İstanbul, Türkiye. Halime.pence@sbu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-8346-1018

1. GİRİŞ

Sekonder bitki metabolitlerinin en büyük kimyasal bileşik sınıflarından biri olan fenolik bileşikler, insan sağlığını geliştirmek, farklı hastalıkları önlemek ve tedavi etmek için farmasötik ve tıbbi potansiyel biyoaktif ajan adaylarıdır. Fenolik bileşiklerin bu etkileri; antioksidan, antibakteriyel, kardiyoprotektif, antikanser, bağışıklık sistemini güçlendirici, antiinflamatuvar ve UV radyasyonundan cildi koruyucu etkileri şeklinde sayılabilir (Sun ve Shahrajabian, 2023). Son zamanlarda, çeşitli biyolojik aktiviteleri ve insan sağlığındaki terapötik özellikleri nedeniyle doğal fenolik bileşiklerin kullanılması büyük ilgi görmektedir.

Polifenoller, farklı hücresel fonksiyonları modüle ederek önemli roller oynamakta ve hayvan modellerinde oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozun etkilerini nötralize edebilmektedir (Tavan ve ark., 2024). Çeşitli doğal bileşiklerin oksidatif stres ve inflamasyonun neden olduğu bozuklukları önleme etkinliklerinin yanı sıra kinazlar, reseptörler ve düzenleyici proteinler gibi enzimler üzerindeki doğrudan etkileri yoluyla çoklu sinyal iletim yollarını değiştirdikleri de gösterilmiştir (Di Paolo ve ark., 2019; Gupta ve ark., 2021).

En çok bulunan fenolik bileşikler fenolik monoterenler ve diterpenler, hidroksibenzoik asitler, fenilpropanoik asitler, fenilpropenler, kumarinler, flavanolar, flavonlar ve flavanollerdir. Hidroksibenzoik asitler sınıfına dahil olan elajik asit (EA), diğer hidroksibenzoik asitlerle ortak olarak C6-C1 yapısına sahiptirler (Sun ve Shahrajabian, 2023).

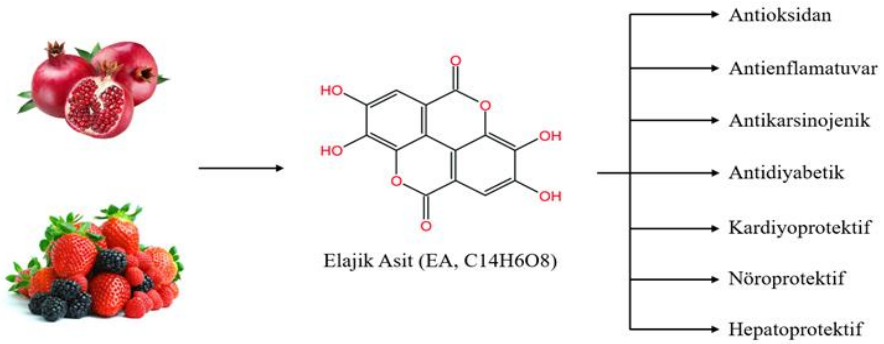
Bu bölümde nar, ceviz, fındık, ahududu, badem ve çilek dahil olmak üzere çok çeşitli meyve, sebze ve kuruyemişlerde bulunan diyetel polifenolik bileşiklerden biri olan EA'nın moleküler etki mekanizmaları çeşitli hastalıklarda ele alınmıştır.

2. ELAJİK ASİT

Elajik asit, 1831 yılında Henri Braconnot tarafından ilk olarak elajitaninlerin yeni bir formu olarak keşfedilmiş ve adlandırılmıştır. Moleküler formülü 2,3,7,8-tetrahidroksi[1]-benzopiranol[5,4,3cde]benzopiran-5,10-dion şeklindedir ve molar kütlesi 302.197'dir (Gupta ve ark., 2021). Yapısal olarak, EA heksahidroksi-difenik asidin bir dilaktonunu oluşturduğundan dimerik bir gallik asit türevidir olarak kabul edilmektedir (Wang ve ark., 2023). EA'nın erime noktasının 350°C

olması yüksek termostabilitesini açıklar. EA, su ve alkolde daha az çözünürlüğe sahip olup ancak potasyum hidroksit (KOH) içinde kolayca çözünebilen zayıf bir asittir (Derosa ve ark., 2016). EA'nın hidrofilik alanı dört fenolik ve iki lakton grup, lipofilik alanı ise dört halka ile temsil edilir (Deepika ve Maurya, 2022). Bu hidrofilik ve lipofilik yapı EA'nın çeşitli substratlardan elektron kabul etmesini ve redoks reaksiyonlarına katılmasını sağlayarak onu güçlü bir antioksidan yapmaktadır (Ríos ve ark., 2018). Çok az bir kısmı serbest formda bulunan EA çoğunlukla, glikoz, ramnoz, ksiloz, arabinozdan oluşan bir glikozit parçası ile bağlanır veya elajitaninler şeklinde bulunur. Elajitainlerin diyetel yolla alınmasından sonra, EA hidroliz süreci ile açığa çıkar. Bağırsak mikrobiyotası EA ve ellagitaninleri ürolitin A ve ürolitin B'ye metabolize eder ve sonra plazma, dışkı, idrar ve organlara dağılır (Wang ve ark., 2017; Hsu ve ark., 2019).

En yüksek EA konsantrasyonları *Rubus* cinsi bitkilerin meyvelerinde bulunur (Wang ve ark., 2023). EA'nın gerçek içeriği bitkiden bitkiye değişmekle birlikte kaynağa bağlı olarak farklı konsantrasyonlar tanımlanmıştır. Ahududu (*Rubus idaeus* L. meyvesi, Rosaceae), analiz edilen örneğe bağlı olarak 270mg/100g (yabani ahududu) ile 1900mg/100g (sarı ahududu) arasında değişen değerlerle en yüksek konsantrasyona sahiptir. Aynı cinsten diğer türlerde de yüksek EA miktarı bulunmaktadır. Örnek olarak böğürtlen (*Rubus* sp.), bulut meyveleri (*Rubus chamaemorus* L.) ve çilek (*Fragaria ×ananassa* [Duchesneex Weston] Duchesneex Rozier, Rosaceae) verilebilir. Yüksek düzeyde EA içeren diğer meyveler arasında narlar (*Punicagranatum* L., Lythraceae), şeftaliler (*Prunuspersica* [L.] Batsch, Rosaceae), hurmalar (*Diospyroskaki* L.f., Ebenaceae) ve erikler (*Prunus domestica* L. ve *Prunus* cinsinden diğer türler ve alt türler, Rosaceae) sayılabilir. Pikan cevizi (*Carya illinoensis* [Wangenh.] K. Koch, Juglandaceae) ve ceviz (*Juglans regia* L., Juglandaceae) gibi tohumlar ve üzümünden (*Vitisvinifera* L., Vitaceae) elde edilen bazı içecekler de ilgili seviyelerde bulunmaktadır (Ríos ve ark., 2018).



Şekil 1: Elajik asit yapısı ve fonksiyonları

Yapılan *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmalarda doğrulandığı üzere antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antidiyabetik, antikarsinojenik, antiplazmodiyal, antiviral, hepatoprotektif, antifibrotik, immünomodülatör ve nöroprotektif aktiviteler dahil olmak üzere geniş spektrumlu fizyolojik aktivitelere sahiptir (Gupta ve ark., 2021). EA'nın aktive ettiği moleküler mekanizmalar arasında serbest radikallerin temizlenmesi, proinflamatuvar ve profibrotik sitokin sentezinin modülasyonu, temel eser element seviyelerinin korunması, faz I ve II enzimlerinin düzenlenmesi ve lipidlerin sentezi ve yıkımında rol oynayan biyokimyasal yolların düzenlenmesi yer almaktadır. EA ayrıca hepatik stellat ve mast hücrelerinin aktivasyonunu, transforme hücrelerin çoğalmasını ve antioksidan yanıtı artırarak viral replikasyonu, apoptozun indüklenmesini, hücre döngüsü ve anjiyogenezde rol oynayan genlerin downregülasyonunu ve hücrel immün yanıtın uyarılmasını engeller (García-Niño ve Zazueta, 2015).

2.1. Antioksidan etki mekanizmaları

Reaktif oksijen türleri (ROS), tüm aerobik organizmalar tarafından normal metabolik süreç boyunca yan ürünler olarak üretilmektedirler. Bu ROS'ların insan vücudunda sinyal iletimi ve bağışıklık sistemine katkıda bulunmak gibi bazı önemli işlevleri olmasına rağmen, varlıkları antioksidan savunma sistemi tarafından dengelenmelidir (He ve ark., 2017; Demirci-Çekiç ve ark., 2022). ROS ile antioksidan sistem arasındaki biyokimyasal denge bozulduğunda oksidatif stres durumu ortaya çıkar. Oksidatif stress arttığında ROS'lar biyolojik makromoleküller olan nükleik asit, karbonhidrat, protein ve lipidlerin fonksiyonlarını bozarak zarar verirler (Jelic ve ark., 2021). Oksidatif stres kanser, nörodejeneratif hastalıklar dahil birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. İnsan vücudunda intrinsik enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistemler (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidazlar (GPx), tiyoredoksin (Trx) gibi) bulunmakla beraber ekstrinsik antioksidan kaynakları ise çoğunlukla polifenoller açısından zengin olan meyveler, sebzeler, otlar ve baharatlar gibi gıda maddeleridir (Demirci-Çekiç ve ark., 2022). Oksidatif stresin nötralize edilmesi açısından antioksidanların kullanımı hastalıkların önlenmesinde koruyucu olarak veya hastalıkların tedavisi / komplikasyonlarının azaltılmasında önemli yere sahip oldukları aşikardır.

Çeşitli meyve ve sebzelerden elde edilen diyetel antioksidanlar, oksidatif stresi azaltmaya ve ROS ve antioksidanların oranını dengeleyerek kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve yaşlanmayı önlemeye yardımcı olur. Nar ve çeşitli meyvelerde yüksek miktarlarda bulunan EA'nın antioksidan potansiyele sahip olduğu ve serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruduğu bilinmektedir (Deepika ve Maurya, 2022).

Güçlü antioksidan özelliğe sahip doğal bir polifenol olan EA'nın yapısında bulunan dört hidroksil grubunun varlığı EA'nın antioksidan davranışına atıfta bulunmaktadır (Zeb, 2018). Serbest radikallerin temizlenmesinde görev alan EA, hücreyi lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve oksidatif hasara karşı korur (Abdelkader ve ark., 2020). Bunu vücuttaki bazı intrinsik antioksidan enzimlerin seviyelerini artırarak ve lipid peroksidasyonu son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeylerini azaltarak yaptığı gösterilmiştir (Mişe Yonar, 2019).

2.2. Antiinflamatuvar etki mekanizmaları

İnflamasyon kimyasal, mekanik veya mikrobiyal hasar durumunda tetiklenen, hasar kaynağını ortadan kaldırmayı ve doku işlevini eski haline getirmeyi amaçlayan iyi korunmuş bir savunma mekanizması olarak hizmet eder. Ancak pro/antiinflamatuvar yolların bozulması veya aşırı inflamatuvar sinyaller kronik inflamasyona yol açmaktadır (Leuti ve ark., 2020). Artmış proinflamatuvar sitokinlerin (interlökin (IL)-1, IL-6, TNF- α ve IL- β gibi) azaltılması, azalmış antiinflamatuvar sitokin düzeylerinin (IL-10, transforme edici büyüme faktör (TGF)- β gibi) artırılması inflamatuvar hastalıkların iyileştirilmesinde önemli katkı sağlayacaktır.

EA akut inflamasyonda ROS oluşumunu azaltır, hem IL-10 üretimini hem de nükleer faktör kappa B (NF- κ B) mRNA ekspresyonunu artırır ve siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunu, tümör nekroz faktör (TNF)- α ve IL- β üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar etki gösterir (El-Shitany ve ark., 2014). Yapılan bir çalışmada EA'nın, p38 ve NF- κ B sinyal yollarını inhibe ederek proinflamatuvar enzimler COX-2 ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu azaltmanın yanı sıra kolon epitelindeki nötrofillerin infiltrasyonunu azalttığı bulunmuştur (Golovinskaia ve Wang, 2022). EA, intrinsik kaskadın faktör XII'sini aktive ederek kan pıhtılaşmasını teşvik eder ve yaraların iyileşmesinde rol oynar (Ceci ve ark., 2020).

EA'nın akut veya kronik ülseratif kolit, Crohn hastalığı ve romatoid artrit modellerinde antiinflamatuvar etkileri bulunmaktadır. HaCaT keratinositlerinde yapılan bir çalışmada, TNF- α /interferon (IFN)- γ tarafından indüklenen artmış proinflamatuvar sitokin ve kemokin düzeylerinin EA uygulaması sonrası azaldığı gösterilmiştir. Başka önemli inflamatuvar sitokin düzenleyicileri olan mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK), fosfotidil inozitol trifosfat (PI3K)/protein kinaz B (AKT) ve janus kinaz (Jak)/ sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) yollarının inflamatuvar hastalıklarda aktive olduğu bilinmektedir. TNF- α /IFN- γ ile indüklenmiş keratinositlerde bu inflamatuvar sinyal yollarının da baskılandığı gösterilmiştir. Ayrıca atopik dermatit ve birçok inflamatuvar deri hastalığının etiolojisinde derinlemesine oynayan artmış periostin protein düzeylerinin de EA tarafından inhibe edildiği bulunmuştur (Gil ve ark., 2021).

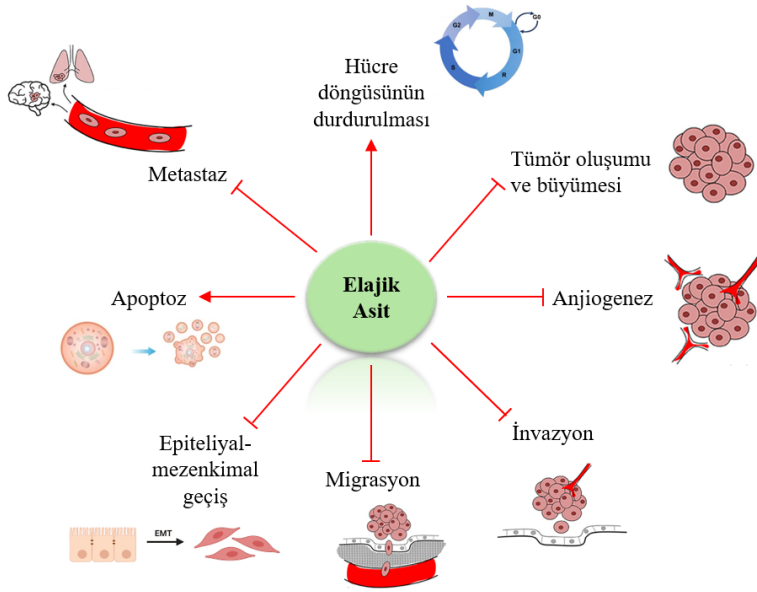
Genellikle ROS'a yanıt olarak sitoprotektif genlerin ekspresyonunu aktive eden transkripsiyon faktörü nükleer faktör-eritroid-2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2), inflamatuvar yanıtın ana düzenleyicilerinden biri olan NF- κ B'nin

downregülasyonu yoluyla antiinflamatuvar etkiler gösterebilir. Ayrıca Nrf2 sadece oksidatif stresi dengelemek ve inflamasyonu azaltmakla kalmaz, aynı zamanda TGF- β 1 aracılı profibrotik sinyali de olumsuz etkiler (Mannino ve ark., 2023).

2.3. Antikanser etki mekanizmaları

Kanser, hücrelerin anormal ve kontrolsüz büyümesine dayanan, anjiogenez, invazyon, migrasyon ve metastaz gibi kritik süreçleri barındıran bir hastalıktır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'nın (IARC) güncel istatistiksel tahminlerine göre dünya çapında 2022 yılında yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası (melanom dışı cilt kanserleri dahil) olduğu ve 9,7 milyon kişinin kanserden öldüğü rapor edilmiştir. Tahminlere göre yaklaşık her beş kişiden biri yaşamı boyunca kansere yakalanırken, yaklaşık her 12 kadından biri ve her dokuz erkekten biri kanserden ölmektedir (Bray ve ark., 2024). Klinik ve epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen verilere göre, günlük 400-800 g sebze ve meyve alımının kanser vakalarının %20 veya daha fazlasını engelleyebileceği görülmektedir (Wang ve ark., 2023).

Farklı çalışmalar EA'nın kolon, prostat, meme, deri, özofagus ve osteojenik sarkom gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde güçlü önleyici ve terapötik ajan olduğunu ortaya koymuştur (Mohammadinejad ve ark., 2022). EA hücre döngüsünün durdurulması, kaspaz bağımlı (kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivasyonu) apoptozun indüklenmesi, tümör hücre proliferasyonu inhibisyonu, invazyon ve anjiogenezisin inhibisyonuna neden olduğundan antikanser aktiviteye sahip bir polifenoldür (Spisso ve ark., 2018; Gulzar ve ark., 2019; Ceci ve ark., 2020).



Şekil 2: Elajik asitin antikarsinojenik etkileri

Mitokondri enerji metabolizması yoluyla kanser hücresi ölümünü düzenlemekte ve farklı hücre ölümü türleri *in vivo* olarak bir arada rol oynamaktadır. Bundan yola çıkarak Duan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada EA'nın akciğer kanseri hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini, adenosin trifosfat (ATP) seviyelerini belirgin şekilde düşürdüğünü, iç mitokondriyal membran potansiyelini azalttığını ve *in vitro* oksijen tüketimini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, adenosin monofosfat (AMP) ile aktive olan protein kinaz (AMPK)'ın aktive olduğu ve hipoksi ile indüklenen faktör-1 α (HIF-1 α)'yı azalttığı gösterilmiştir. Bu bulgular, EA'nın akciğer kanserinde mitokondriyal metabolizmayı hedefleyen umut verici bir kemoterapötik ajan olabileceğini düşündürmektedir (Duan ve ark., 2020).

EA'nın meme kanseri hücreleri üzerinde birçok etkisi bulunmaktadır. Bunlar; hücre döngüsünü G0/G1 fazında durdurarak meme kanseri hücrelerinin büyümesini baskılamak; migrasyon, invazyon ve metastaz baskılamak; TGF- β /Smad3 sinyal eksenini yoluyla MCF-7 hücrelerinde apoptozu uyarmak; hücre döngüsü düzenlemesinde önemli olan siklin bağımlı kinaz (CDK)-6'yı inhibe etmek; PI3K/AKT yolunu inhibe etmek ve proliferasyon dahil anjiyogenez ile ilişkili aktiviteleri inhibe etmektir (vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR)-2 tirozin kinaz

aktivitesini azaltır (Yousuf ve ark., 2020; Golmohammadi ve ark., 2023). Kolon kanseri hücre hattı HCT-116'da da EA'nın AMPK/mTOR yoluyla aracılığıyla kolon kanserinin büyümesini engellediği ve apoptoz ile koruyucu otofajiyi indüklediği gösterilmiştir (Ni ve ark., 2023). Yapılan başka bir çalışmada ise yine HCT-116 hücre hattında EA uygulamasının önemli regülatör fonksiyonlara sahip uzun kodlama yapmayan RNA'ların (lncRNA) ekspresyon düzeylerini değiştirdiği gösterilmiş olup mRNA-lncRNA ekseninin açığa çıkarılmasıyla elajik asitin hedeflerinin belirlenebileceği rapor edilmiştir (Zhao ve ark., 2023).

İnsan pankreas kanseri hücre hattı olan PANC-1'de yapılan bir çalışmada EA'nın *in vivo* olarak Notch, shh ve AKT sinyal yollarını baskılayarak pankreas kanserini inhibe ettiği gösterilmiştir (Zhao ve ark., 2013). Kim ve arkadaşları tarafından 3 farklı pankreas kanseri hücre hattı üzerinde EA'nın potansiyel etkilerinin incelendiği çalışmada EA'nın pankreatik hücrelerde epitelial-mezenkimal geçişi baskıladığı, migrasyon ve proliferasyonu azalttığı ancak farklı hücre hatlarında farklı dozlarda etki gösterdiği rapor edilmiştir. Proliferasyonu kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivasyonu ile; migrasyonu ise E-kaderini artırarak ve tümör büyüme faktörü- β (TGF- β), MMP-2 ve MMP-9 seviyelerini azaltarak inhibe ettiğini bulmuşlardır (Kim ve ark., 2021). Ayrıca kronik lenfositik lösemili hastalardan izole edilen B-lenfositlerindeki mitokondriyal yolları hedef aldığı gösterilmiştir (Salimi ve ark., 2015).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada KLE and AN3CA endometrial kanser hücre hatlarında EA uygulamasının proliferasyon, invazyon, migrasyon ve uzak metastazı inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca migrasyon ve invazyonun inhibisyonunun fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) sinyal yolunu downregüle ederek matriks metalloproteinaz-9 (MMP9) ekspresyonunu inhibe etmesi üzerinden olduğunu bulmuşlardır (Wang ve ark., 2019).

Çetin ve arkadaşlarının C6 glioma hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada EA uygulamasının, uygulama süresine bağlı olarak, E-kaderin ekspresyonu ve immunoreaktivitesini anlamlı derecede artırdığı, N-kaderinin ise azalttığını bulmuşlardır. Ayrıca EA uygulamasının VEGF'nin hem gen hem de protein düzeyinde downregüle ettiğini göstermişlerdir (Çetin ve Biltekin, 2019). Çetin ve arkadaşlarının yaptıkları diğer bir çalışmada EA'nın p53 ve kaspaz-3 reaktivitelerini, posttranslasyonel modifikasyonları module

ederek artırdığını göstermişlerdir. Bu da apoptoz indükleyici fonksiyonunu ifade ettiğini rapor etmişlerdir (Çetin ve ark., 2019).

Fosfataz ve tensin homolog (PTEN), AKT/PI3K'yı negatif olarak düzenleyen bir tümör baskılayıcıdır ve AKT/PI3K sinyal yolağı tümörigenez ve apoptoz ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada HeLa hücrelerinde EA uygulamasının apoptotik yolda görev alan kaspaz, PTEN ve TSC genlerinin ekspresyonlarını artırdığı ve mTOR, AKT ve PDK1 genlerinin ekspresyonlarını azalttığı gösterilmiştir (Wang ve ark., 2023). PDK1 inhibitörleri kanser progresyonu ve anormal doku yayılımını önlemede önemli yere sahiptirler.

Hepatosellüler karsinomada ise EA uygulamasının p21 genini aktive ederek ve mini-kromozom koruma protein kompleksi genlerini (MCM2-7) downregüle ederek G1 fazının durmasına neden olduğu ve kanser hücrelerinin apoptozunu teşvik ettiği gösterilmiştir (Qiu ve ark., 2021). Yine hepatosellüler karsinoma üzerine yapılan başka bir çalışmada da EA'nın MAPK ve Akt/mTOR sinyal yollarının aktivasyonunu azaltarak antikanser etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Tan ve ark., 2024).

2.4. Antidiyabetik etki mekanizmaları

Diabetes mellitus, insidansı gitgide artan, önemli metabolik hastalıklar ve ciddi komplikasyonlara neden olan heterojen bir hastalıktır. Artmış kan glukoz düzeyleri ile karakterize olan bu hastalıkta artmış inflamasyon, oksidatif stres, pankreas β adacıklarının kaybı ve insülin eksikliği ile hiperkoagülasyon söz konusudur.

Yapılan bir çalışmada EA takviyesinin insülin direnci, lipit metabolizması ve anormal glukoz seviyesini iyileştirmeye yardımcı olduğu ve diyabetik sıçanda EA uygulamasının hiperglisemi nedeniyle böbrek ve kalpte meydana gelen yaralanmalardan koruduğu gösterilmiştir (Liu ve ark., 2021). EA, lipit peroksidasyonunu azaltarak diyabete karşı koruyucu fonksiyon sağlar ve ileri glikasyon son ürünlerinin oluşumunu engeller (Ahmad ve ark., 2022). Elbandrawy ve arkadaşları, pankreatik TNF- α ve IL-6 immünoekspresyonunu modüle ederek EA'nın hiperglisemik durumu kontrol ettiğini göstermiştir (Elbandrawy ve ark., 2022).

Faz II detoksifiye edici, sitoprotektif ve antioksidan enzimlerin indüklenmesinden sorumlu önemli bir transkripsiyon faktörü olan Nrf2, kelch benzeri ECH-ilişkili protein 1 (Keap1) ile sıkı bir şekilde etkileşime girerek

antioksidan yanıt ve glukoz metabolizmasında kilit rol oynar. Nrf2 ekspresyonu yüksek glukoz durumunda inhibe olduğunda insülin direnci ve oksidatif strese katkı sağlar (Urano ve ark., 2015). Ayrıca başka bir çalışmada Keap1-Nrf2 sisteminin diyabet başlangıcını önlemek için kritik bir hedef olduğu rapor edilmiştir (Urano ve ark., 2013). Yapılan bir çalışmada yüksek glukoz uygulanmış HepG2 hücrelerinde EA'nın miR-223/keap1-Nrf2 yolağı aracılığıyla oksidatif stresi azalttığı ve insülin direncini iyileştirdiği bulunmuştur (Ding ve ark., 2019). İnsülin reseptörü substrat 1 (IRS1), metabolizmanın hormonal kontrolü için AKT ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) gibi downstream enzimlerini ileten insülin reseptörü tirozin kinazın önemli bir modülatörüdür. EA uygulamasının glukoz tüketimini, IRS-1 ve glukoz taşıyıcısı GLUT-4 düzeylerini de artırdığı gözlenmiştir (Ding ve ark., 2019; Naraki ve ark., 2023; Wu ve ark., 2023).

Bir diğer çalışmada diyabetik sıçanlara hem normal EA hem de biyoyararlanımı daha yüksek olan nanopartikül-EA (NP-EA) uygulanmış ve etkileri izlenmiştir. EA uygulamasının glukoz ve lipit profili düzeylerini iyileştirdiği, pankreas β adacıklarının sayısının ve aktivitesinin artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca pankreatik adacıkların apoptozunu kaspaz-3'ü azaltarak inhibe etmiş ve insülin gen ekspresyonunu artırmıştır. Bununla beraber NP-EA uygulanan gruplarda, normal EA uygulamasına göre daha anlamlı iyileşmeler olduğu rapor edilmiştir (Harakeh ve ark., 2020).

2.5. Kardiyoprotektif etki mekanizmaları

Kardiyovasküler hastalıklar dünya çapında sakatlık ve ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. Diğer hastalıklarda da olduğu gibi bu hastalıkların erken tanı ve tedavisi, hastaların hayatta kalabilmesi ve uzun vadeli sağlığı için önem arz etmektedir. Kardiyovasküler hastalık belirteçlerindeki gelişmelere rağmen, küresel nüfus yaşlandıkça prevalans artmaya devam etmektedir (Kim ve ark., 2023). Kardiyovasküler hastalıkların temelinde lipit profilindeki dengesizliklerle beraber artmış inflamasyon ve oksidatif stres gibi durumlar bulunmaktadır.

Oksidatif stresi artıran bir molekül olan arseniği içeren sodyum arsenit tarafından indüklenen kardiyotoksisite ve hematotoksisitede EA'nın koruyucu rolünün incelendiği bir çalışmada, toksisiteden ötürü azalmış olan lökosit, eritrosit, hemoglobin, hematokrit ve platelet değerlerinin EA uygulaması sonucu arttığı gösterilmiştir. Kardiyak belirteçler olan artmış troponin I, kreatin kinaz-MB (CK-MB), aspartat transaminaz (AST) ve laktat

dehidrogenaz (LDH) değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca EA'nın oksidatif parametreler olan MDA ve nitrik oksit (NO) düzeylerini azalttığı; antioksidan parametreler olan CAT, SOD, GPx ve glutatyon (GSH) aktivitelerini artırdığı bulunmuştur (Goudarzi ve ark., 2018). Yine başka bir çalışmada da benzer sonuçlar olduğu rapor edilmiştir (Kannan ve Quine, 2011). Dianat ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada EA'nın kalpte aprotetik fonksiyona sahip olduğunu göstererek anti-aritmik ajan olarak hareket ettiğini rapor etmişlerdir (Dianat ve ark., 2015).

EA kolesterol akışını uyararak ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) alımını azaltarak lipid metabolizmasına müdahale eder. Ayrıca ABCA1 (ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcı A1/kolesterol akış düzenleyici protein) ve karaciğer X reseptörü (LXR) ekspresyonunu artırır (Koltai ve ark., 2021). TGF- β 1 sinyal aktivasyonu, farklı pro-fibrotik genlerin transkripsiyonunu uyaran Smad-2/3'ü devreye sokar ve bu eksen üzerinden kanonik Wnt proteinlerinin üretimini indükleyerek β -katenin'in nükleer translokasyonunu ve birikimini artırır, bu da bir fibrotik genin indüksiyonu için çok önemli bir adım olarak tanımlanmıştır. Hem Wnt/ β -katenin yolu hem de oksidatif stres inflamatuvar bir durumu tetikleyerek farklı proinflamatuvar yolların aktivasyonunu IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini teşvik ederek kalp fonksiyonunu olumsuz yönde etkileyebilir. Nrf2 kardiyomiyositlerde oksidatif ve inflamatuvar hasarın önlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Kardiyak fibrosis hücre hattında yapılan bir çalışmada EA uygulamasının antioksidan etki gösterdiği, inflamatuvar panel düzeylerini azalttığı, Wnt/ β -katenin yolağını inhibe ettiği ve profibrotik belirteçleri modüle ederek antifibrotik etki gösterdiği bulunmuştur (Mannino ve ark., 2023).

EA'nın hem *in vivo* (yüksek kolesterol diyeti yapılmış ratlar) hem de *in vitro* 'da (yüksek uzun zincirli yağ asitlerine maruz bırakılmış HepG2 hücre hattı) etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; EA uygulamasının karaciğer ve serumda kolesterol düzeylerini düşürdüğü, 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA (HMG-KoA) redüktaz ve kolesterol ester transfer protein (CETP)'nin hepatik aktivitesini azaltıp lesitin kolesterol açıltransferaz (LCAT) hepatik aktivitesini artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca yüksek kolesterol diyeti yapılmış ratların aort kesitlerinde EA uygulanan grupta, uygulanmayana göre daha az intimal kalınlaşma olduğu gözlenmiştir. Ayrıca serum ve aortik lipid peroksidasyon aktivitesinde azalma olduğunu ortaya koymuşlardır (Lee ve ark., 2020). Yine başka bir çalışmada EA'nın okside-LDL alımını ve kolesterol akışını azaltırken, hem çöpçü reseptör sınıf B tip 1 (SR-B1) indüksiyonunu hem de

okside-LDL ile uyarılmış makrofajlarda köpük hücre oluşumunu baskıladığını, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör- γ (PPAR- γ) ve ABCA1'in ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir, bunların hepsi kolesterol modülasyonu içindir (Naraki ve ark., 2023).

2.6. Hepatoprotektif etki mekanizmaları

Yılda 2 milyon vakaya karşılık gelen karaciğer hastalıklarının yükü ve yaygınlığı, dünya çapında endişe veren sorunlardan biridir. Hepatit enfeksiyonları, alkolik veya alkolik olmayan karaciğer hastalığı, çevresel ajanlar ve ilaca bağlı toksisite gibi kronik karaciğer etiyojileri, karaciğer fibrozunun nihayetinde hepatoselüler karsinoma ilerlemesinden değışmez bir şekilde sorumludur (Aishwarya ve ark., 2021).

Kemoterapi kaynaklı hepatotoksisitede EA'nın koruyucu rolünün incelendiğı bir çalışmada, siklofosamid kemoterapötik ajanın hepatik enzimleri (alanin transaminaz (ALT), AST, trigliserit ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) düzeylerini önemli derecede artırırken, EA uygulamasının bu değerleri anlamlı derecede azalttığı ve hatta kaspaz-3 ekspresyon düzeylerini de artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada histopatolojik bulgu olarak nekroz, ödem ve dejenerasyonun EA uygulaması ile önemli derecede azaldığı ve karaciğer bulgularında iyileşmeyi sağladığı gösterilmiştir (Yalçın ve ark., 2020). Alkol kaynaklı hepatoksisitede EA'nın koruyucu rollerinin değerlendirildiğı başka bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş olup önceki parametrelere ek olarak plazma lipit peroksidatif belirteçleri (tiyobarbitüriasit reaktif maddeleri (TBARS) ve hidroperoksitler (HP)), serbest yağ asitlerini de azaltarak iyileştirdiğı, fosfolipit düzeylerini ise artırarak iyileştirdiğı gösterilmiştir. Ayrıca bu iyileşmeler hem karaciğer hem de böbrekte de görülmüştür (Devipriya ve ark., 2008). Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada EA uygulamasının karaciğerde kolesterol sentezinde görev alan sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 2 (SREBP2) ve HMG-KoA redüktazın gen ekspresyonlarını downregüle ettiği gösterilmiştir (Lee ve ark., 2020).

Tablo 1: Elajik asitin etkilediği proteinler

	Artar	Azalı
Büyüme Faktörleri		VEGF, TGF- β , FGF, EGF
Enzimler	GPx, GSH, HO-1	COX-2, iNOS, Keap1, MMP-2, MMP-9
Apoptotik Mediatorler	Kaspaz-3, Kaspaz-9, Bax, p53, Sitokrom-c	Bcl-2, Bcl-XL, Siklin-D1, Kolajen-1
Sitokinler	IL-10	TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-9, IL-13, IFN- γ
Transkripsiyon Faktörleri	Nrf-2, PPAR- γ	NF- κ B, β -katenin, STAT-3
Reseptörler	IRS-1, GLUT-4, SR-BI	TLR-2, TLR-4, VEGFR2, PDGFR
Kinazlar	HMG-KoA	MAPK, CDK-2, CDK-4, CDK-6, JAK, PI3K
Adhezyon Molekülleri	E-kaderin	N-kaderin, Wnt

2.7. Nöroprotektif etki mekanizmaları

Nörodejeneratif hastalıklar nöronların kaybindan kaynaklanan merkezi sinir sisteminin bir dizi kronik ilerleyici bozukluğunu içermektedir (Di Paolo ve ark., 2019). Farklı stresörlerden kaynaklı oluşan deneysel nörolojik hasarlara karşı EA'nın nöroprotektif etkileri Gupta ve arkadaşları tarafından yapılan bir derlemede tartışılmıştır. Bu derlemeye göre EA'nın hem Alzheimer hastalığının patofizyolojisinde görülen amiloid- β fibrilleri ve hiperfosforile tau proteinlerinin nörotoksik etkilerini azalttığını, hem de antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterdiğini (TNF- α , ROS, ileri glikasyon ürünlerini azaltarak) rapor etmişlerdir (Gupta ve ark., 2021).

Arsenik ile indüklenen nörotoksisitede EA uygulamasının beyin dokusunu antiinflamatuvar (IL-1 β , TNF- α ve INF- γ 'ı azaltarak), antioksidatif (ROS'u azaltarak) ve antiapoptotik (Bax'ı azaltarak ve Bcl-2'yi artırarak) aktivitesi yoluyla koruduğu görülmüştür (Shayan ve ark., 2023).

Parkinson hastalığının oluşumuna, toll-benzeri reseptör 2 (TLR2) aracılığıyla mikrogliaları aktive eden ve TNF- α ve diğer proinflamatuvar faktörlerin salınımını teşvik eden ve böylece oksidatif strese neden olan α -

sinüklein agregasyonu eşlik eder. Parkinson hastalığında yapılan bir çalışmada EA uygulaması sonucu aktive olan Nrf2'nin α -sinüklein agregasyonunu azalttığı ve oksidatif strese karşı koymak için hem oksijenaz-1 (HO-1), SOD ve CAT gibi antioksidan faktörleri aktive ettiği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2022).

Özetle; kanser dahil çeşitli hücre hatlarında ve hayvan modellerinde gözlemlendiği üzere, EA'nın normal sağlıklı hücreleri etkilemeden antikanser, antiviral, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antioksidan, antihiperlipidemik, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve hepatoprotektif etkilere sahip olması potansiyel terapötik ajan olabileceğini göstermektedir.



Şekil 3: Elajik asitin etkilediği genler ve hüresel süreçler

2.8. Yapılan randomize kontrollü klinik araştırmalar

Hajiluan ve arkadaşlarının yaptığı randomize kontrollü bir çalışmada multiple skleroz hastalarında EA takviyesinin depresyon üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu gösterilmiştir. Bu etkinin EA'nın serum NO, kortizol ve IFN- γ düzeylerini azaltması ve beyin kaynaklı nörotrofin faktörü (BDNF) ve serotonin seviyelerini artırması kaynaklı olduğu ifade edilmiştir (Hajiluan ve ark., 2023).

Hidalgo-Lozada ve arkadaşlarının 2022 yılında yaptıkları plasebo kontrollü bir çalışmada ise metabolik sendromlu hastalarda EA'nın etkinliğini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre EA kullananlarda bel çevresi,

vücut ağırlığı, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, açlık kan glukozu ve trigliserit düzeylerinin düştüğü, HDL-kolesterol düzeylerinin ise arttığı gözlenmiştir. Ayrıca insülin salınımının ilk fazı ve insülin sensitivitesinin arttığı gözlenmiştir (Hidalgo-Lozada ve ark., 2022).

Ghadimi ve arkadaşları da tip 2 diyabetli hastalarda EA'in etkisini incelemişler ve benzer sonuçlar olduğunu bulmuşlardır. Sonuçlarda kan glukoz düzeylerinde azalma, insülin sensitivitesinde artış, iyileşmiş lipit profili, azalmış proinflamatuvar sitokin ve CRP düzeyleri, azalmış oksidatif biyobelirteç düzeyleri ve artmış antioksidan biyobelirteçleri olduğu saptanmıştır (Ghadimi ve ark., 2021)

KAYNAKÇA

- Abdelkader, N. F., Elyamany, M., Gad, A. M., Assaf, N., Fawzy, H. M., & Elesawy, W. H. (2020). Ellagic acid attenuates liver toxicity induced by valproic acid in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, 143(1), 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.01.007>
- Ahmad, S., Alouffi, S., Khan, S., Khan, M., Akasha, R., Ashraf, J. M., Farhan, M., Shahab, U., & Khan, M. Y. (2022). Physicochemical Characterization of In Vitro LDL Glycation and Its Inhibition by Ellagic Acid (EA): An In Vivo Approach to Inhibit Diabetes in Experimental Animals. *BioMed Research International*, 2022, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2022/5583298>
- Aishwarya, V., Solaipriya, S., & Sivaramakrishnan, V. (2021). Role of ellagic acid for the prevention and treatment of liver diseases. *Phytotherapy Research*, 35(6), 2925-2944. <https://doi.org/10.1002/ptr.7001>
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229-263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- Ceci, C., Graziani, G., Faraoni, I., & Cacciotti, I. (2020). Strategies to improve ellagic acid bioavailability: from natural or semisynthetic derivatives to nanotechnological approaches based on innovative carriers. *Nanotechnology*, 31(38), 382001. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ab912c>
- Çetin, A., & Biltekin, B. (2019). Combining Ellagic Acid with Temozolomide Mediates the Cadherin Switch and Angiogenesis in a Glioblastoma Model. *World Neurosurgery*, 132, e178-e184. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.08.228>
- Çetin, A., Biltekin, B., & Degirmencioglu, S. (2019). Ellagic Acid Enhances the Antitumor Efficacy of Bevacizumab in an In Vitro Glioblastoma Model. *World Neurosurgery*, 132, e59-e65. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.08.257>
- Deepika, & Maurya, P. K. (2022). Ellagic acid: insight into its protective effects in age-associated disorders. *3 Biotech*, 12(12), 340. <https://doi.org/10.1007/s13205-022-03409-7>
- Demirci-Çekiç, S., Özkan, G., Avan, A. N., Uzunboy, S., Çapanoğlu, E., & Apak, R. (2022). Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant

- Defense. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 209, 114477. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114477>
- Derosa, G., Maffioli, P., & Sahebkar, A. (2016). Ellagic Acid and Its Role in Chronic Diseases (ss. 473-479). https://doi.org/10.1007/978-3-319-41334-1_20
- Devipriya, N., Sudheer, A. R., Vishwanathan, P., & Menon, V. P. (2008). Modulatory potential of ellagic acid, a natural plant polyphenol on altered lipid profile and lipid peroxidation status during alcohol-induced toxicity: A pathohistological study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 22(2), 101-112. <https://doi.org/10.1002/jbt.20226>
- Di Paolo, M., Papi, L., Gori, F., & Turillazzi, E. (2019). Natural Products in Neurodegenerative Diseases: A Great Promise but an Ethical Challenge. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5170. <https://doi.org/10.3390/ijms20205170>
- Dianat, M., Amini, N., Badavi, M., & Farbood, Y. (2015). Ellagic acid improved arrhythmias induced by CaCL₂ in the rat stress model. *Avicenna journal of phytomedicine*, 5(2), 120-127.
- Ding, X., Jian, T., Wu, Y., Zuo, Y., Li, J., Lv, H., Ma, L., Ren, B., Zhao, L., Li, W., & Chen, J. (2019). Ellagic acid ameliorates oxidative stress and insulin resistance in high glucose-treated HepG2 cells via miR-223/keap1-Nrf2 pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, 85-94. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.018>
- Duan, J., Li, Y., Gao, H., Yang, D., He, X., Fang, Y., & Zhou, G. (2020). Phenolic compound ellagic acid inhibits mitochondrial respiration and tumor growth in lung cancer. *Food & Function*, 11(7), 6332-6339. <https://doi.org/10.1039/D0FO01177K>
- Elbandrawy, M. M., Sweef, O., Elgamal, D., Mohamed, T. M., EhabTousson, & Elgharabawy, R. M. (2022). Ellagic acid regulates hyperglycemic state through modulation of pancreatic IL-6 and TNF- α immunoexpression. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3871-3880. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.016>
- El-Shitany, N. A., El-Bastawissy, E. A., & El-desoky, K. (2014). Ellagic acid protects against carrageenan-induced acute inflammation through inhibition of nuclear factor kappa B, inducible cyclooxygenase and proinflammatory cytokines and enhancement of interleukin-10 via an antioxidant mechanism. *International Immunopharmacology*, 19(2), 290-299. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.02.004>

- García-Niño, W. R., & Zazueta, C. (2015). Ellagic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in liver protection. *Pharmacological Research*, 97, 84-103. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.04.008>
- Ghadimi, M., Foroughi, F., Hashemipour, S., Rashidi Nooshabadi, M., Ahmadi, M. H., Ahadi Nezhad, B., & Khadem Haghighian, H. (2021). Randomized double-blind clinical trial examining the Ellagic acid effects on glycemic status, insulin resistance, antioxidant, and inflammatory factors in patients with type 2 diabetes. *Phytotherapy Research*, 35(2), 1023-1032. <https://doi.org/10.1002/ptr.6867>
- Gil, T.-Y., Hong, C.-H., & An, H.-J. (2021). Anti-Inflammatory Effects of Ellagic Acid on Keratinocytes via MAPK and STAT Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1277. <https://doi.org/10.3390/ijms22031277>
- Golmohammadi, M., Zamanian, M. Y., Jalal, S. M., Noraldeem, S. A. M., Ramírez-Coronel, A. A., Oudaha, K. H., Obaid, R. F., Almulla, A. F., Bazmandegan, G., & Kamiab, Z. (2023). A comprehensive review on Ellagic acid in breast cancer treatment: From cellular effects to molecular mechanisms of action. *Food Science & Nutrition*, 11(12), 7458-7468. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3699>
- Golovinskaia, O., & Wang, C.-K. (2022). Nutraceuticals in digestive therapy. *Çinde Nutrition and Functional Foods in Boosting Digestion, Metabolism and Immune Health* (ss. 477-500). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821232-5.00030-6>
- Goudarzi, M., Fatemi, I., Siahpoosh, A., Sezavar, S. H., Mansouri, E., & Mehrzadi, S. (2018). Protective Effect of Ellagic Acid Against Sodium Arsenite-Induced Cardio- and Hematotoxicity in Rats. *Cardiovascular Toxicology*, 18(4), 337-345. <https://doi.org/10.1007/s12012-018-9446-2>
- Gulzar, M., Syed, S. B., Khan, F. I., Khan, P., Ali, S., Hasan, G. M., Taneja, P., & Hassan, Md. I. (2019). Elucidation of interaction mechanism of ellagic acid to the integrin linked kinase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 1297-1304. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.089>
- Gupta, A., Singh, A. K., Kumar, R., Jamieson, S., Pandey, A. K., & Bishayee, A. (2021). Neuroprotective Potential of Ellagic Acid: A Critical Review. *Advances in Nutrition*, 12(4), 1211-1238. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab007>

- Hajiluian, G., Karegar, S. J., Shidfar, F., Aryaeian, N., Salehi, M., Lotfi, T., Farhangnia, P., Heshmati, J., & Delbandi, A.-A. (2023). The effects of Ellagic acid supplementation on neurotrophic, inflammation, and oxidative stress factors, and indoleamine 2, 3-dioxygenase gene expression in multiple sclerosis patients with mild to moderate depressive symptoms: A randomized, triple-blind, placebo-controlled trial. *Phytomedicine*, 121, 155094. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.155094>
- Harakeh, S., Almuhayawi, M., Jaouni, S. Al, Almasaudi, S., Hassan, S., Amri, T. Al, Azhar, N., Abd-Allah, E., Ali, S., El-Shitany, N., & Mousa, S. A. (2020). Antidiabetic effects of novel ellagic acid nanoformulation: Insulin-secreting and anti-apoptosis effects. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3474-3480. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.060>
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017). Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(2), 532-553. <https://doi.org/10.1159/000485089>
- Hidalgo-Lozada, G. M., Villarruel-López, A., Martínez-Abundis, E., Vázquez-Paulino, O., González-Ortiz, M., & Pérez-Rubio, K. G. (2022). Ellagic Acid Effect on the Components of Metabolic Syndrome, Insulin Sensitivity and Insulin Secretion: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Journal of Clinical Medicine*, 11(19), 5741. <https://doi.org/10.3390/jcm11195741>
- Hsu, C.-C., Chao, Y.-Y., Wang, S.-W., & Chen, Y.-L. (2019). Polyethylenimine-capped silver nanoclusters as fluorescent sensors for the rapid detection of ellagic acid in cosmetics. *Talanta*, 204, 484-490. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.047>
- Jelic, M. D., Mandic, A. D., Maricic, S. M., & Srdjenovic, B. U. (2021). Oxidative stress and its role in cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 17(1), 22-28. https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_862_16
- Kannan, M. M., & Quine, S. D. (2011). Ellagic acid ameliorates isoproterenol induced oxidative stress: Evidence from electrocardiological, biochemical and histological study. *European Journal of Pharmacology*, 659(1), 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.02.037>
- Kim, J. Y., Choi, Y. J., & Kim, H.-J. (2021). Determining the effect of ellagic acid on the proliferation and migration of pancreatic cancer cell lines. *Translational Cancer Research*, 10(1), 424-433. <https://doi.org/10.21037/tcr-20-2446>

- Kim, S. J., Mesquita, F. C. P., & Hochman-Mendez, C. (2023). New Biomarkers for Cardiovascular Disease. *Texas Heart Institute Journal*, 50(5). <https://doi.org/10.14503/THIJ-23-8178>
- Koltai, T., Reshkin, S. J., Baltazar, F., & Fliegel, L. (2021). Introduction to prostate cancer metabolism and treatment with nonconventional drugs. *Çinde Prostate Cancer Metabolism* (ss. 13-35). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90528-2.00010-2>
- Lee, K. H., Jeong, E.-S., Jang, G., Na, J.-R., Park, S., Kang, W. S., Kim, E., Choi, H., Kim, J. S., & Kim, S. (2020). Unripe *Rubus coreanus* Miquel Extract Containing Ellagic Acid Regulates AMPK, SREBP-2, HMGCR, and INSIG-1 Signaling and Cholesterol Metabolism In Vitro and In Vivo. *Nutrients*, 12(3), 610. <https://doi.org/10.3390/nu12030610>
- Leuti, A., Fazio, D., Fava, M., Piccoli, A., Oddi, S., & Maccarrone, M. (2020). Bioactive lipids, inflammation and chronic diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 159, 133-169. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.06.028>
- Liu, Y., Li, X., Zhu, Y., Liu, J., & Liu, S. (2021). Subclinical hypothyroidism contributes to poor glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus, and ellagic acid attenuates methimazole-induced abnormal glucose metabolism in mice model. *Journal of Food Biochemistry*, 45(6). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13753>
- Mannino, F., Imbesi, C., Bitto, A., Minutoli, L., Squadrito, F., D'Angelo, T., Booz, C., Pallio, G., & Irrera, N. (2023). Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of ellagic and punicic acid in an in vitro model of cardiac fibrosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 162, 114666. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114666>
- Mişe Yonar, S. (2019). Growth performance, haematological changes, immune response, antioxidant activity and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diet supplemented with ellagic acid. *Fish & Shellfish Immunology*, 95, 391-398. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.056>
- Mohammadinejad, A., Mohajeri, T., Aleyaghoob, G., Heidarian, F., & Kazemi Oskuee, R. (2022). Ellagic acid as a potent anticancer drug: A comprehensive review on in vitro, in vivo, in silico, and drug delivery studies. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(6), 2323-2356. <https://doi.org/10.1002/bab.2288>
- Naraki, K., Ghasemzadeh Rahbardar, M., Ajiboye, B. O., & Hosseinzadeh, H. (2023). The effect of ellagic acid on the metabolic syndrome: A review

- article. *Heliyon*, 9(11), e21844.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21844>
- Ni, X., Shang, F.-S., Wang, T.-F., Wu, D.-J., Chen, D.-G., & Zhuang, B. (2023). Ellagic acid induces apoptosis and autophagy in colon cancer through the AMPK/mTOR pathway. *Tissue and Cell*, 81, 102032. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2023.102032>
- Qiu, S., Zhong, C., Zhao, B., Li, G., Wang, J., Jehan, S., Li, J., Zhao, X., Li, D., & Sui, G. (2021). Transcriptome analysis of signaling pathways targeted by Ellagic acid in hepatocellular carcinoma cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1865(7), 129911. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2021.129911>
- Ríos, J.-L., Giner, R., Marín, M., & Recio, M. (2018). A Pharmacological Update of Ellagic Acid. *Planta Medica*, 84(15), 1068-1093. <https://doi.org/10.1055/a-0633-9492>
- Salimi, A., Roudkenar, M. H., Sadeghi, L., Mohseni, A., Seydi, E., Pirahmadi, N., & Pourahmad, J. (2015). Ellagic acid, a polyphenolic compound, selectively induces ROS-mediated apoptosis in cancerous B-lymphocytes of CLL patients by directly targeting mitochondria. *Redox Biology*, 6, 461-471. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.021>
- Shayan, M., Barangi, S., Hosseinzadeh, H., & Mehri, S. (2023). The protective effect of natural or chemical compounds against arsenic-induced neurotoxicity: Cellular and molecular mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 175, 113691. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.113691>
- Spisso, A., Gomez, F. J. V., & Fernanda Silva, M. (2018). Determination of ellagic acid by capillary electrophoresis in Argentinian wines. *ELECTROPHORESIS*, 39(13), 1621-1627. <https://doi.org/10.1002/elps.201700487>
- Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants—Natural Health Products for Human Health. *Molecules*, 28(4), 1845. <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
- Tan, Z., Li, X., Chen, X., Wang, L., Chen, B., Ren, S., & Zhao, M. (2024). Ellagic acid inhibits tumor growth and potentiates the therapeutic efficacy of sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Heliyon*, 10(1), e23931. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23931>
- Tavan, M., Hanachi, P., de la Luz Cádiz-Gurrea, M., Segura Carretero, A., & Mirjalili, M. H. (2024). Natural Phenolic Compounds with

- Neuroprotective Effects. *Neurochemical Research*, 49(2), 306-326. <https://doi.org/10.1007/s11064-023-04046-z>
- Urano, A., Furusawa, Y., Yagishita, Y., Fukutomi, T., Muramatsu, H., Negishi, T., Sugawara, A., Kensler, T. W., & Yamamoto, M. (2013). The Keap1-Nrf2 System Prevents Onset of Diabetes Mellitus. *Molecular and Cellular Biology*, 33(15), 2996-3010. <https://doi.org/10.1128/MCB.00225-13>
- Urano, A., Yagishita, Y., & Yamamoto, M. (2015). The Keap1–Nrf2 system and diabetes mellitus. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 566, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.12.012>
- Wang, J., Zhao, F., Wu, W., Lyu, L., Li, W., & Zhang, C. (2023). Ellagic Acid from Hull Blackberries: Extraction, Purification, and Potential Anticancer Activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(20), 15228. <https://doi.org/10.3390/ijms242015228>
- Wang, Q., Botchway, B. O. A., Zhang, Y., & Liu, X. (2022). Ellagic acid activates the Keap1-Nrf2-ARE signaling pathway in improving Parkinson's disease: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 156, 113848. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113848>
- Wang, S.-T., Chang, W.-C., Hsu, C., & Su, N.-W. (2017). Antimelanogenic Effect of Urolithin A and Urolithin B, the Colonic Metabolites of Ellagic Acid, in B16 Melanoma Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(32), 6870-6876. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02442>
- Wang, Y., Ren, F., Li, B., Song, Z., Chen, P., & Ouyang, L. (2019). Ellagic acid exerts antitumor effects via the PI3K signaling pathway in endometrial cancer. *Journal of Cancer*, 10(15), 3303-3314. <https://doi.org/10.7150/jca.29738>
- Wu, Z., Yu, W., Ni, W., Teng, C., Ye, W., Yu, C., & Zeng, Y. (2023). Improvement of obesity by Liupao tea is through the IRS-1/PI3K/AKT/GLUT4 signaling pathway according to network pharmacology and experimental verification. *Phytomedicine*, 110, 154633. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154633>
- Yalçın, A., Keleş, H., Kahraman, T., Bozkurt, M. F., & Aydın, H. (2020). Protective Effects of Ellagic Acid Against Chemotherapy-Induced Hepatotoxicity. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 22(2), 124-130. <https://doi.org/10.18678/dtfd.748816>
- Yousuf, M., Shamsi, A., Khan, P., Shahbaaz, M., AlAjmi, M. F., Hussain, A., Hassan, G. M., Islam, A., Rizwanul Haque, Q. M., & Hassan, Md. I.

- (2020). Ellagic Acid Controls Cell Proliferation and Induces Apoptosis in Breast Cancer Cells via Inhibition of Cyclin-Dependent Kinase 6. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 3526. <https://doi.org/10.3390/ijms21103526>
- Zeb, A. (2018). Ellagic acid in suppressing in vivo and in vitro oxidative stresses. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 448(1-2), 27-41. <https://doi.org/10.1007/s11010-018-3310-3>
- Zhao, J., Li, G., Ren, Y., Zhang, Z., Chen, H., Zhang, H., Zhao, X., Li, W., Jia, Y., Guan, X., & Liu, M. (2023). Ellagic acid inhibits human colon cancer HCT-116 cells by regulating long noncoding RNAs. *Anti-Cancer Drugs*. <https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000001513>
- Zhao, M., Tang, S.-N., Marsh, J. L., Shankar, S., & Srivastava, R. K. (2013). Ellagic acid inhibits human pancreatic cancer growth in Balb c nude mice. *Cancer Letters*, 337(2), 210-217. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.05.009>

BÖLÜM 13

KANSER TEDAVİSİNDE KİŞİSELLEŞTİRİLMİŞ YAKLAŞIMLAR VE MOLEKÜLER MODELLEME: HEDEFE YÖNELİK İLAÇ GELİŞTİRMENİN YENİ UFUKLARI

Prof. Dr. Yusuf SERT¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14580051>

¹Yozgat Bozok Üniversitesi, Sorgun Meslek Yüksekokulu, Otomotiv Teknolojileri Programı, Yozgat, E-mail: yusuf.sert@bozok.edu.tr, Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-8836-8667>

1. Giriş

Kanser, hücrelerin kontrolsüz biçimde çoğalmasıyla ortaya çıkan ve genetik ile çevresel faktörlerin karmaşık etkileşimleri sonucu ilerleyen çok boyutlu bir hastalıktır (Yokuş ve Çakır, 2012; Baykara, 2016; Brown ve ark., 2023;). Geleneksel tedavi yaklaşımlarının sınırlamaları, modern tıpta kanser hücrelerine özgü biyomolekülleri hedef alan yenilikçi stratejilerin gelişimini hızlandırmıştır (Baykara, 2016). Bu yeni yöntemler, tedavi süreçlerinin hem etkinliğini artırmak hem de yan etkileri minimize etmek amacıyla giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Kanserle mücadelede moleküler modelleme teknikleri, özellikle hedefe yönelik ve seçici ilaç geliştirme süreçlerinde merkezi bir rol oynamaktadır (Friedman ve ark., 2013; Aydın, 2020; Özüpek, 2023; Şahin, 2023). Bu teknikler, kanserle ilişkili proteinlerin, enzimlerin ve diğer biyomoleküllerin üç boyutlu yapısının ayrıntılı analizi yoluyla spesifik tedavi hedeflerinin belirlenmesini sağlar. Bu sayede, belirli kanser türlerine veya mutasyonlara özgü biyobelirteçleri hedefleyen, etkinliği yüksek ve yan etkileri düşük ilaç adayları erken aşamada tasarlanabilir. Sülfonamid grubu bileşikler, bu bağlamda, kanser tedavisinde dikkat çeken moleküller arasında yer almaktadır (Elsayad ve ark., 2024; Ghorab ve ark., 2017; Wan ve ark., 2021; Wani ve ark., 2023). Tarihsel olarak, epilepsi, glokom ve hipertansiyon gibi nörolojik ve oftalmolojik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan sülfonamidler, insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileriyle tanınmaktadır (Culletta ve ark., 2023; Wani ve ark., 2023). Bununla birlikte, son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar, sülfonamid gruplarının güçlü antikanser özelliklere sahip olabileceğini ortaya koymuştur. Örneğin, N-Etil-P-tolüensülfonamid molekülü, sülfonamidlerin kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını önleme potansiyeline sahip bir örnektir. Bu molekül, kanser hücrelerine özgü biyomoleküler hedeflerle yüksek bağlanma yeteneği sergileyerek, tedavide seçiciliği ve etkinliği artırma potansiyeli taşımaktadır. Bu çalışmada, moleküler modelleme yöntemlerinin kanser tedavisindeki kritik rolü ve hedefe yönelik ilaç geliştirme süreçlerine katkıları ele alınmaktadır. Sülfonamid grubu bileşiklerin bu süreçlerdeki yeri ve sunduğu yenilikçi çözümler detaylı

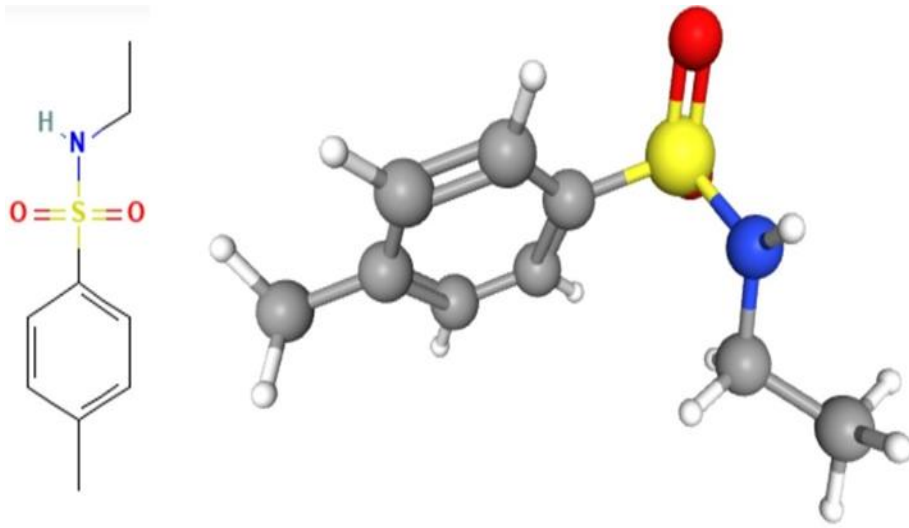
bir şekilde incelenmiştir. Ayrıca, N-Etil-P-tolüensülfonamit gibi moleküllerin yapı-aktivite ilişkileri moleküler düzeyde analiz edilerek, bu bileşiklerin kanser hücreleri üzerindeki seçici etkilerini optimize eden mekanizmalar tartışılmıştır. Sonuç olarak, moleküler modelleme tekniklerinin, kanser tedavisinde yenilikçi ve etkili ilaç tasarımı desteklemede sağladığı katkılar ortaya konulmuş ve tedavi seçeneklerinin çeşitlendirilmesine yönelik bilimsel temeller güçlendirilmiştir. Bu noktada ilaç adayı olabilecek potansiyele sahip molekül ile ilgili yapılan çalışmaları adım adım şu şekilde irdeleyebiliriz.

2. İlaç Adayının Belirlenmesi

Kanser tedavisinde hedefe yönelik ilaç geliştirme süreçleri, etkili bir tedavi stratejisi oluşturmanın ilk ve en önemli adımı olarak kabul edilmektedir (Kumar ve ark., 2015). Bu süreçte ilaç adaylarının belirlenmesi, biyolojik hedeflerin tanımlanması ve bu hedeflere özgü biyobelirteçlere bağlanma kapasitesine sahip moleküllerin seçimi ile başlar (A. Baudino, 2015). Bu çalışma kapsamında, ilaç adayı olarak sülfonamit grubu bir bileşik olan N-Etil-P-tolüensülfonamit seçilmiştir (Satheeshkumar ve ark., 2020). Sülfonamitlerin biyolojik aktiviteleri ve terapötik potansiyelleri üzerine yapılan kapsamlı literatür taramaları, bu gruptaki moleküllerin antikanser etkilerini incelemek açısından umut verici bir zemin oluşturmuştur. Sülfonamitler, tarihsel olarak, bakteriyel enfeksiyonlar, epilepsi, glokom ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmıştır (Pope, 2007; Supuran, 2008). Bu bileşiklerin kimyasal yapısı, sülfür ve amin gruplarını içeren benzersiz bir özellik taşır ve bu özellikler, biyomoleküllerle güçlü bağlanma etkileşimleri kurmalarını sağlar (Elsayad ve ark., 2024; Ghorab ve ark., 2017; Wan ve ark., 2021; Wani ve ark., 2023). Son yıllarda yapılan araştırmalar, sülfonamitlerin kanserle ilişkili biyolojik süreçleri modüle etme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Özellikle, sülfonamit grubu bileşiklerin karbonik anhidraz enzimleri gibi kanser hücrelerinde yüksek oranda ekspresyon gösteren hedef proteinlerle seçici bir şekilde etkileşime girdiği belirlenmiştir. Bu enzimler, kanser hücrelerinin

mikrosisteminde asidik bir ortam yaratarak hücrel çöğalma ve metastaz süreçlerini destekler (Elsayad ve ark., 2024; Ghorab ve ark., 2017; Wan ve ark., 2021; Wani ve ark., 2023). Sülfonamidler, bu enzimlerin inhibitörleri olarak hareket ederek, kanser hücrelerinin büyümesini ve metastazını sınırlama potansiyeline sahiptir. N-Etil-P-toluensülfonamid (NETSA), sülfonamid grubunun önemli bir üyesi olarak, hem farmakolojik hem de kimyasal özellikleri açısından dikkat çekmektedir (Pope, 2007). Literatürde, NETSA'nın kimyasal yapısındaki sülfonamid grubunun kanser hücrelerine özgü proteinlere yüksek bağlanma afinitesi gösterdiği ve bu bağlanmanın seçici bir şekilde kanser hücrelerinin büyümesini engellediği belirtilmiştir (Culletta ve ark., 2023). NETSA'nın benzilik yapı taşı, molekülün hidrofobik bölgelerde etkili bir şekilde bağlanmasına olanak tanırken, sülfon grubu molekülün hidrojen bağları oluşturarak biyomoleküllerle güçlü etkileşimler geliştirmesini sağlar. Bu özellikleri, NETSA'yı kanser tedavisinde umut vadeden bir ilaç adayı haline getirmektedir (Elsayad ve ark., 2024; Ghorab ve ark., 2017; Saghdani ve ark., 2024; Wan ve ark., 2021; Wani ve ark., 2023). Ayrıca, literatür çalışmaları NETSA'nın sadece antikanser özelliklerle sınırlı kalmadığını, aynı zamanda oksidatif stresle ilişkili süreçleri de modüle edebileceğini göstermektedir (Saghdani ve ark., 2024). NETSA'nın, reaktif oksijen türlerinin (ROS) dengesiz üretimini düzenleyerek, kanser hücrelerinde hücrel hasar mekanizmalarını tetiklediği öne sürülmektedir. Özellikle, kanser hücrelerinin mikrosisteminde yer alan hipoksi kaynaklı süreçlerin NETSA tarafından inhibe edildiği ve bu durumun hücrel ölüm mekanizmalarını tetikleyerek tedaviye katkı sağladığı bildirilmiştir (Başaran, Çakmak, Türkmenoğlu, Akkoc, & Köprü). NETSA'nın farmakokinetik özellikleri de bu molekülü öne çıkaran önemli faktörlerden biridir. Molekül, yüksek biyoyararlanım ve düşük toksisite profiline sahip olmasıyla, terapötik kullanım için avantajlı bir profile sahiptir. Literatür, NETSA'nın sağlıklı hücreler üzerinde minimal yan etkilere neden olduğunu ve bu özelliğin kanser tedavisinde özellikle istenen bir kriter olduğunu vurgulamaktadır. NETSA'nın metabolik stabilitesi ve kanser hücrelerine özgü hedeflerle seçici bağlanması, bu molekülün ileri prelinik ve klinik çalışmalara aday

gösterilmesini desteklemektedir. Sonuç olarak, N-etil-P-tolüensülfonamit hem kimyasal yapısının esnekliği hem de biyolojik hedeflerle güçlü etkileşimleri sayesinde kanser tedavisinde umut verici bir ilaç adayı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışma, NETSA'nın antikanser potansiyelini daha derinlemesine anlamak ve moleküler modelleme yöntemleriyle yapı-aktivite ilişkilerini inceleyerek, bu molekülün terapötik etkilerini optimize etmeye odaklanmaktadır. Böylelikle NETSA, hedefe yönelik tedavi stratejileri içinde önemli bir yer edinme potansiyeline sahiptir. N-Etil-P-tolüensülfonamit (NETSA) molekülü, literatür temelli analizler sonucunda kanser tedavisinde potansiyel bir ilaç adayı olarak belirlenmiştir. Ancak, bu molekülün biyolojik aktivitesini detaylı bir şekilde inceleyebilmek ve terapötik etkilerini optimize edebilmek için laboratuvar ortamında sentezlenmesi kritik bir adımdır. Sentez işlemi, yalnızca molekülün hedeflenen yapıya uygun şekilde üretilmesini sağlamakla kalmaz; aynı zamanda molekülün saflığını, kimyasal stabilitesini ve biyolojik etkinliğini etkileyen faktörlerin anlaşılmasına da olanak tanır. Bir ilaç adayının etkinliğini ve güvenliğini test etmek için yüksek saflıkta ve tekrarlanabilir bir şekilde sentezlenmesi şarttır. Sentez aşaması, ayrıca, molekülün farklı türevlerinin oluşturulması için temel bir zemin hazırlayarak, yapı-aktivite ilişkilerinin daha kapsamlı bir şekilde incelenmesini sağlar. NETSA gibi bir bileşiğin sentezi, moleküler düzeyde tasarımın biyolojik hedeflerle uyumunu doğrulamak ve bu hedeflerle olan bağlanma mekanizmalarını daha ayrıntılı incelemek için bir gerekliliktir. Bunun ötesinde, sentez sürecinde kullanılan kimyasal yolların optimize edilmesi, hem üretim maliyetlerini düşürmek hem de çevre dostu yöntemler geliştirmek açısından büyük önem taşır. Dolayısıyla, NETSA'nın sentezi, yalnızca teorik olarak belirlenen biyolojik potansiyelini deneysel olarak doğrulamak için değil, aynı zamanda bu molekülün gelecekteki klinik uygulamalara uygun bir şekilde geliştirilmesini sağlamak için temel bir adımdır. Başarılı bir sentez, NETSA'nın kanser tedavisinde kullanılacak güvenilir ve etkili bir terapötik ajan olarak yer alabilmesinin kapılarını aralayacaktır. Moleküle ait başlangıçtaki iki ve üç boyutlu yapıyı şu şekilde verebiliriz:



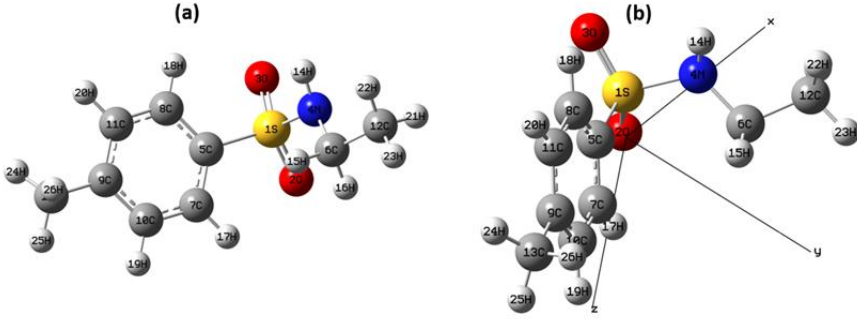
Şekil 1. N-etil-P-tolüensülfonamid molekülünün optimize edilmemiş iki ve üç boyutlu biçimleri (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N-Ethyl-P-toluenesulfonamide>).

3. İlaç Adayının Optimizasyonu

İlaç geliştirme süreçlerinde moleküler modelleme ve kuantum kimyası, aday moleküllerin biyolojik hedeflerle etkileşim potansiyelini anlamak, kimyasal özelliklerini optimize etmek ve reaktivite parametrelerini belirlemek için vazgeçilmez araçlardır. Bu çalışma kapsamında, N-Ethyl-P-toluenesulfonamide (NETSA) molekülünün geometrik ve elektronik yapıları, Gaussian 09W yazılım paketi (Frisch ve ark., 2009) ve Gauss View 5.0 (Dennington, Keith, & Millam, 2009) arayüz programı yardımıyla optimize edilecektir. Bu optimizasyon sürecinde, Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) metodolojisi kullanılarak B3LYP fonksiyoneli ve 6-311++G(d,p) baz seti tercih edilmiştir (Becke, 1992). Bu yaklaşım, molekülün en kararlı yapılarını yüksek doğrulukla modellemek ve fizikokimyasal özelliklerini detaylı bir şekilde analiz etmek için uygun bir yöntem sunar. DFT (Avcı ve ark., 2015; Becke, 1992; Kohanoff & Gidopoulos, 2003), kuantum kimyası alanında moleküler sistemlerin elektronik yapılarını anlamak için kullanılan en güçlü ve en yaygın yöntemlerden biridir (Bursch ve

ark., 2022). Geleneksel dalga fonksiyonu temelli yöntemlere kıyasla DFT, daha düşük hesaplama maliyetleri ile benzer veya daha yüksek doğrulukta sonuçlar sunar. DFT'nin temel ilkesi, bir molekülün veya sistemin tüm özelliklerinin, sistemdeki elektronların yoğunluğu üzerinden belirlenebileceği varsayımına dayanır (Bursch ve ark., 2022). Bu teori, Schrödinger denklemini çözmek yerine, elektron yoğunluğunu doğrudan optimize ederek hesaplama sürecini büyük ölçüde hızlandırır. Özellikle ilaç geliştirme gibi karmaşık moleküler sistemlerde, DFT, teorik tahminlerin doğruluğunu artırırken işlem maliyetlerini düşürme avantajı sağlar (Geerlings ve ark., 2003). B3LYP fonksiyoneli, DFT metodolojisi içinde yaygın olarak kullanılan hibrit bir fonksiyoneldir ve hem deneysel hem de teorik çalışmalarda yüksek doğruluk sağlaması nedeniyle tercih edilmektedir. Bu fonksiyonel, elektronik korelasyon ve değişim enerjilerini hesaba katarak moleküler sistemlerin enerji yüzeylerini doğru bir şekilde modellemeye olanak tanır. 6-311++G(d,p) baz seti ise, sistemdeki elektronların atomik yörüngelerini daha hassas bir şekilde temsil etmek için kullanılan genişletilmiş bir temel set olup, özellikle molekülün polarizabilitesini ve elektronik özelliklerini yüksek doğrulukla hesaplamak için idealdir (Siiskonen & Priimagi, 2017). DFT ile yapılan optimizasyon işlemi, bir molekülün minimum enerji konfigürasyonunu belirlemek için kritik bir adımdır. Bu konfigürasyon, molekülün biyolojik ortamlarda en kararlı formunu temsil eder ve bu form üzerinden bağlanma mekanizmaları detaylı bir şekilde analiz edilebilir. NETSA molekülü için yapılan bu optimizasyon çalışması, molekülün HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) ve LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) enerji seviyelerinin hesaplanmasına da olanak sağlayacaktır. HOMO ve LUMO enerji seviyeleri, molekülün reaktivitesini ve biyolojik hedeflerle etkileşim kapasitesini belirleyen önemli parametrelerdir. HOMO-LUMO enerji farkı, molekülün kararlılığı ve kimyasal reaktivitesi hakkında bilgi verirken, bu parametrelerin hesaplanması molekülün biyolojik aktivitesine dair öngörülerde bulunmayı mümkün kılar. DFT'nin bir diğer önemli avantajı, moleküler sistemlerin elektronik özelliklerini sadece enerji seviyeleriyle değil, aynı zamanda dipol moment, polarizabilite ve elektrostatik potansiyel dağılımları gibi parametrelerle

de detaylı bir şekilde analiz edebilmesidir (Bartolotti & Flurchick, 1996). NETSA'nın bu tür parametrelerinin hesaplanması, molekülün kanser hücrelerindeki spesifik hedeflerle nasıl etkileşim kuracağını anlamak için kritik bir öneme sahiptir. Örneğin, NETSA'nın dipol momentini, molekülün su gibi biyolojik ortamlarla uyumluluğunu ve çözünürlüğünü etkilerken, polarizabilite hesaplamaları molekülün biyolojik hedeflerle esnek bağlanma mekanizmalarını anlamaya yardımcı olabilir. Ayrıca, DFT tabanlı optimizasyon, yalnızca mevcut molekülün yapısal ve elektronik özelliklerini analiz etmekle kalmaz, aynı zamanda gelecekte tasarlanacak türev moleküllerin özelliklerini tahmin etmek için teorik bir temel oluşturur. NETSA'nın DFT ile optimize edilmesi, molekülün terapötik potansiyelini daha iyi anlamamızı sağlayacak ve bu potansiyeli en üst düzeye çıkarmak için gerekli yapısal modifikasyonları öngörmemize yardımcı olacaktır. Sonuç olarak, DFT tabanlı optimizasyon süreci, NETSA'nın biyolojik hedeflerle etkileşim kapasitesini ve kimyasal reaktivitesini daha iyi anlamak için kritik bir adım teşkil etmektedir. Bu yöntem, ilaç adaylarının teorik doğruluğunu artırarak, deneysel çalışmalardan önce önemli bilgiler sunar ve ilaç geliştirme sürecinde zaman ve maliyet açısından büyük avantajlar sağlar. NETSA'nın optimize edilmiş yapısı üzerinden yapılacak analizler, molekülün kanser tedavisinde potansiyel bir terapötik ajan olarak nasıl kullanılabileceğine dair değerli bilimsel veriler sunacaktır. Buna göre NETSA molekülü için elde edilen optimizasyon (a) ve simetri biçimleri (b) Şekil 2'de atom etiketleriyle birlikte verilmiş olup enerjisi, dipol momentini ve simetrisi atomik birim cinsinden -954.29915609 a.u, 6.4544 Debye ve C1 olarak hesaplanmıştır. Teoriksel hesaplama molekülü gaz fazında varsayarak elde edilmiştir. Optimizasyon sonucunda RMS gradyent normu ise 0.000000139 a.u olarak hesaplanmıştır.



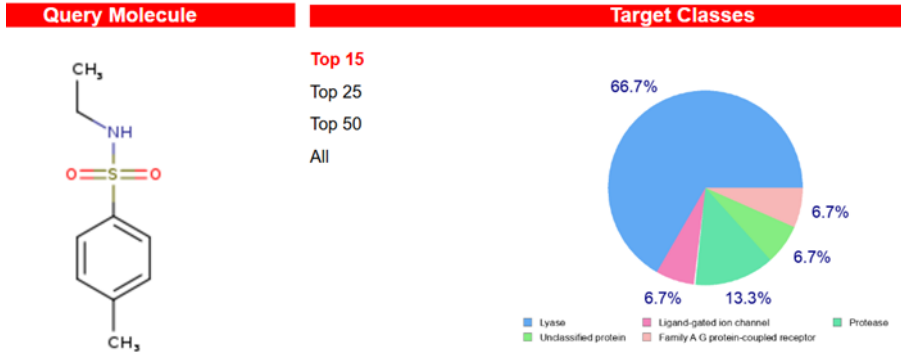
Şekil 2. N-etil-P-tolüensülfonamid molekülünün optimize edilmiş (a) ve simetri (b) halinin gösterimi.

4. Hedefe Yönelik Çalışmalar

Moleküler biyolojide ve ilaç geliştirme süreçlerinde, hedef belirleme çalışmaları, bir molekülün biyolojik aktivitelerini anlamak ve potansiyel terapötik etkilerini optimize etmek için temel bir adım olarak kabul edilir. Bu çalışma kapsamında, N-Etil-P-tolüensülfonamid (NETSA) molekülünün kuantum kimyasal optimizasyonu sonucunda elde edilen SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) kodu, SwissTargetPrediction (Daina ve ark., 2019) veri tabanı kullanılarak analiz edilmiştir. SMILES kodu, molekülün kimyasal yapısını bir metin formatında ifade eden bir standart olup, yapısal bilgiye dayalı hedef tahmini için geniş çapta kullanılmaktadır. SwissTargetPrediction platformu (Daina ve ark., 2019), SMILES formatında girilen moleküller için muhtemel biyolojik hedefleri ve bu hedeflerle ilişkilendirilen farmakolojik etkileri tahmin eden güçlü bir araçtır. SwissTargetPrediction, farmakoinformatik alanında gelişmiş bir veri tabanı olup, molekül yapılarının biyolojik hedeflerle etkileşim potansiyelini tahmin etmek için kimyasal ve biyolojik bilgiye dayalı hesaplamalı bir yaklaşım kullanır. Bu platform, molekülün kimyasal yapısını analiz ederek, yapısal benzerlik temelli algoritmalar yardımıyla daha önce deneysel olarak test edilmiş ve doğrulanmış biyolojik hedefleri tahmin eder. Platform, özellikle molekülün biyolojik aktivitesini etkileyebilecek proteinler, enzimler ve reseptörler gibi potansiyel hedefleri belirlemek için son derece yararlı bir araçtır.

SwissTargetPrediction, geniş bir veri kümesine dayandığı için tahmin edilen hedeflerin güvenilirliği yüksektir ve molekülün biyolojik sistemlerdeki etkilerini öngörmeye etkili bir şekilde kullanılabilir. SwissTargetPrediction'ın temel prensibi, bir molekülün kimyasal yapısının biyolojik hedeflerle olan etkileşimlerini tahmin etmek için yapısal benzerlikleri değerlendirmektir. Yapısal benzerlik, belirli bir molekülün, bilinen biyolojik hedeflerle etkileşim gösteren diğer moleküllerle ortak kimyasal motiflere sahip olup olmadığını anlamaya yönelik bir yöntemdir. NETSA gibi bir molekül için bu yaklaşım, potansiyel hedeflerin molekülle bağlanma bölgelerini, bağlanma afinitesini ve olası farmakolojik etkilerini anlamak için önemli bir başlangıç noktası sağlar. Bu sayede, SwissTargetPrediction kullanılarak NETSA'nın kanserle ilişkili proteinler, karbonik anhidraz enzimleri veya diğer biyolojik hedeflerle etkileşim potansiyeli belirlenmiştir. Bu veri tabanı, yalnızca hedef tahminiyle sınırlı kalmaz; aynı zamanda tahmin edilen hedeflerin biyolojik ve farmakolojik rolleri hakkında bilgi sağlar. Örneğin, NETSA'nın SwissTargetPrediction üzerinden elde edilen analizleri, bu molekülün kanser hücrelerinde aktif olan belirli proteinler ve enzimlerle bağlanma eğilimi gösterdiğini öne sürmüştür. Bu hedefler, molekülün biyolojik sistemlerdeki spesifik mekanizmalarını anlamak için temel veriler sunar. NETSA'nın bu proteinlerle etkileşimi, kanser hücrelerinin büyüme ve metastaz süreçlerini modüle etme potansiyelini destekleyen kanıtlar sağlamaktadır. SwissTargetPrediction'ın ilaç geliştirme süreçlerindeki bir diğer önemli rolü, molekülün yan etkilerini ve güvenlik profilini önceden değerlendirme kapasitesidir. Tahmin edilen hedefler arasında sadece kanserle ilişkili proteinler değil, aynı zamanda molekülün biyolojik sistemlerdeki genel etkilerini gösteren hedefler de yer almaktadır. Bu bilgi, NETSA'nın terapötik etkilerini optimize etmenin yanı sıra, olası yan etkileri en aza indirmek için kullanılabilir. Sonuç olarak, SwissTargetPrediction, NETSA'nın potansiyel biyolojik hedeflerini belirlemek ve bu hedeflerle ilişkili biyolojik mekanizmaları anlamak için güçlü bir araç olarak kullanılmıştır. Bu platformun sağladığı kapsamlı hedef tahminleri, NETSA'nın antikanser potansiyelini derinlemesine analiz etmek ve daha spesifik moleküler

modifikasyonlar yapmak için sağlam bir temel oluşturmuştur. Molekölün biyolojik aktivitelerini daha iyi anlamak ve klinik çalışmalara geçiş sürecinde etkinliğini artırmak için, SwissTargetPrediction'dan elde edilen bilgiler büyük bir önem taşımaktadır. Bu çalışma, NETSA'nın kanser tedavisindeki potansiyel rolünü daha ileriye taşımak için moleküler modelleme ve hedef belirleme çalışmalarının güçlü bir birleşimini sunmaktadır. SMILE koduna bağlı olarak üretilen muhtemel hedef sınıflarını gösterir çıktı Şekil 3'te verilmiştir. Şekil 4'te ise daha özeldir molekül için muhtemel hedefler gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlardan üzerinde çalıştığımız molekül için belki yüzlerce hedef önerilse de taşıdığı gruplara göre ihtimaliyetin yüksek olduğu hedef Karbonik Anhidraz II'ye ait bir protein yapısıdır. Karbonik anhidraz II (CA II), insanlarda en yaygın bulunan ve yüksek katalitik aktiviteye sahip bir enzimdir (Eriksson ve ark., 1988; Supuran, 2008; Whyte, 1993). Hücre içinde karbon dioksit ve suyu bikarbonat ve protonlara dönüştürerek asit-baz dengesinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar (Merz Jr, 1991). Özellikle böbrek, beyin, retina ve eritrositlerde yüksek seviyelerde bulunur. CA II, kansere özgü hipoksi ve asidik mikro ortamların oluşumunda rol oynayan temel enzimlerden biri olarak, antikanser ilaçların hedefi haline gelmiştir. Bu noktada daha önce üzerinde çalıştığımız ve literatürde çalışmalarımızda var olan hedef proteinimiz 5AML'dir. Karbonik anhidraz II (CA II) proteini olan 5AML, Protein Data Bank (PDB) tarafından kaydedilmiş (<https://www.rcsb.org/>) ve bu enzimin üç boyutlu kristal yapısını temsil eden bir modeldir. Bu yapıda, CA II'nin aktif bölgesinde yer alan çinko iyonunun katalitik aktivite için kritik olduğu ve substrat bağlanmasını kolaylaştırdığı görülmektedir. 5AML, özellikle enzim inhibitörleri ile olan etkileşimleri anlamak ve CA II'yi hedef alan terapötik moleküllerin tasarımında rehberlik etmek için kullanılan bir referans yapısıdır. Bu model, antikanser ilaç geliştirme süreçlerinde CA II'nin yapısal özelliklerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır.



Şekil 3. Molekülün hedefini oluşturabilecek sınıflar

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase XII	CA12	O43570	CHEMBL3242	Lyase	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase IX	CA9	Q16790	CHEMBL3594	Lyase	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase I	CA1	P00915	CHEMBL261	Lyase	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase VII	CA7	P43166	CHEMBL2326	Lyase	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase III	CA3	P07451	CHEMBL2885	Lyase	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase VB	CA5B	Q9Y2D0	CHEMBL3969	Lyase	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase XIV	CA14	Q9ULX7	CHEMBL3510	Lyase	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase XIII (by homology)	CA13	Q8N1Q1	CHEMBL3912	Lyase	<input type="checkbox"/>
Glutamate receptor ionotropic, AMPA 2	GRIA2	P42262	CHEMBL4016	Ligand-gated ion channel	<input type="checkbox"/>
Matrix metalloproteinase 12	MMP12	P39900	CHEMBL4393	Protease	<input type="checkbox"/>
Thioredoxin	TXN	P10599	CHEMBL2010624	Unclassified protein	<input type="checkbox"/>
Carbonic anhydrase VA	CA5A	P35218	CHEMBL4789	Lyase	<input type="checkbox"/>
Serotonin 2a (5-HT2a) receptor	HTR2A	P28223	CHEMBL224	Family A G protein-coupled receptor	<input type="checkbox"/>
ADAMTS4	ADAMTS4	O75173	CHEMBL2318	Protease	<input type="checkbox"/>

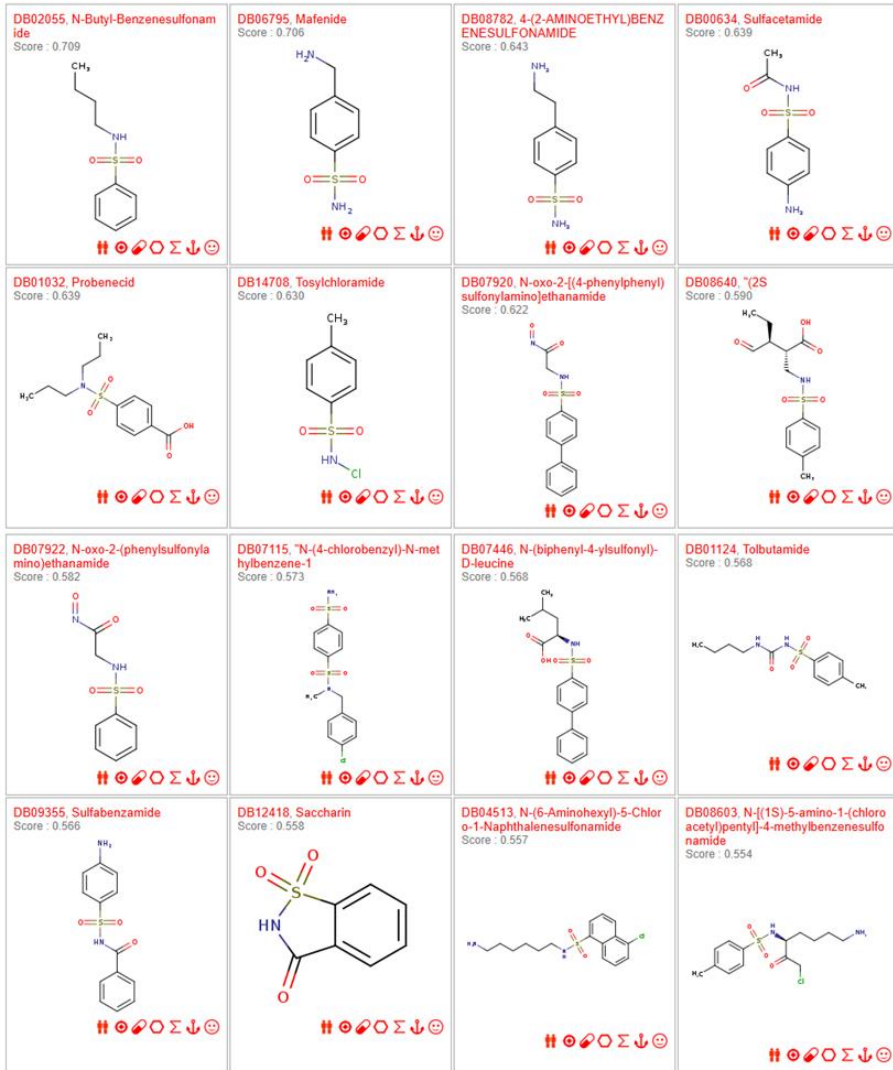
Şekil 4. Molekülün için ihtimalin yüksek olduğu spesifik hedef (<https://www.rcsb.org/>).

5. Benzerlik Taraması

Moleküler benzerlik analizleri, ilaç geliştirme sürecinde kullanılan en önemli yöntemlerden biri olup, mevcut ilaçlarla potansiyel ilaç adayları arasındaki yapısal ilişkileri ortaya koymak için kritik bir rol oynar. Bu çalışma kapsamında, optimize edilmiş N-Etil-P-tolüensülfonamid (NETSA) molekülünün SMILES kodu kullanılarak, SwissSimilarity platformu aracılığıyla (Bragina ve ark., 2022; Zoete ve

ark., 2016), hâlihazırda piyasada bulunan ve antikanser ajanı olarak kullanılan ilaçlarla kökensel benzerlik analizi gerçekleştirilmiştir. SwissSimilarity, kimyasal yapıların dijital temsillerine dayanarak farmakolojik benzerlikleri değerlendiren güçlü bir hesaplama aracıdır. Platform, benzerlik taramaları için farklı algoritmalar kullanır ve moleküllerin yapısal özellikleri ile biyolojik hedefleri arasındaki ilişkiyi anlamak için geniş bir veri tabanına erişim sağlar. SwissSimilarity, tanımlanmış moleküllerin biyolojik aktiviteye sahip diğer bileşiklerle karşılaştırılmasını kolaylaştırır ve araştırmacılara hedef molekülün terapötik potansiyeli hakkında değerli bilgiler sunar. Platform, moleküllerin yapısal benzerliklerine dayanarak biyolojik hedeflere bağlanma eğilimlerini tahmin eder (Bragina ve ark., 2022; Zoete ve ark., 2016). Bu özellik, özellikle yeni ilaç adaylarının mevcut ilaçlarla olan ilişkisinin değerlendirilmesi ve terapötik etkinliğinin öngörülmesi için etkili bir yöntem sunar. NETSA için gerçekleştirilen benzerlik analizi, bu molekülün antikanser ajanlarıyla olan yapısal ilişkilerini ortaya koymayı amaçlamaktadır. SwissSimilarity üzerinden yapılan taramalarda, NETSA'nın belirli antikanser ilaçlarla ortak kimyasal motiflere sahip olduğu ve bu ilaçlarla biyolojik hedefler açısından benzerlik gösterebileceği belirlenmiştir. Örneğin, karbonik anhidraz enzim inhibitörleri veya belirli reseptör antagonistleri ile benzerlikler, NETSA'nın biyolojik mekanizmaları üzerinde etkili olabileceğine dair önemli kanıtlar sunmuştur. Bu sonuçlar, NETSA'nın antikanser etkisini artıracak şekilde tasarlanabileceğini ve mevcut ilaçlarla sinerjik bir şekilde çalışabilecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. SwissSimilarity'nin sunduğu bir diğer avantaj, molekülün yan etki profillerinin değerlendirilmesi ve güvenlik analizlerinin yapılabilmesidir. Platform, moleküllerin sadece terapötik etkilerini değil, aynı zamanda toksikolojik özelliklerini de inceleyerek, ilaç geliştirme sürecinde daha güvenilir bir yol haritası sunar. NETSA'nın mevcut antikanser ilaçlarla benzerliği, bu molekülün biyolojik hedeflere bağlanma kapasitesinin artırılabilirliği ve tedavi etkinliğinin optimize edilebileceği anlamına gelmektedir. Sonuç olarak, SwissSimilarity ile yapılan benzerlik taraması, NETSA'nın mevcut antikanser ajanlarla ortak özelliklerini ortaya koyarak bu molekülün

terapötik potansiyelini daha geniş bir bağlamda anlamamıza olanak tanımıştır. Platformun sağladığı detaylı analizler, NETSA'nın kimyasal modifikasyonlar ve optimizasyon süreçleri için bir temel oluşturmuş, ayrıca mevcut tedavi seçenekleriyle entegrasyonunu desteklemiştir. Bu çalışma, benzerlik taramalarının yeni ilaç adaylarının biyolojik ve farmakolojik özelliklerini değerlendirmede ne kadar etkili bir araç olduğunu bir kez daha ortaya koymaktadır. Aşağıda Şekil 5'te SwissSimilarity platformu aracılığıyla taranmış çıktısı gösterilmiştir.



Şekil 5. Molekül için benzerlik çıktıları (Zoete ve ark., 2016).

Şekil 5'te, raflarda hali hazırda bu etken maddeleri içeren çeşitli moleküllerin kimyasal yapıları ve SwissSimilarity skorları yer almaktadır. Bu skorlar, her bir molekülün, referans bir bileşiğe ne kadar benzer olduğunu gösteren bir ölçüttür. Bu yöntem, özellikle ilaç keşfi veya malzeme bilimi gibi alanlarda, moleküllerin potansiyel etkileşimlerini veya benzerliklerini değerlendirmek için kullanılmaktadır.

6. Moleküler Kenetlenme

Moleküler kenetlenme (docking), ilaç tasarımında biyolojik hedeflerle potansiyel ilaç adaylarının etkileşimlerini modellemek ve analiz etmek için kullanılan güçlü bir hesaplama yöntemidir (Aysan ve Dede, 2020; Fan ve ark., 2019). Bu yöntem, bir molekülün (ligand) hedef biyomolekülün (genellikle bir protein) aktif bölgesine nasıl bağlandığını ve bu bağlanmanın enerjetik ve yapısal özelliklerini tahmin etmeyi amaçlar. Moleküler kenetlenme, hem bağlanma afinitesinin hem de bağlanma pozisyonlarının hesaplanmasını sağlayarak, ilaç geliştirme sürecinde zaman ve maliyet açısından büyük avantajlar sunar. Bu çalışma kapsamında, N-Etil-P-tolüensülfonamit (NETSA) molekülünün karbonik anhidraz II (CA II) gibi belirli biyolojik hedeflerle etkileşimi, Autodock Vina (Trott ve Olson, 2010) programı kullanılarak analiz edilecektir. Autodock Vina, moleküler kenetlenme çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir yazılım olup, ligandların proteinlerin aktif bölgesine bağlanma enerjisini hesaplamada oldukça başarılıdır. Kullanıcı dostu arayüzü, esnek bağlanma analizi ve optimize edilmiş hesaplama algoritmaları sayesinde hem hızlı hem de güvenilir sonuçlar sunar. Bu program, ligandın belirli bir hedef biyomolekül üzerindeki bağlanma pozisyonlarını tarar ve en düşük bağlanma enerjisine sahip olan pozisyonları sıralar. Düşük bağlanma enerjisi, molekülün hedefe güçlü bir şekilde bağlanabileceğini ve yüksek bir bağlanma afinitesine sahip olduğunu gösterir. Autodock Vina'nın hesaplama gücü, ligandın aktif bölgeye sığabileceği olası konformasyonları ve rotasyonları simüle

ederek en uygun bağlanma modunu tahmin etmesini sağlar. Moleküler kenetlenme çalışmaları, yalnızca bağlanma afinitesini tahmin etmekle kalmaz; aynı zamanda ligand-protein kompleksinin moleküler dinamiklerini de anlamaya yardımcı olur. Bu analizler, molekülün bağlanma bölgelerindeki hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri, hidrofobik etkiler ve iyonik bağlar gibi spesifik etkileşimleri detaylı bir şekilde inceleme olanağı sağlar. Özellikle NETSA gibi antikanser potansiyeli taşıyan bir molekülün karbonik anhidraz II gibi kanserle ilişkili biyolojik hedeflerle nasıl etkileşime girdiğini anlamak, bu molekülün terapötik etkinliğini artırmak ve hedefe yönelik modifikasyonlar yapmak için kritik öneme sahiptir. Autodock Vina'nın yanı sıra, benzer hesaplama araçları da moleküler kenetlenme çalışmalarında kullanılmaktadır. Örneğin, Schrödinger Maestro, MOE (Molecular Operating Environment) ve Glide gibi yazılımlar, farklı algoritmalar ve grafik tabanlı analiz seçenekleriyle geniş bir kullanıcı kitlesine hitap eder. Bu programlar, moleküler dinamik simülasyonlarını entegre ederek ligand-protein komplekslerinin daha detaylı ve gerçekçi bir şekilde analiz edilmesini sağlar. Moleküler kenetlenme yazılımları, ilaç adaylarının biyolojik hedeflerle bağlanma modunu tahmin etmenin yanı sıra, bu etkileşimlerin termodinamik özelliklerini ve bağlanma stabilitesini incelemek için de kullanılmaktadır. Moleküler kenetlenme çalışmalarının sağladığı bilgiler, ilaç geliştirme sürecinde yalnızca laboratuvar çalışmalarını desteklemekle kalmaz; aynı zamanda deneysel çalışmalar öncesinde etkili bir ön eleme mekanizması olarak da işlev görür. Bu yöntem, deneysel doğrulamayı gerektiren aday moleküllerin sayısını azaltarak zaman ve maliyet tasarrufu sağlar. NETSA molekülü üzerinde gerçekleştirilecek moleküler kenetlenme çalışmaları, bu molekülün belirli biyolojik hedeflerle bağlanma potansiyelini ve spesifik mekanizmalarını anlamak için güçlü bir teorik temel oluşturacaktır. Autodock Vina gibi araçların kullanımı, NETSA'nın terapötik etkinliğini optimize etmek ve antikanser ajan olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek için kritik öneme sahiptir. Bu adımda yapılan işlemleri şöyle açıklayabiliriz.

6. 1. Ligant Hazırlığı

Moleküler kenetlenme çalışmaları öncesinde, ligandın doğru şekilde hazırlanması, güvenilir sonuçlar elde etmek için kritik bir adımdır. Bu çalışma kapsamında, N-Ethyl-P-toluenesulfonamide (NETSA) molekülünün optimizasyonu sonrasında, yapının Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) formatında yeniden oluşturulması ve ardından PDBQT formatına dönüştürülmesi işlemleri gerçekleştirilmiştir. PDB formatı, molekülün üç boyutlu yapısının kenetlenme yazılımlarıyla uyumlu hale getirilmesini sağlarken, PDBQT formatı ligandın bağlanma analizleri için gerekli verilerin hazırlanmasını mümkün kılar. Ligantın torsiyon açıları, molekülün aktif bölgeye bağlanma sırasında alabileceği olası konformasyonların tanımlanması için belirlenmiştir. Bu açıların doğru şekilde tanımlanması, molekülün hedef biyolojik yapıyla optimal bir şekilde etkileşim kurmasını sağlamaktadır. Bu süreçte Discovery Studio 2017 R2 Client yazılımı kullanılmıştır (<https://www.3dsbiovia.com/>). Discovery Studio, moleküler modelleme ve yapısal düzenlemelerde güçlü bir araç olup, molekülün üç boyutlu geometri ve bağlanma özelliklerini optimize etmeyi sağlar. NETSA molekülünün PDB formatındaki yapısı bu yazılım kullanılarak oluşturulmuş ve ardından PDBQT formatına dönüştürülerek kenetlenme analizlerine hazır hale getirilmiştir. Bu işlemler, NETSA'nın biyolojik hedeflerle etkileşim potansiyelini analiz etmek için temel bir hazırlık aşaması sunmuştur.

6. 2. Proteinin Hazırlanması

Moleküler kenetlenme çalışmaları, doğru ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek için hedef proteinin dikkatli bir şekilde hazırlanmasını gerektirir. Bu çalışmada, hedef biyomolekül olarak karbonik anhidraz II (CA II) enzimine ait 5AML reseptörü seçilmiştir. 5AML, Protein Data Bank (RCSB PDB) (<https://www.rcsb.org/>) üzerinden temin edilen, CA II'nin üç boyutlu kristal yapısını temsil eden yüksek çözünürlüklü bir modeldir. Bu yapı, proteinin aktif bölgesi ve bağlanma bölgelerini detaylı bir şekilde incelemek için temel bir veri sağlar. Protein hazırlığı sürecinde, Discovery Studio 2017 R2 Client yazılımı

(<https://www.3dsbiovia.com/>) kullanılarak 5AML reseptör yapısı üzerinde düzenlemeler yapılmıştır. İlk olarak, proteinin kristal yapısında yer alan su molekülleri ve bağlanmamış kofaktörler sistemden temizlenmiştir. Bu adım, bağlanma bölgesinin ligandla doğrudan etkileşim kurmasını engelleyebilecek yapıların çıkarılmasını ve proteinin analiz için optimize edilmesini sağlar. Temizleme işlemi sonrasında, yapı yeniden düzenlenmiş ve kenetlenme analizlerine uygun şekilde PDB formatında kaydedilmiştir. Bu düzenlemeler, proteinin Autodock Vina yazılımında hesaplama için hazır hale getirilmesini sağlamıştır. Protein hazırlığı sırasında yapılan bu işlemler, bağlanma bölgesinin ligandla doğru şekilde etkileşim kurmasını garanti altına alarak kenetlenme analizlerinin biyolojik gerçekliğe daha uygun olmasını mümkün kılmıştır. Böylelikle, N-Ethyl-P-toluenesulfonamide (NETSA) molekülünün 5AML reseptörü ile etkileşimi detaylı bir şekilde analiz edilmeye hazır hale getirilmiştir. Bu süreç, proteinin ve ligandın biyolojik bağlamda daha gerçekçi bir şekilde modellenmesini sağlamış, kenetlenme analizlerinin doğruluğunu artıracak kritik bir adım oluşturmuştur. Moleküler kenetlenmeye anahtar kilit ya da puzzle'ın doğru parçalarını bulmak diye bakarsak bu olayı Şekil 6'daki gibi görselleştirebiliriz.



Şekil 6. Molekül ve reseptör etkileşiminin anahtar kilit ilişkisi.

6. 3. Moleküler Kenetlenme Sonuçlarının Değerlendirilmesi

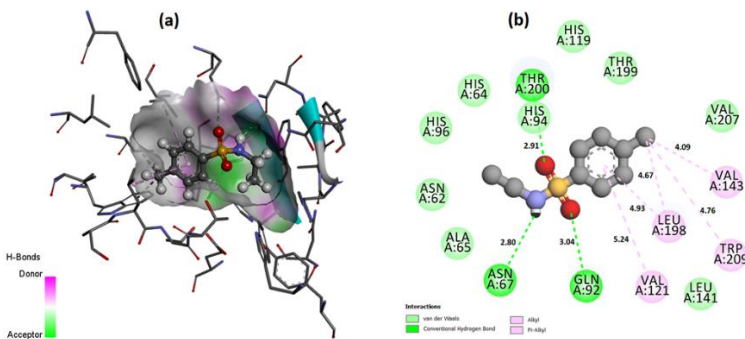
Moleküler kenetlenme sonuçlarının analizi, ligandın hedef proteine bağlanma kapasitesinin ve olası bağlanma modlarının anlaşılmasında kritik bir adımdır. Bu çalışmada, N-Ethyl-P-

toluenesulfonamide (NETSA) molekülünün karbonik anhidraz II (CA II) proteini (5AML) ile etkileşimi, Autodock Vina yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Analiz sırasında, ligandın protein aktif bölgesine bağlanma sırasında alabileceği 10 farklı konformasyon dikkate alınmıştır. Bu konformasyonlar, ligandın proteinle olan etkileşimlerini ve bağlanma pozisyonlarının çeşitliliğini incelemek amacıyla analiz edilmiştir. Ligandın bağlanma pozisyonlarının değerlendirilmesinde kök-ortalama-kare sapmaları (RMSD) temel alınmıştır. RMSD-l.b (ligand bağlanma bölgesi içindeki RMSD) ve RMSD-u.b (ligand bağlanma bölgesi dışındaki RMSD) değerleri, ligandın aktif bölgedeki bağlanma pozisyonlarının tutarlılığını ve bağlanma stabilitesini anlamak için kullanılmıştır. RMSD değerleri, farklı konformasyonların bağlanma pozisyonlarının ne kadar benzer olduğunu göstererek, en uygun bağlanma modlarının belirlenmesine yardımcı olmuştur. Bu değerlendirmelerin sonuçları Tablo 1’de özetlenmiştir. NETSA molekülünün karbonik anhidraz II ile bağlanma sırasında farklı konformasyonlar sergilediği ve bu konformasyonlardan bazılarının proteinin aktif bölgesiyle yüksek uyum gösterdiği gözlemlenmiştir. Analiz edilen 10 konformasyon arasından en iyi bağlanma moduna sahip olan yapı, ligandın proteine bağlanma eğiliminde belirgin bir rol oynayan pozisyonları ortaya koymuştur. Tabloya göre, en düşük bağlanma enerjisi -6.0 kcal/mol olarak gözlemlenmiştir ve bu değer üç farklı konformasyon (1, 2 ve 3) için elde edilmiştir. Ayrıca, rmsd.l.b. ve rmsd.u.b. değerleri, ligandın bağlanma pozisyonlarının protein aktif bölgesi içinde ve dışında ne kadar stabil olduğunu göstermektedir. Konformasyon 1’in sıfır RMSD değerleriyle en kararlı bağlanma pozisyonunu temsil ettiği söylenebilir. Bu veriler, NETSA’nın 5AML ile güçlü ve spesifik bir etkileşim kurma potansiyeline sahip olduğunu desteklemektedir. Şekil 7 de NETSA molekülü ile 5AML proteini arasındaki etkileşimin 3 boyutlu (a) ve 2 boyutlu (b) gösterimini temsil etmektedir. Şekilde yeşil kesikli çizgiler, NETSA ile aktif bölgedeki amino asitler arasında oluşan hidrojen bağlarını temsil eder (örneğin, ASNA:67, GLNA:92 gibi). Bu bağlar, molekülün aktif bölgeye güçlü bir şekilde yerleşmesine katkı sağlamaktadır. Pembe kesikli çizgiler, molekülün alifatik (alkil) veya aromatik (pi-alkil) etkileşimlerini

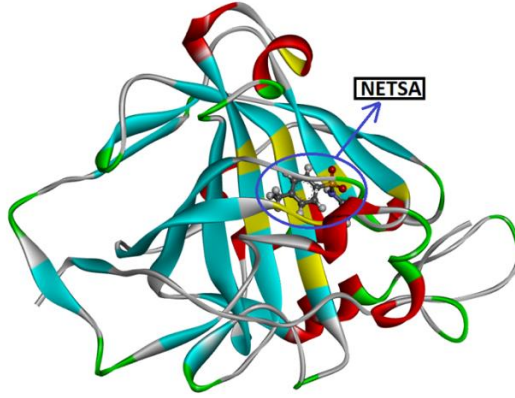
göstermektedir. Bu etkileşimler genellikle hidrojen bağları kadar güçlü olmasa da, molekülün bağlanma stabilitesine önemli katkılar sağlar. 3D görsel (a), protein yüzeyi ile molekül arasındaki bağlanma konumunu ve bağlanma bölgelerinin tamamlayıcılığını vurgularken, 2D görsel (b), spesifik etkileşimleri ve bu etkileşimlerin detaylarını açıkça göstermektedir. Şekil 8, NETSA'nın proteinin aktif bölgesine yerleşimi, protein-ligand bağlanma etkileşimlerinin güçlü bir şekilde gerçekleştiğini ifade eder. Bu bağlanma, protein içinde yer alan anahtar amino asitler ve NETSA molekülü arasındaki hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri ve hidrofobik etkilerle stabilize edilmiş olabilir. Şekil 8'de sarı ile işaretlenen bölgeler proteinin aktif bölgesini göstermektedir.

Tablo 1. NETSA+5AML etkileşimi için AutoDockVina skorları.

Konformasyon	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	rmsdl.b.	rmsdu.b.
1	-6.0	0.000	0.000
2	-6.0	1.381	1.649
3	-6.0	2.981	4.774
4	-5.8	14.300	15.807
5	-5.8	1.876	2.970
6	-5.7	13.425	14.661
7	-5.5	13.577	14.958
8	-5.3	3.138	4.931
9	-5.2	3.213	4.539
10	-5.2	3.327	4.395



Şekil 7. 3 boyutlu (a) ve 2 boyutlu (b) moleküler kenetlenme sonuçları.



Şekil 8. NETSA molekülünün 5AML proteini içine yerleşimi.

hCAII/PDB:5AML proteinine ait aktif rezidüleri THR200, THR199, LEU198, PHE131, VAL121, HIS119, HIS96, HIS94, GLN92, ASN67, and ASN62. Bu aktif bölge gözetilerek seçilen grip parametreleri de $32 \times 40 \times 32 \text{ \AA}^3$ x,y,z boyutları, 0.375 \AA uzay büyüklüğü ve $-5.915, 5.359, 16.391$ x,y,z merkezleri olarak alınmıştır (Koca, Yiğitcan, Gümüş, Gökce, ve Sert, 2020).

7. Gelecek Hedefleri

Bu çalışma, N-Etil-P-tolüensülfonamid (NETSA) molekülünün karbonik anhidraz II (CA II) proteini ile olan etkileşimlerini detaylı bir şekilde incelemiş ve molekülün antikanser potansiyelini ortaya koymayı hedeflemiştir. Ancak, bu sonuçların genişletilmesi ve klinik uygulamalara doğru ilerlemesi için bir dizi ileri çalışma planlanmıştır. Gelecekteki çalışmalar, NETSA'nın biyolojik aktivitelerinin ve mekanizmalarının daha kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesine, yeni türevlerin tasarımına ve bu türevlerin terapötik etkinliğinin artırılmasına odaklanacaktır. Moleküler modelleme, bu hedeflere ulaşmada kilit bir role sahiptir. Ligand-reseptör etkileşimlerinin yapısal ve dinamik özelliklerini detaylı bir şekilde analiz etme imkanı sunan bu yöntemler, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi ve optimize edilmesi için vazgeçilmez araçlar olarak öne çıkmaktadır. Özellikle NETSA'nın farklı biyolojik hedeflerle olan bağlanma eğilimlerini ve spesifik etkileşimlerini daha iyi anlamak için moleküler modelleme

tekniklerinden faydalanılacaktır. SwissTargetPrediction ve ileri düzey moleküler dinamik simülasyonları gibi araçlar, NETSA'nın biyolojik mekanizmalarının daha derinlemesine incelenmesini sağlayarak, bu molekülün terapötik etkilerini anlamada önemli bir rehber olacaktır. Ayrıca, NETSA'nın kimyasal yapısında yapılacak modifikasyonlarla, bağlanma afinitesini ve biyolojik etkinliğini artırabilecek türev moleküller tasarlanması hedeflenmektedir. Bu süreçte, moleküler modelleme, önerilen yapısal modifikasyonların etkisini öngörmeye ve bu modifikasyonları deneysel çalışmalar öncesinde optimize etmeye kritik bir araç olarak kullanılacaktır. Bu sayede, hem deneysel çalışmaların verimliliği artırılacak hem de süreç zaman ve maliyet açısından daha etkin hale gelecektir. Bu çalışmaların bir sonraki aşamasında, NETSA ve türevlerinin biyolojik aktivitesini değerlendirmek için *in vitro* ve *in vivo* deneyler gerçekleştirilecektir. Bu deneylerde elde edilen bulgular, moleküler modelleme sonuçlarıyla karşılaştırılarak, teorik ve deneysel veriler arasındaki uyum analiz edilecektir. Ayrıca, NETSA'nın farmakokinetik ve toksikolojik özelliklerinin detaylı bir şekilde incelenmesi planlanmaktadır. Son olarak, NETSA'nın diğer antikanser ajanlarla kombinasyon terapilerindeki etkinliği araştırılacaktır. Kombinasyon tedavilerinde, moleküler modelleme, farklı ilaçların biyolojik hedeflerle olan etkileşimlerini değerlendirmede ve sinerjik etkilerin tahmin edilmesinde önemli bir rol oynayacaktır. Bu çalışmalar, NETSA'nın biyolojik sistemlerdeki performansını artırma ve klinik olarak uygulanabilir bir antikanser ajan olarak geliştirme yolunda büyük bir katkı sağlayacaktır. Gelecekteki bu hedefler, moleküler modellemenin bilimsel araştırmalardaki yönlendirici gücünü bir kez daha vurgulamaktadır. NETSA'nın kanser tedavisindeki yerini güçlendirmek ve moleküler düzeyde elde edilen bulguları klinik uygulamalara taşımak için planlanan bu çalışmalar, hem yenilikçi yaklaşımların geliştirilmesine hem de kanser tedavisinde daha etkili çözümler bulunmasına olanak sağlayacaktır.

Teşekkür

Gaussian 09W hesaplamaları için katkılarından dolayı Süleyman Demirel Üniversitesi'nden Prof. Dr. Fatih UCUN'a özellikle teşekkür ederim.

KAYNAKÇA

- A. Baudino, T. (2015). Targeted cancer therapy: the next generation of cancer treatment. *Current drug discovery technologies*, 12(1), 3-20.
- Avcı, D., Bahçeli, S., Tamer, Ö., & Atalay, Y. (2015). Comparative study of DFT/B3LYP, B3PW91, and HSEH1PBE methods applied to molecular structures and spectroscopic and electronic properties of flufenpyr and amipizone. *Canadian Journal of Chemistry*, 93(10), 1147-1156.
- Aydın, G. (2020). *Sanal tarama ve çok boyutlu moleküler modelleme yöntemleri ile p53-MDM2 potansiyel inhibitörlerinin belirlenmesi*. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aysan, Ö., & Dede, B. (2020). Bazı oksim bileşiklerinin bağlanma özelliklerinin moleküler kenetlenme yöntemiyle incelenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(2), 333-339.
- Bartolotti, L. J., & Flurchick, K. (1996). An introduction to density functional theory. *Reviews in computational chemistry*, 187-216.
- Başaran, E., Çakmak, R., Türkmenoğlu, B., Akkoc, S., & Köprü, S. Synthesis of Sulfonamide-Based Schiff Bases as Potent Anticancer Agents: Spectral Analyses, Biological Activity, Molecular Docking, ADME, DFT, and Pharmacophore Modelling Studies. *Chemistry & biodiversity*, e202402229.
- Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balikesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3), 154-165.
- Becke, A. D. (1992). Density-functional thermochemistry. I. The effect of the exchange-only gradient correction. *The Journal of chemical physics*, 96(3), 2155-2160.
- Bragina, M. E., Daina, A., Perez, M. A., Michielin, O., & Zoete, V. (2022). The SwissSimilarity 2021 web tool: novel chemical libraries and additional methods for an enhanced ligand-based virtual screening experience. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 811.
- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the definition of cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142-1147.
- Bursch, M., Mewes, J. M., Hansen, A., & Grimme, S. (2022). Best-practice DFT protocols for basic molecular computational chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, 61(42), e202205735.
- Culletta, G., Tutone, M., Zappalà, M., & Almerico, A. M. (2023). Sulfonamide moiety as “molecular chimera” in the design of new drugs. *Current Medicinal Chemistry*, 30(2), 128-163.
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic acids research*, 47(W1), W357-W364.

- Dennington, R., Keith, T., & Millam, J. (2009). GaussView, version 5. *Semichem Inc.: Shawnee Mission, KS*.
- Elsayad, K. A., Elmasry, G. F., Mahmoud, S. T., & Awadallah, F. M. (2024). Sulfonamides as anticancer agents: A brief review on sulfonamide derivatives as inhibitors of various proteins overexpressed in cancer. *Bioorganic chemistry*, 107409.
- Eriksson, A. E., Jones, T. A., & Liljas, A. (1988). Refined structure of human carbonic anhydrase II at 2.0 Å resolution. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 4(4), 274-282.
- Fan, J., Fu, A., & Zhang, L. (2019). Progress in molecular docking. *Quantitative Biology*, 7, 83-89.
- Friedman, R., Boye, K., & Flatmark, K. (2013). Molecular modelling and simulations in cancer research. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1836(1), 1-14.
- Frisch, M. J., Trucks, G., Schlegel, H., Scuseria, G., Robb, M., Cheeseman, J., . . . Petersson, G. (2009). Gaussian 09, Revision D. 01, Gaussian. *Inc.: Wallingford, CT*.
- Geerlings, P., De Proft, F., & Langenaeker, W. (2003). Conceptual density functional theory. *Chemical reviews*, 103(5), 1793-1874.
- Ghorab, M. M., Alsaid, M. S., Samir, N., Abdel-Latif, G. A., Soliman, A. M., Ragab, F. A., & Abou El Ella, D. A. (2017). Aromatase inhibitors and apoptotic inducers: Design, synthesis, anticancer activity and molecular modeling studies of novel phenothiazine derivatives carrying sulfonamide moiety as hybrid molecules. *European journal of medicinal chemistry*, 134, 304-315.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N-Ethyl-P-toluenesulfonamide>.
<https://www.3dsbiovia.com/>.
<https://www.rcsb.org/>.
- Koca, İ., Yiğitcan, S., Gümüş, M., Gökce, H., & Sert, Y. (2020). A new series of sulfa drugs containing pyrazolyl acylthiourea moiety: Synthesis, experimental and theoretical spectral characterization and molecular docking studies. *Journal of molecular structure*, 1204, 127479.
- Kohanoff, J., & Gidopoulos, N. (2003). Density functional theory: basics, new trends and applications. *Handbook of molecular physics and quantum chemistry*, 2(Part 5), 532-568.
- Kumar, S., Ahmad, M. K., Waseem, M., & Pandey, A. K. (2015). Drug targets for cancer treatment: an overview. *Med chem*, 5(3), 115-123.
- Merz Jr, K. M. (1991). Carbon dioxide binding to human carbonic anhydrase II. *Journal of the American Chemical Society*, 113(2), 406-411.
- Özüpek, N. M. (2023). *Caulerpa Cylindracea Türünden Caulerpinin Kolorektal Kanser Hücreleri Üzerine Biyolojik Etkisi*. Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey).
- Pope, D. J. E. (2007). Patents for the potential treatment of scleroderma. *Expert opinion on therapeutic patents*, 17(1), 1-7.

- Saghdani, N., El Brahmı, N., El Abbouchi, A., Haloui, R., Elkhatabi, S., Guillaumet, G., & El Kazzouli, S. (2024). Design, Synthesis, and Evaluation of EA-Sulfonamides and Indazole-Sulfonamides as Promising Anticancer Agents: Molecular Docking, ADME Prediction, and Molecular Dynamics Simulations. *Chemistry*, 6(6), 1396-1414.
- Satheeshkumar, T., Khan, F. L. A., Asif, F. B., & Basha, P. S. (2020). HF AND DFT STUDIES ON N-ETHYL-P-TOLUENE SULFONAMIDE. *SCIENCE AND HUMANITIES*, 45.
- Siiskonen, A., & Priimagi, A. (2017). Benchmarking DFT methods with small basis sets for the calculation of halogen-bond strengths. *Journal of molecular modeling*, 23(2), 50.
- Supuran, C. T. (2008). Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. *Nature reviews Drug discovery*, 7(2), 168-181.
- Şahin, N. (2023). *Kanser terapide potansiyel ağl inhibitörler için ligand ve hedefe dayalı sanal tarama ve moleküler modelleme çalışmaları*. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- Wan, Y., Fang, G., Chen, H., Deng, X., & Tang, Z. (2021). Sulfonamide derivatives as potential anti-cancer agents and their SARs elucidation. *European journal of medicinal chemistry*, 226, 113837.
- Wani, T. A., Zargar, S., Alkahtani, H. M., Altwaijry, N., & Al-Rasheed, L. S. (2023). Anticancer potential of sulfonamide moieties via in-vitro and in-silico approaches: comparative investigations for future drug development. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 7953.
- Whyte, M. P. (1993). Carbonic anhydrase II deficiency. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 294, 52-63.
- Yokuş, B., & Çakır, D. Ü. (2012). Kanser biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*(1), 7-18.
- Zoete, V., Daina, A., Bovigny, C., & Michielin, O. (2016). SwissSimilarity: a web tool for low to ultra high throughput ligand-based virtual screening: ACS Publications.



ISBN: 978-625-378-132-3