



**EPİFİTİK LİKEN PLATISMATIA GLAUCA (L.) W. L. CULB. & C. F. CULB.
ASETON EKSTRAKTININ ALLELOPATİK VE GENOTOKSİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Nazlıhan AYDIN

Eskişehir 2022

**EPIFİTİK LİKEN PLATISMATIA GLAUCA (L.) W. L. CULB. & C.F. CULB.
ASETON EKSTRAKTININ ALLELOPATİK VE GENOTOKSİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Nazlıhan AYDIN

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Emel SÖZEN

Eskişehir

Eskişehir Teknik Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Haziran 2022

ÖZET

EPIFİTİK LİKEN PLATISMATIA GLAUCA (L.) W. L. CULB & C. F. CULB ASETON EKSTRAKTININ ALLELOPATİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Nazlıhan AYDIN

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2022

Danışman: Prof. Dr. Emel SÖZEN

Allelopati; bitki organlarından salgılanan bileşiklerin, etkileşime girerek bitki büyüme ve gelişimini etkilediği bir süreçtir. Son yıllarda allelopatik özelliğe sahip bileşiklerin keşfedilmesi ve biyoherbisit olarak kullanılma potansiyellerinin araştırılması önem kazanmıştır. Böylelikle yabancı otlar ile mücadelede etkili olan fakat sentetik herbisitler gibi çevreye zarar vermeyen ürünlerin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bu tez çalışmasında ülkemizde bulunan *Platismatia glauca* (L.) W. L. Culb & C.F. Culb (farbalı) likeninin aseton ekstraktının bazı bitki türlerinde tohum çimlenmesi üzerindeki etkilerinin ve olası genotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Allelopatik etkilerin belirlenmesi için likenden elde edilen aseton ekstraktı tarlalarda sıklıkla rastlanan yabancı otlardan *Portulaca oleracea* (semizotu), *Amaranthus retroflexus* (horozibiği), *Setaria verticillata* (yapışkan ot) ve kültür bitkilerinden *Oryza sativa* (çeltik) tohumlarına uygulanmıştır. Genotoksik etkilerin belirlenmesi için moleküler belirteç yöntemlerinden ISSR ve RAPD-PCR kullanılmıştır. Sonuç olarak, liken aseton ekstraktı uygulanan yabancı otlar ve kültür bitkisi tohum çimlenmesi üzerinde konsantrasyona bağlı olarak allelopatik ve genotoksik etkilerin ortaya çıktığı tespit edilmiş ve *Platismatia glauca* aseton ekstraktının biyoherbisit olarak kullanım potansiyelinin yabancı ot türüne göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Platismatia glauca*, Allelopati, Genotoksisite, Bitki Genotoksisitesi, Biyoherbisit.

ABSTRACT

DETERMINATION OF ALLELOPATHIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF EPIPHYTIC LICHEN PLATISMATIA GLAUCA (L.) W. L. CULB & C.F. CULB ACETONE EXTRACT

Nazlıhan AYDIN

Department of Biology

Programme in Botanic

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, June 2022

Supervisor: Prof. Dr. Emel SÖZEN

Allelopathy is a process where compounds secreted from plant organs interact and affect plant growth and development. In recent years, the discovery of compounds with allelopathic properties and the investigation of their potential to be used as bioherbicides have gained importance. Thus, it is aimed to develop products that are effective in weed control but do not harm the environment, such as synthetic herbicides. The aim of this study is to determine the allelopathic and possible genotoxic effects of acetone extract of *Platismatia glauca* (L.) lichen on some plant species. In order to determine the allelopathic effects, acetone extract of the lichen was applied to the seeds of the common weed species in the fields such as *Portulaca oleracea* (Purslane), *Amaranthus retroflexus* (Redroot Pigweed), *Setaria verticillata* (Bristly Foxtail.) and cultivated species *Oryza sativa* (Asian Rice). Molecular marker methods ISSR and RAPD-PCR were used to determine genotoxic effects. As a result, it was revealed that lichen acetone extract had allelopathic and genotoxic effects on weeds and cultivated plant seed germination depending on the concentration. It has been determined that the potential of *Platismatia glauca* acetone extract to be used as a bioherbicide varies according to the weed species.

Keywords: *Platismatia glauca*, Allelopathy, Genotoxicity, Plant Genotoxicity, Bioherbicides.

TEŞEKKÜR

Bilgilerini benimle paylaşan sevgili danışman hocam Prof. Dr. Emel Sözen'e, liken temini konusundaki katkılarından dolayı Prof. Dr. Mehmet Candan'a, tohum çimlendirme çalışmalarında bilgilerini paylaşan Dr. Öğr. Üyesi Gülçin Işık'a, liken asidi ekstraksiyonu konusundaki katkılarından dolayı Doç. Dr. İlker Avan'a teşekkür ederim.

Desteklerinden dolayı aileme ve bu süreçteki çabalarım için kendime teşekkür ederim.

Nazlıhan AYDIN

02/06/2022

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan "bilimsel intihal tespit programı"yla tarandığını ve hiçbir şekilde "intihal içermediğini" beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Nazlıhan AYDIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
GÖRSELLER DİZİNİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
1.2. Liken Birliği.....	3
1.2.1. Platismatia glauca (L.) W.L. Culb. & C. F. Culb.....	5
1.3. Liken Metabolitleri	6
1.3.1. Liken metabolitlerinin sentez yolları.....	6
1.4. Allelopati	7
1.5. Genotoksisite	9
1.5.1. Genotoksisite tespitinde kullanılan testler	10
1.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	12
1.5.2.1. PCR yöntemine dayalı moleküler belirteç sistemleri	12
1.5.2.2. Genotoksisitenin belirlenmesinde moleküler belirteçlerin kullanımı	14

1.6. Konu ile İlgili Yapılan Çalışmalar	15
1.6.2. Allelopati ile ilgili çalışmalar.....	15
1.6.3. Platismatia glauca ile ilgili çalışmalar	20
1.6.4. Genotoksisite çalışmaları	21
1.7. Çalışmanın Amacı.....	25
2. MATERYAL VE YÖNTEM	26
2.1. Materyal	26
2.2. Yöntem.....	26
2.2.1. Platismatia glauca liken ekstraktının hazırlanması.....	26
2.2.2. Tohum çimlendirme deneyleri.....	27
2.2.3. DNA izolasyonu.....	30
2.2.3.1. DNA miktar ve saflık tayini.....	32
2.2.4. PCR analizleri.....	32
2.2.4.1. ISSR PCR.....	32
2.2.4.2. RAPD PCR.....	34
2.2.4.3. Veri analizi	36
3. BULGULAR	38
3.1. Platismatia glauca Aseton Ekstraktının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkileri	38
3.1.1. Liken Ekstraktının Amaranthus retroflexus(Horozibiği) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi	38
3.1.2. Liken Ekstraktının Portulaca oleracea (Semizotu) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi	40
3.1.3. Liken Ekstraktının Setaria verticillata (Yapışkan Ot) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi	42

3.1.4. Liken Ekstraktının Oryza sativa (Çeltik) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi	44
3.2. DNA Miktar ve Saflık Tayini	46
3.3. ISSR ve RAPD PCR analizleri	47
3.3.1. Amaranthus retroflexus ISSR ve RAPD PCR analizleri.....	47
3.3.2. Portulaca oleracea ISSR ve RAPD PCR analizleri.....	59
3.3.3. Setaria verticillata ISSR ve RAPD PCR analizleri.....	71
3.3.4. Oryza sativa ISSR ve RAPD PCR analizleri	82
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	94
KAYNAKÇA.....	104
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. PCR Yöntemine Dayalı Sık Kullanılan Belirteçlerin Karşılaştırılması.....	13
Tablo 2.1. 2X CTAB Lizis Tampon Bileşenleri	30
Tablo 2.2. Amplifikasyonda Kullanılan ISSR Primerleri ile İlgili Ayrıntılı Bilgiler.....	32
Tablo 2.3. PCR Bileşenleri.....	33
Tablo 2.4. ISSR PCR Döngü Koşulları	34
Tablo 2.5. Amplifikasyonda Kullanılan RAPD Primerleri ile İlgili Ayrıntılı Bilgiler..	34
Tablo 2.6. PCR Bileşenleri	35
Tablo 2.7. RAPD PCR Döngü Koşulları	35
Tablo 3.1. P. glauca Aseton Ekstraktının Farklı Dozlarında Horozibiği Tohumlarının Çimlenme Sonuçları.....	39
Tablo 3.2. P. glauca Aseton Ekstraktının Farklı Dozlarında Semizotu Tohumlarının Çimlenme Sonuçları	41
Tablo 3.3. P. glauca Aseton Ekstraktının Farklı Dozlarında Yapışkan Ot Tohumlarının Çimlenme Sonuçları	43
Tablo 3.4. P. glauca Aseton Ekstraktının Farklı Dozlarında Çeltik Tohumlarının Çimlenme Sonuçları	45
Tablo 3.5. Horozibiği, Semizotu, Yapışkan Ot ve Çeltik Bitkilerinden İzole Edilen DNA'ların Miktar ve Saflık Ölçüm Sonuçları	46
Tablo 3.6. Horozibiği Bitkisinde PCR Analizlerinden Elde Edilen Polimorfik Bantların Değişimi ve GKS Değerleri Tablosu	59
Tablo 3.7. Semizotu Bitkisinde PCR Analizlerinden Elde Edilen Polimorfik Bantların Değişimi ve GKS Değerleri Tablosu	71

Tablo 3.8. Yapışkan Ot Bitkisinde PCR Analizlerinden Elde Edilen Polimorfik Bantların Değişimi ve GKS Değerleri Tablosu	82
--	----

Tablo 3.9. Çeltik Bitkisinde PCR Analizlerinden Elde Edilen Polimorfik Bantların Değişimi ve GKS Değerleri Tablosu	93
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. Horozibiği Çimlenme Yüzdesi Grafiği.....	38
Şekil 3.2. Horozibiği Lagtime Grafiği	39
Şekil 3.3. Semizotu Çimlenme Yüzdesi Grafiği	40
Şekil 3.4. Semizotu Lagtime Grafiği	41
Şekil 3.5. Yapışkan Ot Çimlenme Yüzdesi Grafiği	42
Şekil 3.6. Yapışkan Ot Lagtime Grafiği	43
Şekil 3.7. Çeltik Çimlenme Yüzdesi Grafiği	44
Şekil 3.8. Çeltik Lagtime Grafiği.....	45
Şekil 3.9. ISSR 812 ve ISSR 814 primerleri ile horozibiği DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	47
Şekil 3.10. Horozibiği bitkisinde 812 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	48
Şekil 3.11. Horozibiği bitkisinde 814 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	49
Şekil 3.12. ISSR 813 ve ISSR 810 primerleri ile horozibiği DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	50
Şekil 3.13. Horozibiği bitkisinde 813 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	51
Şekil 3.14. Horozibiği bitkisinde 810 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	52
Şekil 3.15. RAPD D11 ve RAPD PM10 primerleri ile horozibiği DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	53

Şekil 3.16. Horozibiği bitkisinde D11 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	54
Şekil 3.17. Horozibiği bitkisinde PM10 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	55
Şekil 3.18. RAPD OPA2 ve RAPD PM3 primerleri ile horozibiği DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	56
Şekil 3.19. Horozibiği bitkisinde OPA2 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	57
Şekil 3.20. Horozibiği bitkisinde PM3 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	58
Şekil 3.21. ISSR 810 ve ISSR 812 primerleri ile semizotu DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	60
Şekil 3.22. Semizotu bitkisinde 810 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	61
Şekil 3.23. Semizotu bitkisinde 812 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	61
Şekil 3.24. ISSR 813 ve ISSR 814 primerleri ile semizotu DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	62
Şekil 3.25. Semizotu bitkisinde 813 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi	63
Şekil 3.26. Semizotu bitkisinde 814 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	64
Şekil 3.27. RAPD D11 ve RAPD OPA2 primerleri ile semizotu DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	65
Şekil 3.28. Semizotu bitkisinde D11 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	66

Şekil 3.29. Semizotu bitkisinde OPA2 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	67
Şekil 3.30. RAPD PM3 ve RAPD PM10 primerleri ile semizotu DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	68
Şekil 3.31. Semizotu bitkisinde PM3 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	69
Şekil 3.32. Semizotu bitkisinde PM10 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	70
Şekil 3.33. ISSR 813 ve ISSR 810 primerleri ile yapışkan ot DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	72
Şekil 3.34. Yapışkan ot bitkisinde 813 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	73
Şekil 3.35. Yapışkan ot bitkisinde 810 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	74
Şekil 3.36. ISSR 814 ve ISSR 812 primerleri ile yapışkan ot DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	75
Şekil 3.37. Yapışkan ot bitkisinde 814 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	75
Şekil 3.38. Yapışkan ot bitkisinde 812 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	76
Şekil 3.39. RAPD OPA2 ve RAPD PM3 primerleri ile yapışkan ot DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	77
Şekil 3.40. Yapışkan ot bitkisinde OPA2 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	78
Şekil 3.41. Yapışkan ot bitkisinde PM3 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	78

Şekil 3.42. RAPD PM10 ve RAPD D11 primerleri ile yapışkan ot DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	79
Şekil 3.43. Yapışkan ot bitkisinde PM10 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	80
Şekil 3.44. Yapışkan ot bitkisinde D11 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	81
Şekil 3.45. ISSR 810 ve ISSR 813 primerleri ile çeltik DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	83
Şekil 3.46. Çeltik bitkisinde 810 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	84
Şekil 3.47. Çeltik bitkisinde 813 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	84
Şekil 3.48. ISSR 812 ve ISSR 814 primerleri ile çeltik DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	85
Şekil 3.49. Çeltik bitkisinde 812 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	86
Şekil 3.50. Çeltik bitkisinde 814 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	87
Şekil 3.51. RAPD OPA2 ve RAPD D11 primerleri ile çeltik DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	88
Şekil 3.52. Çeltik bitkisinde OPA2 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	88
Şekil 3.53. Çeltik bitkisinde D11 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....	89
Şekil 3.54. RAPD PM10 ve RAPD PM3 primerleri ile çeltik DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları.....	90

Şekil 3.55. Çeltik bitkisinde PM10 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....91

Şekil 3.56. Çeltik bitkisinde PM3 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi.....92



GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 1.1. Platismatia glauca likeninden genel bir görünüm ve sınıflandırılması.....	5
Görsel 2.1. Horozibiği çimlendirme çalışmalarından bir görünüm.....	28
Görsel 2.2. Semizotu Çimlendirme Çalışmalarından Bir Görünüm.....	28
Görsel 2.3. Yapışkan Ot Çimlendirme Çalışmalarından Bir Görünüm.....	29
Görsel 2.4. Çeltik Çimlendirme Çalışmalarından Bir Görünüm.....	29
Görsel 2.5. Fermentas Gene Ruler 100 bp DNA ladder Plus.....	36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Adenin
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi Tekniği
bç	: Baz Çifti
C	: Sitozin
CTAB	: Cetyl Trimethylammonium Bromide
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleozid Tri Fosfat Karışımı
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
G	: Guanin
ISSR	: Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm Tekniği
mbar	: Milibar
$MgCl_2$	: Magnezyum Klorür
NaCl	: Sodyum Klorür
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
PVP	: Polyvinyl Pyrodine
RAPD	: Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA Tekniği
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
SSR	: Basit Dizi Tekrarları Tekniği
T	: Timin
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre

1. GİRİŞ

Günümüz dünyasının önemli sorunlarından biri nüfus artışıdır. Dünya nüfusunun 2050 yılında 9 milyarı aşması beklenmektedir. Dünya üzerindeki ekilebilir tarım alanları sınırlı olduğundan artan nüfusun beslenme ihtiyacını karşılayabilmek için birim alandan elde edilen ürün miktarının artırılması ihtiyacı doğmuş ve bu durum daha fazla gübre, su ve herbisit kullanımına neden olmuştur. Günümüzde tarımın ekosisteme zarar vermeden, maksimum ürün elde edilebilecek şekilde alternatif yöntemlerle gerçekleştirilmesi sürdürülebilir tarımla mümkün olmaktadır (Çetiner, 2011). Sürdürülebilir tarım; insan ve doğal sistemleri koruyarak, çevreye zarar vermeden ürün eldesini mümkün kılan, çevre dostu tarım yöntemlerinden oluşur. Sürdürülebilir tarımın amacı çevreye verilen zararı azaltarak tarımda verimliliği korumak, tarımla uğraşanların yaşam kalitesini artırmak ve birim alandan yüksek miktar ve kalitede ürün elde edilmesini sağlamaktır (Turhan, 2005). Sürdürülebilir tarım modern ekipmanlar, sertifikalı tohumlar kullanarak toprağın korunması ve yabancı otların doğal yöntemlerle kontrol edilmesini sağlar (Reganold vd.,1990).

Yabancı otlar istenmeyen yerlerde yetişen, agresif bir şekilde büyüyen ve çoğalan, doğal yaşam alanı dışında istilacı olan bitkilerdir. Tarla bitkileriyle su, ışık ve besin elementleri için rekabete girerek ürün hasadını zorlaştırır ve verimi düşürürler (Gündüz vd., 2006). Yabancı otlarla mücadelede yoğunlukla kimyasal mücadele yöntemi olan herbisit adı verilen sentetik maddeler kullanılmaktadır. Sentetik herbisitler su ve toprağı kirleterek ekosistemi tehdit etmekte, çevre kirliliğine neden olmakta, yabancı otların direncini artırmakta ve gıda ürünlerindeki herbisit kalıntıları doğrudan insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Gliessman, 2002; Radhakrishnan vd., 2018). Zararlıları kontrol etmek için kimyasal herbisitlerin artan ve gelişigüzel kullanımı, yabancı otlarda direnç ve bağışıklığa neden olmaktadır (Aneja vd., 2017). Herbisite dayanıklı yabancı otların artması mahsul verimliliğini azaltmakta ve yabancı otları kontrol etmek için yeni çevre dostu yöntemlerin kullanılması gerekmektedir (Radhakrishnan vd., 2018). Kimyasal herbisitlerin doğa ve doğal kaynaklar üzerindeki olumsuz etkileri, bilim insanlarının yabancı ot kontrolünün güvenilir, sürdürülebilir ve çevre dostu alternatif bir yabancı otla mücadele yöntemi olan biyolojik kontrol uygulamalarına odaklanmasına neden olmuştur (Menaria, 2007). Yabancı otların biyolojik kontrolü, tarımsal veya doğal ekosistemlerdeki yabancı otların canlılığını, üreme kapasitesini, yoğunluğunu veya etkisini azaltmak için canlı organizmaların veya biyotik ajanların kasıtlı olarak

kullanılmasıdır. Bu biyotik ajanlar, herbisit uygulamalarına benzer, doğal bir şekilde uygulanan biyoherbisitlerdir. Sürdürülebilir tarımda biyoherbisitler, ekonomik açıdan önemli ve kontrolü zor olan yabancı otları etkili ve tutarlı bir şekilde baskılayacak şekilde ve özellikle herbisitlere dayanıklı olan yabancı otların yönetiminde sıklıkla kullanılmaktadır (Kremer, 2019). Hedef olmayan organizmalar, faydalı bitkiler veya insanlar üzerinde olumsuz etkisinin olmaması; yabancı otlarda direnç geliştirmemesi ve çevrede kalıntı olarak birikmemesi biyoherbisitlerin en büyük avantajlarından (Menaria, 2007).

Son yıllarda herbisit kullanımını mümkün olduğunca azaltan yabancı otlarla alternatif mücadele yöntemleri ön plana çıkmaktadır. Bu alternatif mücadele yöntemlerinden biri de allelopatidir (Uludağ, 2006). Allelopati; bitki organlarından salgılanan bileşiklerin, etkileşime girerek bitki büyüme ve gelişimini etkilediği bir süreçtir. Allelopati kimyasalların çevreye salınması yoluyla bir bitkinin, başka bir bitkinin büyüme ve gelişmesi üzerindeki doğrudan veya dolaylı, olumlu veya olumsuz etkisidir (Rice, 1984). Allelokimyasal olarak da adlandırılan maddeler kök, rizom, yaprak, tohum gibi bitki organları tarafından çevreye salınarak allelopatik etkilere neden olurlar. Yabancı otlarla mücadelede allelopati; allelopatik bitkilerden elde edilen ekstraktların kullanımıyla mümkün olmaktadır (Kalinova, 2010). Yapılan allelopatik çalışmaların çoğu, yabancı ot ekstraktlarının kültür bitkileri üzerine etkilerini konu olarak almıştır. Liken ekstraktlarının allelopatik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar çok daha azdır. Bu ekstraktların yabancı otlar ve kültür bitkilerinin çimlenmesi üzerindeki allelopatik etkilerinin araştırılmasının yanı sıra DNA düzeyindeki etkilerinin araştırılması da oldukça önemlidir.

Genotoksisite, kimyasal ve fiziksel ajanların hücredeki genetik materyale etkilerinin incelenmesidir (Gupta, 2016). Çeşitli bitki ve liken ekstraktlarının farklı bitkiler üzerindeki genotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar son yıllarda artmaktadır. Literatürde ISSR ve RAPD gibi moleküler belirteçler kullanılarak yapılan birçok bitki genotoksisitesi çalışmaları bulunmaktadır. Fakat çalışmaların çoğu ağır metal kirliliğinin neden olduğu genotoksisite üzerine yoğunlaşmıştır. Sonuç olarak likenlerin allelopatik etkilerinin araştırıldığı çalışmalara oldukça az rastlanmakta olup; literatürde *P. glauca* likeninin allelopatik özellikleriyle ilgili hiçbir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışması bu liken türü ile allelopati ve genotoksisite alanında yapılan ilk çalışma olacaktır.

Çalışmamızda *P. glauca* aseton ekstraktının *A. retroflexus*, *P. oleracea*, *S. verticillata* yabancı otlarının ve *O. sativa* kültür bitkisi üzerindeki allelopatik ve genotoksik etkileri araştırılmıştır.

1.2. Liken Birliği

Likenler, mantarlar (mikobiyontlar) ile yeşil alg veya siyanobakteriler (fotobiyontlar) arasındaki ortak yaşamdan meydana gelen simbiyotik birliklerdir. Mikobiyont, simbiyotik birlikteliğe hâkim olduğundan, likenler geleneksel olarak bir mantar yaşam formu olarak sınıflandırılır. Likenin bilimsel adı aslında birlikteki mantarın adıdır, bu nedenle likenler bilimsel çalışmalarda liken oluşturan mantarlar olarak da adlandırılabilir. Fotobiyont ise ait olduğu taksonomik grupta sınıflandırılır (Rankovic, 2015).

Bir mantar ile alg veya siyanobakteri tek bir tallus oluşturarak bir araya gelir ve simbiyotik bir birlik oluşturur. Liken tallusu tek bir organizma gibi görünmesine rağmen bu tallusta Eukarya ve Bacteria olmak üzere iki farklı domaine ait bireyler iş birliği içerisinde yaşamaktadır. Liken birliğinde mikobiyont, fotobiyontta göre baskındır ve genellikle askuslu bir mantar Ascomycotina olmakla birlikte; Deuteromycotina veya Basidiomycotina üyesi de olabilir. Likenlerin yapısındaki fotobiyont ise *Trebouxia* gibi bir yeşil alg olabileceği gibi *Stigonema*, *Nostoc* veya *Gloeocapsa* gibi bir siyanobakteri de olabilmektedir (Nash, 2008).

Liken simbiyotik birliğinde mikobiyont partneri tallusun ihtiyacı olan karbondioksit, su ve mineral maddeleri sağlarken; fotobiyont partneri ise karbondioksitten sentezlediği organik maddeleri birliğe verir. Mikobiyont ayrıca fotobiyontu yoğun güneş ışığına maruz kalmaktan ve kurumaktan korur (Rankovic, 2015). Çoğu likenin ikili doğası artık yaygın olarak bilinmesine rağmen, bazı likenlerin üç veya daha fazla ortak içeren simbiyozlar olduğu daha az bilinmektedir (Nash, 2008). Çoğu araştırmacı likenlerden, tüm ortakların birlikten karşılıklı fayda sağladığı klasik bir mutualizm olarak bahseder. Ahmadjian (1994)'a göre liken birliğinde mikobiyont partneri daha çok fayda sağladığından, fotobiyont partneri likenleşmiş halde serbest yaşama göre daha yavaş büyüdüğünden ve fotosentetik ortak eşeyli üreyemediğinden likenler kontrollü bir parazitizm örneği olarak kabul edilebilir. Mikobiyont partneri bu birliktelikten daha fazla kazanç elde etmekte ve yaşamı fotosentetik partnerin ürettiği bileşiklere bağlı olmaktadır.

Buna rağmen likenleşme bir yarar-zarar ilişkisi olarak tanımlanmak yerine başarılı bir simbiyoz örneği olarak ele alınmaktadır.

Likenlerin morfolojik yapısını tanımlarken tallus görünüşleri dikkate alınmaktadır. Likenler talluslarının görünüşlerine göre kabuksu, yapraksı ve çalimsı likenler olmak üzere üçe ayrılmaktadır (Karamanoğlu, 1971).

a) Kabuksu Likenler: Genellikle kayaların üzerinde gelişen ve tallusun kaya yüzeyi ile kısmen kaynaştığı likenlerdir. Tallusları kabuk şeklinde yassı olan kabuksu likenler, bazen hifleriyle kayaları eriterek kayaların içine girerler. Kabuksu likenlerin çoğunun tallusu areol denilen küçük parçacıklardan oluşmuştur ve areolleri birbirine bağlayan yapılara protallus adı verilir. Örnek olarak *Lecanora* ve *Lecidea* verilebilir.

b) Yapraksı Likenler: Tallusları küçük veya büyük loblara ayrılmıştır ve yaprak şeklindedir. Talluslarının kenar kısımları serbest olacak şekilde talluslarıyla kabuksu likenler gibi zemine tutunurlar. Yapraksı likenlerde lasiniat veya umbilikat olmak üzere iki tip ayırt edilebilir. Lasiniat yapraksı likenler substratına sıkıca tutunmuştur ve tutunma organları rizin ya da rizoidal hiflerdir. Örnek olarak *Parmelia* ve *Peltigera* verilebilir. Umbilikat yapraksı likenler ise merkezlerindeki disk sayesinde substrata tutunurlar. Örnek olarak *Umbilicaria* verilebilir.

c) Çalimsı Likenler: Çalıya benzeyen tallusları ince şerit veya ipliksi şekilde dallanmıştır. Tallus zemine ya hiç tutunmaz ya da tek bir noktadan tutunur. Kısmen dallanmış bir yapı gösterirler. Bu likenler ağaç dallarından sarkabilir veya dik olarak da gelişebilirler. Çalimsı likenlerde korteks hifleri destek doku olarak görev yapmaktadır. Örnek olarak *Usnea* ve *Cladonia* verilebilir (Karamanoğlu , 1971).

Likenlerde tallusun yapısı fotobiyont ve mikobiyontun bir arada bulunma şekillerine göre değişiklik gösterebilir. Eğer fotobiyont ve mikobiyont dağılımı homojen bir tabaka şeklindeyse homomerik liken; fotobiyont ve mikobiyont heterojen dağılmış ve farklı tabakalar varsa heteromerik liken adını alır. Heteromerik likenlerde üst kabuk tabakası ile öz tabakası arasında gonidium tabakası adı verilen ayrı bir katman oluşur.

Likenler yayılış alanları açısından ekstrem koşullara uyum sağlamışlardır. Kutuplardaki buzullardan, tropik yağmur ormanlarına kadar birçok ortamda gelişim gösterebilirler. Bitkilerin veya yaprakların üzerinde epifitik olarak; toprakta, kayada ve taşların üzerinde yaşayabilirler. Ayrıca tatlı su akıntıları ve denizlerin gelgit bölgeleri gibi habitatlarda bulunabilen likenler; besin kaynağı olarak, parfüm yapımında, boya

yapımında, dekoratif amaçlı, tedavide, hava kirliliği çalışmalarında biyoindikatör olarak kullanılabilir (Nash, 2008).

1.2.1. *Platismatia glauca* (L.) W.L. Culb. & C. F. Culb

Platismatia glauca (L.) W.L. Culb. & C. F. Culb. üst yüzeyi beyazımsı, beyazımsı-yeşil veya sarı, genellikle koyulaşmış alanları bulunan; alt yüzeyi simsiyah, kenarları kahverengi, pürüzsüz veya ağsı şekilde buruşuk epifitik bir liken türüdür. Üst korteks 15-25 µm, medulla beyaz ve 60-200 µm kalınlığında; alt korteks 16-25 µm kalınlığındadır. Rhizinler ya hiç yoktur veya az bulunur; kahverengi veya siyahtır, basit veya dallanmış olabilir. Apotesyum nadir bulunur, 0.5-1 cm, marjinal, perforat da olabilir. Himeniyum 34-56 µm, subhimeniyum 16-52 µm ve I+ ile lavanta-parlak mor rengi reaksiyon verir. Askus 8 sporludur, Askosporlar renksiz, basit ve elipsoid veya ovoid, 3.5-8.5 x 3-5 µm'dir. Piknidiyum görülmez. Spot testlerde: Korteks K+ sarı, C-, KC-, P+ sarı; medulla K-, C-, KC-, P-, UV- sonuç verir. *P. glauca* korteksinde atranorin ve kloroatranorin; medullasında ise kaparatik asit sekonder metabolitleri ihtiva eder (Culberson ve Culberson, 1968).

P. glauca likeni habitat olarak ağaçlar üzerinde (özellikle konifer ağaçlar), çalılarda, odunların üzerinde, bazen kayalarda, nadiren toprakta yaşayan bir liken türüdür (Nash vd., 2002). *Platismatia glauca* türünün sistematik olarak sınıflandırılması Görsel 1.1'deki gibidir (Nash vd., 2002).



Regnum: Fungi
Phylum: Ascomycota
Subphylum: Pezizomycotina
Classis: Lecanoromycetes
Subclassis: Lecanoromycetidae
Ordo: Lecanorales
Familiya: Parmeliaceae
Subfamiliya: Parmelioideae
Genus: *Platismatia*
Species: *Platismatia glauca*

Görsel 1.1. *Platismatia glauca* (L.) W.L. Culb. & C.F. Culb. likeninden genel bir görünüm ve sınıflandırılması

1.3. Liken Metabolitleri

Likenlerin yaşadığı özel koşullar birçok metabolitin üretilmesine neden olur. Likenler tarafından sentezlenen metabolitler primer ve sekonder olmak üzere iki gruba ayrılır (Lawrey, 1986). Likenler simbiyotik yaşamın doğal ürünleri olarak, yaşamsal işlevler ile doğrudan ilgili primer metabolitleri sentezlerler. Bunların bir kısmı mantar, bir kısmı alg tarafından sentezlenir. Bu metabolitlerin çoğu spesifik değildir ve ayrıca serbest yaşayan mantarlar, algler ve daha yüksek bitkiler tarafından da üretilir. Primer metabolitlere örnek olarak proteinler, aminoasitler, polioller, karotenoidler, polisakkaritler ve vitaminler örnek verilebilir. Genellikle suda çözünürler ve likenlerden kolayca izole edilebilirler (Rankovic, 2015).

Likenler çevresel strese cevap olarak metabolizmalarının doğal ürünü olan sekonder metabolitleri sentezlerler. Liken sekonder metabolitleri koruma, savunma, çevresel koşullara uyum sağlama gibi işlevlere sahiptir (Çobanoğlu Özyiğitoğlu vd., 2016). Liken sekonder metabolitlerinin çoğu likenlere özgüdür ve asit özelliğinde olduklarından çoğunlukla liken asitleri olarak da adlandırılır.

Liken asitleri simbiyotik yaşamın bir ürünü olarak meydana gelmektedirler (Çobanoğlu Özyiğitoğlu vd., 2016). Liken sekonder metabolitlerinin çoğu, mantar ortaklarından kaynaklanır, fakat yalnızca organizmalar simbiyotik birliktelik içindeyken üretilir. Liken sekonder metabolitleri yapısal olarak benzersizdir ve çoğu, poliketid biyosentetik yolundan (asetilpolimalonil yolu olarak da adlandırılır), birkaç şikimik asit ve mevalonat biyosentetik yollarından meydana gelir (Dayan ve Romagni, 2001). Liken türüne bağlı olarak sentezlenen liken sekonder metabolitlerinin sayısı ve çeşidi değişiklik göstermektedir, yani farklı liken türleri farklı sekonder metabolitler içermektedir. Bir liken türü birden fazla sekonder metabolit sentezleyebilmektedir (Deduke vd., 2012). Liken sekonder metabolitleri ya kortekste ya da medullada depolanır. Liken maddelerinin büyük çoğunluğu medullada birikir. En yaygın kortikal bileşikler usnik asit ve atranorindir (Rankovic, 2015).

1.3.1. Liken metabolitlerinin sentez yolları

Liken sekonder metabolitleri asetil polimalonil, şikimik asit ve mevalonik asit olmak üzere üç sentez yolağından sentezlenir.

Asetil polimalonil (poliketid) yolu depsid, depsidon, depstone, dibenzofuran, usnik asit, ksanton, antrakınon, kromon gibi en yaygın liken bileşiklerini içerir. Asetil-polimalonil yolu koenzim A'nın türevleri olan asetil-CoA ve malonil-CoA'yı kullanır. Bu metabolik yolda en karakteristik iki veya üç orcinol veya β -orcinol tipi fenolik ünitenin ester, eter ve karbon-karbon bağlantıları yoluyla bağlanmasıyla oluşan aromatik ürünler temsil edilir. Depsidlerin, depsidonların, dibenzofuranların, usnik asit ve depsonların büyük çoğunluğu bu tür mekanizmalar tarafından üretiliyor gibi görünmektedir ve hepsi likenlere özgüdür. Kromonlar, ksantonlar ve antrakınonlar gibi diğer aromatik bileşikler tek, katlanmış bir poliketid zincirin iç halkalanması ile oluşturulur ve genellikle liken oluşturmayan mantarların veya daha yüksek bitkilerin ürünleriyle aynı veya benzerdir (Rankovic, 2015).

Depsid, depsidon ve depsonlar iki orsellinik asit fenol grubunun birbirine bağlanarak içeriğindeki fonksiyonel (R) grubun yapısına ve fenil üzerindeki sayısına bağlı olarak farklı metabolitler ortaya çıkmaktadır. Dibenzofuranlar ise orsellinik asit halkalanması sonucu oluşan fenolden türemektedir. Usnik asitler de dibenzofuranlara benzer yapıdadır fakat orsellinik asit tipinde fenol yerine 2-metil flor asetofenon halkaları bulundurlar (Çobanoğlu vd., 2016). Atranorin, kloroatranorin, barbatik asit, lekanorik asit gibi bileşikler iki-üç orsinol veya beta orsinol moleküllerinin ester, karbon-karbon veya eter bağları vasıtasıyla sentezlenmektedir (Shukla vd., 2010).

Şikimik asit yolu iki tane fenilpürivatın birleşmesiyle oluşan terpenilkinon ve pulvinik asit türevlerini içerir. Stictaceae familyasına ait likenlerin pulvinik asit pigmentleri ürettiği bilinmektedir. Poliporik asit ve teleforik asit olmak üzere sadece iki terpenilkinon bilinmektedir. Pulvinik asidin ise kalisin, epanorin, rizokarpik asit, vulpinik asit gibi birçok türevi vardır (Rankovic, 2015).

Az sayıda liken sekonder metaboliti mevalonik asit yolağı ile sentezlenir. Mevalonik asit yoluyla meydana gelen sekonder bileşikler arasında triterpenler, terpenler, terpenoidler, karotenler (β -karoten, γ -karoten, violoksantin, ksantofil), steroller (ergosterol, fungisterol, β -sitosterol, steroidler) bulunur (Rankovic, 2015).

1.4. Allelopati

Allelopati Yunanca *Allelo* ve *Patos* sözcüklerinden meydana gelen ve birinin diğerine zararı anlamına gelen bir terimdir. Allelopati konusundaki ilk tarihsel çalışma

Theophrastus'a kadar uzanmaktadır. Theophrastus M. Ö. 285 yılında *Medicago sativa* L. (yonca) bitkisinin inhibitör etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Chou, 2006). 1937 yılında Molisch tarafından ortaya atılan allelopati terimi bitkiler arasındaki uyarıcı veya inhibitör biyokimyasal etkileşimleri ifade etmektedir (Macias vd., 2004). Allelopati araştırması yirminci yüzyılın başlarında başlamış olsa da 1974'te E.L. Rice tarafından yayımlanan *Allelopati* kitabıyla bilim camiasında tanınmıştır. 1984 yılında Rice, allelopatiyi kimyasalların çevreye salınması yoluyla bir bitkinin başka bir bitkinin büyüme ve gelişmesi üzerindeki doğrudan veya dolaylı, olumlu veya olumsuz etkisi olarak tanımlamıştır (Rice, 1984). Uluslararası Allelopati Derneği allelopatiyi; bitkiler, algler, bakteriler ve mantarlar tarafından üretilen sekonder metabolitlerin; tarımsal ve biyolojik sistemlerin büyüme ve gelişmesini etkilediği bir süreç olarak tanımlamıştır (Chou, 2006).

Allelopati ile ilgili çok önemli bir nokta, etkisinin çevreye salınarak allelopatik etki gösteren, allelokimyasal adlı kimyasal bileşiklere bağlı olmasıdır. Allelokimyasalların, benzoik ve sinnamik asitler, alkaloidler, terpenoidler gibi çok çeşitli fenolik asitleri içeren kök sızıntıları, yaprak sızıntıları, kökler ve diğer bitki artıkları yoluyla kayda değer miktarlarda çevreye salındığı bulunmuştur (Rice, 1984). Bu bileşiklerin çimlenme ve erken fide büyümesi dahil olmak üzere bitkilerin büyüme ve gelişmesini değiştirdiği bilinmektedir. Allelokimyasallar çeşitli fizyolojik süreçleri değiştiriyor gibi görünmektedir ve bitki büyümesinin azalmasından sorumlu hücresel süreçler üzerinde çeşitli etkiler ortaya koyduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, belirli bir bileşiğin, bitkilerin büyümesi üzerinde toksik bir etkiye sahip olduğu biyokimyasal mekanizmanın ayrıntıları tam olarak bilinmemektedir (Zhou ve Yu, 2006).

Allelokimyasal terimi organizmalar tarafından üretilen feromonlar, allomonlardan zehirler, toksinler, fitoaleksinler veya allelopatik ajanlar olmak üzere bir dizi kimyasalı kapsar (Olofsdotter, 1998). Allelokimyasallar, kökler, rizomlar, yapraklar, saplar, ağaç kabuğu, çiçekler, meyveler ve tohumlar gibi bitki organları tarafından çevreye salınır. Çok sayıda allelopatik etkileşim tipik olarak negatiftir, pozitif ilişkiler nadirdir. Allelokimyasallar; fotosentez, solunum, su ve hormonal denge gibi çeşitli fizyolojik süreçlerin bozulmasıyla; komşu bitkilerin tohumlarının çimlenmesini baskılamak, bitkilerin büyümesini etkilemek, kök büyümesine ve meristemlere zarar vermek gibi etkiler gösterirler (Einhellig, 1994). Eylemlerinin altında yatan neden esas olarak enzim aktivitesinin inhibisyonudur. Bir allelokimyasalın bitki büyümesini ve / veya tohum

çimlenmesini önleme veya geciktirme kabiliyeti genellikle "allelopatik (veya fitotoksik) potansiyeli" olarak tanımlanır (Soltys vd., 2013).

Liken sekonder metabolitleri allelokimyasallar olarak işlev görebilir ve komşu briyofitlerin, mantarların, vasküler bitkilerin, mikroorganizmaların ve hatta diğer likenlerin gelişimini ve büyümesini etkileyebilir (Goga vd., 2017). Likenlerin belirli sekonder metabolitlerinin vasküler bitkiler üzerinde allelopatic etkileri olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, liken tallusundaki bileşiklerin bitkiler üzerindeki fitotoksik etkilerinin mekanizmaları hala yeterince anlaşılmamıştır (Lokajova vd., 2014). Liken birliğindeki mantar partnerinin allelopatic etkileri olan sekonder bileşikler sentezlediği bilinmektedir. Çeşitli liken sekonder metabolitlerinin biyoherbisit potansiyelleri çalışmalarla kanıtlanmış olup; vasküler bitkiler, yabancı otlar ve diğer likenler üzerinde allelopatic etki gösterdikleri bilinmektedir. Yine liken maddelerinin tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerinde de çeşitli etkileri bulunduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır (Tigre vd., 2012). Allelopatic etki gösteren maddelerin bitkiler üzerinde gösterdiği çeşitli etkiler bu maddelerin biyoherbisit olarak kullanım potansiyelleri üzerine araştırmaları artırmıştır.

1.5. Genotoksisite

Genotoksisite, kimyasal ve fiziksel ajanların hücredeki genetik materyale etkilerinin incelenmesi ve mutasyona neden olabilecek ajanların özelliklerinin tanımlanmasıdır. Deoksiribonükleik asit (DNA) üzerinde meydana gelen değişiklikleri ve DNA hasarını inceler. DNA, adenin (A), guanin (G), timin (T) ve sitozin (C) bileşiklerinden oluşan bir çift sarmaldır. Bu kimyasallar, AT ve CG çiftleri olarak uzun uzantılarda bağlanır ve onları bir arada tutan şeker moleküllerine sarılır. Bu AT ve CG kombinasyonları proteinleri üreten genleri oluşturur. İdeal olarak DNA dizisi üreme sırasında meydana gelen rekombinasyon dışında değişmez. Bununla birlikte hücre sürecinin bir parçası olarak hem hücre kimyasalları hem de toksik kimyasallarla düzenli etkileşimden dolayı DNA hasarı meydana gelir. Çok sağlam bir onarım mekanizması, DNA hasarını hızlı ve çok doğru bir şekilde onarır, ancak herhangi bir nedenle DNA yanlış onarılsa mutasyon meydana gelir (Gupta, 2016).

Genellikle mutajenite ile karıştırılsa da genotoksisite, mutajeniteden daha geniş bir spektrumu kapsar. Mutajenite, genotoksisitenin bir bileşenidir. Tüm mutajenler genotoksik iken, tüm genotoksik maddeler mutajenik değildir. Örneğin, programlanmamış DNA sentezi, kardeş kromatid değişimleri ve DNA zincir kırılmaları, mutajenitenin değil genotoksisitenin ölçütleridir, çünkü kendileri hücreden hücreye veya nesilden nesile aktarılamazlar. Ancak mutajenite, aktarılabilir genetik değişikliklerin üretimini ifade eder. Bu mutasyonlar esas olarak önceki nesillerden kalıtılır ve bir birey mutant geni her iki ebeveyninden miras aldığı ifade edilir. Ekspresyon için yalnızca tek bir baskın mutasyon yeterlidir (Gupta, 2016).

Mutajenite, DNA ve/veya kromozomal yapıyı değiştiren ve sonraki nesillere aktarılan olaylarla sonuçlanır. Dolayısıyla mutasyonlar tek bir baz çiftindeki, kısmi, tek veya çoklu genlerde veya kromozomlardaki değişiklikleri; kromozom segmentlerinin silinmesi, çoğaltılması veya yeniden düzenlenmesi ile sonuçlanan kromozom kırılmalarını; kromozom sayısında (yani anöploidi) değişikliği (kazanç veya kayıp); ve mitotik rekombinasyonu içerir.

1.5.1. Genotoksisite tespitinde kullanılan testler

Genotoksisite testleri gen mutasyon testleri ve kromozomal testler olmak üzere iki başlıkta toplanır.

Gen Mutasyon Testleri

a) *Ames testi*: Belirli bir kimyasalın test organizmasının DNA'sında mutasyonlara neden olup olmadığını bakterileri kullanarak test eden bir yöntemdir. En yaygın kullanılan genetik toksikoloji testlerinden biri olan Ames testi nokta mutasyonlarını tespit eder ve bileşiğin mutajenik olma potansiyelini ve bu nedenle hayvan veya insanlara verilmesi halinde karsinogeneze neden olabileceğini gösterir (Loomis ve Hayes, 1996).

Kromozomal Testler

a) *Kromozomal aberasyon*: Kromozomal aberasyon, DNA çift zincir kırıklarının farklı onarım mekanizmaları tarafından üretilen geniş bir DNA değişiklikleri spektrumunun mikroskopik olarak görülebilen kısmıdır. Kırılma noktalarının kromozomlar arası ve kromozom içi dağılımı rastgele değildir. Kromozomal aberasyon testinin amacı mitoz aşamasında yapısal kromozomal aberasyonlara neden olan

bileşikleri ve somatik hücre mutajenlerinin eşey hücrelerinde etkin olup olmadığını saptamaktır. Kromozom preparatlarında metafaz incelenerek değerlendirme yapılmaktadır. Kromozomal aberasyon iyonlaştırıcı radyasyona ve diğer genotoksik ajanlara maruz kalmanın önemli biyolojik sonuçlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır (Latt ve Schreck, 1980).

b) Kardeş Kromatit Değişimi (Sister Chromatid Exchange): Kardeş kromatit değişimi, somatik hücrelerde iki özdeş kromatit arasında meydana gelebilecek materyal değişimini ifade eder (Loomis ve Hayes, 1996). Kardeş kromatit değişiminde kromozom morfolojisi değişmez yalnızca kardeş kromatitler arasında, özdeş bir şekilde genetik materyal alışverişi olur. Bu test homolog kromozomlarının gen lokusları arasındaki DNA replikasyon ürünlerinin değişimini test etmektedir ve mikroskopik olarak tanımlanarak kromozomal hasarlar gösterilebilmektedir. Özellikle DNA replikasyonu ile etkileşime giren mutajenlerin saptanmasını ve kimyasal ajanların mutajenik etkilerinin belirlenmesini sağlar. Deneysel çalışmalarda da kromozomlarda meydana gelen yapısal değişimlerin araştırılmasında kullanılır (Fidan, 2008).

c) Tek Hücreli Jel Elektroforezi (Comet Assay): Tek hücreli jel elektroforezi kromozomal sapmaların değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen bir in vitro tekniktir (Loomis ve Hayes, 1996). Canlı populasyonlarında, hücre düzeyinde DNA sarmal kırıkları vasıtasıyla meydana gelen hasarların tespit edilmesinde kullanılan, basit, hızlı fakat hassas bir yöntemdir (Özkara ve Akyl, 2015). Tek hücreli jel elektroforezi düşük DNA hasarlarının belirlenebildiği, uygulanması kolay bir yöntemdir. Ayrıca az miktarda hücreyle analiz yapılabilir, değişik hücre ve doku grupları ile uygulanabilir ve ekonomik olması nedeniyle yaygın kullanılan bir yöntemdir (Fidan, 2008).

d) Mikronükleus Testi (Micronuclei Test): Mikronükleus Testi (MN) fiziksel ve kimyasal ajanların oluşturduğu kromozom hasarını tespit etmek amacıyla kullanılan bir yöntemdir. MN testi 1950'lerde bitkilerdeki kromozom hasarını ölçmek amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Şekeroğlu ve Atlı-Şekeroğlu, 2011). Mikronükleus, mitoz sırasında ortaya çıkan, bir kromozom veya bir kromozom fragmanından köken alan, esas çekirdeğe dahil olmayan küçük bir çekirdek olarak tanımlanır (Loomis ve Hayes, 1996). Geçmişten günümüze kadar çok yoğun bir şekilde uygulanmış olan mikronükleus testi ucuz, duyarlı ve kısa süreli olması nedeniyle tercih edilmektedir. Mikronükleus sayısının artması fiziksel veya kimyasal ajanların hücrelerde meydana getirdiği kromozom

düzensizliklerinin bir göstergesi olarak değerlendirilir. Bundan dolayı hücrelerde meydana gelen mikronükleus sayısındaki artış genomik kararsızlığın bir göstergesi olarak tanımlanmaktadır (Fidan, 2008).

1.5.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR spesifik bir DNA parçasının seçilerek ısı vasıtasıyla hücre dışında çoğaltılmasını sağlayan bir yöntemdir. PCR yöntemi kopyalanmak istenen bölgenin iki ucuna özgü tamamlayıcı oligonükleotid primerler kullanılarak genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır. (Saiki vd., 1988).

PCR döngüsü denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamalarından meydana gelir. DNA çift zincirinin 94-98 °C sıcaklıkta birbirinden ayrılması denatürasyon aşamasıdır. Bağlanma aşamasında primerler 37-50 °C sıcaklıkta hedef DNA'ya bağlanır. DNA polimerazın primerleri 70-72 °C sıcaklıkta primerleri uzatması ise uzama aşamasıdır. Bu döngü 30-45 defa tekrarlanır.

Kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, kalıp ipliğe tamamlayıcı DNA ipliği oluşturan DNA polimeraz enzimleri, uygun PH koşullarını sağlayan Tampon, Polimeraz aktivitesini uyararak $MgCl_2$, Kalıp DNA'ya bağlanacak olan Primerler, DNA üretiminde kullanılacak olan deoksiribonükleozid tri fosfat karışımı (dNTP) PCR'ın temel bileşenlerini oluşturur.

Optimizasyonu düzgün yapılmayan PCR'da; PCR ürününün az olması, spesifik olmayan bantların meydana gelmesi, primer-dimer oluşumları, DNA kaynağının kontamine olması, beklenen dizilerden farklı dizilerin meydana gelmesi, primerlerin yanlış uzaması gibi problemler meydana gelebilir. Böyle durumların önüne geçmek ve PCR'dan istenilen verimi elde etmek için PCR optimizasyonun düzgün ve dikkatli bir şekilde yapılması gerekmektedir.

1.5.2.1. PCR yöntemine dayalı moleküler belirteç sistemleri

PCR yöntemine dayalı moleküler belirteçler Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA (RAPD), Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR), Basit Dizi Tekrarları (SSR) ve Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi (AFLP)'dir. RAPD, ISSR ve AFLP dominant moleküler belirteç; SSR kodominant moleküler belirteçtir. Tüm bu belirteçler belirli avantaj ve dezavantajlara sahiptir (Wu vd., 2005).

Tablo 1.1. *PCR Yöntemine Dayalı Sık Kullanılan Belirteçlerin Karşılaştırılması*

Belirteç	Polimorfizm	Dominantlık	Otomasyon	Maliyet
ISSR	Yüksek	Dominant	Orta/Yüksek	Düşük
RAPD	Orta/Yüksek	Dominant	Orta	Düşük
SSR	Yüksek	Kodominant	Orta/Yüksek	Düşük
AFLP	Yüksek	Dominant	Orta/Yüksek	Orta

AFLP ya da Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi Tekniği PCR temelli bir moleküler belirteçtir. Restriksiyon enzimlerinin ve PCR tekniğinin bir arada kullanıldığı polimorfizm oranı yüksek bir yöntemdir (Vos vd., 1995). AFLP Tekniği tek bir organizmadan DNA izolasyonu ile başlayan, DNA'nın restriksiyon enzimleriyle parçalanması ve elde edilen DNA parçalarının adaptörler vasıtasıyla ligasyona maruz bırakılması, ardından PCR ile çoğaltılmasını içeren bir tekniktir (Filiz ve Koç, 2011). AFLP maliyetli ve karmaşık bir yöntemdir, her basamak için ayrı optimizasyon yapmak gerekmektedir (Li ve Quiros, 2001). Bu dezavantajlarına rağmen polimorfizm oranının yüksek olması ve fazla miktarda lokusu tarayabilmesi AFLP Tekniği'nin avantajlarındandır.

Basit Dizi Tekrarları Tekniği, Mikrosatellit veya SSR olarak adlandırılan teknik Rafalski ve Tingey tarafından geliştirilmiştir. Mikrosatellitler 2-6 nükleotid uzunluğunda ve DNA dizilerinde tekrar edilen en küçük birimlerdir (Frankham vd., 2004). SSR tekniği iki mikrosatellit tekrar bölgesinin arasındaki DNA parçalarının çoğaltılmasını temel alır. Çoğaltılan PCR ürünleri jel veya otomatik sekans cihazında değerlendirilir. Polimorfizm açısından iyi sonuçlar sağlaması, kararlı bir belirteç olması, az DNA gerektirmesi SSR'ın avantajlarındandır. Mikrosatellit bölgelerinde mutasyon oranı yüksek olabileceğinden primer bağlanma noktalarında değişiklikler olabilir. Bunun sonucunda anlamsız aleller oluşması, zaman ve emek isteyen bir teknik olması ve özel primer kullanımına ihtiyaç olması SSR tekniğinin dezavantajlarındandır (Tautz, 1989; Gülşen ve Mutlu, 2005).

ISSR ya da Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm Tekniği, tekrarlanan nükleotidlere sahip DNA zincirlerinin primer olarak kullanıldığı ve bu primer ile iki mikrosatellit arası bölgenin çoğaltıldığı bir tekniktir. ISSR tekniği 5' ve 3' sonda güçlendirilen, kısa ve tekrarlanan DNA zincirlerinin primer olarak kullanılarak, PCR sonunda elde edilen ürünlerin elektroforez ile büyüklüklerine ayrılması ve DNA'ların jel

üzerinde görüntülenmesi aşamalarını içerir (Bornet vd., 2002). ISSR Tekniğinde primer olarak ikili, üçlü, dörtlü veya beşli tekrar eden nükleotid içeren primerler kullanılır (Gülşen ve Mutlu, 2005). ISSR primerlerinin uzunluğu genellikle 15-30 nükleotid arasındadır ve tek primer kullanılır. RAPD yöntemine benzemesine rağmen bant sayısı ve primerlerin bağlanma sıcaklığı yüksektir.

ISSR'nin dominant belirteç ve otomasyon seviyesinin yüksek olması, uygulamasının basit, hızlı ve ucuz olması; çok düşük miktarda dokunun yeterli olması ISSR'nin belirgin avantajlarından. En önemli avantajı dizi bilgisi gerekmeden primer dizaynının yapılabilmesi ve yüksek polimorfizm göstermesidir. Genotoksisite, genetik benzerlik, taksonomi, genom haritası gibi birçok çalışmada kullanılabilen bir tekniktir (Trojanowska ve Bolibok, 2004).

Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA ya da RAPD Tekniği, DNA ve primerlerin dizi bilgisine ihtiyaç duyulmadan, genomik DNA'nın rastgele bölgelerinin çoğaltılması esasına dayanır (Williams vd., 1990). RAPD tekniğinde 6-10 nükleotid uzunluğunda primerler kullanılarak, primerin DNA üzerinde yapışabildiği uygun genom bölgeleri çoğaltılır. RAPD primerleri kalıp DNA'nın her iki uça komplementer oldukları bölgelere yerleşirler ve hem ileri hem de geri primer görevi görürler. RAPD Tekniği genetik haritalama, taksonomi ve filogenetik çalışmalarda, genotoksisite ve karsinogenez çalışmalarında polimorfizmi saptamak için kullanılmaktadır (Atienzar ve Jha, 2006).

RAPD Tekniğinin ucuz bir yöntem olması, az iş gücü gerektirmesi, çabuk sonuç vermesi, az DNA ile dahi sonuç vermesi, primer tasarımının kolay olması, dizi bilgisi gerektirmemesi, polimorfizm oranının yüksek olması ve kullanım alanlarının geniş olması önemli avantajlarından (Filiz ve Koç, 2011).

Güvenilirliğinin sınırlı olması, farklı PCR koşullarında farklı sonuçlar verebilmesi ve yorumlanmasının zor olması RAPD yönteminin dezavantajlarından. Bu durumun önüne geçebilmek için PCR optimizasyonunun düzgün bir şekilde yapılması gerekmektedir.

1.5.2.2. Genotoksisitenin belirlenmesinde moleküler belirteçlerin kullanımı

Son yıllarda toksik maddelerin organizmalar üzerindeki etkilerini optimize edilmiş koşullar altında değerlendirmek için moleküler belirteçlerin temel bir araç olarak kullanılabileceği vurgulanmaktadır.

RAPD tekniğinin katı bir şekilde optimize edilmiş koşullar altında toksikolojik etkileri değerlendirmek için faydalı bir belirteç olduğu; özellikle genotoksisite çalışmalarında nispeten ucuz olması, sekans verileri elde etmek zorunda kalmadan çok sayıda lokus hakkında bilgi vermesi nedeniyle tercih edildiği bilinmektedir (De Wolf vd., 2004). Ayrıca RAPD bant profillerindeki kazanç, kayıp ve yoğunluk farklılıklarının genotoksik ajanlar tarafından indüklenen DNA hasarı, mutasyon veya yapısal düzenlemelerle ilgili mutasyonlarının sonucunda meydana geldiği belirlenmiştir (De Wolf vd., 2004). Yine RAPD ile benzer şekilde ISSR tekniğinin de genotoksisite, genetik çeşitlilik çalışmaları, toksisite deneyleri, DNA hasar ve mutasyonlarını belirlemek için tercih edilen bir moleküler belirteç olduğu bilinmektedir (Neeratanaphan vd., 2014). Tek bir moleküler belirteç bütün ihtiyaçları karşılayamadığından birden fazla belirteç bir arada kullanılabilir. Güvenilir, tekrarlanabilir, analiz ve otomasyonu uygun şekilde yapılabilen belirteçlerden uygunluk gösterenler çalışmalar için seçilmektedir (Tamam, 2008).

1.6. Konu ile İlgili Yapılan Çalışmalar

1.6.2. Allelopati ile ilgili çalışmalar

Sorghum halepense'nin yaprak ve rizom ekstraktlarının *Setaria viridis*, *Amaranthus retroflexus*, *Aristida oligantha*, *Digitaria sanguinalis*, *Bromus tectorum*, *Bromus japonicus* ve *Lycopersicon esculentum* üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada *Bromus tectorum* dışındaki bitkilerin tohum çimlenmesinin engellendiği belirlenmiştir (Abdul-Wahab ve Rice, 1967).

Carley ve Watson (1968) 23 bitki türünden elde edilen ekstraktların yonca, buğday, turp ve marul tohumları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Patates, şeker pancarı, adaçayı, bezelye, yonca ve fasulyeden elde edilen özütlerin çimlenen tohumlar üzerinde toksik etki gösterdiğini; Douglas köknarı ve sfagnum yosunundan elde edilen özütlerin ise tohum çimlenmesini teşvik edici etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

1990 yılında ülkemizde yapılan ilk allelopati çalışmasında *Raphanus sativus* ekstraktlarının 25 yabancı ot 32 kültür bitkisi üzerine etkileri belirlenmiştir. *Raphanus sativus* ekstraktlarının 4 kültür bitkisi (*Lactuca sativa*, *Nicotiana tabacum*, *Phaseolus* sp. *Trifolium* sp.) ve 11 yabancı otun (*Alhagi* sp., *Alopecurus myosuroides*, *Cachia maritima*,

Capsella bursa-pastoris, *Convolvulus arvensis*, *Cuscuta* sp., *Daucus carota*, *Hirschfeldia incana*, *Ochrodium aegyptiacum*, *Sisymbrium polyceratium*, *Sorghum halepense*) tohum çimlenmesini olumsuz yönde etkilediğini, diğer bitkiler üzerinde ise istenilen düzeyde bir etki görülmediğini belirtmişlerdir (Uygur vd., 1990).

Uygur vd. (1991) yaptıkları araştırmada *Raphanus sativus* ekstraktlarının biyoherbisit etkilerini incelenerek *Raphanus sativus* ekstraktlarının *Alhagi* sp., *Convolvulus arvensis* L., ve *Sorghum halepense* tohumlarının çimlenmesini engellediği ve biyoherbisit olarak kullanım potansiyelinin mümkün olduğunu belirlemiştir.

1997 yılında allelopatik etki gösteren ve bazı yabancı ot türlerinin çimlenmesini etkileyen bitkiler araştırılmıştır. *Eucalyptus camaldulensis* Dehn., *Juglans regia* L., *Melia azedarach* L., *Nerium oleander* L., ve *Raphanus sativus* bitkilerinden elde edilen ekstraktları *Alopecurus myosuroides* Huds., *Lactuca sativa* L., *Lolium multiflorum* Lam., *Raphanus raphanistrum* L. gibi kışlık yabancı ot tohumları ve *Amaranthus retroflexus* L., *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Portulaca oleracea* L., *Prosopis stephaniana* Kunth. ve *Xanthium strumarium* L. gibi yazlık yabancı ot tohumlarına uygulanmıştır. Yapılan çalışmada *N. oleander* ve *M. azedarach* bitkilerine ait ekstraktların en iyi sonucu verdiğini ve yabancı ot tohumlarının çimlenmesini engellediğini; ayrıca *L. sativa* ve *L. multiflorum*'un çimlenme oranlarının sıfırlandığı belirlenmiştir (Uygur vd., 1997).

Farklı tip *Cladonia verticillaris* liken ekstraktlarının ve fumarprotocetrarik asidin *Allium cepa* çimlenmiş fidelerinin erken büyümesi üzerindeki allelopatik aktivitesinin araştırıldığı çalışma sonucunda *C. verticillaris*'in allelopatik etkisinin kimyasal bileşimlerine ve konsantrasyonlarına bağlı olduğunu, *C. verticillaris* total ekstraktının ve fumarprotocetrarik asidin *A. cepa*'nın çimlenme oranı üzerinde ne engelleyici ne de uyarıcı etki göstermediği; kök uzunluğunun ise *C. verticillaris*'in total ekstraktı tarafından önemli ölçüde uyarıldığı belirlenmiştir (Yano-Melo vd., 1999).

Kabuklu liken ve ağaç kabuğu ekstraktlarının *Ceratodon purpureus* ve *Funaria hygrometrica* yosunlarının sporlarının ve ayrıca *Vriesea splendens* (Bromeliaceae) ve *Lepidium sativum* (Brassicaceae) tohumlarının çimlenmesi üzerindeki etkisinin incelendiği araştırmada kabuklu liken ekstraktlarının *Cryptotheca* sp. ve *Pertusaria* sp. sporlarının ve tohumlarının çimlenmesini engellediğini, *Vriesea*'nın çimlenme oranını azalttığını, *Lepidium*'un ise çimlenmesini teşvik ettiği saptanmıştır (Frahm vd., 2000).

Berberis vulgaris, *Mentha longifolia*, *Salvia limbata* ekstraktlarının *Zea mays* (mısır) bitkisinin çimlenmesi üzerindeki allelopatik etkilerinin belirlendiği çalışmada bitki ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının, mısır tohumlarının çimlenmesinde farklı allelopatik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (Ağar vd., 2006).

Kolören (2007) *Brassica juncea* L. (Hint hardalı) örtücü bitkisinin, kültür bitkileri olan marul ve mısır ile yabancı ot türlerinden *Amaranthus retroflexus* L. ve *Lolium perenne* L. üzerindeki allelopatik etkisini belirleyerek, bitki ekstraktlarının (%5, %25, %50) marul çimlenmesini sırasıyla %10,96, %45,21 ve %59,58, mısır çimlenmesini %12,82, %30,77, %78,84, yabancı otlardan *A. retroflexus*'u %23.29, %41.10 ve %93.15, *L. perenne*'yi %2.15, %39.78 ve %91.29 oranında azalttığını bildirmiştir.

Beyaz turp (*Raphanus sativus* L.), siyah turp (*Raphanus sativus* L. var. *niger*), fındık turpu (*Raphanus sativus* L. var. *radicula*) ve antep turpu (*Raphanus sativus* L.) bitkilerinden elde edilen ekstraktların tarlalarda sorun yaratan yabancı otlardan horozibiği (*Amaranthus retroflexus* L.), semizotu (*Portulaca oleracea* L.), kısır yabani yulaf (*Avena sterilis* L.), it üzümü (*Solanum nigrum* L.) üzerindeki allelopatik etkilerini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmada allelopatik etkinin ekstraktların artan konsantrasyonuna paralel şekilde tohum çimlenmesini azalttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak yabancı ot tohumları arasında en az çimlenme horozibiği, semizotu ve hardal tohumlarında gözlenmiştir (Özdemir, 2007).

Madımak (*Polygonum cognatum* Meissn.) bitkisinin allelopatik potansiyelinin araştırıldığı allelopati çalışmasında Madımak bitkisinin farklı konsantrasyonları 8 yabancı ot (*Abutilon theophrastii*, *Amaranthus retroflexus*, *Agrostemma githago*, *Trifolium repens*, *Echinochloa crus-galli*, *Avena sterilis*, *Chenopodium album*, *Rumex crispus*) ve 8 kültür bitkisi (*Beta vulgaris*, *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus*, *Capsicum annuum*, *Lepidium sativum*, *Lycopersicum esculentum*, *Medicago sativa*, *Triticum vulgare*)'nin tohumlarına uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda Madımak ekstraktının hem kültür hem de yabancı ot tohumlarının çimlenmesi ve fide gelişimi üzerinde fitotoksik etki gösterdiği ve ekstraktın artan konsantrasyonuyla birlikte tohum çimlenmesi üzerinde engelleyici etki yaptığı tespit edilmiştir (Yılar, 2007).

Cladonia verticillaris likeninin *Lactuca sativa* (marul)'nın tohum çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki allelopatik ve biyoherbisidal etkisinin araştırıldığı çalışmada farklı

konsantrasyonlarda ekstraktlar ve saf bileşikler kullanılmıştır. Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen deneylerde *C. verticillaris* ekstraktlarının *L. sativa* tohumlarının çimlenmesi üzerinde herhangi bir etki göstermemesine rağmen, hipokotilde ve kök gelişiminde değişiklikler meydana geldiği ortaya konulmuştur. Eter veya aseton ekstraktına maruz bırakılan fideler, kontrollere kıyasla daha az hipokotil büyümesi göstermiştir. Buna karşılık, hipokotil ve kök büyümesinin uyarılması, sadece farklı konsantrasyonlarda protosetarik asit varlığında gözlenmiştir. Sonuç olarak fumarprotocetrarik ve protosetarik asitlerin yüksek konsantrasyonlarının *L. sativa* fidelerinin gelişimini etkidiği ve *C. verticillaris* ve asitlerinin biyoherbisit potansiyele sahip olduğu kanıtlanmıştır (Tigre vd., 2012).

Özdemir ve Üremiş (2013) *Raphanus sativus* L. (Antep turpu), *Raphanus sativus* L. var. *niger* (Siyah turp), *Raphanus sativus* L. (beyaz turp), *Raphanus sativus* L. var. *radicula* (Fındık turpu), *Brassica campestris* L. subsp. *rapa* (şalgam) bitkilerinin yapraklarından farklı konsantrasyonlarındaki ekstraktların *Amaranthus retroflexus* L., *Portulaca oleracea* L. *Sinapsis arvensis* L., *Avena sterilis* L., *Solanum nigrum* L. tohumlarının çimlenmesi ve fide gelişimi üzerindeki allelopatik etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda ekstraktların artan dozlarının *A. retroflexus*, *P. oleracea*, *S. arvensis* ve *S. nigrum* tohumlarının çimlenmesi ve fidelerinin gelişmesi üzerinde engelleyici etkisi olduğu belirlenmiştir.

Himalaya Likeni *Parmelia reticulata* Taylor'ın heksan, etil asetat ve metanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının (50,25 ve 12,5 $\mu\text{g/ml}^{-1}$) son derece yıkıcı bir yabancı ot olan *Phalaris minor* üzerindeki allelopatik etkilerini ve *Phalaris minor*'un tohum çimlenmesi ve erken fide büyümesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda 50 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ heksan ve etil asetat ekstraktlarının, tohum çimlenmesi üzerinde maksimum zararlı etki gösterdiği ve 50 $\mu\text{g/ml}^{-1}$ dozunda heksan ekstraktının *P. minor* yabancı otunun erken fide büyümesini maksimum düzeyde inhibe ettiği tespit edilmiştir (Goel vd., 2014).

Umbilicaria decussata (Vill.) Zahlbr, *Parmelina tiliacea* (Haffm.) Hale ve *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawkaw likenlerinin etanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının (1, 3, 10, 30, 100 mg/ml) *Triticum aestivum* L. (ekmeklik buğday) tohumlarının çimlenmesi üzerindeki allelopatik etkisinin araştırıldığı çalışmada ekstraktların yüksek dozlarına maruz kalan tohumların çimlenmediği sonucuna

ulaşılmıştır. Liken ekstraktlarının düşük dozlarının buğday tohumlarının çimlenmesi üzerinde stimölator etki, yüksek dozlarının ise tohum çimlenmesini inhibe edici etki gösterdiği belirlenmiştir (Uzunkaya, 2015).

Bazı tıbbi bitkilerin etanol ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonlarının (0, 1, 3, 10, 30, 100 mg/ml) buğday tohumlarının çimlenmesi üzerindeki allelopatik etkilerinin belirlendiğı deneyde ekstraktların dozları arttıkça çimlenme oranının kontrol doza göre azaldığını bazı ekstraktların artan dozlarının ise çimlenmeyi inhibe ettiğı tespit edilmiştir. Buna bağılı olarak da ekstraktların buğday üzerinde allelopatik etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Zeren, 2015).

Bingöl ve Battal (2017) *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum* ve *Salvia limbata* bitkilerinin allelopatik potansiyelini belirlemek amacıyla bu bitkilerin su ve metanol ekstraktlarını *Portulaca oleraceae* L. (semiz otu) ve *Zea mays* L.(mısır) tohumlarına uygulamışlardır. Bitkilerin su ve metanol ekstraktlarının artan konsantrasyonuna bağılı olarak mısır ve semiz otu bitkilerinin radikula ve plumula uzunlukları ile çimlenme yüzdelerinin azaldığı belirlenmiştir. Buna bağılı olarak bu ekstraktların biyoherbisit olarak kullanılabileceğı sonucuna varılmıştır.

2019 yılında yapılan bir allelopati çalışmasında *Cicer arietinum* L.’ nin farklı konsantrasyonlarındaki ekstraktlarının *Setaria verticillata* (yapışkan ot) üzerindeki fitotoksik etkileri belirlenerek konsantrasyon arttıkça *Setaria verticillata*’nın çimlenme ve fide büyümesinin azaldığı kanıtlanmıştır (Jaballah vd., 2019).

Turan (2021) tez çalışmasında *Datura stramonium* L. (şeytan elması) tohumlarının ekstraktlarının yabancı otlardan *Amaranthus retroflexus* L. (kırmızı köklü horozibiğı), *Chenopodium album* L. (sirken) ile *Beta vulgaris* L. (şeker pancarı) bitkilerinin tohum çimlenmesi üzerindeki allelopatik etkilerini araştırmıştır. Tohumlara metanol ve su ekstraktlarının %1, 2, 4, 8, 16 konsantrasyonları uygulanarak konsantrasyon arttıkça tohum çimlenmesinin azaldığı belirlenmiştir. Su ekstraktı ile muamele edilen tüm bitkilerde çimlenme görülürken, metanol ekstraktının %8 ve %16’lık konsantrasyonunun *Amaranthus retroflexus* ve *Chenopodium album* bitkilerinin çimlenmesini %100 engellediğı sonucuna varılmıştır.

1.6.3. Platismatia glauca ile ilgili çalışmalar

Parmelia saxatilis (L.) Ach., *Platismatia glauca* (L.) W.L. Culb. & C. F. Culb., *Ramalina pollinaria* (Wesstr.) Ach., *Ramalina polymorpha* (Liljeblad) Ach. ve *Umbilicaria nylanderiana* (Zahlbr.) H. Magn.'nın metanol ekstraktlarının in vitro antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri belirlenerek; ekstraktların bazı test bakterilerine, mantarlara ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Gulluce vd., 2005).

Platismatia glauca ile ilgili bir diğer çalışmada Fosfor (P) eklenmiş veya eklenmemiş nitrojen (N) birikimine verilen tepkiler, üç zıt liken türü için araştırılarak - N'ye duyarlı *Alectica sarmentosa*, N'ye daha toleranslı *Platismatia glauca* ve N_2 sabitleyici *Lobaria pulmonaria* üzerinde N birikiminin etkileri incelenmiş ve P mevcudiyetinin önemli bir etken olduğu ortaya konmuştur. N'nin epifitik likenler üzerindeki olumsuz etkilerini hem hafifletebileceği hem de yoğunlaştırabileceği belirlenmiştir. Sonuçta *A. sarmentosa* ve *L. pulmonaria*, türlerle birlikte hem alg hem de mantar büyüme artışları sergilemiştir. *P. glauca* ise simbiyozda bir bozulma olduğunu düşündüren alg büyümesi sergilemiştir (Johansson vd., 2011).

Mitrovic vd. (2014) *Platismatia glauca* ve *Pseudevernia furfuracea* liken türlerinin aseton, etil asetat ve metanol ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal ve antibiyofilm potansiyellerini araştırmışlar GC, GC/MS VE NMR ile yapılan fitokimyasal analiz, *P. glauca*'da baskın bileşiklerin kaperatik asit, atrarik asit, atranorin ve kloroatranorin olduğunu ortaya çıkarmıştır. Çalışmanın sonucunda her iki türün metanol ekstraktlarının, *Pseudevernia furfuracea* (95.33 µg/ml) için en yüksek IC50 değerine sahip en güçlü antioksidan aktiviteleri gösterdiği belirlenmiştir. Liken ekstraktlarının, *P. glauca* için 0,08 mg/ml ila 2,5 mg/ml arasında saptanabilir MIC değerlerine sahip 11 bakteri suşuna karşı önemli anti bakteriyel aktiviteler gösterdiği tespit edilmiştir.

Önemli liken türlerinden biri olan *Platismatia glauca* (L.) W.L. Culb. & C.F. Culb.'nın insan lenfositleri üzerindeki etkilerinin incelenerek *P. glauca*'dan elde edilen metanol ve su ekstraktlarının hücreler üzerindeki sitotoksik aktivitelerinin 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür ve laktat dehidrogenaz testleri ile analiz edildiği deneysel çalışmada her iki ekstraktın tüm konsantrasyonlarının (6,25-200 mg/L) negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak ($p>0,05$) hücrelerdeki Toplam

Antioksidan Kapasite'yi yükselttiği ve aynı zamanda düşük konsantrasyonlarının genetik hasar meydana getirmediği belirlenmiştir. Sonuç olarak *P. glauca* likeninin doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceği gözlenmiştir (Emsen vd., 2018).

Seklic vd. (2018) *Pseudevernia furfuracea* ve *Platismatia glauca* likenlerinin metanol, aseton ve etil asetat ekstraktlarının kolorektal kanser (HCT-116 ve SW-480) hücre hatları üzerindeki sitotoksik, proapoptotik ve pro-antioksidan etkilerini araştırdıkları çalışmada kolorektal kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri, normal insan fibroblast (MRC-5) hücre dizisinden elde edilen etkilerle karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda *P. glauca* ekstraktlarının, 72 saat sonra ($IC_{50} < 40 \mu g/ml$) HCT-116 hücreleri üzerinde sitotoksik etkilere neden olurken, sadece metanol ve aseton ekstraktları, 24 saat sonra proapoptotik/nekrotik aktivite ile SW-480 hücreleri üzerinde sitotoksik etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca liken ekstraktların, kolorektal kanser hücre hatlarının hücre canlılığını ve göç potansiyelini büyük ölçüde değiştirmiş ve HCT-116 hücrelerinin tedavilere daha duyarlı olduğu ve araştırılan her iki liken türünün de antikanser aktiviteye sahip maddelerin kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Abdallah (2019) *P. glauca* liken tallusunun metanol ekstraktının bazı bakteri ve maya suşlarına karşı antimikrobiyal özelliklerini değerlendirmiştir. *P. glauca* ekstraktının *Candida albicans* mayasına karşı yüksek antifungal aktivite gösterdiğini ve buna göre *P. glauca* tallusunun metal ekstraktının, antimikrobiyal bir ilaç olarak kullanılabileceğini gösteren bazı bakteri yok edici özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir.

1.6.4. Genotoksisite çalışmaları

Kadmiyum (Cd) kirliliğinin biyoindikatörü olarak arpa (*Hordeum vulgare* L.) fidesi $30-120 mg l^{-1}$ aralığında kullanarak Cd konsantrasyonunun artması ile arpa fidelerinin kök uçlarında kök büyümesinin inhibisyonu ve toplam çözünür protein içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir. Cd muamelesini takiben kök uçlarının RAPD profillerinde normal fidelere kıyasla bant yokluğu, normal bantların kaybı ve yeni bantların görünümü gibi değişiklikler meydana gelmiştir. Ek olarak, değişikliklerin etkisinin doza bağlı olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, genomik kalıp stabilitesinin Cd konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir. Bu nedenle RAPD analizinin çevresel toksikoloji için bir araştırma aracı olarak ve Cd kirliliğinin bitkiler üzerindeki genotoksik etkilerinin tespiti için faydalı bir moleküler belirteç tahlili olduğu belirlenmiştir (Liu vd., 2005).

Barbunya (*Phaseolus vulgaris*) fidelerindeki ağır metallerin genotoksik etkilerinin RAPD analiziyle incelendiği çalışmada fideler 150 ve 350 $mg.l^{-1}$ konsantrasyonlarda iki ağır metale maruz bırakılmıştır. Polimorfizmler, muamele edilmiş numunelerde, muamele edilmemiş numuneye kıyasla DNA fragmanlarının varlığı ve/veya yokluğu olarak belirgin hale gelmiştir. 350 $mg.l^{-1}$ dozunda çok sayıda hem eksik bant hem de yeni amplifiye fragman gözlenmiştir. Ağır metallerin daha yüksek konsantrasyonlarında (350 $mg.l^{-1}$) RAPD profillerinin önemli ölçüde etkilendiği belirlenmiştir. Bu deneysel çalışmanın sonucunda ağır metale maruz bırakılmış ve bırakılmamış genomlar arasındaki karşılaştırma, RAPD analizinin çevresel kirleticilerin canlı organizmalarda DNA'nın yapısını nasıl değiştirdiğini değerlendirmek için kullanılabileceğini göstermiştir (Enan, 2006).

Tarımsal öneme sahip olan *Eruca sativa*'nın üç ağır metale (Zn, Pb ve Cd) maruz bırakıldığı araştırmada kök ve koleoptil uzunlukları üzerinde doza bağlı etkiler gözlemlenmiştir. Konsantrasyonu test edilen tüm bitkilerde kök uzunluğunun koleoptil uzunluğundan daha fazla etkilendiği belirtilmiştir. Her üç ağır metalde de genotoksik potansiyellerin sıralaması şu şekildedir: $Cd^{+2} > Pb^{+2} \geq Zn^{+2}$. Bu ağır metaller arasında yüksek konsantrasyonda Cd (150 mg/l) ve Pb (150 mg/l), fidelerin morfolojisinin değişmesiyle birlikte mutasyonlara neden olmuştur. Yüksek Cd konsantrasyonu altında kök ve koleoptil uzunlukları (cm), düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda Pb ve Zn ile muamele edilmiş fidelere kıyasla azalmıştır. 20 ISSR primeri kullanılmış, bunlardan 4'ü amplifiye olmamış, 3'ü tek bant vermiş geri kalan 13 primer 6 bant oluşturmuştur (Primer başına ortalama 4 bant). Amplifiye ürünler sergileyen 16 primer monomorfik bant vermiş; sadece 2 primerin (OPC-5 ve OPC-7), sırasıyla orta ve yüksek konsantrasyonlarda ağır metaller Cd ve Pb ile muamele edilen fidelerde benzersiz ekstra bant verdiği tespit edilmiştir (Al-Qurainy, 2010).

Kuraklık toleransına farklı tepkiler veren 6 yeni pirinç hattı ve 4 çeşit arasındaki genetik çeşitliliği tespit etmek amacıyla yapılan çalışmada rastgele amplifiye polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PCR) ve basit dizi tekrarları (ISSR) belirteçleri kullanılmıştır. Test edilen 16 RAPD primeri arasında, primer başına ortalama 5.2 bant (yaklaşık 252 ila 1232 bp arasında değişen) vermiştir ve sadece 5 bant polimorfiktir. Test edilen ISSR primerleri arasında primer başına ortalama 4.4 bant sayısına sahip (yaklaşık

80 ila 813 bp arasında değişen) 5 amplifiye polimorfik ISSR lokus tespit edilmiştir (Youssef vd., 2010).

Alüminyumun 2 *Plantago* türü, *Plantago almogravensis* ve *Plantago lagopus*'un kök ve yapraklarındaki mutajenik ve genotoksik etkilerinin ISSR belirteçleri kullanılarak ortaya konulduğu çalışmada her iki tür de 7 ve 21 gün boyunca 400 µM Al'a maruz bırakılmıştır. 10 ISSR primeri polimorfik bantlar üretmiştir. *P. almogravensis*'te Al varlığında ve yokluğunda sırasıyla köklerde 257 ve 258 bant, yapraklarda 255 ve 265 bant üretilmiştir. *P. lagopus*'ta aynı koşullar altında köklerde 279 ve 278 toplam bant, yapraklarda 275 ve 274 bant üretilmiştir. Al muamelesinden sonra ISSR profillerindeki değişiklikler, kontrollerle karşılaştırılarak bant kazancı ve kaybı değerlendirilmiş, sonuçlara göre genomik kalıp stabilitesindeki (GKS) değişikliklerin ISSR profilleri ile tespit edilebileceği ortaya konmuştur. Sonuç bu moleküler belirtecin, Al'in DNA profilleri üzerindeki etkilerini saptamak için iyi bir araç olduğunu, Al'in her iki türde de DNA bütünlüğüne önemli ölçüde müdahale etmediği, ancak *P. almogravensis*'te *P. lagopus*'a göre daha az ISSR kararlılığı ortaya koyduğunu göstermektedir (Correia vd., 2014).

Çeşitli konsantrasyonlarda $Pb(NO_3)_2$ solusyonlarında çimlenen domates (*Lycopersicum esculentum* L.) tohumları kuru ağırlık, toplam çözünür protein içeriği, kök uzunluğu ve nihayetinde inhibitör oranı gibi popülasyon parametrelerinin ölçüldüğü genotoksisite çalışmasında RAPD profillerinde bantların görünümü veya kaybolması olarak yansıtılan kurşunun genotoksik etkisi tespit edilmiştir. Metal toksisitesinin test edilen bitkilerde ortaya çıkan ilk etkisinin kök uzamasının inhibisyonu veya aktivasyonu olduğu belirlenmiştir (Soydam Aydın vd., 2015).

Nicosulfuron (NS) herbisitinin çimlenmiş *Zea mays* (mısır) tanelerinin kökleri üzerindeki genotoksik etkilerini araştırmak için NS 24, 48 ve 72 saat boyunca farklı dozlarda (50, 125, 250, 500 ve 750 ppm) uygulanmıştır. Köklerden DNA izolasyonu yapılarak *Zea mays* genomundan DNA fragmanları, RAPD (Rastgele Amplifiye Edilmiş Polimorfik DNA) ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) primerleri kullanılarak PCR tekniği ile amplifiye edilmiştir. RAPD ve ISSR-PCR'nin analiz edilen elektroforez profilleri, kontrole kıyasla yeni bantların ortaya çıkması veya bantların kaybolması gibi bazı değişiklikleri açıkça göstermiştir. RAPD ve ISSR-PCR analizleri, NS'nin *Z. mays*

genomunda ciddi DNA dizi değişikliklerine neden olduğunu açıkça ortaya koymuştur (Eroz-Poyraz ve Poyraz, 2018).

On çeşit *Gentiana* L. taksonunun metanol ekstraktlarının şimlenmiş *Allium cepa* L. kök uçlarında genotoksisitesinin belirlendiği araştırmada *Gentiana* ekstraktlarının genotoksisitesinin tespiti için RAPD ve ISSR-PCR teknikleri kullanılmıştır. 4 RAPD ve 3 ISSR primeri, tüm DNA örnekleri için 10 RAPD ve 10 ISSR primeri arasında tekrarlanabilir polimorfik ve monomorfik bant modelleri üretmiştir. *A. cepa*'nın *Gentiana* ekstraktları ile muamele edilmiş genomik DNA örneğinden amplifiye edilen bant profillerinde bant yoğunluğu değişikliği, bantların kaybolması ve yeni bantların ortaya çıkmasıyla birlikte ciddi bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. RAPD ve ISSR-PCR bant profillerinde zamana ve konsantrasyona bağlı olarak herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Eröz Poyraz vd., 2018).

Allium cepa köklerinde *Adhatoda vasica* yapraklarının su ve alkol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının genotoksisitesini saptamak için RAPD-PCR moleküler tekniğinin uygulandığı şalışmada alkol ve su ekstraktları için sırasıyla (%1, %2, %3, %5 ve %7,5) ve (%10, %15, %20, %30 ve %40) konsantrasyonlar kullanılmıştır. şalışmada kullanılan 10 rastgele primerden, 8 tanesi polimorfik bant göstermiştir. Sonuçlar sulu ekstrakt için en çok toksik olan konsantrasyonların %40 ve alkolik ekstrakt için %7,5 olduğunu ve bu konsantrasyonların pestisit olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Jasim ve Jawad, 2020).

Cucumis melo (Kavun) fidelerinin kök ve sürgünlerinde arsenik (As) kaynaklı genotoksisiteyi RAPD-PCR ve comet deneyleri kullanılarak araştırıldığı şalışmada kavun fideleri 0, 100, 200, 300 ve 400 µM konsantrasyonlarında 14 gün süreyle arseniğe (As) maruz bırakılarak As birikim düzeyi, büyüme parametrelerindeki değişimler, DNA hasarı incelenmiştir. Kavun fidelerinde artan As konsantrasyonu ile büyümede azalma gözlenmiştir. Total As sürgün ve kök dokusundaki birikimler doza bağlı olarak artmıştır. RAPD – PCR analizinde 26 primer tekrarlanabilir sonuçlar vermiş ve kontrol fidelerinde toplam 128 bant üretmiştir. RAPD profillerinde kontrole kıyasla As ile muamele edilmiş fidelede yeni bantların kaybı veya görünümu gibi anlamlı değişiklikler meydana gelmiştir (Surgun-Acar, 2021).

1.7. Çalışmanın Amacı:

Bu tez çalışmasının amacı epifitik liken *Platismatia glauca* aseton ekstraktının yabani otlardan *Portulaca oleracea* (semizotu), *Amaranthus retroflexus* (kırmızı köklü horozibiği), *Setaria verticillata* (yapışkan ot) ve kültür bitkilerinden *Oryza sativa* (çeltik) üzerindeki allelopatik ve genotoksik etkilerinin tespit edilmesi ve *P. glauca* likeninin doğal bir herbisit olarak kullanım potansiyelinin belirlenmesidir.



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

P. glauca likeni, yabancı ot ve kültür bitkisi tohumları çalışmanın ana materyalini oluşturmaktadır. Çalışmada kullanılan *P. glauca* liken örnekleri Bolu, Abant Dağları, Dereceören Köyü'nün Batısı'ndaki ormanlık alandan, *Abies nordmanniana* gövdesi üzerinden 2015 yılında Prof. Dr. Mehmet Candan tarafından toplanmış ve tanımlanmıştır.

Çalışmada yabancı otlardan *Amaranthus retroflexus* (kırmızı köklü horozibiği), *Portulaca oleracea* (semizotu), *Setaria verticillata* (yapışkan ot); kültür bitkilerinden *Oryza sativa* (çeltik) tohumları kullanılmıştır. Yabancı otlardan *Amaranthus retroflexus* (kırmızı köklü horozibiği) ve *Setaria verticillata* (yapışkan ot) tohumları Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme tarlaları kenar kısımlarından Prof. Dr. Emel Sözen tarafından toplanmış, Nazlıhan Aydın tarafından tanımlanmıştır. Bitkiler laboratuvarında gölgede kurutularak tohumları çıkarılmıştır. Elde edilen tohumlar çalışmada kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. *Portulaca oleracea* (semizotu) tohumları İstanbul Tarihi Eminönü Çiçek Pazarı'ndan (Arzuman Tohumculuk, Purslane çeşidi) temin edilmiştir. Kültür bitkisi *Oryza sativa* (çeltik) Osmancık 97 çeşidine ait tohumlar ise Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Platismatia glauca liken ekstraktının hazırlanması

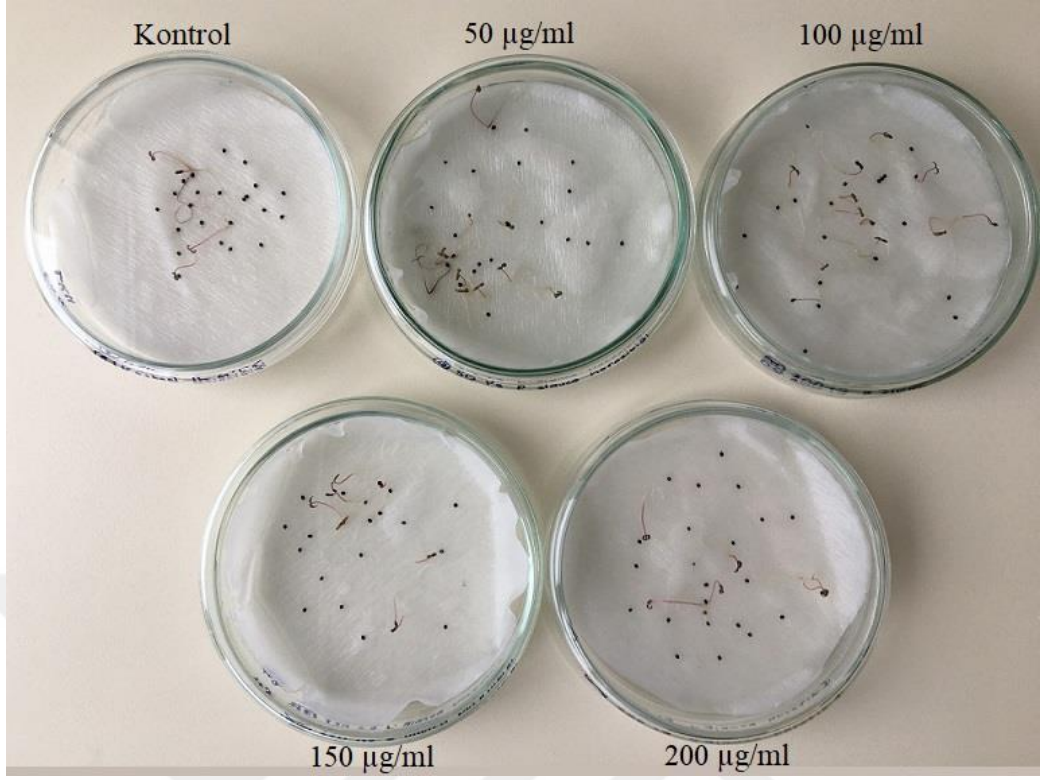
Öncelikle *P. glauca* örneği temizlenmiş ve asetonda bekletilmiştir. Filtre kağıdından süzülen liken örneği Rotary Evaporatör'de 280 mbar, 42 °C, 104 rpm'de 1 saat bekletilerek çözücü buharlaştırılmıştır. Balon jojenin etrafına sabitlenen liken katı maddesi kazınarak çıkarılmıştır. Elde edilen liken katı maddesine 1:1 oranında aseton eklenerek *P. glauca* aseton ekstraktı hazırlanmıştır. Ekstrakt içerisine eşit oranda % 0,1 Tween 20 eklenerek total hacim 5 ml olacak şekilde distile suyla tamamlanmıştır. Bu çözelti farklı konsantrasyonlarda seyreltilerek cam kaplar içerisinde ışık almayacak şekilde, alüminyum folyoya sarılarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Liken ekstraktının 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozları yabancı ot tohumlarının çimlendirilmesinde; 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozları ise kültür bitkisi çeltik tohumlarının çimlendirilmesinde kullanılmıştır.

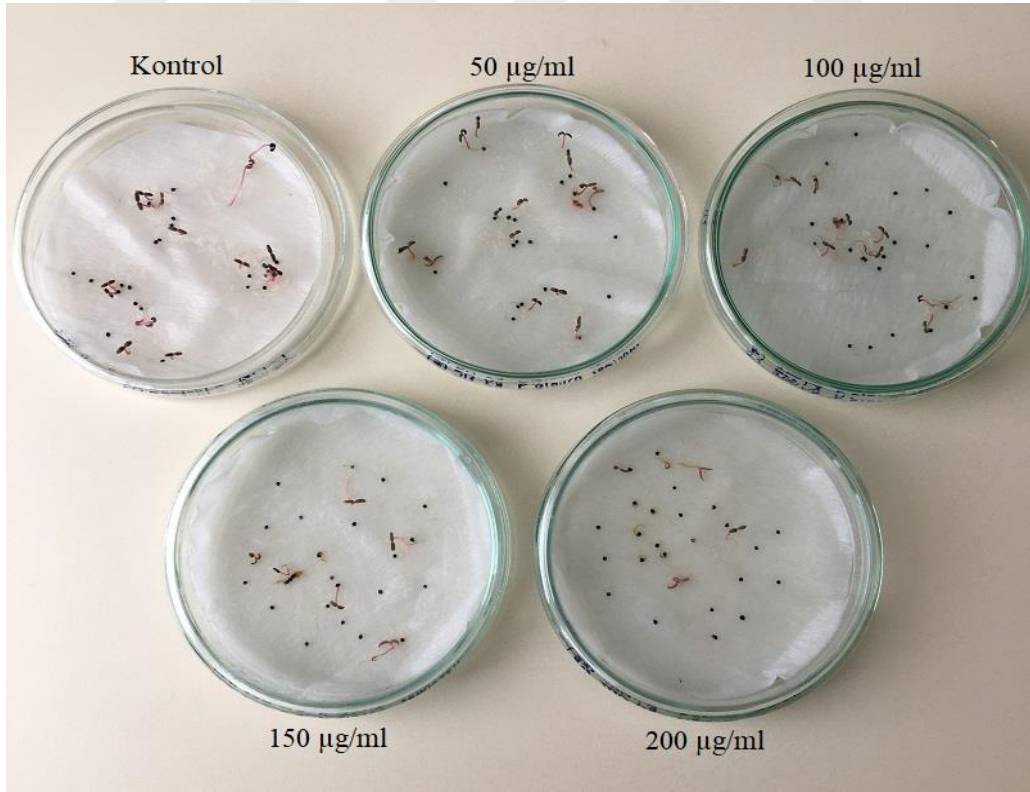
2.2.2. Tohum çimlendirme deneyleri

Çalışmalar Eskişehir Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Bitki Fizyolojisi ve Genetik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmaya başlamadan önce tohumların dormansisinin kırılıp kırılmadığını ve liken aseton ekstraktının doz ayarlamalarını belirlemek için ön çimlendirme denemeleri ve doz hesaplamaları yapılmıştır. Öncelikle tohumlar patojenlerle bulaşık olma ihtimali düşünülerek %1'lik sodyum hipokloritte (NaClO) 1 dakika bekletildikten sonra 4 defa 1'er dakika süreyle distile su ile yıkanarak sterilizasyonları sağlanmıştır. Çalışmada kullanılacak olan petri, ependorf, pens, kurutma kâğıdı gibi araç ve gereçler önceden otoklavda sterilize edilmiş, ependorf ve petriler steril kabinde etiketlenmiştir. Ekimler steril kabinde, çimlendirme işlemi iklim kabininde gerçekleştirilmiştir. Deneyler 2 kat kurutma kâğıdı içeren 9 cm'lik cam petrilere, yabancı otlar için petride 25 tohum; kültür bitkisi için 10 tohum olacak şekilde 4 tekrarlı olarak tasarlanmıştır.

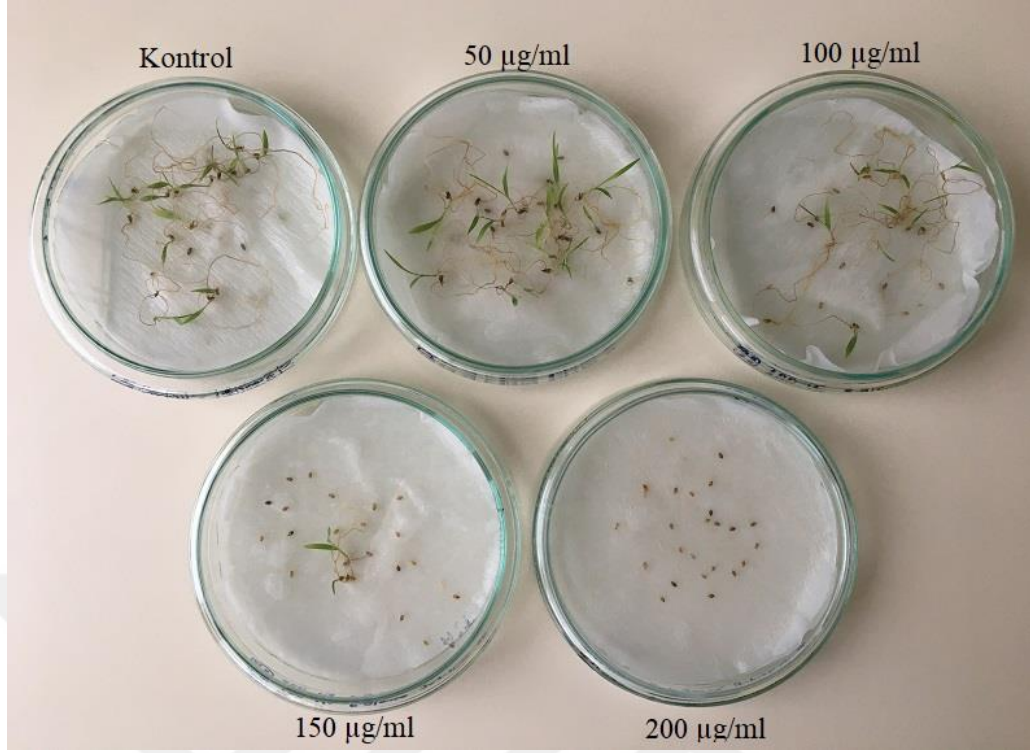
Sağlam görünümlü, parlak renkli tohumlardan seçilerek 1,5'luk ependorf içerisine konulmuş, üzerine hazırlanan *P. glauca* aseton ekstraktı çalışma solüsyonu dozlarından eklenerek bir gece laboratuvarında karanlık ortamda bekletilmiştir. Ertesi gün petrilere ekimleri yapılmıştır. Ekim yapılırken çalışma solüsyonundaki asetonun steril kabinde havalandırma vasıtasıyla uçması sağlanmış, tohumlar pens yardımıyla kurutma kâğıtları üzerine yerleştirildikten sonra petrilerin kapağı kapatılarak, Sanyo-MLR-350H marka iklim kabininde yabancı ot tohumları 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyotta, 28 °C'de 30 gün boyunca; çeltik tohumları ise 13 saat aydınlık/ 11 saat karanlık fotoperiyotta, 24 °C'de 14 gün çimlenmeye bırakılmıştır. Aşağıda çalışılan tüm bitki tohumlarının çimlenme deneylerinden fotoğraflar gösterilmektedir (Görsel 2.1- 2.4).



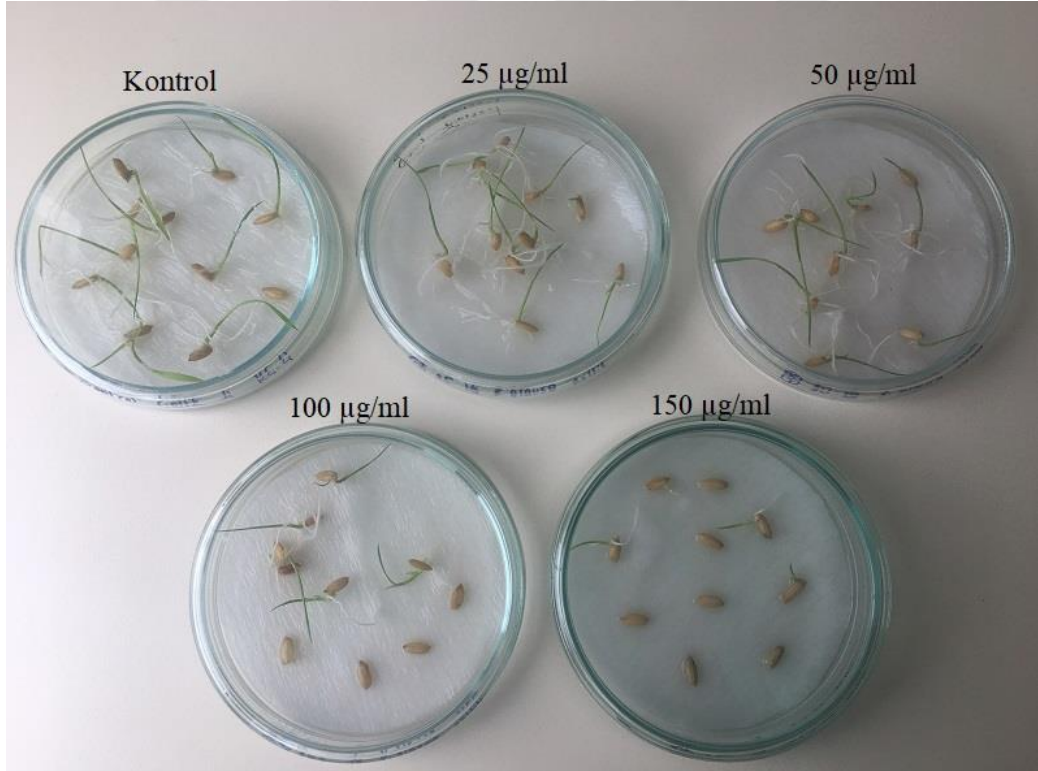
Görsel 2.1. *Horozibiği* çimlendirme çalışmalarından bir görünüm



Görsel 2.2. *Semizotu* çimlendirme çalışmalarından bir görünüm



Görsel 2.3. *Yapışkan ot* çimlendirme çalışmalarından bir görünüm



Görsel 2.4. *Çeltik* çimlendirme çalışmalarından bir görünüm

Tohumlar günlük olarak sayılarak ihtiyaçlarına göre distile su ile sulamaları yapılmıştır. Radikula kurutma kağıdına temas ettiğinde tohum çimlenmiş kabul edilmiştir. Çimlenme yüzdesi (Yücel, 2000)'e göre aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\text{Çimlenme Yüzdesi} = (\text{Çimlenen Tohum Sayısı} / \text{Toplam Tohum Sayısı}) \times 100$$

Çimlenme deneylerinden elde edilen sonuçlara SPSS (Statistics 20 package) istatistik programında One-Way ANOVA testi uygulanarak elde edilen ortalama değerler arasındaki farklılıklar Tukey HSD testi ($p < 0.05$ duyarlılık) ile belirlenmiştir. Ayrıca, çimlenme deneylerinin 14. gününde çimlenen fidelerin yapraklarından DNA izolasyonu için materyal toplanmıştır. Kesilen yaprak örnekleri alüminyum folyolara sarılarak etiketlenmiş ve -20°C 'de saklanmıştır.

2.2.3. DNA izolasyonu

Tüm yaprak örneklerinden 2X CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) yöntemiyle DNA izolasyonu yapılmıştır. 2X CTAB lizis tamponu bileşenleri Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1. 2X CTAB lizis tampon bileşenleri

NaCl	4.095 gr
Tris (1 M pH=8)	5 ml
CTAB	1 gr
EDTA (0.5 M)	2 ml
PVP	0.5 gr

Çözeltinin son hacmi distile su ile 50 ml'ye tamamlanarak otoklavlanmış ve sterilizasyonu sağlanmıştır. Daha sonra tampona 200 µl β-merkaptoetanol eklenerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

2X CTAB DNA izolasyon protokolü:

1. Sıvı azotta havan yardımıyla ezilerek pudra haline getirilmiş olan bitki dokusu örnekleri 2 ml'lik ependorf tüplere aktarılmıştır.

2. Çalışmadan hemen önce β -merkaptotanol içeren 2X CTAB tamponu su banyosunda 62 °C’de ısıtılmıştır.
3. Ependorf üzerine 700 μ l 2X CTAB tamponundan konularak su banyosunda 65 °C’de 30 dk inkübasyona bırakılmış ve her 5 dakikada bir tüpler yavaşça aşağı yukarı çevrilmiştir.
4. Su banyosundan alınan her bir örneğe 700 μ l kloroform: isoamil alkol eklenerek tüpler 10 dk boyunca yavaşça elimizde aşağı yukarı çevrilerek karışması sağlanmıştır.
5. Ependorf tüpler 10000 rpm’de oda ısısında 10 dk boyunca santrifüj edilmiştir.
6. Santrifüj sonrası üst fazdan alınan sıvı kısım 1,5 ml’lik ependorf tüplere aktarılmıştır. Aktarılan miktar μ l cinsinden kaydedilmiştir.
7. Aktarılan süpernatant DNA miktarının 2/3’ü kadar -20 °C’deki isopropanolden eklenmiştir.
8. Tüpler yavaşça çalkalanarak -20 °C’de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır.
9. Inkübasyondan sonra örnekler 10000 rpm’de oda ısısında 10 dk santrifüj edilmiş ve peletin düşmemesine dikkat edilerek süpernatant dökülmüştür.
10. Örneklerin üzerine 250 μ l %70’lik etil alkol eklenerek 5 dk boyunca 10000 rpm santrifüj edilmiş, etil alkol pelete dikkat edilerek dökülmüştür. Bu etil alkol ile yıkama işlemi 2 defa gerçekleştirilmiştir.
11. Daha sonra fazla etil alkolün uzaklaşması için örneklerle santrifüjde kısa spin attırılmıştır.
12. Spin sonrası ependorf tüplerin dip kısmında biriken etil alkol damlaları 20 μ l’lik mikropipetle dikkatlice çekilmiş, tüpler kapakları açık şekilde steril kabinde 20 dk bırakılarak peletler kurutulmuştur.

13. Kuruyan DNA peleti büyüklüğüne göre 100-150 µl steril deiyonize suda çözündürülmüştür.

2.2.3.1. DNA miktar ve saflık tayini

DNA örneklerinin miktar ve saflık tayinleri Nanodrop spektrofotometre cihazında (ND-1000, Wilmington, USA) 260 ve 280 nm dalga boylarında okunarak tespit edilmiştir. DNA kalitesini belirlemek için DNA örneklerinden 8 µl alınarak %0,8'lik agaroz jelde 90 V'ta 30 dk yürütülmüştür. Jelde tek, parlak bir bant olarak gözlenen DNA örnekleriyle çalışmaya devam edilmiştir. Nanodrop ölçüm sonuçlarına göre DNA örnekleri PCR çalışmalarında kullanılmak üzere µl'sinde 2 ng olacak şekilde steril distile su ile seyreltilmiştir.

2.2.4. PCR Analizleri

2.2.4.1. ISSR PCR

ISSR-PCR analizi için liken aseton ekstraktının farklı dozlarına maruz bırakılan bitkilerden elde edilen DNA örnekleri ve Oligomer Biyoteknoloji A.Ş. laboratuvarlarında sentezletirilen 4 adet ISSR primeri kullanılmıştır (Tablo 2.2). Primerlerin bağlanma sıcaklığının belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$(A + T) \times 2 + (G + C) \times 4$$

Tablo 2.2. Amplifikasyonda kullanılan ISSR primerleri ile ilgili ayrıntılı bilgiler

Primer no	Primerin adı	Primer dizisi (5' → 3')	Bağlanma sıcaklığı (°C)	Primer uzunluğu (bç)	G/C (%)
810	(GA) ₈ T	GAG AGA GAG AGA GAG AT	50	17	44,44
812	(GA) ₈ A	GAG AGA GAG AGA GAG AA	50	17	47,06
813	(CT) ₈ T	CTC TCT CTC TCT CTC TT	50	17	47
814	(CT) ₈ A	CTC TCT CTC TCT CTC TA	50,4	17	47,1

PCR reaksiyonları toplam 15 µl hacimde 1X Taq Buffer, 2 µM $MgCl_2$, 2,5 µM dNTP, 2,5 µM Primer, 5 ng kalıp DNA ve 1U Taq polimeraz enzimi kullanılarak hazırlanmıştır (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. *PCR bileşenleri*

Bileşen	Miktar
dH_2O	7,4 µl
10X Taq Buffer (Fermentas)	1,5 µl
25 Mm $MgCl_2$ (Fermentas)	1,2 µl
2,5 mM dNTP	1,2 µl
2,5 mM Primer	1 µl
Kalıp DNA	2,5 µl
Taq DNA Polimeraz (Fermentas)	0,2 µl
Toplam	15 µl

Uygulanan PCR döngü koşulları ise Tablo 2.4'te verilmiştir. PCR döngü koşulları öndenatürasyon için 94 °C'de 4 dk, denatürasyon için 94 °C'de 45 sn, bağlanma için 50-53 °C'de (primer bağlanma ısısına bağlı olarak) 45 sn, uzama için 72 °C'de 90 sn ve son uzama için 72 °C'de 7 dk olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamaları "1 döngü" olarak kabul edilerek 45 defa tekrarlanmıştır. PCR reaksiyonlarında kontaminasyon olup olmadığını test etmek amacıyla her primer için DNA içermeyen bir negatif kontrol de ilave edilmiştir. Bant profillerinden emin olmak için PCR'lar birkaç kez tekrarlanmıştır. Deneyler Applied Biosystems Veriti gradient termal döngü cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.4. ISSR PCR döngü koşulları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Öndenatürasyon	94	4 dk	1
Denatürasyon	94	45 sn	45
Bağlanma	50-53	45 sn	45
Uzama	72	90 sn	45
Son uzama	72	7 dk	1

2.2.4.2. RAPD PCR

RAPD-PCR analizi için liken aseton ekstraktının farklı dozlarına maruz bırakılan bitkilerden elde edilen DNA örnekleri ve Oligomer Biyoteknoloji A.Ş. laboratuvarlarında sentezlettirilen 4 adet RAPD primeri kullanılmıştır (Tablo 2.5). Primerlerin bağlanma sıcaklığının belirlenmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$(A + T) \times 2 + (G + C) \times 4$$

Tablo 2.5. Amplifikasyonda kullanılan RAPD primerleri ile ilgili ayrıntılı bilgiler

Primer Adı	Primer dizisi (5' → 3')	Bağlanma sıcaklığı (°C)	Primer uzunluğu (bp)	G/C (%)
PM3	TGC GCC CTT C	34	10	70
PM10	CTG CGC TGG A	34	10	70
OPA2	TGC CGA GCT G	34	10	70
D11	GTC CCG ACG A	34	10	70

RAPD PCR reaksiyonları toplam 15 µl hacimde 1X Taq Buffer, 2 µM $MgCl_2$, 2,5 µM dNTP, 2,5 µM Primer, 2,5 µl kalıp DNA ve 1U Taq polimeraz enzimi kullanılarak hazırlanmıştır (Tablo 2.6). PCR reaksiyonlarında kontaminasyon olup olmadığını test

etmek amacıyla her primer için DNA içermeyen bir negatif kontrol de ilave edilmiştir. Bant profillerinden emin olmak için PCR reaksiyonları birçok kez tekrarlanmıştır.

Tablo 2.6. PCR Bileşenleri

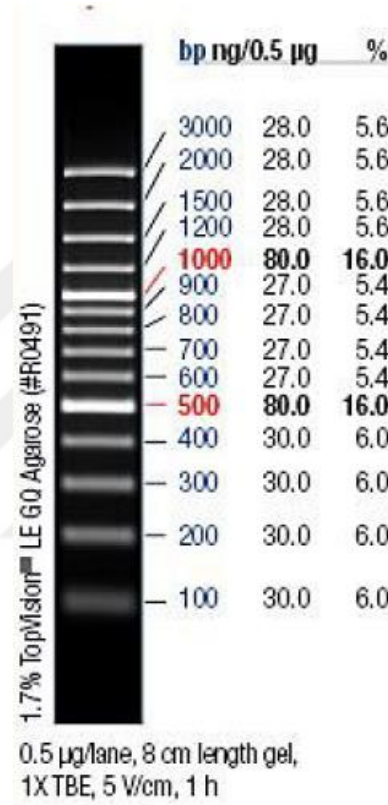
Bileşen	Miktar
<i>dH₂O</i>	7,4 µl
10X Taq Buffer (Fermentas)	1,5 µl
25 Mm <i>MgCl₂</i> (Fermentas)	1,2 µl
2,5 mM dNTP	1,2 µl
2,5 mM Primer	1 µl
Kalıp DNA	2,5 µl
Taq DNA Polimeraz (Fermentas)	0,2 µl
Toplam	15 µl

Uygulanan RAPD PCR döngü koşulları ise Tablo 2.7’de verilmiştir. RAPD PCR reaksiyon koşulları öndenatürasyon için 95 °C 3 dk, denatürasyon için 94 °C 1 dakika, bağlanma için 30-34 °C (primer bağlanma ısısına bağlı olarak) 1 dakika, uzama için 72 °C 2 dakika ve son uzama için 72 °C 7 dakika olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Denatürasyon, bağlanma ve uzama aşamaları "1 döngü" olarak kabul edilerek ve 40 defa tekrarlanmıştır. Deneyler Applied Biosystems Veriti gradient termal döngü cihazı ile gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonları farklı zamanlarda tekrar edilerek bu reaksiyonlarda bantların aynı şekilde oluştuğundan emin olunmuştur.

Tablo 2.7. RAPD PCR döngü koşulları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Öndenatürasyon	95	3 dk	1
Denatürasyon	94	1 dk	40
Bağlanma	30-34	1 dk	40
Uzama	72	2 dk	40
Son uzatma	72	7 dk	1

ISSR PCR ve RAPD PCR ürünleri yatay jel elektroforezi (Thermo, Midicell Promo) ile 2 µl RedSafe (İntron Biotechnology) içeren %1,5'lik agaroz jel üzerinde ayrılmıştır. Her bir kuyucuğa 6 µl DNA ile 2 µl 6X DNA loading dye (Thermo Scientific) boyası karıştırılarak yükleme yapılmıştır. Bant büyüklüklerinin belirlenmesi amacıyla her jelde ilk kuyucuğa 100 bp'lik DNA ladder (Fermentas) yüklenmiştir (Görsel 2.5). 90 V'ta 40 dk yürütülmüştür. Agaroz jeller yürütme işleminden sonra Uvitec Biolab marka jel dökümantasyon sistemi ile görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır.



Görsel 2.5. Fermentas Gene Ruler 100 bp DNA ladder Plus

2.2.4.3. Veri analizi

Her bir primere ait jel görüntüsü Total Lab CLIQS 1D Programı ile analiz edilmiştir. Liken ekstraktı uygulanan test grupları ve kontrol grubuna ait bant profilleri karşılaştırılarak oluşan yeni bantlar ve ortadan kaybolan bantlar için skorlama yapılmıştır. ISSR ve RAPD profillerinde var olan bantlar (1), olmayan bantlar ise (0) olarak değerlendirilerek ikili matris oluşturulmuştur. Kontrol dozunda bulunup diğer dozlarda bulunmayan veya kontrole göre yeni oluşan bantlar polimorfik olarak değerlendirilmiş; yeni oluşan ve kaybolan bant sayıları toplanarak polimorfik bant sayısı elde edilmiştir. Elde edilen veriler kullanılarak kontrol ve dozlar arasındaki genetik benzerlik değerleri

Jaccard eşitliği ile hesaplanmış, UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) metodu ile dozlar arasındaki genetik ilişkileri gösteren dendrogram elde edilmiştir. Genotoksik etkiler, elde edilen matris tablosundaki polimorfik bantların sayılması ve genomik kalıp stabilite (GKS) yüzdesi (% GTS: Genomic Template Stability) hesaplanmasıyla belirlenmiştir. Kontrol grubunun GKS yüzdesi 100 olarak kabul edilerek konsantrasyonlarda hesaplanan GKS yüzdesinin artma veya azalmasına göre değerlendirme yapılmıştır.

Genomik kalıp stabilitesi (GKS) yüzdesi her birey için aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

GKS Yüzdesi: $100 - 100 \cdot a/n$

a: Her örnekteki toplam polimorfik bant sayısı

n: Kontrol grubundaki toplam bant sayısı

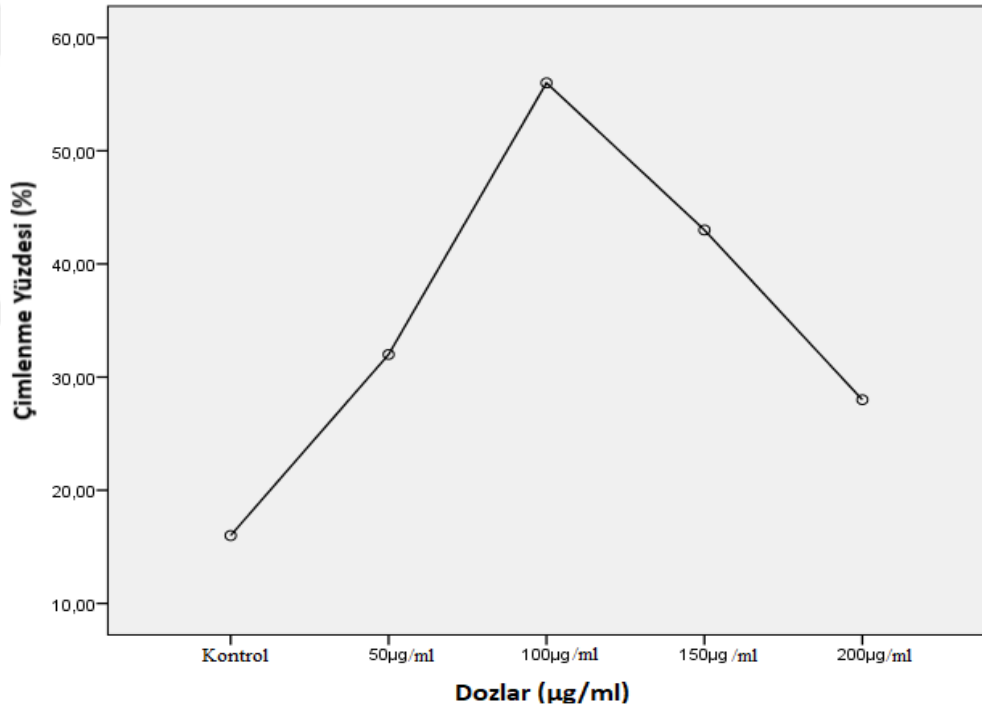
3. BULGULAR

3.1. *Platismatia glauca* Aseton Ekstraktının Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkileri

Amaranthus retroflexus (horozibiği), *Portulaca oleracea* (semizotu), *Setaria verticillata* (yapışkan ot) ve *Oryza sativa* (çeltik) türlerinde *Platismatia glauca* aseton ekstraktının farklı dozlarının tohum çimlenmesi üzerine etkileri araştırılmış, aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

3.1.1. Liken Ekstraktının *Amaranthus retroflexus* (Horozibiği) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi

P. glauca aseton ekstraktının 0 (Kontrol), 50, 100, 150, 200 µg/ml dozlarının Horozibiği tohum çimlenmesi üzerine etkileri Şekil 3.1 ve Tablo 3.1’de verilmiştir.



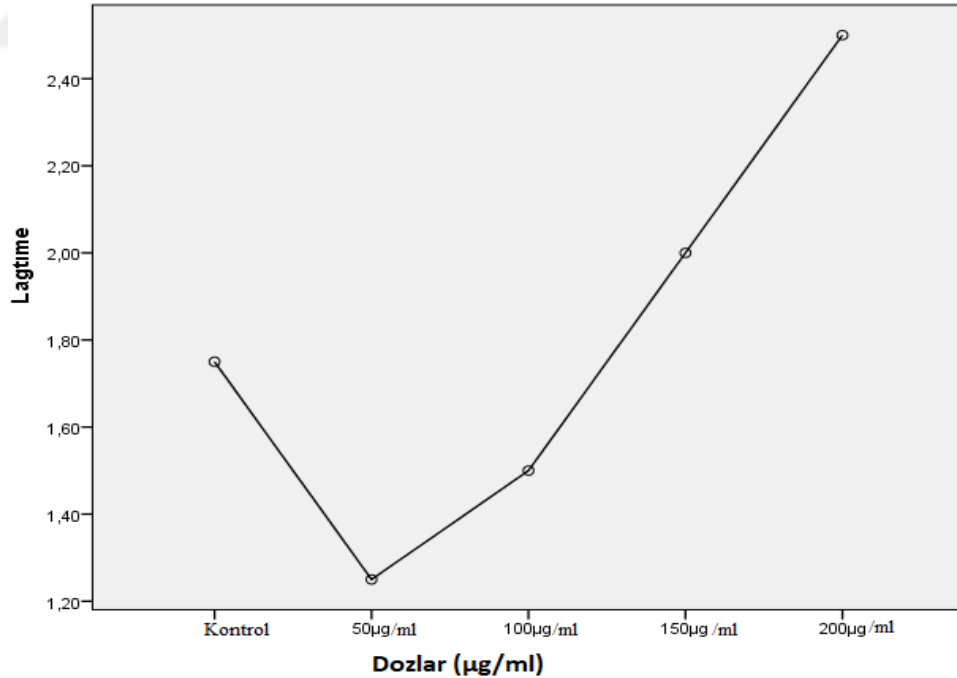
Şekil 3.1. Horozibiği çimlenme yüzdesi (%) grafiği

Şekil 3.1’de görüldüğü gibi *P. glauca* liken aseton ekstraktının 100 µg/ml dozuna kadar horozibiği tohumlarının çimlenmesinde artış, 100 µg/ml dozundan sonra ise azalış tespit edilmiştir. Kontrol grubunda tohumların çimlenme oranı % 16 iken, bu oran 50 µg/ml’lik dozlarda % 32, 100 µg/ml dozunda % 56’ya çıkmıştır. 150 µg/ml dozunda % 43’e düşen çimlenme oranı 200 µg/ml’lik doz uygulamasında iyice gerilemiş ve % 28’e düşmüştür.

Tablo 3.1. *P. glauca* aseton ekstraktının farklı dozlarında *Horozibiği* tohumlarının çimlenme sonuçları. Tabloda ortalama ve standart sapma değerleri görülmektedir. (* Aynı harfle ifade edilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir, Tukey HSD, $p>0.05$)

Horozibiği (<i>A. retroflexus</i>)	Çimlenme Yüzdesi (%)
Kontrol	16 ± 8^c
50 $\mu\text{g/ml}$	$32 \pm 10,3^{bc}$
100 $\mu\text{g/ml}$	$56 \pm 7,3^a$
150 $\mu\text{g/ml}$	43 ± 10^{ab}
200 $\mu\text{g/ml}$	28 ± 8^{bc}

Çimlenme deneylerinden elde edilen sonuçlara SPSS (Statistics 20 package) istatistik programında One-Way ANOVA testi uygulanarak elde edilen ortalama değerler arasındaki farklılıklar Tukey HSD testi ($p<0.05$) ile belirlenmiştir. Tukey HSD testi kullanılarak gerçekleştirilen ikili karşılaştırmalarda (Tablo 3.1) çimlenme yüzdesi bakımından Kontrol grubu ile 100 ve Kontrol grubu ile 150 $\mu\text{g/ml}$ dozları arasında anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile 50 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ dozları arasında ise anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

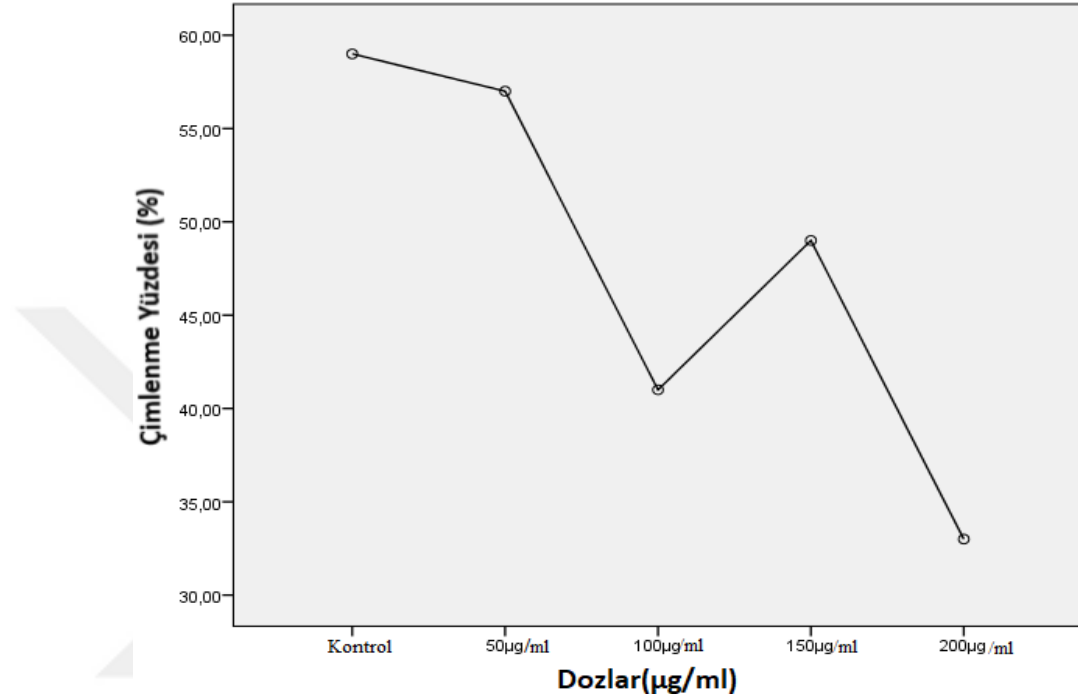


Şekil 3.2. *Horozibiği* Lag time grafiği

Şekil 3.2’de görüldüğü gibi Kontrol (0 $\mu\text{g/ml}$) grubuna kıyasla 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamalarında ilk tohumun çimlenmesine kadar geçen gün sayısının uzadığı tespit edilmiştir.

3.1.2. Liken Ekstraktının *Portulaca oleracea* (Semizotu) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi

P. glauca aseton ekstraktının 0 (Kontrol), 50, 100, 150, 200 µg/ml dozlarının Semizotu tohum çimlenmesi üzerine etkileri Şekil 3.3 ve Tablo 3.2’de verilmiştir.



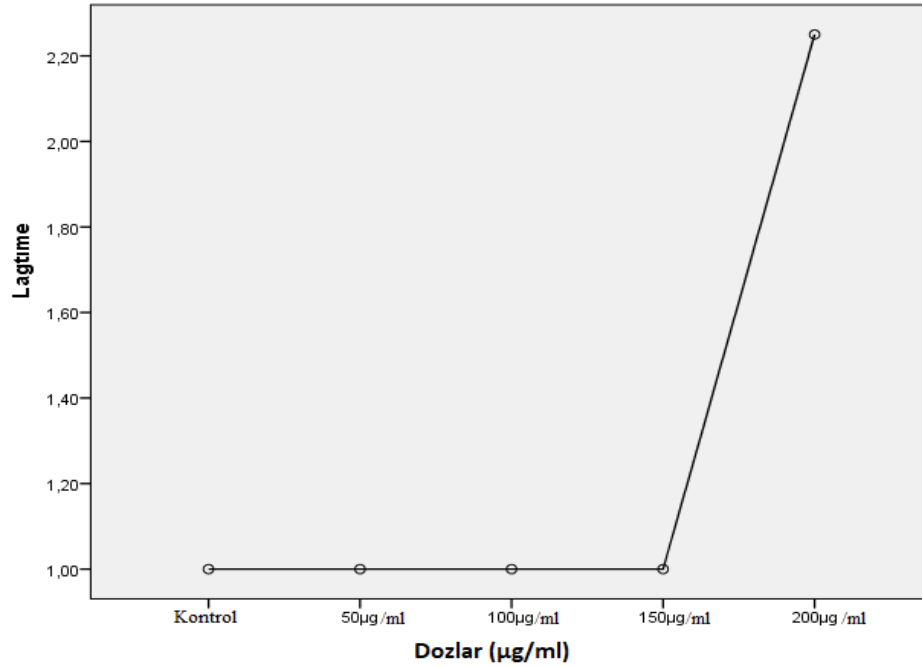
Şekil 3.3. *Semizotu* çimlenme yüzdesi (%) grafiği

Şekil 3.3’te görüldüğü gibi semizotu tohumlarının çimlenme yüzdesinin kontrol dozunda en yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Çimlenmenin *P. glauca* aseton ekstraktının dozlarına bağlı olarak azaldığı fakat 150 µg/ml dozunda çimlenme oranında artış olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda tohumların çimlenme oranı %59 iken, bu oran 50 µg/ml’lik dozlarda %57, 100 µg/ml dozunda %41’e düşmüştür. 150 µg/ml dozunda %49’a yükselen çimlenme oranı 200 µg/ml’lik doz uygulamasında iyice gerilemiş ve %33’e düşmüştür.

Tablo 3.2. *P. glauca* aseton ekstraktının farklı dozlarında *Semizotu* tohumlarının çimlenme sonuçları. Tabloda ortalama ve standart sapma değerleri görülmektedir. (* Aynı harfle ifade edilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir, Tukey HSD, $p>0.05$)

Semizotu (<i>P. oleracea</i>)	Çimlenme Yüzdesi (%)
Kontrol	59 ± 5^a
50 $\mu\text{g} / \text{ml}$	$57 \pm 3,8^{ab}$
100 $\mu\text{g} / \text{ml}$	$41 \pm 6,8^{bc}$
150 $\mu\text{g} / \text{ml}$	49 ± 11^{abc}
200 $\mu\text{g} / \text{ml}$	$33 \pm 10,4^c$

Çimlenme deneylerinden elde edilen sonuçlara SPSS (Statistics 20 package) istatistik programında One-Way ANOVA testi uygulanarak elde edilen ortalama değerler arasındaki farklılıklar Tukey HSD testi ($p<0.05$) ile belirlenmiştir. Tukey HSD testi kullanılarak gerçekleştirilen ikili karşılaştırmalarda (Tablo 3.2) çimlenme yüzdesi bakımından Kontrol ile 100 ve Kontrol ile 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozları arasında anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol ile 50 ve Kontrol ile 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozları arasında ise anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).



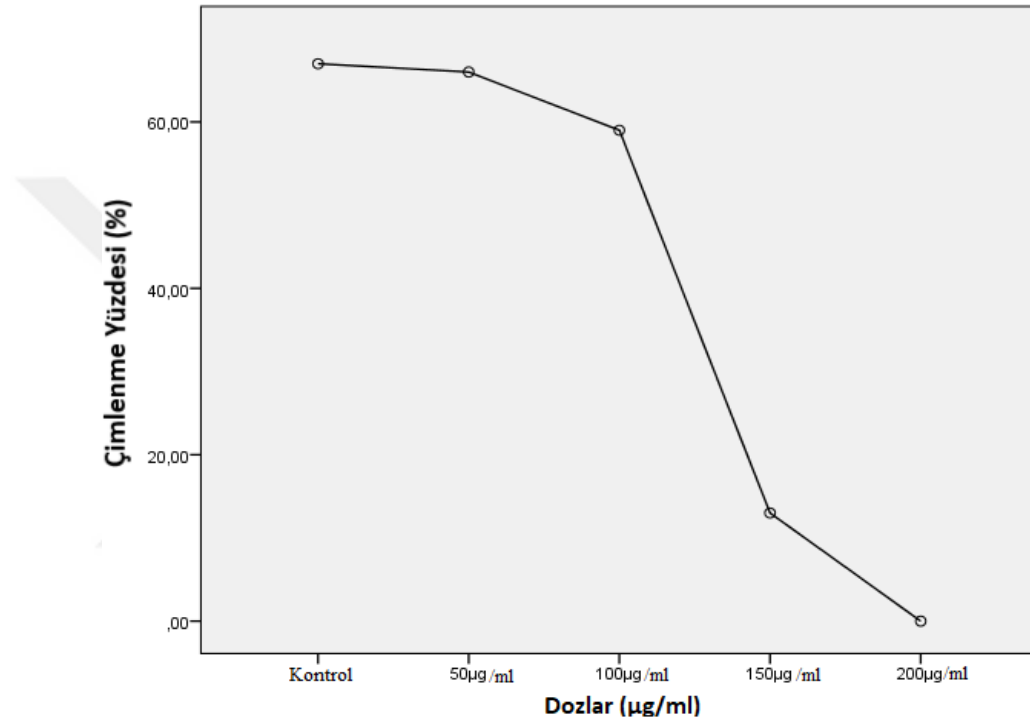
Şekil 3.4. *Semizotu* Lag time grafiği

Şekil 3.4'te görüldüğü gibi Kontrol, 50, 100 ve 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz uygulamalarında ilk tohum çimlenmesine kadar geçen gün uzunluğunun aynı olduğu; Kontrol (0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

dozuna kıyasla 200 µg/ml doz uygulamalarında ilk tohum çimlenmesine kadar geçen gün sayısının belirgin bir şekilde uzadığı tespit edilmiştir.

3.1.3. Liken Ekstraktının *Setaria verticillata* (Yapışkan Ot) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi

P. glauca aseton ekstraktının 0 (Kontrol), 50, 100, 150, 200 µg/ml dozlarının yapışkan ot tohum çimlenmesi üzerine etkileri Şekil 3.5 ve Tablo 3.3'te verilmiştir.



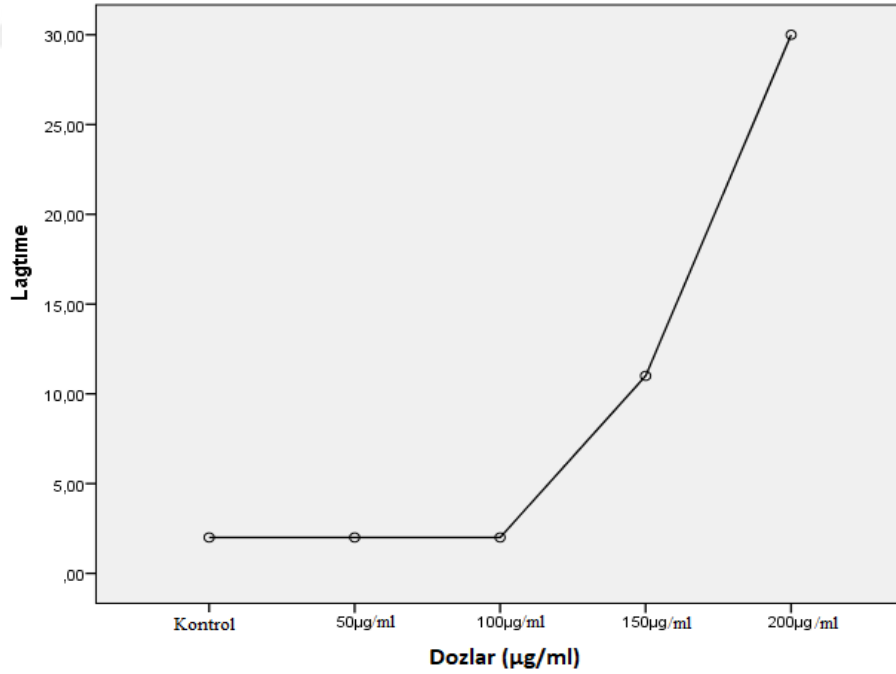
Şekil 3.5. Yapışkan ot çimlenme yüzdesi (%) grafiği

Şekil 3.5'te görüldüğü gibi yapışkan ot tohumlarının çimlenme yüzdesinin kontrol dozunda en yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Çimlenmenin *P. glauca* aseton ekstraktının doz artışına bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Kontrol grubunda tohumların çimlenme oranı %67 iken, bu oran 50 µg/ml'lik dozlarda %66, 100 µg/ml dozunda %59'e düşmüştür. 150 µg/ml dozunda %13'e gerileyen çimlenme oranı 200 µg/ml'lik doz uygulamasında ise %0 oranındadır ve çimlenme görülmemiştir. Ekstraktın 200 µg/ml dozunda yapışkan ot tohumlarının çimlenmesinin tamamen engellendiği tespit edilmiştir.

Tablo 3.3. *P. glauca* aseton ekstraktının farklı dozlarında Yapışkan ot tohumlarının çimlenme sonuçları. Tabloda ortalama ve standart sapma değerleri görülmektedir. (* Aynı harfle ifade edilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir, Tukey HSD, $p>0.05$)

Yapışkan ot (<i>S. verticillata</i>)	Çimlenme Yüzdesi (%)
Kontrol	67 ± 6^a
50 $\mu\text{g} / \text{ml}$	$66 \pm 6,9^a$
100 $\mu\text{g} / \text{ml}$	59 ± 11^a
150 $\mu\text{g} / \text{ml}$	$13 \pm 18,2^b$
200 $\mu\text{g} / \text{ml}$	0 ± 0^b

Çimlenme deneylerinden elde edilen sonuçlara SPSS (Statistics 20 package) istatistik programında One-Way ANOVA testi uygulanarak elde edilen ortalama değerler arasındaki farklılıklar Tukey HSD testi ($p<0.05$) ile belirlenmiştir. Tukey HSD testi kullanılarak gerçekleştirilen ikili karşılaştırmalarda (Tablo 3.3) çimlenme yüzdesi bakımından Kontrol ile 150 ve Kontrol ile 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozları arasında anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol ile 50 ve Kontrol ile 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozları arasında ise anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).



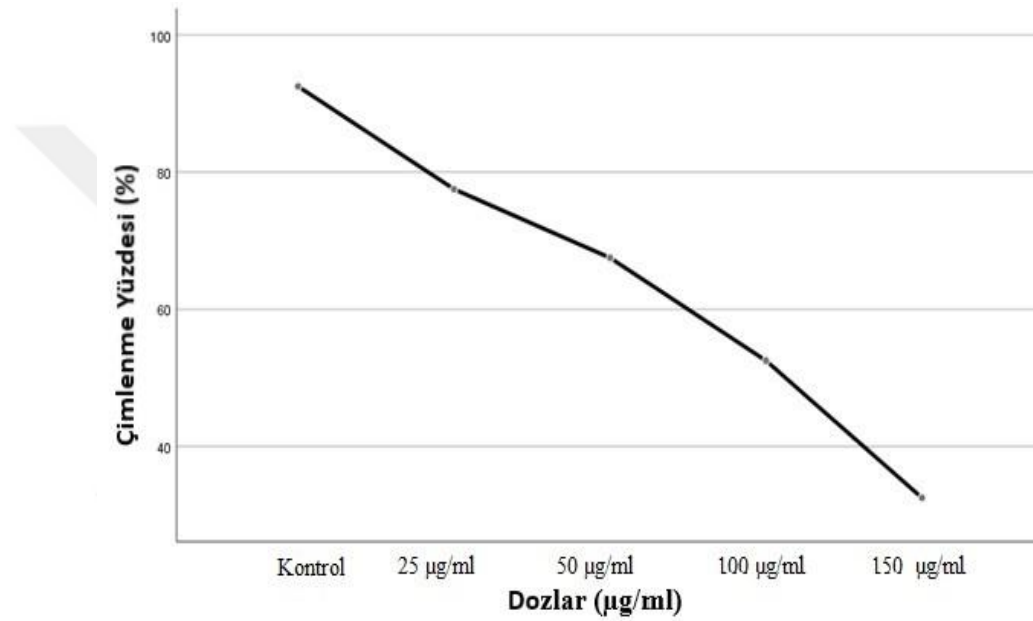
Şekil 3.6. *Yapışkan ot Lag time grafiği*

Şekil 3.6'da görüldüğü gibi Kontrol, 50 ve 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz uygulamalarında ilk tohum çimlenmesine kadar geçen gün uzunluğunun aynı olduğu; kontrol (0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

dozuna kıyasla 150 µg/ml doz uygulamasında ilk tohum çimlenmesine kadar geçen gün sayısının anlamlı bir şekilde uzadığı, 200 µg/ml doz uygulamasında ise çimlenme gün sayısı anlamlı bir şekilde uzamakla birlikte çimlenme görülmediği tespit edilmiştir.

3.1.4. Liken Ekstraktının *Oryza sativa* (Çeltik) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkisi

P. glauca aseton ekstraktının 0 (kontrol), 50, 100, 150, 200 µg/ml dozlarının çeltik tohum çimlenmesi üzerine etkileri Şekil 3.7 ve Tablo 3.4'te verilmiştir.



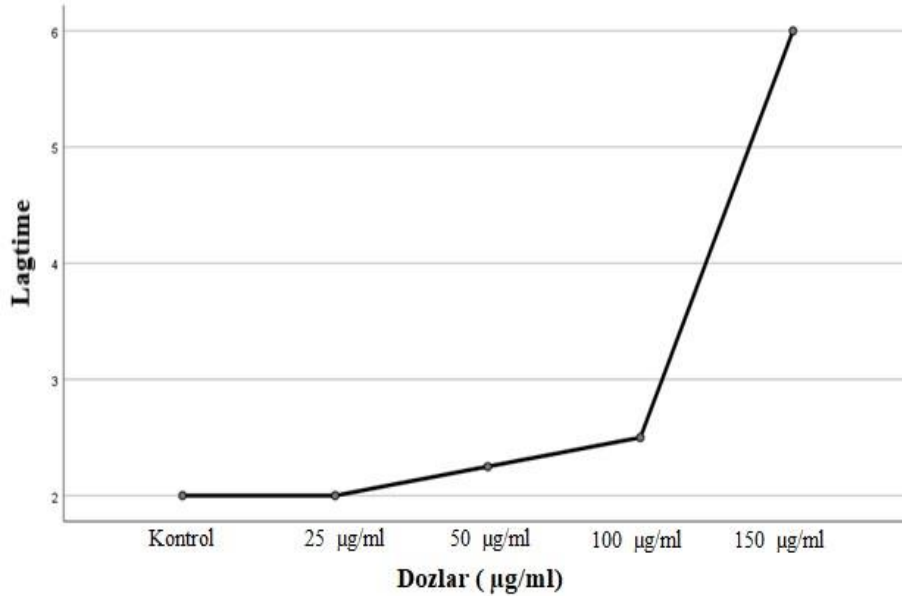
Şekil 3.7. Çeltik çimlenme yüzdesi (%) grafiği

Şekil 3.7'de görüldüğü gibi çeltik tohumlarının çimlenme yüzdesinin kontrol dozunda en yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Çimlenmenin *P. glauca* aseton ekstraktının doz artışına bağlı olarak azaldığı görülmüştür. *P. glauca* aseton ekstraktının 150 µg/ml dozunda çeltik tohumlarının çimlenmesini en yüksek seviyede azalttığı tespit edilmiştir. Kontrol petrilerinde tohumların çimlenme oranı %92,5 iken, bu oran 25 µg/ml'lik dozlarda %77,5, 50 µg/ml dozunda %67,5'e düşmüştür. 100 µg/ml dozunda %52,5'e düşen çimlenme oranının 150 µg/ml'lik doz uygulamasında ise %32,5 oranına düştüğü belirlenmiştir.

Tablo 3.4. *P. glauca* aseton ekstraktının farklı dozlarında Çeltik tohumlarının çimlenme sonuçları. Tabloda ortalama ve standart sapma değerleri görülmektedir. (* Aynı harfle ifade edilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir, Tukey HSD, $p>0.05$)

Çeltik (<i>O. sativa</i>)	Çimlenme Yüzdesi (%)
Kontrol	92,5 ± 7,3 ^a
25 µg / ml	77,5 ± 8,2 ^a
50 µg / ml	67,5 ± 10 ^a
100 µg / ml	52,5 ± 11,4 ^a
150 µg / ml	32,5 ± 13,4 ^b

Çimlenme deneylerinden elde edilen sonuçlara SPSS (Statistics 20 package) istatistik programında One-Way ANOVA testi uygulanarak elde edilen ortalama değerler arasındaki farklılıklar Tukey HSD testi ($p<0.05$) ile belirlenmiştir. Tukey HSD testi kullanılarak gerçekleştirilen ikili karşılaştırmalarda (Tablo 3.4) çimlenme yüzdesi bakımından Kontrol ile 150 µg/ml dozları arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 3.8. Çeltik Lagtime grafiği

Şekil 3.8'de görüldüğü gibi Kontrol ve 25 µg/ml doz uygulamalarında ilk tohum çimlenmesine kadar geçen gün uzunluğunun aynı olduğu; 150 µg/ml doz uygulamasında ilk tohum çimlenmesine kadar geçen gün sayısının Kontrol (0 µg/ml) dozuna kıyasla anlamlı bir şekilde uzadığı ve çimlenmenin geciktiği tespit edilmiştir.

3.2. DNA Miktar ve Saflık Tayini

Platismatia glauca ekstraktının olası genotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla ekstraktın farklı dozlarına 14 gün süreyle maruz bırakılan horozibiği, semizotu, yapışkan ot ve çeltik bitkilerinden yaprak örnekleri veya tüm fide kullanılarak 2X CTAB yöntemi ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 4 bitki türünden toplamda 19 farklı DNA izolasyonu yapılmıştır (Yapışkan ot türünde 200 µg/ml konsantrasyonunda yeterli miktarda örnek çimlenmediği için DNA izolasyonu yapılamamıştır). İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve saflık ölçümleri 260 ve 280 nm dalga boylarında Nanodrop Spektrofotometre ile yapılmış, DNA örneklerinin saflık değerleri 1.8-2.0 arasında bulunmuştur. PCR çalışmaları örnekler µl'de 2 ng olacak şekilde steril distile su ile seyreltilmiştir. Elde edilen DNA saflık ve miktar değerleri Tablo 3.5'te gösterilmektedir.

Tablo 3.5. *Semizotu, horozibiği, yapışkan ot ve çeltik bitkilerinden izole edilen DNA'ların miktar ve saflık ölçüm sonuçları*

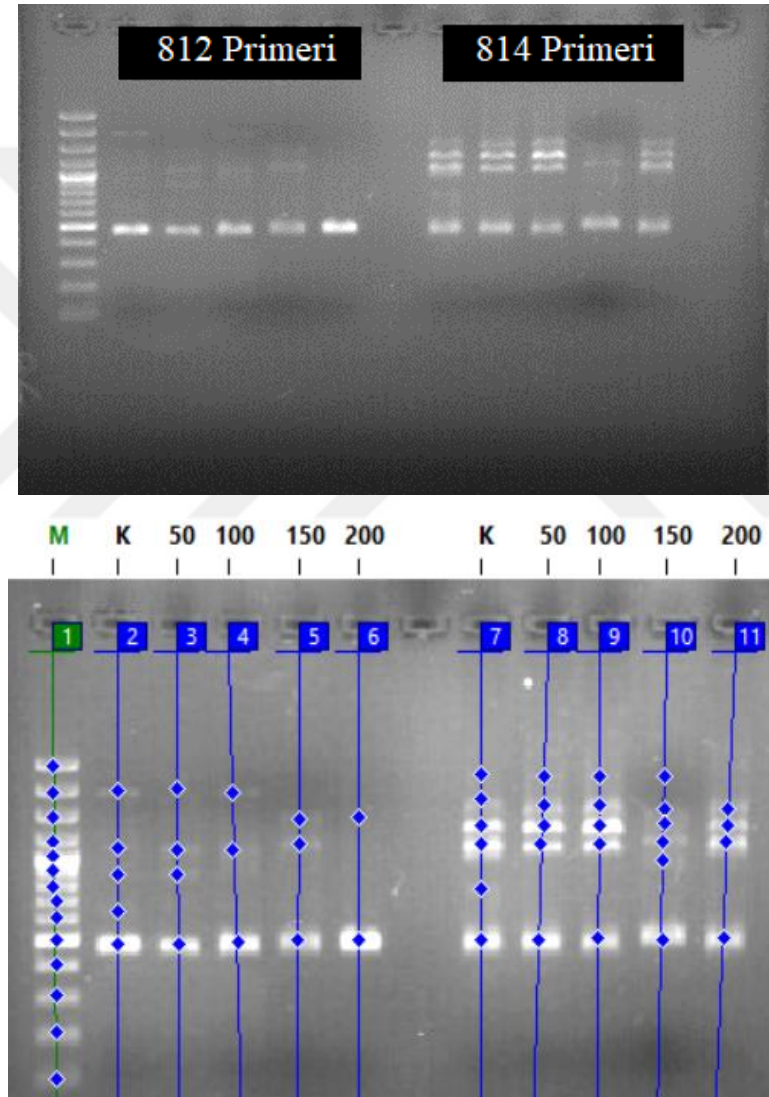
Bitki Adı ve Dozu	260/280 nm	ng/µl
Semizotu Kontrol	2,00	115,1
Semizotu 50 µg	2,00	232,2
Semizotu 100 µg	2,00	297,9
Semizotu 150 µg	2,00	122,4
Semizotu 200 µg	2,00	156,0
Horozibiği Kontrol	2,00	103,0
Horozibiği 50 µg	2,00	73,0
Horozibiği 100 µg	1,82	282,4
Horozibiği 150 µg	2,00	100,9
Horozibiği 200 µg	1,87	51,2
Yapışkan ot Kontrol	1,80	51,5
Yapışkan ot 50 µg	1,86	72,0
Yapışkan ot 100 µg	1,81	74,7
Yapışkan ot 150 µg	1,86	117,3
Çeltik Kontrol	2,00	335,6
Çeltik 25 µg	1,98	258,2
Çeltik 50 µg	2,00	281,6
Çeltik 100 µg	2,00	266,2
Çeltik 150 µg	1,98	162,4

3.3. ISSR ve RAPD PCR Analizleri

3.3.1. *Amaranthus retroflexus* (Horoziği) ISSR ve RAPD PCR Analizleri

P. glauca total aseton ekstraktının 50, 100, 150 ve 200 µg konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerine ait DNA'lar ile 4 adet ISSR ve 4 adet RAPD primeri kullanılarak PCR analizleri yapılmıştır.

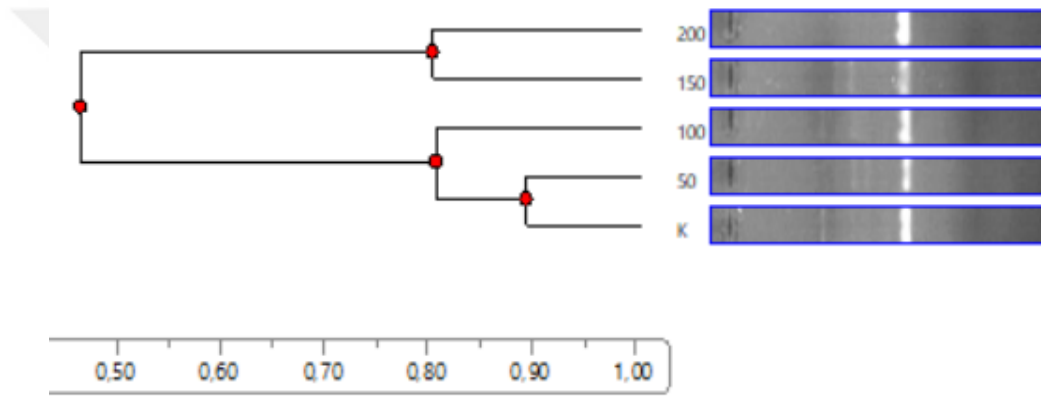
ISSR 812 ve ISSR 814 primerleri ile *A. retroflexus* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.9'da verilmiştir.



Şekil 3.9. ISSR 812 ve ISSR 814 primerleri ile horozibiği DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

ISSR 812 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 7 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 479 bp ile

2153 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 4, 3, 3 ve 2 adet bant oluşmuştur. Kontrolde bulunan 2074 bç büyüklüğündeki bant 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında mevcutken 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında kaybolmuştur. Benzer şekilde, kontrol grubunda bulunan 885 bç büyüklüğündeki bant 50 µg/ml konsantrasyonunda mevcut olup 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında kaybolmuştur. Kontrolde bulunan 640 bç büyüklüğündeki bant ise diğer dozlarda kaybolmuştur. Kontrol, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında bulunan 1129 bç büyüklüğündeki bant 200 µg/ml konsantrasyonunda kaybolmuştur. 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında diğer konsantrasyonlarda bulunmayan 1500 bç büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır.

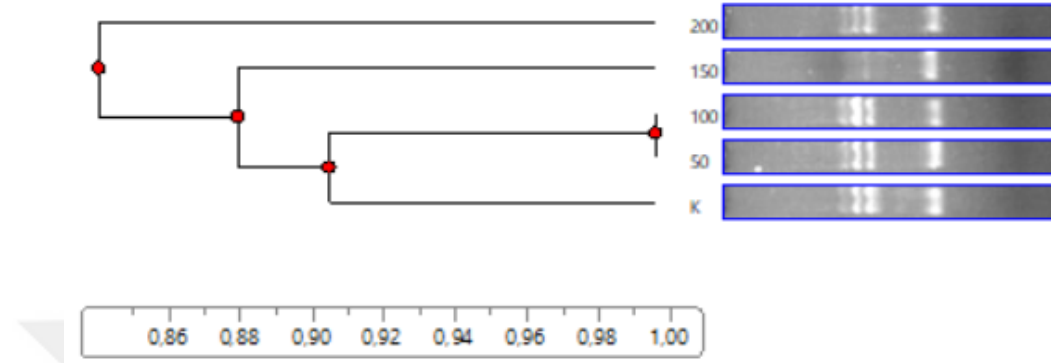


Şekil 3.10. Horozibiği bitkisinde 812 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 812 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.10). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir küme oluşturmuştur. Dendrogramda oluşan gruplarda dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

ISSR 814 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 7 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 500 bç ile 2602 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 6 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 5, 5, 6 ve 4 adet bant oluşmuştur. Kontrol, 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarında bulunan 2602 bç büyüklüğündeki bant 200 µg/ml

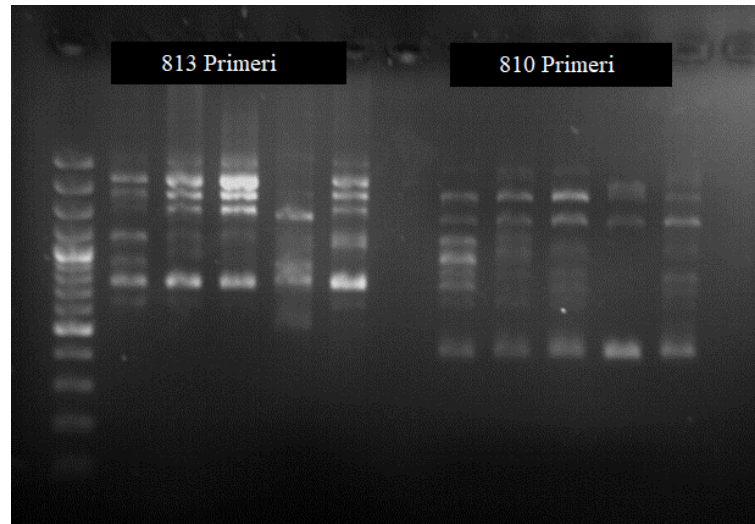
konsantrasyonunda kaybolmuştur. Kontrol dozundaki 782 bç büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında kaybolmuştur. 150 µg/ml konsantrasyonunda ise kontrol, 50, 100 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında bulunmayan 976 bç büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır.

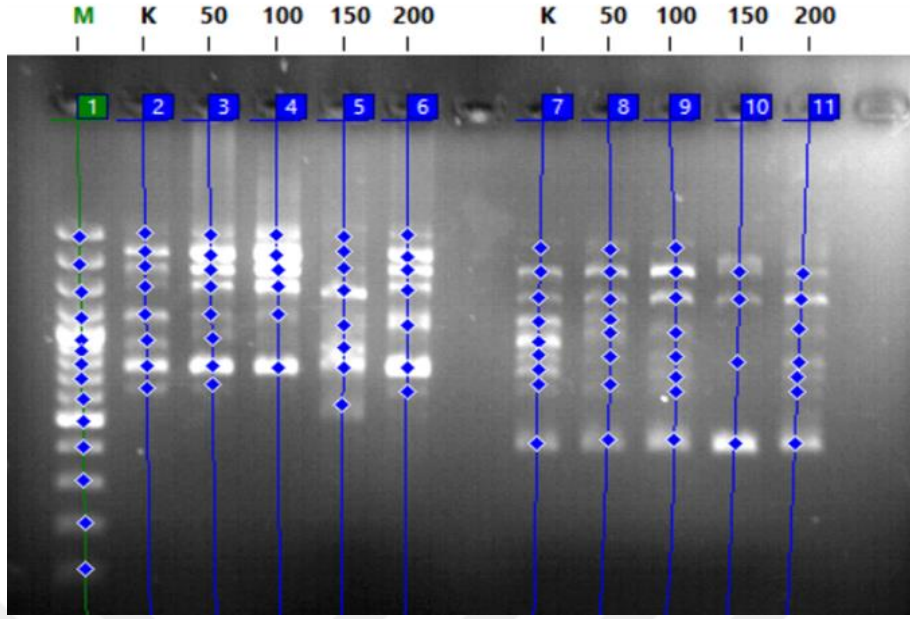


Şekil 3.11. Horozibiği bitkisinde 814 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 814 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.11). Dendrograma göre kontrol grubu ve liken ekstraktının 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları aynı kümede toplanırken 200 µg/ml konsantrasyon tek başına ayrı bir dal oluşturmuştur. Dendrogramda oluşan gruplarda dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

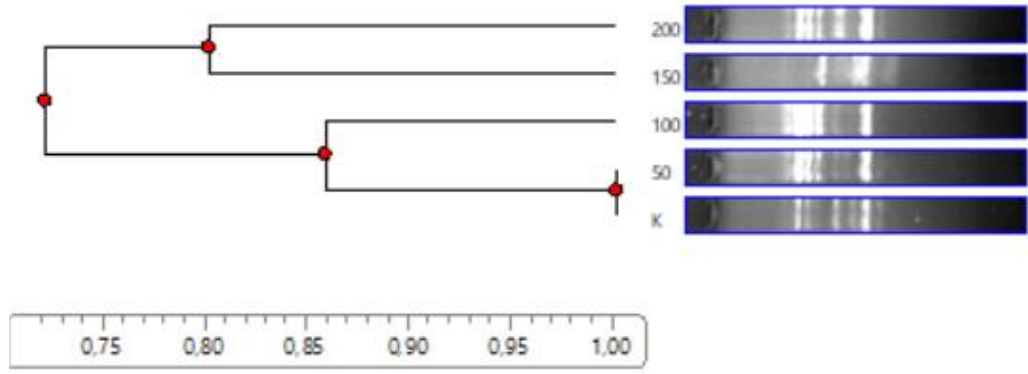
ISSR 813 ve ISSR 810 primerleri ile *A. retroflexus* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.12'de verilmiştir.





Şekil 3.12. ISSR 813 ve ISSR 810 primerleri ile horozibiği DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

ISSR 813 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 11 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 574 bp ile 3133 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 8 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında sırasıyla 8, 6, 8 ve 7 adet bant oluşmuştur. Kontrol, 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında bulunan 1237 bp büyüklüğündeki bant 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında kaybolmuştur. Kontrol dozundaki 1000 bp büyüklüğündeki bant 100 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında ortadan kaybolmuştur. Kontrolde bulunan 650 bp büyüklüğündeki bant 50 $\mu\text{g/ml}$ dozunda da bulunmaktadır; 100, 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında ise kaybolmuştur. 150 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda ise diğer dozlarda olmayan 574 bp büyüklüğünde yeni bir bant bulunmaktadır. 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda kontrol, 50, 100 ve 150 $\mu\text{g/ml}$ 'de olmayan 633 bp büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır. 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında ise kontrol ve aynı zamanda 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında olmayan 1130 bp büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır.

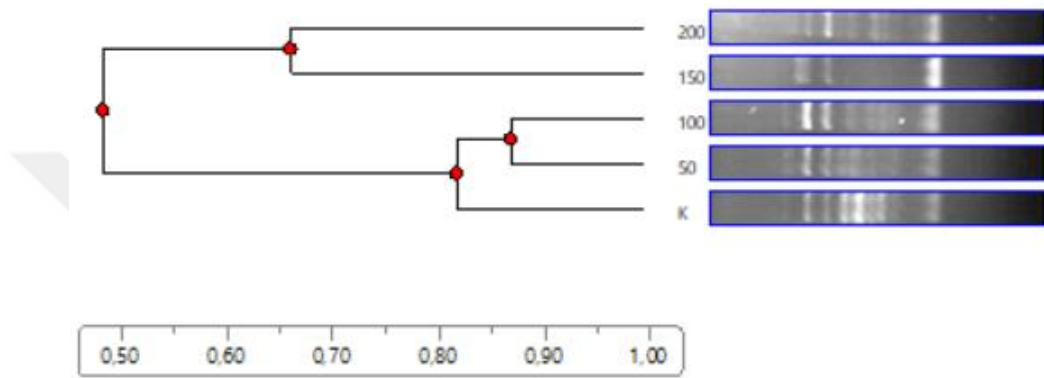


Şekil 3.13. Horozibiği bitkisinde 813 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 813 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.13). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir küme oluşturmuştur. Kontrol ve 50 µg/ml konsantrasyonlarına ait bant profillerinin aynı olduğu belirlenmiştir. Uygulanan *P. glauca* liken aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir. Konsantrasyon arttıkça bant profilinde değişiklikler ortaya çıkmaktadır.

ISSR 810 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 14 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 412 bp ile 2558 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 9 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 8, 8, 4 ve 8 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubunda bulunan 2558 bp büyüklüğündeki bant 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında bulunmakla birlikte 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 1164 bp büyüklüğündeki bant yalnızca 50 µg/ml dozunda mevcutken 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında ortadan kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 983 bp büyüklüğündeki bant diğer dozlarda kaybolmuştur. 50 ve 100 µg/ml dozlarında kontrolde olmayan 1065 bp büyüklüğünde bir bant bulunmakta, bu bant 150 ve 200 µg/ml dozlarında kaybolmaktadır. Kontrol ve 100 µg/ml dozunda bulunan 760 bp büyüklüğündeki bant diğer dozlarda kaybolmuştur. Kontrol, 50, 100, 200 µg/ml konsantrasyonlarındaki 869 bp büyüklüğündeki bant 150 µg/ml konsantrasyonunda

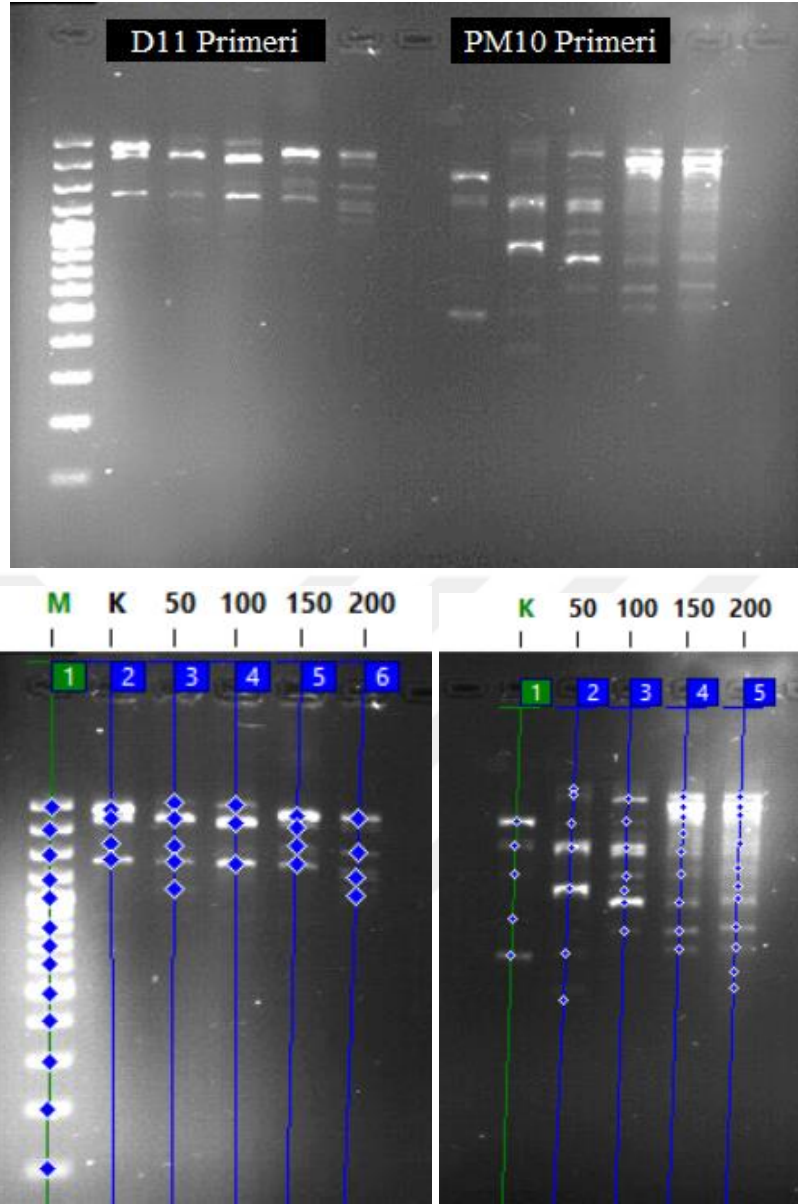
ortadan kaybolmuştur. 150 ve 200 µg/ml dozlarında kontrol, 50 ve 100 µg/ml’de olmayan 813 bç büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır. Kontrol, 50 ve 100 µg/ml dozlarında bulunan 669 bç büyüklüğündeki bant, 150 ve 200 µg/ml dozlarında kaybolmuştur. 200 µg/ml konsantrasyonunda diğer konsantrasyonlarda olmayan 633 bç ve 711 bç büyüklüğünde iki yeni bant ortaya çıkmıştır. 200 µg/ml konsantrasyonunda kontrol, 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarında bulunmayan 1097 bç büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır.



Şekil 3.14. Horozibği bitkisinde 810 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 810 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.14). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir küme oluşturmuştur. Kontrol grubunda elde edilen bant profillerinin liken ekstraktı uygulanan test gruplarının bant profillerinden farklılaştığı ve dendrogramda düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmaların olduğu görülmüş, dolayısıyla sonuçların anlamlı olduğu belirlenmiştir.

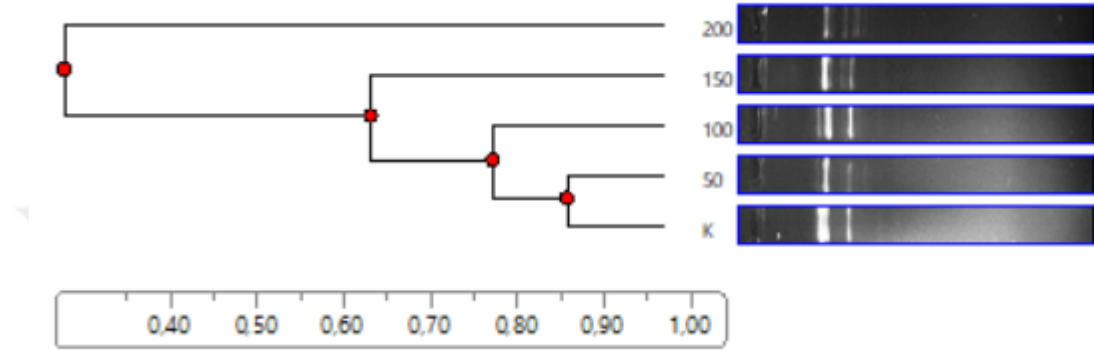
RAPD D11 ve RAPD PM10 primerleri ile *A. retroflexus* DNA’ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.15’te verilmiştir.



Şekil 3.15. RAPD D11 ve RAPD PM10 primerleri ile horozibiği DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

RAPD D11 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 8 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 1010 bp ile 3200 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 4 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 5, 3, 4 ve 4 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 1666 bp büyüklüğündeki bant 50 ve 100 µg/ml dozlarında bulunurken 150 ve 200 µg/ml dozlarında kaybolmuştur. Kontroldeki 1440 bp'lik bant 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında bulunurken 200 µg/ml doz uygulamasında ortadan kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 2880 bp büyüklüğündeki bant 50 ve 100 µg/ml doz uygulamalarında

bulunmakta olup, 150 ve 200 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. 50 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 1090 bç büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol, 50, 100 ve 200 µg/ml doz uygulamalarında bulunmayan 2080 bç büyüklüğünde bir bant oluşmuştur. 200 µg/ml doz uygulamasında kontrol, 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarında bulunmayan 1020, 1230 ve 1530 bç büyüklüklerinde üç yeni bant meydana gelmiştir.

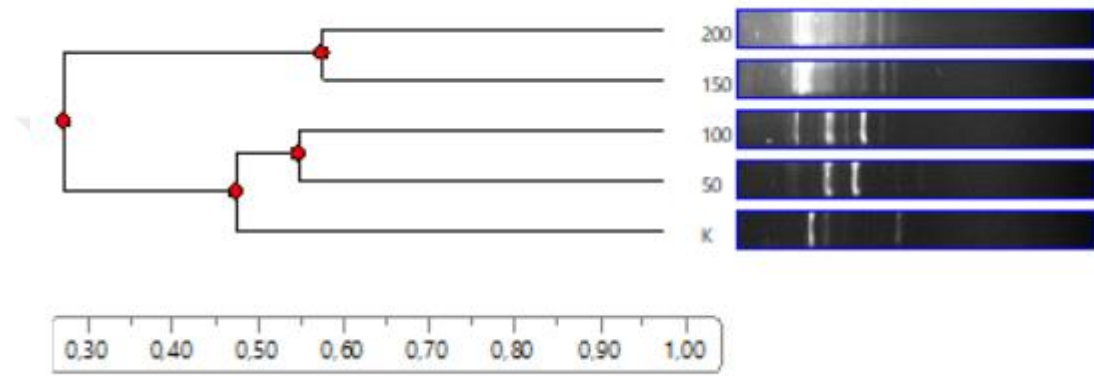


Şekil 3.16. Horozibiği bitkisinde D11 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD D11 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.16). Dendrogramda kontrol, 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarının bir küme oluşturması benzerlik oranlarının yüksek olduğunu, 200 µg/ml doz uygulamasının ayrı bir dallanma oluşturması ise diğer doz uygulamalarından farklılaştığı sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Uygulanan *P. glauca* aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

RAPD PM10 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 19 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 500 bç ile 2699 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 7, 7, 9 ve 11 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 1755 ve 1325 bç büyüklüklerindeki bantlar 50 ve 100 µg/ml doz uygulamalarında bulunmaktayken 150 ve 200 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol grubunda bulunan 680 bç büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 ve 200 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 500 bç büyüklüğünde olan bant 50

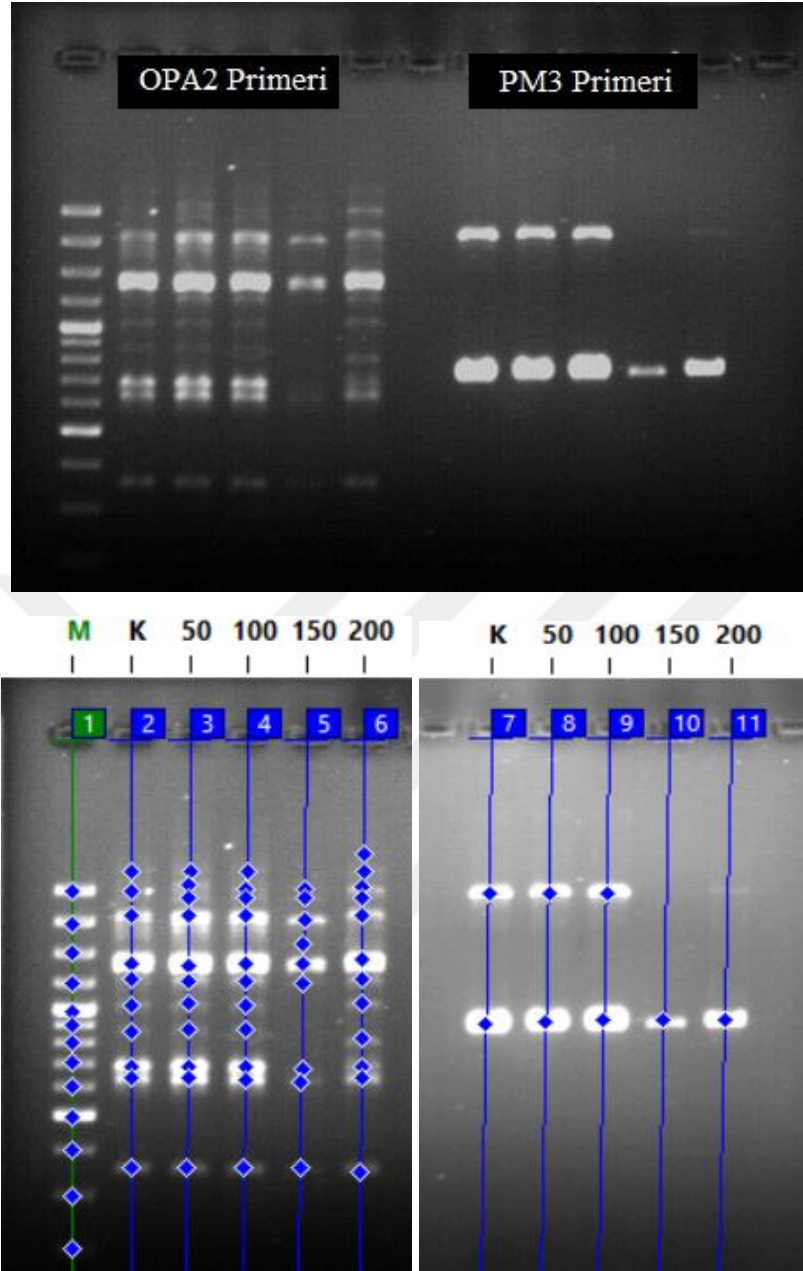
$\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında da bulunmakla birlikte 100, 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında kaybolmuştur. 50 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 880 bç büyüklüğünde bir bant meydana gelmiştir. 100 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kontrolde olmayan 770 ve 885 bç büyüklüklerinde iki yeni bant oluşmuştur. 150 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda kontrol ve diğer dozlarda olmayan 525, 1250 ve 1500 bç büyüklüklerinde üç yeni bant meydana gelmiştir. 200 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kontrol, 50, 100, 150 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında olmayan 535, 635, 1082 bç büyüklüğünde üç yeni bant ortaya çıkmıştır.



Şekil 3.17. Horozibiği bitkisinde PM10 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD PM10 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.17). Bu dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonları ayrı bir küme oluşturmuştur. Dendrogramda oluşan gruplarda dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

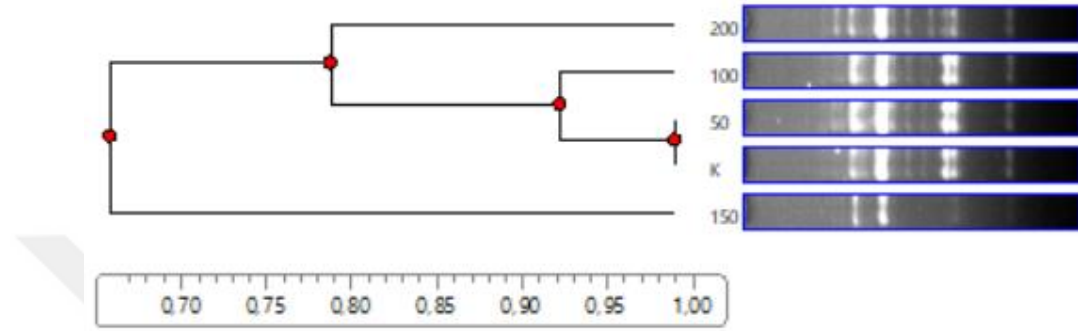
RAPD OPA2 ve RAPD PM3 primerleri ile *A. retroflexus* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.18'de verilmiştir.



Şekil 3.18. RAPD OPA2 ve RAPD PM3 primerleri ile horozibiği DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

RAPD OPA2 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 14 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 357 bp ile 3067 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 10 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında sırasıyla 11, 11, 9 ve 12 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubunda bulunan 3000 bp'lik bant 50 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında bulunmakta iken 100, 150 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 1048 bp büyüklüğündeki bant 50, 100 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamalarında bulunmaktadır, 150

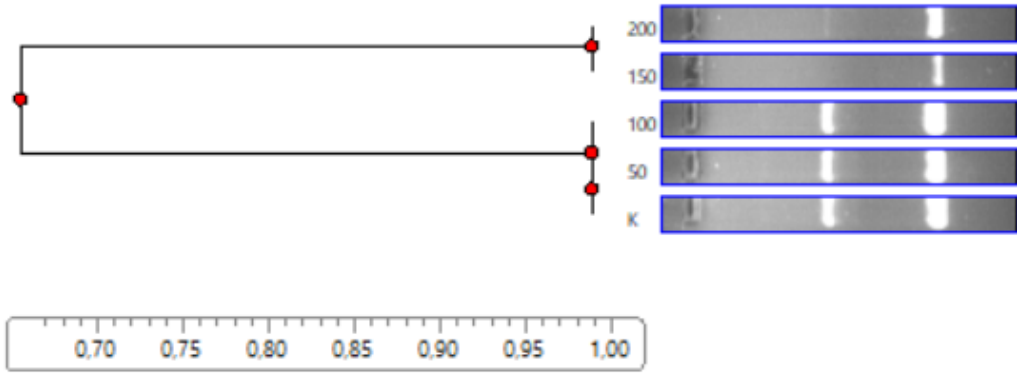
$\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kaybolmuştur. Kontroldeki 680 bç büyüklüğündeki bant 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında bulunmakta iken 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 635 bç büyüklüğündeki bant 50, 100 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamalarında bulunurken, 150 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında bulunmamaktadır. 200 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kontrol, 50, 100, 150 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında bulunmayan 800 bç büyüklüğünde yeni bir bant meydana gelmiştir.



Şekil 3.19. Horozibiği bitkisinde OPA2 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD OPA2 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.19). Dendrograma göre 150 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasının diğer dozlardan ayrıldığı gözlemlenmektedir. Kontrol, 50, 100 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ olan konsantrasyonların kendi aralarında grup oluşturması bant profillerindeki benzerlik oranlarının yüksek olduğu sonucunu ortaya çıkarmaktadır.

RAPD PM3 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında çimlenen horozibiği fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 2 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 738 bç ile 2177 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 2 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında sırasıyla 2, 2, 1 ve 1 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubu ile 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında bulunan 2177 bç büyüklüğündeki bant 150 ve 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında kaybolmuştur.



Şekil 3.20. *Horozibiği bitkisinde PM3 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi*

RAPD PM3 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.20). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir küme oluşturmuştur. Dendrogramda oluşan kümelerde dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

Yapılan ISSR ve RAPD PCR analizleri sonrasında her primer için her bir konsantrasyonda elde edilen bant profillerinin kontrol dozundaki bant profili ile karşılaştırılmasıyla polimorfizm hesaplamaları yapılmıştır. Kontrolde var olup dozlarda bulunmayan ve/veya kontrole göre dozlarda yeni oluşan bantlar polimorfik olarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.6). Horozibiği bitkisinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR ve RAPD PCR analizlerinde her bir primerde farklı derecelerde polimorfizm tespit edilmiştir.

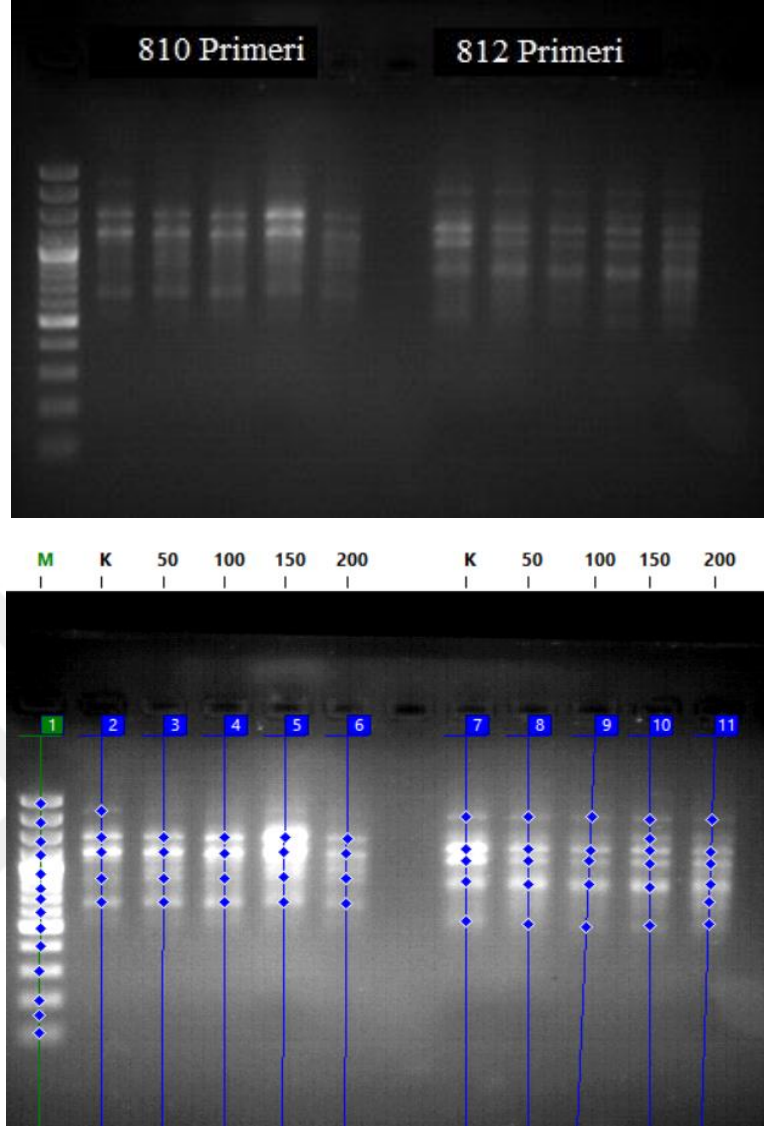
Tablo 3.6. Horozibiği bitkisinde PCR analizlerinden elde edilen polimorfik bantların değişimi ve GKS değerleri tablosu (a*: kontrole göre yeni oluşan bant sayısı, b*: kontrole göre kaybolan bant sayısı, a+b*: polimorfik bant sayısı)

Primer ISSR RAPD	Kontroldeki Toplam Bant Sayısı	50 µg		100 µg		150 µg		200 µg	
		a	b	a	b	a	b	a	b
812	5	0	1	0	2	1	3	1	4
814	6	0	1	0	1	1	1	0	2
813	8	0	0	0	2	2	2	2	2
810	9	1	2	1	2	1	6	4	5
D11	5	2	2	2	2	0	1	2	3
PM10	5	4	2	3	2	8	4	10	4
OPA2	10	3	1	2	1	2	5	3	1
PM3	2	0	0	0	0	0	1	0	1
a+b	50	19		20		38		44	
GKS		%62		%60		%24		%12	

ISSR ve RAPD analizi sonuçlarına göre genomik kalıp stabilitesi değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerlere göre *P. glauca* aseton ekstraktı uygulanan horozibiği bitkisinde en yüksek GKS değeri 50 µg/ml konsantrasyonunda %62 ve en düşük GKS değeri 200 µg/ml konsantrasyonunda %12 olarak hesaplanmıştır. GKS değerleri sırasıyla; 100 µg/ml konsantrasyonu için %60 ve 150 µg/ml konsantrasyonu için %24 olarak bulunmuştur (Tablo 3.6).

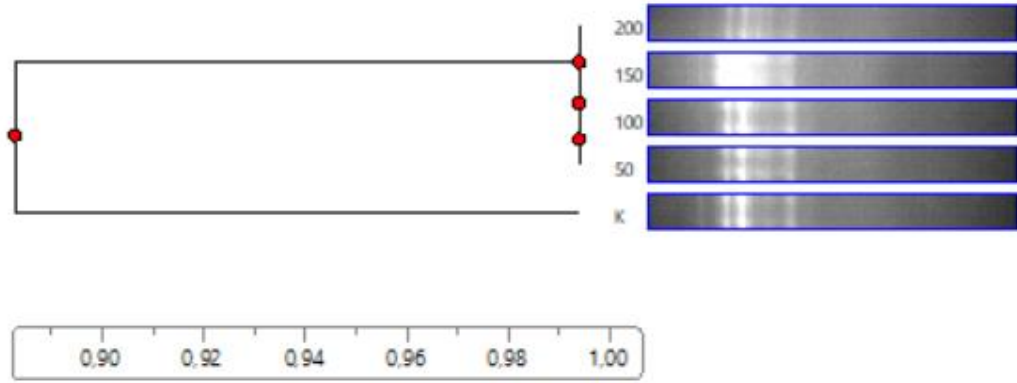
3.3.2. Portulaca oleracea ISSR ve RAPD PCR Analizleri

ISSR 810 ve ISSR 812 primerleri ile *P. oleracea* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.21'de verilmiştir.



Şekil 3.21. ISSR 810 ve ISSR 812 primerleri ile semizotu DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

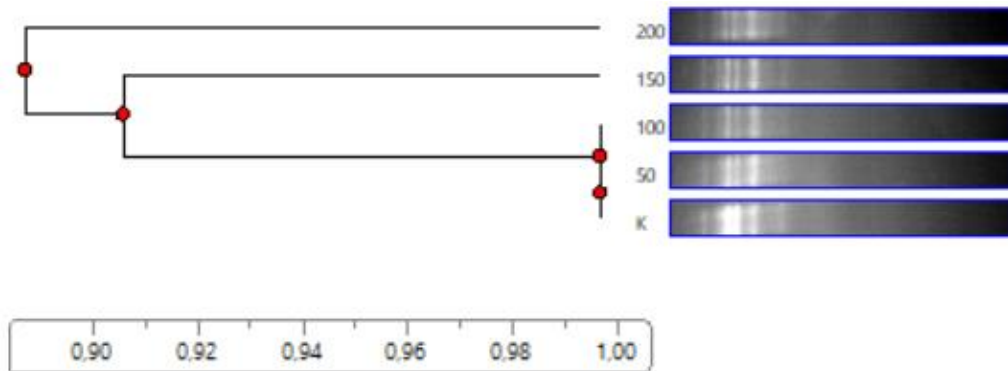
ISSR 810 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen semizotu fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 5 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 774 bp ile 2571 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 4, 4, 4 ve 4 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubunda bulunan 2571 bp büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında kaybolmuştur.



Şekil 3.22. *Semizotu bitkisinde 810 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi*

ISSR 810 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.22). Elde edilen dendrogramda kontrol grubunun diğer konsantrasyonlardan farklılaştığı tespit edilmiştir. Uygulanan *P. glauca* liken aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

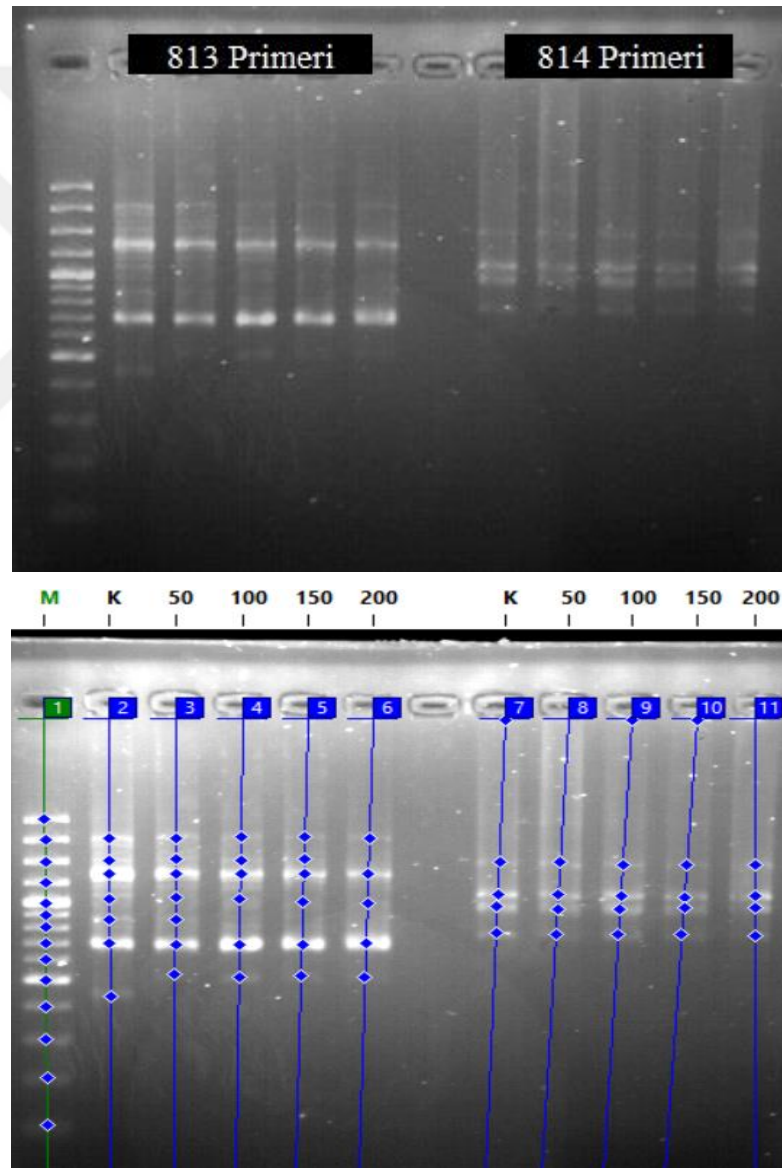
ISSR 812 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen semizotu fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 7 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 608 bç ile 2259 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 5, 5, 6 ve 6 adet bant oluşmuştur. 150 µg/ml dozunda kontrol ve diğer dozlarda bulunmayan 1565 bç büyüklüğünde yeni bir bant oluşmuştur. 200 µg/ml konsantrasyonunda ise kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlarda bulunmayan 774 bç büyüklüğünde bir bant meydana gelmiştir.



Şekil 3.23. *Semizotu bitkisinde 812 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi*

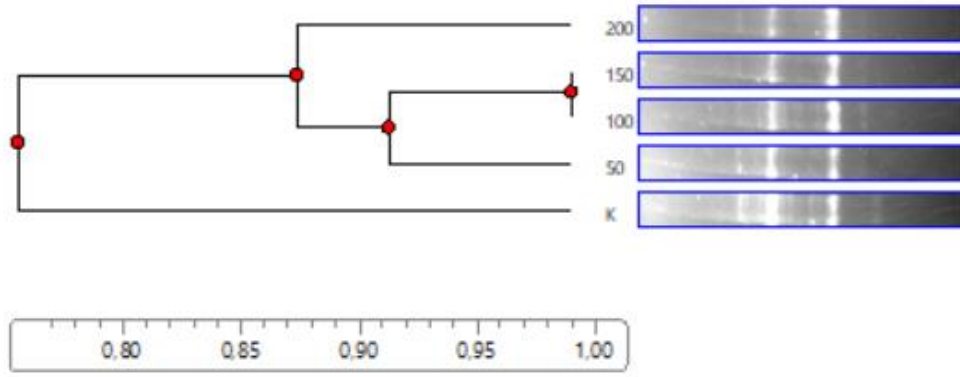
ISSR 812 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.23). Elde edilen dendrogramda 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarının kontrol, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarından farklılaştığı görülmektedir. Uygulanan *P. glauca* aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

ISSR 813 ve ISSR 814 primerleri ile *P. oleracea* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.24'te verilmiştir.



Şekil 3.24. ISSR 813 ve ISSR 814 primerleri ile semizotu DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

ISSR 813 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen semizotu fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 8 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 436 bç ile 2113 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 7 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 7, 6, 6 ve 5 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubunda bulunan 1523 bç büyüklüğünde bant 50, 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında mevcutken, 200 µg/ml dozunda kaybolmuştur. Kontrol ve 50 µg/ml konsantrasyonunda bulunan 860 bç büyüklüğündeki bant 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında ortadan kaybolmuştur. Kontrol grubunda bulunmayan 512 bç büyüklüğündeki bir bant 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında ortaya çıkmıştır. Kontrol dozundaki 436 bç büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında kaybolmuştur.

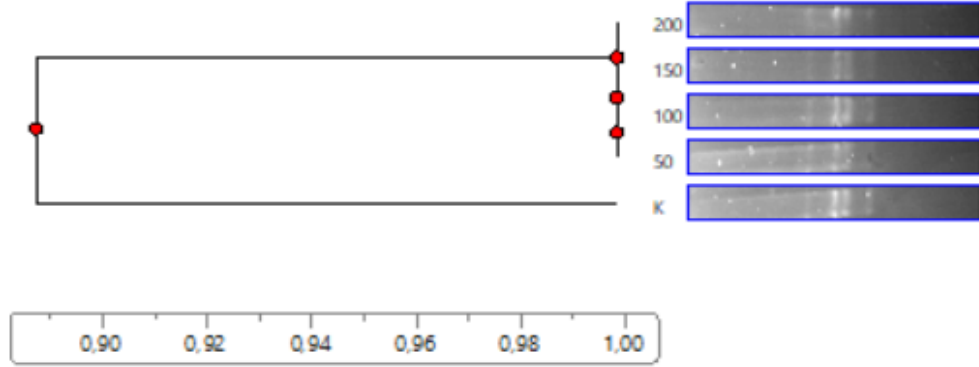


Şekil 3.25. *Semizotu bitkisinde 813 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi*

ISSR 813 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.25). Dendrogramda kontrol grubunun diğer test gruplarından farklılaştığı görülmektedir. Uygulanan *P. glauca* aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

ISSR 814 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen semizotu fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 5 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 751 bç ile 7785 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 5, 4, 4 ve 4 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubunda

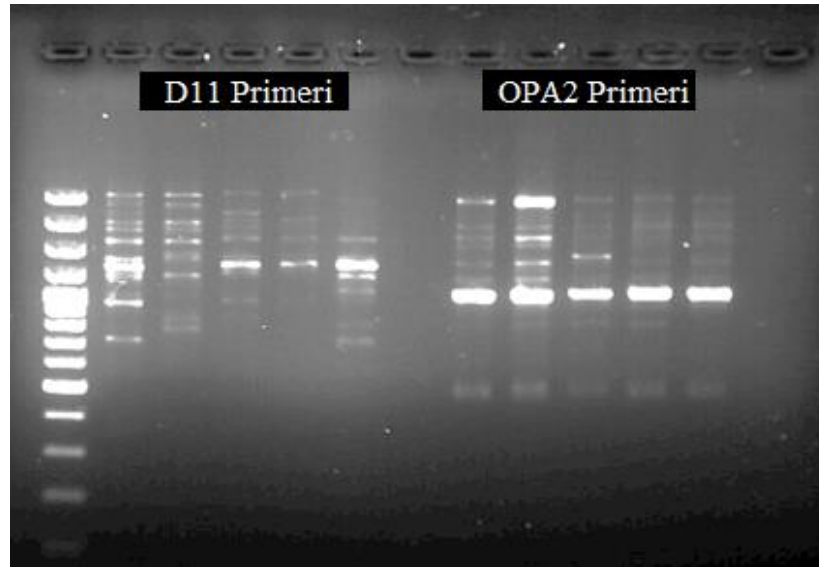
bulunan 1500 bç büyüklüğündeki bant 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında kaybolmuştur.

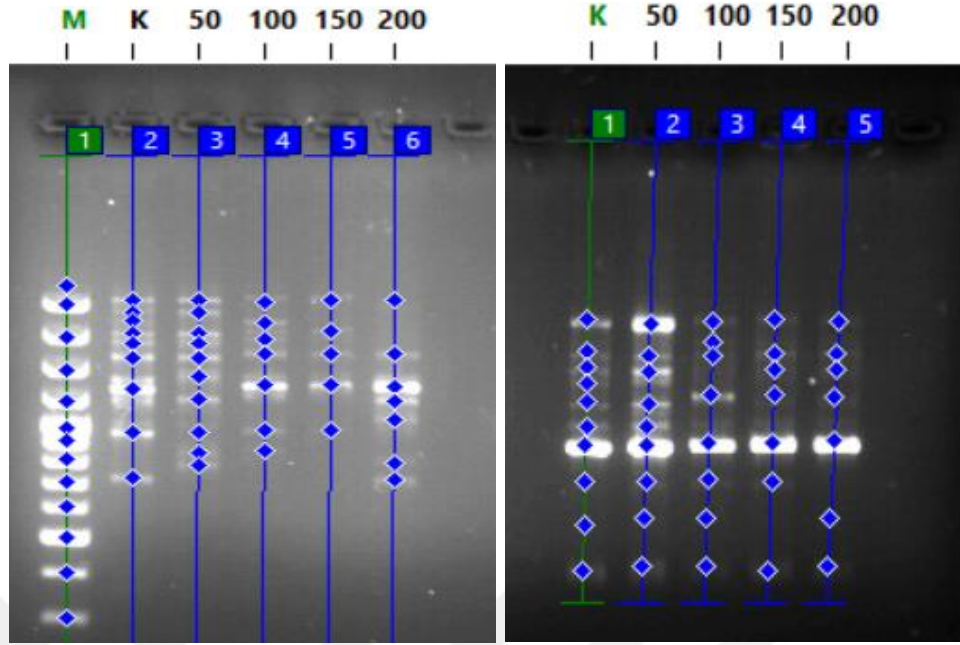


Şekil 3.26. *Semizotu* bitkisinde 814 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 814 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.26). Elde edilen dendrogramda kontrol grubu ile diğer dozların belirgin şekilde farklılaştığı görülmektedir.

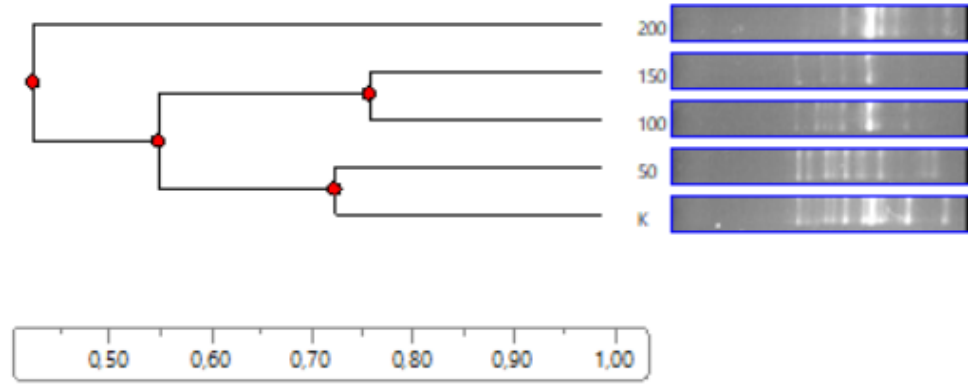
RAPD D11 ve RAPD OPA2 primerleri ile *P. oleracea* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.27'de verilmiştir.





Şekil 3.27. *RAPD D11 ve RAPD OPA2 primerleri ile semizotu DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları*

RAPD D11 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen semizotu fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 15 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 608 bç ile 2180 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 9 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 10, 8, 5 ve 7 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 1749 bç büyüklüğündeki bant 50 µg/ml doz uygulamasında bulunurken; 100, 150 ve 200 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 1613 bç büyüklüğündeki bant 100 µg/ml konsantrasyonunda bulunmakta, diğer konsantrasyonlarda bulunmamaktadır. Kontrol grubu ile 50, 100, 150 µg/ml doz uygulamalarında bulunan 1522 bç büyüklüğündeki bant 200 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 618 bç büyüklüğündeki bant 50 ve 100 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol ve 50 µg/ml konsantrasyonlarında bulunan 1456 bç büyüklüğündeki bant 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyon uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol grubunda bulunmayan 1084 bç büyüklüğünde yeni bir bant 100, 150, 200 µg/ml doz uygulamalarında meydana gelmiştir. Kontrol grubundaki 1321 bç büyüklüğündeki bant 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında kaybolmuştur. 200 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 1000 ve 1071 bç büyüklüğünde yeni bantlar ortaya çıkmıştır. Kontrol grubunda bulunan 868 bç büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 µg/ml dozlarında mevcutken 200 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur.

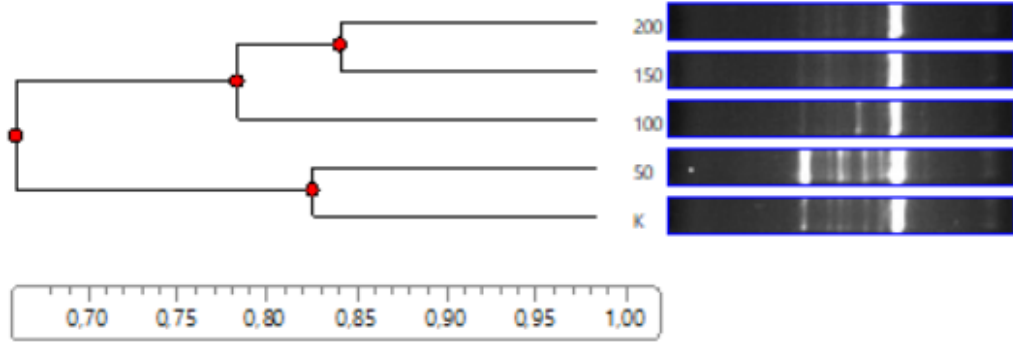


Şekil 3.28. *Semizotu bitkisinde D11 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi*

RAPD D11 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.28). Veri analizi sonucu elde edilen dendrogramda kontrol grubu ve 50 µg/ml konsantrasyonu bir alt kümede, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonu ise ikinci alt kümede toplanmıştır. 200 µg/ml konsantrasyonu ise dendrogramda ayrı bir dal oluşturmuştur. Bu da bize bant profilinin en fazla 200 µg/ml konsantrasyonunda değiştiğini işaret etmektedir.

RAPD OPA2 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen semizotu fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 13 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 400 bp ile 1924 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 10 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 9, 8, 7 ve 7 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 2390 bp büyüklüğündeki bant 50, 150 ve 200 µg/ml doz uygulamalarında bulunmakla birlikte 100 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur. Kontroldeki 2048 bp büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 ve 200 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 1870 bp ve 1643 bp büyüklüğündeki bantlar 50 µg/ml doz uygulamasında bulunmaktadır, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında kaybolmuştur. Kontrol grubunda bulunan 940 bp büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 ve 200 µg/ml doz uygulamalarında ortadan kaybolmuştur. 50 µg/ml doz uygulamasında kontrolde olmayan 830 bp'lik bant meydana gelmiştir ve bu bant 100 ve 200 µg/ml doz uygulamasında bulunmakta, 150 µg/ml doz uygulamasında bulunmamaktadır. 100 µg/ml konsantrasyonunda kontrol ve 50 µg/ml dozlarında olmayan 2390 bp büyüklüğünde bir bant meydana gelmiştir. 100 µg/ml doz uygulamasında 1700 bp büyüklüğünde yeni bir

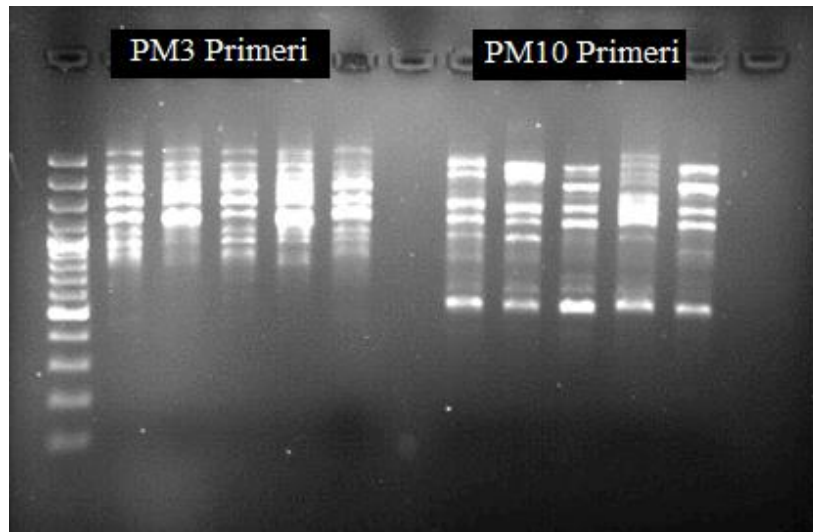
bant meydana gelmiştir. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 1350 bç büyüklüğünde yeni bir bant meydana gelmiştir.

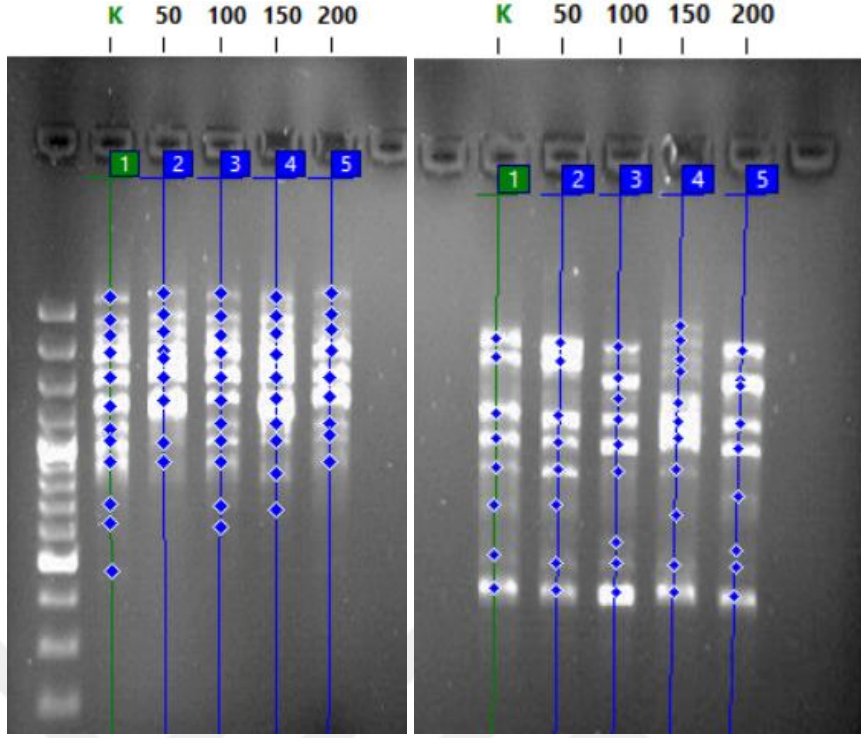


Şekil 3.29. *Semizotu* bitkisinde OPA2 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD OPA2 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.33). Elde edilen dendrogramda kontrol grubu ve 50 µg/ml konsantrasyonu bir kümede toplanırken, 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonları ikinci bir küme oluşturmuştur. Uygulanan *P. glauca* aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

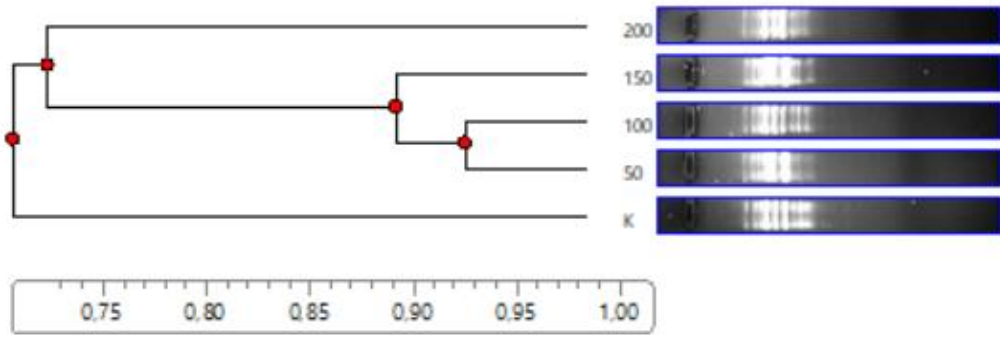
RAPD PM3 ve RAPD PM10 primerleri ile *P. oleracea* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.30'da verilmiştir.





Şekil 3.30. RAPD PM3 ve RAPD PM10 primerleri ile semizotu DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

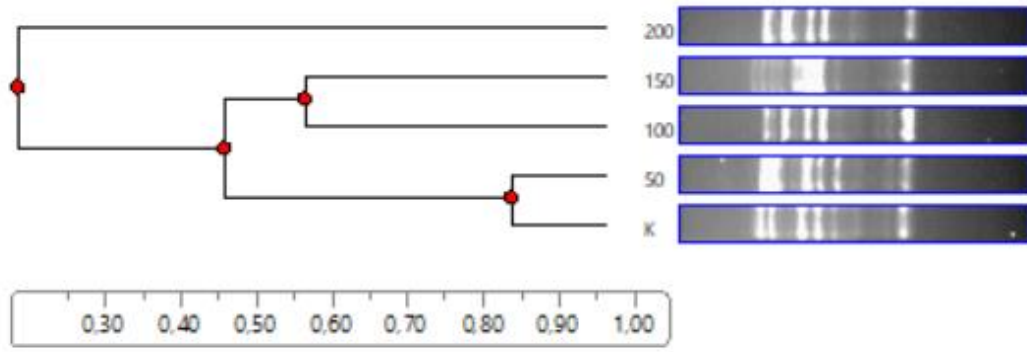
RAPD PM3 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen semizotu fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 15 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 925 bp ile 3583 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 12 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 9, 11, 10 ve 9 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 2815 bp büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 µg/ml dozlarında bulunmakta, 200 µg/ml dozunda kaybolmaktadır. Kontrol grubunda bulunan 1172 bp büyüklüğündeki bant 50, 100 ve 200 µg/ml dozlarında bulunmakta 150 µg/ml dozunda kaybolmaktadır. Kontrol grubunda olan 1000 bp büyüklüğündeki bant diğer doz uygulamalarında kaybolmuştur. 50 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 2542 bp büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. Kontrol grubunda bulunmayan 1020 bp büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında ortaya çıkmıştır.



Şekil 3.31. *Semizotu* bitkisinde PM3 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD PM3 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.31). Veri analizi sonucu elde edilen dendrogramda kontrol grubunun diğer gruplardan farklılaştığı görülmektedir. Dendrogramda 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları bir kümede toplanırken, 200 µg/ml konsantrasyonu ayrı bir dal oluşturmuştur. Bu durum 200 µg/ml konsantrasyonunun diğer doz uygulamalarından farklılık gösterdiğini ve uygulanan *P. glauca* aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu ortaya koymaktadır.

RAPD PM10 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150, 200 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen semizotu fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 21 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 627 bç ile 3333 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 8 adet bant oluşurken 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında sırasıyla 8, 9, 11 ve 9 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 2542 bç büyüklüğündeki bant 50, 100, 150 ve 200 µg/ml dozlarında kaybolmuştur. Kontrol grubu ve 50 µg/ml dozundaki 855 bç büyüklüğündeki bant diğer dozlarda kaybolmuştur. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 3333 bç büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır. 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında kontrol dozunda bulunmayan 2000 bç büyüklüğünde bir bant bulunmaktadır. Kontrol grubu ile 50, 100, 150 µg/ml gruplarında bulunan 1091 bç büyüklüğündeki bant 200 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur. 200 µg/ml doz uygulamasında kontrolde olmayan 950 bç büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. 100, 150, 200 µg/ml doz uygulamalarında kontrolde olmayan 800 bç büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır.



Şekil 3.32. *Semizotu bitkisinde PM10 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi*

RAPD PM10 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.32). Veri analizi sonucu elde edilen dendrogramdaki ana kümede kontrol grubu ve 50 µg/ml konsantrasyonu bir alt kümede, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonu ise ikinci alt kümede toplanmıştır. 200 µg/ml konsantrasyonu ise dendrogramda ayrı bir dal oluşturmuştur. Bu da bize 200 µg/ml konsantrasyonunda bant profilinin en fazla değiştiğini işaret etmektedir.

Yapılan ISSR ve RAPD PCR analizleri sonrasında her primer için her bir konsantrasyonda elde edilen bant profillerinin kontrol dozundaki bant profili ile karşılaştırılmasıyla polimorfizm hesaplamaları yapılmıştır. Kontrolde var olup dozlarda bulunmayan ve/veya kontrole göre dozlarda yeni oluşan bantlar polimorfik olarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.7). Semizotu bitkisinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR ve RAPD PCR analizlerinde her bir primerde farklı derecelerde polimorfizm tespit edilmiştir.

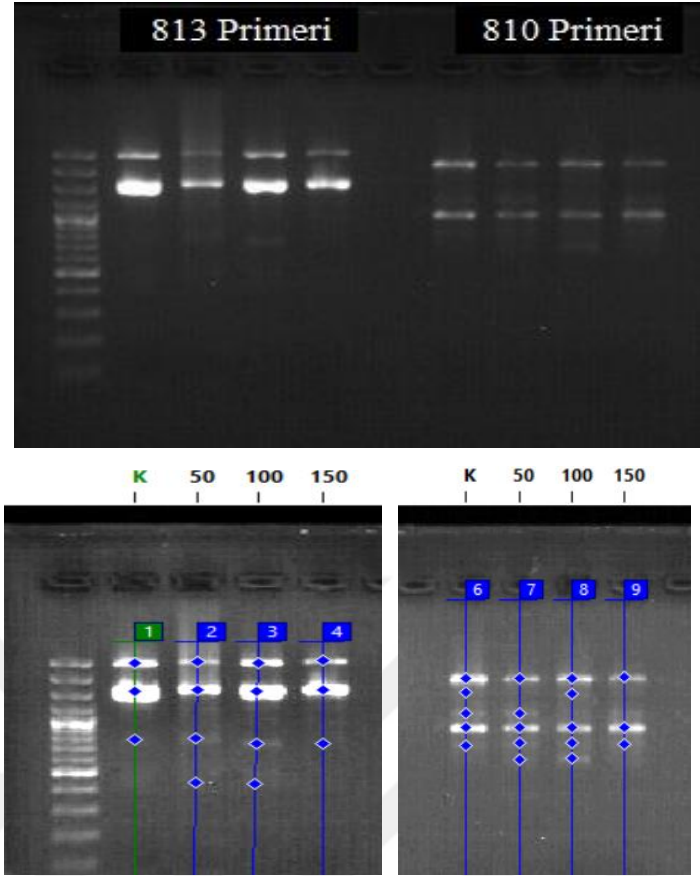
Tablo 3.7. *Semizotu* bitkisinde PCR analizlerinden elde edilen polimorfik bantların değişimi ve GKS değerleri tablosu (a*: kontrole göre yeni oluşan bant sayısı, b*: kontrole göre kaybolan bant sayısı, a+b*: polimorfik bant sayısı)

Primer ISSR RAPD	Kontroldeki Toplam Bant Sayısı	50 µg		100 µg		150 µg		200 µg	
		a	b	a	b	a	b	a	b
810	5	0	1	0	1	0	1	0	1
812	5	0	0	0	0	1	0	1	0
813	7	1	1	1	2	0	2	1	3
814	5	0	1	0	1	0	1	0	1
D11	9	3	2	2	4	1	5	4	6
OPA2	10	1	2	3	5	1	4	2	5
PM3	12	2	2	1	2	2	4	1	4
PM10	8	1	0	6	5	6	3	8	7
a+b	61	17		33		31		44	
GKS		%72,2		%46		%49,2		%27,9	

ISSR ve RAPD analizi sonuçlarına göre genomik kalıp stabilitesi değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerlere göre *P. glauca* aseton ekstraktı uygulanan semizotu bitkisinde en yüksek GKS değeri 50 µg/ml konsantrasyonunda %72,2 ve en düşük GKS değeri 200 µg/ml konsantrasyonunda %27,9 olarak hesaplanmıştır. GKS değerleri sırasıyla; 100 µg/ml konsantrasyonu için %46 ve 150 µg/ml konsantrasyonu için %49,2 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.7).

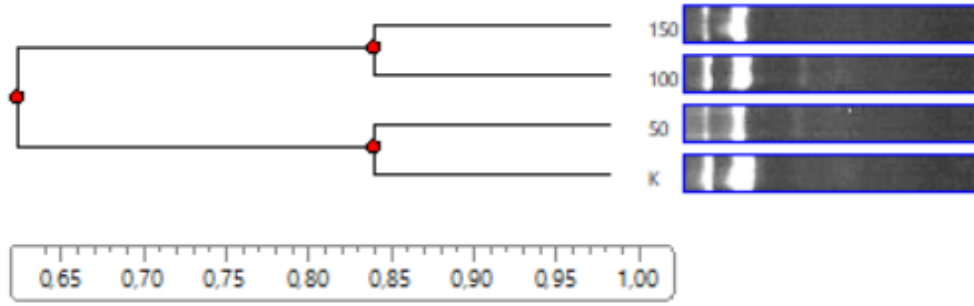
3.3.3. *Setaria verticillata* ISSR ve RAPD PCR Analizleri

ISSR 813 ve ISSR 810 primerleri ile *S. verticillata* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.33'te verilmiştir.



Şekil 3.33. ISSR 813 ve ISSR 810 primerleri ile yapışkan ot DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

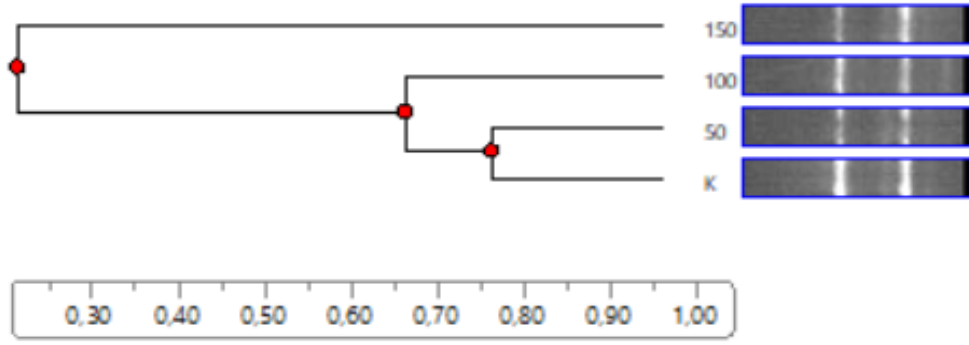
ISSR 813 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen yapışkan ot fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 5 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 345 bp ile 1600 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 3 adet bant oluşurken 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 4, 4 ve 3 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 700 bp büyüklüğünde bant 50 µg/ml doz uygulamasında bulunmaktayken 100 ve 150 µg/ml doz uygulamasında ortadan kaybolmuştur. 50 ve 100 µg/ml doz uygulamalarında kontrolde olmayan 345 bp büyüklüğünde bant meydana gelmiştir. 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kontrol ve 50 µg/ml doz uygulamalarında olmayan 655 bp büyüklüğünde bant oluşmuştur.



Şekil 3.34. *Yapışkan ot bitkisinde 813 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi*

ISSR 813 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.34). Veri analizi sonucu elde edilen dendrogramdaki bir kümede kontrol grubu ve 50 µg/ml konsantrasyonu, bir diğer kümede 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonu toplanmıştır. Uygulanan liken ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu ifade etmektedir.

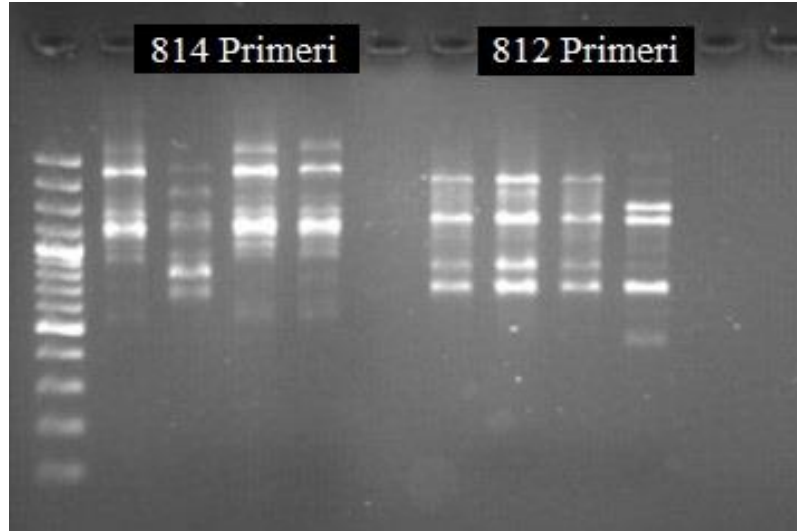
ISSR 810 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen yapışkan ot fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 9 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 800 bp ile 2627 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 5, 5 ve 3 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 1792 bp büyüklüğünde bant diğer doz uygulamalarının tümünde kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 2508 bp büyüklüğündeki bant 50 ve 100 µg/ml dozlarında mevcut olmasına rağmen 150 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubu, 50 ile 100 µg/ml konsantrasyonlarında bulunmayan 2627 bp büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. Kontrol ve 50 µg/ml dozundaki 1329 bp büyüklüğündeki bant 100 ve 150 µg/ml dozlarında kaybolmuştur. 100 µg/ml dozunda 1738 bp büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. 150 µg/ml konsantrasyonunda kontrol grubunda olmayan 937 bp büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. Kontrol grubu, 50 ve 100 µg/ml dozlarında bulunan 946 bp büyüklüğündeki bant 150 µg/ml dozunda kaybolmuştur.

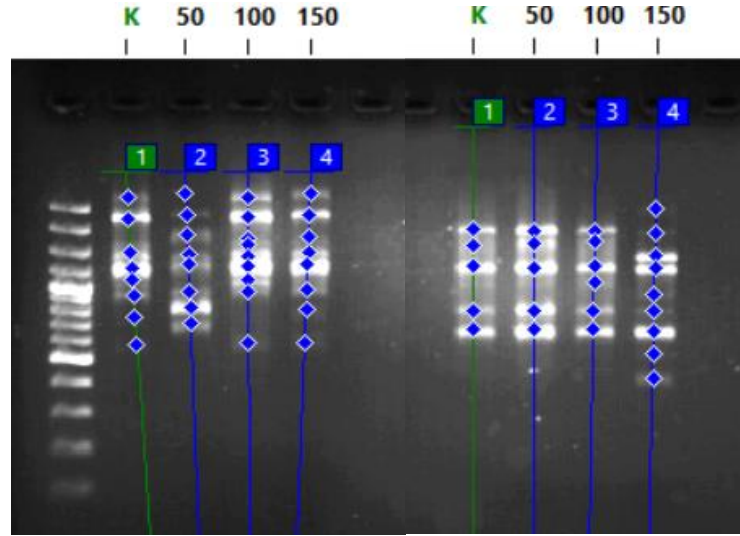


Şekil 3.35. *Yapışkan ot* bitkisinde 810 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 810 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.35). Bu dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 µg/ml konsantrasyonu ayrı bir küme oluşturmuştur. Dendrogramda oluşan kümelerde dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

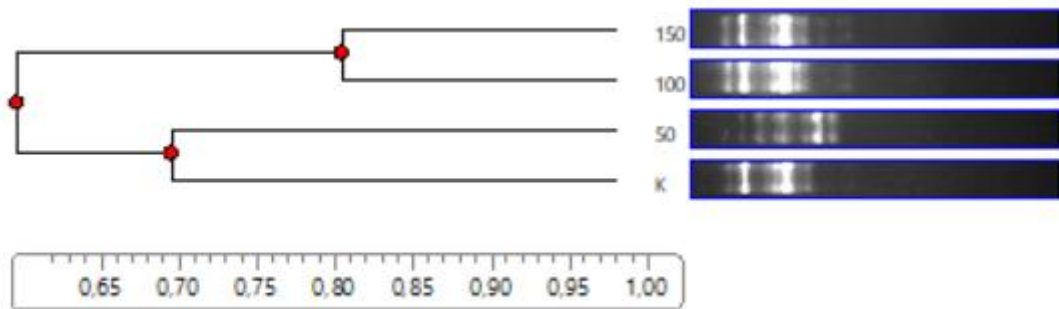
ISSR 814 ve ISSR 812 primerleri ile *S. verticillata* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.36'da verilmiştir.





Şekil 3.36. ISSR 814 ve ISSR 812 primerleri ile yapışkan ot DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

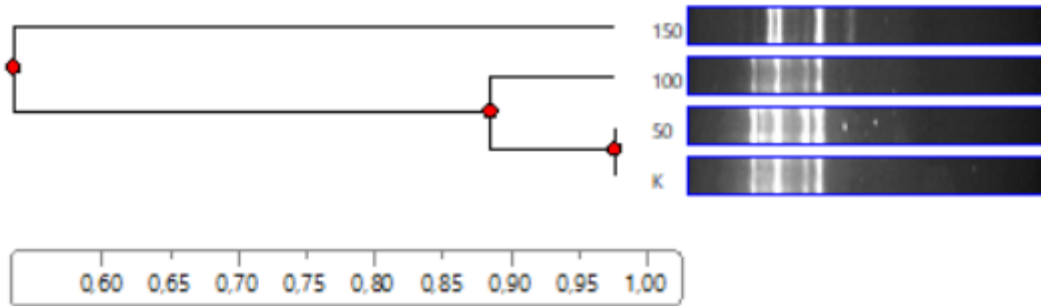
ISSR 814 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında çimlenen yapışkan ot fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 10 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 678 bp ile 3637 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 8 adet bant oluşurken 50, 100 ve 150 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında sırasıyla 8, 9 ve 8 adet bant oluşmuştur. Kontrol, 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında bulunan 1655 bp büyüklüğündeki bant 150 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kaybolmuştur. 50 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 800, 920 ve 1868 bp büyüklüğünde üç yeni bant ortaya çıkmıştır. 100 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kontrolde olmayan 900 bp büyüklüğünde yeni bir bant meydana gelmiştir. 150 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamasında kontrol, 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamalarında olmayan 1468 bp'lik bir bant ortaya çıkmıştır. 100 ve 150 $\mu\text{g/ml}$ doz uygulamalarında kontrol grubu ve 50 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda olmayan 678, 900 ve 1753 bp büyüklüklerinde üç yeni bant meydana gelmiştir.



Şekil 3.37. Yapışkan ot bitkisinde 814 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 814 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.37). Veri analizi sonucu elde edilen dendrogramdaki ilk alt kümede kontrol grubu ve 50 µg/ml konsantrasyonu, diğer alt kümede 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonu toplanmıştır. Yüksek konsantrasyonların ayrı dallanmalar oluşturup kontrol grubu ve düşük konsantrasyonlardan ayrıldığı tespit edilmiştir.

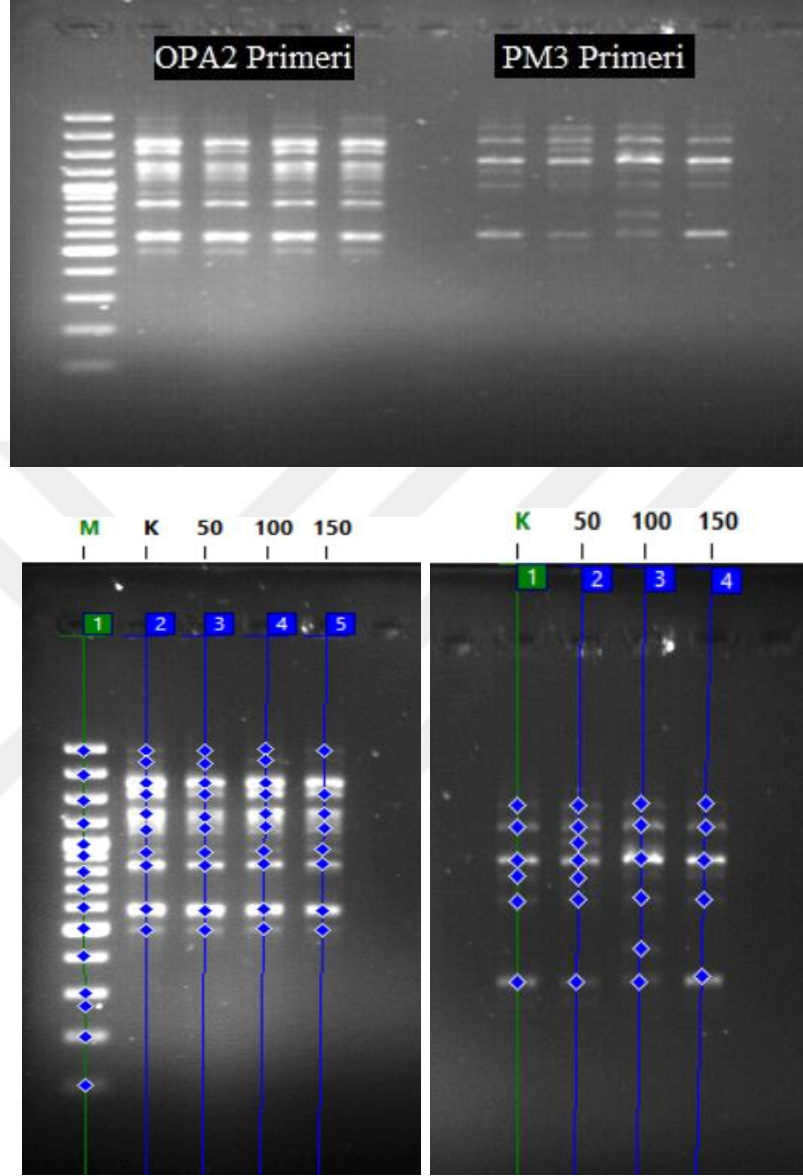
ISSR 812 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen yapışkan ot fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 11 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 560 bp ile 2350 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 5, 6 ve 9 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubu, 50 ve 100 doz µg/ml uygulamalarında bulunan 1750 bp büyüklüğündeki bant 150 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda ve diğer dozlarda olmayan 560, 1040 ve 1534 bp büyüklüğünde bantlar meydana gelmiştir.



Şekil 3.38. Yapışkan ot bitkisinde 812 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

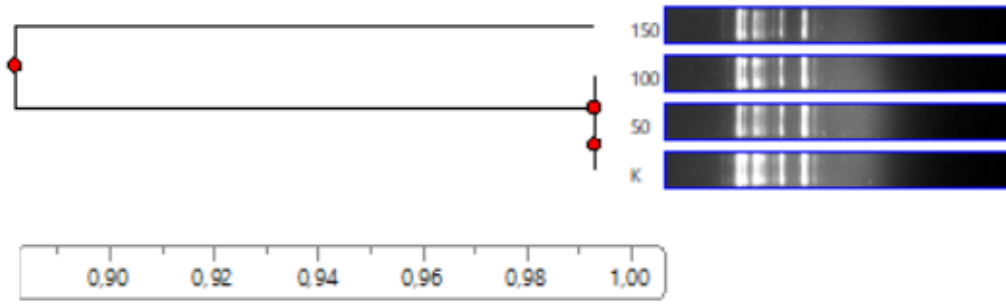
ISSR 812 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.38). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 µg/ml konsantrasyonu ayrı bir küme oluşturmuştur. Kontrol ve 50 µg/ml konsantrasyonlarına ait bant profillerinin aynı olduğu belirlenmiştir. Uygulanan *P. glauca* liken aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

RAPD OPA2 ve RAPD PM3 primerleri ile *S. verticillata* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.39'da verilmiştir.



Şekil 3.39. RAPD OPA2 ve RAPD PM3 primerleri ile yapışkan ot DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

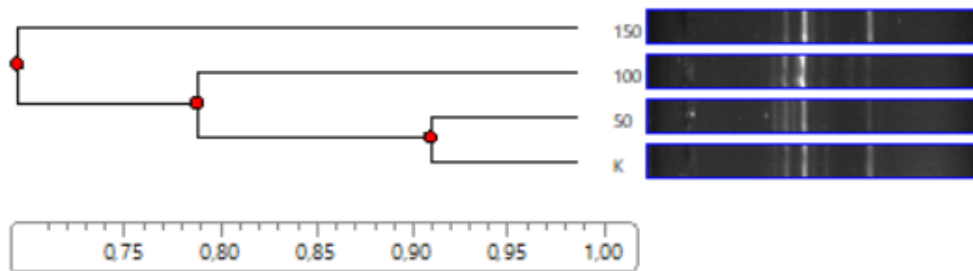
RAPD OPA2 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen yapışkan ot fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 10 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 500 bp ile 3000 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 10 adet bant oluşurken 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 10, 10 ve 8 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubu, 50 ve 100 µg/ml doz uygulamalarında bulunan 2452 bp büyüklüğündeki bant 150 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur.



Şekil 3.40. Yapışkan ot bitkisinde OPA2 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD OPA2 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.40). Dendrogramda 150 µg/ml doz uygulamasının diğer doz uygulamalarından farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Uygulanan *P. glauca* aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

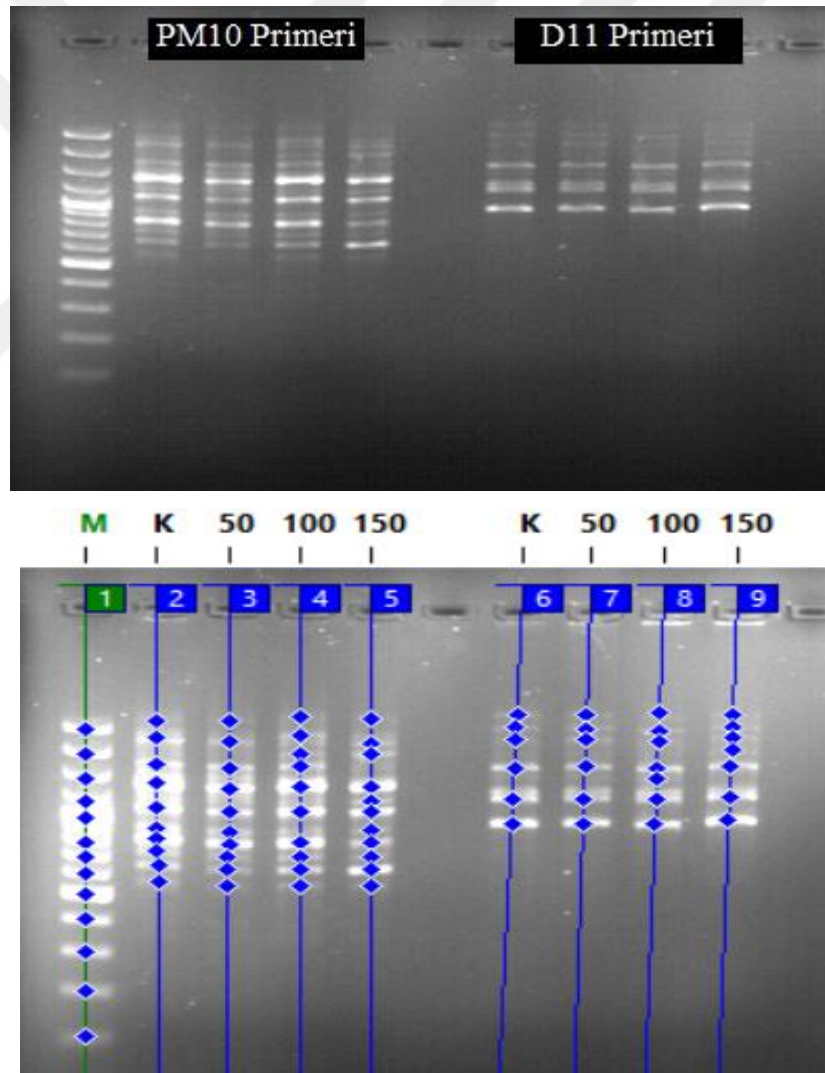
RAPD PM3 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen yapışkan ot fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 9 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 600 bp ile 2930 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 6 adet bant oluşurken 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 7, 6 ve 5 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 1021 bp büyüklüğündeki bant 50 µg/ml doz uygulamasında bulunmakta 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında ortadan kaybolmaktadır. 50 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 1278 bp büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. 100 µg/ml doz uygulamasında kontrol ve 50 µg/ml dozunda olmayan 646 bp büyüklüğünde yeni bant meydana gelmiştir. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol, 50 ve 100 µg/ml dozlarında olmayan 526 bp büyüklüğünde bir bant oluşmuştur.



Şekil 3.41. Yapışkan ot bitkisinde PM3 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

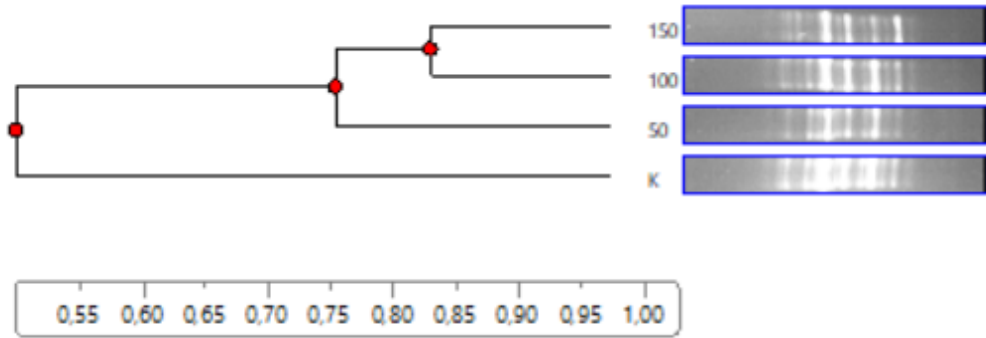
RAPD PM3 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (şekil 3.41). Bu dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonu kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 µg/ml konsantrasyonu ayrı dalda kümelenmiştir. Bu da bize 150 µg/ml konsantrasyonunda bant profilinin değiştiğini işaret etmektedir. Dendrogramda oluşan kümelerde dallanmaların dūřuk konsantrasyondan yūksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu gōstermektedir.

RAPD PM10 ve RAPD D11 primerleri ile *S. verticillata* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları şekil 3.42'de verilmiştir.



şekil 3.42. RAPD PM10 ve RAPD D11 primerleri ile yapışkan ot DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

RAPD PM10 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen yapışkan ot fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 17 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 638 bp ile 3500 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 10 adet bant oluşurken 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 10, 10 ve 11 adet bant oluşmuştur. Kontrol doz uygulamasındaki 1115 bp büyüklüğündeki bant 50, 100 ve 150 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur. Kontrol dozundaki 657 ve 746 bp büyüklüklerindeki bantlar diğer dozlarda ortadan kaybolmuştur. 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kontrol ve 50 µg/ml dozlarında olmayan 2000 bp büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır. 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarında kontrol grubunda olmayan 1063 ve 888 bp'lık yeni bantlar ortaya çıkmıştır. 50, 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kontrol grubunda olmayan 722 bp büyüklüğünde yeni bir bant meydana gelmiştir. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol dozundaki 1738 bp büyüklüğündeki bant kaybolmuştur. 150 µg/ml konsantrasyonunda kontrol grubunda olmayan 1200 bp büyüklüğünde bant ortaya çıkmıştır.

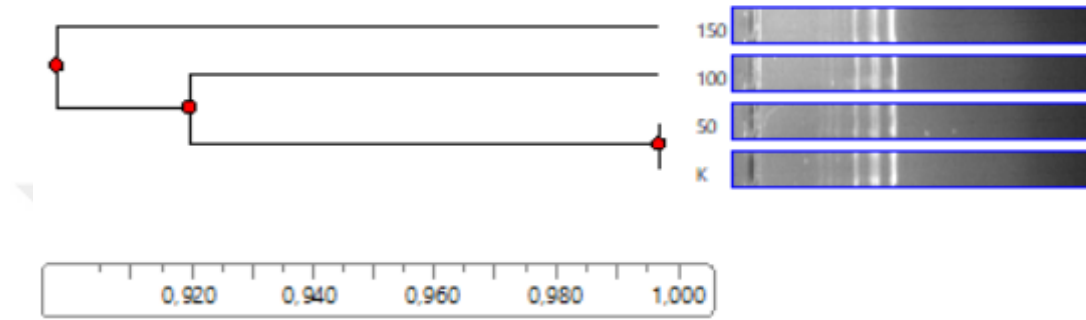


Şekil 3.43. Yapışkan ot bitkisinde PM10 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD PM10 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.43). Bu dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları aynı dalda kümelenirken, kontrol grubu ayrı bir dal oluşturmıştır. Dendrogramda oluşan kümelerde dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

RAPD D11 primeri ve liken ekstraktının 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen yapışkan ot fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi

sonucunda toplam 8 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 961 bp ile 3667 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 6 adet bant oluşurken 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 6, 7 ve 7 adet bant oluşmuştur. 100 doz µg/ml uygulamasında kontrol grubu ve 50 µg/ml doz uygulamasında olmayan 1500 bp büyüklüğünde yeni bant meydana gelmiştir. 150 µg/ml doz uygulamasında ise kontrol grubu, 50 ve 100 µg/ml dozlarında bulunmayan 2135 bp büyüklüğünde yeni bir bant meydana gelmiştir.



Şekil 3.44. *Yapışkan ot bitkisinde D11 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi*

RAPD D11 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.44). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 µg/ml konsantrasyonu ayrı bir dallanma oluşturmuştur. Kontrol ve 50 µg/ml konsantrasyonlarına ait bant profillerinin aynı olduğu belirlenmiştir. Uygulanan *P. glauca* liken aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

Yapılan ISSR ve RAPD PCR analizleri sonrasında her primer için her bir konsantrasyonda elde edilen bant profillerinin kontrol dozundaki bant profili ile karşılaştırılmasıyla polimorfizm hesaplamaları yapılmıştır. Kontrolde var olup dozlarda bulunmayan ve/veya kontrole göre dozlarda yeni oluşan bantlar polimorfik olarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.8). Yapışkan ot bitkisinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR ve RAPD PCR analizlerinde her bir primerde farklı derecelerde polimorfizm tespit edilmiştir.

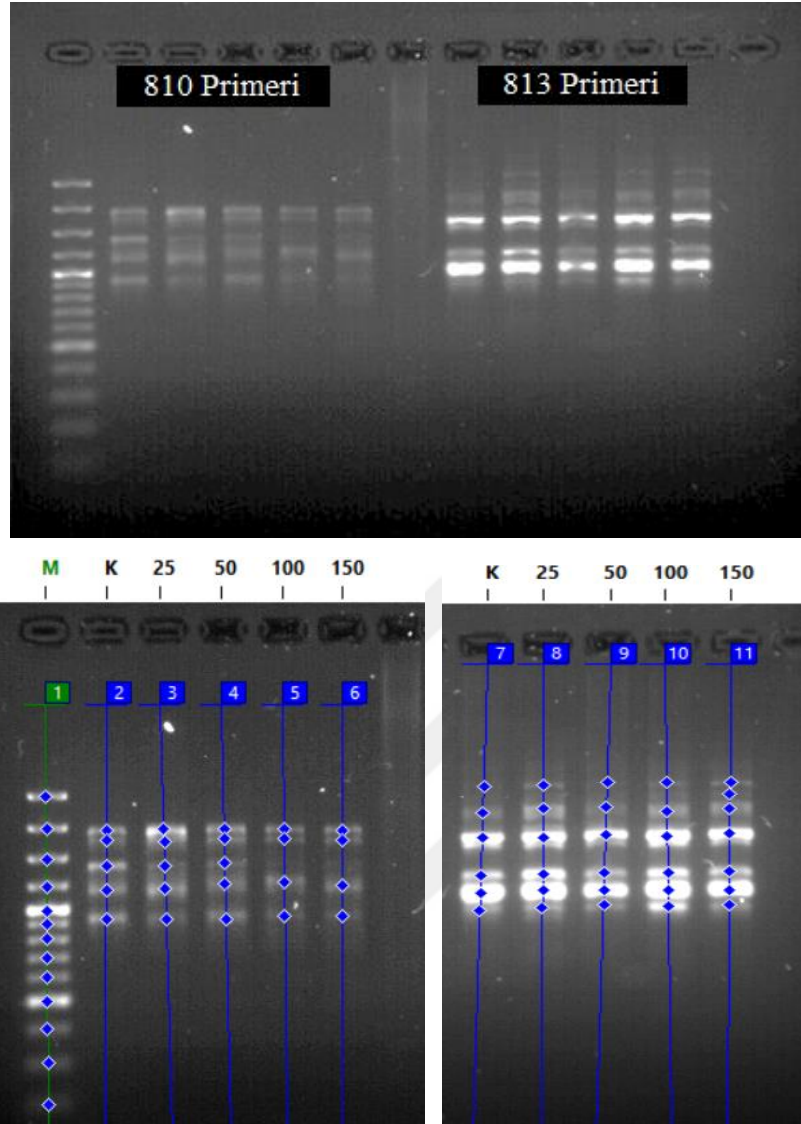
Tablo 3.8. Yapışkan ot bitkisinde PCR analizlerinden elde edilen polimorfik bantların değişimi ve GKS değerleri tablosu (a*: kontrole göre yeni oluşan bant sayısı, b*: kontrole göre kaybolan bant sayısı, a+b*: polimorfik bant sayısı)

Primer ISSR RAPD	Kontroldeki Toplam Bant Sayısı	50 µg		100 µg		150 µg	
		a	b	a	b	a	b
813	3	1	0	2	1	1	1
810	5	1	1	2	2	2	4
814	8	1	1	1	1	0	0
812	5	0	0	1	0	5	1
OPA2	15	0	0	0	0	0	2
PM3	6	1	0	1	1	1	2
PM10	10	4	4	5	5	6	5
D11	6	0	0	1	0	1	0
a+b	58	14		23		31	
GKS		%75,87		%60,35		%46,56	

ISSR ve RAPD analizi sonuçlarına göre genomik kalıp stabilitesi değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerlere göre *P. glauca* aseton ekstraktı uygulanan yapışkan ot bitkisinde en yüksek GKS değeri 50 µg/ml konsantrasyonunda %75,87 ve en düşük GKS değeri 150 µg/ml konsantrasyonunda %46,56 olarak hesaplanmıştır. GKS değerleri 100 µg/ml konsantrasyonu için %60,35 olarak tespit edilmiştir. (Tablo 3.8).

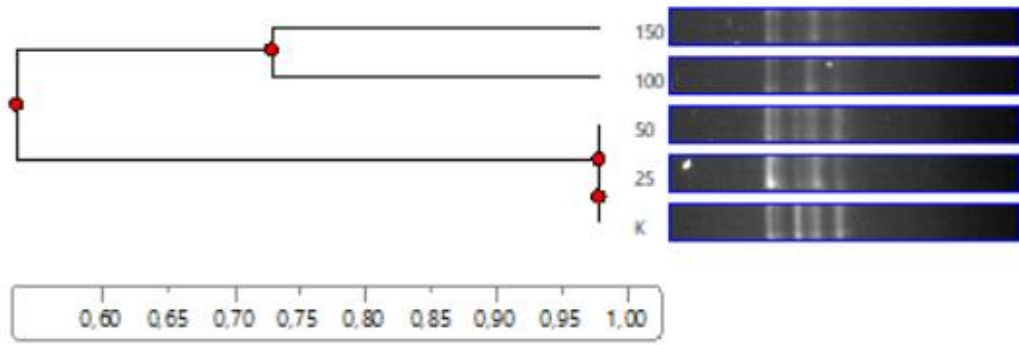
3.3.4. Oryza sativa ISSR ve RAPD PCR Analizleri

ISSR 810 ve ISSR 813 primerleri ile *O. sativa* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.45'te verilmiştir.



Şekil 3.45. ISSR 810 ve ISSR 813 primerleri ile çeltik DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

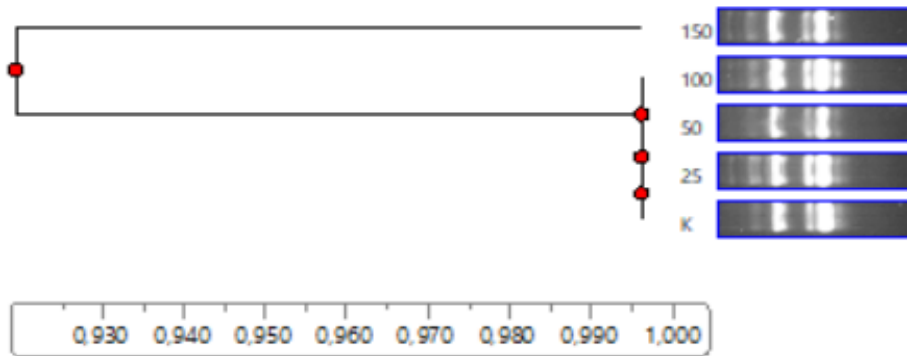
ISSR 810 primeri ve liken ekstraktının 25, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen çeltik fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 7 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 938 bp ile 2000 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 5, 5, 4 ve 4 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 1170 bp ve 1422 bp büyüklüğündeki bantlar 25 ve 50 µg/ml doz uygulamalarında bulunmaktayken 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. 100 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubu ve diğer dozlarda bulunmayan 962 bp büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır. 100 ve 150 doz µg/ml uygulamalarında kontrol, 25, 50 µg/ml dozlarında bulunmayan 1240 bp büyüklüğünde bir bant oluşmuştur.



Şekil 3.46. Çeltik bitkisinde 810 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 810 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.46). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir küme oluşturmuştur. Kontrol, 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarına ait bant profillerinin aynı olduğu belirlenmiştir. Uygulanan *P. glauca* liken aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

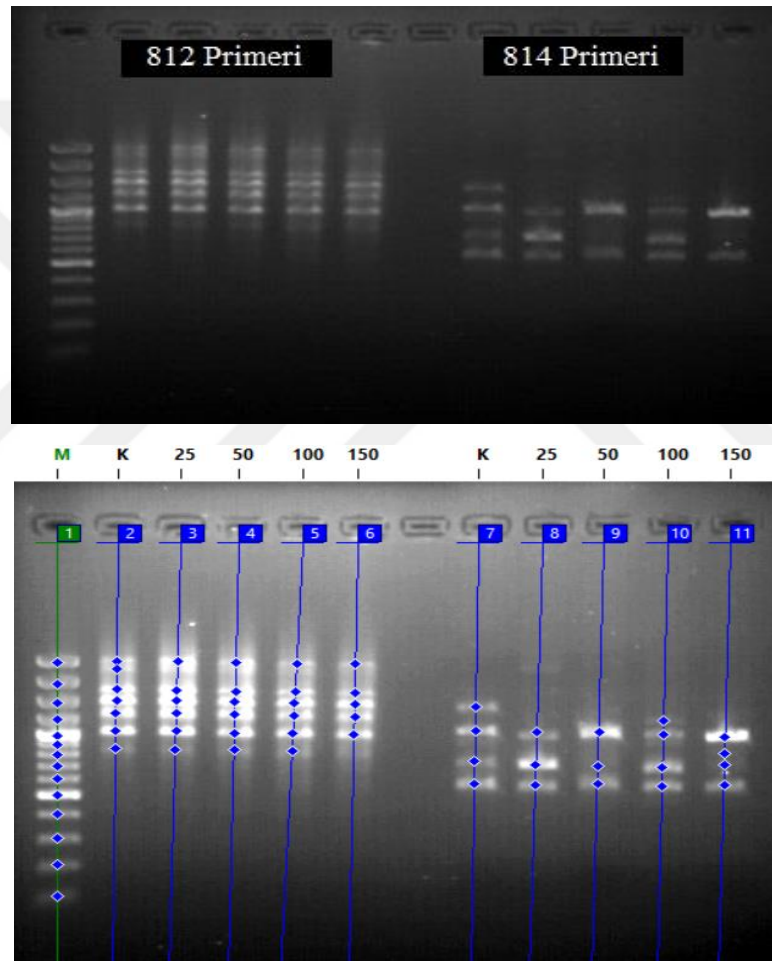
ISSR 813 primeri ve liken ekstraktının 25, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen çeltik fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 7 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 911 bp ile 3500 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 6 adet bant oluşurken 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 6, 6, 6 ve 7 adet bant oluşmuştur. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol, 25, 50 ve 100 doz µg/ml uygulamalarında olmayan 3100 bp büyüklüğünde yeni bir bant ortaya çıkmıştır.



Şekil 3.47. Çeltik bitkisinde 813 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 813 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.47). Dendrogramda 150 µg/ml doz uygulamasının diğer doz uygulamalarından farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Uygulanan *P. glauca* aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturmaları sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

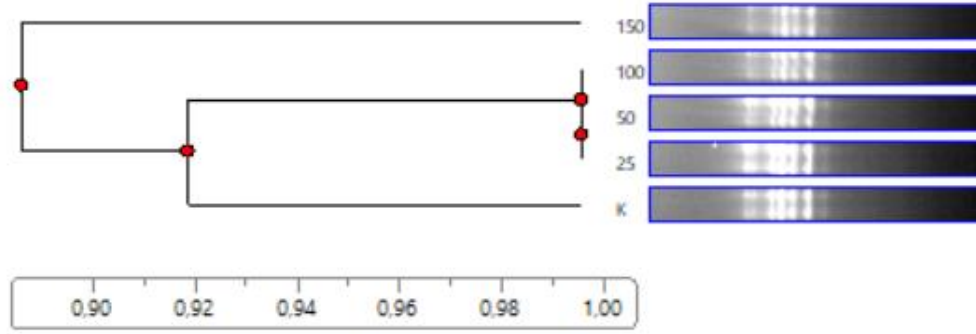
ISSR 812 ve ISSR 814 primerleri ile *O. sativa* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.48'de verilmiştir.



Şekil 3.48. ISSR 812 ve ISSR 814 primerleri ile çeltik DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

ISSR 812 primeri ve liken ekstraktının 25, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen çeltik fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 7 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 835 bp ile 3060 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 7 adet bant oluşurken 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 6, 6, 6 ve 5 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 2675 bp

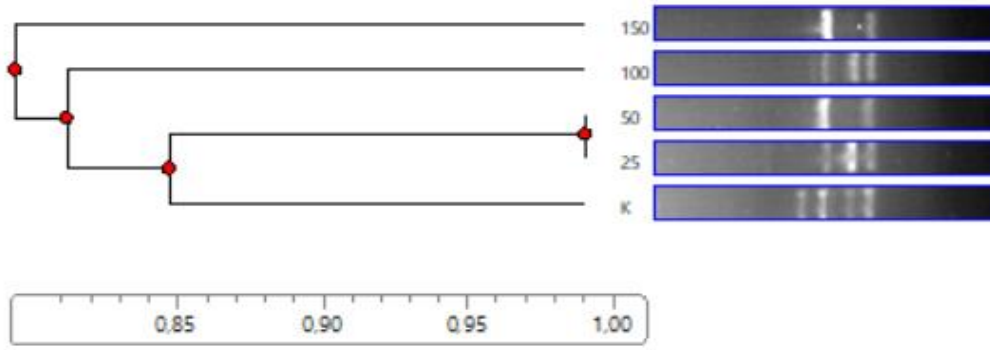
büyükliğindeki bant 25, 50, 100, 150 µg/ml doz uygulamalarında ortadan kaybolmuştur. Kontrol, 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında bulunan 860 bç büyüklüğündeki bant 150 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur.



Şekil 3.49. Çeltik bitkisinde 812 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 812 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.49). Veri analizi sonucu elde edilen dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 150 µg/ml konsantrasyonu ayrı bir küme oluşturmuştur. Dendrogramda oluşan kümelerde dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

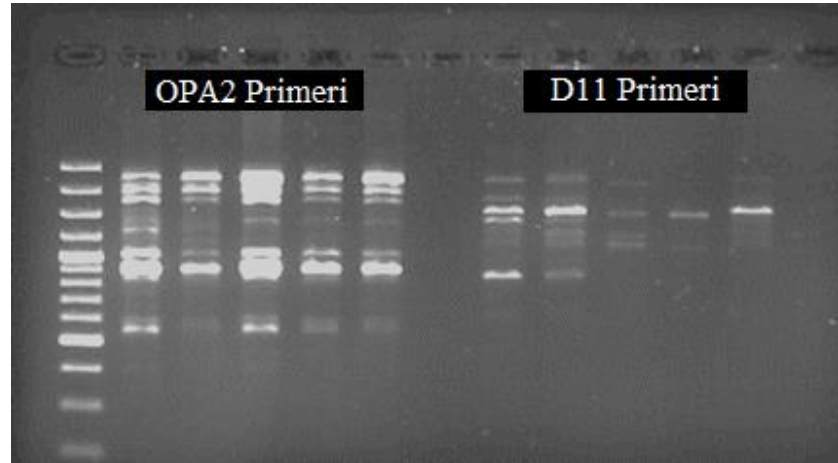
ISSR 814 primeri ve liken ekstraktının 25, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen çeltik fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR PCR analizi sonucunda toplam 6 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 558 bç ile 1425 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 4 adet bant oluşurken 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 3, 3, 4 ve 4 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 1425 bç büyüklüğündeki bant 25, 50, 100, 150 µg/ml doz uygulamalarında ortadan kaybolmuştur. 100 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 1180 bç büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. 150 µg/ml konsantrasyonunda kontrol grubu ve 25, 50, 100 µg/ml konsantrasyonlarında olmayan 812 bç büyüklüğünde yeni bir bant meydana gelmiştir.

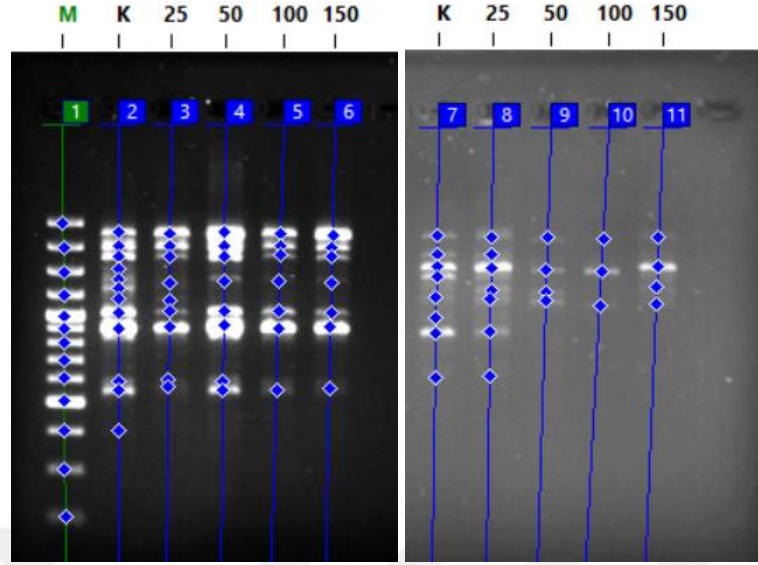


Şekil 3.50. Çeltik bitkisinde 814 primeriyle yapılan ISSR PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

ISSR 814 primeri ile gerçekleştirilen ISSR analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.50). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları ayrı dallanmalar oluşturmıştır. Dendrogramda oluşan gruplarda dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

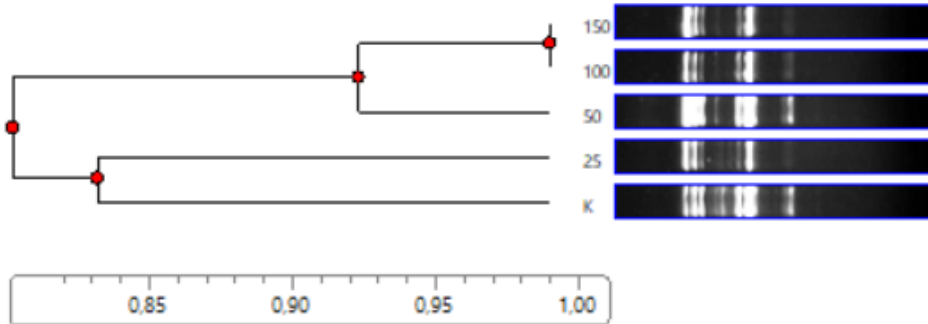
RAPD OPA2 ve RAPD D11 primerleri ile *O. sativa* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.51'de verilmiştir.





Şekil 3.51. RAPD OPA2 ve RAPD D11 primerleri ile çeltik DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

RAPD OPA2 primeri ve liken ekstraktının 25, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen çeltik fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 11 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 400 bç ile 2530 bç arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 12 adet bant oluşurken 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 9, 8, 7 ve 7 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubunda bulunan 1400 bç büyüklüğündeki bant 25 µg/ml doz uygulamasında kaybolmuştur. Kontrol grubu ve 25 µg/ml dozunda bulunan 1284 bç büyüklüğündeki bant 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 1162 bç büyüklüğündeki bant 25, 50, 100, 150 µg/ml dozlarında ortadan kaybolmuştur. Kontrol grubunda bulunan 400 bç büyüklüğündeki bant ise tüm gruplarda kaybolmuştur.

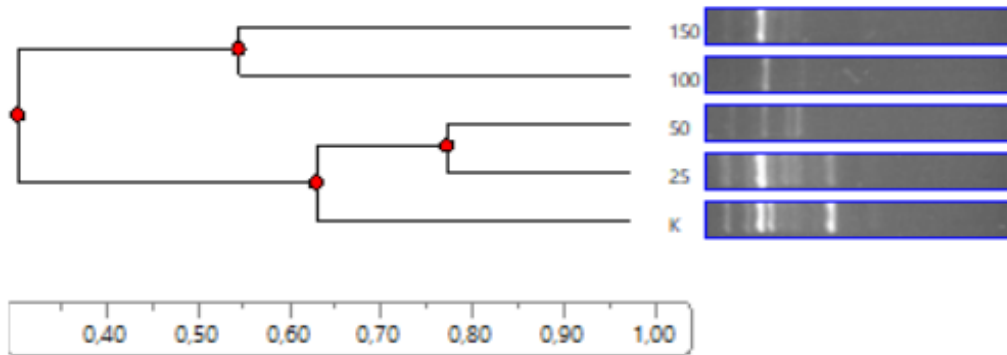


Şekil 3.52. Çeltik bitkisinde OPA2 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD OPA2 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen

UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.52). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 25 µg/ml konsantrasyonu kontrolle aynı dalda kümelenirken 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir kümelenme oluşturmuştur. Elde edilen dendrogramda 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarının aynı bant profilleri oluşturduğu belirlenmiştir. Dendrogramda oluşan gruplarda dallanmaların düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru oluşması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

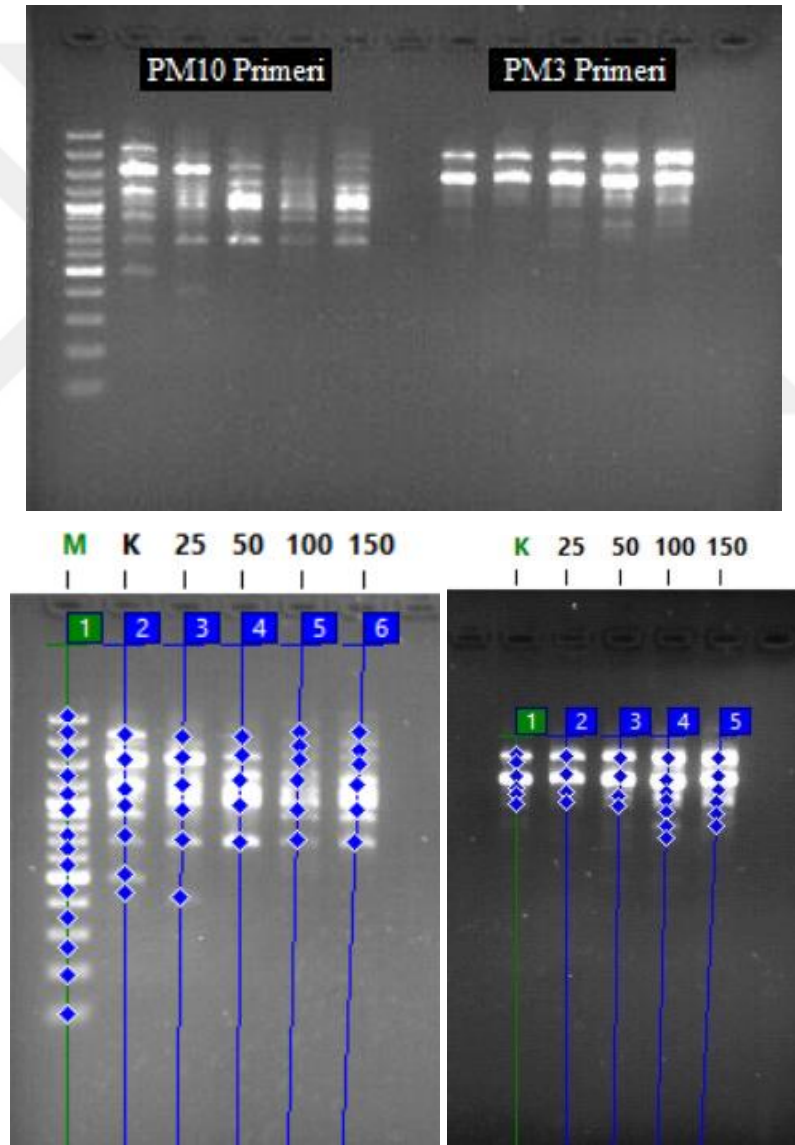
RAPD D11 primeri ve liken ekstraktının 25, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen çeltik fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 11 bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 590 bp ile 2455 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 8 adet bant oluşurken 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 7, 4, 3 ve 4 adet bant oluşmuştur. 100 µg/ml konsantrasyonunda kontrol grubunda olmayan 2310 bp büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. Kontrol ve 25 µg/ml konsantrasyonundaki 1811 bp'lik bant 50, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 1424 bp büyüklüğündeki bant 25, 50, 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 845 bp büyüklüğündeki bant diğer konsantrasyonlarda kaybolmuştur. Kontrol grubu ve 25 µg/ml doz uygulamasındaki 590 bp büyüklüğündeki bant 50, 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. 25 ve 50 µg/ml doz uygulamalarında kontrol grubunda olmayan 1235 bp'lik bant ortaya çıkmıştır. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol, 25, 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında olmayan 1285 bp'lik yeni bir bant ortaya çıkmıştır. Kontrol grubu, 25 ve 50 µg/ml doz uygulamalarında bulunan 860 bp büyüklüğündeki bant 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonlarında kontrol grubu ile, 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarında olmayan 1080 bp'lik bant ortaya çıkmıştır.



Şekil 3.53. Çeltik bitkisinde D11 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

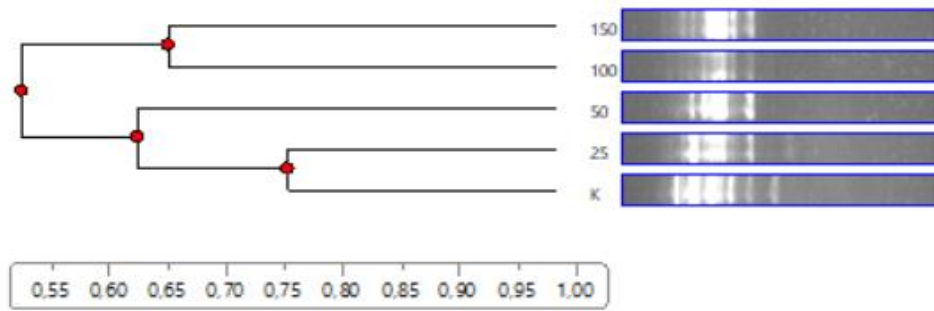
RAPD D11 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.53). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir kümelenme oluşturmuştur. Elde edilen dendrogramda yüksek konsantrasyonların kendi aralarında dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

RAPD PM10 ve RAPD PM3 primerleri ile *O. sativa* DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları Şekil 3.54'te verilmiştir.



Şekil 3.54. RAPD PM10 ve RAPD PM3 primerleri ile çeltik DNA'ları kullanılarak yapılan PCR analizi sonuçları

RAPD PM10 primeri ve liken ekstraktının 25, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen çeltik fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 13 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 475 bp ile 2000 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 7 adet bant oluşurken 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 6, 6, 6 ve 6 adet bant oluşmuştur. Kontrol grubundaki 491 bp büyüklüğündeki bant 25, 50, 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. Kontrol grubundaki 1434 bp'lik bant 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonunda kaybolmuştur. 100 µg/ml konsantrasyonunda kontrol grubunda olmayan 1145 bp büyüklüğünde bir bant meydana gelmiştir. 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kontrol grubu, 25 ve 50 µg/ml doz uygulamalarında olmayan 1500 bp büyüklüğünde bir bant ortaya çıkmıştır. 150 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubunda olmayan 1324 bp'lik bant ortaya çıkmıştır.

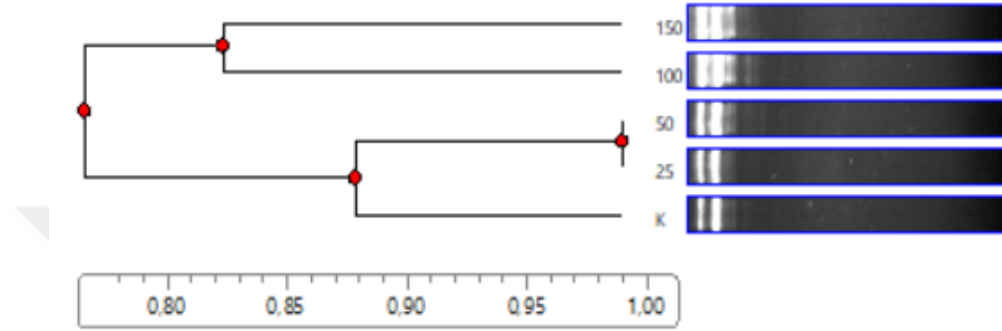


Şekil 3.55. Çeltik bitkisinde PM10 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD PM10 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.55). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı kümede gruplanırken 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir grup oluşturmuştur. Elde edilen dendrogramda yüksek konsantrasyonların kendi aralarında dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

RAPD PM3 primeri ve liken ekstraktının 25, 50, 100, 150 µg/ml konsantrasyonlarında çimlenen çeltik fidelerinden elde edilen DNA'lar ile yapılan RAPD PCR analizi sonucunda toplam 8 adet bant elde edilmiştir. Bant büyüklükleri 880 bp ile 2528 bp arasında değişmektedir. Kontrol grubunda toplam 5 adet bant oluşurken 25, 50, 100 ve 150 µg/ml dozlarında sırasıyla 4, 5, 6 ve 5 adet bant oluşmuştur. Kontrol

grubundaki 1283 bç büyüklüğündeki bant 25, 50, 100, 150 µg/ml doz uygulamalarında kaybolmuştur. 100 µg/ml doz uygulamasında kontrol grubu ile 25, 50 µg/ml dozlarında olmayan 765 bç'lik yeni bant meydana gelmiştir. 100 ve 150 µg/ml doz uygulamalarında kontrol, 25, 50 µg/ml dozlarında olmayan 941 bç büyüklüğünde bir bant meydana gelmiştir. 150 µg/ml dozunda kontrol, 25, 50, 100 µg/ml dozlarında olmayan 976 bç'lik yeni bant oluşmuştur.



Şekil 3.56. Çeltik bitkisinde PM3 primeriyle yapılan RAPD PCR sonucunda elde edilen DNA bant profili farklılıklarının dendrogram ile gösterimi

RAPD PM3 primeri ile gerçekleştirilen RAPD analizi sonucunda kontrol grubu ve konsantrasyonlar arası ilişkiler ve benzerlikler Jaccard eşitliği kullanılarak elde edilen UPGMA dendrogramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.56). Dendrogramda *P. glauca* aseton ekstraktının 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonları kontrolle aynı dalda kümelenirken, 100 ve 150 µg/ml konsantrasyonları ayrı bir küme oluşturmuştur. 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarına ait bant profillerinin aynı olduğu belirlenmiştir. Uygulanan *P. glauca* liken aseton ekstraktının düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru dallanmalar oluşturması sonuçların anlamlı olduğunu göstermektedir.

Yapılan ISSR ve RAPD PCR analizleri sonrasında her primer için her bir konsantrasyonda elde edilen bant profillerinin kontrol dozundaki bant profili ile karşılaştırılmasıyla polimorfizm hesaplamaları yapılmıştır. Kontrolde var olup dozlarda bulunmayan ve/veya kontrole göre dozlarda yeni oluşan bantlar polimorfik olarak değerlendirilmiştir (Tablo 3.9). Çeltik bitkisinden elde edilen DNA'lar ile yapılan ISSR ve RAPD PCR analizlerinde her bir primerde farklı derecelerde polimorfizm tespit edilmiştir.

Tablo 3.9. Çeltik bitkisinde PCR analizlerinden elde edilen polimorfik bantların değişimi ve GKS değerleri tablosu (*a**: kontrole göre yeni oluşan bant sayısı, *b**: kontrole göre kaybolan bant sayısı, *a+b**: polimorfik bant sayısı)

Primer ISSR RAPD	Kontroldeki Toplam Bant Sayısı	25 µg		50 µg		100 µg		150 µg	
		a	b	a	b	a	b	a	b
810	13	0	0	0	0	2	3	1	2
813	6	0	0	0	0	0	0	1	0
812	7	0	1	0	1	0	1	0	2
814	4	0	1	0	1	1	1	1	1
OPA2	14	0	3	0	3	0	4	0	4
D11	8	1	2	1	3	2	6	2	5
PM10	7	1	2	2	3	3	4	2	3
PM3	6	0	1	0	1	2	1	2	1
a+b	65	12		15		30		27	
GKS		%81,5		%77		%53,85		%58,47	

ISSR ve RAPD analizi sonuçlarına göre genomik kalıp stabilitesi değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerlere göre *P. glauca* aseton ekstraktı uygulanan çeltik bitkisinde en yüksek GKS değeri 25 µg/ml konsantrasyonunda %81,5 ve en düşük GKS değeri 100 µg/ml konsantrasyonunda %53,85 olarak hesaplanmıştır. GKS değerleri 50 µg/ml konsantrasyonu için %77 ve 150 µg/ml konsantrasyonu için %58,47 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.9).

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde herbisit gibi kimyasal maddelerin insan ve çevre üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle doğayı korumanın önemi artmaktadır. Bu nedenle sentetik herbisitlere alternatif olarak doğada kolay parçalanan ve çevre dostu biyoherbisit arayışları ortaya çıkmıştır. Organik tarımın her geçen gün daha da ön plana çıkmasıyla biyoherbisit maddelerin araştırılması ve yabancı otlarla mücadelede kullanılması önem kazanmaktadır. Bu çalışmada epifitik liken *Platismatia glauca*'nın tarlalarda sıklıkla bulunan yabancı otlardan *Amaranthus retroflexus*, *Portulaca oleracea*, *Setaria verticillata* ile önemli bir besin kaynağı olan *Oryza sativa* üzerindeki allelopatik ve genotoksik etkilerinin tespit edilmesi ve *P. glauca* likeninin biyoherbisit olarak kullanım potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda *Platismatia glauca* aseton ekstraktının yabancı ot türlerinden *Amaranthus retroflexus* (horozibiği) tohum çimlenmesi üzerinde düşük dozlarının çimlenmeyi teşvik edici, yüksek dozlarının ise çimlenmeyi azaltıcı etki gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan SPSS analizleri sonucunda çimlenme yüzdesi bakımından kontrol ile 100 ve kontrol ile 150 µg/ml dozları arasında anlamlı farklılıklar olduğu ($p < 0.05$) ve *P. glauca* aseton ekstraktının farklı konsantrasyonlarının horozibiği tohumları üzerinde farklı allelopatik etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Konuyla ilgili sonuçları destekler nitelikte bir çalışmada *Umbilicaria decussata*, *Parmelina tiliacea* ve *Bryoria fuscescens* likenlerinin etanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının *Triticum aestivum* (ekmeklik buğday) tohumlarının çimlenmesi üzerindeki allelopatik etkisi araştırılmış; liken ekstraktlarının düşük dozlarının buğday tohumlarında çimlenmeyi artırıcı etki, yüksek dozlarının ise tohum çimlenmesini azaltıcı etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (Uzunkaya, 2015). Diğer bir araştırmada Ağar vd. (2006) *Berberis vulgaris*, *Mentha longifolia*, *Salvia limbata* ekstraktlarının *Zea mays* (mısır) bitkisinin çimlenmesi üzerindeki allelopatik etkilerini araştırarak ekstraktların farklı konsantrasyonlarının, mısır tohumlarının çimlenmesinde farklı allelopatik etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda *P. glauca* aseton ekstraktının, yabancı ot türlerinden *Portulaca oleracea* (semizotu) tohum çimlenmesi üzerinde doz artışına bağlı olarak çimlenmeyi geriletici etki gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan SPSS analizleri sonucunda çimlenme yüzdesi bakımından kontrol ile 100 ve kontrol ile 200 µg/ml dozları arasında anlamlı farklılıklar olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiş ve *P. glauca* aseton ekstraktının artan dozlarının

semizotu bitkisinin çimlenme yüzdesini azalttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçları destekleyen bir çalışmada Bingöl ve Battal (2017) *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum* ve *Salvia limbata* bitkilerinin allelopatik etkilerini araştırarak bu bitkilerin su ve metanol ekstraktlarını *Portulaca oleraceae* (semizotu) ve *Zea mays* (mısır) tohumlarına uygulamışlardır. Mısır ve semizotu bitkilerinin çimlenme yüzdelерinin, su ve metanol ekstraktlarının doz artışına bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada Dadkhah (2013) Şeker pancarı (*Beta vulgaris*) ve okaliptüsün (*Eucalyptus camaldulensis*) su ekstraktlarının *P. oleracea* tohumlarının çimlenmesi üzerindeki allelopatik etkilerini araştırmışlar ve semizotu tohumlarının çimlenme yüzdesinin, test bitkilerinin su ekstraktlarının artan dozları tarafından azaltıldığını fakat tamamen inhibe edilmediğini belirlemişlerdir.

Çalışmamızda *P. glauca* aseton ekstraktının, yabancı ot türlerinden *Setaria verticillata* (yapışkan ot) tohum çimlenmesi üzerinde doz artışına bağlı olarak çimlenmeyi inhibe edici etki gösterdiği tespit edilmiştir. Tohum çimlenmesinin ekstraktın doz artışına bağlı olarak azaldığı, 200 µg/ml dozunda ise yapışkan ot tohumlarının çimlenmesinin tamamen engellendiği tespit edilmiştir. Yapılan SPSS analizleri sonucunda çimlenme yüzdesi bakımından kontrol ile 150 ve kontrol ile 200 µg/ml dozları arasında anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Elde edilen veriler, *P. glauca* aseton ekstraktının yapışkan ot tohumlarının fide gelişimini olumsuz etkilediği ve yüksek dozlarla muamele edilen tohumlarda çimlenme görülmediğini ortaya koymuştur. *P. glauca* aseton ekstraktının yapışkan ot tohumları üzerinde biyoherbisit etki gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlarımızı destekleyen bir araştırmada Jaballah vd. (2019) *Cicer arietinum* L.'nin ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının *Setaria verticillata* (yapışkan ot) üzerindeki etkilerini belirlemişlerdir. Konsantrasyon arttıkça *Setaria verticillata*'nın çimlenmesinin ve fide büyümesinin azaldığını ortaya koymuşlardır. Konuyla ilgili bir diğer çalışmada Tigre vd. (2012) *Cladonia verticillaris* likeninin *Lactuca sativa* (marul)'nın tohum çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki allelopatik ve biyoherbisidal etkisini araştırmışlardır. Çalışmada farklı konsantrasyonlarda ekstraktlar ve saf bileşikler kullanmışlardır. Ekstraktların yüksek konsantrasyonlarının *L. sativa* fidelerinin gelişimini etkilediği ve *C. verticillaris* ve asitlerinin *L. sativa* tohumları üzerinde biyoherbisit potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Başka bir örnek çalışmada Karaman vd. (2021) kültür bitkileri olarak arpa, buğday, yulaf, fasulye, mercimek, şeker pancarı, ayçiçeği, İtalyan çimi, kırmızı üçgül ve yonca tohumları; yabancı ot tohumu olarak ise,

horozibiği ve yabani hardal tohumlarını kullanmışlardır. Yulaf çim suyunun farklı dozlarını tohumlara uygulamışlardır. Yulaf çim suyunun içerdği allelopatik etkiye sahip maddelerin tohum çimlenmesini engellediğini tespit etmişlerdir. Diğer bir araştırmada Goel vd. (2014) liken sekonder metabolitlerinin etkilerini ortaya koymuşlardır. *Parmelia reticulata* likeninin bir yabani ot türü olan *Phalaris minor*'un tohum çimlenmesi ve erken fide büyümesi üzerindeki etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Liken ekstraktı ile bir gece boyunca maruz bırakılan ve ekimi yapılan *Phalaris minor* tohumlarının çimlenmesinin inhibe olduğu ortaya konmuştur. Çalışmanın sonucunda heksan ve etil asetat ekstraktlarının, tohum çimlenmesi üzerinde maksimum zararlı etki gösterdiği ve *P. minor* yabancı otunun erken fide büyümesini maksimum düzeyde azalttığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda *P. glauca* aseton ekstraktının kültür bitkisi *Oryza sativa* (çeltik) üzerinde çimlenmeyi azaltıcı etki gösterdiği tespit edilmiştir. 150 µg/ml dozunda çimlenmenin en düşük seviyede gerçekleştiği belirlenmiştir. Yapılan SPSS analizleri sonucunda çimlenme yüzdesi bakımından kontrol grubu ile 150 µg/ml dozları arasındaki farkın anlamlı olduğu ($p < 0.05$) tespit edilerek, ekstraktın dozu arttıkça çeltik tohumlarında çimlenmenin azaldığı belirlenmiştir. Konuyla paralel bir araştırmada Krumrsri vd. (2020) Tayland'da çeltik üretimini engelleyen geniş yapraklı bir ot olan *Sphenoclea zeylanica* Gaertn.'nin allelopatik etkisini araştırmışlardır. Laboratuvar ortamında *S. zeylanica*'nın farklı kısımlarının tohum çimlenmesi, çeltik sürgünü ve kök uzunluğu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Yaprak ve gövde ekstraktlarının çeltik tohumu çimlenmesini engellediğini ve konsantrasyonların artması ile tohum çimlenmesinin inhibisyonunun arttığını belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada, Laizer vd. (2021) zararlı bir yabani ot *Sphaeranthus suaveolens*'in farklı konsantrasyonlardaki ham özütünün *Phaseolus vulgaris* ve *Oryza sativa*'nın tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerindeki allelopatik etkilerini araştırmıştır. *Oryza sativa* tohum çimlenmesinin ve fide büyümesinin, *Sphaeranthus suaveolens* ekstraktının konsantrasyon artışına bağlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda *P. glauca* aseton ekstraktının test ettiğimiz farklı bitki tohumları üzerinde farklı allelopatik etkiler gösterdiği görülmektedir. Peres vd. (2009) yaptıkları araştırmada *Parmotrema tinctorum* liken ekstraktlarının allelopatik özelliklere sahip olduğu ve metabolitlerin allelopatik etkisinin farklı bitki türlerinin tohum çimlenmesi

üzerinde inhibisyon dan stimölasyona kadar farklı etkiler gösterebileceğini ortaya koymuşlardır. Moleküller farklı potansiyel allelopatik özelliklere sahip olduğundan, çimlenme ve büyüme tepkilerinin her türe özel olabileceği ve türe bağılı olarak yüksek değışkenliklerin olabileceğini belirtmişlerdir. Tukey (1969) tüm sekonder maddelerin inhibitör olmadığını bazıların n teşvik edici etkiler de gösterilebileceğini belirtmiştir.

Benzer şekilde likenlerle ilgili diğ er bir araştırmada Chen vd. (2000) test edilen metabolite ve bitki türlerine, test edilen konsantrasyona ve dikkate alınan gelişim parametresine bağılı olarak likenlerin etkilerinin heterojen olabileceğini belirtmişlerdir. Yano-Melo vd. (1999) farklı tip *Cladonia verticillaris* liken ekstraktlarının ve fumarprotocetrarik asidin *Allium cepa* çimlenmiş fidelerinin erken büyümesi üzerindeki allelopatik aktivitesini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *C. verticillaris*'in allelopatik etkisinin kimyasal bileşenlere ve konsantrasyonlara bağılı olarak değıştiğini belirlemişlerdir. Sekonder maddelerin etkilerine ilişkin elde edilen uyarıcı ve/veya engelleyici etkilerin dolaylı olarak bitki hormonları, enzimler, protein sentezi ve/veya zar geçirgenliğinin modifikasyonuna bağılı olabileceği sonucuna ulaşmışlardır. Konuyla paralel bir çalışmada Peres vd. (2015) likenlerden izole edilen bileşiklerin allelopatik ve biyoherbisit potansiyellerini araştırmışlardır. *Parmotrema dilatatum*, *Usnea subcavata*, *Parmotrema cetratum* ve *Pseudoparmelia sphaerospora* liken türlerinden elde edilen sekonder bileşiklerin *A. cepa* bitkisi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda bazı liken sekonder metabolitlerinin bitki büyümesini uyardığı, atranorin gibi bazı bileşiklerin ise *A. cepa* tohumlarının çimlenmesini önlediği ve kök büyümesini yavaşlattığı belirlenmiştir. Sonuç olarak; bu bileşiklerin, allelopatik aktiviteler gösterdiği ve yabancı ot kontrolünde biyoherbisit olarak kullanım potansiyelleri olduğu belirlenmiştir. Bu noktadan yola çıkarak etkisi araştırılan *P. glauca* aseton ekstraktının test edilen bitki türleri üzerinde ekstraktın kimyasal içeriğine ve dozuna bağılı olarak farklı etkiler gösterdiği söylenebilmektedir.

Literatürde bitki ekstraktlarının genotoksik etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda genellikle mikronükleus testleri (MN), kardeş kromatit değışimi testleri, comet assay gibi teknikler kullanıldığı görölmektedir. ISSR ve RAPD PCR teknikleri de genotoksisite tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde RAPD tekniğinin katı bir şekilde optimize edilmiş koşullar altında genotoksik etkileri değ erlendirmek için faydalı bir belirteç olduğu bilinmektedir.

Nispeten ucuz olduğu ve çok sayıda lokus hakkında bilgi içerdđi için tercih edilmektedir (De Wolf vd., 2004). RAPD ile benzer şekilde ISSR tekniğinin de genotoksisite çalışmalarıda tercih edilen bir moleküler belirteç olduğu bilinmektedir (Neeratanaphan vd., 2014). Tek bir moleküler belirteç bütün ihtiyaçları karşılayamadığından birden fazla belirteç bir arada kullanıldığında daha güvenilir sonuçlar elde edilmektedir (Tamam, 2008).

Bu tezde yapılan genotoksisite çalışmasında *P. glauca* liken aseton ekstraktının, yabani otlardan *A. retroflexus* (horozibiği), *P. oleracea* (semizotu), *S. verticillata* (yapışkan ot) ve kültür bitkisi *O. sativa* (çeltik) üzerindeki genotoksik etkileri araştırılmıştır. *P. glauca* liken aseton ekstraktının uygulandığı yabani ot türleri ve kültür bitkisi çeltikten elde edilen DNA'larla gerçekleştirilen ISSR ve RAPD PCR analizleri sonucunda kontrol grubu ile kıyaslandığında yeni oluşan ve kaybolan bant sayılarının değerlendirilmesiyle GKS yüzdeleri hesaplanmıştır. Oluşan yeni bantlar ile kaybolan bant sayılarında meydana gelen değişimler DNA üzerindeki primer bağlanma bölgelerinde *P. glauca* maruziyetine bağlı yapısal değişimlerin (baz değişimleri) oluştuğunu göstermektedir.

P. glauca liken aseton ekstraktının *A. retroflexus* (horozibiği) DNA'sı üzerindeki genotoksik etkilerini incelemek amacıyla yapılan ISSR ve RAPD PCR analizleri sonucunda; çalışılan 8 adet primer ile kontrol grubunda toplam 50 bant ortaya çıkmıştır. Kontrolle karşılaştırıldığında polimorfik bant sayıları 50 µg/ml konsantrasyonda toplam 19'dur. GKS değeri ise %62 olarak hesaplanmıştır. 100 µg/ml konsantrasyonu için toplam polimorfik bant sayısı 20'dir. GKS değeri ise %60 olarak hesaplanmıştır. 150 µg/ml konsantrasyon için toplam polimorfik bant sayısı 38, GKS değeri %24 olarak hesaplanmıştır. 200 µg/ml konsantrasyon için toplam polimorfik bant sayısı 44 ve GKS değeri %12 olarak tespit edilmiştir.

Sonuçlara göre en yüksek GKS değeri 50 µg/ml konsantrasyonunda (%62), en düşük GKS değeri ise 200 µg/ml konsantrasyonunda (%12) ortaya çıkmıştır. *P. glauca* liken aseton ekstraktının horozibiğinde neden olduğu genotoksik etkinin en fazla 200 µg/ml konsantrasyonunda olduğu tespit edilmiştir. Buna göre *P. glauca* liken ekstraktının horozibiği DNA'sı üzerinde 50 µg/ml konsantrasyonundan itibaren artan konsantrasyonlara bağlı olarak GKS değerinde düşmeye neden olduğu tespit edilmiştir.

P. glauca liken aseton ekstraktının *P. oleracea* (semizotu) DNA'sı üzerindeki genotoksik etkilerini incelemek amacıyla yapılan ISSR ve RAPD PCR analizleri sonucunda; çalışılan 8 adet primer ile kontrol grubunda toplam 61 adet bant ortaya çıkmıştır. Kontrolle karşılaştırıldığında polimorfik bant sayıları 50 µg/ml konsantrasyonunda toplam 17'dir. GKS değeri ise %72,2 olarak hesaplanmıştır. 100 µg/ml konsantrasyonu için toplam polimorfik bant sayısı 33'tür. GKS değeri ise %46 olarak hesaplanmıştır. 150 µg/ml konsantrasyonu için toplam polimorfik bant sayısı 31'dir. GKS değeri %49,2 olarak hesaplanmıştır. 200 µg/ml konsantrasyonu için toplam polimorfik bant sayısı 44 ve GKS değeri %27,9 olarak tespit edilmiştir.

Sonuçlara göre en yüksek GKS değeri 50 µg/ml konsantrasyonunda (%72,2), en düşük GKS değeri ise 200 µg/ml konsantrasyonunda (%27,9) ortaya çıkmıştır. *P. glauca* liken aseton ekstraktının semizotu tohum çimlenmesinde oluşturduğu genotoksik etkinin en fazla 200 µg/ml konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir. Buna göre *P. glauca* liken ekstraktının semizotu DNA'sı üzerinde 50 µg/ml konsantrasyondan itibaren artan konsantrasyonlara bağlı olarak GKS değerinde düşmeye neden olduğu tespit edilmiştir.

P. glauca liken aseton ekstraktının *S. verticillata* (yapışkan ot) DNA'sı üzerindeki genotoksik etkilerini incelemek amacıyla yapılan ISSR ve RAPD PCR analizleri sonucunda; çalışılan 8 adet primer ile kontrol grubunda toplam 58 adet bant ortaya çıkmıştır. Kontrolle karşılaştırma yapılarak oluşturulan polimorfik bant sayıları 50 µg/ml konsantrasyonunda toplam 14'tür. GKS değeri ise %75,87 olarak hesaplanmıştır. 100 µg/ml konsantrasyonu için toplam polimorfik bant sayısı 23, GKS değeri ise %60,35 olarak hesaplanmıştır. 150 µg/ml konsantrasyonu için toplam polimorfik bant sayısı 31 ve GKS değeri %46,56 olarak hesaplanmıştır.

Sonuçlara göre en yüksek GKS değeri 50 µg/ml konsantrasyonunda (%75,87), en düşük GKS değeri ise 150 µg/ml konsantrasyonunda (%46,56) ortaya çıkmıştır. *P. glauca* liken aseton ekstraktının yapışkan ot tohum çimlenmesinde oluşturduğu genotoksik etkinin en fazla 150 µg/ml konsantrasyonunda olduğu tespit edilmiştir. Buna göre *P. glauca* liken ekstraktının yapışkan ot DNA'sı üzerinde 50 µg/ml konsantrasyondan itibaren artan konsantrasyonlara bağlı olarak GKS değerinde düşmeye neden olduğu tespit edilmiştir.

P. glauca liken aseton ekstraktının *O. sativa* (çeltik) DNA'sı üzerindeki genotoksik etkilerini incelemek amacıyla yapılan ISSR ve RAPD PCR analizleri

sonucunda; çalışılan 8 adet primer ile kontrol grubunda toplam 65 adet bant ortaya çıkmıştır. Kontrolle karşılaştırma yapılarak oluşturulan polimorfik bant sayıları 25 µg/ml konsantrasyonda toplam 12’dir. GKS değeri ise %81,5 olarak hesaplanmıştır. 50 µg/ml konsantrasyon için toplam polimorfik bant sayısı 15’tir. GKS değeri ise %77 olarak hesaplanmıştır. 100 µg/ml konsantrasyonu için toplam polimorfik bant sayısı 30’dur. GKS değeri %53,85 olarak hesaplanmıştır. 150 µg/ml konsantrasyon için toplam polimorfik bant sayısı 27 ve GKS değeri %58,47 olarak tespit edilmiştir.

Sonuçlara göre en yüksek GKS değeri 25 µg/ml konsantrasyonunda (%81,5), en düşük GKS değeri ise 100 µg/ml konsantrasyonunda (%53,85) ortaya çıkmıştır. *P. glauca* liken aseton ekstraktının eltik tohumlarının çimlenmesi üzerindeki genotoksik etkinin en fazla 100 µg/ml konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir. Buna göre *P. glauca* liken aseton ekstraktının eltik DNA’sı üzerinde GKS oranında konsantrasyondan bağımsız değişimlere neden olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda ISSR ve RAPD primerlerinin liken ekstraktlarının genotoksik etkilerinin belirlenmesinde başarıyla kullanılabileceği gösterilmiştir. Günümüze kadar ISSR ve RAPD moleküler belirteçleri ağır metal, pestisit ve diğer çevresel kirleticiler ile farklı bitkisel ekstraktların genotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Örneğin; Al-Qurainy (2010) tarımsal öneme sahip olan *Eruca sativa*’nın Zn, Pb ve Cd ağır metallerine maruz bırakıldığı araştırmada 20 ISSR primeri kullanılmış, bunlardan 4’ amplifiye olmamış, 3’ tek bant vermiş geri kalan 13 primer 6 bant oluşturmuştur. Orta ve yüksek konsantrasyonlarda Cd ve Pb ile muamele edilen fidelerde benzersiz ekstra bantların ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak ağır metal Cd, orta ve yüksek konsantrasyonlarda *E. sativa* (L.) fidelerine zarar vererek mutasyona neden olduğu ifade edilmiştir. Ağır metale maruz kalan gruplar ve kontrol grubundaki genomlar arasında karşılaştırmalar yaparak, ISSR analizinin çevresel kirleticilerin DNA’nın yapısını değiştirip değiştirmediğini değerlendirmek için kullanılabileceğini belirlemişlerdir. Sonuç olarak ISSR tekniğinin niteliksel ve niceliksel ölçümler için güçlü bir araç olduğunu ve genotoksik aktivitenin tespit edilmesinde kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Correia vd. (2014) alüminyumun *Plantago almogravensis* ve *Plantago lagopus*’un kök ve yapraklarındaki mutajenik ve genotoksik etkilerini ISSR PCR analizleri ile ortaya koydukları çalışmada her iki türü de 7 ve 21 gün boyunca 400 µM

Al'a maruz bırakmışlardır. 10 ISSR primeri polimorfik bantlar üretmiştir. Al muamelesinden sonra ISSR profillerindeki değişiklikler, kontrollerle karşılaştırılarak oluşan ve kaybolan bantlar değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre ISSR tekniğinin genomik kalıp stabilitesindeki (GKS) değişikliklerin tespit edilmesinde yararlı bir araç olduğu tespit edilmiştir.

Eröz Poyraz vd. (2018) on çeşit *Gentiana* L. taksonunun metanol ekstraktlarının çimlenmiş *Allium cepa* L. kök uçlarında genotoksitesini belirledikleri araştırmada *Gentiana* ekstraktlarının genotoksitesinin tespiti için RAPD ve ISSR-PCR tekniklerini kullanmışlardır. 4 RAPD ve 3 ISSR primeri, tüm DNA örnekleri için 10 RAPD ve 10 ISSR primeri arasında tekrarlanabilir polimorfik ve monomorfik bantlar üretmiştir. *A. cepa*'nın *Gentiana* ekstraktları ile muamele edilmiş genomik DNA örneğinden amplifiye edilen bant profillerinde bant yoğunluğu, bantların kaybolması ve yeni bantların ortaya çıkmasıyla birlikte ciddi bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

Liu vd. (2005) Kadmiyum (Cd) konsantrasyonunun artmasının arpa (*Hordeum vulgare* L.) fidelerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda Cd muamelesini takiben kök uçlarının RAPD profillerinde normal fidelere kıyasla bantların kaybolması veya yeni bantların meydana gelmesi gibi değişikliklerin meydana geldiğini belirlemişlerdir. Bu değişikliklerin etkisinin doza bağlı olduğunu ve RAPD profillerindeki genomik kalıp stabilitesinin (GKS) Cd konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilendiğini ortaya koymuşlardır.

Sunar vd. (2009) RAPD PCR yöntemiyle *Verbascum spessiosum* bitkisinin metanol ekstraktını *Zea mays* (mısır) tohumlarına uygulamışlardır. Mısır tohumu üzerine genotoksik etkilerin araştırıldığı çalışmada kontrol uygulamasına kıyasla RAPD bant profillerinde değişiklikler olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda bu DNA değişikliklerinin allelopatik bileşiklerden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Bozari ve Aksakal (2013) trifluralin herbisitinin *Zea mays* (mısır) bitkisindeki genotoksik etkilerini RAPD PCR analizleriyle belirledikleri çalışmada, mısır fidelerini trifluralin herbisitinin farklı konsantrasyonlarıyla muamele etmişlerdir. Elde edilen RAPD profillerindeki genomik kalıp stabilitesini (GKS) hesaplayarak, genomik kalıp stabilitesindeki değişikliklerin RAPD tekniği ile ortaya konulabileceğini ve RAPD tekniğinin, herbisitlerin bitkiler üzerindeki genotoksik etkilerini değerlendirmek için kullanılabileceğini göstermişlerdir. Genotoksik etkinin araştırıldığı bir diğer çalışmada

Bozari vd. (2013) 2,4-diklorofenoksiasetik asidin mısır üzerindeki genotoksik etkilerini incelemişlerdir. RAPD PCR tekniğini kullandıkları çalışmada RAPD profillerindeki değişiklikleri belirlemek için genomik kalıp stabilitesi (GKS) değerlerini hesaplamışlardır. GKS değerlerinin artan 2,4-D konsantrasyonlarından etkilendiği belirlenmiştir.

Jasim ve Jawad (2020) *Allium cepa* L. köklerinde *Adhatoda vasica* yapraklarının su ve alkol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının genotoksitesini saptamak için RAPD-PCR moleküler tekniğini kullanmışlardır. Çalışmada alkol ve su ekstraktları için sırasıyla (%1, %2, %3, %5 ve %7,5) ve (%10, %15, %20, %30 ve %40) konsantrasyonlar uygulanmıştır. 10 RAPD primerinden 8 tanesi polimorfik bant göstermiştir. Sonuçlar sulu ekstrakt için en çok toksik olan konsantrasyonların %40 ve alkolik ekstrakt için %7,5 olduğunu ve bu konsantrasyonların biyoherbisit olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında *Platismatia glauca* aseton ekstraktının allelopatik ve genotoksik etkileri incelenmiştir. Allelopatik etkilerin bitki türüne göre değişiklik gösterdiği fakat tüm türlerde konsantrasyonların artmasına bağlı olarak tohum çimlenmesinin azaldığı tespit edilmiştir. *P. glauca* aseton ekstraktının yapışkan ot (*S. verticillata*) tohum çimlenmesini inhibe edici etki göstermesi nedeniyle biyoherbisit olarak kullanım potansiyelinin olduğu belirlenmiştir. *P. glauca* liken ekstraktının uygulanan tüm bitki türleri üzerinde genotoksik etkileri olduğu görülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla ekstraktın diğer doz uygulamalarında RAPD ve ISSR bant profillerinde yeni bantların oluşumu veya mevcut bantların kaybolması gibi değişiklikler tespit edilmiştir. Genomik kalıp stabilitesi değerinin semizotu, horozibiği ve yapışkan ot türlerinde anlamlı şekilde azaldığı görülmektedir. Bu durum ekstraktın DNA düzeyinde genotoksik hasarlar meydana getirdiğine işaret etmektedir.

Tarlalarda sıklıkla rastlanan yabancı otların biyolojik kontrolü için *Platismatia glauca* liken aseton ekstraktının doğal bir biyoherbisit olarak kullanım potansiyelinin araştırıldığı bu çalışmanın, *P. glauca* ile ilgili yapılan ilk allelopati ve genotoksisite çalışması olması nedeniyle literatüre katkı sağlayacağı ümit edilmektedir. Liken ekstraktlarının kimyasal herbisitlere karşı alternatif olarak kullanılabileme potansiyellerinin araştırılması, başta sürdürülebilir ve organik tarım olmak üzere, doğanın dengesi ve insan sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir. Likenlerin biyoherbisit etkilerinin tespit edilmesi, gelecekte kimyasal herbisitlere karşı etkili ve doğa dostu

sonuçların ortaya çıkmasına katkı sağlayacaktır. Bundan sonraki çalışmalarda likenlerin sekonder metabolitlerinin belirlenerek allelopati ve genotoksisite çalışmalarının yapılması sentetik herbisitlere karşı etkili biyoherbisitlerin elde edilmesi konusunda yarar sağlayacaktır.



KAYNAKÇA

- Abdallah, E. (2019). Lichen Thalli of *Platismatia glauca* Possesses A Remarkable Antimicrobial Activity. *5th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry*.
- Abdul-Wahab, A. S., & Rice, E. L. (1967). Plant Inhibition by Johnsongrass And Its Possible Significance In Old Field Succession. *Bull Torrey Bot. Club*, 94, 486-497.
- Ağar, Ü., Battal, P., & Türker, M. (2006). Bazı Bitki Ekstraktlarının Mısı Tohumlarının (*Zea mays* L.) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Allelopatik Etkilerinin Araştırılması. *Türkiye'de Allelopatinin Kullanımı Dün, Bugün, Yarın*, s. 47-56.
- Ağar, Ü., Battal, P., & Türker, M. (2006). Bazı Bitki Ekstraktlarının Mısır (*Zea mays* L.) Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Allelopatik Etkilerinin Araştırılması. *Allelopati Çalıştayı. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü*, 47-56.
- Ahmadjian, V. (1994). The Lichen Symbiosis. *Nordic Journal of Botany*, 588.
- Al-Qurainy, F. (2010). Application of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR Marker) to Detect Genotoxic Effect of Heavy Metals on *Eruca Sativa* (L.). *African Journal of Biotechnology*, 9(4), 467-474.
- Aneja, K. R., Khan, S. A., & Aneja, A. (2017). Bioherbicides: Strategies, Challenges and Prospects. T. Satyanarayana, S. K. Deshmukh, & B. N. Johri içinde, *Developments in Fungal Biology and Applied Mycology* (s. 449-470). Singapore: Springer.
- Atienzar, F. A., & Jha, A. N. (2006). The Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Assay And Related Techniques Applied to Genotoxicity And Carcinogenesis Studies: A Critical Review. *Mutation Research*, 613, 76-102.
- Bingöl, Ö., & Battal, P. (2017). *Verbascum cheiranthifolium* Boiss. var. *asperulum* Murb. ve *Salvia limbata* C.A. Mey. Ekstraktlarının *Zea mays* L. ve *Portulaca oleraceae* L. Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Allelopatik Etkisinin Araştırılması. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 4(2), 176-185.

- Bozari, S., vd. (2013). Determination of Chemical Composition and Genotoxic Effects of Essential Oil Obtained from *Nepeta Nuda* on *Zea Mays* Seedlings. *Toxicology and Industrial Health*, 29(4), 339-348.
- Bozari, S., Aksakal, Ö. (2013). Application of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) to Detect Genotoxic Effect of Trifluralin on Maize (*Zea mays*). *Drug and Chemical Toxicology*, 36(2), 163-169.
- Carley, H. E., & Watson, R. D. (1968). Effects of Various Aqueous Plant Extracts Upon Seed Germination. *Botanical Gazette*, 129, 57-62.
- Chen, J., Blume H.P., & Beyer L. (2000). Weathering of Rocks Induced by Lichen Colonization A Review. *Catena* (39), 121-146.
- Chou, C.-H. (2006). Introduction to allelopathy. M. J. Reigosa, N. Pedrol, & L. Gonzalez içinde, *Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications* (s. 1-9). Springer.
- Correia, S., Matos, M., Ferreira, V., Martins, N., Goncalves, S., Romano, A., & Pinto-Carnide, O. (2014). Molecular Instability Induced by Aluminum Stress in *Plantago* Species. *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 770, 105-111.
- Culberson, W. L., & Culberson, C. F. (1968). *The Lichen Genara Cetrelia and Platismatia (Parmeliaceae)*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press.
- Çetiner, S. (2011). Organik Tarım Dünyayı Besleyebilir Mi ? *tarlasera*, 64-67.
- Çobanoğlu Özyiğitoğlu, G., Açıkgöz, B., & Sesal, C. (2016). Lichen Secondary Metabolites: Synthesis Pathways and Biological Activities. *Acta Biologica Turcica*, 29(4), 150-163.
- Dadkhah, A. (2013). Allelopathic effect of sugar beet (*Beta vulgaris*) and eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) on seed germination and growth of *Portulaca oleracea*. *Russian Agricultural Sciences*, 117–123.
- Dayan, F. E., & Romagni, J. G. (2001). Lichens as Potential Source of Pesticides. *Pesticide Outlook*, 229-232.

- De Wolf, H., Blust, R., & Backeljau, T. (2004, May). The use of RAPD in ecotoxicology. *Mutation Research*, 566(3), 249-262.
- Deduke, C., Timsina, B., & Piercey-Normore, M. D. (2012). Effect of Environmental Change on Secondary Metabolite Production in Lichen-Forming Fungi. S. Young, & S. Silvern içinde, *International Perspectives on Global Environmental Change* (s. 197-230). Intechopen. doi:10.5772/26954
- Einhellig, F. A., Inderjit., Dakshini K.M.M (1994). *Mechanism of Action of Allelochemicals in Allelopathy, Allelopathy Organisms, Processes, and Applications* (s. 96-116).
- Emsen, B., Kaya, A., & Aslan, A. (2018). Biological Activities of *Platismatia glauca* (L.) W.L.Culb & C.F.Culb on Human Lymphocytes. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2), 840-848.
- Enan, M. R. (2006). Application of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) to Detect the Genotoxic Effect of Heavy Metals. *Biotechnol. Appl. Biochem.*(43), 147-154.
- Eroz-Poyraz, I., & Poyraz, I. (2018). Nicosulfuron Genotoxicity On Germinated Maize (*Zea mays* L.) Grains. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(11), 7586-7594.
- Eröz Poyraz, İ., Poyraz, İ., Kıyan, H. T., Öztürk, N., Erken, S., Gülbağ, F., & Özzambak, M. E. (2018). Detection of the Genotoxicity of *Gentiana* L. Extracts by Using RAPD-PCR and ISSR-PCR Techniques. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 52(4).
- Fidan, A. F. (2008). Dna Hasar Tespitinde Tek Hücre Jel Elektroforezi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 41-52.
- Filiz, E., & Koç, İ. (2011). Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 207-214.
- Frahm, J. P., Specht, A., Reifenrath, K., & Vargas, Y. L. (2000). Allelopathic Effect of Crustaceous Lichens on Epiphytic Bryophytes and Vascular Plants. *Nova Hedwigia*, 70(1), 245-254.

- Goel, M., Rani, A., Dureja, P., & Uniyal, P. (2014). Investigation of Allelopathic Potentiality of the Himalyan Lichen *Parmelia reticulata* Tayl. against *Phalaris minor* retz. *International Conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering*, 140-144.
- Goga, M., Antreich, S. J., Backor, M., Weckwerth, W., & Lang, I. (2017). Lichen Secondary Metabolites Affect Growth of *Physcomitrella patens* by Allelopathy. *Protoplasma*(254), 1307-1315.
- Gulluce, M., Aslan, A., Sokmen, M., Sahin, F., Adiguzel, A., Agar, G., & Sokmen, A. (2005). Screening The Antioxidant And Antimicrobial Properties of The Lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* And *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine*, 13, 515-521.
- Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero-Severson, J., & Owen, J. L. (1994). Amplification of DNA Markers From Evolutionarily Diverse Genomes Using Simple Primers of Simple Sequence Repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 89, 998-1006.
- Gupta, P. (2016). *Fundamentals of Toxicology Essential Concepts and Applications* (1st edition b.). Academic Press.
- Gülşen, O., & Mutlu, N. (2005). Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Alatarım*, 4(2), 27-37.
- Gündüz, Ş., Kersting, U., & Kahramanoğlu, İ. (2006). *Turunçgil Bahçelerindeki Yabancı Otlar ve Entegre Mücadele Yöntemleri*. Mersin: Akdeniz İhracatçı Birlikleri.
- Jaballah, S., Cheraif, I., & Haouala, R. (2019). Chemical Composition and Phytotoxicity of Chickpea (*C. arietinum* L.). *Journal of Horticulture Science and Forestry*, 1(2), 1-8.
- Jasim, A. O., & Jawad, M. M. (2020). Study the Genotoxicity of Aqueous and Alcoholic Extracts of *Adhatoda Vasica* on the Roots of *Allium cepa* L. by RAPD-PCR Technique. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology.*, 14(2), 514-519.
- Johansson, O., Olofsson, J., Giesler, R., & Palmqwist. (2011). Lichen Responses to Nitrogen And Phosphorus Additions Can Be Explained by the Different Symbiont Responses. *New Phytologist*, 191, 795-805.

- Karaman , R., Türkay, C., & Akgün, İ. (2021). Yulaf Çim Suyunun Bazı Yabancı Ot ve Kültür Bitkisi Tohumlarının Çimlenme ile Fide Özellikleri Üzerine Etkileri. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 312-321.
- Karamanoğlu , K. (1971). Türkiye'nin Önemli Liken Türleri. *Ankara Ecz. Fak. Mec.*, 53-75.
- Kolören, O. (2007). Örtücü Bitki Hint Hardalı (*Brassica juncea* (L.) Coss.)'nın Allelopatik Etkisinin Belirlenmesi. *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi*, (s. 137). Isparta.
- Kremer, R. J. (2019). Bioherbicides and Nanotechnology: Current Status and Future Trends. *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives* (s. 353-366). Academic Press.
- Krumsri, R., Kato-Noguchi, H., & Poonpaiboonpipat, T. (2020). Allelopathic effect of *sphenoclea zeylanica* gaertn. On rice ('*Oryza sativa*' L.) germination and seedling growth. *Australian Journal of Crop Science*, 1450-1455.
- Laizer, H. C., Chacha, M., & Ndakidemi, P. A. (2021). Allelopathic Effects of *Sphaeranthus suaveolens* on Seed Germination and Seedlings Growth of *Phaseolus vulgaris* and *Oryza sativa*. *Advances in Agriculture*, 1-9.
- Latt, S. A., & Schreck, R. R. (1980). Sister Chromatid Exchange Analysis. *American Journal of Human Genetics*, 297-313.
- Lawrey, J. D. (1986). Biological Role of Lichen Substances. *The Bryologist*(89), 111-122. doi:10.2307/3242751
- Li, G., & Quiros, C. F. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 455-461.
- Liu, W., Li, P. J., Qi, X. M., Zhou, Q. X., Zheng, L., Sun, T. H., & Yang, Y. S. (2005). DNA Changes In Barley (*Hordeum vulgare*) Seedlings Induced by Cadmium Pollution Using RAPD Analysis. *Chemosphere*, 61, 158-167.
- Lokajova, V., Backorova, M., & Backor, M. (2014). Allelopathic effects of lichen secondary metabolites and their naturally occurring mixtures on cultures of

- apospymbiotically grown lichenphotobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta). *South African Journal of Botany*, 86-91.
- Loomis, T. A., & Hayes, A. W. (1996). Toxicologic Testing Methods. T. A. Loomis, & A. W. Hayes içinde, *Loomis's Essentials of Toxicology* (4 b., s. 205-248). Academic Press.
- Macias, F. A., Galindo, J. C., Molinillo, J. M., & Cutler, H. G. (2004). *Allelopathy Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals*. Boca Raton: CRC Press.
- Menaria, B. L. (2007). Bioherbicides: An Eco-Friendly Approach to Weed Management. *Current Science Vol. 92*, 10-11.
- Mitrovic, T., Stamenkovic, S., Cvetkovic, V., Radulovic, N., Mladenovic, M., Stankovic, M., . . . Comic, L. (2014). *Platismatia glauca* and *Pseudevernia furfuracea* Lichens As Sources of Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Agents. *EXCLI Journal*, 13, 938-953.
- Motmainna, M., Juraimi, A. S., Uddin, K., Asib, N. B., Islam, M., & Hasan, M. (2020). Allelopathic potential of Malaysian invasive weed species on Weedy rice (*Oryza sativa* f. *spontanea* Roshev). *Allelopathy Journal*, 53-68.
- Nash, T. H. (2008). *Lichen Biology Second Edition*. Cambridge University Press.
- Nash, T. H., Ryan, B. D., Diederich, P., Gries, C., & Bungartz, F. (2002). *Lichen Flora of the Greater Sonoran Desert Region*. Arizona: Arizona State University Lichen Herbarium.
- Neeratanaphan, L., Sudmoon, R., & Chaveerach, A. (2014). Assessment of Genotoxicity through ISSR Marker in *Pistia stratiotes* Induced by Lead. *Environment Asia*, 7(2), 99-107.
- Olofsdotter, M. (1998). *Allelopathy in Rice*. Philippines: IRRI.
- Özdemir, Ş. (2007). *Brassicaceae Familyasından Bazı Bitkilere Ait Yabancı Otlarla Mücadelede Biyoherbisit Olarak Kullanılabilme Olanaklarının Araştırılması*. Antakya: Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Özdemir, Ş., & Üremiş, İ. (2013). Brassicaceae familyasından bazı bitkilere ait ekstraktların *Amaranthus retroflexus* L.'a karşı allelopatik etkilerinin belirlenmesi. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18, 1-12.
- Özkara , A., & Akyıl, D. (2015, Haziran). Bitkilerde Mikronükleus Testi ile Genotoksik Hasarın Değerlendirilmesi. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*(34), 27-40.
- Peres, P., & M., T. L. (2009). Allelopathic Potential of Orsellinic Acid Derivatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 1019-1026.
- Peres, P., & M. T. L., vd. (2015). Herbicidal and Plant-Growth Stimulating Effects of Phenolic Compounds Isolated from Lichens. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 7(3), 275-281.
- Radhakrishnan, R., Alqarawi, A. A., & Abd Allah, E. F. (2018, August 30). Bioherbicides: Current Knowledge on Weed Control Mechanism. *Ecotoxicology and Environmental Safety* , s. 131-138.
- Rankovic, B. (2015). *Lichen Secondary Metabolites*. Springer, Cham.
- Reganold, J. P., Papendick, R. I., & Parr, J. F. (1990). Sustainable Agriculture. *Scientific American*, 112-120.
- Rice, E. L. (1984). *Allelopathy* (2nd Edition b.). New York: Academic Press.
- Saiki, R., Gelfand, D., Stoffel, S., Scharf, S., Higuchi, R., Horn, G., Erlich, H. (1988). Primer-directed enzymatic amplification DNA with thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487-491.
- Seklic, D., Obradovic, A., Stankovic, M., Zivanovic, M., Mitrovic, T., Stamenkovic, S., & Markovic, S. (2018). Proapoptotic And Antimigratory Effects of Pseudevernia furfuracea And Platismatia glauca on Colon Cancer Cell Lines. *Food Technology & Biotechnology*, 56(3).
- Shukla, V., Joshi, G. P., & Rawat, M. S. (2010). Lichens As A Potential Natural Source of Bioactive Compounds: A Review. *Phytochemistry Reviews*(9), 303-314.
- Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R., & Gniazdowska, A. (2013). *Allelochemicals as Bioherbicides — Present and Perspectives*. (s. 517-542).

- Soydam Aydın, S., Kılıç, Z., Dönmez, Ç., Altunkaynak, E., & Aras, S. (2015). Assesment of Genotoxicity Induced by Lead Pollution In Tomato (*Lycopersicum esculentum*) by Molecular And Population Markers. *Biological Diversity And Conservation*, 8(1), 83-89.
- Sunar, S., vd. (2009). Determination of the Genotoxic Effects of *Verbascum speciosum* Schrad. Extracts on Corn (*Zea mays* L.) Seeds. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(6), 4820-4826.
- Surgun-Acar, Y. (2021). Estimation of Arsenic Induced Genotoxicity In Melon (*Cucumis melo*) by Using RAPD-PCR and Comet Assays. *Botanica Serbica*, 45(1), 97-106.
- Şekeroğlu, V., & Atlı-Şekeroğlu, Z. (2011). Genotoksik Hasarın Belirlenmesinde Mikronükleus Testi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68(4), 241-252.
- Tamam, A. (2008). *Bazı Avokado (Persea americana Mill.) Çeşitlerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi. Adana: Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tigre, R. C., Silva, N. H., Santos, M. G., Honda, N. K., Falcao, E. S., & Pereira, E. (2012). Allelopathic and bioherbicidal potential of *Cladonia verticillaris* on the germination and growth of *Lactuca sativa*. *Exotoxicology and Environmental Safety*, 84, 125-132.
- Trojanowska, M. R., & Bolibok, H. (2004). Characteristics And A Comparison of Three Classes of Microsatellite-Based Markers And Their Application In Plants. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 9, 221-238.
- Tukey, H.B. (1969). Implications of Allelopathy in Agricultural Plant Science. *The Botanical Review*, 35(1), 1-16.
- Turan, M. (2021). *Şeytan Elması (Datura stramonium L.) Tohum Ekstraktlarının Kırmızı Köklü Horozibiği (Amaranthus retroflexus L.), Sirken (Chenopodium album L.) ve Şeker Pancarının (Beta vulgaris L.) Tohum Çimlenmesine Allelopatik Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Van: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Turhan, Ş. (2005). Tarımda Sürdürülebilirlik ve Organik Tarım. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 11 (1) : 13-24.

- Uygur, F. N., & İskenderoğlu, S. N. (1997). Allelopathic And Bioherbicide Effects of Plant Extracts On Germination of Some Weed Species. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 21(2), 177-180.
- Uygur, F. N., Köseli, F., & Cesurer, L. (1991). Antep Turpunun (*Raphanus sativus* L.) Pamuk Alanlarında Bioherbisit Olarak Kullanılma Olanaklarının Araştırılması. (s. 167-171). *VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi*.
- Uygur, F. N., Köseli, F., & Cinar, A. (1990). Die allelopathische wirkung von *Raphanus sativus* L. *Zeitschrift für Pflanzenschutz. Sonderleft*, 259-264.
- Uzunkaya, B. (2015). *Farklı Liken Ekstraktlarının Ekmeklik Buğday (Triticum aestivum L.) Tohumlarının Çimlenme ve Gelişimleri Üzerine Allelopatik Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Vos, P., Hogers, R., & Bleeker, M. (1995). AFLP: A New Technique For DNA Fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23, 4407-4414.
- Williams, J. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., & Rafalski, J. A. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18(22), 6531-6535.
- Wu, W., Zheng, Y.L., Chen, L., Wei, Y.M., Yang, R.W., Yan Z.H. (2005). Evaluation of genetic relationships in the genus *Houttuynia* Thunb. in China based on RAPD and ISSR markers, *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 1141-1157.
- Yano-Melo, A. M., Vicente, C., & Xavier-Filho, L. (1999). Allelopathic Effect of the *Cladonia verticillaris* Lichen Extracts and Fumarprotocetraric Acid On the Early Growth of Germinated Seedlings in *Allium cepa* L. *Tropical Bryology*, 17, 133-139.
- Yılar, M. (2007). *Polygonum cognatum* Meissn. (madımak)'un Allelopatik Potansiyelinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Tokat: Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Youssef, M. A., Mansour, A., & Solliman, S. S. (2010). Molecular Markers for New Promising Drought Tolerant Lines of Rice Under Drought Stress via RAPD-PCR And ISSR Markers. *Journal of American Science*, 6(12), 355-363.

Yücel, E. (2000). Ecological Properties of *Pinus nigra ssp. pallasiana var. şeneriana*, *Silvae Genetica*, 49(6), 264-277.

Zeren, H. (2015). *Bazı Tıbbi Bitki Ekstraktlarının Ekmeklik Buğday (Triticum aestivum L.) Tohumlarının Çimlenme ve Gelişmeleri Üzerine Allelopatik Etkileri*. Yüksek Lisan Tezi. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Zhou, Y. H., & Yu, J. Q. (2006). Allelochemicals and Photosynthesis. *Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications* (s. 127-139). Netherlands: Springer.

http-1:https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Platismatia_glauca_060408.jpg (Erişim tarihi: 20.05.2022)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nazlıhan AYDIN

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- Yüksek Lisans: Eskişehir Teknik Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Bilim Dalı / Eskişehir (2022)
- Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi, Biyoloji Öğretmenliği Bölümü / Samsun (2016)
- Lise: Rami Atatürk Anadolu Lisesi / İstanbul (2011)

Yayınları ve Bilimsel Faaliyetleri:

- Aydın, N., Işık, G., Candan, M., Avan, İ., Sözen, E., Epifitik Liken *Platismatia glauca* (L.) Total Aseton Ekstraktının Bazı Yabani Otlar Üzerindeki Allelopatik Etkilerinin Belirlenmesi, The 4th International Congress of Agriculture Environment and Health, Sözel Bildiri, Aydın, Turkey, 20-22 May, 2021.