

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

*Hypogymnia physodes* LİKEN TÜRÜNDE UV RADYASYONLARI VE  $Pb^{+2}$ ,  $Cr^{+6}$   
KATYONLARININ UYGULANMASI SONUCUNDA DNA VE DNA  
METİLASYON MODELİNDEKİ OLASI DEĞİŞİMLERİN MOLEKÜLER  
MARKÖRLER İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Rasim HAMUTOĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA  
2013

Her hakkı saklıdır

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

*Hypogymnia physodes* LİKEN TÜRÜNDE UV RADYASYONLARI VE Pb<sup>+2</sup>, Cr<sup>+6</sup>  
KATYONLARININ UYGULANMASI SONUCUNDA DNAVE DNA  
METİLASYON MODELİNDEKİ OLASI DEĞİŞİMLERİN MOLEKÜLER  
MARKÖRLER İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Rasim HAMUTOĞLU

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sümer ARAS  
Eşdanışman : Doç. Dr. Demet Cansaran DUMAN

Krom (Cr<sup>+6</sup>) ve Kurşun (Pb<sup>+2</sup>), endüstrideki yaygın kullanımı nedeniyle ciddi bir kirlenici duruma gelmiştir. Bu çalışmada, *Hypogymnia physodes* L.'nin Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> gibi ağır metal iyonlarıyla birlikte Ultraviyole ışınlarına karşı etkilerinin moleküler markörler ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır. *H. physodes* örnekleri farklı konsantrasyonlarda ve farklı uygulama zamanlarında Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> ağır metallerine maruz bırakılmıştır. Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> akümülyasyonu, fotosentetik pigmentasyon ve protein içeriğinin konsantrasyonlara bağlı değişimleri incelenmiştir. Ayrıca bu metallerin olası genotoksik etkileri RAPD ve CRED-RA teknikleri ile incelenmiştir. Bu analizler sonucunda yüksek miktarda polimorfizm ve metilasyon modelinde değişimler gözlenmiştir. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ve UV spektrofotometre'den elde edilen ağır metal birikim sonuçlarına göre *H. physodes*'in 120 ppm konsantrasyonda 24. saatte Cr<sup>+6</sup> ve 60 ppm konsantrasyonda 48. saatte Pb<sup>+2</sup> akümüle edebildiği belirlenmiştir. Genel olarak Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> akümülyasyonuna karşı *H. physodes* fotosentetik pigmentasyonda ve protein oranında azalma gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular ışığında *H. physodes* liken türü kullanılarak yeni yöntemler geliştirilebilir ve bu yolla belirli ölçüde çevre kirliliğinin önlenmesine büyük ölçüde katkı sağlanabilir.

**Temmuz 2013, 182 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Hypogymnia physodes*, UVA, UVB, UVC, Pb<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi, RAPD, CRED-RA, Metilasyon, Türkiye

## ABSTRACT

Assesment of the impact of UV, Pb<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup> treatment on the probable changes in DNA and DNA methylation models in lichen species *Hypogymnia physodes*

Master Thesis

Rasim HAMUTOĞLU

Ankara University  
Graduate School of Natural ve Applied Science  
Department of Biyology

Supervisor: Prof. Dr. Sümer ARAS  
Assoc. Prof. Dr. Demet Cansaran DUMAN

Due to its widespread industrial use, chromium (Cr<sup>+6</sup>) and lead (Pb<sup>+2</sup>) has become a serious pollutant. The objective of the present study is to asses the impact of Ultraviolet radiations and heavy metal treatment on the probable changes in lichen species *Hypogymnia physodes*. *Hypogymnia phsodes* sample that were exposed to different concentrations of chromium and lead heavy metals in different time intervals. The accumulation of Cr<sup>+6</sup> and Pb<sup>+2</sup>, photosynthetic pigmentation and protein content were examined depending on concentration changes. Furthermore, the probable genotoxic effects of the metals were investigated with RAPD and CRED-RA techniques. Results of these analysis showed high levels polymorphism and changes in methylation models. According to results of heavy metal accumulation obtained from Atomic Absorption Spectrophotometer and UV spectrophotometer, it was determined that *H. physodes* could accumulate Cr<sup>+6</sup> 24<sup>th</sup> hours at 120 ppm concentration and Pb<sup>+2</sup> 48<sup>th</sup> hours at 60 ppm concentration. In general, photosynthetic pigmentation and protein content decreased as a response to Cr<sup>+6</sup> and Pb<sup>+2</sup> accumulation. The findings of the present study, it may develop new techniques using *H. physodes* and in this way it might highly enhance to contribute new technologies for the prevention of environmental pollution.

**July 2013, 182 pages**

**Key Words:** *Hypogymnia physodes*, UVA, UVB, UVC, Pb<sup>+2</sup>, Cr<sup>+6</sup>, Atomic Absorption Spectroscopy, RAPD, CRED-RA, Methylation, Turkey

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmamda yüksek lisans öğrenimim boyunca bana her türlü yardım ve desteği sağlayan, önerileriyle bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Emine Sümer ARAS'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın tüm aşamaları boyunca değerli bilgi ve eleştirilerini esirgemeyen, kullanılan liken örneklerinin temin edilmesini sağlayan ve çalışmalarım sırasında benden yardımlarını esirgemeyen eşdanışman hocam Doç. Dr. Demet Cansaran DUMAN'a (Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü) teşekkürlerimi sunarım.

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi çalışmalarında Atomik Absorpsiyon analizlerimizi itina ile yapan hocam Prof. Dr. Orhan ATAKOL'a (Ankara Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı) ve liken örneklerimize UV radyasyonu uygulanmasında bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Kürşat DERİCİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Dostlukları ve güleryüzlü halleriyle yanımda olan ve çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Ersin ALTUNKAYNAK'a, Öğretim Üyesi İlker BÜYÜK ve tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olarak maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen biricik AİLEM'e çok teşekkür ederim.

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü (BAP) tarafından 13L4240004 nole proje ile desteklenmiştir.

Rasim HAMUTOĞLU

Ankara, Temmuz 2013

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xvi
1. GİRİŞ .....	1
1.1 Likenlerin morfolojik özellikleri.....	3
1.2 Likenlerin habitatları .....	3
1.3 Likenlerin önemi ve kullanım alanları.....	5
1.3.1 Besin olarak kullanımları.....	5
1.3.2 Tıptaki kullanımları.....	6
1.4 Hava kirliliği.....	7
1.4.1 Hava kirliliğinin etkileri .....	8
1.4.2 Hava kirliliğinin belirlenmesinde biyomonitör / biyoindikatör organizmalar .....	10
1.4.3 Hava kirliliğinin belirlenmesinde kullanılan çanta tekniği ile likenler ve karayosunlarında ağır metal birikiminin ölçülmesi.....	14
1.4.4 Ağır metallerin organizmalar üzerine genotoksik etkisi .....	15
1.5 Kaynak Özetleri.....	17
2. KURAMSAL TEMELLER.....	30
2.1 <i>Hypogymnia</i> cinsi.....	30
2.2 <i>Hypogymnia physodes</i> .....	31
2.3 UV etkisi.....	32
2.3.1 UV-A.....	33
2.3.2 UV-B.....	33
2.3.3 UV-C.....	33
2.3.4 Deniz canlıları üzerine etkisi .....	34
2.4 Klorofil içeriği.....	34
2.5 Genotoksisite çalışmaları ve kullanılan markör teknikleri.....	35
2.5.1 Polimeraz zincir reaksiyonuna dayanan markör teknikleri .....	37
2.5.1.1 RAPD: Rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı.....	39
2.5.2 CRED-RA tekniği ile metilasyon analizi.....	40
2.5.3 Atomik absorpsiyon spektrometresi.....	41
2.5.4 Proteinler .....	42
2.5.4.1 Proteinlerin izolasyonu .....	42
2.5.4.2 Bradford Yöntemi .....	43
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	44
3.1 Materyal .....	44
3.2 Yöntem .....	45

3.2.1 Ağır metal uygulanması.....	45
3.2.2 Atomik absorpsiyon spektroskopisi ile ağır metal miktar tayini .....	47
3.2.3 UV uygulanması .....	47
3.2.3.1 UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVD, UVA+UVB .....	48
3.2.4 Ağır metal ve UV stresi uygulanmış örneklerdeki toplam çözünür protein içeriğinin belirlenmesi (Bradford Metodu).....	48
3.2.5 Klorofil-a, klorofil-b ve total klorofil miktar tayini.....	49
3.2.6 DNA izolasyonu .....	49
3.2.6.1 DNA saflık ve miktar tayini .....	51
3.2.6.2 Total DNA elektroforezi .....	51
3.2.6.3 Primerler.....	51
3.2.7 RAPD analizi .....	52
3.2.7.1 PCR metodunun şartları .....	52
3.2.8 CRED-RA tekniği ile metilasyon analizi.....	53
3.2.8.1 Genomik DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesilmesi .....	53
3.2.9 İstatistiksel analizler .....	54
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....</b>	<b>56</b>
4.1 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün krom (Cr <sup>+6</sup> ) ve kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) stresi altında atomik absorpsiyon spektrometri (AAS) ölçümlerine ait bulgular .....	56
4.1.1 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün krom (Cr <sup>+6</sup> ) stresi altında atomik absorpsiyon spektrometri (AAS) ölçümlerine ait bulgular .....	56
4.1.2 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) stresi altında atomik absorpsiyon spektrometri (AAS) ölçümlerine ait bulgular .....	58
4.2 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün krom (Cr <sup>+6</sup> ) ve kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) ile UV stresi altında toplam protein ölçümlerine ait bulgular.....	61
4.2.1 30, 60 ve 120 ppm Cr <sup>+6</sup> kationunun <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde toplam protein ölçümlerine ait bulgular .....	62
4.2.2 30, 60 ve 120 ppm Pb <sup>+2</sup> kationunun <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde toplam protein ölçümlerine ait bulgular .....	65
4.2.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün UV stresi (UVA, UVB, UVC, UVD (Daylight), UVA+UVD, UVA+UVB) altında toplam protein ölçümlerine ait bulgular .....	67
4.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün krom (Cr <sup>+6</sup> ) ve kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) ile UV stresi altında klorofil ölçümlerine ait bulgular .....	71
4.3.1 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün krom (Cr <sup>+6</sup> ) ve kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) stresi altında klorofil a ölçümlerine ait bulgular .....	71
4.3.1.1 30, 60 ve 120 ppm Cr <sup>+6</sup> kationunun <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde klorofil a ölçümlerine ait bulgular .....	72
4.3.1.2 30, 60 ve 120 ppm Pb <sup>+2</sup> kationunun <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde klorofil a ölçümlerine ait bulgular .....	74
4.3.1.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün UV stresi (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD) altında klorofil a ölçümlerine ait bulgular .....	76
4.3.2 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün krom (Cr <sup>+6</sup> ) ve kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) stresi altında klorofil b ölçümlerine ait bulgular .....	81
4.3.2.1 30, 60 ve 120 ppm Cr <sup>+6</sup> kationunun <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde klorofil-b ölçümlerine ait bulgular .....	82

4.3.2.2 30, 60 ve 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonunun <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde klorofil b ölçümlerine ait bulgular.....	84
4.3.2.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün UV stresi (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD) altında klorofil b ölçümlerine ait bulgular.....	86
4.3.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün krom (Cr <sup>+6</sup> ) ve kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) stresi altında toplam klorofil ölçümlerine ait bulgular.....	90
4.3.3.1 30, 60 ve 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonunun <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde toplam klorofil ölçümlerine ait bulgular.....	92
4.3.3.2 30, 60 ve 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonunun <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde toplam klorofil ölçümlerine ait bulgular.....	94
4.3.3.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün UV stresi (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD) altında total klorofil ölçümlerine ait bulgular.....	95
4.3.4 RAPD-PCR bulguları.....	99
4.3.4.1 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün krom (Cr <sup>+6</sup> ) ve kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) ile UV stresi altında RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	99
4.3.4.1.1 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde 30, 60 ve 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonunun RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	100
4.3.4.1.2 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde 30, 60 ve 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonunun RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	108
4.3.4.1.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünün UV(UVA, UVB, UVA+UVB, UVC, UVD ve UVA+UVD) stresi altında RAPD-PCR'larına ait Bulgular.....	115
4.3.4.1.3.1 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	117
4.3.4.1.3.2 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA+UVD uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	121
4.3.4.1.3.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVC uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	126
4.3.4.1.3.4 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVD uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	130
4.3.4.1.3.5 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVB uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	135
4.3.4.1.3.6 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA+UVB uygulanmış Örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular.....	139
4.3.5 CRED-RA bulguları.....	143
4.3.5.1 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde Pb <sup>+2</sup> katyonunun CRED-RA analizlerine ait bulgular.....	144
4.3.5.2 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde Cr <sup>+6</sup> katyonunun CRED-RA analizlerine ait bulgular.....	146
4.3.5.3 UVA uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular.....	147
4.3.5.4 UVB uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular.....	149
4.3.5.5 UVC uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular.....	150
4.3.5.6 UVD uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular.....	152

<b>4.3.5.7 UVA+UVB uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular .....</b>	<b>153</b>
<b>4.3.5.8 UVA+UVD uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular .....</b>	<b>155</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>157</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>169</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>182</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrad
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
ATP	Adenozintrifosfat
ASA	Asetilsalisilik asit
Ca <sup>+2</sup>	Kalsiyum
Cl <sup>-</sup>	Klor
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
CO	Karbon monoksit
CRED-RA	İkili Restriksiyon Kesim Enzimi-Rastgele Çoğalma
dH <sub>2</sub> O	Distile su
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksinükleotid Trifosfat
EtOH	Etilalkol
FeCl <sub>2</sub>	Demir Klorür
g	Gram
GTS(GKS)	Genomik Kalıp Stabilitesi
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
HNO <sub>3</sub>	Nitrik Asit
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
J	Joule
L	Litre
M	Molar
mM	Milimolar
mg	Miligram
NaHSO <sub>3</sub>	Sodyum Hidrojen Sülfid
ng	Nanogram
SO <sub>x</sub>	Sülfür oksitler
µM	Mikromolar
µl	Mikrolitre

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Heteromerik likenin ( <i>Hypogymnia physodes</i> ) görüntüsü .....	4
Şekil 3.1 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne Cr <sup>+6</sup> ağır metal katyonu uygulaması .....	46
Şekil 3.2 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne Pb <sup>+2</sup> ağır metal katyonu uygulaması .....	46
Şekil 3.3 Atomik absorpsiyon spektroskopisi cihazı .....	47
Şekil 3.4 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UV uygulanmış olan örnekler .....	48
Şekil 4.1 30 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri .....	56
Şekil 4.2 60 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri .....	57
Şekil 4.3 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri .....	57
Şekil 4.4 30, 60 ve 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait örneklerin AAS ölçümlerinin yüzde olarak görünümü .....	58
Şekil 4.5 30 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri .....	59
Şekil 4.6 60 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri .....	59
Şekil 4.7 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri .....	60
Şekil 4.8 30, 60 ve 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait örneklerin AAS ölçümlerinin yüzde olarak görünümü .....	61
Şekil 4.9 30 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri .....	63
Şekil 4.10 60 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri .....	64
Şekil 4.11 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri .....	64
Şekil 4.12 30 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri .....	65
Şekil 4.13 60 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri .....	66
Şekil 4.14 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri .....	66

Şekil 4.15 UVA radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri.....	68
Şekil 4.16 UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri.....	69
Şekil 4.17 UVC radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri.....	69
Şekil 4.18 UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri.....	70
Şekil 4.19 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri.....	70
Şekil 4.20 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri.....	71
Şekil 4.21 30 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri.....	73
Şekil 4.22 60 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri.....	73
Şekil 4.23 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri.....	74
Şekil 4.24 30 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri.....	75
Şekil 4.25 60 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri.....	75
Şekil 4.26 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri.....	76
Şekil 4.27 UVA radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri.....	77
Şekil 4.28 UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri.....	78
Şekil 4.29 UVC radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri.....	78
Şekil 4.30 UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri.....	79
Şekil 4.31 UVA+UVD radyasyonu beraber uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri.....	80

Şekil 4.32 UVA+UVB radyasyonu beraber uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri.....	80
Şekil 4.33 30 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri.....	82
Şekil 4.34 60 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri.....	83
Şekil 4.35 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri.....	86
Şekil 4.36 30 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri.....	84
Şekil 4.37 60 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri.....	85
Şekil 4.38 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri.....	85
Şekil 4.39 UVA radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri.....	87
Şekil 4.40 UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri.....	87
Şekil 4.41 UVC radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri.....	88
Şekil 4.42 UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri.....	89
Şekil 4.43 UVA+UVD radyasyonu beraber uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri.....	89
Şekil 4.44 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri.....	90
Şekil 4.45 30 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri.....	92
Şekil 4.46 60 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri.....	93
Şekil 4.47 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri.....	93
Şekil 4.48 30 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri.....	94

Şekil 4.49 60 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri .....	95
Şekil 4.50 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri .....	98
Şekil 4.51 UVA radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri .....	96
Şekil 4.52 UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri .....	97
Şekil 4.53 UVC radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri .....	97
Şekil 4.54 UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri .....	98
Şekil 4.55 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri .....	99
Şekil 4.56 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri .....	99
Şekil 4.57 30 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR jel görüntüsü .....	101
Şekil 4.58 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne 30 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	103
Şekil 4.59 60 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR jel görüntüsü .....	103
Şekil 4.60 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne 60 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	105
Şekil 4.61 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR jel görüntüsü .....	105
Şekil 4.62 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	107
Şekil 4.63 30 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR jeli .....	109
Şekil 4.64 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne 30 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	110
Şekil 4.65 60 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR jeli .....	111

Şekil 4.66 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne 60 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	112
Şekil 4.67 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR jeli .....	113
Şekil 4.68 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	114
Şekil 4.69 UV cihazı .....	116
Şekil 4.70 UV dozmetre cihazı .....	116
Şekil 4.71 UVA radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	118
Şekil 4.72 UVA radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	119
Şekil 4.73 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne UVA radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	120
Şekil 4.74 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	122
Şekil 4.75 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	123
Şekil 4.76 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	123
Şekil 4.77 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne UVA+UVD radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	125
Şekil 4.78 UVC radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	127
Şekil 4.79 UVC radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	128
Şekil 4.80 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne UVC radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	129
Şekil 4.81 UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	131
Şekil 4.82 UVD radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	132
Şekil 4.83 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne UVD radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	134

Şekil 4.84 OPC01 primeri kullanılarak UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR jeli .....	136
Şekil 4.85 UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	137
Şekil 4.86 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne UVB radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	138
Şekil 4.87 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	140
Şekil 4.88 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	141
Şekil 4.89 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne UVA+UVB radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları .....	142
Şekil 4.90 60 ppm Pb <sup>+2</sup> stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü..	144
Şekil 4.91 60 ppm Pb <sup>+2</sup> stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik ..	145
Şekil 4.92 60 ppm Cr <sup>+6</sup> stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü.	146
Şekil 4.93 60 ppm Cr <sup>+6</sup> stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik .	147
Şekil 4.94 UVA stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü .....	147
Şekil 4.95 UVA stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik ..	148
Şekil 4.96 UVB stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü .....	149
Şekil 4.97 UVB stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik ..	150
Şekil 4.98 UVC stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü .....	150

Şekil 4.99 UVC stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik ..	151
Şekil 4.100 UVD stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü .....	152
Şekil 4.101 UVD stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik .....	153
Şekil 4.102 UVA+UVB stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü .....	153
Şekil 4.103 UVA+UVB stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik .....	154
Şekil 4.104 UVA+UVD stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü ....	155
Şekil 4.105 UVA+UVD stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik .....	156
Şekil 5.1 Ağır metal stresi altında <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil değişimi .....	159
Şekil 5.2 UV stresi altında <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait klorofil değişimi .....	163
Şekil 5.3 Ağır metal uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	167
Şekil 5.4 UV radyasyonu uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları .....	168



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 HpaII ve MspI restriksiyon enzimlerinin kesim yeteneklerine göre oluşturulmuş metilasyon tiplerini gösteren çizelge.....	55
Çizelge 3.2 Var-Yok olarak skorlanan CRED-RA bantlarının ifade ettiği metilasyon tipleri.....	55
Çizelge 4.1 <i>H. physodes</i> liken türünde ağır metal stresi altında total protein içeriği.....	62
Çizelge 4.2 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde ağır metal stresi altında total protein içeriği .....	67
Çizelge 4.3 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde ağır metal stresi altında klorofil-a içeriği.....	72
Çizelge 4.4 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UV stresi altında total klorofil-a içeriği.....	77
Çizelge 4.5 <i>H. physodes</i> liken türünde ağır metal stresi altında total klorofil-b içeriği.....	81
Çizelge 4.6 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UV stresi altında total klorofil-b içeriği .....	86
Çizelge 4.7 <i>H. physodes</i> liken türünde ağır metal stresi altında total klorofil içeriği.....	91
Çizelge 4.8 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UV stresi altında total klorofil içeriği.....	96
Çizelge 4.10 Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler .....	101
Çizelge 4.11 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde 30 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı.....	102
Çizelge 4.12 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde 60 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı.....	104
Çizelge 4.13 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde 120 ppm Cr <sup>+6</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı.....	106
Çizelge 4.14 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde krom (Cr <sup>+6</sup> ) stresi uygulanan örneklere ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları .....	107
Çizelge 4.15 Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler .....	108
Çizelge 4.16 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde 30 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı .....	110
Çizelge 4.17 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde 60 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı .....	112

Çizelge 4.18 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde 120 ppm Pb <sup>+2</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı .....	114
Çizelge 4.19 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde Kurşun (Pb <sup>+2</sup> ) stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları .....	115
Çizelge 4.20 UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVD ve UVA+UVB radyasyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler.....	117
Çizelge 4.21 UVA radyasyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler .....	117
Çizelge 4.22 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA ışını uygulanması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve Tube A05 primerlerine ait değişen bant sayısı .....	120
Çizelge 4.23 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları .....	123
Çizelge 4.24 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler .....	123
Çizelge 4.25 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA+UVD ışını uygulanması sonucunda TubeA01, TubeA02, OPO03, OPA19 ve OPA18 primerlerine ait değişen bant sayısı .....	124
Çizelge 4.26 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA+UVD stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları .....	125
Çizelge 4.27 UVC radyasyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler .....	126
Çizelge 4.28 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVC ışını uygulanması sonucunda OPC01, OPC02, OPC04, OPC07 ve OPC10 primerlerine ait değişen bant sayısı .....	129
Çizelge 4.29 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVC stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları .....	130
Çizelge 4.30 UVD radyasyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler .....	130
Çizelge 4.31 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVD ışını uygulanması sonucunda OPC01, OPC02, OPC03, OPC04, OPC07, OPC10, OPO19 ve TubeA05 primerlerine ait değişen bant sayısı .....	133
Çizelge 4.32 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVD stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları .....	134
Çizelge 4.33 UVB radyasyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler .....	135
Çizelge 4.34 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVB ışını uygulanması sonucunda OPC01, OPC02, OPC04, OPC07, OPC10 ve TubeA05 primerlerine ait değişen bant sayısı .....	138
Çizelge 4.35 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVB stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları .....	139
Çizelge 4.36 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış <i>H. physodes</i> liken türünde kullanılan primerler .....	139

Çizelge 4.37 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA+UVB ışını uygulanması sonucunda OPC01, OPC02, OPC04, OPC07 ve OPC10 primerlerine ait değişen bant sayısı.....	142
Çizelge 4.38 <i>Hypogymnia physodes</i> liken türünde UVA+UVB stresi uygulanan örneklere ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları .....	143
Çizelge 4.39 60 ppm Pb stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge .....	144
Çizelge 4.40 60 ppm Cr <sup>+6</sup> stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge .....	146
Çizelge 4.41 UVA stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge .....	148
Çizelge 4.42 UVB stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge.....	149
Çizelge 4.43 UVC stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge.....	151
Çizelge 4.44 UVD stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge.....	152
Çizelge 4.45 UVA+UVB stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge .....	154
Çizelge 4.46 UVA+UVD stresi uygulanmış <i>Hypogymnia physodes</i> örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge.....	155

## 1. GİRİŞ

Likenler yıllarca mutualizmin akla ilk gelen örneğini oluşturmuşlardır. Likenler başlı başına birer organizma değildirler. Mantarlar ile alglerin birleşerek morfolojik ve fizyolojik bir bütün halinde meydana getirdikleri simbiyotik birliklerdir (Güner 1986). Liken terminolojisinde simbiyozu oluşturan mantar için mikobiyont, alg veya siyanobakteri için fotobiyont terimi kullanılır. Fotobiyont ayırımında liken oluşumuna katılan siyanobakteri için siyanoliken, alg için fikoliken terimleri de kullanılır (Friedl ve Büdel 1996). Likenlerde mikobiyontla birlikte genellikle bir çeşit fotobiyont bulunur, fakat nadir olarak bazı likenlerde birden fazla fotobiyont türü bulunabilir (Nash 1996). Bununla birlikte, laboratuvar çalışmaları sonucunda, hücresel düzeyde alg hücrelerinin düzenli durumda ve kontrollü olarak mantar tarafından parazitize edildiği organizmalardır (Hawskworth 1988).

Liken tallusu iki organizmanın meydana getirdiği kompleks bir yapıdır. Fungus bileşeni (mikobiyont), yeşil algler veya mavi yeşil algler (fikobiyont) ile simbiyotik işbirliği kuran bir *Ascomycetes* veya *Basidiomycetes* üyesidir. Yaklaşık 20000 kadar taksonla temsil edilen likenler, mantarlar içerisinde sınıflandırılmaktadırlar. Liken oluşumuna katılan yaklaşık 40 fotobiyont cinsi belirlenmiştir (Tschermak-Woess 1989, Büdel ve Scheidegger 1996). Likenlerde en çok bulunan siyanobakteri türleri *Nostoc*, *Scytonema*, *Stigonema*, *Gloeocapsa* ve *Calothrix*, en çok bulunan alg türleri ise *Trebouxia*, *Trentepohlia*, *Coccomyxa* ve *Dictyochloropsis* cinslerine aittir (Ahmadjian 1993, Friedl ve Büdel 1996). Bu ayrı bileşenler bir araya geldiklerinde meydana gelen tallus, liken olmayan fungus ve algler ile hiçbir benzerlik göstermeyen uzun ömürlü ayrı bir yapı meydana getirir. Fungus ve alg elementleri sadece tallustan kesit alındığında ve mikroskop altında incelendiğinde tanınabilirler (Hale 1974). Liken yapısında yer alan alg üyeleri, *Chlorophyta*'da yaklaşık 25 cins, *Xanthophyta*, *Phaeophyta*'da 1 cins ve *Cyanobacteria*'da 12 cinste toplanmaktadır. Liken yapısına katılan mantarlar ise çoğunlukla *Ascomycetes*, daha az sayıda *Basidiomycetes* üyeleridir. 30000 *Ascomycetes* türünün hemen hemen yarısının liken yapısına katıldığı belirtilmektedir (Brodo vd. 2001).

Birçok kaynakta likenler bütün partnerlerin fayda sağladığı mutualizmin klasik bir örneği olarak gösterilirler (Nash 1996), fakat alternatif olarak bazı araştırmacılar mantar bu birliktelikten daha çok faydalandığı için kontrollü parazitizm olarak tanımlarlar (Ahmadjian 1993). Simbiyotik birlik kökleri olmayan ortak bir gövde (tallus) oluşturur (Garty 2001). Tallus mantar dokudan oluşan korteks, medulla ve mantar hifleri tarafından sarılmış fotobiyont tabakasından oluşmuştur. Korteks, fotobiyont hücrelerini kurumaktan ve aşırı güneş ışığından korurken, gevşek dokulu medulla gaz değişimini kolaylaştırır. Fotobiyont tabakadaki hücreler optimum güneş ışığı alacak şekilde yerleşmişlerdir (Ahmadjian 1993).

Liken simbiyozu basit bir etkileşim ya da sadece bir arada bulunma değildir, fungus ve fotobiyont arasındaki ilişki oldukça karmaşıktır. Likenlerde simbiyotik ortaklar arasında sıkı bir fizyolojik ilişki vardır. Daha baskın olan heterotrof mantar karbonik besin ihtiyacını fotobiyontun fotosentez ürünleri ile karşılar (Nash 1996). Fotobiyonttan mikobiyontta doğru olan karbonhidrat akışının, yeşil alg bulunan likenlerde polyoller olarak ve siyanobakteri içeren likenlerde glikoz şeklinde gerçekleştiği belirlenmiştir (Feige ve Jensen 1992). Fotobiyontların hücre duvarı, bu organizmaların serbest yaşam formlarındayken sahip olduğu hücre duvarı yapısıyla farklılık gösterir. Likenleşmiş haldeki fotobiyontların hücre duvarı, bazı karbonhidratların hücre dışına doğru çıkışına izin verecek şekilde değişmiştir (Smith 1980, Smith ve Douglas 1987). Buna ek olarak mikobiyont, azot fikse eden bir siyanobakteri ile birlikte olduğu durumda da diğer biyonttan azot kaynağı elde etmiş olur. Buna rağmen mantardan fotobiyont hücrelere doğru bir besin geçişi olup olmadığı bilinmemektedir, fakat mantarın diğer mantar simbiyozlarında olduğu gibi, fotobiyont için inorganik besin rezervuarı olarak fonksiyon görebileceği kabul edilmektedir (Rai vd. 1980, Smith 1980, Rai 1988).

Yakın fizyolojik ilişkinin bir başka sonucu da likenlerde hücre dışında kristaller halinde bulunan sekonder metabolitlerdir. Bu metabolitlerin çoğu serbest yaşayan mantarlarda bulunmaz (Culberson ve Elix 1989).

Ökaryotik organizmalar olan mantarlarda, likenleşmiş ve likenleşmemiş bireyler arasında sitolojik yönden temel olarak bir fark yoktur. Sadece likenleşmeye katılan

*Ascomycetes* divisiosuna ait konsantrik cisimler göze çarpar, bu yapılar fonksiyonu ve orijini bilinmeyen yarı kristalik protein benzeri oluşumlardır (Honegger 1996). Mantarların yaklaşık beşte biri likenleşmiş haldedir ve karbon kaynağı elde etme bakımından likenleşme iyi bir beslenme stratejisidir (Hawksworth 1988).

Likenler oldukça yavaş büyürler (Honegger 1996) ve biyokütleyle olan katkıları değişkendir. Çok yavaş büyüdüklerinden ekosistemin üretkenliğine olan katkıları oldukça küçüktür, büyümeleri yılda birkaç milimetreden bir iki santimetreye kadar olabilir. Kısa ömürlü liken sayısı oldukça az olmakla beraber, bazılarının yüzlerce yıl yaşamış olabileceği düşünülmektedir (Nash 1996, Honegger 1996).

### **1.1 Likenlerin Morfolojik Özellikleri**

Likenlerin morfolojileri, boyutları ve sahip olduğu renkler büyük ölçüde çeşitlilik göstermektedir. Tallusları yeşil, kırmızı, gri, kahverengi, sarı veya siyah renkte olabilir (Jahns 1988). *Usnea* gibi bazı epifitik formların arasında boyu iki metreden uzun olan türler bulunur. Farklı formlardaki bazı türlerin ise boyları sadece birkaç milimetredir (Büdel ve Scheidegger 1996).

### **1.2 Likenlerin Habitatları**

Bilindiği gibi algler suda veya çok nemli yerlerde yaşayabilen ototrof organizmalardır. Mantarlar ise saprofittirler. Kısacası her iki grubun da yaşam alanları oldukça sınırlıdır. Oysa bu simbiyotik birlik sayesinde likenler tropik kuşaktan kutuplara, deniz kıyısından dağlık bölgelere kadar pek çok ortamda yaşayabilirler. Geniş coğrafik dağılımlarına ek olarak çok geniş bir substrat yelpazesine sahiptirler. Likenler “rhizinea” (rizin) adı verilen yapılarla çeşitli substratlara tutunarak büyürler. Toprağın, kayaların ya da taşların üzerinde, ağaçlar, diğer bitki, mantar ve likenlerin üzerinde, ölü ağaç kabukları, duvarlar, çatılar, terk edilmiş eski eşyalar hatta paslı metallerin üzerinde bile yaşayabilirler. Kayaların üzerinde yaşayan likenlerin çoğunluğu, yüzey üzerinde *epilitik* olarak, diğerleri ise kaya yüzeyleri arasında *endolitik* olarak bulunur. Toprak üzerinde yaşayanlar *terrikol*, ağaçların üzerinde yaşayanlar *epifitik*, yaprakların üzerinde hızlı koloni oluşturarak yer almış olan likenlerde *epifilik* olarak adlandırılır (Nash 1996).

Likenler ekstrem şartlarda su içeriklerini hızlı bir şekilde kaybederler. Fotosentez hızları düşer ve metabolizma hızları azalır. Deniz kıyılarından, en yüksek dağlara, sıcak bölgelerden kutuplara kadar geniş bir yayılım alanına sahiptirler. En kötü şartlar altında dahi gelişebilmektedirler. Likenler yağmurdan, hatta likenle çok kısa süre temasa geçen çok seyreltik bir akıntıdan bile besin sağlayabilir ve bu besini biriktirebilirler (Ahmadjian 1993, Nash 1996).

Bazı likenler sadece özgül habitatlarda bulunurlar. Örneğin; yalnız bir çeşit ağaç veya kaya üzerinde yaşayabilirler. Aynı zamanda bir ağaç gövdesinde otuz türden fazla liken çeşidine rastlamak da mümkündür. Sınırlı habitat koşullarında yaşayan likenler habitat şartlarına karşı oldukça hassastırlar. Örneğin; bazı türler hava kirliliğine hassastır ve hava kalitesinin ölçülmesinde bu türler kullanılırlar (Nash 1996).

Likenlerin coğrafik dağılımı oldukça geniştir ve hemen hepsi karasal organizmalardır. Tatlı su akıntılarında yaşayabilen sadece birkaç tane tür bulunur. Ekvatorda, kutup bölgelerinde, dağlık ve kıyı bölgelerde, tayga veya yağmur ormanları gibi çok değişik orman ekosistemlerinde ya da çöllerde olmak üzere tüm karasal ekosistemlerde bulunabilirler (Kappen 1993, Galloway 1996).



Şekil 1.1 Heteromerik likenin (*Hypogymnia physodes*) görüntüsü

([http:// www.korseby.net/outer/fungi/lichenes/index.html](http://www.korseby.net/outer/fungi/lichenes/index.html), Erişim Tarihi; 12.01.2009)

### 1.3 Likenlerin Önemi ve Kullanım Alanları

Ekolojik anlamda likenler büyük öneme sahip organizmalardır. Toprak oluşumuna yaptıkları katkıdan dolayı ekolojik süksesyonda önemli rol üstlenirler. Çıplak kayalık alanları ilk olarak örten canlılar arasındadırlar. Salgıladıkları asitlerle kayaları eriterek toprak oluşturdukları gibi ölen talluslarından da organik madde biriktirirler. Bu olaylar çok yavaş gerçekleşir fakat bir süre sonra yeterli miktarda toprak ve organik madde birikince bu sahada yosunlar ve eğreltiler yerleşebilir. Liken asidi kalkerli ve granitik kayaları kademeli olarak parçalar. Zamanla buralarda parçalanma sonucu oluşan ufak taşçıklar üzerinde yapraklı kara yosunları gelişmeye başlar. Daha sonraları da parçalanmanın ilerlemesi ve karayosunlarının artıklarının birikmesi ile toprak miktarı çoğalmaya ve böyle yerlerde yüksek bitkiler büyümeye ve gelişmeye fırsat bulurlar. Böylece likenler bitki örtüsünün gelişim sürecinde öncül canlılar olmuş olurlar (Güner 1986, Cansaran ve Yurdakulol 2003).

#### 1.3.1 Besin olarak kullanımları

Likenler doğada pek çok küçük hayvandan başlayarak insanlara kadar çeşitli grupların gıdasını oluşturmaktadır. Güveler, tırtıllar, solucanlar, sümüklüböcekler, salyangozlar örümcekler, kelebek larvaları gibi böcekler ve birçok kemirgen hayvan likenleri besin olarak kullanmaktadır. Likenler, genellikle acı kimyasallar içerdiklerinden yaban hayatın ana besin kaynağını oluşturmazlar ancak besin zincirinde önemli yere sahiptirler (<http://www.mdc.mo.gov/conmag/1998/10/20.htm>, 2009).

Özellikle de kıtlık zamanlarında boreal ve subarktik bölgelerdeki insanlar tarafından likenlerin besin olarak kullanıldıklarına dair birçok kayıt vardır. Batı Kanada ve ABD’de bazı kabilelerin *Bryoria fremontii*’yi (fruticos) ettikleri bilinmektedir (<http://www.yerkoy.bel.tr/yr4.php>).

Ağaç kabukları ve rutubetli ortamlardaki kayalar üzerinde gelişen yapraksı ve dalsı likenler büyük oranda hayvan besini olarak kullanılmaktadır. Bunların başında arktik



bölgelerde bol gelişen ve ren geyiklerinin önemli besinlerini oluşturan *Cladonia rangiferina* ve *Cetraria islandica* türleri gelmektedir (Nimis 1996).

Likenler insanlar tarafından da yiyecek maddesi olarak kullanılmaktadır. Likenlerin insanoğlu açısından besin değerleri oldukça kısıtlıdır. Çünkü geniş getiren hayvanların aksine insanlarda mide ve barsaklar içerisinde bulunan ve karmaşık liken karbonhidratlarını emilebilen ve küçük moleküllere parçalayan bakteri florası mevcut değildir. Afrika ve Arabistan'da yetişen *Aspicilia esculanta* (Manna likeni)'dan ekmek yapılmaktadır (Aras vd. 2007). Bugün Japonya'da kaya fungusu olarak bilinen *Umbilicaria* gibi bazı yapraksı türler dağlık alanlardan toplanır ve salatalarla veya yağda kızartılarak yenilir, bunların lezzetli olduğu söylenir. Besinsel değeri diğerleri ile karşılaştırıldığında avantajlı olsa bile bunların çok yavaş büyümesi insanların bunları kültüre alması için bir dezavantajdır (Hale 1974).

### 1.3.2 Tıptaki kullanımları

Likenlerin çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların bir bölümü likenlerin antimikrobiyal, antitümöral, antiinflamatuar ve antiülserojenik etkilere sahip olduklarını göstermektedir (Cansaran vd. 2006a, 2006b, 2007, Cansaran-Duman vd. 2010). Diğer pek çok literatürde likenlerin “soğuk algınlıkları, kuduz hastalığı, barsak kurtlarının düşürülmesi, alerji, ateşli hastalıklar, sarılık, cilt hastalıkları, humma nöbetleri, boğmaca, öksürük ve solunum yolu hastalıkları ve kemik kırıklarının tedavi edilmesinde kullanıldığı yer almaktadır (<http://www.yerkoy.bel.tr/yr4.php>, 2009). *Peltigera canina* Hindistan'da karaciğer hastalıklarına çare olarak yenilmektedir ve yüksek metiyonin aminoasitini içermesi güç kaynağı olarak kullanılmasını da sağlamaktadır (Hale 1974).

Liken maddeleri aynı zamanda bitki patolojisinde de antibiyotikler olarak incelenmektedir. Örneğin likenlerden elde edilen sodyum usnatın domates çürüklüklerine (*Corynebacterium michiganensis*) karşı etkili olduğu bulunmuştur.

Tütün mozaik virusu da çeşitli liken özütleri ile inhibe edilmiştir ve etken maddelerin lekanorik, psoromik ve usnik asit olduğu ispat edilmiştir (Hale 1974).

Su özütlü liken maddelerinin aynı zamanda otlarda tohum çimlenmesini ve kök başlamasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Mesela *Peltigera canina* yanındaki ot kolonilerinde kök sistemleri çok az gelişir. *Cladonia* cinsine ait likenler Finlandiya'daki konifer ormanlarında ağaç fidelerinin çimlenmesini inhibe eder. İnhibisyon mekanizmalarından bir tanesi de metafaz evresinde kromozom hatalarında artış olarak gözükür. Toprak habitatında yaşayan diğer *Cladonia* türleri karayosunu sporlarının çimlenmesini inhibe eder (Nimis 1996).

Likenlerden yapılan çay ve merhemler tüm dünyada geleneksel ilaç olarak kullanılmıştır. *Rocella* türlerinden asit/baz indikatörü olarak kullanılan turnusol elde edilir (Hale 1974).

#### **1.4 Hava Kirliliği**

Yoğunluğu  $5 \text{ g/cm}^3$ 'ten büyük olan veya atom ağırlığı 50 ve daha büyük olan elementlere ağır metal denir. Ağır metaller örnek olarak Cu, Fe, Zn, Pb, Hg, Co, Mn, Cr, Se, Ni ve Cd verilebilir. Ağır metallerden demir, bakır, çinko, mangan, molibden, kobalt bitkiler için gerekli elementlerdir ve bunlara esansiyel elementler denir. Esansiyel elementler kofaktör olarak birçok enzim sistemi için gereklidir, biyomoleküllerin yapısal stabilizasyonuna katkıda bulunurlar (Yu 2005). Hava kirliliği; yoğunluğu, bulunma süresi ve frekansı organizmaların sağlığını olumsuz etkileyen ve çevreye zarar veren maddelerin havada bulunması olarak tanımlanabilir. Bir başka deyişle hava kirliliği; havada katı, sıvı ve gaz şeklindeki yabancı maddelerin insan sağlığına, canlı hayatına ve ekolojik dengeye zarar verecek miktar, yoğunluk ve sürede atmosferde bulunmasıdır. İnsanların çeşitli faaliyetleri sonucu meydana gelen üretim ve tüketim aktiviteleri sırasında ortaya çıkan atıklarla hava tabakası kirlenerek, yeryüzündeki canlı hayatı olumsuz yönde etkilemektedir (<http://www.kureselisinma.com>, 2009). Hava kirliliğinin birincil kaynağı enerji elde

etmek üzere fosil yakıtların tüketilmesi, çeşitli endüstriyel işlemler ve taşıma faaliyetleridir (Yu 2005). Isınmadan, motorlu taşıtlardan ve endüstriyel çalışma alanlarından çevreye salınan birçok madde kirliliğe neden olabilmektedir.

#### **1.4.1 Hava kirliliğinin etkileri**

Metallerin büyük bir bölümü canlılarda birikim yapar. Birikim sonucu canlıların bünyesinde yoğunlaşan bu elementler etkili dozlara ulaştıklarında, ciddi hastalıklara hatta ölümlere sebep olabilirler. Ağır metallerin çoğu biyolojik yapılarda birikme ve protein ya da nükleik asitler gibi biyomoleküllerle bağlanma eğilimlerinden dolayı oldukça zararlıdır. Bazı ağır metallerin kanseri başlattığı öne sürülür. Sucul ekosistemlerde zararlı ağır metallerin varlığı canlı organizmaların sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (Garty 2001). Ağır metallerin çok az miktarları bile canlı hayvan bünyesinde büyük zararlara sebep olabilmektedir (Garty 2001). Endüstrinin gelişmesi çevreye ve canlı ekosistemlere fazla miktarlarda ağır metal salınımını artırmış canlılar üzerinde olumsuz etkiler bırakmıştır. Yüksek miktarlarda ağır metale maruz kalmak, böbrek hastalıklarına, karaciğer rahatsızlıklarına, kansızlığa ve hatta kansere neden olabilmektedir.

Kirli hava, insanlarda solunum yolu hastalıklarının artmasına sebep olmaktadır. Örneğin; kurşunun kan hücrelerinin gelişmesini ve olgunlaşmasını engellediği, kanda ve idrarda birikerek sağlığı olumsuz yönde etkilediği, karbonmonoksit (CO)'in ise, kandaki hemoglobin ile birleşerek oksijen taşınmasını aksattığı bilinmektedir. Ayrıca kükürtdioksit ve ozon bitkiler, hayvanlar ve insanlar için zararlı olup özellikle ozon, bitkiler için ürün kayıplarına sebep olmakta ve ormanlara zarar vermektedir (Nriagu 1996).

Sanayi, endüstri ve ısınmada kullanılan fosil yakıtlar ile ormanların tahribi ve arazi değişmesi sonucu, atmosferdeki karbondioksit miktarının %5 oranında arttığı tespit edilmiştir. Bunun ise küresel ısınmaya yol açabileceği öngörülmektedir (<http://www.kureselisinma.com,2009>).

Son elli yıldan beri, özellikle gelişmiş ülkelerde, hava kirliliği sorunlarına daha yoğun bir ilgi oluşmuştur. Havada, sülfür oksitler (SO<sub>x</sub>), azot oksitler (NO<sub>x</sub>), karbon monoksit (CO), ozon (O<sub>3</sub>), farklı tipte partiküller, ağır metaller ve değişik türde uçucu organik bileşikler gibi birçok kirlenici bulunur. Kirlenicilerin risk oluşturma derecesi, kirleniciye maruz kalma süresine, kirlenicilerin konsantrasyon ve yoğunluğuna bağlıdır ve ağır metaller veya bazı organik bileşikler gibi, yüksek seviyede bulunan bazı kimyasallara maruz kalan kişilerde kanser riskinin arttığı saptanmıştır (Anonymous 1994, Anonymous 2003).

Endüstri devriminden sonra bakır, kurşun, çinko, kadmiyum, cıva ve nikel gibi ağır metallerin yayılımı sürekli olarak artmıştır (Nriagu 1996). Bu metaller ve diğer bazı ametal elementler sınırlı coğrafik bölgelerde aşırı miktarlarda birikmiş ve insan sağlığını etkilemiştir. Akut etkilerinin yanında, ağır metalleri içeren çeşitli hava kirlenicilerine düşük konsantrasyonlarda fakat uzun süre maruz kalınması nedeni ile bitkilerde, hayvanlarda ve insanlarda oluşan kronik hasarlar daha etkilidir (Yu 2005). Meslek dalları üzerinde yapılan çalışmalarda hava kirliliğine maruz kalma ve solunum yolları kanser vakaları arasında yakın bir ilişki olduğu, çalışma koşullarında asbest, arsenik, krom ve diğer bazı toksik maddeleri solumanın akciğer kanseri olayları ile bağlantılı olduğu bulunmuştur (Goldsmith ve Friberg 1977).

Küçük parçacıklar solunum yollarına kolayca nüfuz edebildikleri için insan sağlığı açısından büyük önem taşırlar. Madencilik veya metal işleme gibi faaliyetlerde tahriş edici metalik veya mineral parçacıkların solunmasının akciğer hastalıklarına neden olduğu saptanmıştır (Yu 2005). Kentsel aerosollerin çoğunda kurşun, kadmiyum, nikel, selenyum, vanadyum, çinko, brom, manganez, kobalt gibi potansiyel toksik elementlerin bulunduğu belirlenmiştir (Natusch ve Wallace 1974, Abelson 1998). Metallerin bazıları esansiyel element olmasına rağmen, ağır metallerin çoğu esansiyel değildir.

#### **1.4.2 Hava kirliliğinin belirlenmesinde biyomonitör / biyoindikatör organizmalar**

Kirleticilere duyarlı organizmalar vasıtasıyla çevresel kirlilik seviyelerini göstermek uzun süredir var olan ve gittikçe gelişen bir çalışma alanıdır. Bu alanda kirleticiler, kirleticilere duyarlı organizma türleri ve araştırma prosedürleri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bütün bu araştırmaların temelinde organizmaların çevrelerinde bulunan farklı tipteki uyarıcılara karşı duyarlı olmaları ve çeşitli biçimlerde reaksiyon vermeleri bulunur. Belirli organizmalar, örneğin likenler, kirlenmiş alanlarda bulunan diğer organizmalara göre bazı kirleticilere karşı daha duyarlı, daha toleranslı ya da kirletici faktörü biriktirebilme gibi özelliklere sahip olabilirler. Organizmaların bu özellikleri onların içinde buldukları ortamın kirlilik seviyesi hakkında kalitatif bilgi sağlamak amacıyla kullanılır. Bu anlamda organizmalar birer “gösterge” (indikator) ya da “görüntüleyici” (monitor) olarak değerlendirilirler. Birçok araştırmacıya göre biyoindikatör; belirli çevresel faktörlere karşı gözlemlenebilir ve ölçülebilir değişimler ya da reaksiyonlar veren organizma olarak tanımlanır. Dolayısıyla organizmadaki değişimlerin gözlemlenmesi ve ölçülmesi ile kirletici, kirliliği oluşturan kaynaklar ve kirliliğin yoğunluğu arasında bir bağlantı kurulabilmelidir. Biyoindikatör organizmalar çevre kalitesi hakkında bilgi verirler. Kirleticiye maruz kalma süresi, kirletici konsantrasyonu ya da kirleticiye maruz kalan organizma sayısı veya miktarı gibi bazı değişkenler standardize edilirse, biyoindikatör organizmalar çevre kalitesini nicel olarak değerlendirebilmeye olanak sağlarlar. (Martin ve Coughtrey 1982, Nash 1989, Markert 1993, Nimis vd. 1993, Nimis ve Purvis 2002).

Çevresel kirleticilerin canlı organizmalarla gösterilmesi (“biomonitoring” veya “bioindication”) çalışmalarında “gösterge” ya da “görüntüleyici” organizmaların ve çalışmayı oluşturan diğer elemanların bazı özelliklere sahip olması gerekir (Conti ve Cecchetti 2001)

Organizmanın bol miktarda bulunması, coğrafik yayılımının geniş olması, tanımlama ve örneklemenin kolay yapılabilmesi, mevsimsel değişimlerden etkilenmemesi ve bütün yıl boyunca çalışılabilir olması tüm biyoindikatör grupları için sahip olması istenen ortak özelliklerden bazılarıdır. Bu anlamda biyoindikatörlerin (veya biyomonitörlerin) kirlilik

çalışmalarında kullanılması birçok avantaj sunar, fakat bu organizmaların kesin nicel değerler verememesi ve uygulama süreçlerinde tam olarak standardizasyon yapılamaması en büyük dezavantajlarıdır. Genellikle belirli bir alanda yaşayan biyoindikatör organizmaların her bir bireyi, bu alanda bulunan kirleticilere tamamen aynı oranlarda maruz kalmazlar. Ayrıca iklim koşullarının farklı olması kirleticilerin hareket ve birikim miktarlarını etkileyeceğinden bölgeler arası karşılaştırmalarda bir takım zorlukları da beraberinde getirir. Ortamda birçok farklı kirletici tipinin bulunması da bir tek kirletici tipi hakkında yorum yapılmasını zorlaştırır (Manning ve Feder 1980, Martin ve Coughtrey 1982, Puckett 1988, Wittig 1993).

Atmosferik ağır metal kirliliği çalışmalarında önemli bir yeri olan likenler biyomonitör olma özelliklerinin hemen hepsine sahip organizmalardır. Likenler hava kirliliğine oldukça duyarlı organizmalardır ve onların yüksek duyarlılıkları biyolojik yapıları ile ilgilidir. Hava kirliliğine duyarlılık özelliği her liken için aynı değildir. Daha ziyade farklı liken türleri, farklı kirleticilere değişik derecelerde duyarlıdırlar (Gries 1996).

Likenler uzun ömürlü olduklarından hava kirleticilerine bütün yıl boyunca maruz kalırlar. Morfolojileri mevsimsel olarak değişmez. Birçok vasküler bitkinin tersine yaprak gibi dökülen geçici yapıları yoktur ve bu yüzden gövdelerinde biriken kirleticilerin bir miktarını bu yolla uzaklaştırılmazlar. Stomaları ve kütikula tabakası yoktur ve sonuç olarak aerosoller ve gazlar bütün tallus yüzeyi boyunca absorplanır. Tallus üzerinde biriken mineral elementlerin alınımı pasif fizikokimyasal bir süreçtir ve likenin bu harekette kontrolü çok sınırlıdır. Dehidratasyon işlemi likenin kurak dönemlerde hayatta kalmasını sağlar. Fakat bu durumda tallus üzerinde çözelti şeklinde birikmiş olan elementlerin konsantrasyonu su kaybı nedeniyle artar (Gries 1996). Bu süreçlerin hepsi likenlerin talluslarında yüksek konsantrasyonlarda mineral element birikmesine neden olur.

Geniş coğrafik dağılıma sahip olmaları likenleri iyi bir biyoindikatör organizma yapan başka sebeplerdendir. Bu sayede farklı bölgelerdeki kirleticileri karşılaştırmaya olanak sağlarlar. Kök sistemleri olmadığından beslenebilmeleri için atmosferik depozisyona (çöküntü) bağımlıdırlar. İyi gelişmiş bir kütikulanın bulunmayışı bu atmosferik

elementlerin absorplanmasına izin veren bir özelliktir (Puckett 1988, Nash 1996). Likenlerde metal alım mekanizmaları Brown ve Beckett (1984) ve Brown (1987)'a göre; iyon değişimi, hücre içi alım ve partiküllerin yakalanmasıdır. Pb, Zn, Cd, Ni, Cu, Hg, ve Cr gibi diğer bir çok yaşayan organizma için zararı olan çeşitli ağır metaller, birçok durumda zarar vermeden bir liken örneği tarafından eş zamanlı olarak biriktirebilirler ve likenlerin çoğu bu metallere karşı oldukça tolerans gösterebilirler (Garty 1993, Cansaran-Duman vd. 2009, Cansaran-Duman 2011, Cansaran-Duman vd. 2012).

Son otuz yıldan beri, hava kirliliğinin likenler üzerindeki etkisini inceleyen birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar temel olarak üç yaklaşım tarzı olarak düşünölebilir. Birinci yaklaşım tarzında liken komüniteleri incelenir ve kirliliğe hassas olan türlerin bulunup bulunmadığı araştırılır. Bazı türler iyi hava kalitesinin belirtecidir ve kirliliğin yoğun olduğu bölgelerde sayıları azalır. İkinci yaklaşım tarzında kirlenmiş bölgelerden toplanan likenlerdeki çeşitli fizyolojik değişimler incelenir. Bu tür çalışmalar “*in situ*” olarak da adlandırılır. Üçüncü yaklaşım tarzında ise likenler temiz bölgelerden alınıp kirli bölgelere yerleştirilir (transplant) veya laboratuarda kontrollü biçimde kirleticilere maruz bırakılır. Atmosferik kirleticilerin likenlerle göröntülenmesinin birçok avantajının yanı sıra bu alanda çok sayıda çalışma yapılmış olması nedeniyle, kirliliğe toleranslı türler, kirleticileri biriktirme kapasiteleri gibi konularda oldukça fazla veri bulunmaktadır.

Likenlerin ağır metalleri biriktirmesi üzerine yapılan çalışmaların çoğunluğu; maden ocakları, enerji santralleri, işlek otoyollar, kentsel bölgeler ve kırsal alanlardaki kirlenmeye odaklanmıştır. Bu çalışmalarda foliose ve fruticose, özellikle terrikol ve epifit olan likenler kullanılmıştır. Ayrıca çalışmaların çoğunluğu kuzey yarımkürede ve genellikle nemli iklime sahip ölkelerde yapılmıştır (Garty 1993).

Likenlerin şehirlerde, endüstriyel alanlarda ya da kırsal bölgelerde hava kirleticileri için karasal biyomonitörler olarak kullanılması ve likenlerde metal tolerans mekanizmasının araştırılmasıyla ilgili önemli sayıda çalışma bulunmaktadır. Havadaki metal konsantrasyonunu enstrümantal olarak direk ölçmek yerine likenleri biyomonitör olarak

kullanmanın önemli avantajları vardır. Likenler ağır metalleri uzun dönemler boyunca biriktirirler ve ölçümler ortalama depozisyon oranlarını ifade eder, likenlerdeki metalleri ölçmek hava kirliliğini enstrümantal olarak direk kaydetmekten daha ucuzdur. Bu da çok sayıda örnekleme istasyonuna olanak verir. Böylece veri kalitesi artar ve geniş alanların kirlilik haritalarının çizilebilmesi mümkün olur (Nimis vd. 1993).

Atmosferik ağır metal kirliliği sıklıkla, asit yağmurları veya ozon, NO<sub>x</sub>, PAN (peroxyacetyl nitrate), hidrojen florid ya da antropojenik kaynaklı diğer gazların bulunduğu kirlenmiş alanlarda yoğundur ve bu nedenle liken fizyolojisindeki olumsuz değişimlerin sadece ağır metallerin etkisiyle mi gerçekleştiği sorusunu yanıtlamak zorlaşır (Garty 1993). Havadan gelen ağır metalleri likenlerle biyogörüntüleme uygulamaları enstrümantal ölçümlere tamamlayıcı olacak niteliktedir. Bu tür çalışmalarda iklim değişimleri, rüzgar hızı ve yönü, substrattan tallusa kirlitici bulaşması gibi etkenler bulunduğundan tek başına nicel veriler sağlayamazlar, ancak bir erken uyarı sistemi olabilirler (Conti ve Cecchetti 2001)

Hava kirliliği, sanayileşme ve çarpık kentleşme insan sağlığını ve doğayı hızla tehdit etmeye devam etmektedir. Canlılar çevresel kirleticilerden olumsuz etkilenmektedirler. Çevresel kirleticiler biyolojik birikim yoluyla canlı dokulara zarar verip, ölümüne bile neden olabilmektedirler (Adamo 2003).

Biyolojik birikim terimini birçok araştırmacı biyolojik olmayan çevreden bir maddenin doğrudan alınmasıyla ilgili olarak kullanmıştır. Bu terimle birlikte biyomonitör kavramı da ortaya çıkmaktadır. Biyolojik izleyici olarak tanımlayabileceğimiz bazı organizmalar ekolojik çalışmalarda yeni gelişmelere olanak sağlamaktadırlar. Özellikle bitkiler biyogörüntüleme, biyolojik izleme ve biyolojik birikim çalışmalarına fazlaca konu olmuşlardır. Likenler atmosfer kirliliğine ve özellikle kükürt dioksite karşı çok duyarlıdır. Bu özelliklerine dayanarak insanlar hava kirliliğini kontrol etmek için likenleri kullanırlar. SO<sub>2</sub> yoğunluğu 35 ppb'ye ulaştığında likenler tamamen yok olurlar. Hâlbuki büyük şehirlerde SO<sub>2</sub> miktarı ortalama olarak 100 ppb'ye kadar çıkabilir.



Likenler ayrıca havadaki radyoaktif elementleri de biriktirirler, dolayısıyla atmosferdeki radyasyon seviyesinin izlenmesinde de kullanılırlar. Örneğin kutup altı bölgelerde yaşayan ren geyiklerinin temel besin ürünü olan *Cladonia* türü radyoaktif elementleri çok biriktirirler. Ren geyiklerini yiyen Eskimo'larda bu tür kirlenmelerden çok fazla etkilenmişlerdir. Özellikle Çernobil nükleer kazasından sonra Ren geyiklerinin eti ve sütü kullanılamaz hale gelmiştir (Anonymous 2009).

#### **1.4.3 Hava kirliliğinin belirlenmesinde kullanılan çanta tekniği ile likenler ve karayosunlarında ağır metal birikiminin ölçülmesi**

Likenler ve karayosunları neredeyse tüm karasal ekosistemlerde gelişebilen kriptogamik organizmalardır ve uzun süren kuraklıklara dayanabildiklerinden dolayı ekstrem çevre koşullarında bile çoğalabilme özelliğine sahiptirler. Yüksek yüzey/hacim oranları, basit anatomileri ve mumsu bir kutikuladan yoksun olma özelliklerinden dolayı ağır metalleri dokularında toplayarak biriktirirler. Bu özelliklerinden dolayı uzun dönemler boyunca atmosferdeki çözünmüş gazlar, partikül halindeki madde ve metal iyonlarına göre bir element kompozisyonu gösterirler; bu yüzden çevresel kirlenmenin önemli birer biyomonitörleridir. Likenler ve karayosunları 20 yılı aşkın süredir şehirlerdeki ağır metal ve radyonüklidlerin atmosferik depolanmasını değerlendirmek için geniş ölçüde kullanılmaktadır. Karayosunları ve likenler birçok çalışmada; doğal olarak geliştikleri ortamlarda veya transplantlar halinde biyomonitör organizmalar olarak kullanılmışlardır (Brown 1984, Nimis 1996, Bargagli 1998, Conti ve Cecchetti 2001).

“Çanta Tekniği”, karayosunları ve likenlerin genellikle nadir olduğu veya hiç mevcut olmadığı şehirlerde, hava kirliliğini ölçmek için geliştirilmiştir (Goodman ve Roberts 1971). Çantalar genellikle naylondan yapılmış olan ağ şeklindeki filelerdir ve distile su içinde yıkanmış karayosunları ve likenler bu çantaların içine yerleştirilir. Bu tekniğin şu avantajları vardır:

- Ağır metal birikimine maruz kalma süresinde eşitlik,
- Alan ve istasyon sayısı seçiminde esneklik
- Kök alımı yoluyla muhtemel olabilecek herhangi bir kontaminasyon ihtimalini önlemek

Bu metodun en büyük sınırlaması, farklı kontamine ediciler için bilinmeyen toplama etkinliğidir (Temple vd. 1981). Bu metot ile likenler ve karayosunlarının biyomonitor olarak kullanılmasının diğer kritik yanı da maruz kalma süresidir (Bargagli 1998). Biyomonitorlar bir elementin alımı için bir doyma noktasına ulaşabilirler ve aynı zamanda performans iklimsel ve çevresel koşullar ile değişebilir (Garty vd. 1993).

#### **1.4.4 Ağır metallerin organizmalar üzerine genotoksik etkisi**

Pozitif yüklü metal iyonlarının, DNA'nın her iki zincirinde bulunan fosfat gruplarındaki negatif yüklü oksijen atomları ve bazların azot ve oksijen gibi elektron donörü olan atomları ile reaksiyona girebileceği bildirilmiştir (Anastassopoulou 2003). Buna göre metaller DNA'daki olası bölgelere direk veya dolaylı olarak sıkıca bağlanabilmektedirler (Anastassopoulou 2003). Metallerin DNA'ya bağlanmasının genellikle baz eşleşmesini sağlayan hidrojen bağlarının kırılmasına ve çift zincirli yapının kararlılığının bozulmasına sebep olduğu bilinmektedir. Nükleik asitlerin yapısında oluşan değişimler metal iyonunun çeşidine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Theophanides 1981). Magnezyum ve kalsiyum gibi metal iyonları nükleik asitlerde fosfat gruplarına bağlanarak DNA çift zincirli heliks yapısının korunmasına katkıda bulunurken, cıva ve gümüş iyonları bazlara bağlanarak heliks yapının kararlılığını bozabilmektedirler (Jacobson ve Turner 1980). Yapılan çalışmalarda hegzavalent krom bileşiklerinin memeli hücre kültürlerinde kromozom anormalliklerine ve mutasyonlara sebep olduğu, ayrıca DNA'nın bir zincirinde kırılmalara yol açabileceği saptanmıştır (Tsuda ve Kato 1977, Majone ve Levis 1979, Sugiyama vd. 1991). Anastassopoulou (2003), pozitif yüklü metal iyonlarının DNA'nın negatif yüklü kalıntılarıyla veya yüksek elektron yoğunluğu bulunan bölgelerle direk ya da dolaylı olarak etkileşime girebileceğini bildirmiştir. Yazar bu tip bölgelerin DNA'nın her iki zincirinde bulunan fosfat gruplarındaki negatif yüklü oksijen atomları ile bazların azot ve oksijen gibi elektron donörü olan atomları olabileceğini belirtmiştir. Buna göre metaller DNA'daki olası bölgelere direk veya dolaylı olarak sıkıca bağlanabilirler (Anastassopoulou 2003). Metallerin DNA'ya bağlanması genellikle baz eşleşmesini sağlayan hidrojen bağlarının kırılmasına ve çift zincirli yapının kararlılığının bozulmasına neden olabilir, fakat nükleik asitlerin konformasyonunda

meydana gelebilecek bu gibi değişimler bağlanan metal iyonunun çeşidine bağlıdır (Theophanides 1981, Yang ve Wang 1996).

Çevresel stresin meydana getirdiği hasarların, DNA markörleri kullanılarak belirleneceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Aras vd. 2010, Cansaran vd. 2011, Aras vd. 2012, Cansaran vd. 2012, Cansaran-Duman vd. 2013).

Bu çalışmada kirleticilere karşı oldukça duyarlı, diğer canlılara göre daha toleranslı ve kirletici faktörü biriktirebilme gibi özelliklere sahip olan likenlerin genotoksisite indikatör kapasitesi incelenmiştir. İleride bu çalışmalar göz önünde bulundurularak yeni yöntemler geliştirilebilecek ve bu yolla belirli ölçüde çevre kirliliğinin önlenmesine büyük ölçüde katkı sağlayacak teknolojiler geliştirilebilecektir. Bu çalışmanın amacı; önemli oranda çevre kirliliğine neden olan ağır metallerin likenler vasıtasıyla ne ölçüde giderilebileceğinin sayısal değerlerle tespiti ve bu ağır metal birikiminin ve UV ışınlarının likenin DNA yapısında ne gibi değişimlere yol açabileceğini moleküler tekniklerle araştırılmasıdır.

Bu çalışmada yapılan *Hypogymnia physodes* örneklerinin ağır metal içerikleri Atomik Absorbsiyon Spektrometresi incelenmiştir. Ayrıca RAPD PCR tekniği kullanılarak kirliliğe ve UV ışınlarına maruz kalmış örneklerde DNA'da olabilecek değişiklikler tespit edilmiştir. DNA'daki mutasyonlar hakkında elimizdeki en hassas deliller PCR bazlı moleküler markörler sayesinde elde edilmektedir. Günümüze kadar likenlerle ilgili dünyada genotoksisite indikatörlüğü ile ilgili literature geçecek birkaç çalışma mevcut olup bu çalışmalarda tarafımızdan gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle çalışmamız özgün bir değer taşımaktadır. Bu çalışma ile *Hypogymnia physodes* liken türlerinde UV radyasyon ve ağır metal uygulamalarının DNA düzeyinde olası etkileri, metilasyon profilindeki değişikliklerin saptanması, metal absorplama kapasitesinin incelenmesi ve çeşitli kirlilik etkenlerinin fizyolojik etkilerinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

## 1.5 Kaynak Özetleri

Constantin ve Nilan (1982), çalışmalarında kromozom anormallik denemeleri, mutasyon denemeleri, sitogenetik testler ve spesifik lokus mutasyon denemeleri, genler ve hücresel yapı üzerindeki toksik etkileri belirlemişlerdir.

Liebendörfer vd. (1988), çevreye hassas liken türlerinin yaşadığı ortamlarda havanın kalitesi ile ilgili değerlendirmeler yapabileceğini ifade etmişlerdir.

Bargagli (1989) çalışmasında, likenlerin ihtiyaçlarından çok daha fazla metal elementi biriktirebilme ve bu birikime yüksek derecede tolerans gösterebilme yeteneğinde olduklarını ifade etmiştir. Bu özellikleri sayesinde likenler atmosferik ağır metal kirliliğinin görüntülenmesinde kullanabilecek en iyi monitör-indikatör organizma olarak tanımlanmışlardır. Bu çalışmada epifitik likenler incelenmiş ve dokularında metal biriktirdikleri ortaya konmuştur.

Herzig vd. (1989), çevreye hassas liken türlerinin yaşadığı ortamlarda havanın kalitesi ile ilgili değerlendirmeler yapabileceğini ifade etmişlerdir.

Nimis vd. (1991), çevreye hassas liken türlerinin yaşadığı ortamlarda havanın kalitesi ile ilgili değerlendirmeler yapabileceğini bir kez daha vurgulamıştır.

Morton (1993), çevresel toksik maddelerin doğal populasyonların genetic yapısına etkisinin bulunduğunu belirtmiştir.

Poblet vd. (1994) ile Olmez vd. (1985) 'ye göre likenler çok farklı yaşam ortamlarında yaşayabilme yeteneğine sahiptirler. Aşırı sıcak ve aşırı soğuk ortamlara tolerans gösterirler. Dünyanın hemen her bölgesinde likenlerin farklı coğrafik dağılımına rastlayabiliriz. Antartika'da bile ağır metal çalışmaları likenler üzerinde yapılmıştır.

Tardiff vd. (1994), benzer şekilde kromozom anormallik denemeleri, mutasyon denemeleri, sitogenetik testler ve spesifik lokus mutasyon denemeleri ile genler ve hücresel yapı üzerindeki toksik etkilerin belirlenebileceğini ifade etmişlerdir.

Shaw vd. (1995), kromozom anormallikleri üzerindeki mikronükleus denemeleri gibi bir çok çalışmanın, organik maddelerin ve ağır metallerin genotoksik etkisini ortaya çıkardığını göstermişlerdir.

Koppen ve Verschaeve (1996), kimyasalların mutajenik etkisini *Vicia faba* 'da incelemişlerdir. Çimlenmekte olan tohumları alıp, metilmetanosülfonat, etilmetanosülfonat, mitomisin C, sikloheksimid, kadmiyumklorit ve potasyum dikromat içeren sular ile muamele etmişlerdir. DNA izolasyonunu takiben comet assay (tek hücre jel elektroforezi tekniği) ile bu maddelerin mutajenik etkilerini ortaya koyabilmişlerdir.

Savva (1996), PCR koşullarının optimizasyonundan sonra türe özgü primerler kullanılarak temiz DNA bandı profillerini bir çok organizmada başarı ile uygulamış, genotoksik etkilerin varlığını göstermiştir. RAPD tekniğini kullanarak bu tekniğin etkinliğini, genotoksik hasar tespitinde sağladığı verileri değerlendirmiştir. Ekotoksikolojide RAPD tekniğinin kullanımının iyi sonuçlar ortaya çıkardığını ifade etmiştir.

Camatini vd. (1998), kromozom anormallikleri üzerindeki mikronükleus denemeleri gibi bir çok çalışma sonucunda, organik maddelerin ve ağır metallerin genotoksik etkisini ortaya çıkarmışlardır.

Conte vd. (1998), DNA'daki hasarları belirlemek için son yıllarda gelişen moleküler biyolojik tekniklerin kullanılmakta olduğunu ifade etmişlerdir.

Fiskesjo (1997), kimyasalların mutajenik etkisini *Allium cepa* 'da incelemiştir. *Allium cepa* kök ucu testi ile soğan kök ucu hücrelerinde ağır metallerin etkisini araştırmıştır. Ağır metallerin etkilerinden dolayı kök ucundaki hücrelerde kromozom mutasyonlarını mikroskop yardımıyla fotoğraflayabilmiştir. Soğan kök uçlarındaki gelişmede de bazı gerilemeler olduğunu belirleyen araştırmacı ağır metallerin hem mitoz sürecinde ve gelişmede olumsuz etkilerinin bulunduğunu hem de genotoksik etki ortaya çıkardığını ifade etmiştir.

Grand (1998), çalışmalarında halojenlenmiş alifatik hidrokarbonlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve ağır metaller gibi birçok hava kirleticisi etkilerini göstermiştir.

Savva (1998), RAPD ve AFLP gibi moleküler tekniklerin, kirliliğin neden olduğu hasarların ve mutasyonların belirlenmesinde kullanılabileceğini ifade etmiştir. Estradiol, benzopyrene, radionüklid ve mitomisin gibi kirleticilerin genotoksik etkilerini RAPD ve AFLP teknikleriyle ortaya çıkarmış, DNA mutasyonlarının tespitinde bu analiz tekniklerinin kullanımının olumlu sonuçlar ortaya çıkardığını ifade etmiştir.

Steinkellner vd. (1998), kromozom anormallikleri üzerindeki mikronükleus denemeleri çalışmalarını analiz etmiş ve onlar da genotoksik etkiyi ortaya çıkarmada önemlerini vurgulamışlardır.

Atienzar vd. (1999), gerçekleştirdiği çalışmada toksikolojik çalışmaların, dokularda biyobirikimin tespitinde kullanılan en önemli kanıtlar olduğu ifade edilmiştir. Benzo[a]pyrene maddesinin genotoksik etkisi bu araştırmada RAPD tekniği ile çalışılmıştır. RAPD analizi sonuçlarına göre DNA fragmentlerinin ortadan kaybolabileceği veya yeni fragmentler oluşabileceği kontrol DNA bandı ile karşılaştırması yapılarak belirlenmiştir.

Becerril vd. (1999), yaptıkları çalışmada çevresel kirlilik oluşturan toksiklerin, ya DNA 'ya direk mutajenik etki yarattıklarını, ya da canlının üremesine ve hayatta kalmasına etki ettiklerini ortaya çıkarmışlardır.

Fomin vd. (1999), kimyasalların mutajenik etkisini *Tradescantia virginiana*' da incelemişlerdir.

Garty vd. (1977), Frutikoz ve folioz liken türlerinin ağır metallerin biyomonitörü olabileceğini tespit etmişler ve bu türlerin epifitik türler olduğunu ifade etmişlerdir.

Grayson vd. (1999), PCR koşullarının optimizasyonundan sonra türe özgü primerler kullanılarak temiz DNA bandı profillerini bir çok organizmada başarı ile elde etmiş ve genotoksik etkilerin varlığı göstermişlerdir.

Belfiore ve Anderson (2001), doğal populasyonların genetik yapısının çevresel toksiklerin yarattığı kirlilikten etkilenmekte olduğunu ifade etmişlerdir. Kontaminantlardan etkilenmiş populasyonların değerlendirilmesi için genetik tekniklerin kullanıldığı yaklaşımları önermişlerdir.

Csintalan vd. (2001), dokuz ciğer otu ve bir liken türünde uzun süreli yüksek UV-B radyasyonunun klorofil floresans parametrelerini araştırmışlardır. Bu çalışmada ciğer otu türlerinde artan UV-B radyasyonuna bağlı olarak bitki toleransının da arttığı ve incelenen türlerde yüksek derecede UV toleransı ile birlikte kuraklık toleransının da arttığı saptanmıştır.

Garty (2001), fotosentez sürecindeki fotosistem II sistemine dahil elektron transferindeki potansiyel quantum kazanımının sekteye uğramasının, kimyasal kontaminasyonun ve UV-B radyasyonunun sinerjistik etkileriyle birlikte,  $F_v/F_m$  oranında önemli bir düşüşe neden olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada kontamine bölgelerdeki strese bağlı olarak etanolün çok miktarda üretildiğinin bilinmesine karşın, zenobiyotiklerin UV-B radyasyonu ile birlikte antagonistik bir etki göstermesi sonucunda etilen üretim sisteminde bozulmaya neden olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışmadaki bulgular, talluslardaki etilen üretiminin aynı anda kirli hava ve UV-B radyasyonu gibi çeşitli stres koşullarına maruz kalınması halinde azaldığını destekler niteliktedir. Egsoz gazları (vehicular) ve endüstriyel kontaminasyonlar gibi stres faktörlerine bağlı olarak likenlerde etilen üretiminin arttığı bilinmektedir. Yol kenarlarına yerleştirilen *Ramalina lacera* transplantlarının Pb, Zn ve Cu gibi ağır metallere kirlenmesi sonucunda temiz havalı bölgelerde bulunan likenlere kıyasla daha yüksek düzeylerde etilen ürettiği saptanmıştır. *R. lacera*'nın dikkate değer miktarlarda bu gibi ağır metalleri biriktirebildiği bulunmuştur. Bu bulguysa bu likenin çevresel bir sensör gibi ağır metal akümülyasyonunda rol alabileceğini göstermektedir. Test edilen üç fizyolojik parametreye göre, hava kirliliğine ve UV-B radyasyonuna en duyarlı

parametrenin liken talluslarının hücre membranlarının içindeki elektrik iletkenliği olduğu anlaşılırken, PSII sistemindeki potansiyel kuantum kazanımını ifade eden  $F_v/F_m$  oranının daha az, etilen üretim parametresinin ise en az duyarlı parametre olduğu saptanmıştır.

Levizou ve Manetas (2001), mevsimsel yaprak döken kurakçıl Akdeniz *Phomis fruticosa* L. çalı bitkisinde yapay yaralamanın ve ilave UV-B radyasyonunun yaprak fenolik bileşenleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan fideler, UV-B radyasyonu ihtiva eden ve etmeyen çevrelerde (biyolojik olarak %15'lik ozon incelmesine eşdeğer) yapay yaralama işleminden önce 7 ay süresince geliştirilmiştir. Beklenmedik şekilde ilave UV-B radyasyonunun yaprak fenolik bileşenlerinin üretimini baskıladığı görülmüştür. Bu deneyi takiben yaralama işlemi yaprak disklerinin uzaklaştırılmasıyla yapılmış olup, bir grup bitki de zedeleme işlemine tabi tutulmayıp kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Zedelemenin yaralı yapraklarda fenolik bileşenlerin üretimini arttırdığı ancak; bu artışın ilave UV-B radyasyonunun etkisiyle çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Buna ilave olarak zedelemenin dokunulmamış yapraklara kıyasla fenolik madde üretimine yönelik pozitif bir etki yarattığı fakat; bu etkinin ilave UV-B radyasyonu ile çok daha fazla olduğu belirlenmiştir. UV-B radyasyonun, zedelemenin ve bu iki faktörün kombinasyonunun *Phlomis fruticosa* bitkisinin kimyasal savunma potansiyelini arttırdığına yönelik sonuca varılmıştır. Son olarak da saha koşulları altında herbivor saldırılarına bağlı olarak artan fenolik bileşenlerin güçlü UV-B radyasyonuna karşı ilave bir koruyucu katkı sağlayabileceği anlaşılmıştır.

Lud vd. (2001), *Deschampsia antarctica* ve *Turgidosculum complicatulum* liken türlerinde uzun süren deney koşulları altında değişen UV-B radyasyon düzeylerinin doğal vejetasyonun fotosentetik yanıtları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu iki liken türünde değişen UV-B radyasyon ve sıcaklık düzeylerine bağlı olarak maksimum fotosistem II ( $F_v/F_m$ ) ve efektif fotosistem II ( $\Delta F/F_m$ ) üzerinde herhangi etkisi olduğuna yönelik kanıt bulunamamıştır. *D. antarctica* türünde azalan UV-B radyasyon düzeyinin klorofil, karotenoid ve metanolde çözünebilen UV absorblayıcı bileşenlerin içeriklerini etkilememiştir. Bu bölgede mevcut UV-B radyasyon düzeylerinin



mevsimler boyunca bu türlerin fotosentetik performansları üzerinde doğrudan bir etkisi olmadığı görülmüştür.

Theodorakis vd. (2001), çevresel kirlilik oluşturan toksiklerin, ya DNA'ya direk mutajenik etki yaratmakta, ya da canlının üremesine ve hayatta kalmasına etki etmekte olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada, *Dipodomys merriami* seçilmiş, bu canlının radyonüklid bir kontaminasyondan nasıl etkilendiği, DNA'sında meydana gelen hasarlar RAPD tekniği ile belirlemiştir. DNA bantlarında kayıplar tespit edilmesinin yanında popülasyonda göç, hayati fonksiyonlarda da değişiklikler saptamışlardır.

Citterio vd. (2002), kimyasalların mutajenik etkisini *Trifolium repens* 'da incelemiştir. Çelik fabrikasına yakın bölgelerde ağır metaller tarafından kirlenmiş toprağın *Trifolium repens* üzerindeki genotoksik etkisini AFLP tekniğini kullanılarak belirlemiştir. DNA yapısında bant kayıpları gibi hasarlar tespit ettiklerini ifade etmişlerdir.

Hall vd. (2002), *Cladonia arbuscula* ssp. *mitis* likeninde, UV-B radyasyonunun kısa ve uzun dönemli etkileri sonucunda fenolik bileşenler gibi sekonder metabolitlerin medullanın dış katmalarında yüksek düzeyde birikimine neden olduğunu ve bu birikimin UV radyasyonunun tallusa geçişini azalttığını saptayıp, likenlerde aromatik bileşenlerin UV radyasyonuna karşı koruyucu bir rol üstlendiğine yönelik genel kabulü destekleyecek nitelikte bulgular ortaya koymuşlardır.

Rancan vd. (2002), boldo ağacı (*Peumus boldus* Molina) yapraklarından elde edilen boldininin ve Şili (Chilean) likeninden elde edilen, önemli alkaloid türevleri olan usnic asit, 1-chloropannarine, epiphorelik asit I ve II, calisin gibi bileşenlerin ışığı filtreleme gücü olduğunu saptamışlardır ve bu bileşenlerin UV koruyucu potansiyellerini güneş koruyucu özelliği bulunan Nivea sun Spray LSF 5, octylmethoxycinnamate (OMC) ve 4-tert.-butyl-49-methoxy dibenzoylmethane (BM-DBM) gibi ticari ürünleri referans olarak karşılaştırmışlardır.

Rozema vd. (2002), denizel, limnik ve karasal ekosistemlere dahil bitkilerde, evrimsel gelişmişlik düzeylerine göre de siyanobakteriler, tek hücreli algler, ilkel çok hücreli

algler, charopycean algler, likenler, karayosunları ve yüksek yapılı bitkilerde bulunabilen UV-B görüntülenmesinde rol alan çok çeşitli pigmentlerin fonksiyonunu analiz edip karşılaştırmışlardır. UVAQTER (The role of UV radiation in Aquatic ve Terrestrial ecosystems) araştırması kapsamında, UV-B radyasyonunun önemli bir çevresel stres ve düzenleyici faktör olduğu belirlenmiştir. Test edilen birçok bitki türü ve grubunun % 15'lik stratosferik ozon azalmasını yansıtan koşullara çok iyi adapte olabildiği ve bitki yaşamının sudan karaya evrimsel sürecinin, dünya atmosferinin evrimi ile ve stratosferik ozon tabakasının gelişmesiyle eş zamanlı olduğu anlaşılmıştır. Bu araştırma aynı zamanda UV koruyucu ajanların indüksiyonu ve fonksiyonları hakkında geniş bir bakış açısı sunmaktadır. Bu çalışmada UVAQTER projesi kapsamında yapılan çalışmalardan bir kısmının tartışılmasının yanısıra artan UV-B radyasyonunun potansiyel zararlı etkilerinin anlaşılmasına yönelik örnekler sunulmaktadır. Bu durum, bazı yaşam formlarında sekteye uğrayan fotosentez sistemlerinin ve zararlı yan ürünlerin varlıklarıyla birlikte DNA dimerizasyonlarının saptanması gibi bulgularla açıklanabilmektedir. İlave olarak çeşitli fizyolojik ve çevresel fonksiyonları olan MAA'lar, flavonoidler ve diğer fenolik bileşenlerin solar UV-B radyasyonu ile indüklenebildiği saptanmasına karşın çeşitli bitki gruplarında UV radyasyonunu absorblayan bileşenlerin hepsinin UV koruyucu olarak kullanılamayacağı da anlaşılmıştır.

Labra vd. (2003), biyoindikatör olarak birçok bitki türünün kullanıldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmalarında araştırmacılar, çevresel stresin ortaya çıkardığı DNA hasarlarını moleküler markerlar kullanarak belirlemeye başlamışlardır. Çimlenme üzerinde bile kullandıkları genotoksik maddelerin etkisini gözlemlemişlerdir. Çevresel kirliliğin genotoksik etkisinin belirlenmesinde en etkili metodlardan birinin AFLP olduğunu ifade etmişlerdir.

Garty vd. (2004), laboratuvar koşulları altında aynı cinse dahil iki liken türünün stres etilen üretimleri üzerinde NaHSO<sub>3</sub> solüyonuyla kombine UV-B radyasyonunun etkilerini değerlendirmişlerdir. *Ramalina lacera*, epifitik bir Akdeniz likeni, epilitik bir çöl likeni olan *R. maciformis* türüne kıyasla NaHSO<sub>3</sub> ile kombine UV-B radyasyonunun etkisine daha duyarlı bulunmuştur. FeCl<sub>2</sub> solüyonuyla birlikte stres etilen miktarlarının

ölçülmesiyle belirlenen yüksek sıcaklıkların etkisi, *R. maciformis*'in çöl koşullarına adaptasyonunu vurgulamaktadır ancak; *R. lacera*'nın özellikle kimyasal kontaminasyon durumunda ekstrem sıcaklıklara çok daha duyarlı olduğu görülmüştür. *R. maciformis*'in UV-B'ye adaptasyonu liken bileşenlerinin fotoreaktif yetileriyle ilişkili olduğu görülmektedir. Bu çalışma, aynı cinse dahil iki liken türünün farklı stress kombinasyonlarına (UV-B ve bisülfid; yüksek sıcaklık ve FeCl<sub>2</sub>) verdiği farklı yanıtları yansıtmaktadır. Bulgular, *R. lacera*'nın *R. maciformis* kıyasla UV-B radyasyonuna karşı rol alan fotoreaktif bileşenlerin azlığından ötürü daha büyük bir tehlike altında olduğunu göstermektedir. Özetle, *R. lacera*'nın yoğun hava kirliliğinde ve ciddi UV-B radyasyonu artışında *R. maciformis* 'e göre daha az tehlikede olduğu saptanmıştır.

Glascenic vd. (2004), Slovenya'da yaptıkları çalışmalarda ozonun kök ucu hücrelerindeki kromozomal anormallikler ve mitoz aktivitesi üzerindeki etkilerini farklı kirliliğe sahip bölgelerde göstermişlerdir. Yaptıkları çalışmalarda göre nisan–mayıs aylarındaki ozon etkisi ekim - kasım ayındakinden daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Nuñez-Olivera vd. (2004), laboratuvar koşulları altında dağ kaynağından elde ettikleri iki bryophyte türünde farklı sıcaklık değerlerinin (2 °C vs. 10 °C) yapay olarak arttırılmış UV-B radyasyonu altında 82 günlük inkübasyon sonunda fizyolojik yanıtlar üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu iki tür, düşük sıcaklıklarda ve yüksek düzeyde UV-B radyasyonu bulunduran ortamlarda görülebilmektedir ve bu iki koşulun kombinasyonunun UV-B radyasyonunun yan etkilerini daha da arttıracığına inanılmaktadır. Bir karayosunu olan *Fontinalis antipyretica* 'da UV-B uygulanmış örneklerde klorofil ve karotenoid içeriklerindeki düşüşün yanında klorofil *a/b* ve klorofil/phaeopigment oranlarında ve klorofil *a*'nın Fv/Fm, PS2 gibi parametrelerinde, elektron taşıma oranında (ETR<sub>max</sub>) ve gelişimde de ciddi düşüşler görülmüştür. Bir ciğer otu olan *Jungermannia cordifolia*'da ise gelişme dışında birçok fizyolojik parametrede düşüş görülmüştür. Bundan ötürü bu türün diğer türe kıyasla, kısmen UV-B absorblayan bileşenlerin birikebilmesine bağlı olarak, UV-B radyasyonuna daha toleranslı olduğu görülmektedir. Aynı zamanda sıcaklığın UV-B radyasyonunun etkileri üzerindeki etkisinin türe bağlı olarak değişebildiği saptanmıştır. Doğal koşullar altında,

görece daha sıcak sularda bryophyte türlerinin yüksek UV-B radyasyon düzeylerine daha toleranslı olacağı ve bu olgunun küresel ısınmaya ve artan UV-B konsantrasyonlarına yönelik değişimlerin tahminine ışık tutabileceği anlaşılmıştır.

Bjerke vd. (2005), usnik asit üreten ve kuzey boreal bölgelerde (Abisko, northern Sweden) bulunan *Flavocetraria nivalis* ve *Nephroma arcticum* liken türlerinde yaptıkları çalışmalarda UV-B absorblayan fenolik bileşen konsantrasyonlarının ortamdaki UV-B dozuna yönelik bir ilişkiyi yansıtmayacağını ve bu likenlerin UV-B radyasyon düzeyleri için biyoindikatör olarak kullanılamayacaklarını göstermişlerdir. Sonuç olarak güçlü UV-B radyasyonunun PS II sisteminin etkisini düşük düzeyde azalttığı hem gölgeye adapte hem de ışığa toleranslı likenlerde gösterilmiştir fakat; kurak sezonlarda gelişen likenlerin artan UV-B radyasyonuna bağlı olarak UV absorblayan fenolik bileşenleri daha fazla akümüle etmediği ortaya konmuştur. Solar radyasyonun mevsimsel değişimlerinde, sıcaklık ve yağışın boreal ve arktik likenlerin ekofizyolojileri üzerinde, güçlü UV-B radyasyonundan farklı olarak daha fazla etkili olabileceği saptanmıştır ancak; UV-B radyasyonunun kısa vadedeki etkilerinin uzun vadede azot fiksasyonunda olduğu gibi kümülatif etkiler doğurabildiği de bilinen bir durumdur.

Liu vd. (2005), DNA'da bantların yok olmasının, ya da bant yoğunluğunda oluşan değişimlerin, oligonükleotid bağlanma bölgelerinde olası genomik yeniden yapılanmalara bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Arpa bitkisinin tohumlarında kadmiyum kirliliğini RAPD analizi ile tespit etmeye çalışan araştırmacılar, doza bağlı olarak bile DNA'daki değişimin değiştiğini ifade etmişlerdir.

Piraino vd. (2006), kirliliğin belirlenmesinde en iyi yolun DNA'da ortaya çıkmış genotoksik etkinin belirlenmesi olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar hava kalitesinin biyomonitörünü *Trifolium repens L.* olarak seçmiş, çeşitli moleküler markırlar kullanarak hava kirliliğinin genotoksik etkisini AFLP tekniği ile çalışmışlardır. Nitrit, karbonmonoksit, ozon gibi kirleticilerin DNA'da bant kayıplarına neden olduğunu ifade etmişlerdir.

Solheim vd. (2006) derleme çalışmasında, güncel küresel iklim modellerinin önümüzdeki on yıl içerisinde ozon tabakasının özellikle arktik bölgelerde %50'den fazla oranda incelmeye bağlı olarak artan UV-B radyasyonunun yeryüzüne daha fazla ulaşmasının sonucunda yıllık ekosisteme giren azot miktarının siyanobakteriler tarafından % 80 gibi bir düzeyde, bitkiler tarafından %20 gibi bir düzeyde artmasını öngören görüşlerin aksine arktik bölgelerde karayosunlarıyla ilişkili siyanobakterilerin azot fiksasyonunda önümüzdeki altı yıl içerisinde artan UV-B radyasyon düzeylerine bağlı olarak azalma olabileceğini *Peltigera aphthosa* ve *P. didactyla* likenlerinin model olarak kullanıldığı çalışmalara dayanarak ifade etmişlerdir.

Liu vd. (2007), ağır metaller en önemli hava kirleticileri ve genotoksik ajanlardır. Bu çalışmada *Orzya sativa* Cd ile muamele edilmiş ve DNA hasarları değerlendirilmiştir. RAPD analizi sonuçlarına göre kadmiyum kirliliğinin DNA'da ciddi etkileri olduğunu ifade etmişlerdir. Kontrol DNA ile karşılaştırmalar yaptıklarında bazı bantların ortadan kaybolduğunu, bazılarında değişiklikler meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Shukla ve Upreti (2007) çalışmalarında, Garhwal Himlayalarında dört farklı bölgeden topladıkları *Pyxine subcinerea* Stirton likeninde Fe, Ni, Cu, Cr, Zn ve Pb gibi ağır metal kirleticilerinin klorofil a, klorofil b, toplam klorofil, karotenoid ve protein içeriklerinde değişimlere neden olduğunu ve bu değişimlerin örneklerin toplandığı bölgelere göre farklılık göstermesi sonucunda bu türün Himalaya biyosferinde çölleşme ve şehirleşmeye bağlı olarak değişen hava kalitesinin analizi için biyomonitör bir tür olarak kullanılabilirliğini göstermişlerdir. Sonuçlar aynı zamanda metalik kirleticiler ve bu türün bazı fizyolojik parametreleri arasında net bir ilişki olduğunu ve bu ilişkinin uzun vadede bu türün metabolik süreçleri üzerinde zararlı etkileri olacağını göstermiştir. Yüksek konsantrasyonlarda metalik kirleticilerin özellikle klorofil ve protein içeriklerinde yarattığı değişimler baz alınarak bu türün geniş alanda hava kirliliğinin göstergesi olarak kullanılabilirliği de anlaşılmıştır.

Larsson vd. (2009), çalışmalarında çeşitli likenlerde kısa dönemli laboratuvar koşulları altında biyokütle artışı üzerindeki etkileri araştırmayı amaçlamışlardır. Bunu yapabilmek için de solar radyasyonun etkilerini baskılayan kortikal bileşenlerin

araştırılmasıyla birlikte liken performansı üzerinde etkili olabilen UV-B ve sıcaklık parametreleri de çalışılmıştır. Çalışmada deniz kenarındaki kayalıklarda görülebilen bir liken türü olan *Xanthoria aureola* ve yaşlı ormanların karakteristik likenlerinden biri olan *Lobaria pulmonaria* kullanılmıştır. Sonuç olarak, laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen kısa dönemli deneylerde liken gelişim potansiyelinin stres koşulları altında çeşitli yanıtların anlamlı değerlendirilebilmesinde yeterli olduğu anlaşılmıştır. Aynı zamanda UV-B'nin pigment sentezini güçlü bir şekilde etkilediği fakat; pigment üretimi bakımından yetersiz liken talluslarında bu etki net bir şekilde saptanamamıştır.

Aras vd. (2010), Sivas ili civarında bulunan Çat Ormanlarından toplanmış, Kayseri ilinde belirlenmiş 12 kirli bölgeye torbalama tekniği kullanılarak maruz bırakılan *P. furfuracea* liken örneği üzerine incelemelerde bulunmuşlardır. Örneklere ait DNA'larda oluşabilecek muhtemel değişiklikler RAPD tekniği ile değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile Kayseri ili yöresindeki kirlilik oranlarının, çalışılan liken türünün metal absorblama kapasitesinin incelenmesinin yanısıra, çeşitli kirlilik etkenlerinin genotoksik etkilerinin iyi bir indiktor olduğu bilinen *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf liken türünde gösterilmiştir. Likenlerin genotoksik ajan olarak kullanıldığı bu çalışma Prof. Dr. Sümer ARAS tarafından Ankara Üniversitesi Bitki Moleküler Biyoloji laboratuvarında gerçekleştirilen Dünya'da ve ülkemizde yapılan ilk çalışmadır.

Dimitrova vd. (2010), farklı dozlarda görünür ışık, UV-A ve her ikisinin kombinasyonundan oluşan radyasyonunun antarktik bölgeden izole edilen *Sporobomyces salmonicolor* AL<sub>1</sub>, *Cryptococcus albidus* AS<sub>55</sub>, *Cryptococcus laurentii* AS<sub>56</sub> ve *C. Laurentii* AS<sub>58</sub> türlerinde Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) ve  $\beta$ -karoten sentezi ve biyokütle kazanımı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bulgular, antarktik maya türlerinde artan UV-A ve görünür ışık radyasyonunun CoQ<sub>10</sub> ve  $\beta$ -karoten biyosentezini arttırdığına yöneliktir ve düşük dozdaki UV-A radyasyonunun dört türde de gelişmeyi inhibe ettiği saptanmıştır. Bu çalışma, CoQ<sub>10</sub>'nun *S. salmonicolor* biyokütlesinde saptanmasına ve UV-A ve görünür ışık radyasyonlarının bu türde CoQ<sub>10</sub> sentezi üzerindeki etkilerinin anlaşılmasına yönelik ilk rapordur. Bu türün biyokütlesinde CoQ<sub>10</sub> ve  $\beta$ -karoten varlıklarına rastlanması ve bu bileşenlerin artan radyasyonla birlikte sentezlerinin

artması, bu türün izolasyonuna ve tıbbi, kozmetik, zirai uygulamalarda kullanılabilmesine yönelik çeşitli olanaklar sunmaktadır.

Aras vd. (2010) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, çevresel genotoksosite değerlendirmeleri için *Pseudevernia furfuracea* L. Liken örneğinin uygulanabilirliğini ve uygunluğunu araştırmışlardır. *P. furfuracea* liken türleri 10 farklı Pinus türlerinden her 5 kilometrede Karabük ilinde yer alan Yenice Ormanlarından alınmıştır. Likenlerde ağır metal birikiminin Demir-çelik fabrikası gibi kirlilik kaynakları, yollar ve tren yolları, endüstri ve ağır trafikte olan etkileri bilinmektedir. Çeşitli kirlilik alanlarında maruz kalan *P. furfuracea* örneklerindeki DNA değişimleri RAPD yöntemiyle analiz edilmiştir. 25 farklı primer kullanılmıştır ve 10 tanesi tekrar üretilebilir bantlardır. Bu çalışma genotoksitenin değerlendirilmesi için liken örneklerinin uygunluğunu göstermiştir ve çelik fabrikasının etrafında potansiyel genotoksik ajanların seviyeleri hakkında bilgi sağlamaktadır.

Körpe-Aksoy ve Aras (2010) yaptıkları çalışmada, *Solanum melongena* L. tohumlarına farklı konsantrasyonlarda  $Cu^{+2}$  çözeltisi uygulamışlardır. Kök uzunluğu, kuru ağırlık değişimi, toplam protein içeriği  $Cu^{+2}$  çözeltisi uygulandıktan sonra ve öncesinde karşılaştırılmıştır. Bunlara ilaveten RAPD PCR tekniği uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda farklı  $Cu^{+2}$  çözeltisi uygulandığında *Solanum melongena* bitkisinde kök uzunluğu, kuru ağırlık değişimi, toplam protein içeriğinde ve RAPD PCR sonuçlarında açıkça farklar gözlenmiştir (Körpe-Aksoy ve Aras, 2010).

Aras vd. (2012), temiz bölgeden toplanan *P. furfuracea* liken türüne laboratuvar şartlarında ağır metal çözeltisine muamele etmişlerdir. 30, 60, 120 ppm'lik  $Pb^{+2}$  çözeltisine 18, 24 ve 48 saat aralığında tallusa muamele edilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre 24 ve 48 saat sonra uygulanan  $Pb^{+2}$  çözeltisinden sonra yapılan DNA izolasyonu ve PCR aşamalarından sonra polimorfizm yüksek oranda tespit edilmiştir.

Cansaran-Duman ve arkadaşları (2011) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise Karabük Yenice Ormanlarından toplanan *Evernia prunastri* liken türü kullanılarak ağır metal birikimi atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür. Ayrıca ağır metal birikiminin DNA üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucuna göre

temiz bölgeden Karabük Demir Çelik fabrikasına kadar olan alvean alınan *Evernia prunastri* liken örneklerinden en fazla genotoksik etki fabrikaya en yakın alınan istasyonlardan oluştuğu gözlemlenmiştir.

Cansaran-Duman vd. (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Ankara (Türkiye) ilinde yer alan kirliliğe maruz kalmış değişik alanlarda *Pseudevernia furfuracea* liken örneğinin ağır metal içeriğinin tespiti amaçlanmıştır. *P. furfuracea* liken örneği Karabük ilinde yer alan Yenice Ormanlarından toplanmıştır ve Ankara'da farklı alanlara çanta tekniği kullanılarak yerleştirilmiştir. *P. furfuracea* liken türünün ağır metal içeriği İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS) kullanılarak analiz edilmiştir. Buna ilaveten, birçok çevre kirleticisinin etkisi ile oluşmuş genetik farklılaşmaları ortaya çıkarmak için kirliliğe maruz kalmış liken örneklerinin DNA'sındaki değişimler Rastgele Çoğaltılmış Parça Polimorfizm (RAPD) tekniği kullanılarak tanımlanmıştır. Genomik Kalıp Stabilitesi (GTS) RAPD profillerindeki değişikliklerden hesaplanmıştır ve *P. furfuracea* liken örneğindeki element içeriği ile karşılaştırılmıştır. Kimyasal analizlerden elde edilen sonuçlara göre *P. furfuracea* tüm ağır metalleri akümüle edebilen bir türdür. Kızılay ve Sıhhiye'de üç aylık periyot sonrasında 47,003  $\mu\text{gg}^{-1}$ , altı aylık birikim sonrası 52,800  $\mu\text{gg}^{-1}$  değeri ile en yüksek Pb değeri olarak gözlemlenmiştir, ki bu değerler 2,270  $\mu\text{gg}^{-1}$  olan kontrol bölgesi değerinden oldukça yüksektir. Bu yüksek sonuçlar o bölgelerdeki yoğun insan aktivitesi, yoğun araç trafiği, aşırı kalabalık, diğer kirleticilerden ( $\text{SO}_2$  ve  $\text{NH}_3$ ) kaynaklanması muhtemeldir. RAPD analizi sonuçlarında ekstra görünen ve kaybolan band sayısı altı aylık periyotda kirleticilere maruz kalma sonrası Dışkapı'da ve üç aylık kirleticilere maruz kalma sonrasında Mamak bölgesinden toplanan örneklerde en yüksek çıkmıştır. İz element birikimi ve DNA farklılaşması altı aylık kirleticilere maruz kalma sonrasındaki örneklerde en fazla belirlenmiştir.



## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1 *Hypogymnia* Cinsi

*Hypogymnia*'lar, uzun süre çok fazla benzer özellik taşıdığı *Parmeliceae* familyasının üyesi olarak kabul edilmiştir. 1960 yılında Nylander tarafından rizoidlerinin bulunmayışı ile *Parmelia* cinsinden ayrılmış (Nylander 1896) ve Poelt tarafından *Hypogymniaceae* familyası olarak tanımlanmıştır (Poelt 1973). Sonrasında *Hypogymnia* cinsinde tallusun şişkin ve iç kısmını boş olduğu göz önüne alınarak tallusları dolu bireyleri, Goward tarafından *Brodoa* cinsi olarak ayrı bir familya altında toplanmıştır (Zeybek vd. 1993a). Bitter *Hypogymnia* türlerinin sınıflandırmasında soralia morfolojisinin iyi bir karakter olduğunu savunmuştur (Bitter 1901). Modern liken sistematğinde *Hypogymnia* cinsi, *Hypogymniaceae* familyası, *Lecanorales* ordosu altındadır (Zeybek vd. 1993a).

Sonraki dönemlerde bu cins üzerine Krog ve Elix'in çalışmaları olmuştur. Krog Artrik ve Boreal Kuzey Yarımküredeki türlere yoğunlaşırken (Krog 1968), Elix Avusturalya ve Doğu Asya'daki bireyleriyle ilgilenmiştir (Elix 1979).

Ülkemizde ise bu cins üzerine çalışan araştırmacılar Ulvi Zeybek ve Volker John'dur. Bu araştırmacılar, Türkiye'deki *Hypogymnia* türleri üzerine yaptıkları taksonomik çalışmada türlerin morfolojik özelliklerine göre ayrımını sağlayan bir tür tayin anahtarı oluşturmuşlar ve Türkiye'deki yayılış alanlarını açıklamışlardır (Zeybek vd. 1993a). Başka bir çalışmada ise yalnızca morfolojiyle tanımlamalarının zor olduğunu söyledikleri *Hypogymnia* bireylerinin farklılıklarını kimyasal analizler yaparak ortaya koymuşlardır. Bu çalışmalarında likenlerin ikincil metabolitlerini tanımlamışlardır (Zeybek vd. 1993b).

*Hypogymnia* cinsi, içi boş şişkin loplara sahip birbirine morfolojik ve anatomik olarak oldukça benzeyen türlere sahip bir taksondur. Tallusları iyi gelişmiştir. Rizoidleri yoktur. Lobların kenarları siyah buruşuk, üst kısımları ise beyaz-beyazımsı gridir, bazı türlerinde uçları ince kahverengi veya siyah çerçvelidir. Lopların kenarları içe kıvrık

ve iç kısımları bağlantısızdır (hypo: alt, gymnia: çıplak ). Türlerine göre bassı, dudaksı, yüzeysel veya yüksük şeklinde soralleri vardır. Apotesiyum bulunan türlerinde sorallerin ender oluşu tipiktir. Tallusun anatomik yapısı heteromeriktir. Apotesiyumda gelişen askosporangiyumlar 8 spordur. Sporlar renksiz, uç kısımlarında iyod ile maviye boyanan yüksük bulunur (Zeybek vd. 1993a). Bu cinsin taşıdığı en önemli karakteristik özellikleri; Sorelia lokasyonu, kısa yan loplara varlığı veya yokluğu, lobların renklenmesi, lop çapları ve dallanma şekilleri, şişkin, topuz-boğum tipi loplara varlığı, yassı veya yassı olmayan büyüme şeklidir. Ancak bu özellikler de türlerin birbirinden ayırımında bazen yeterli olamamaktadır.

([http://www.blm.gov/or/plans/surveyvemanage/MR/Lichens/20041022/Lichens\\_346949.pdf](http://www.blm.gov/or/plans/surveyvemanage/MR/Lichens/20041022/Lichens_346949.pdf), 2004).

*Hypogymnia* cinsine ait bireyler, küçük yüzeyler üzerinde büyüebilme yeteneklerinden dolayı genç dallar ve kökler üzerinde bulunabilmektedirler. Kırlarda nemli koşullarda genellikle çalılıkların köklerinde bulunmaktadırlar. Yaygın olarak asit habitatlarında yaşarlar. Ağaçlık alanlarda hus gibi düşük pH'lı kabuklu ağaçlar ya da *Picea* gibi korniferler üzerinde yetişmektedirler ([http://www-biol.paisley.ac.uk/bioref/Fungi\\_lichens/Hypogymnia\\_physodes.html](http://www-biol.paisley.ac.uk/bioref/Fungi_lichens/Hypogymnia_physodes.html), 2004). Asidik koşullara dayanıklılığından dolayı sülfürdioksit kirliliğinin yüksek seviyelerinde yaşayabilirler ve bu özellikleri sayesinde biyoindikatör olarak da kullanılmaktadırlar. Ayrıca Fransa'da, Kuzey Avrupa ve Güney Afrika meselerinden elde edilen *Hypogymnia* cinsi liken ekstraktları parfüm endüstrisinde kullanılmaktadır.

## **2.2 *Hypogymnia Physodes***

Sinonimi: *Parmelia physodes* (L.) Ach.

Talluslarının morfolojik yapısı ortama göre değişkendir, gri renklidir, parlak değildir. Lop uçları üst tarafa dönük ve uçlarında tipik dudaksı soraller vardır. Loplara alt taraflarında yuvarlak korteks açıklıkları yoktur. Yüksek dağ formlarında soraller ender görülür. Apotesiyumlara ender rastlanır. *Hypogymnia* cinsine ait bireyler, küçük yüzeyler üzerinde büyüebilme yeteneklerinden dolayı genç dallar ve kökler üzerinde bulunabilmektedirler. Kırlarda nemli koşullarda genellikle çalılıkların köklerinde bulunmaktadırlar. Yaygın olarak asit habitatlarında yaşarlar. Ağaçlık alanlarda huş gibi

düşük pH'lı kabuklu ağaçlar ya da *Picea* gibi koniferler üzerinde yetişmektedirler. Asidik koşullara dayanıklılığından dolayı sülfürdioksit gibi kirliliğin yüksek seviyelerinde yaşayabilirler ve bu özellikleri sayesinde biyoindikatör olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca Fransa'da, Kuzey Avrupa'da ve Güney Afrika meşelerinde elde edilen *Hypogymnia* cinsi liken maddeleri parfüm endüstrisinde kullanılmaktadır. Akdeniz bölgesinden arktik bölgeye kadar dağlarda ve 3000 metreden fazla yüksekliklerde ağaç kabukları üzerinde, pH'sı düşük taşlar üzerinde yetişirler. Toprakta yetişen dağ formlarında çoğunlukla soraller oluşmaz. Ülkemizde Zonguldak, Bolu, Kızılcahamam, Trabzon (Maçka, Uzungöl, Sümela), Artvin, İzmir, Aydın, Hatay illerinde dağılım göstermektedir.

### 2.3 UV Etkisi

Bitkiler sesil doğaları gereği UV radyasyonuna karşı türler arası ve aynı türün çeşitleri arasında farklılık gösterebilen duyarlılık potansiyeline sahiptirler. Bu çeşitlilik çoğu zaman bitki hücrelerinde stres altında gelişen moleküler cevaplara bağlı olarak gerçekleşmektedir. UV radyasyonunu içeren ışık, bitkilerde büyüme ve gelişmeyi kontrol eden en önemli çevresel faktörlerden birisidir (Jordan 1996). Ancak güneş ışığı fotosentez için gerekli dalga boyunda radyasyonu içermesinin yanı sıra UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) ve UV-C (220-280 nm) gibi kısa dalga boylarında radyasyonda içermektedir (Brosche vd. 1999). UV-B radyasyonu dünya yüzeyine ulaşan güneş ışığının en çok enerji içeren bileşenidir (Strid vd. 1990, Caldwell vd. 1998).

Son yıllarda özellikle stratosferdeki koruyucu ozon tabakasının incelmeye bağlı olarak UV-B radyasyonunun bitkiler üzerindeki etkilerinin arttığı gözlenmektedir. UV-B radyasyonuna yüksek derecede maruz kalan bitkide doku hasarları meydana gelmekle birlikte büyüme, gelişme, fotosentez, çiçeklenme, polinasyon ve transpirasyon süreçlerinde bir takım değişiklikler ortaya çıkmaktadır (Surplus vd. 1998, Jansen vd. 2001, Kliebenstein vd. 2002). Aynı zamanda protein ve nükleik asitler gibi hücresel bileşenlerin bu yüksek enerjili radyasyonu absorbe etmeleri sebebiyle DNA hasarları da oluşmaktadır. Bu hasarlar bitkilerde gün hatta saatlerce radyasyona maruz kalınması

durumunda ortaya çıkmaktadır (Bornman ve Sundby-Emmanuelsson 1995). Stres kaynaklı bu hasarların şiddeti bitki türüne ve gelişimsel sürecine, anatomik ve morfolojik karakteristiklerine, çevresel koşullara ve özellikle UV-B etki süresi ve dozuna bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

Ultraviyole radyasyon, elektromanyetik spektrumun görünür ışıktan daha kısa dalga boylu olan belli bir parçasını oluşturur. Genel olarak 3 bölümde incelenir. Bunlar sırası ile UV-A, UV-B ve UV-C bantlarıdır.

### **2.3.1 UV-A**

Dalga boyu 315–400 nm arasında olan ultraviyole radyasyondur. UV-A stratosfer tabakasını geçerek yere kadar ulaşır. Derinin daha alt kısımlarına kadar etki yaparak, öncelikle cildin koyulaşmasına neden olmaktadır. Ayrıca deri kanserinin gelişimini de artırmaktadır.

### **2.3.2 UV-B**

Dalga boyu 280–315 nm arasında olan ultraviyole radyasyondur. Atmosferdeki stratosferik ozonun konsantrasyonuna bağlı olarak değişik oranlarda yer yüzeyine ulaşır. Uzun süre maruz kalındığında tüm canlılar için zararlı etkiye sahiptir.

### **2.3.3 UV-C**

Dalga boyu 280 nm'den daha az olan ultraviyole radyasyondur. UV radyasyonun en tehlikeli kısmı olup, tamamı atmosferdeki ozon ve oksijen tarafından emilir.

Ultraviyole radyasyonun insan, hayvan ve bitkiler üzerinde olumsuz etkileri olduğundan, yaşamsal önemi vardır. Bu radyasyon cilde ve göze etki ederek; cilt kanseri veya bazı cilt hastalıklarına, gözde katarak veya göz damarlarının genişlemesine yol açarak bazı göz hastalıklarına sebep olur.

Güneş ışınımı spektrumunda yer alan ultraviyole radyasyonun canlı varlıklara uygulanması, bu canlı varlıklar üzerinde bir takım olumsuz etkilerin meydana gelmesine neden olur. Burada geçen canlı varlıklar deyimi; insan, hayvan ve bitkiyi kapsamaktadır. Ultraviyole radyasyonun biyolojik etkileri, 280-400 nm dalga boyu

aralığındaki güneş radyasyonunun mevcut spektrum içerisindeki yoğunluğuna bağlıdır. Mevcut ultraviyole radyasyonun biyolojik etkisinin tespiti ise, spektrumun anılan aralıktaki her bir dalga boyunun tekrar sayılarının bulunmasına bağlıdır. Burada radyasyon birimi  $W/m^2$ 'dir. Belli bir güneşe maruz kalma periyodu için biyolojik yönden etkili ultraviyole miktarı ( $J/m^2$ ), farklı dalga boylarındaki (200-400nm arasında) etkili radyasyon miktarlarının toplamı ile belirlenir.

### **2.3.4 Deniz canlıları üzerine etkisi**

Denizdeki planktonların UV-B ışınlarından fazla miktarda zarar görmesi sonucunda hareket kabiliyetleri, yeniden üreme kapasiteleri bozulur ve yok olurlar. UV-B baskısını yoğun olarak hisseden su ekosistemi içinde planktonların değişimi oldukça belirgindir.

Atmosferdeki ozon miktarındaki azalmayla doğru orantılı olarak yer yüzeyine ulaşan yüksek düzeydeki UV-B radyasyonu, bazı besin zincirlerinin kesilmesi dâhil pek çok tahribata yol açabilmektedir. Bunun sonucunda denizdeki planktonlar UV-B ışınlarından oldukça fazla zarar görür ve yok olurlar.  $CO_2$ 'i çözümüleme yeteneğine sahip olan planktonların azalması atmosferdeki  $CO_2$  miktarının ve dolayısıyla sera etkisinin artmasına yol açacaktır. Bu planktonlar besin zinciri içerisinde önemli yer tuttukları gibi ayrıca küresel olarak tüketilen  $CO_2$  tutarının yarıdan fazlasını da harcayarak dünya iklim dengesini sağlamaktadırlar (<http://www.epa.gov/ozone/science/effects/index.html>)

### **2.4 Klorofil İçeriği**

Metalik kirleticilere maruz kalan organizmalarda fizyolojik sürecin oldukça fazla etkilemekte olduğu bilinmektedir (Shukla ve Upreti, 2008). Ağır metaller fotosentetik işleyiş sürecinde ters reaksiyonlar verirler ve kloroplast membranının işleyişinde değişimlere, özellikle PS II ve PS I'de olmak üzere, klorofil bozulumu ve total klorofil ile klo a/b oranında azalmaya neden olmaktadır (Sheoran 1990, Bishnoi vd. 1993). Liken tallusunun oluşumunda ortaklardan algin (yaklaşık %5) daha az katkısı olması nedeniyle atmosferik ortamda az da olsa bir farklılaşmada likenin fizyolojisinde

değişimi yansıtmaktadır. Likenlerin bu özellikleri nedeniyle fotosentez sürecince protein sentezi ve ATP, klorofil içeriği ve bozulumu, net fotosentez gibi birçok fizyolojik parametrelerin ağır metaller üzerine etkisini araştırmak için oldukça fazla kullanılmışlardır (Garty vd. 1987, Boonpragob ve Nash 1991).

## **2.5 Genotoksisite Çalışmaları ve Kullanılan Markör Teknikleri**

Son yıllarda moleküler biyolojideki hızlı gelişmeler DNA'daki hasarları belirlemede yeni yöntemler bulunmasına olanak sağlamıştır (Conte vd. 1998, Savva 2000, Citterio vd. 2002). Genotoksik bir kimyasalın DNA üzerindeki etkisini belirlemek türün toleransı ile ilgilidir. Çevresel stresin meydana getirdiği hasarların, DNA markörleri kullanılarak belirleneceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Labra vd. 2003, Liu vd. 2005, Körpe-Aksoy ve Aras 2010). Yüksek bitkilerde genotoksisite ve tolerans ile ilgili az sayıda da olsa araştırmalar bulunmaktadır. Buna karşın, ağır metal kirliliğinin biyoindikatörü olmaları ile ön plana çıkmış olan likenlerin, ağır metal birikim kapasiteleri ile ilgili birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, genotoksisite indikatör kapasiteleri ile ilgili literatürde bizim tarafımızdan gerçekleştirilmiş çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (Aras vd. 2010, Cansaran-Duman vd. 2011, Aras vd. 2012). Son yıllarda genotoksik etki belirlemede kullanılan PCR temelli tekniklerden ikisi RAPD ve AFLP analizleridir. Kullanılan bu hassas moleküler markörler yardımıyla canlıda ortaya çıkmış herhangi bir genotoksik hasar kolayca tespit edilebilmektedir (Conte vd. 1998, Savva, 2000, Citterio vd. 2002, Aras vd. 2010). Bazı genotoksik ajanlar sadece genomun bütünlüğüne zarar vermez aynı zamanda DNA'nın ifadesini doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyebilir. Uzun dönemli etkileşim sonucu ise maruz bırakılan populasyonların genetik değişkenliğinde bir farklılığa sebep olabilir. Bu gerçekler genotoksisiteyi incelemek için hızlı görüntüleme testlerinin oluşturulmasını zorunlu kılar (Zhiyi ve Haowen 2004). İdeal bir test yöntemi; hızlı, ucuz, hassas, etik kurallara uygun (insancıl) olmalı doğru sonuçlar vermelidir. Ancak, tek başına hiçbir test yöntemi bu kriterlerin tümünü sağlayamamaktadır. Genotoksik ya da mutajenik etkiyi araştıran test yöntemleri; çevresel ya da mesleki olarak belirli ajanlara sürekli maruz kalan bireylerin genetik yapılarının izlenmesi ve hasar tipinin belirlenmesinde (Gomez-Arroyo vd. 2000), çevresel kaynaklardan izole edilen her çeşit yapay madde ya da

kirletici ajanın mutajenik etkilerinin araştırılmasında (Monarca vd. 2001), sentez edilerek, gıda, sağlık, kozmetik, temizlik ve sanayi gibi farklı alanlarda kullanıma sunulan ya da sunulacak olan, kimyasal bileşiklerin mutajenik/karsinojenik potansiyellerinin ya da antimutajenik / antikarsinojenik özelliklerinin tespit edilmesinde, çeşitli hastalıkların, özellikle de kanser olgularının genetik hasarla ilişkilendirilmesi çalışmalarında (Griffiths vd. 1996), son yıllarda giderek yaşamın bir parçası haline alan biyoteknolojik ürünlerin risk değerlendirmelerinin yapılmasında ve ekolojik uyarı sistemleri oluşturulmasında kullanılabilmesi bakımından önem taşımaktadır. Son yıllarda, moleküler alanda hücrenel ya da bireysel düzeyde çok sayıda biomarkör geliştirilmiştir. Böylece karşılaşılan bu problemleri çözmek için yeni bir perspektif oluşturulmuştur.

Bir organizmanın belirli bir özelliği ile bağlantılı DNA parçasına moleküler markör denir. Bu markörler DNA'nın aktif bölgelerinden (genler) veya herhangi bir genetik kodlama fonksiyonuna sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilirler ve farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyarlar. DNA belirteçleri de denilen bu markörler stabildir, tüm dokulardan elde edilebilirler, ekolojik koşullardan etkilenmezler (Williams vd. 1990). DNA markörleri, teorik olarak genomun her noktasını temsil etme yeteneğine sahiptirler ve sonsuz sayıdadırlar.

Her biri ökaryotik DNA'daki özelliklere dayalı olarak tasarlanan ve kalıtsal olarak izlenebilen moleküler markörler günümüzde bitki moleküler biyolojisi alanında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Moleküler markörlerin bitki moleküler biyolojisinde kullanıldığı alanlara örnek olarak bitki genom haritalanması, markörler yardımıyla ıslah, gen klonlama, tohum saflığı testleri ve saflık tayini verilebilir (Brown vd. 1996, Ayres vd. 1997, Röder vd.1995).

DNA markörleri kullanılarak genetik çeşitlilik araştırılabilir. Örneğin birbirine çok yakın olan kültür çeşitleri ayrılabilir ve tanımlanabilir. Türlerin taksonomik tanımlanması yapılabilir ve filogenetik akrabalıkları bulunabilir (Lowe vd. 1996).

Moleküler markörleri, DNA melezleme markörleri ve polimeraz zincir reaksiyonu kullanımına dayalı DNA çoğaltım markörleri olmak üzere iki grup altında incelenirler. Genom haritalarının hazırlanmasında DNA'nın temel alınması iki önemli avantaj sağlamaktadır. Bunlar; kalıtım bilgisinin elde edilmesinde markörler açısından sınırsız bir potansiyel kaynak olması ve haritalar üzerindeki spesifik bazı markörlerin fonksiyonel genlerin kendisi olmasından dolayı, doğrudan belirli genlere ulaşmayı temin sağlamasıdır (Yıldırım ve Kandemir 2001).

### **2.5.1 Polimeraz zincir reaksiyonuna dayanan markör teknikleri**

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun kökeni 1980'lerin başında Kaliforniya'daki "Cetus" şirketinde yapılan önemli araştırmalara dayanır. 1983 baharında Cetus çalışanlarından Karry Mullis arabasıyla San Fransisko'dan Mendonico'ya giderken aklına gelen fikir bugün dünyada kullanılan modern Polimeraz Zincir Reaksiyonu tekniğinin temelini oluşturmaktadır.

Polimeraz zincir reaksiyonu, özgül bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro bir yöntemdir (Temizkan ve Arda 2008).

Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgül, baz dizilerini tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-20 baz uzunluğunda) ile sınırlandırılan bölgenin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır. Teknik çok az miktarda DNA ile çalışmaya imkân verir.

Modern PCR, DNA'nın kendisini kopyalayabilme yeteneğinden yararlanılarak gerçekleştirilir ve istenen (hedef) bir DNA bölgesinin deney tüpünde çoğaltılması (amplifikasyon) işlemidir. Hedef DNA bölgesinin üstel olarak çoğaltılmasını sağlar. PCR ile karmaşık DNA kalıplarından spesifik DNA parçaları sentezi bir kaç saat içinde gerçekleştirilebilir. Tekniğin yaygınlaşmasının başlıca sebeplerinden biri budur.



Öncelikle, çalışma yapılan organizmadan DNA eldesi (ekstraksiyon) gerçekleştirilir. Elde edilen DNA, kalıp DNA olarak deney tüpü içinde, tampon çözeltisiyle birlikte, ısı düzenleyici (Thermo Cycler) bir cihazda, nükleotidler (dNTP), primerler (başlatıcı DNA), DNA polimeraz enzimi, magnezyum klorür ile birlikte reaksiyona girer. Reaksiyon üç aşamadan oluşmaktadır :

1. Denatürasyon : Sarmal ikili DNA zincirleri, yüksek sıcaklığın etkisiyle birbirinden ayrılır.
2. Bağlanma (Annealing) : Primerler (başlatıcı DNA'lar), tek iplikçik halindeki kalıp DNA'ya spesifik olarak bağlanır.
3. Uzama (Extension) : Taq Polimeraz primerlerin 3' ucuna nükleotidleri ekleyerek hedef DNA sekansının kopyasını üretir.

Ardı ardına tekrarlanan bu üç adımla DNA parçaları üstel olarak artar. Bu üstel artış, bir döngüde sentezlenen ürünün sonraki döngülerde kalıp görevi görmesi sebebiyledir (Welsh ve McClelland 1990, Blair ve Zadjel 1992).

PCR ile herhangi bir dizide DNA'nın çoğaltılma iki faktöre bağlıdır: Birincisi ve en önemlisi primer dizisidir. Yeteri kadar uzunlukta özgül diziler kullanılırsa bütün genomun özgül bir bölgesine ait DNA çoğaltılır. Kısa ve rastgele primer kullanılırsa rastgele DNA çoğaltılır. İkinci faktör, bağlanma basamağının gerçekleştiği sıcaklık derecesidir. 30-40 derecelerdeki sıcaklıklarda primerler birçok yere rahatça bağlanır ve birçok özgül olmayan DNA çoğaltılır. Bağlanma sıcaklığı 55-60 dereceler civarında tutulduğu zamanlarda ise primerler sadece özgül bölgelere bağlanır ve buradan çoğaltım yapılır.

DNA varyasyonlarından dolayı, değişik genotiplerde aynı primer kullanılsa da farklı DNA dizileri çoğaltılır ve bu farklılıklar DNA belirteçleri oluştururlar (Özcan vd. 2004).

### 2.5.1.1 RAPD: Rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı

RAPD tekniğinde, 6-10 nükleotid uzunluğundaki primer DNA'lar kullanılarak genom üzerinde rasgele bölgelerin DNA amplifikasyonu gerçekleştirilir. Reaksiyon şartlarının spesifik olmaması rastgele çoğaltıma izin verir. Yaygın olarak diğer PCR uygulamalarının aksine iki değil bir primer kullanılır. Ancak bu primer her iki yöndeki DNA üretimi için de kullanılır. Dolayısıyla kullanılan primerin DNA üzerinde birbirine yakın iki bölgeye yapışabildiği genom bölgelerinin amplifikasyonu yapılır. Kullanılan primerlerin boyu yaklaşık 6-10 nükleotid uzunluğundadır. Bu primerlerin tasarlanması sırasında GC/AT oranının %50 veya daha büyük olması önemlidir. Ayrıca önemli olan bir diğer faktör de bu primerlerin kalıp DNA'daki kendilerine uygun dizilere bağlanabilmelerini kolaylaştıracak düşük bağlanma sıcaklığıdır. Birçok organizmanın genomunda birbirine ters konumlu, 10 nükleotid uzunluğunda kısa primerlerin bağlanabileceği bölgeler vardır. Bu şekilde primerler, aralarında birkaç bin baz çifti uzaklıktaki farklı yerlere ters konumlu bağlanabilirler. Böylece primerlerin bağlantı bölgeleri arasındaki kısımlar çoğaltılabilir. Üretimi yapılan DNA parçaları bir agaroz jel üzerinde elektroforeze tabi tutulduğunda bazı parçaların bazı genotiplerde üretilip bazılarında üretilmediği gözlenir.

RAPD tekniğinin avantajları; çabuk sonuç vermesi, diğer tekniklere göre ucuz olması, az iş gücü gerektirmesi, az miktarda ve düşük kalitede DNA'ya ihtiyaç duyması, polimorfizm oranının yüksek olması ve otomasyona uygun olmasıdır. Tekniğin dezavantajlarından en önemlisi, güvenilirliğinin çok sınırlı olmasıdır. Farklı laboratuvarlarda, farklı araştırmacıların elinde ve hatta bir ısı döngü cihazından diğerine farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Tekniğin diğer dezavantajları arasında dominant özellikte markör vermesi ve bu yolla elde edilen markörlerin diğer haritalara transfer edilememesi gelmektedir (Yıldırım ve Kandemir 2001).

Bireyler arasındaki DNA dizilerindeki varyasyonlar sebebiyle herhangi bir bireydeki primer bağlanma yerleri kaybolabilir ya da değişebilir. Bu da bireyler arasında PCR sonucunda elde edilen ürünlerdeki farklılıklara yol açar. Bu farklılıklar ise PCR ürünlerinin jel elektroforezi yapılarak bant varlığı ya da yoluğu şeklinde ortaya konur.

Primer bağlantı bölgelerinin yok olması veya değişmesi bant ya da bantların yok olmasıyla sonuçlanır. PCR ürünlerinin elektroforeziyle elde edilen bireysel bant profillerinin benzerlikleri ya da farklılıkları (polimorfizm) moleküler sistematik çalışmalarında kullanılacak veriler oluşturur. Bunun yanı sıra veriler türlerin teşhis edilmesi, tohum saflığının belirlenmesi, adli tıp, hastalıkların tanısı gibi alanlarda da kullanılır (Arı 2004).

RAPD belirteç sistemi avantajları nedeniyle prokaryotik ve ökaryotik türler gibi pek çok farklı organizmanın genotipinin belirlenmesi, genom yapısının araştırılması, çeşitli taksonomik çalışmalar, evrimsel sorunlar, populasyon biyolojisi, bireysel, kültür ve ırk belirlenmesinde, genetik varyasyonun belirlenmesi, bağlantı haritalarının oluşturulması, özgün bir gen lokusunun belirlenmesi ve ekoloji alanlarında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Walton 1993).

### **2.5.2 CRED-RA tekniği ile metilasyon analizi**

Epigenetik ilk olarak, genlerin çevreleriyle olan ve fenotipi meydana getiren ilişkileri olarak tanımlanmıştır (Waddington, 1942). Günümüzde epigenetik; DNA nükleotid dizisinde bir değişiklik olmadan, gen ifadesindeki kalıtsal değişiklikler olarak tanımlanmaktadır.

DNA düzeyindeki epigenetik modifikasyonlar arasında DNA metilasyonu en bilinen ve en işlevsel olanıdır. Çoğu ökaryotta DNA metilasyonunun, DNA-protein etkileşimlerini değiştirerek gen ifadesini düzenlediği düşünülmektedir.

Bitki DNA'sının sitozin metilasyonu; tekrarlı transgenlerin (Matzke ve Matzke, 1995), endojenik genlerin (Bender ve Fink, 1995, Ronchi vd. 1995) ve hareketli elementlerin (Bruttneil ve Dellaporta 1994, Martienssen ve Baron 1994, Schilappi vd. 1994) epigenetik susturmalarını içermektedir. Bitkilerde tek bir lokusta metilasyon bölgelerinin çoklu kaybı ilerleyen morfolojik eksiklikleri açıklayabilmektedir.

CRED-RA “İkili Restriksiyon Enzim Kesimi-Rastgele Çoğaltma” epigenetik varyasyonların asıl nedeni olan DNA metilasyonlarının saptanması için kullanılan bir tekniktir (Cai vd. 1996). Bu teknik, farklı dokular arasında ya da farklı gelişme aşamalarında HpaII ve MspI gibi metilasyon duyarlı restriksiyon enzimlerinin kesimi neticesinde metilasyon değişimlerinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır (Prakash ve Kumar 1997, Leljak-Levanic vd. 2004). Bu teknik aynı zamanda türler ve soylar arasındaki varyasyonların tespit edilmesinde de kullanılabilir (Zhao vd. 2006). Bitki gelişimi fenotipik varyasyonların oluşturulmasına ve kalıtılabilir karakteristiklerin seçimine bağlıdır. Kromatin yapısında farklılıklar gösteren tek bir genle, özellikle sitozin metilasyonu, ilgili klasik genetik ve erken moleküler genetik çalışmalar kalıtsal fenotipik varyasyonların anlaşılmasına katkı sağlayabilir. Güncel moleküler genetik ve genomik çalışmalar gen regülasyonunda önemli bir rolü olan sitozin metilasyonunun önemini anlamasını sağlamıştır. Metilasyon bitkilerde cis-ya da trans-DNA polimorfizmlerine ya da epigenetik çeşitlenmelere neden olarak farklılıklar yaratmaktadır. Bitki genomunun çevresel ve genetik streslere karşı verdiği yanıtlar hem genetik hem de epigenetik metilasyon polimorfizmlerini doğurmaktadır. Stresle tetiklenmiş genotipler fenotipik çeşitliliğe ve bitki gelişimine önemli katkılar sağlayabilmektedir (Lukens ve Zhan 2007).

### **2.5.3 Atomik absorpsiyon spektrometresi**

Atomların ışık enerjisi soğurması olayı atomik absorpsiyon (soğurma) olarak adlandırılır. Atomik Absorpsiyon Spektrometresi gaz halindeki ve temel enerji düzeyinde bulunan atomların, UV ve görünür bölgedeki ışığı absorplaması ilkesine dayanır. Işıma şiddetindeki azalma ortamda absorpsiyon yapan elementin derişimi ile doğru orantılıdır. AAS’de element, elementel haline dönüştürüldükten sonra buharlaştırılır ve kaynaktan gelen ışın demetine maruz bırakılır. AAS eser miktardaki metallerin kantitatif analizi için kullanılmaktadır. Atomik absorpsiyon spektrometresi 1950 ortalarında Walsh, Alkemade ve Melatz tarafından bağımsız olarak keşfedilmiştir. Burada önceden oluşturulmuş elektron seviyesi bakımından zemin seviyesindeki atomların üzerine spesifik dalga boyunda ışık gönderilerek elektronlar uyarılır. Atom bu ışığı absorplar ve yüksek enerjili seviyelere geçiş yapar.

Alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi altı ana bileşenden oluşur ; ışın kaynağı(ışık), alev atom hücresi, örnek giriş sistemi, monokromatör, dedektör sistemi ve okuyucu.

AAS geniş şekilde resmileşmiş tekniktir ve kullanıcıların ihtiyaçlarını söylemeleri durumunda tekniğin tasfiyeler doğrultusunda ilerletilmesi sürdürülmektedir. AAS genel olarak tek element tekniği olarak değerlendirilir. Buna rağmen çoklu elementlerin analizinin artması çerçevesinde bu alanda gelişmeler sürmektedir.

Kromatografik tekniklerle AAS'nin bileşimi  $Cr^{+3}$ 'e karşılık  $Cr^{+6}$  gibi elementlerin farklı türlerinin çalışmasında önerilmektedir. Kromatografik metotlar farklı türleri kolondan farklı zamanlarda elüe ederek ayırmaktadır. Bunlar da AAS ile tayin edilmektedir.

#### **2.5.4 Proteinler**

Bir hücrenin kuru ağırlığının yarısından çoğunu oluşturan ve bütün hayati fonksiyonların gerçekleştirilmesinde görev alan biyolojik makromoleküller olan proteinler aminoasitlerin belli bir sırada dizilmesi ve bunların değişik üç boyutlu şekillerde katlanmalarıyla ortaya çıkarlar. Bu aminoasit dizilişleri proteinin fonksiyonuyla ilişkilidir (Özcan vd. 2004). Aminoasit dizilerinin nasıl olacağı ise genler tarafından kontrol edilir ve bu kontrol genetik kod ile sağlanır. Dolayısıyla proteinler genlerin üçüncü kuşak kopyası olduklarından genetik bilgilere çok yakınlardır. Bu sebeple filogenetik çalışmalarda, başka bir deyişle moleküler sistematiğe genotipler arası farkların gösterilmesinde kullanılırlar (Sammour 1991).

##### **2.5.4.1 Proteinlerin izolasyonu**

Proteinler doğal ortamlarında genellikle başka moleküllerle birlikte ve onlarla daima etkileşim halinde bulunurlar. Ayrıca birçok farklı işlevden sorumlu, enzimler, membran proteinleri, reseptörleri, antikorlar, aktin, miyozin, flagellin, hormonlar gibi binlerce farklı tipte protein molekülü vardır. Bunun yanı sıra proteinler hücrenin içinde farklı yerlerde veya hücrenin dışında bulunabilirler. Bu sebeple protein molekülleri

inceleyebilmek için onları buldukları yerden çıkarmak ve diğer moleküllerden ayırarak izole etmek (yalıtmak) gerekir (Arda ve Ertan 2004).

Protein, ekstrasellüler (hücre dışına salınan) ise, ekstraksiyonu için kullanılacak yöntem kolaydır. Protein salandıktan sonra hücreleri ortamdaki uzaklaştırmak (örneğin santrifüleme ile) yeterlidir (Arda ve Ertan 2004).

Protein sitoplazmik veya membrana bağlı ise yöntem uzun ve karmaşıktır. Özellikle bitki hücrelerinde öncelikle hücre çeperinin parçalanması ve içeriğin serbest kalması sağlanmalıdır. Bunun için porselen havan, milli homojenizatör ve blender gibi mekanik olarak parçalamayı sağlayacak aletler kullanılır (Arda ve Ertan 2004).

Protein bir organel içindeyse öncelikle o organelin sitoplazmik proteinlerden uzaklaştırılması gerekir. Bunun için partiküllerin sedimentasyon (çökeltme) derecelerine göre çöktüğü, giderek artan hızlarda ardışık (diferansiyel) santrifüleme tekniği kullanılır (Arda ve Ertan 2004).

#### **2.5.4.2 Bradford Yöntemi**

Yöntem organik boya, proteinlerin asidik ve bazik gruplarıyla etkileşerek renk oluşturmasını esas alır. Boya-bağlama temelli yöntemlerin en yaygını, Bradford tarafından geliştirilen ve Comassie Brilliant Blue G-250 boyasının kullanıldığı metoddur. Yöntem oldukça duyarlıdır (5-100 µg protein/ml). Renk oluşumunda proteinin amino asit bileşiminin (özellikle arginin gibi bazik amino asitler ile aromatik amino asitler) reaksiyon üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Bradford yönteminde 595 nm'de absorbans veren mavi rengin ölçümü esnasında cam ve polistiren küvetler kullanılabilir olmakla beraber cam küvetlerde rengin absorpsiyonu bir kullanımlık polistiren küvetlerin tercih edilmesine yol açar. Cam küvetlerin kullanılması durumunda 0,1 M HCl de bekletme işleminin ardından su ve asetonla yıkama gerekmektedir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmalar ‘‘Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Sistemik Laboratuvarı’’ ve ‘‘Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı’’nda gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1 Materyal

Tez kapsamında çalışılacak liken türünün herhangi bir kontaminasyondan ve çevre kirleticisinden etkilenmemesi gerekmektedir. Bu nedenle araştırma alanı olarak seçilen Karabük Yenice Ormanı, WWF’nin (Dünya Doğayı Koruma Vakfı) 1999’da belirlediği, dokuzu Türkiye’de bulunan acil olarak korunması gereken 100 orman alanından biridir. ‘Avrupa Ormanları’nın Sıcak Noktaları’ olarak tanımlanan bu alanlar biyolojik çeşitlilik açısından en değerli alanlar arasında yer almaktadır. Engebeli topografya, yerleşim yerlerinin genişlemesine engel olarak, Yenice Ormanları’nın bakir ve biyolojik çeşitlilik açısından zengin bir alan olarak kalmasını sağlamaktadır. Yenice Ormanları çok geniş alanlara yayılan ve halen doğal özelliklerini koruyan ender ormanlar arasında sayılmaktadır. Bu nedenle çalışma alanından topladığımız liken örneklerinin herhangi bir çevre kirleticisine maruz kalmadığı öngörülmektedir.

Tezin konusunu oluşturan liken türü daha önce araziden; Doç. Dr. Demet Cansaran DUMAN’nın doktora tez çalışmasını gerçekleştirdiği Karabük Yenice Ormanlarından 2006 yılında toplanılmıştır. Çalışma alanının koordinatları; 41°10' N, 32°23' E Karabük, Yenice, Hisarköy Mevkii, 20.5.2005, 1000m. Liken örnekleri kaya, ağaç kabuğu, karayosunu, toprak gibi substratlardan birer parça ile birlikte alınmıştır. Örneklerin morfolojik yapılarının ve tayin işlemlerinde gereken özelliklerinin bozulmaması için kabuksu ve bazı yapraksı türlerin kenar ve merkezi kısımlarının korunmasına özellikle dikkat edilmiştir. Daha sonra bu materyaller yumuşak kâğıda sarılmıştır. Toplanan materyaller pelur kağıdından yapılmış torbaların içine alınmıştır. Daha sonra bu torbaların üzerine substrat çeşidi, istasyonun yüksekliği ve lokalitesi, ortamın özelliği not edilmiştir.

Çalışmamızda, toplanan liken örneklerinin tür tayininde çeşitli flora kitapları ve tayin anahtarlarından faydalanılmıştır (Purvis ve Halls 1992). Liken örneklerinin tayininde, OLYMPUS marka stereomikroskop, OLYMPUS CHK marka ışık mikroskobu, oküler mikrometre, tür ve tür altı kategorilerde teşhis için potasyum hidroksit, kalsiyum hipoklorit, p – fenilendiamin ve iyot gibi bazı kimyasal reaktifler kullanılmıştır.

Örnekler laboratuvara getirilerek oda sıcaklığında bir süre bırakılmıştır. Deneyleerin yapılacağı zamana kadar -20°C’de muhafaza edilmişlerdir.

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 Ağır metal uygulanması**

Gerçekleştirilecek tüm deneylerde çalışılacak liken türüne her iki metal katyonu muamele edilmiştir. Metal katyonlarının ( $Pb^{+2}$  ve  $Cr^{+6}$ ) stok çözeltisi 1000 ppm olarak hazırlanmıştır.  $Cr^{+6}$  katyonu  $K_2Cr_2O_7$  bileşiginden 1.49 gr. tartıldıktan sonra 2000 ml distile su eklenip hazırlanmıştır.  $Pb^{+2}$  katyonu ise  $Pb(NO_3)_2$  bileşiginden 0,19 gr. tartıldıktan sonra 1000 ml distile su eklenip hazırlanmıştır. Liken üzerine konulacak bu metal katyonunun farklı konsantrasyonlardaki çözeltisi daha sonra bu stoktan hazırlanmıştır. 250 mL’lik erlene stoktan hazırlanmış 30, 60 ve 120 ppm’lik metal katyonları ile 0.5, 1, 2, 6, 18, 24, 48 ve 72 saat aralıklarında likenlere muamele edilmiştir. Örnekler 150 rpm’de döndürülmüştür.

Ayrılan çözelti sızdırmaz plastik kaplarda gerekirse buzdolabında saklanarak Atomik Absorbsion cihazında (AAS)’da okunmuştur. Ayrılan liken örnekleri de DNA izolasyonu ve PCR analizleri için muhafaza edilmiştir.





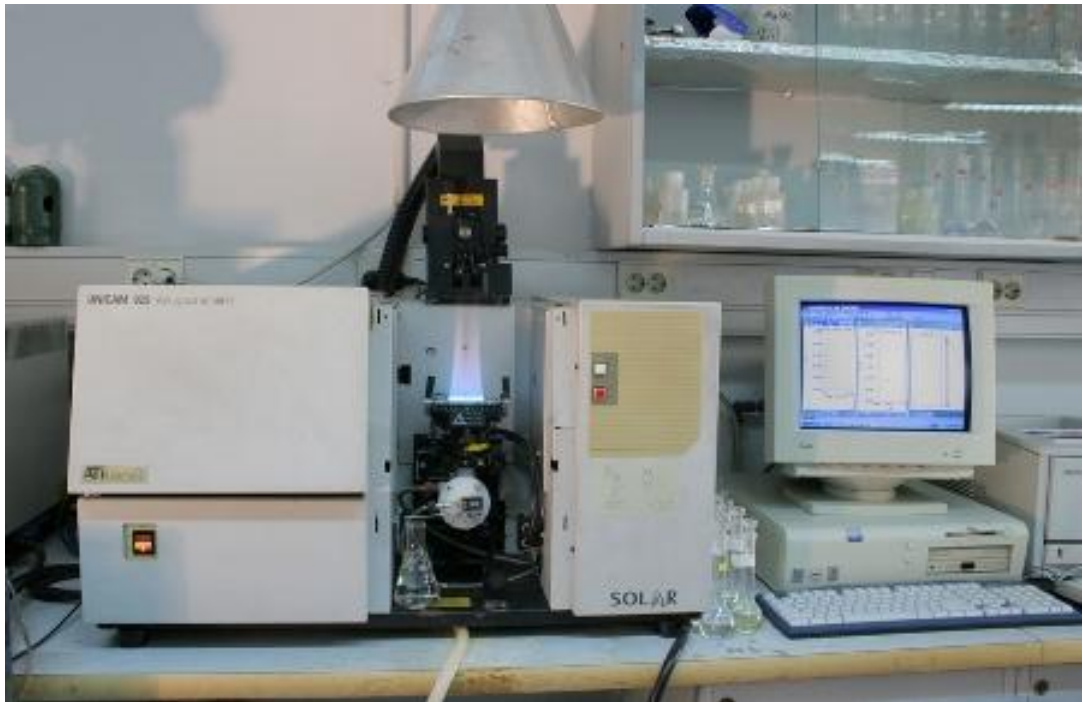
Şekil 3.1 *Hypogymnia physodes* liken türüne  $\text{Cr}^{+6}$  ağır metal katyonu uygulaması



Şekil 3.2 *Hypogymnia physodes* liken türüne  $\text{Pb}^{+2}$  ağır metal katyonu uygulaması

### 3.2.2 Atomik absorpsiyon spektroskopisi ile ağır metal miktar tayini

50 mg liken örneğine 2.0 mL 63% 'lük HNO<sub>3</sub>, ve 1.0 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmiştir. Mikrodalga fırında liken örneği kül haline getirilerek 5 ml deiyonize su eklenerek solusyon çözülmüştür ve son hakim 10.0 ml'ye deiyonize su ile tamamlanmıştır. Cr<sup>+6</sup> (357.9 nm'de) ve Pb<sup>+2</sup> (217 nm'de) Atomik absorpsiyon spektrofotometre (GBC Avanta Ver 2.02) cihazında örnekler okunmuştur.



Şekil 3.3 Atomik absorpsiyon spektroskopisi cihazı

### 3.2.3 UV uygulanması

Çalışmamızda UV (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB, UVA+UVD) ışını uygulaması için Irritation Chamber BS-03 (Dr. Gröbel UV-Elektronik GmbH) marka cihaz kullanılmıştır.

### 3.2.3.1 UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVD, UVA+UVB

Petri kabı içerisine konan tallus örnekleri 4, 8, 12, 20 ve 40 Jcm<sup>-2</sup> (352 nm, 50 Hz, 0.60 Amps) UV radyasyonlarına 25°C’de çeşitli sürelerde maruz bırakılmıştır.



Şekil 3.4 *Hypogymnia physodes* liken türünde UV uygulanmış olan örnekler

### 3.2.4 Ağır metal ve UV stresi uygulanmış örneklerdeki toplam çözümlü protein içeriğinin belirlenmesi (Bradford Metodu)

#### Bradford belirtecinin hazırlanması;

- 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250,
- 50 ml %95 etanol,
- 100 ml %85 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (fosforik asit)
- 1000 ml’ye su ile tamamlanır.

-5X'lik solusyon elde edilir. Çözelti +4°C'de karanlıkta tutulur, kullanılacağı zaman 5 kere sulandırılır. Whatman no:1 filtreden geçirilir ve bir cam şişede, oda sıcaklığında tutulur.

Ağır metal ve UV stresi uygulanmış her iki liken örneğinde toplam çözümlenebilir protein içeriğinin belirlenmesi için Bradford yöntemi kullanılmıştır (Bradford 1976).

- 0.08 g örnek tartılır ve sıvı azot ile havanda ezilir.
- 700 µl fosfat tamponu (0.2 M, pH 7.0) ile homojenize edilir.
- 14000 rpm'de 20 dk. santrifüj edilerek süpernatantlar yeni tüplere alınır.
- 2000 µl 1X Bradford çözeltisi ve 200 µl örnek çözeltisi ~10 saniye vorteksenerek karıştırıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve absorbans değerleri 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede paralelli olarak köre karşı okunur. Köre olarak 200 µl PB ve 2000 µl 1X Bradford karışımı kullanılır. Standartlar BSA (Bovine Serum Albumin) ile hazırlanır.

### **3.2.5 Klorofil-a, klorofil-b ve total klorofil miktar tayini**

Öncelikle liken örnekleri tamamıyla fotosentez aktivitesini yakalayabilmeleri için 5 dakika distile su içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra 40-60 mg liken örneği 3 ml dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde 65°C'de 1 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Klorofil oranı spektrofotometre ile OD 435 nm/OD 415 nm'de ölçüm alınarak hesaplanmıştır.

1 saat sonra karanlıkta bekleyen örnekler daha sonra 20°C'de 10 dakika süre boyunca 12000 g'de santrifüj edildi. Daha sonra santrifüj edilen örneklerde oluşan süpernatant yeni bir tüpe aktarıldı ve spektrofotometrede ölçüm alınması sağlanmıştır.

### **3.2.6 DNA izolasyonu**

DNA izolasyonu için daha önceden likenler için özel olarak gerçekleştirilmiş bir metot olması nedeniyle Lefort (1998) tarafından belirtilmiş yöntem kullanılmıştır. Elde edilen



DNA örneklerinin miktar tayinleri ve saflık dereceleri spektrofotometrik ölçümler ile (260 nm/ 280 nm) belirlenmiştir.

DNA İzolasyonu aşağıdaki Lefort DNA İzolasyonu yöntemi ile gerçekleştirilmiştir:

- Bir miktar (~200mg) liken örneği steril porselen havana konuldu. Üzerine sıvı azot eklenerek toz haline getirildi.
- 1 mL DNA ekstraksiyon buffer (Lefort) ve 10 µl β-merkaptoetanol eklenerek ezilmeye devam edildi. Elde edilen yarı akışkan sıvı ependorf tüpüne aktarıldı.
- 65°C'de 45 dakika boyunca su banyosunda inkübe edildi. Su banyosundan çıkarılan örnekler oda sıcaklığında soğutuldu.
- Oda sıcaklığında soğuyan örnekler üzerine kapak kapanacak kadar Kloroform:izoamilalkol (24:1) eklenerek tüpler 25-30 defa karıştırıldı. Ardından örnekler 30 dakika süreyle -20°C'de tutuldu.
- -20°C'den çıkarılan örnekler 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda üst sıvı (süpernatant) yeni bir tüpe aktarıldı ve üzerine kapak kapanacak kadar soğuk izopropanol eklendi. 1 gece beklemek üzere örnekler -20°C'ye kaldırıldı.
- 1 gün sonra -20°C'den çıkarılan örnekler 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda üst sıvı atıldı, alt kısımda katı pellet kaldı.
- Pellet üzerine %70'lik EtOH eklendi ve 14000 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüj edildi. Etanol uzaklaştırılarak tüpler kurumaya bırakıldı.
- Pellet kurduktan sonra örnekler üzerine 100 µl ddH<sub>2</sub>O eklendi ve örnekler 65°C'de 45 dakika su banyosunda bekletildi.
- Su banyosundan alınan örnekler üzerine 10 µl RNaz enzimi eklendi ve 37°C'de 20 dakika inkübe edildi.

### 3.2.6.1 DNA saflık ve miktar tayini

-20°C’de saklanan çözünmüş DNA’dan 2 µl alınıp, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı’nda, Agilent 2100 bioanalyser Nanodrop ND-1000 spektrofotometre ile miktarı ve saflığı (260/280 nm) ölçülmüştür.

Elde edilen sonuçlara göre DNA konsantrasyonu 3 µl’de 50 ng DNA olacak şekilde distile su ile sulandırılmıştır.

### 3.2.6.2 Total DNA elektroforezi

DNA’nın kantitatif olarak analizi amacıyla modifiye Lefort metodu ile hazırlanan DNA çözeltileri % 1 oranında hazırlanan agaroz jellere yüklenmiş, 80 voltta 2 saat elektroforeze tabii tutulmuştur. Jel hazırlama sırasında jelin içerisine 5 µl Etidyum Bromür eklenmiştir. Elektroforez sonrasında jel UV ışık altında incelenmiş ve KODAK Gel Logic 2200 görüntüleme sisteminde fotoğraflanmıştır.

### 3.2.6.3 Primerler

Primer seçiminde gelişigüzel davranılmış rastgele seçilmiş 10 bazlık primerler kullanılmıştır. Toplam 18 primer ile çalışılmış ve 13 tanesinden iyi bant desenleri elde edilmiştir. Bu primerler OPC, Tube A, OPA ve OPO serisindedir. PCR’da denatürasyonu takiben primerlerin bağlanması aşamasındaki sıcaklığın tespit edilmesi gerekir. Bunun için değişik formüller vardır. Boyu 20 baza kadar olan primerler için aşağıdaki formül kullanılır. Bu formülle elde edilen değer primerlerin  $T_m$  (Melting Temperature/çözünme sıcaklığı) değeridir. Çoğunlukla bu değer 3-5°C altındaki sıcaklıklar, bağlanma sıcaklığı olarak seçilir.

$$[(A+T \text{ lerin sayısı}) \times 2^\circ\text{C} + (G+C \text{ lerin sayısı}) \times 4^\circ\text{C}]$$

### 3.2.7 RAPD analizi

#### 3.2.7.1 PCR metodunun şartları

PCR çalışmasında ilk denemede aşağıdaki PCR döngüsünün hali kullanılmıştır. Ayrıca 25 µl reaksiyon içerisinde yaklaşık 80 ng genomik DNA, 2,5 µl 10X reaksiyon buffer, 20 mM dNTP, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM her bir primer ve 0,3 U Taq DNA polimeraz kullanılmıştır. Bu döngüyle ve gerekli şartlarla yeterli sayılabilecek bantlar elde edilememiştir.

Kapak Sıcaklığı	105°C		
Ön Denatürasyon	95°C	1 dk 40 saniye	
Denatürasyon	94°C	30 sn	} 35 Döngü
Bağlanma	36°C	1 dk	
Uzama	72°C	2 dk	
Final Uzama	72°C	10 dk	

Daha sonra daha parlak bantlar elde edilebilmesi için öncelikle Ön Denatürasyon 98°C'ye çıkarılmıştır. Sonra genomik DNA miktarında, MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonlarında ve Taq DNA polimerazda denemeler yapılmıştır. 25 µl reaksiyon içerisinde yaklaşık 150 ng genomik DNA, 2,5 µl 10x reaksiyon tamponu, 20 mM dNTPs, 3,5 µl MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM her bir primer, 0.5 U Taq DNA polimeraz (Promega) kullanılmıştır. PCR reaksiyonları Biometra Thermal Cycler ile aşağıdaki programa göre yapılmıştır.

Kapak Sıcaklığı	105°C		
Ön Denatürasyon	98°C	1 dk 30 saniye	
Denatürasyon	95°C	30 sn	} 35 Döngü
Bağlanma	36°C	1 dk	
Uzama	72°C	2 dk	
Final Uzama	72°C	10 dk	

Çoğaltılan örnekler %1.6'lık agaroz jele yüklenmiştir (%50 agaroz ve %50 Nu Sieve GTG agaroz FMC corporation), 100 V'da 3 saat koşturulmuştur. Herhangi bir kontaminasyonun varolup olmadığını belirlemek için de negatif kontrol kullanılmıştır.

### **3.2.8 CRED-RA tekniği ile metilasyon analizi**

#### **3.2.8.1 Genomik DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesilmesi**

Metilasyon farklılıklarının gözlenmesi için MspI (Promega #R6401) ve HpaII (Promega #R6311) enzimleri kullanılmıştır. Aynı örneğe ait genomik DNA için her iki enzimin kesim reaksiyonu farklı mikrosantrifüj tüplerinde son hacim 20 µl olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

20 µl reaksiyon içerisinde yaklaşık 1µg genomik DNA, 2 µl 10X enzim reaksiyon tamponu ve 10U restriksiyon enzimi (Promega) kullanılmıştır.

Kesim reaksiyonunun gerçekleşmesi için yukarıda belirtilen reaksiyon bileşenleri ile hazırlanan mikrosantrifüj tüpleri 37°C'ye ayarlanmış su banyosunda 4 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda restriksiyon enziminin inaktivasyonu için örnekler 95°C'ye ayarlanmış ısı bloğunda 15 dakika bekletilmiştir.

- **PCR metodunun şartları**

25 µl reaksiyon içerisinde yaklaşık 200 ng kesim ürünü, 2,5 µl 10x reaksiyon tamponu, 20 mM dNTPs, 2,5 µl MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM her bir primer, 0.5 U Taq DNA polimeraz (Promega) kullanılacaktır. PCR reaksiyonları Biometra Thermal Cycler ile aşağıdaki programa göre yapılmıştır.

Kapak Sıcaklığı 105°C

Ön Denatürasyon 98°C 1 dk 30 saniye



Denatürasyon	95°C	30 sn	} 45 Döngü
Bağlanma	36°C	1 dk	
Uzama	72°C	2 dk	
Final Uzama	72°C	10 dk	

Çoğaltılan örnekler %1.6'lık agaroz jele yüklenmiştir (%50 agaroz ve %50 Nu Sieve GTG agaroz FMC corporation), 100 V'da 3 saat koşturulmuştur. Herhangi bir kontaminasyonun varolup olmadığını belirlemek için de negatif kontrol kullanılmıştır.

### 3.2.9 İstatistiksel analizler

- **Örneklerin toplam çözümlü protein konsantrasyonunun hesaplanması**

$$x = \frac{\text{Spektrofotometrede okunan değer}}{\text{Standart eğrinin eğimi}} \times \text{Dilüsyon faktörü}$$

- **Örneklerin klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil konsantrasyonlarının hesaplanması**

$$\begin{aligned} \text{Klorofil a} &= 12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645} \\ \text{Klorofil b} &= 22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663} \\ \text{Toplam klorofil} &= 20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663} \end{aligned}$$

- **RAPD analizi verilerinin yorumlanması**

Veri analizleri kontrol örnekte gözlenen bantlar ile örneklerde elde edilen polimorfik bantların karşılaştırılması ile yapılmıştır. Yeni oluşan ve kaybolan bantlar her bir primerde, her örnek için tespit edilmiş, tablolaştırılmış ve sonuçta genomik kalıp stabilitesi (GKS) oranları verilen formüle göre hesaplanmıştır.  $GKS = (1 - a/n) \times 100$ , 'a' RAPD'de elde edilen polimorfik profil 'n' kontrolde elde edilen total bant sayısını göstermektedir.

- **CRED-RA analizinin verilerinin değerlendirilmesi**

HpaII ve MspI enzimleri ile ayrı ayrı kesim yapıldıktan sonra elde edilen kesim ürününe RAPD-PCR yapılmıştır. Değerlendirmelerde çizelge 3.1 referans olarak kullanılmıştır (Temel vd. 2008).

Çizelge 3.1 HpaII ve MspI restriksiyon enzimlerinin kesim yeteneklerine göre oluşturulmuş metilasyon tiplerini gösteren çizelge

Type	Methylation pattern	HpaII	MspI
Type I	CCGG CCGG GGCC GGCC	Active	Active
Type II	CCGG GGCC	Active	Inactive
Type III	CCGG GGCC	Inactive	Active
Type IV	CCGG GGCC	Inactive	Inactive

Buna göre metilasyon bant profili; Var(1) – Yok(0) olarak skorlanır. Bu skorlar ikili olarak çizelge 3.2'ye göre değerlendirilir.

Çizelge 3.2 Var-Yok olarak skorlanan CRED-RA bantlarının ifade ettiği metilasyon tipleri

<i>HpaII</i>	<i>MspI</i>	İFADE
0	0	Type I
0	1	Type II
1	0	Type III
1	1	Type IV

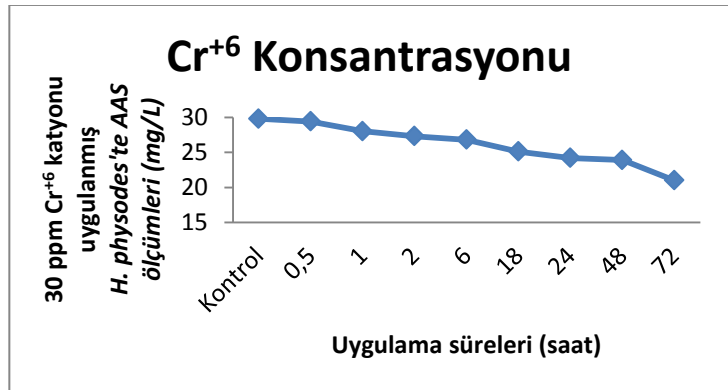
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

##### 4.1 *Hypogymnia Physodes* Liken Türünün Krom ( $Cr^{+6}$ ) ve Kurşun ( $Pb^{+2}$ ) Stresi Altında Atomik Absorpsiyon Spektrometri (AAS) Ölçümlerine Ait Bulgular

###### 4.1.1 *Hypogymnia physodes* liken türünün krom ( $Cr^{+6}$ ) stresi altında atomik absorpsiyon spektrometri (AAS) ölçümlerine ait bulgular

30 ppm  $Cr^{+6}$  katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait AAS ölçümleri şekil 4.1’de verilmiştir. Şekil 4.1’de de görüldüğü gibi kontrol 29,8 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda AAS miktarı 28,0 mg/L bulunurken en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonucunda ise 21 mg/L bulunmuştur. Atomik absorpsiyon spektrofotmetresi ile yapılan analiz sonuçlarına göre  $Cr^{+6}$  katyonunun metal akümülayonu yaptığı gözlenmiştir.

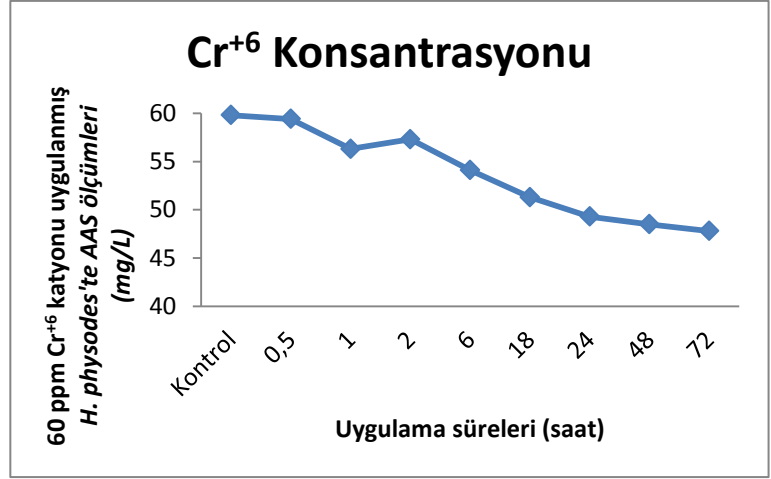
$Cr^{+6}$	Zaman	mg/L
Kör		29,8
30 ppm	30 dakika	29,4
30 ppm	1 saat	28,0
30 ppm	2 saat	27,3
30 ppm	6 saat	26,8
30 ppm	18 saat	25,1
30 ppm	24 saat	24,2
30 ppm	48 saat	23,9
30 ppm	72 saat	21,0



Şekil 4.1 30 ppm  $Cr^{+6}$  katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri

60 ppm  $Cr^{+6}$  katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait AAS ölçümleri şekil 4.2’de verilmiştir. Şekil 4.2’de de görüldüğü gibi kontrol 59,8 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda AAS miktarı 59,4 mg/L bulunurken en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonucunda ise 47,8 mg/L bulunmuştur. Atomik absorpsiyon spektrofotmetresi ile yapılan analiz sonuçlarına göre 30 ppm’de de olduğu gibi  $Cr^{+6}$  katyonunun artan sürelerle bağlı olarak metal akümülayonu yaptığı gözlenmiştir.

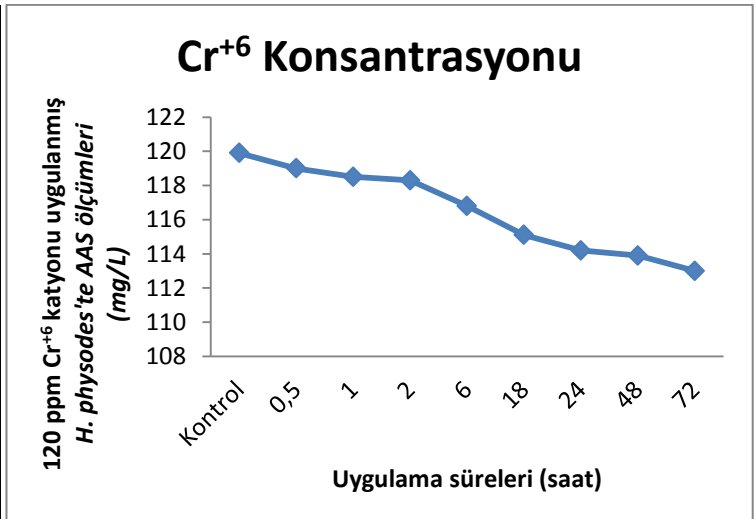
Cr <sup>+6</sup>	Zaman	mg/L
Kör		59,8
60 ppm	30 dakika	59,4
60 ppm	1 saat	56,3
60 ppm	2 saat	57,3
60 ppm	6 saat	54,1
60 ppm	18 saat	51,3
60 ppm	24 saat	49,3
60 ppm	48 saat	48,5
60 ppm	72 saat	47,8



Şekil 4.2 60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypomyces physodes* liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri

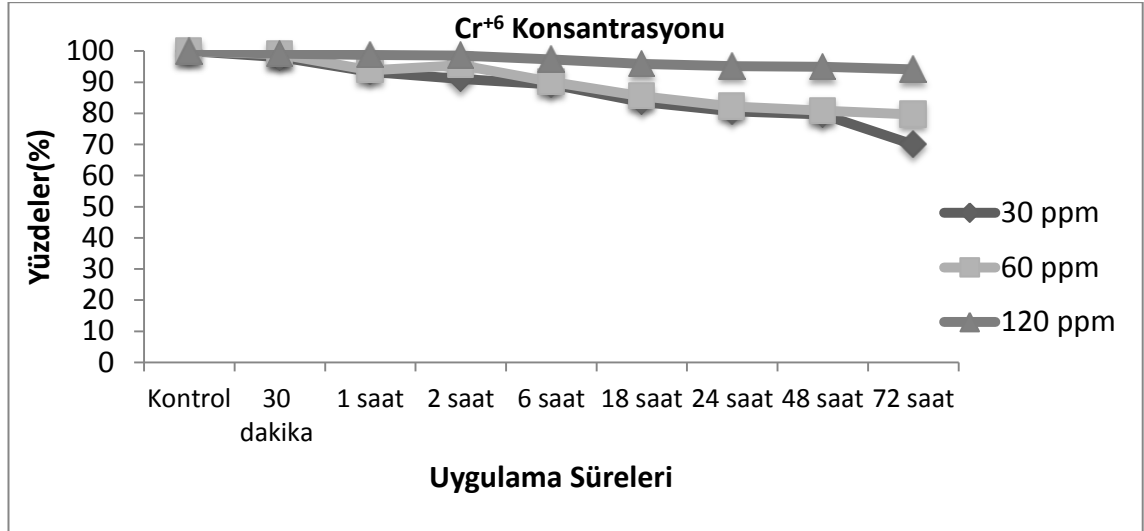
120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypomyces physodes* liken türüne ait AAS ölçümleri şekil 4.3'de verilmiştir. Şekil 4.3'de de görüldüğü gibi kontrol 119,9 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda AAS miktarı 119 mg/L bulunurken en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonucunda ise 113 mg/L bulunmuştur. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yapılan analiz sonuçlarına göre diğer iki Cr<sup>+6</sup> ağır metal konsantrasyonuna göre karşılaştırıldığında sürelerle bağlı olarak metal akümülyasyonu yaptığı gözlenmiştir.

Cr <sup>+6</sup>	Zaman	mg/L
Kör		119,9
120 ppm	30 dakika	119,0
120 ppm	1 saat	118,5
120 ppm	2 saat	118,3
120 ppm	6 saat	116,8
120 ppm	18 saat	115,1
120 ppm	24 saat	114,2
120 ppm	48 saat	113,9
120 ppm	72 saat	113,0



Şekil 4.3 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypomyces physodes* liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri

Şekil 4.4'te de görüldüğü gibi en az uygulama süresi olan 30 dakika sonucunda 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış likenlerin aynı oranda metali akümüle edebildiği fakat en fazla uygulama süresi olan 72. saat sonucunda 30 ppm Cr<sup>+6</sup> uygulanmış liken örneğinin 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> uygulanmış örneğe göre daha fazla metali akümüle edebildiği görülmektedir.

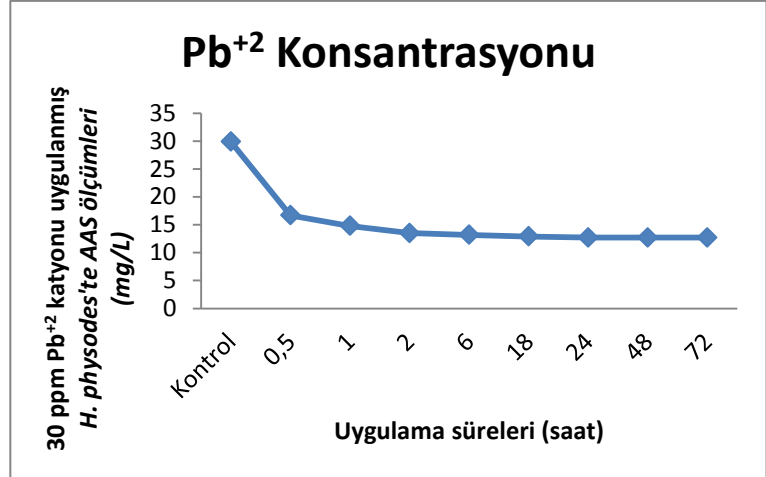


Şekil 4.4 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait örneklerin AAS ölçümlerinin yüzde olarak görünümü

#### 4.1.2 *Hypogymnia physodes* liken türünün kurşun (Pb<sup>+2</sup>) stresi altında atomik absorpsiyon spektrometre (AAS) ölçümlerine ait bulgular

30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait AAS ölçümleri şekil 4.5'de verilmiştir. Şekil 4.5'de de görüldüğü gibi kontrol 29,9 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda AAS miktarı 16,7 mg/L bulunurken en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonucunda ise 12,7 mg/L bulunmuştur. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yapılan analiz sonuçlarına göre Pb<sup>+2</sup> katyonunun artan sürelerle bağlı olarak metal akümülyasyonu yaptığı gözlenmiştir. Uygulama süresi olan 24. saat sonunda *Hypogymnia physodes* liken türü ağır metal birikimi maksimum seviyeye yükselip eşik noktasına geldiği gözlenmiştir.

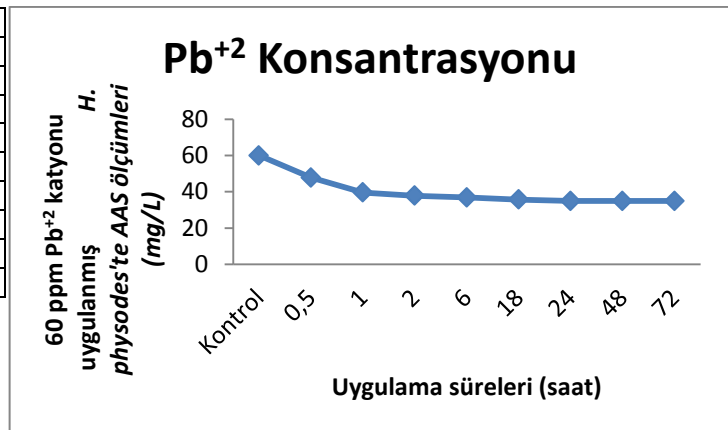
Pb <sup>+2</sup>	Zaman	mg/L
Kör		29,9
30 ppm	30 dakika	16,7
30 ppm	1 saat	14,8
30 ppm	2 saat	13,5
30 ppm	6 saat	13,2
30 ppm	18 saat	12,9
30 ppm	24 saat	12,7
30 ppm	48 saat	12,7
30 ppm	72 saat	12,7



Şekil 4.5 30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypomyces physodes* liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri

60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypomyces physodes* liken türüne ait AAS ölçümleri şekil 4.6'da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 60 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda AAS miktarı 47,8 mg/L bulunurken en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonucunda ise 34,9 mg/L bulunmuştur. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yapılan analiz sonuçlarına göre Pb<sup>+2</sup> katyonunun artan sürelerle bağlı olarak metal akümülyasyonu yaptığı gözlenmiştir. En fazla ağır metal birikiminin 24. 48. ve 72. saatte gerçekleştiği belirlenmiştir. 24. saatten itibaren *Hypogymnia physodes* liken türü ağır metal birikimi maksimum seviyeye yükselip eşik noktasına geldiği gözlenmiştir.

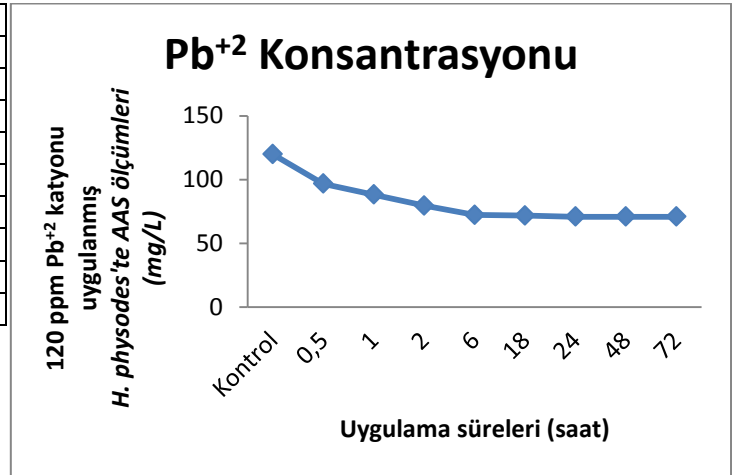
Pb <sup>+2</sup>	Zaman	mg/L
Kör		60,0
60 ppm	30 dakika	47,8
60 ppm	1 saat	39,6
60 ppm	2 saat	37,8
60 ppm	6 saat	36,9
60 ppm	18 saat	35,7
60 ppm	24 saat	34,9
60 ppm	48 saat	34,9
60 ppm	72 saat	34,9



Şekil 4.6 60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypomyces physodes* liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri

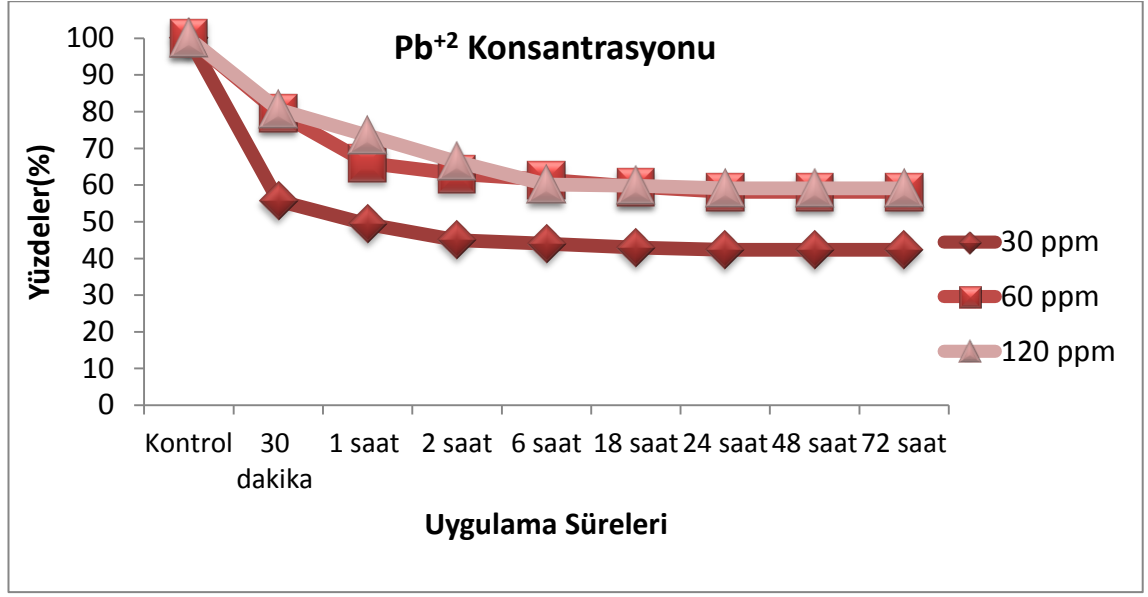
120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait AAS ölçümleri şekil 4.7’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 119,9 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda AAS miktarı 96,7 mg/L bulunurken en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonucunda ise 70,9 mg/L bulunmuştur. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yapılan analiz sonuçlarına göre Pb<sup>+2</sup> katyonunun artan sürelerle bağlı olarak metal akümüasyonu yaptığı gözlenmiştir. En fazla ağır metal birikiminin 60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış örneklerde olduğu gibi 24. 48. ve 72. saatte gerçekleştiği belirlenmiştir. 30 ppm ve 60 ppm Pb<sup>+2</sup> konsantrasyonunda olduğu gibi 24. saatten itibaren *Hypogymnia physodes* liken türü ağır metal birikimi maksimum seviyeye yükselip eşik noktasına geldiği gözlenmiştir.

Pb <sup>+2</sup>	Zaman	mg/L
Kör		119,9
120 ppm	30 dakika	96,7
120 ppm	1 saat	88,2
120 ppm	2 saat	79,6
120 ppm	6 saat	72,2
120 ppm	18 saat	71,8
120 ppm	24 saat	70,9
120 ppm	48 saat	70,9
120 ppm	72 saat	70,9



Şekil 4.7 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait örneklerin AAS ölçümleri

Şekil 4.8’te de görüldüğü gibi 30 ppm Pb<sup>+2</sup> uygulanmış liken örneklerinin 60 ve 120 ppm Pb<sup>+2</sup> uygulanmış örneklere göre daha fazla metali akümüle edebildiği görülmektedir. Her üç konsantrasyonda da 24. saatten itibaren likenlerin metali akümüle etmede eşik seviyeye ulaştığı ve daha fazla metali bünyesinde biriktiremediği belirlenmiştir.



Şekil 4.8 30, 60 ve 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait örneklerin AAS ölçümlerinin yüzde olarak görünümü

#### 4.2 *Hypogymnia Physodes* Liken Türünün Krom (Cr<sup>+6</sup>) ve Kurşun (Pb<sup>+2</sup>) ile UV Stresi Altında Toplam Protein Ölçümlerine Ait Bulgular

Bu tez kapsamında *Hypogymnia physodes* liken türünde ağır metal stresi altında (Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup>) Bradford yöntemi ile total protein içeriğinin tespiti amaçlanmıştır. Çizelge 4.1'de çalışılan iki metal katyonunun farklı konsantrasyonlarda spektrofotometrik ölçümler sonucunda elde edilen değerleri verilmiştir.



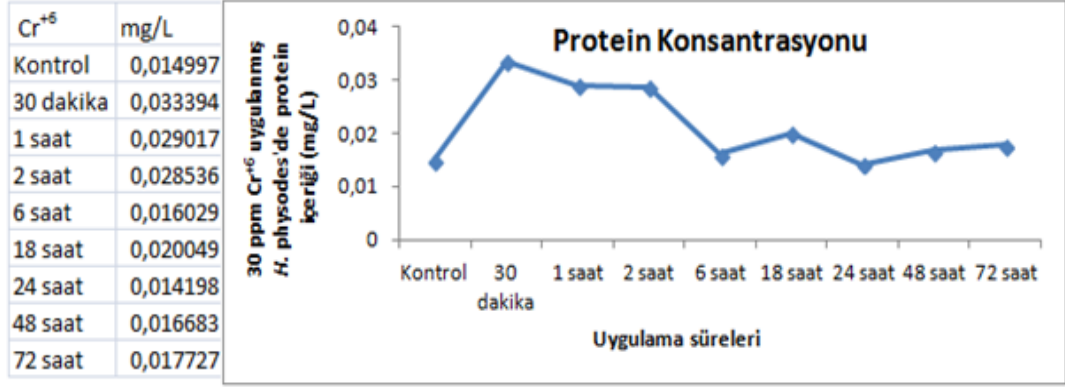
Çizelge 4.1 *H. physodes* liken türünde ağır metal stresi altında total protein içeriği

Toplam protein içeriği	<i>Hypogymnia physodes</i>					
	30 ppm Cr <sup>+6</sup>	60 ppm Cr <sup>+6</sup>	120 ppm Cr <sup>+6</sup>	30 ppm Pb <sup>+2</sup>	60 ppm Pb <sup>+2</sup>	120 ppm Pb <sup>+2</sup>
<b>Kontrol</b>	0,0149 (mg/L)	0,018 (mg/L)	0,01762 (mg/L)	0,01902 (mg/L)	0,02028 (mg/L)	0,02028 (mg/L)
<b>30 dakika</b>	0,0333 (mg/L)	0,0273 (mg/L)	0,01786 (mg/L)	0,02470 (mg/L)	0,01634 (mg/L)	0,01290 (mg/L)
<b>1 saat</b>	0,0290 (mg/L)	0,0253 (mg/L)	0,02317 (mg/L)	0,00983 (mg/L)	0,02647 (mg/L)	0,01445 (mg/L)
<b>2 saat</b>	0,0285 (mg/L)	0,0120 (mg/L)	0,01456 (mg/L)	0,01540 (mg/L)	0,01326 (mg/L)	0,01869 (mg/L)
<b>6 saat</b>	0,0160 (mg/L)	0,0101 (mg/L)	0,01014 (mg/L)	0,02281 (mg/L)	0,02220 (mg/L)	0,02015 (mg/L)
<b>18 saat</b>	0,0200 (mg/L)	0,0113 (mg/L)	0,01322 (mg/L)	0,01388 (mg/L)	0,02021 (mg/L)	0,02205 (mg/L)
<b>24 saat</b>	0,0141 (mg/L)	0,0226 (mg/L)	0,01160 (mg/L)	0,02513 (mg/L)	0,01939 (mg/L)	0,01606 (mg/L)
<b>48 saat</b>	0,016 (mg/L)	0,009 (mg/L)	0,00973 (mg/L)	0,01375 (mg/L)	0,01079 (mg/L)	0,02243 (mg/L)
<b>72 saat</b>	0,017 (mg/L)	0,0085 (mg/L)	0,01249 (mg/L)	0,01866 (mg/L)	0,01209 (mg/L)	0,02083 (mg/L)

#### 4.2.1 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonunun *Hypogymnia physodes* liken türünde toplam protein ölçümlerine ait bulgular

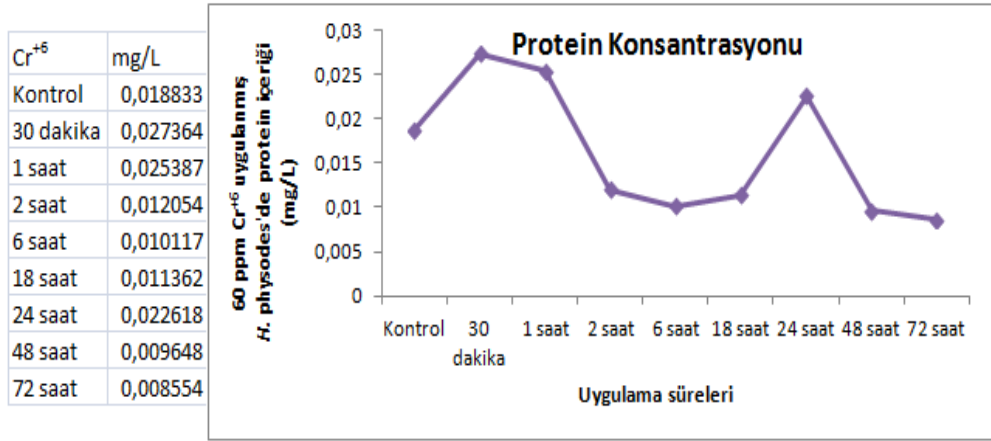
30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri sonucunda şekil 4.9'dan da gözlemleneceği üzere kontrol 0,0149 mg/L değeri çıkmıştır. Buna karşın en az bekleme süresi olan 30 dakika sonucu 0,0333 mg/L bulunup en uzun bekleme süresi olan 72 saat sonucunda 0,0177 mg/L bulunmuştur. İlk

30 dakika sonunda kontrol örneğine göre önemli bir artış gözlenmiş fakat 6. saatten itibaren 72. saatte dahil olmak üzere protein miktarlarının kontrol seviyesine doğru geldiği görülmektedir.



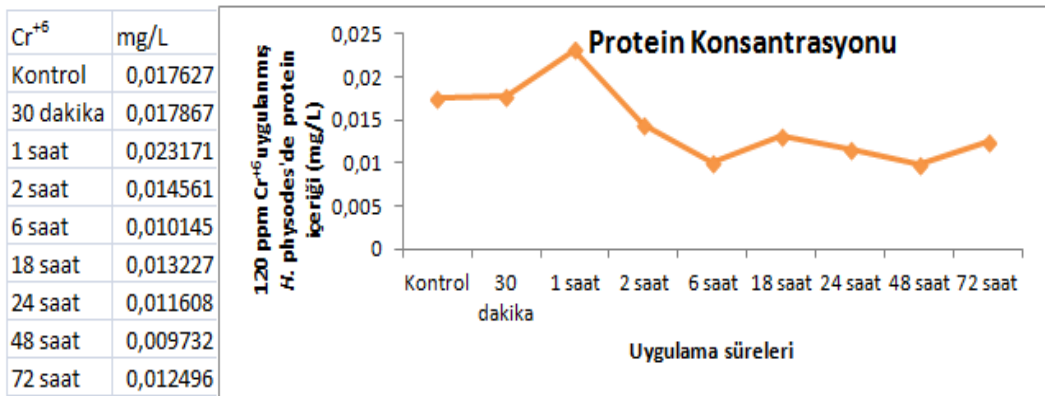
Şekil 4.9 30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri sonucunda şekil 4.10'dan da görüldüğü gibi kontrol 0,0188 mg/L değeri çıkmıştır. Buna karşın en az bekleme süresi olan 30 dakika sonucu 0,0273 mg/L değeri bulunup en uzun bekleme süresi olan 72 saat sonunda 0,0085 mg/L bulunmuştur. İlk 30 dakika sonucunda kontrole göre önemli bir artış gözlenmiş fakat 30 dakikadan sonra *Hypogymnia physodes* liken türüne ait protein içeriği azalmaya başlamıştır. 72 saat sonunda ise kontrol örneğine göre ciddi oranda azalma görülmektedir.



Şekil 4.10 60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

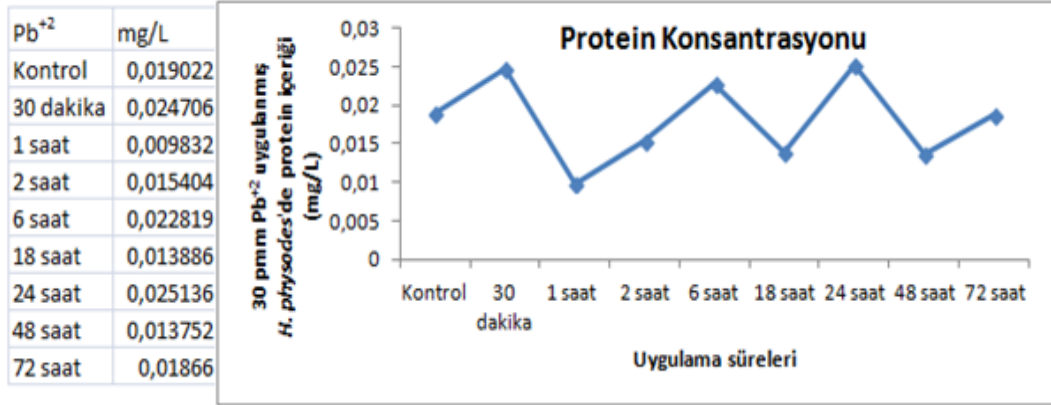
120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri sonucunda şekil 4.11'den de görüldüğü gibi kontrol 0,017627 mg/L değeri çıkmıştır. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucu 0,017867 mg/L değeri bulunup en uzun bekleme süresi olan 72 saat sonunda 0,012496 mg/L bulunmuştur. İlk 30 dakika sonucunda kontrol ile hemen hemen aynı değer bulunmuştur. Bekleme süresi olan 1 saat sonucunda kontrol örneğine göre artış gözlemlendikten sonra *Hypogymnia physodes* liken türüne ait protein içeriği azalmaya başlamıştır.



Şekil 4.11 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

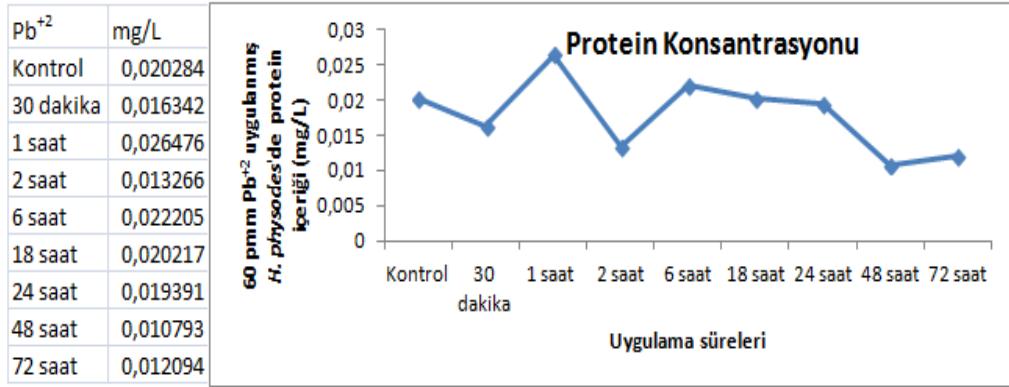
#### 4.2.2 30, 60 ve 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonunun *Hypogymnia physodes* liken türünde toplam protein ölçümlerine ait bulgular

30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.12’de verilmiştir. Şekil 4.12’de de görüldüğü gibi kontrol 0,019902 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucu 0,024706 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,01866 mg/L değeri bulunmuştur. İlk 30 dakika, 6 saat ve 24 saat sonucunda kontrol örneğine göre bir artış gözlenirken bekleme süreleri olan 1 saat, 2 saat ve 18 saat sonucunda gözle görülür bir azalma görülmektedir. 72 saat sonunda ise kontrole yakın bir değer bulunmuştur.



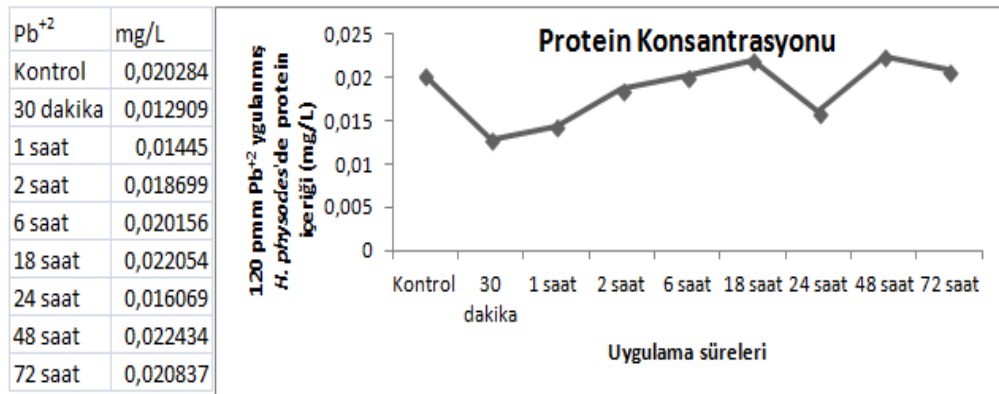
Şekil 4.12 30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.13’de verilmiştir. Şekil 4.13’de de görüldüğü gibi kontrol 0,02028 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucu 0,016342 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,012094 mg/L değeri bulunmuştur. Bekleme süresi olan 1 saat sonucunda kontrol örneğine göre bir artış gözlenirken 1 saat sonrasında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein miktarında azalma görülmektedir.



Şekil 4.13 60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.14’de verilmiştir. Şekil 4.14’de de görüldüğü gibi kontrol 0,020284 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucu 0,012909 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,020837 mg/L değeri bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda kontrol örneğine göre protein miktarında azalma gözlenirken 30 dakika sonrasında likenin direnç göstermeye başladığı görülmektedir. 72 saat sonrasında ise *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein miktarında kontrol örneğine göre yakın bir değer bulunmuştur.



Şekil 4.14 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

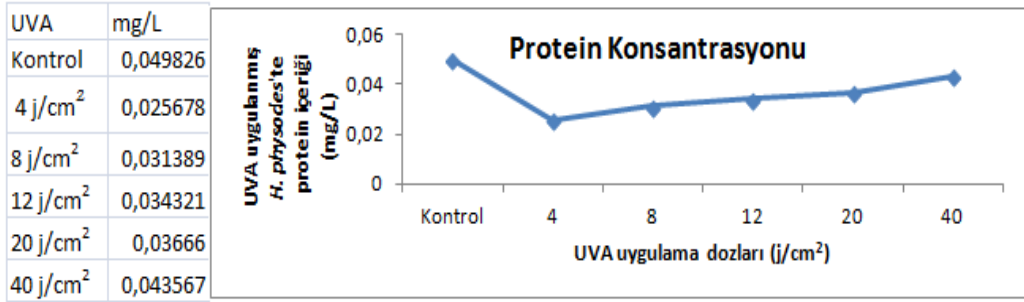
#### 4.2.3 *Hypogymnia physodes* liken türünün UV stresi (UVA, UVB, UVC, UVD (Daylight), UVA+UVD, UVA+UVB) altında toplam protein ölçümlerine ait bulgular

Bu tez kapsamında *H. physodes* liken türünde UV stresi altında (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVD, UVA+UVB) Bradford yöntemi ile total protein içeriğinin tespiti amaçlanmıştır. Çizelge 4.2’de çalışılan farklı dalga boylarında ve farklı tipteki UV ışını uygulamaları sonucunda *H. physodes* liken türündeki protein içeriğini spektrofotometrik ölçümler sonucunda elde edilen değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.2 *Hypogymnia physodes* liken türünde ağır metal stresi altında total protein içeriği

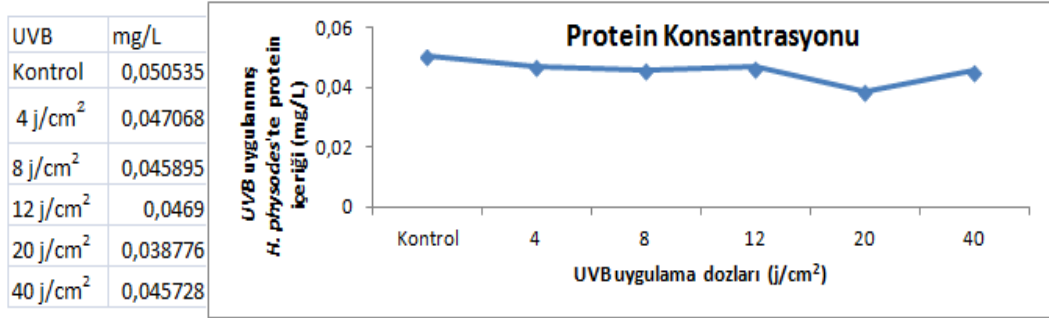
Toplam protein içeriği	<i>Hypogymnia physodes</i>					
	UVA	UVB	UVC	Daylight(UVD)	UVA+UVD	UVA+UVB
<b>Kontrol</b>	0,049826 (mg/L)	0,050535 (mg/L)	0,049033 (mg/L)	0,050619 (mg/L)	0,046654 (mg/L)	0,050074 (mg/L)
<b>4 j/cm<sup>2</sup></b>	0,025678 (mg/L)	0,047068 (mg/L)	0,033802 (mg/L)	0,032456 (mg/L)	0,038374 (mg/L)	0,042796 (mg/L)
<b>8 j/cm<sup>2</sup></b>	0,03139 (mg/L)	0,045895 (mg/L)	0,030842 (mg/L)	0,033489 (mg/L)	0,031244 (mg/L)	0,041624 (mg/L)
<b>12 j/cm<sup>2</sup></b>	0,034321 (mg/L)	0,0469 (mg/L)	0,031473 (mg/L)	0,032406 (mg/L)	0,033137 (mg/L)	0,042629 (mg/L)
<b>20 j/cm<sup>2</sup></b>	0,03666 (mg/L)	0,038776 (mg/L)	0,030312 (mg/L)	0,03733 (mg/L)	0,025069 (mg/L)	0,044974 (mg/L)
<b>40 j/cm<sup>2</sup></b>	0,043567 (mg/L)	0,045728 (mg/L)	0,021624 (mg/L)	0,035733 (mg/L)	0,0323 (mg/L)	0,041875 (mg/L)

UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.15’de verilmiştir. Şekil 4.15’de de görüldüğü gibi kontrol 0,049826 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 4 j/cm<sup>2</sup>’de 0,025678 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 0,043567 mg/L değeri bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 4 j/cm<sup>2</sup> içerisinde kontrol örneğine göre bir azalma görülürken en fazla bekleme süresi olan 40 j/cm<sup>2</sup>’de ise kontrole yakın bir değer bulunmuştur.



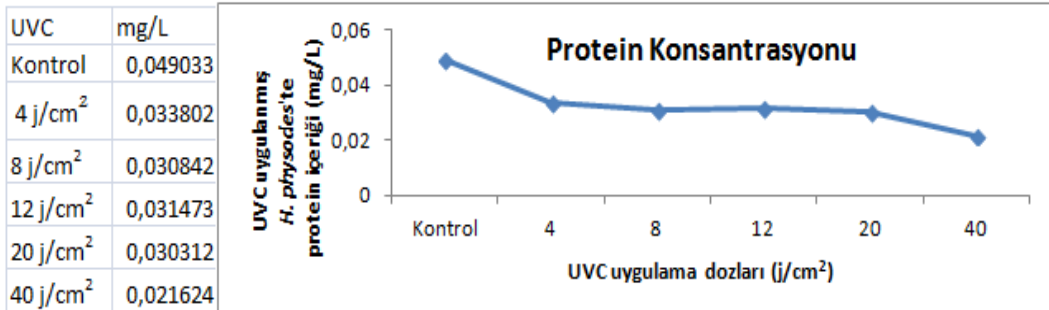
Şekil 4.15 UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.16’da verilmiştir. Şekil 4.16’da da görüldüğü gibi kontrol 0,050535 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 4 j/cm<sup>2</sup>’de 0,047068 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 0,045728 mg/L değeri bulunmuştur. Bütün parametrelerdeki *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein miktarları kontrol örneğine yakın bir değer çıkmakla birlikte azalma göstermiştir.



Şekil 4.16 UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

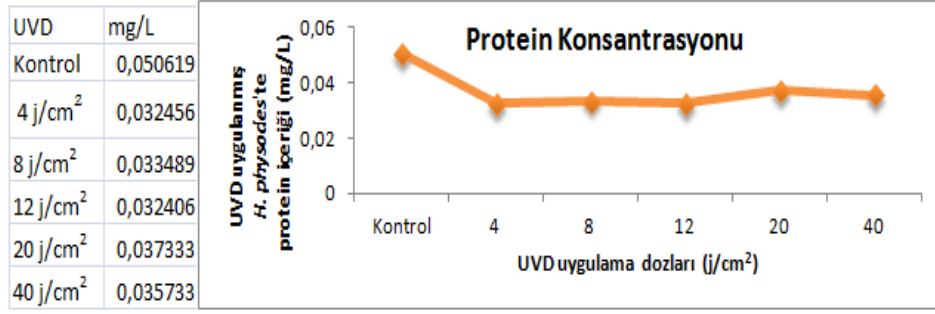
UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.17'de verilmiştir. Şekil 4.17'de de görüldüğü gibi kontrol 0,049033 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de 0,033802 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 0,021624 mg/L değeri bulunmuştur. Bütün parametrelerdeki *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein miktarları kontrol örneğine göre azalma göstermiştir.



Şekil 4.17 UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

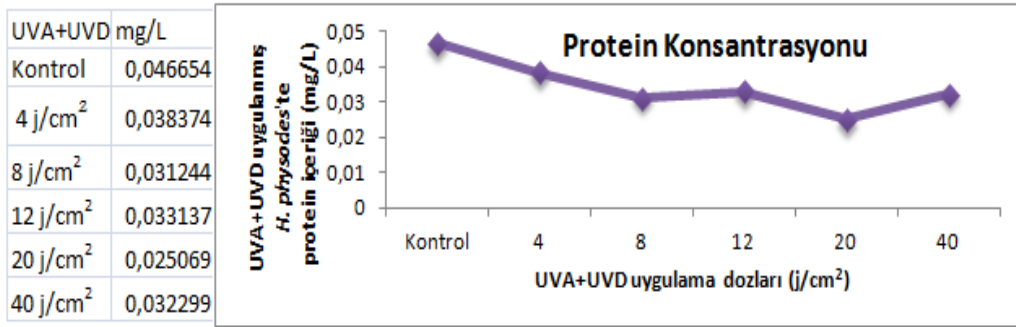
UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.18'de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 0,050619 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de 0,032456 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 0,035733 mg/L değeri bulunmuştur. Bütün parametrelerdeki *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein miktarları kontrol örneğine göre azalma göstermiştir.





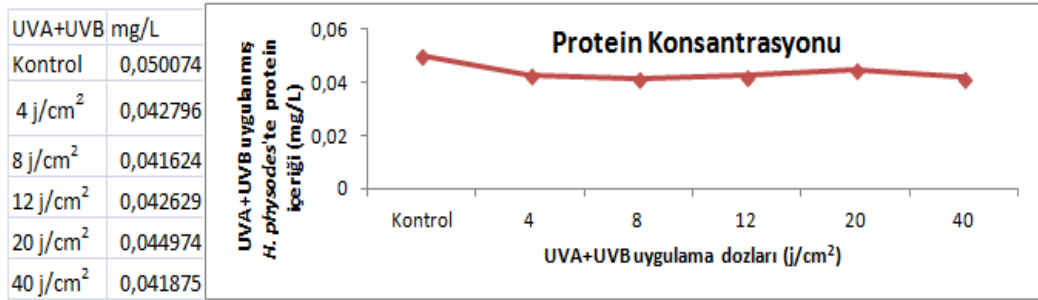
Şekil 4.18 UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

UVA+UVD radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.19'da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 0,046654 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de 0,038374 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 0,032300 mg/L değeri bulunmuştur. Bekleme sürelerine bağlı olarak bütün parametrelerdeki *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein miktarları kontrol örneğine göre azalma göstermiştir.



Şekil 4.19 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

UVA+UVB radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein ölçümleri şekil 4.20’de verilmiştir. Şekil 4.20’de de görüldüğü gibi kontrol 0,050074 mg/L bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 4 j/cm<sup>2</sup>’de 0,042796 mg/L değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 0,041875 mg/L değeri bulunmuştur. 4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup> UVA+UVB uygulanmış örnekler arasında belirgin bir artış ya da azalma görülmezken kontrol örneğine göre azalma görülmektedir.



Şekil 4.20 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein içeriği ölçümleri

### 4.3 *Hypogymnia Physodes* Liken Türünün Krom (Cr<sup>+6</sup>) ve Kurşun (Pb<sup>+2</sup>) ile UV Stresi Altında Klorofil Ölçümlerine Ait Bulgular

#### 4.3.1 *Hypogymnia physodes* liken türünün krom (Cr<sup>+6</sup>) ve kurşun (Pb<sup>+2</sup>) stresi altında klorofil a ölçümlerine ait bulgular

Bu tez kapsamında *Hypogymnia physodes* liken türünde 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> ağır metal stresine karşı klorofil-a içeriği çizelge 4.3’de verilmiştir. Klorofil-a miktarı Arnon denklemine göre belirlenmiştir (Arnon 1949).

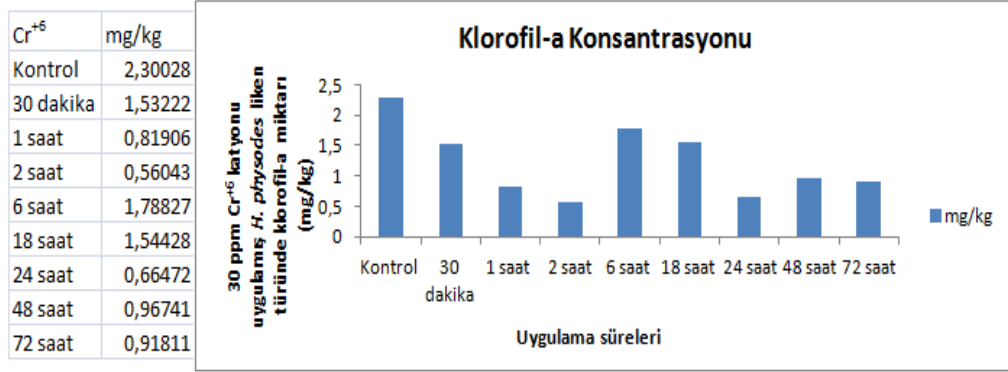
Çizelge 4.3 *Hypogymnia physodes* liken türünde ağır metal stresi altında klorofil-a içeriği

Toplam klorofil-a içeriği	<i>Hypogymnia physodes</i>					
	30 ppm Cr <sup>+6</sup>	60 ppm Cr <sup>+6</sup>	120 ppm Cr <sup>+6</sup>	30 ppm Pb <sup>+2</sup>	60 ppm Pb <sup>+2</sup>	120 ppm Pb <sup>+2</sup>
<b>Kontrol</b>	2,3002 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)	2,3002 (mg/kg)
<b>30 dakika</b>	1,5322 (mg/kg)	1,06111 (mg/kg)	1,4612 (mg/kg)	2,19079 (mg/kg)	2,23096 (mg/kg)	1,4946 (mg/kg)
<b>1 saat</b>	0,8190 (mg/kg)	1,4433 (mg/kg)	0,88181 (mg/kg)	0,53175 (mg/kg)	1,33495 (mg/kg)	0,7733 (mg/kg)
<b>2 saat</b>	0,5604 (mg/kg)	1,53533 (mg/kg)	1,85177 (mg/kg)	1,76851 (mg/kg)	1,32838 (mg/kg)	1,3195 (mg/kg)
<b>6 saat</b>	1,7882 (mg/kg)	0,80755 (mg/kg)	0,47272 (mg/kg)	1,45344 (mg/kg)	0,56087 (mg/kg)	0,8815 (mg/kg)
<b>18 saat</b>	1,5442 (mg/kg)	0,58208 (mg/kg)	0,80874 (mg/kg)	1,08933 (mg/kg)	1,41115 (mg/kg)	0,9239 (mg/kg)
<b>24 saat</b>	0,6647 (mg/kg)	0,92811 (mg/kg)	1,08276 (mg/kg)	1,1527 (mg/kg)	1,38425 (mg/kg)	1,4373 (mg/kg)
<b>48 saat</b>	0,9674 (mg/kg)	1,6405 (mg/kg)	0,55968 (mg/kg)	1,6883 (mg/kg)	2,59013 (mg/kg)	0,6791 (mg/kg)
<b>72 saat</b>	0,9181 (mg/kg)	1,0608 (mg/kg)	0,40415 (mg/kg)	2,20093 (mg/kg)	1,2147 (mg/kg)	1,8514 (mg/kg)

#### 4.3.1.1 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonunun *Hypogymnia physodes* liken türünde klorofil a ölçümlerine ait bulgular

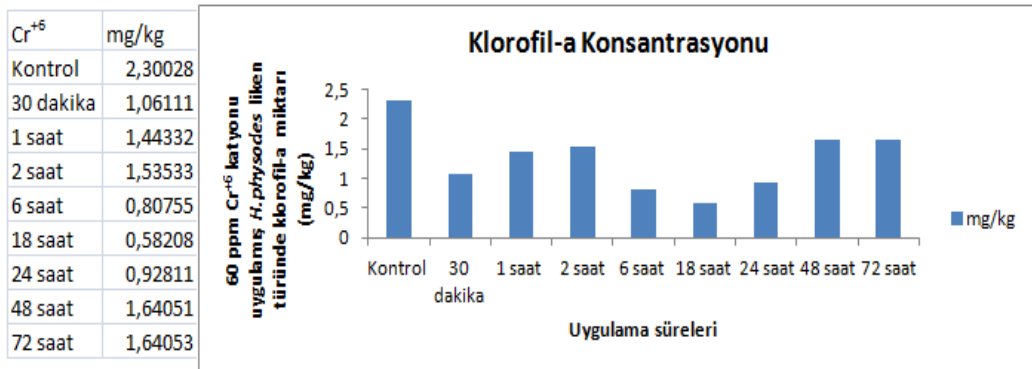
30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.21’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-a miktarı 1,5322 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,9181 mg/kg değeri bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonunda klorofil-a miktarında

büyük oranda azalma gözlenmiştir. Diğer bekleme süreleri sonunda da kontrol örneğine göre miktarlar azalmaktadır.



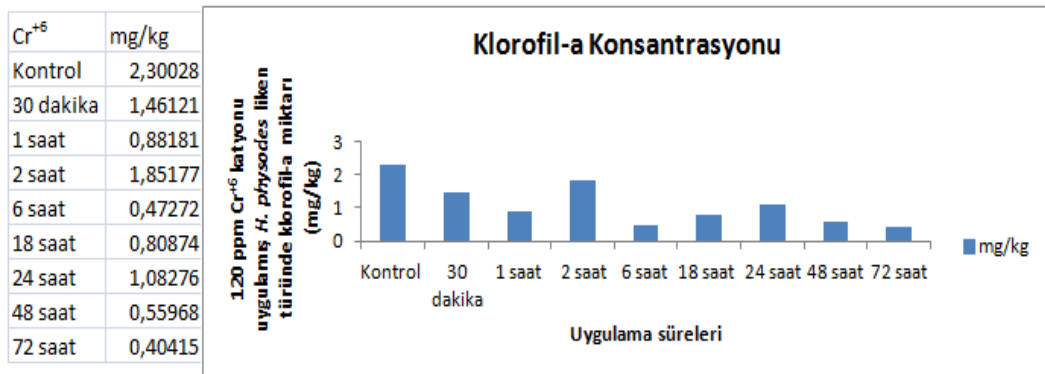
Şekil 4.21 30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri

60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.22’de verilmiştir. Şekil 4.22’de de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucu klorofil-a miktarı 1,06111 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 1,0608 mg/kg değeri bulunmuştur. 60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriğindeki bütün bekleme sürelerindeki miktar kontrol örneğine göre azalma göstermiştir.



Şekil 4.22 60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri

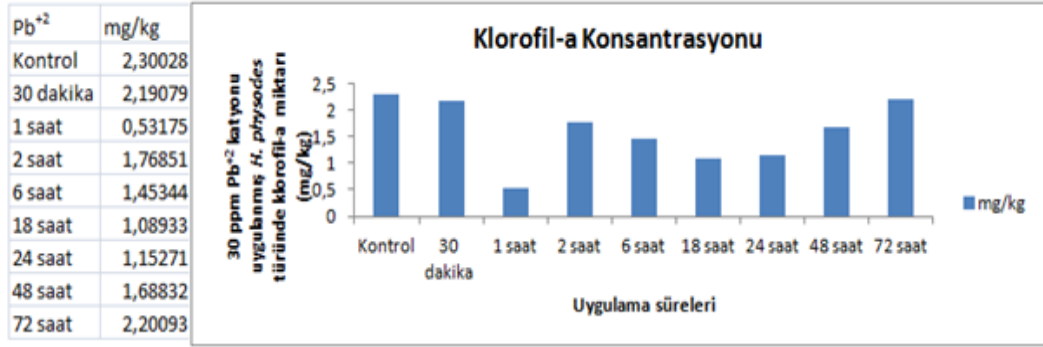
120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.23'de verilmiştir. Şekil 4.23'de de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-a miktarı 1,4612 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,40415 mg/kg değeri bulunmuştur. 60 ppm Cr<sup>+6</sup> uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriğindeki bütün bekleme sürelerindeki miktarlar kontrol örneğine göre azalma göstermiştir. Klorofil-a miktarının en az olduğu bekleme süresi 72 saat olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.23 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri

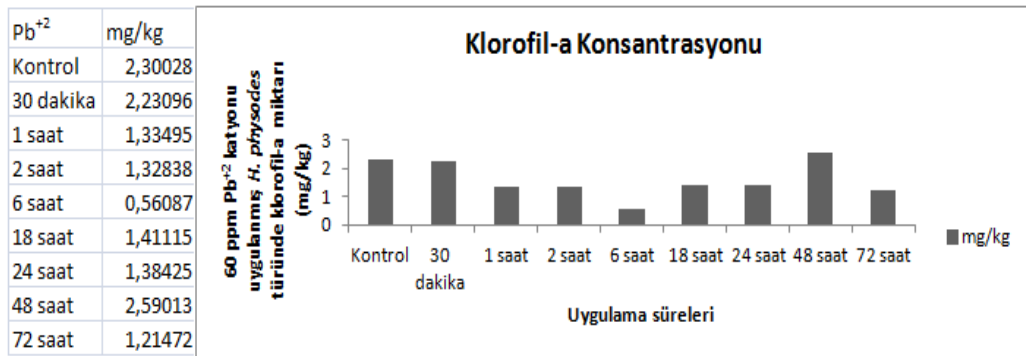
#### 4.3.1.2 30, 60 ve 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonunun *Hypogymnia physodes* liken türünde klorofil a ölçümlerine ait bulgular

30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.24'de verilmiştir. Şekil 4.24'de de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-a miktarı 2,19079 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 2,20093 mg/kg değeri bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika ve en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonucunda klorofil-a oranı kontrole göre yakın bir değer bulunmuştur. Diğer bekleme sürelerinde ise kontrole göre büyük miktarda azalmalar mevcuttur.



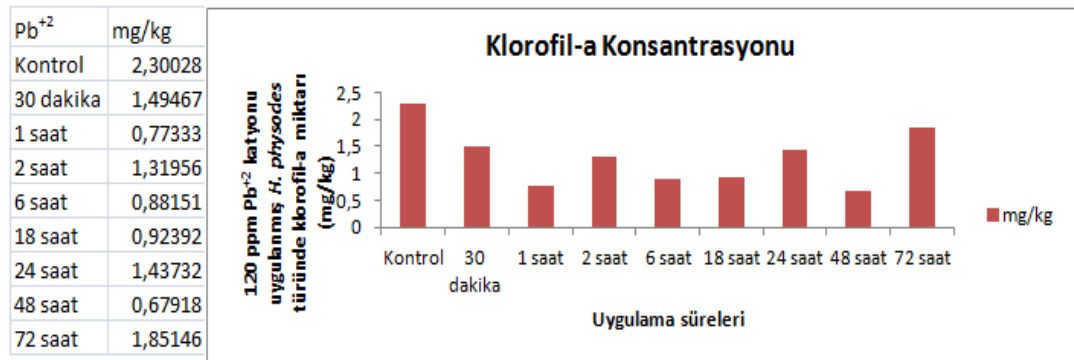
Şekil 4.24 30 ppm Pb<sup>2+</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri

60 ppm Pb<sup>2+</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.25’de verilmiştir. Şekil 4.25’de de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-a miktarı 2,23096 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 1,2147 mg/kg değeri bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-a oranı kontrol örneğine göre yakın bir değer bulunurken bekleme süresi olan 48 saat sonucunda *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a oranı kontrol örneğine göre artış gözlenmiştir. Diğer bekleme sürelerinde ise kontrole göre ciddi oranda azalmalar görülmektedir.



Şekil 4.25 60 ppm Pb<sup>2+</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri

120 ppm  $Pb^{+2}$  katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.26'da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-a miktarı 1,49467 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 1,85146 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün bekleme sürelerinde *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a oranı kontrol örneğine göre azalma göstermiştir.



Şekil 4.26 120 ppm  $Pb^{+2}$  katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-a içeriği ölçümleri

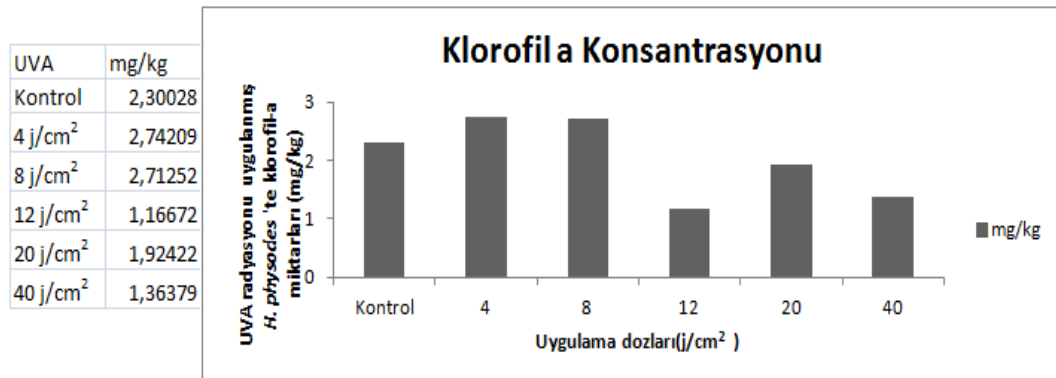
#### 4.3.1.3 *Hypogymnia physodes* liken türünün UV stresi (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD) altında klorofil a ölçümlerine ait bulgular

Bu tez kapsamında *H. physodes* liken türünde UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD stresine karşı total klorofil-a içeriği çizelge 4.4'de verilmiştir. Total klorofil-a miktarı Arnon denkleminde göre belirlenmiştir (Arnon 1949).

Çizelge 4.4 *Hypogymnia physodes* liken türünde UV stresi altında total klorofil-a içeriği

Toplam klorofil-a içeriği	<i>Hypogymnia physodes</i>					
	UVA	UVB	UVC	Daylight( UVD)	UVA+UVD	UVA+UV B
<b>Kontrol</b>	2,30028 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)	2,30028 (mg/kg)
<b>4 j/cm<sup>2</sup></b>	2,74209 (mg/kg)	2,98233 (mg/kg)	5,32521 (mg/kg)	1,95769 (mg/kg)	1,38994 (mg/kg)	1,00131 (mg/kg)
<b>8 j/cm<sup>2</sup></b>	2,7125 (mg/kg)	4,98425 (mg/kg)	5,44683 (mg/kg)	3,16445 (mg/kg)	3,69785 (mg/kg)	5,15667 (mg/kg)
<b>12 j/cm<sup>2</sup></b>	1,16672 (mg/kg)	4,89879 (mg/kg)	2,83053 (mg/kg)	3,38873 (mg/kg)	3,93646 (mg/kg)	4,72205 (mg/kg)
<b>20 j/cm<sup>2</sup></b>	1,92422 (mg/kg)	9,16527 (mg/kg)	3,20868 (mg/kg)	2,59044 (mg/kg)	6,11349 (mg/kg)	4,02924 (mg/kg)
<b>40 j/cm<sup>2</sup></b>	1,36379 (mg/kg)	6,66435 (mg/kg)	9,05102 (mg/kg)	2,69398 (mg/kg)	7,77101 (mg/kg)	4,76033 (mg/kg)

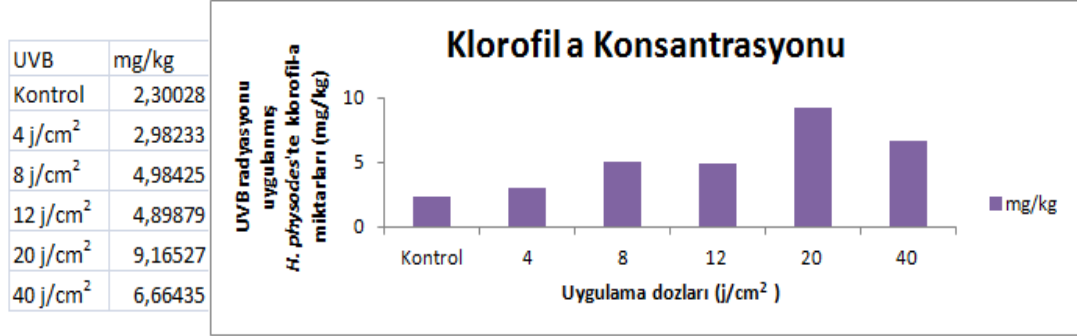
UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.27’de verilmiştir. Şekil 4.27’de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 2,74209 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 1,36379 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> ile 8 j/cm<sup>2</sup> sonunda *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriğinde kontrol örneğine göre bir artış gözlenmiş 8 j/cm<sup>2</sup> sonrasında ise klorofil-a içeriği azalmaya başlamıştır.



Şekil 4.27 UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri

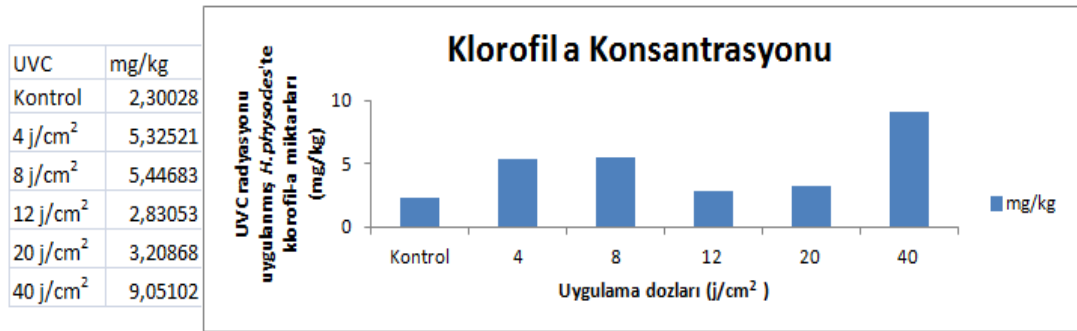


UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.28’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 2,98233 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 6,66435 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün uygulama dozlarında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a miktarları kontrol örneğine göre bir artış gözlenmiştir.



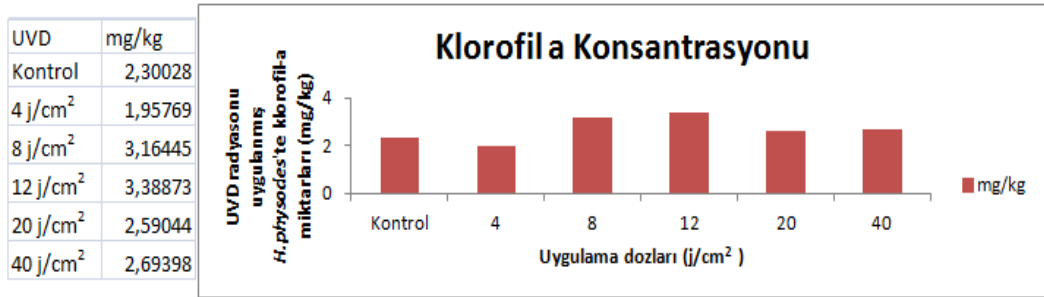
Şekil 4.28 UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri

UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.29’da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 5,32521 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 9,05102 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün uygulama dozlarında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a miktarlarında kontrol örneğine göre bir artış gözlenmiştir.



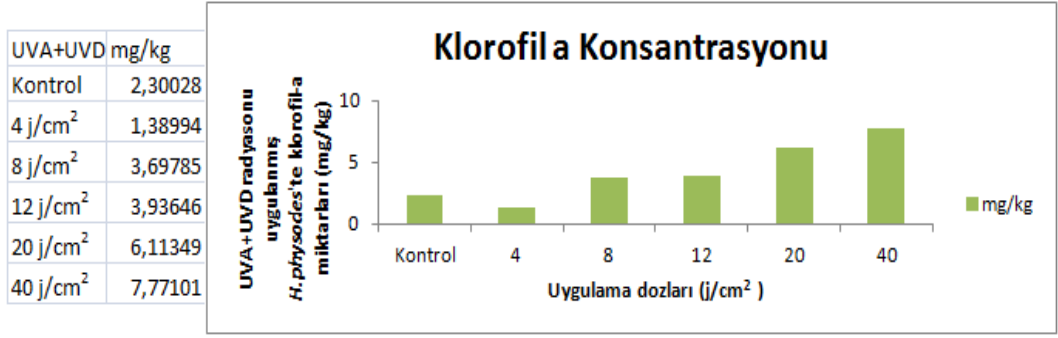
Şekil 4.29 UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri

UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.30'da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 1,95769 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 2,69398 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında klorofil-a içeriği artmaya başlamıştır ve en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise kontrole yakın bir değer bulunmuştur.



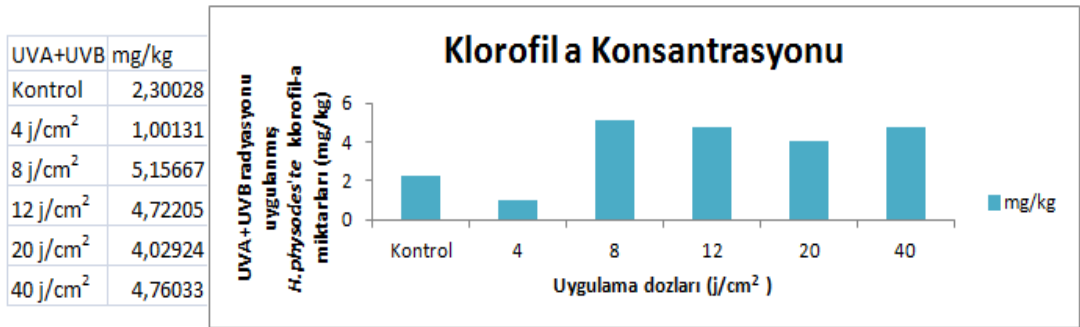
Şekil 4.30 UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri

UVA+UVD radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.31'de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 1,38994 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 7,77101 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında klorofil-a içeriği artmaya başlamıştır ve en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise kontrole göre ciddi bir artış gözlenmiştir.



Şekil 4.31 UVA+UVD radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri

UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a ölçümleri şekil 4.32’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 2,30028 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 1,00131 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 4,76033 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>’de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre bir azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında klorofil-a içeriği artmaya başlamıştır ve en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise kontrol örneğine göre ciddi oranda artış gözlenmiştir.



Şekil 4.32 UVA+UVB radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-a içeriği ölçümleri

#### 4.3.2 *Hypogymnia physodes* liken türünün krom ( $Cr^{+6}$ ) ve kurşun ( $Pb^{+2}$ ) stresi altında klorofil b ölçümlerine ait bulgular

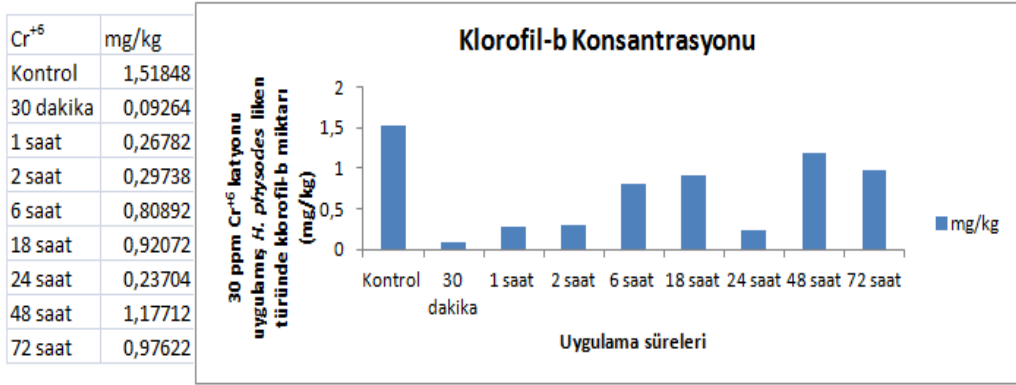
Bu tez kapsamında *Hypogymnia physodes* liken türünde 30, 60 ve 120 ppm  $Cr^{+6}$  ve  $Pb^{+2}$  ağır metal stresine karşı total klorofil-b içeriği çizelge 4.5’de verilmiştir. Total klorofil-b miktarı Arnon denkleminde göre belirlenmiştir (Arnon 1949).

Çizelge 4.5 *H. physodes* liken türünde ağır metal stresi altında total klorofil-b içeriği

Toplam klorofil-b içeriği	<i>Hypogymnia physodes</i>					
	30 ppm $Cr^{+6}$	60 ppm $Cr^{+6}$	120 ppm $Cr^{+6}$	30 ppm $Pb^{+2}$	60 ppm $Pb^{+2}$	120 ppm $Pb^{+2}$
<b>Kontrol</b>	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)
<b>30 dakika</b>	0,09264 (mg/kg)	0,06906 (mg/kg)	1,21424 (mg/kg)	0,4853 (mg/kg)	1,28112 (mg/kg)	1,13618 (mg/kg)
<b>1 saat</b>	0,2678 (mg/kg)	0,1254 (mg/kg)	0,35422 (mg/kg)	5,60986 (mg/kg)	1,15122 (mg/kg)	0,6571 (mg/kg)
<b>2 saat</b>	0,29738 (mg/kg)	0,3763 (mg/kg)	0,7855 (mg/kg)	2,21834 (mg/kg)	1,00028 (mg/kg)	1,1788 (mg/kg)
<b>6 saat</b>	0,8089 (mg/kg)	0,46922 (mg/kg)	0,52688 (mg/kg)	0,86656 (mg/kg)	0,60394 (mg/kg)	0,7706 (mg/kg)
<b>18 saat</b>	0,92072 (mg/kg)	0,83712 (mg/kg)	0,66596 (mg/kg)	0,75974 (mg/kg)	1,12314 (mg/kg)	1,23696 (mg/kg)
<b>24 saat</b>	0,23704 (mg/kg)	0,99442 (mg/kg)	0,6088 (mg/kg)	0,0134 (mg/kg)	1,35214 (mg/kg)	1,00396 (mg/kg)
<b>48 saat</b>	1,17712 (mg/kg)	0,92908 (mg/kg)	0,4072 (mg/kg)	1,34964 (mg/kg)	1,7403 (mg/kg)	1,4586 (mg/kg)
<b>72 saat</b>	0,9762 (mg/kg)	0,48544 (mg/kg)	0,1797 (mg/kg)	1,22646 (mg/kg)	0,20964 (mg/kg)	1,20188 (mg/kg)

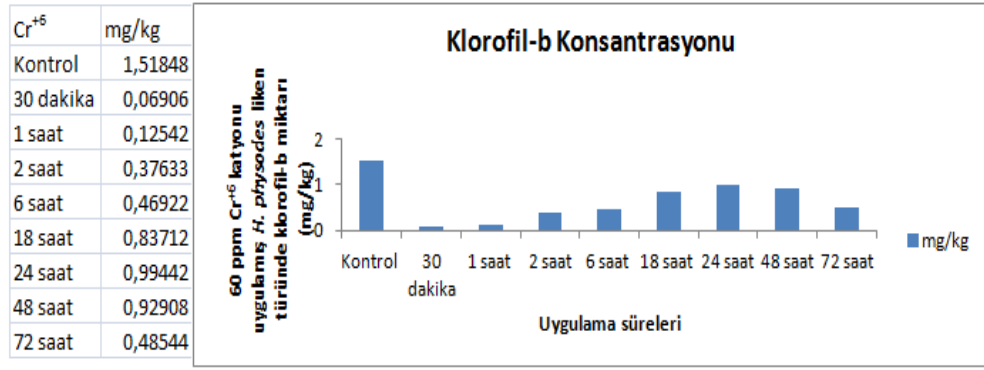
#### 4.3.2.1 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonunun *Hypogymnia physodes* liken türünde klorofil-b ölçümlerine ait bulgular

30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.33'de verilmiştir. Şekil 4.33'de de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-b miktarı 0,09264 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,9762 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün bekleme sürelerinde klorofil-b miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiştir.



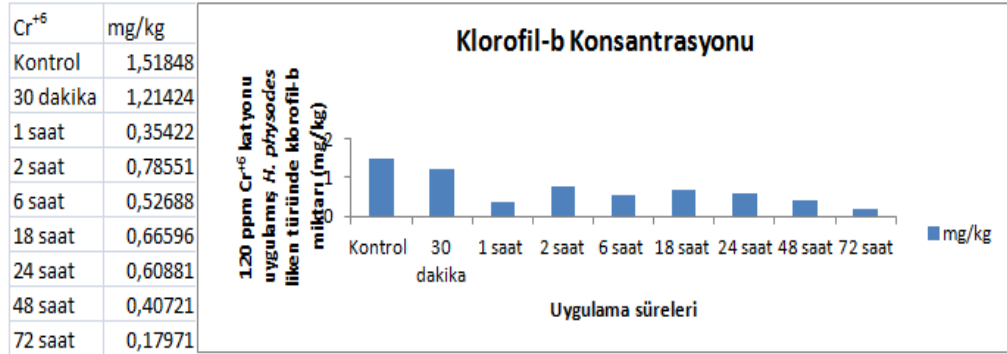
Şekil 4.33 30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri

60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.34'de verilmiştir. Şekil 4.34'de de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-b miktarı 0,06906 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,48544 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün bekleme sürelerinde klorofil-b miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiştir.



Şekil 4.34 60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri

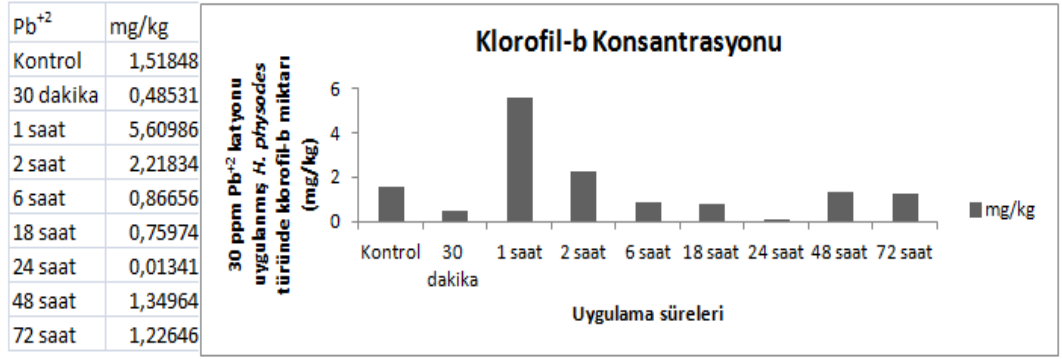
120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.35 'de verilmiştir. Şekil 4.35'de de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-b miktarı 1,21424 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,1797 mg/kg değeri bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-b miktarı kontrol örneğine göre yakın bir değerde bulunmuş 30 dakika sonrasındaki diğer bekleme sürelerinde ciddi oranda azalmalar gözlenmiştir.



Şekil 4.35 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri

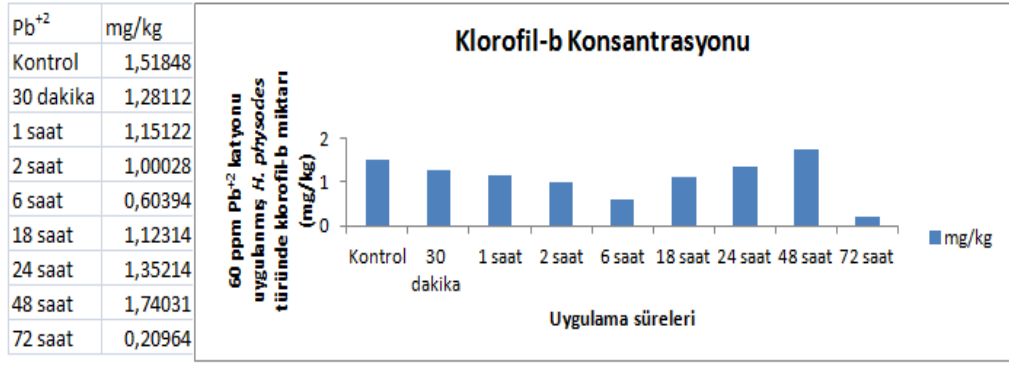
#### 4.3.2.2 30, 60 ve 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonunun *Hypogymnia physodes* liken türünde klorofil b ölçümlerine ait bulgular

30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.36’da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-b miktarı 0,4853 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 1,22646 mg/kg değeri bulunmuştur. Bekleme süresi 1 saat olan klorofil-b miktarında kontrol örneğine göre ciddi oranda artış gözlenmiş, diğer bekleme sürelerinde ise azalmalar gözlenmiştir.



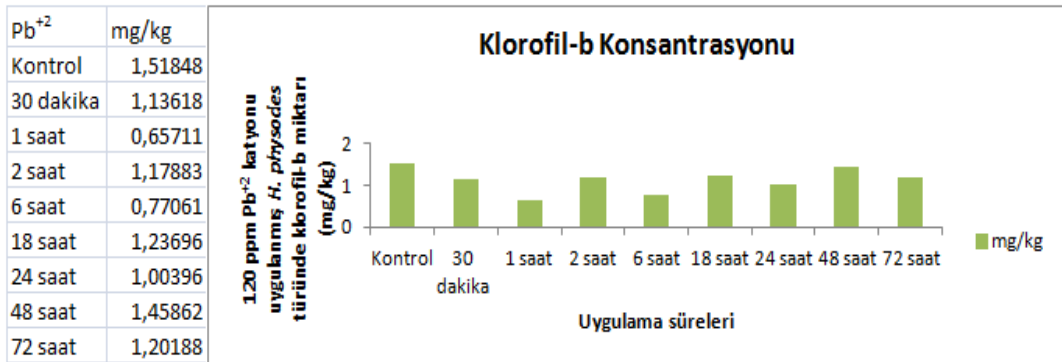
Şekil 4.36 30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri

60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.37’de verilmiştir. Şekil 4.37’de de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-b miktarı 1,28112 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,20964 mg/kg değeri bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonunda klorofil-b miktarı kontrole göre yakın bir değerde bulunmuş 48 saatte ise artış gözlenmiştir.



Şekil 4.37 60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri

120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.38’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda klorofil-b miktarı 1,13618 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 1,20188 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün bekleme sürelerinde klorofil-b miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiştir.



Şekil 4.38 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil-b içeriği ölçümleri



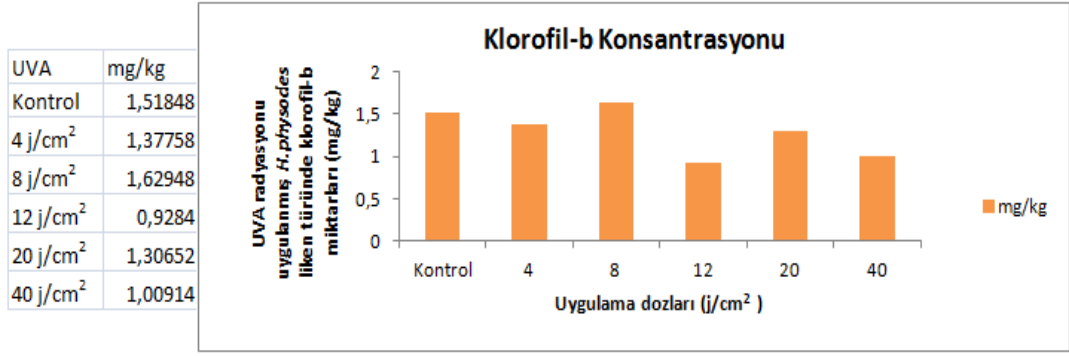
#### 4.3.2.3 *Hypogymnia physodes* liken türünün UV stresi (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD) altında klorofil b ölçümlerine ait bulgular

Bu tez kapsamında *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD stresine karşı total klorofil-b içeriği çizelge 4.6'da verilmiştir. Total klorofil-b miktarı Arnon denkleminde göre belirlenmiştir (Arnon 1949).

Çizelge 4.6 *Hypogymnia physodes* liken türünde UV stresi altında total klorofil-b içeriği

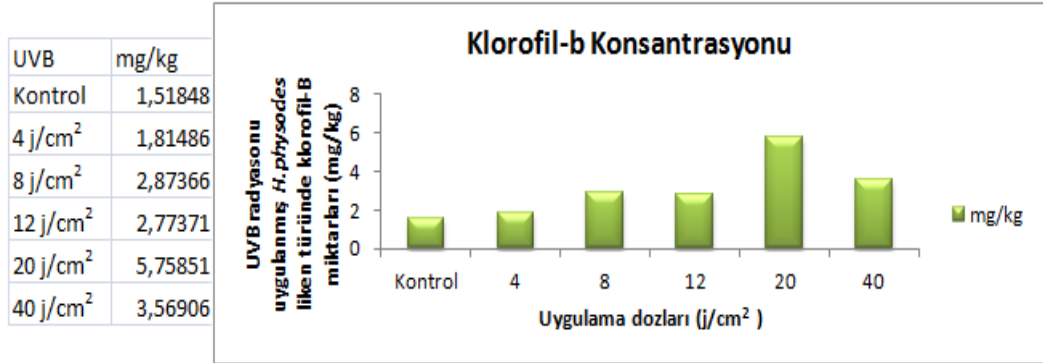
Toplam klorofil-b içeriği	<i>Hypogymnia physodes</i>					
	UVA	UVB	UVC	Daylight(UVD)	UVA+UVD	UVA+UVB
<b>Kontrol</b>	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)	1,51848 (mg/kg)
<b>4 j/cm<sup>2</sup></b>	1,37758 (mg/kg)	1,81486 (mg/kg)	2,66038 (mg/kg)	1,22846 (mg/kg)	0,88996 (mg/kg)	1,40562 (mg/kg)
<b>8 j/cm<sup>2</sup></b>	1,62948 (mg/kg)	2,87366 (mg/kg)	2,65938 (mg/kg)	2,22974 (mg/kg)	2,03318 (mg/kg)	2,85394 (mg/kg)
<b>12 j/cm<sup>2</sup></b>	0,9284 (mg/kg)	2,7737 (mg/kg)	7,34798 (mg/kg)	1,6651 (mg/kg)	1,96716 (mg/kg)	2,31302 (mg/kg)
<b>20 j/cm<sup>2</sup></b>	1,30652 (mg/kg)	5,7585 (mg/kg)	2,06008 (mg/kg)	1,32392 (mg/kg)	2,98334 (mg/kg)	2,10824 (mg/kg)
<b>40 j/cm<sup>2</sup></b>	1,00914 (mg/kg)	3,56906 (mg/kg)	3,93836 (mg/kg)	1,3734 (mg/kg)	4,38814 (mg/kg)	1,15966 (mg/kg)

UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.39'da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 1,37758 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 1,00914 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiş 8 j/cm<sup>2</sup>'de ise klorofil-b miktarı artmıştır. En fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise klorofil içeriği kontrol örneğine göre azalma göstermiştir.



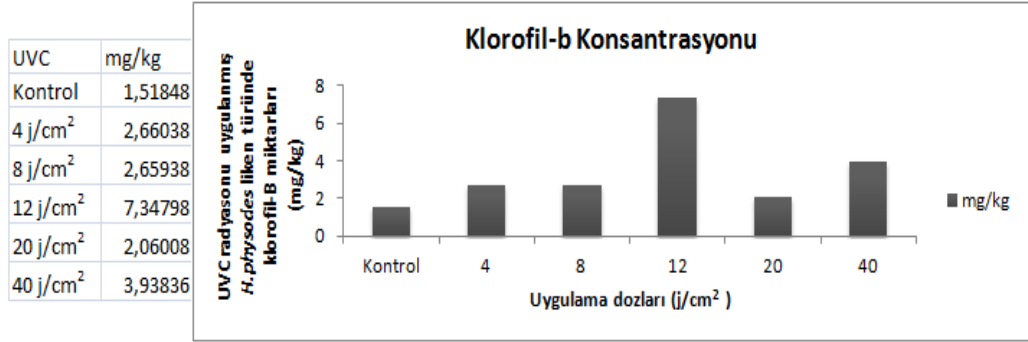
Şekil 4.39 UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri

UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.40'da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 1,81486 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 3,56906 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre artış gözlenmiş ve 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında da *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği artmaya devam etmiştir.



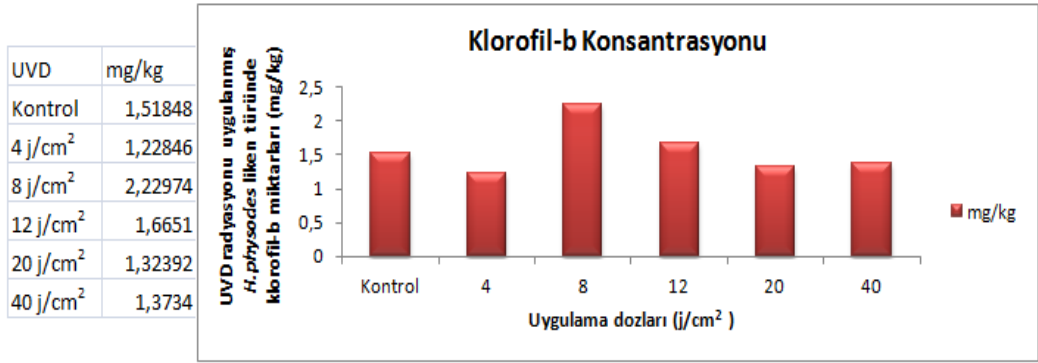
Şekil 4.40 UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri

UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.41’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 2,66038 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 3,93836 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>,de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre bir artış gözlenmiş ve 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında da *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği artmaya devam etmiştir.



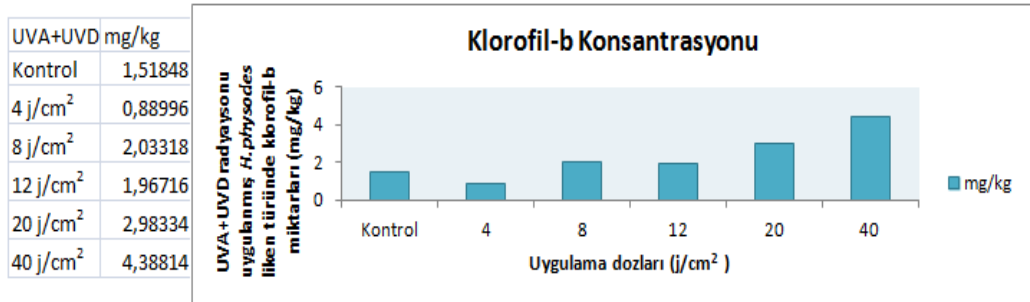
Şekil 4.41 UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri

UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.42’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 1,22846 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 1,3734 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>,de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre bir azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği artmaya başlamıştır ve en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise klorofil-b içeriği kontrole yakın bir değerde bulunmuştur.



Şekil 4.42 UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri

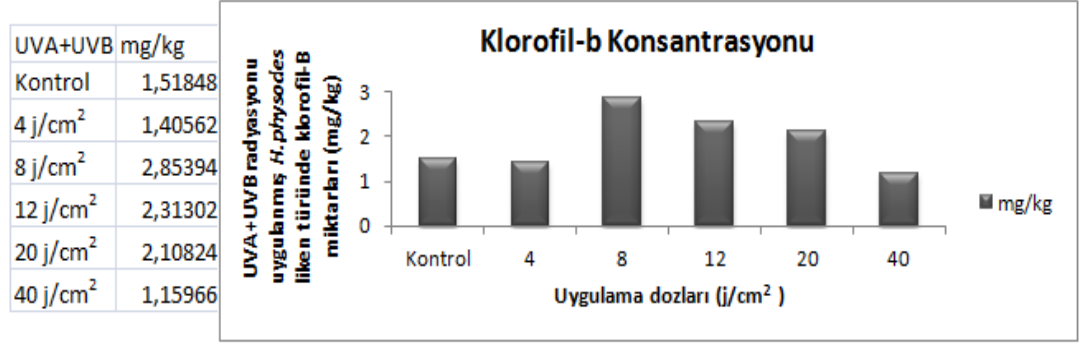
UVA+UVD radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.43’de verilmiştir. Şekil 4.43’de de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 0,88996 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 4,38814 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>,de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği artmaya başlamıştır ve en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise klorofil-b içeriğinde kontrol örneğine göre ciddi oranda artış gözlenmiştir.



Şekil 4.43 UVA+UVD radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri

UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b ölçümleri şekil 4.44’de verilmiştir. Şekil 4.44’de de görüldüğü gibi kontrol 1,51848 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 1,40562 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 1,15966 mg/kg değeri

bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği artmaya başlamıştır ve en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise klorofil-b içeriği kontrole yakın bir değerde bulunmuştur.



Şekil 4.44 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil-b içeriği ölçümleri

#### 4.3.3 *Hypogymnia physodes* liken türünün krom (Cr<sup>+6</sup>) ve kurşun (Pb<sup>+2</sup>) stresi altında toplam klorofil ölçümlerine ait bulgular

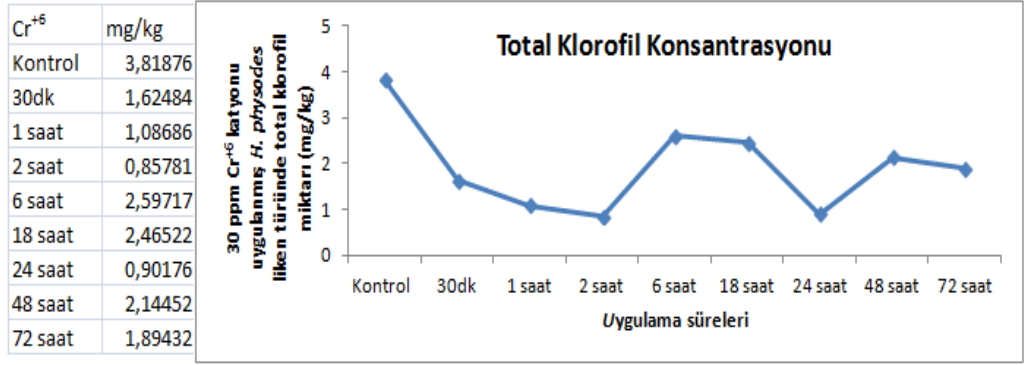
Bu tez kapsamında *Hypogymnia physodes* liken türünde 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> ağır metal stresine karşı total klorofil içeriği çizelge 4.7'de verilmiştir. Total klorofil miktarı Arnon denklemine göre belirlenmiştir (Arnon 1949).

Çizelge 4.7 *H. physodes* liken türünde ağır metal stresi altında total klorofil içeriği

Toplam klorofil içeriği	<i>Hypogymnia physodes</i>					
	30 ppm Cr <sup>+6</sup>	60 ppm Cr <sup>+6</sup>	120 ppm Cr <sup>+6</sup>	30 ppm Pb <sup>+2</sup>	60 ppm Pb <sup>+2</sup>	120 ppm Pb <sup>+2</sup>
<b>Kontrol</b>	3,81876 mg/kg	3,81876 mg/kg	3,81876 mg/kg	3,81876 mg/kg	3,81876 mg/kg	3,81876 mg/kg
<b>30 dakika</b>	1,62484 mg/kg	1,13017 mg/kg	2,67544 mg/kg	2,67609 mg/kg	3,51208 mg/kg	2,63085 mg/kg
<b>1 saat</b>	1,08686 mg/kg	1,5687 mg/kg	1,23603 mg/kg	6,14161 mg/kg	2,48617 mg/kg	1,43043 mg/kg
<b>2 saat</b>	0,85781 mg/kg	1,91163 mg/kg	2,63727 mg/kg	3,98685 mg/kg	2,32866 mg/kg	2,49836 mg/kg
<b>6 saat</b>	2,59717 mg/kg	1,27677 mg/kg	0,9996 mg/kg	2,32 mg/kg	1,16481 mg/kg	1,6521 mg/kg
<b>18 saat</b>	2,465 mg/kg	1,4192 mg/kg	1,4747 mg/kg	1,84907 mg/kg	2,53429 mg/kg	2,16088 mg/kg
<b>24 saat</b>	0,90176 mg/kg	1,92253 mg/kg	1,69156 mg/kg	1,1661 mg/kg	2,73639 mg/kg	2,44126 mg/kg
<b>48 saat</b>	2,14452 mg/kg	2,56958 mg/kg	0,96688 mg/kg	3,03794 mg/kg	4,33043 mg/kg	2,13778 mg/kg
<b>72 saat</b>	1,8943 mg/kg	1,54624 mg/kg	0,58385 mg/kg	3,42739 mg/kg	1,42434 mg/kg	3,05334 mg/kg

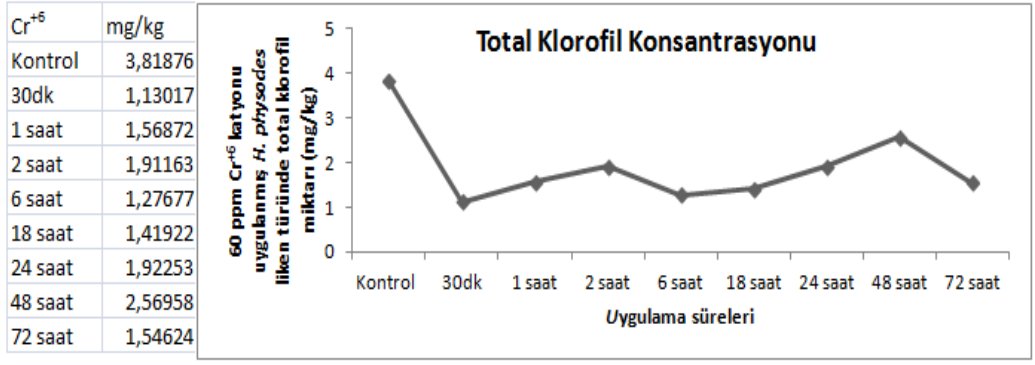
#### 4.3.3.1 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonunun *Hypogymnia physodes* liken türünde toplam klorofil ölçümlerine ait bulgular

30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.45'te verilmiştir. Şekil 4.45'te de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda total klorofil miktarı 1,62484 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 1,8943 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün bekleme sürelerinde total klorofil miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiştir.



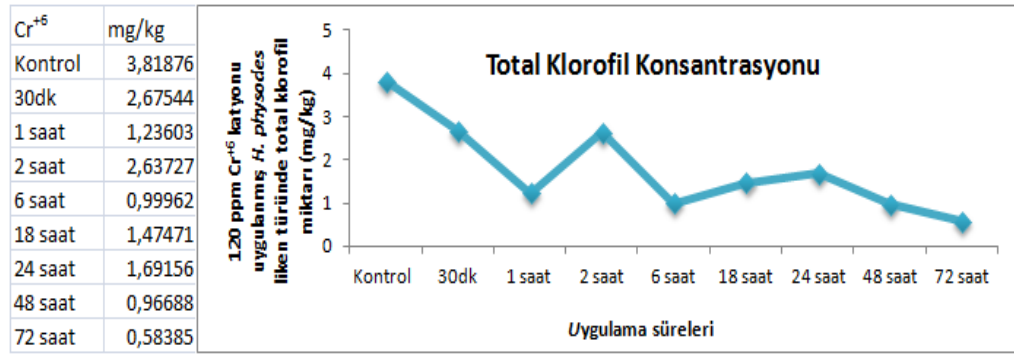
Şekil 4.45 30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.46'da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda total klorofil miktarı 1,13017 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 1,54624 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün bekleme sürelerinde total klorofil miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiştir.



Şekil 4.46 60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.47’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda total klorofil miktarı 2,67544 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 0,58385 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün bekleme sürelerinde total klorofil miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiştir.

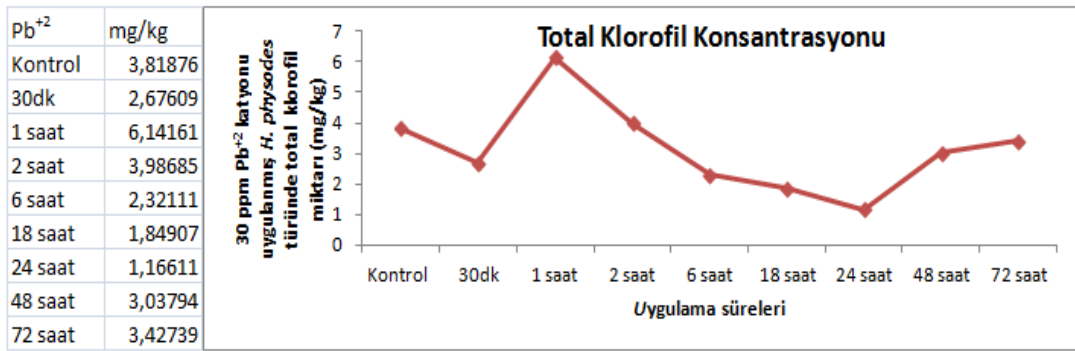


Şekil 4.47 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri



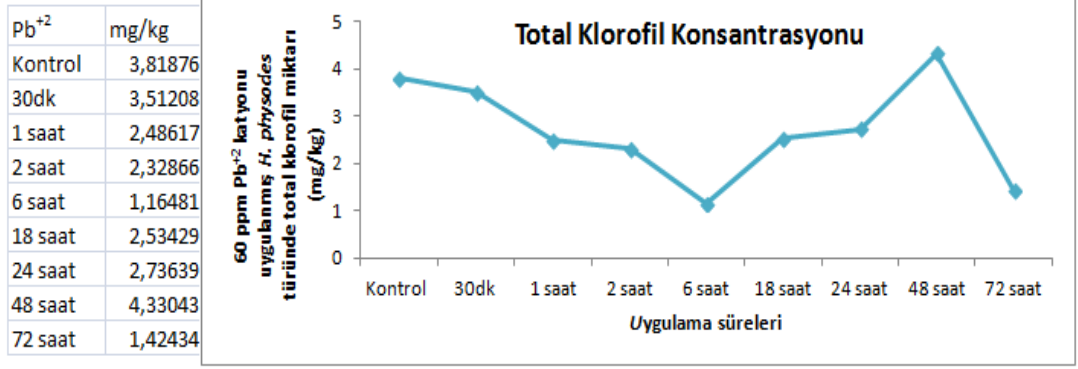
#### 4.3.3.2 30, 60 ve 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonunun *Hypogymnia physodes* liken türünde toplam klorofil ölçümlerine ait bulgular

30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.48’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda total klorofil miktarı 2,67609 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 3,42739 mg/kg değeri bulunmuştur. 1 saat olan bekleme süresinde *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil miktarında kontrol örneğine göre bir artış gözlenmiş 1 saatten sonra total klorofil içeriği azalmaya başlamıştır ve en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda total klorofil miktarı kontrol örneğine yakın bir değerde bulunmuştur.



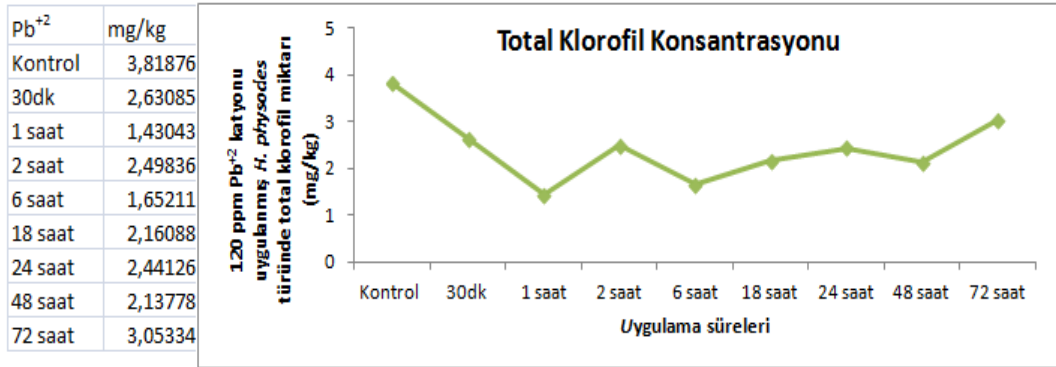
Şekil 4.48 30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.49’da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda total klorofil miktarı 3,51208 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 1,42434 mg/kg değeri bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakikada total klorofil içeriği kontrol örneğine yakın bir değerde bulunmuş, 48 saat olan bekleme süresinde *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil miktarında kontrol örneğine göre bir artış gözlenmiş diğer bekleme sürelerinde ise total klorofil içeriği kontrol örneğine göre azalmaya başlamıştır.



Şekil 4.49 60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.50’de verilmiştir. Şekil 4.50’de de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az bekleme süresi olan 30 dakika sonucunda total klorofil miktarı 2,63085 mg/kg değeri bulunup en fazla bekleme süresi olan 72 saat sonunda ise 3,05334 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün bekleme sürelerinde total klorofil miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiştir.



Şekil 4.50 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

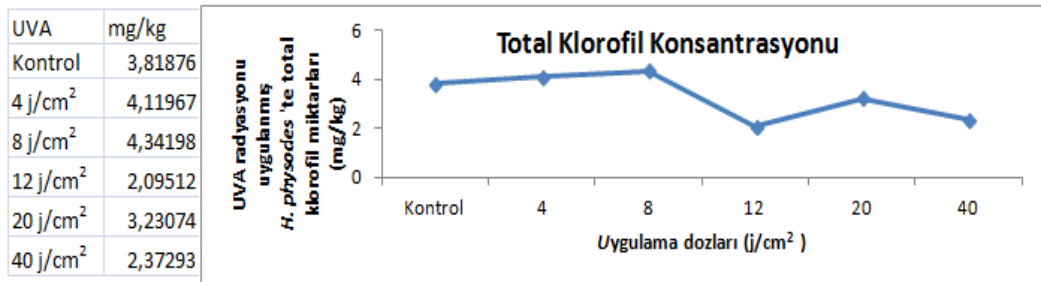
#### 4.3.3.3 *Hypogymnia physodes* liken türünün UV stresi (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD) altında total klorofil ölçümlerine ait bulgular

Bu tez kapsamında *H. physodes* liken türünde UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD stresine karşı total klorofil içeriği çizelge 4.8’de verilmiştir. Total klorofil miktarı Arnon denkleminde göre belirlenmiştir (Arnon 1949).

Çizelge 4.8 *Hypogymnia physodes* liken türünde UV stresi altında total klorofil içeriği

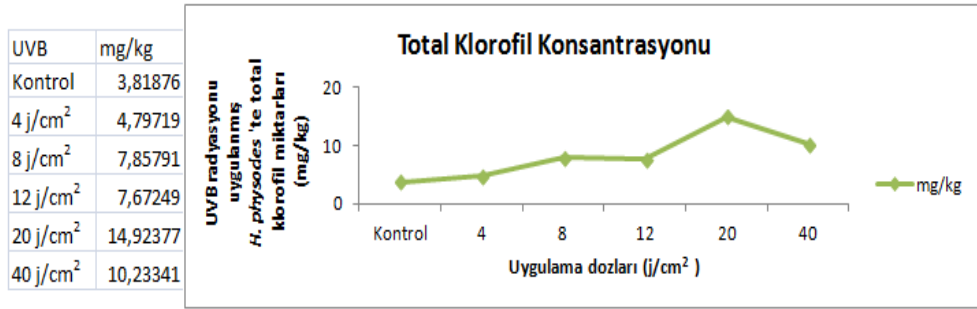
Toplam klorofil içeriği	<i>Hypogymnia physodes</i>					
	UVA	UVB	UVC	Daylight (UVD)	UVA+UVD	UVA+UVB
<b>Kontrol</b>	3,81876 (mg/kg)	3,81876 (mg/kg)	3,81876 (mg/kg)	3,81876 (mg/kg)	3,81876 (mg/kg)	3,81876 (mg/kg)
<b>4 j/cm<sup>2</sup></b>	4,11967 (mg/kg)	4,79719 (mg/kg)	7,98559 (mg/kg)	3,18615 (mg/kg)	2,2799 (mg/kg)	2,40693 (mg/kg)
<b>8 j/cm<sup>2</sup></b>	4,34198 (mg/kg)	7,85791 (mg/kg)	8,10621 (mg/kg)	5,39419 (mg/kg)	5,73103 (mg/kg)	8,01061 (mg/kg)
<b>12 j/cm<sup>2</sup></b>	2,09512 (mg/kg)	7,67249 (mg/kg)	10,17851 (mg/kg)	5,05383 (mg/kg)	5,90362 (mg/kg)	7,03507 (mg/kg)
<b>20 j/cm<sup>2</sup></b>	3,23074 (mg/kg)	14,92377 (mg/kg)	5,26876 (mg/kg)	3,91436 (mg/kg)	9,09683 (mg/kg)	6,13748 (mg/kg)
<b>40 j/cm<sup>2</sup></b>	2,37293 (mg/kg)	10,23341 (mg/kg)	12,98938 (mg/kg)	4,06738 (mg/kg)	12,15915 (mg/kg)	5,91999 (mg/kg)

UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.51’de verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 4,11967 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 2,37293 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> ile 8 j/cm<sup>2</sup>’de total klorofil miktarında kontrol örneğine göre bir artış gözlenmiş 8 j/cm<sup>2</sup> sonrasında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği azalmaya başlamıştır.



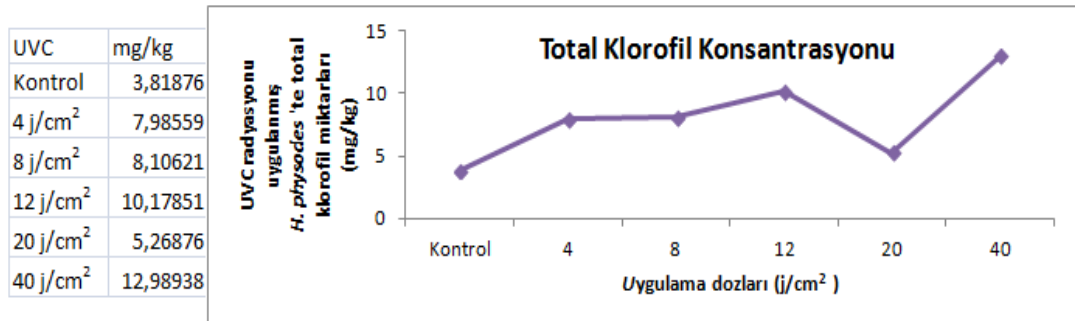
Şekil 4.51 UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.52’de verilmiştir. Şekil 4.52’de de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 4,79719 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 10,23341 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün uygulama dozlarında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil miktarında kontrol örneğine artış gözlenmiştir.



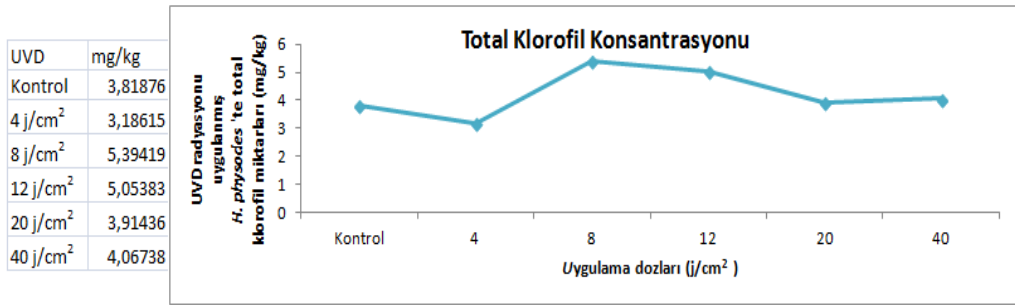
Şekil 4.52 UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.53’de verilmiştir. Şekil 4.53’de de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 7,98559 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 12,98938 mg/kg değeri bulunmuştur. Bütün uygulama dozlarında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil miktarlarında kontrol örneğine göre ciddi oranda artış gözlenmiştir.



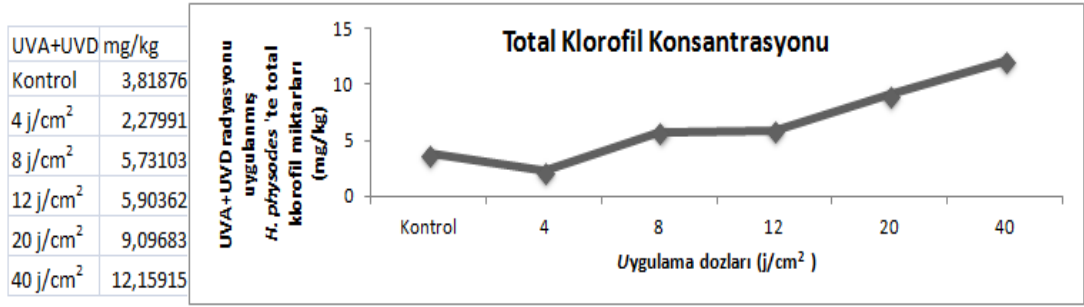
Şekil 4.53 UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.54'de verilmiştir. Şekil 4.54'de de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 3,18615 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 4,06738 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de klorofil-a miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği artmaya başlamıştır ve en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise total klorofil içeriği kontrole yakın bir değerde bulunmuştur.



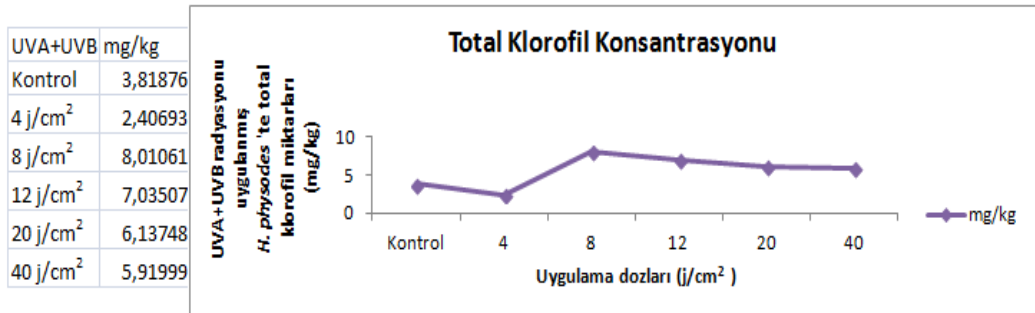
Şekil 4.54 UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

UVA+UVD radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.55'de verilmiştir. Şekil 4.55'de de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 2,2799 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 12,15915 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>'de total klorofil miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği artmaya başlamıştır.



Şekil 4.55 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

UVA+UVB radyasyonu beraber uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil ölçümleri şekil 4.56’da verilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol 3,81876 mg/kg bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup> sonunda 2,40693 mg/kg değeri bulunup en fazla uygulama dozu olan 40 j/cm<sup>2</sup> sonunda ise 5,91999 mg/kg değeri bulunmuştur. En az uygulama dozu olan 4 j/cm<sup>2</sup>’de total klorofil miktarında kontrol örneğine göre azalma gözlenmiş 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında ise *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği artmaya başlamıştır.



Şekil 4.56 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait total klorofil içeriği ölçümleri

#### 4.3.4 RAPD-PCR bulguları

##### 4.3.4.1 *Hypogymnia physodes* liken türünün krom (Cr<sup>+6</sup>) ve kurşun (Pb<sup>+2</sup>) ile UV stresi altında RAPD-PCR’larına ait bulgular

*Hypogymnia physodes* liken türüne Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> kasyonu ile birlikte UV radyasyonu uygulanmıştır. Bu liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Sonuçların sağlıklı değerlendirilebilmesi için 2 farklı kontrol kullanılmıştır. Kontrol örnekleri aynı

lokasyona ait olup farklı ağaçlardan toplanmıştır. Ayrıca sonuçlar iki defa yapılmıştır ve sonuçlar karşılaştırıldığında reaksiyonların sağlıklı olarak yürütüldüğü gözlenmiştir.

Kullanılan primerler:

Çizelge 4.9 *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

PRİMERLER	Dizi (5'-3')
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC03	GGG GGT CTT T
OPC04	CCG CAT CTA C
OPC07	GTC CCG ACG A
OPC10	TGT CTG GGT G
TubeA05	AGG GGT CTT G
OPO-03	CTG TTG CTA C
OPA 18	AGG TGA CCG T
OPA 19	CAA ACG TCG G
TubeA01	CAG GCC CTT C
TubeA02	TGC CGA GCT G
OPO-19	GGT GCA CGT T
OPC06	GAA CGG ACT C
OPC08	TGG ACC GGT G
OPA03	AGT CAG CCA C
OPA08	GTG ACG TAG G

#### 4.3.4.1.1 *Hypogymnia physodes* liken türünde 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonunun RAPD-PCR'larına ait bulgular

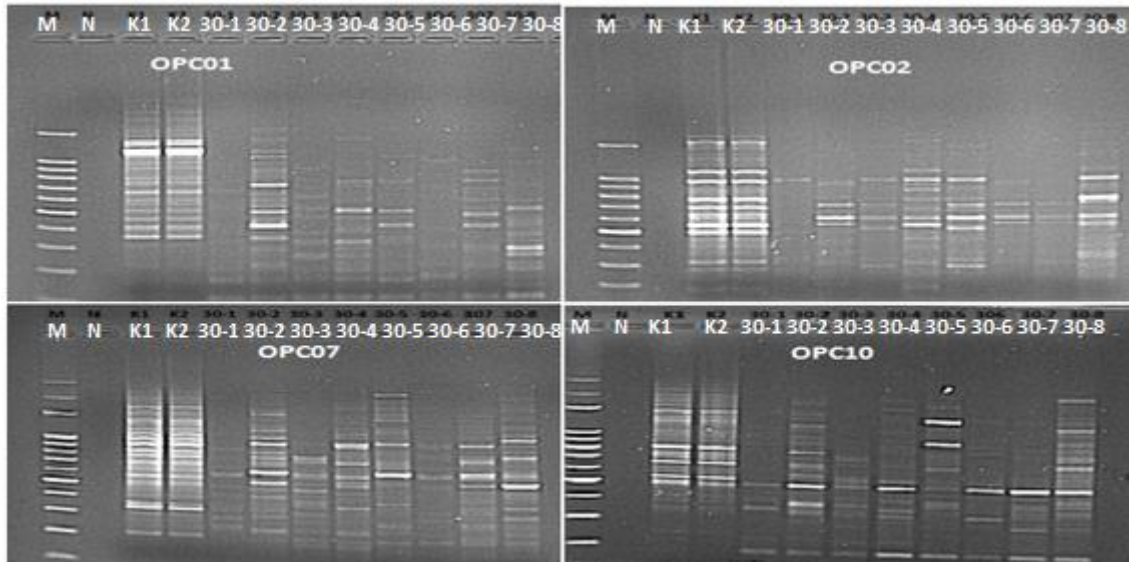
*Hypogymnia physodes* liken türüne Cr<sup>+6</sup> ağır metal katyonu değişik konsantrasyonlarda (30, 60 ve 120 ppm) farklı sürelerde (30 dk, 1 saat, 2 saat, 6 saat, 18 saat, 24 saat, 48 saat, 72 saat) uygulanmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden jelde net görüntü oluşturan 4 tanesi değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.10). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır. Bu primerler:

Çizelge 4.10 Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

Primer	Dizi (5'- 3')
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC07	GTC CCG ACG A
OPC10	TGT CTG GGT G

*Hypogymnia physodes* liken türünde Krom (Cr) stresi uygulanan örnekler için sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin 30 ppm'de 48. saatte (%88,54), 60 ve 120 ppm'de ise 72. saatte (%90,62) olduğu görülmektedir. En düşük GTS değerinin ise 30 ppm'de 0,5 ve 18. saatlerde (%69,79), 60 ppm'de 2. saatte (%70,83) ve 120 ppm'de 1. saatte olduğu görülmektedir (Çizelge 4.14).

*Hypogymnia physodes* liken türüne 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> ağır metal katyonu uygulanarak OPC 01, OPC 02, OPC 07, OPC 10 primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri şekil 4.57-4.59-4.61'de verilmiştir. *Hypogymnia physodes* liken türüne 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanan örnekler için polimorfizm oranları ise şekil 4.58-4.60-4.62'de verilmiştir.



Şekil 4.57 30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR jel görüntüsü



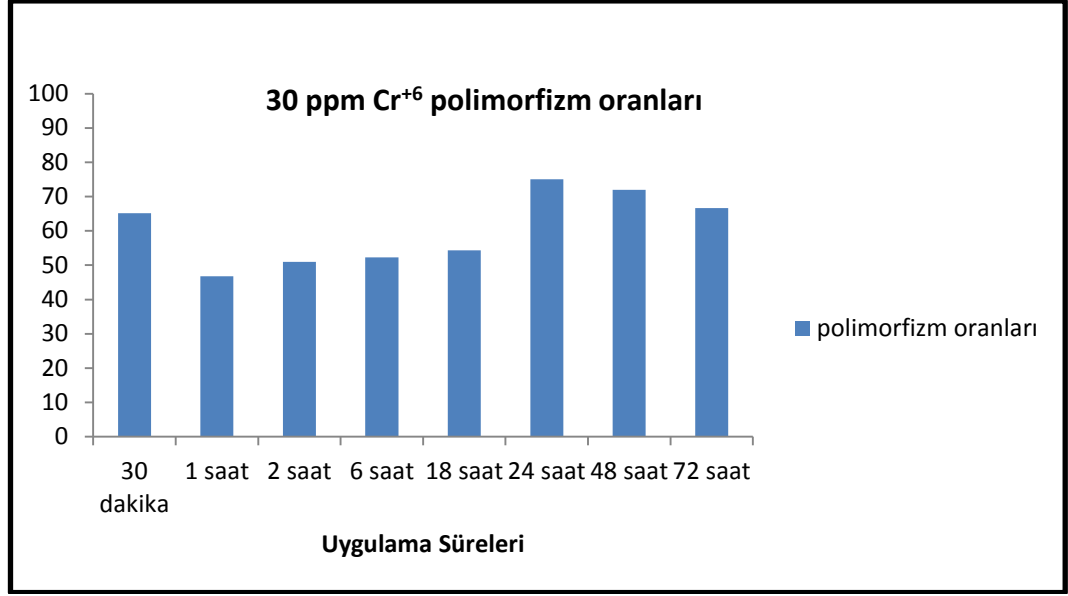
M	MARKER
N	NEGATIF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
30-1	30 ppm 0.5 saat uygulanmış liken örneği
30-2	30 ppm 1 saat uygulanmış liken örneği
30-3	30 ppm 2 saat uygulanmış liken örneği
30-4	30 ppm 6 saat uygulanmış liken örneği
30-5	30 ppm 18 saat uygulanmış liken örneği
30-6	30 ppm 24 saat uygulanmış liken örneği
30-7	30 ppm 48 saat uygulanmış liken örneği
30-8	30 ppm 72 saat uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait 30 ppm Cr<sup>+6</sup> OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.11’de verilmiştir.

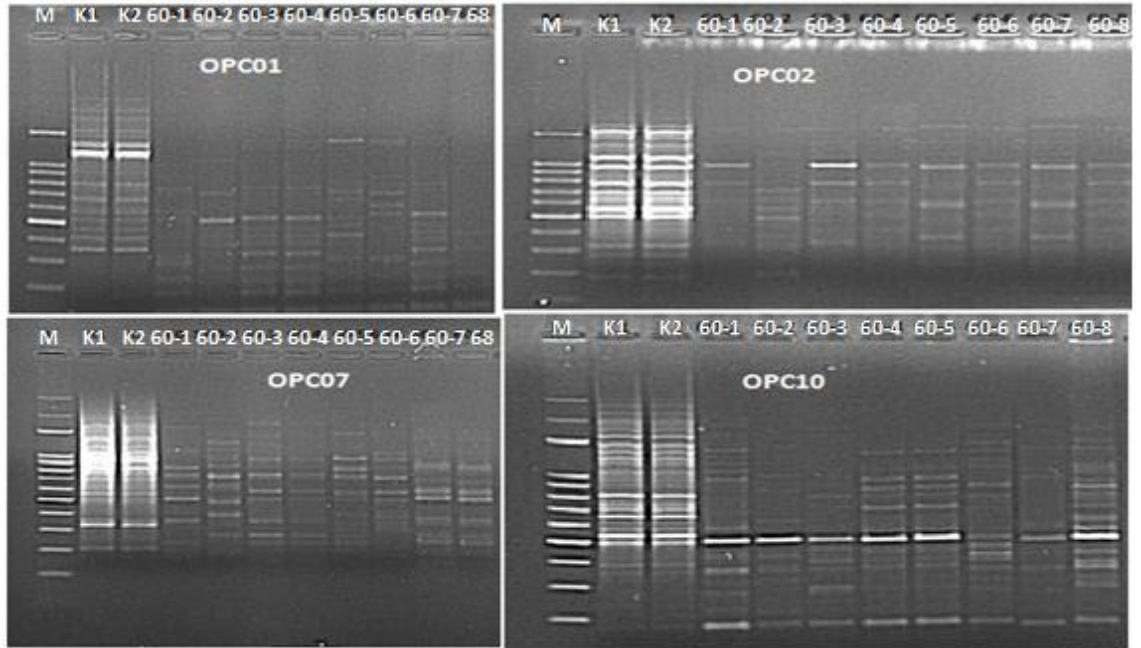
Çizelge 4.11 *Hypogymnia physodes* liken türünde 30 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	30 ppm Cr <sup>+6</sup>		30 ppm Cr <sup>+6</sup>		30 ppm Cr <sup>+6</sup>		30 ppm Cr <sup>+6</sup>		30 ppm Cr <sup>+6</sup>		30 ppm Cr <sup>+6</sup>		30 ppm Cr <sup>+6</sup>			
		30 dk		1 saat		2 saat		6 saat		18 saat		24 saat		48 saat		72 saat	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	24	1	5	3	4	1	7	1	4	3	4	2	0	2	2	1	1
OPC 02	24	2	3	2	4	1	6	3	5	2	5	3	1	1	3	1	2
OPC 07	24	4	4	2	6	0	4	2	6	3	6	3	2	1	1	2	1
OPC 10	24	6	4	2	5	2	2	4	5	1	5	2	0	1	0	2	3
96		1	16	9	19	4	1	10	20	9	20	10	3	5	6	6	7
a+b		29		28		23		30		29		13		11		13	

a: Yeni ortaya çıkan bant, b : kaybolan bant



Şekil 4.58 *Hypogymnia physodes* liken türüne 30 ppm Cr<sup>6+</sup> kasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları



Şekil 4.59 60 ppm Cr<sup>6+</sup> kasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR jel görüntüsü

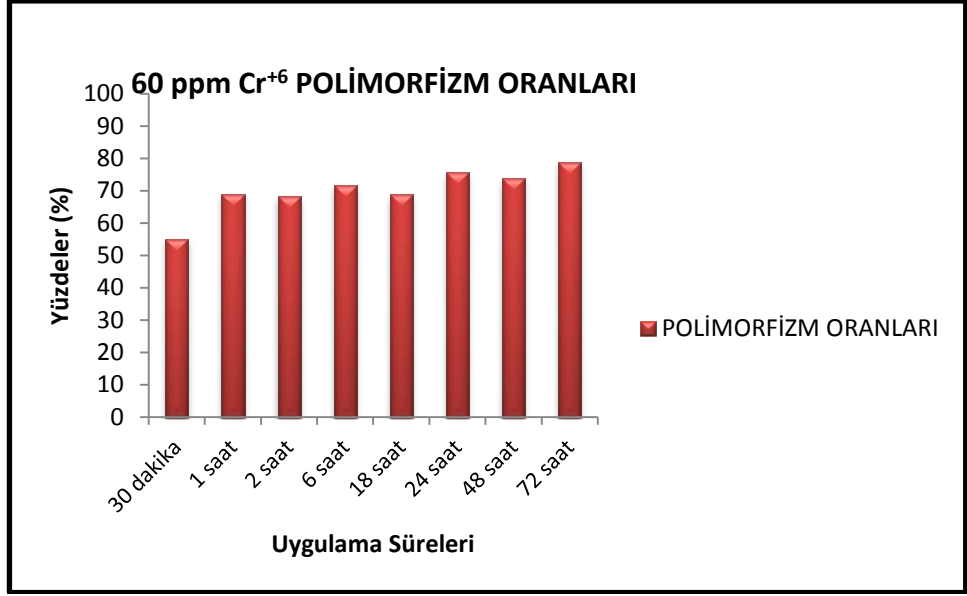
M	MARKER
N	NEGATIF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
60-1	60 ppm 0.5 saat uygulanmış liken örneği
60-2	60 ppm 1 saat uygulanmış liken örneği
60-3	60 ppm 2 saat uygulanmış liken örneği
60-4	60 ppm 6 saat uygulanmış liken örneği
60-5	60 ppm 18 saat uygulanmış liken örneği
60-6	60 ppm 24 saat uygulanmış liken örneği
60-7	60 ppm 48 saat uygulanmış liken örneği
60-8	60 ppm 72 saat uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait 60 ppm Cr<sup>+6</sup> OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.12’de verilmiştir.

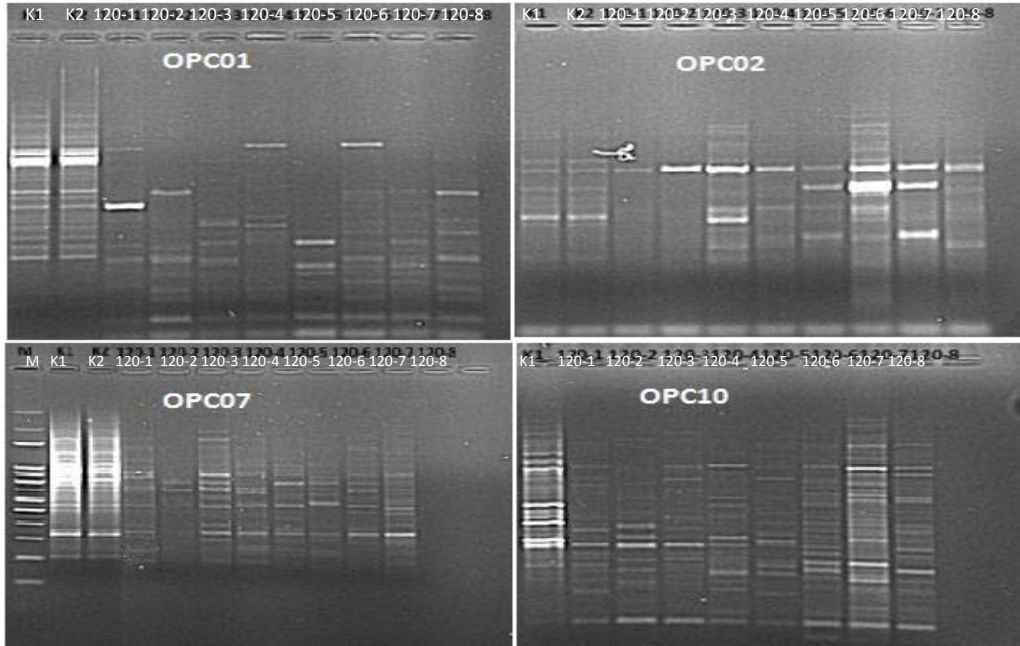
Çizelge 4.12 *Hypogymnia physodes* liken türünde 60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	60 ppm Cr <sup>+6</sup>		60 ppm Cr <sup>+6</sup>		60 ppm Cr <sup>+6</sup>		60 ppm Cr <sup>+6</sup>		60 ppm Cr <sup>+6</sup>		60 ppm Cr <sup>+6</sup>		60 ppm Cr <sup>+6</sup>		60 ppm Cr <sup>+6</sup>	
		30 dk		1 saat		2 saat		6 saat		18 saat		24 saat		48 saat		72 saat	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	24	2	3	1	3	3	4	2	3	1	4	1	0	2	1	2	1
OPC 02	24	1	4	2	1	3	2	2	5	2	5	1	4	1	0	1	0
OPC 07	24	4	6	6	4	2	4	3	1	1	4	4	3	0	3	0	2
OPC 10	24	3	3	2	5	4	6	1	4	3	3	1	2	1	3	2	1
90		1	16	11	13	12	1	8	13	7	16	7	9	4	7	5	4
a+b		26		24		28		21		23		16		11		9	

a: Yeni ortaya çıkan bant, b : kaybolan bant



Şekil 4.60 *Hypogymnia physodes* liken türüne 60 ppm Cr<sup>+6</sup> kasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları



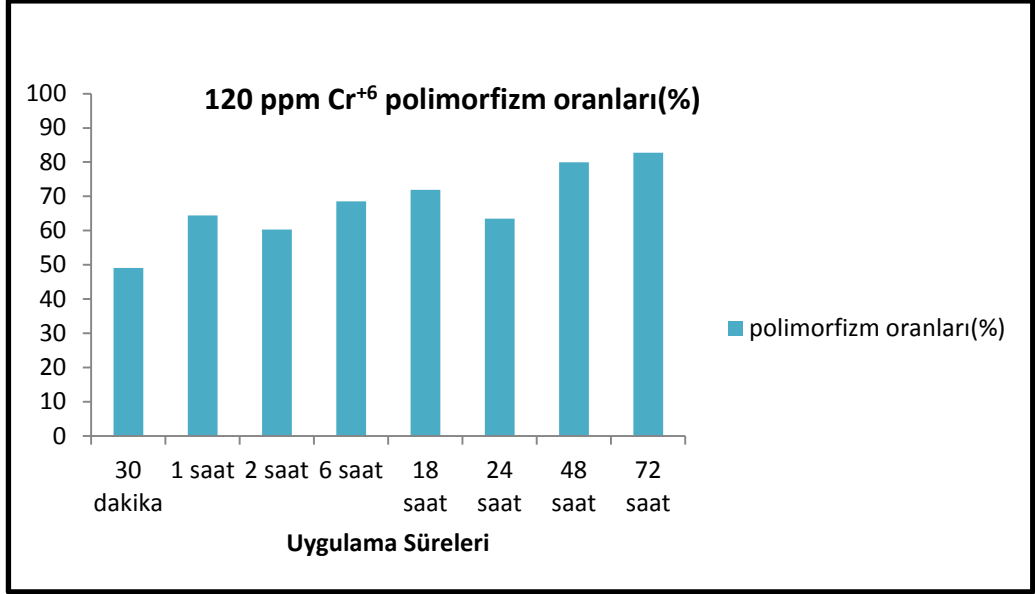
Şekil 4.61 120 ppm Cr<sup>+6</sup> kasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR jel görüntüsü

M	MARKER
N	NEGATIF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
I20-1	120 ppm 0.5 saat uygulanmış liken örneği
I20-2	120 ppm 1 saat uygulanmış liken örneği
I20-3	120 ppm 2 saat uygulanmış liken örneği
I20-4	120 ppm 6 saat uygulanmış liken örneği
I20-5	120 ppm 18 saat uygulanmış liken örneği
I20-6	120 ppm 24 saat uygulanmış liken örneği
I20-7	120 ppm 48 saat uygulanmış liken örneği
I20-8	120 ppm 72 saat uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait 120 ppm Cr<sup>+6</sup> OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.13 *Hypogymnia physodes* liken türünde 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	120 ppm Cr <sup>+6</sup>		120 ppm Cr <sup>+6</sup>		120 ppm Cr <sup>+6</sup>		120 ppm Cr <sup>+6</sup>		120 ppm Cr <sup>+6</sup>		120 ppm Cr <sup>+6</sup>		120 ppm Cr <sup>+6</sup>		120 ppm Cr <sup>+6</sup>	
		30 dk		1 saat		2 saat		6 saat		18 saat		24 saat		48 saat		72 saat	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	24	1	4	1	3	4	3	4	2	2	2	1	1	2	2	2	1
OPC 02	24	2	3	2	4	1	4	3	3	2	3	1	2	1	3	1	2
OPC 07	24	2	2	4	1	1	1	1	2	1	5	1	2	1	0	1	1
OPC 10	24	1	3	5	2	4	2	1	2	2	1	0	2	0	1	0	1
96		6	13	12	9	7	9	9	9	7	11	3	7	4	6	4	5
a+b		18		21		19		18		18		10		10		9	



Şekil 4.62 *Hypogymnia physodes* liken türüne 120 ppm Cr<sup>+6</sup> kasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları

Çizelge 4.14 *Hypogymnia physodes* liken türünde krom (Cr<sup>+6</sup>) stresi uygulanan örneklere ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları

Örnekler		GTS Oranları (%)	Örnekler		GTS Oranları (%)	Örnekler		GTS Oranları (%)
30 ppm Cr <sup>+6</sup>	0,5 saat	69,79	60 ppm Cr <sup>+6</sup>	0,5 saat	72,91	120 ppm Cr <sup>+6</sup>	0,5 saat	81,25
	1 saat	70,83		1 saat	75,0		1 saat	78,12
	2 saat	76,04		2 saat	70,83		2 saat	80,2
	6 saat	68,75		6 saat	78,12		6 saat	81,25
	18 saat	69,79		18 saat	76,04		18 saat	81,25
	24 saat	86,45		24 saat	83,33		24 saat	89,58
	48 saat	88,54		48 saat	88,54		48 saat	89,58
	72 saat	86,45		72 saat	90,62		72 saat	90,62
	<b>Primerler</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>		<b>Primerler</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>		<b>Primerler</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>
30 ppm Cr <sup>+6</sup>	OPC 01	91,16	60 ppm Cr <sup>+6</sup>	OPC 01	95,83	120 ppm Cr <sup>+6</sup>	OPC 01	87,50
	OPC 02	95,83		OPC 02	95,83		OPC 02	91,67
	OPC 07	91,67		OPC 07	95,83		OPC 07	87,50
	OPC 10	91,67		OPC 10	95,83		OPC 10	87,50
	Ortalama	92,58		Ortalama	95,83		Ortalama	88,54

#### 4.3.4.1.2 *Hypogymnia physodes* liken türünde 30, 60 ve 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonunun RAPD-PCR'larına ait bulgular

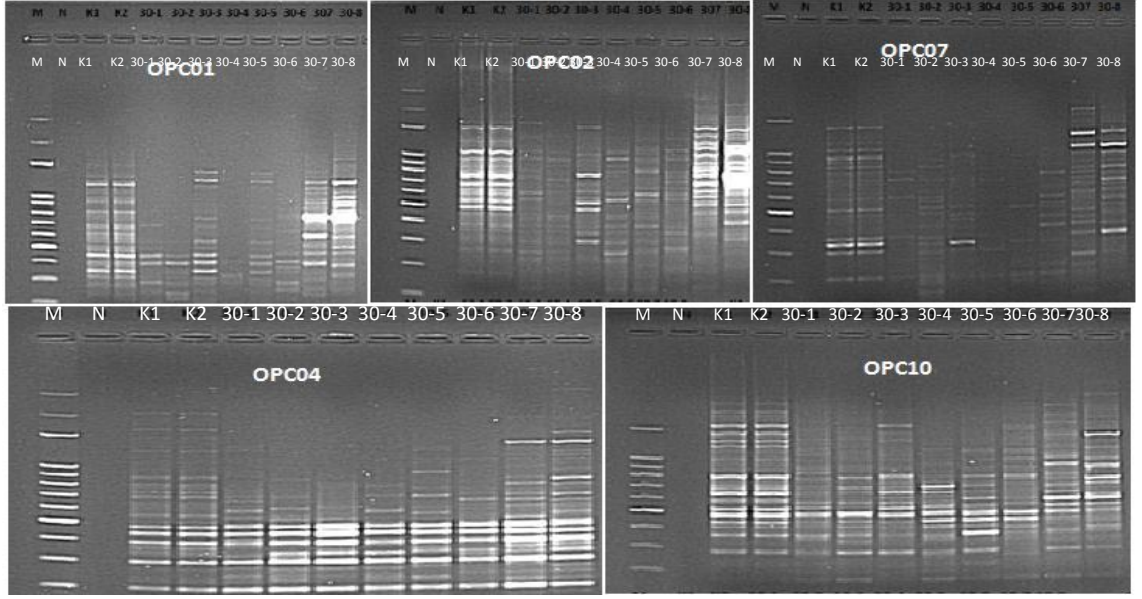
*Hypogymnia physodes* liken türüne Pb<sup>+2</sup> ağır metal katyonu değişik konsantrasyonlarda (30, 60 ve 120 ppm) farklı sürelerde (30 dk, 1 saat, 2 saat, 6 saat, 18 saat, 24 saat, 48 saat, 72 saat) uygulanmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden jelde net görüntü oluşturan 5 tanesi değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.15). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır. Bu primerler:

Çizelge 4.15 Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

Primer	Dizi (5' - 3')
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC04	CCG CAT CTA C
OPC07	GTC CCG ACG A
OPC10	TGT CTG GGT G

*Hypogymnia physodes* liken türünde Kurşun (Pb) stresi uygulanan örnekler için sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin her üç Pb konsantrasyonu için 72. saatte olduğu görülmektedir. Bunlar 30, 60 ve 120 ppm Pb stresi uygulanan örneklerde sırasıyla %93,04-%93,04-%91,3'dir. En düşük GTS değerinin ise 30 ppm için 0.5, 2 ve 6. saatlerde (%82,6), 60 ppm için 0,5. saatte (%78,26) ve 120 ppm için 0,5.saatte (%80,86) olduğu görülmektedir. (Çizelge 4.19).

*Hypogymnia physodes* liken türüne 30, 60 ve 120 ppm Pb<sup>+2</sup> ağır metal katyonu uygulanarak OPC 01, OPC 02, OPC04, OPC 07, OPC 10 primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri şekil 4.63-4.65-4.67'de verilmiştir. *Hypogymnia physodes* liken türüne 30, 60 ve 120 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanan örnekler için polimorfizm oranları ise şekil 4.64-4.66-4.68'de verilmiştir.



Şekil 4.63 30 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR jeli

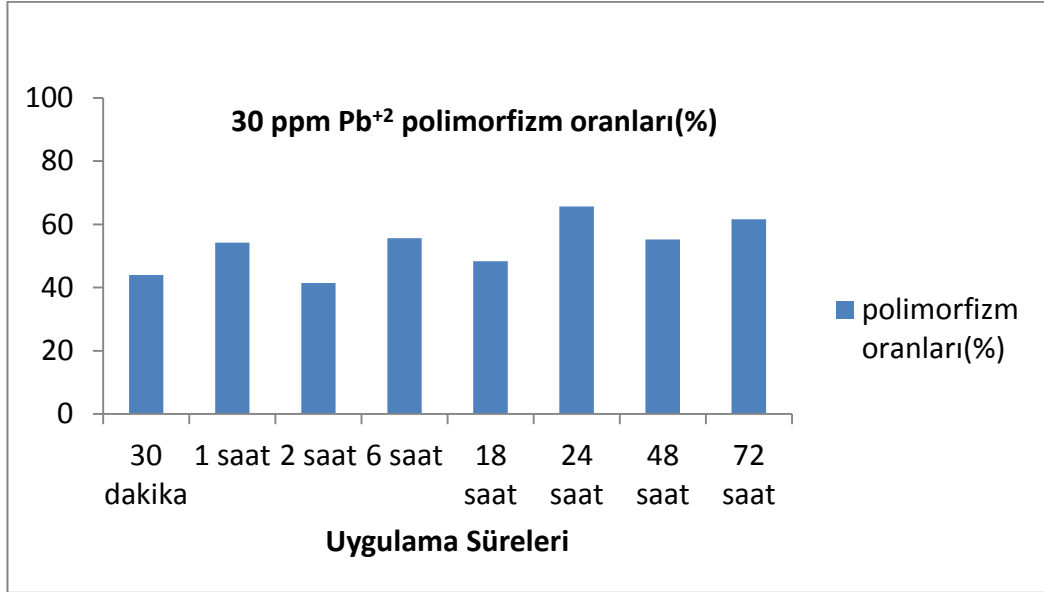
M	MARKER
N	NEGATIF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
30-1	30 ppm 0.5 saat uygulanmış liken örneği
30-2	30 ppm 1 saat uygulanmış liken örneği
30-3	30 ppm 2 saat uygulanmış liken örneği
30-4	30 ppm 6 saat uygulanmış liken örneği
30-5	30 ppm 18 saat uygulanmış liken örneği
30-6	30 ppm 24 saat uygulanmış liken örneği
30-7	30 ppm 48 saat uygulanmış liken örneği
30-8	30 ppm 72 saat uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait 30 ppm Pb<sup>+2</sup> OPC 01, OPC 02, OPC04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.16'da verilmiştir.

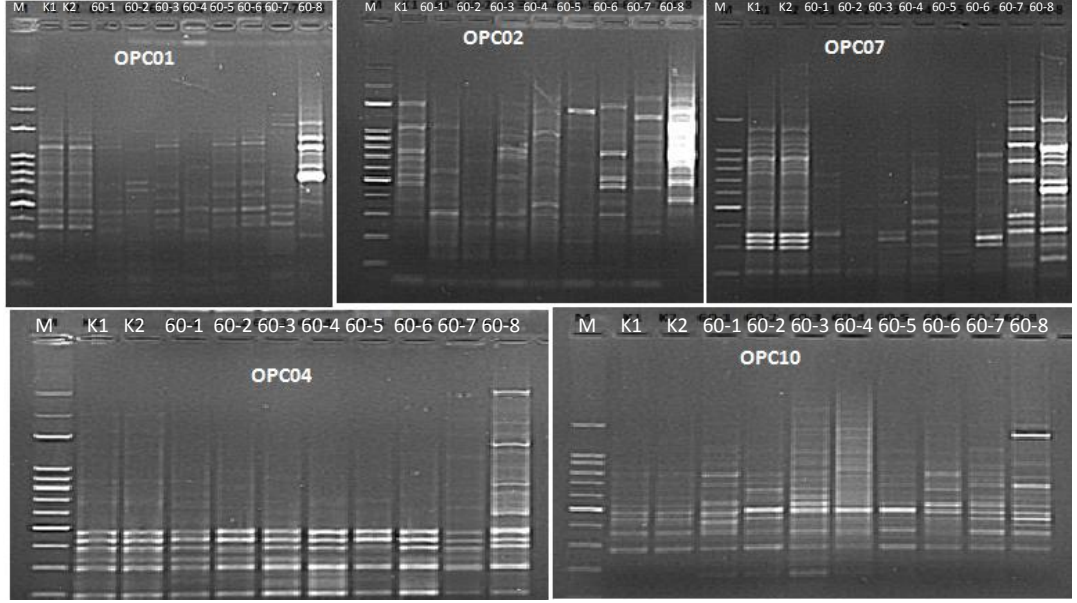


Çizelge 4.16 *Hypogymnia physodes* liken türünde 30 ppm Pb<sup>2+</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	30 ppm Pb <sup>2+</sup>		30 ppm Pb <sup>2+</sup>		30 ppm Pb <sup>2+</sup>		30 ppm Pb <sup>2+</sup>		30 ppm Pb <sup>2+</sup>		30 ppm Pb <sup>2+</sup>		30 ppm Pb <sup>2+</sup>					
		30 dk		1 saat		2 saat		6 saat		18 saat		24 saat		48 saat		72 saat			
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b		
OPC 01	23	1	2	2	4	2	3	1	3	0	3	2	0	1	1	0	1		
OPC 02	23	3	4	2	3	2	1	4	4	3	0	2	1	3	0	1	1		
OPC 04	23	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0		
OPC 07	23	2	6	1	3	1	3	2	3	1	4	0	3	0	1	0	1		
OPC 10	23	2	1	0	3	2	3	1	4	2	0	3	2	0	3	2	1		
115	7	1	3	6	1	3	9	1	1	8	14	6	7	7	6	4	5	4	4
a+b		20		19		20		20		13		13		9		8			



Şekil 4.64 *Hypogymnia physodes* liken türüne 30 ppm Pb<sup>2+</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları



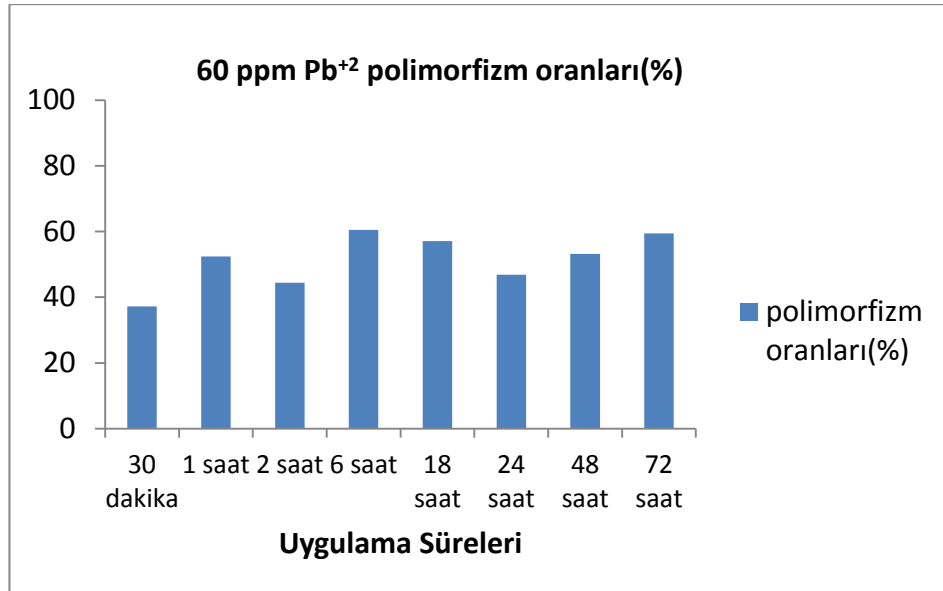
Şekil 4.65 60 ppm Pb<sup>2+</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR jeli

M	MARKER
N	NEGATIF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
60-1	60 ppm 0.5 saat uygulanmış liken örneği
60-2	60 ppm 1 saat uygulanmış liken örneği
60-3	60 ppm 2 saat uygulanmış liken örneği
60-4	60 ppm 6 saat uygulanmış liken örneği
60-5	60 ppm 18 saat uygulanmış liken örneği
60-6	60 ppm 24 saat uygulanmış liken örneği
60-7	60 ppm 48 saat uygulanmış liken örneği
60-8	60 ppm 72 saat uygulanmış liken örneği

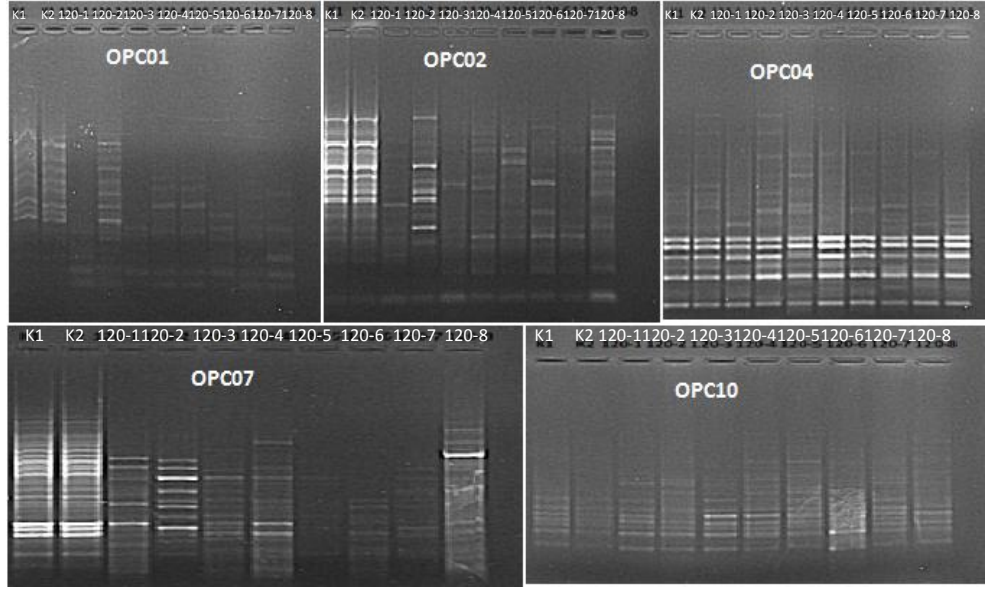
*Hypogymnia physodes* liken türüne ait 60 ppm Pb<sup>2+</sup> OPC 01, OPC 02, OPC04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17 *Hypogymnia physodes* liken türünde 60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	60 ppm Pb <sup>+2</sup>		60 ppm Pb <sup>+2</sup>		60 ppm Pb <sup>+2</sup>		60 ppm Pb <sup>+2</sup>		60 ppm Pb <sup>+2</sup>		60 ppm Pb <sup>+2</sup>		60 ppm Pb <sup>+2</sup>			
		30 dk		1 saat		2 saat		6 saat		18 saat		24 saat		48 saat		72 saat	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	23	5	3	2	4	4	2	1	6	2	1	1	3	1	1	2	0
OPC 02	23	0	3	2	4	3	3	1	4	2	0	1	2	0	0	0	1
OPC 04	23	0	1	3	1	2	1	0	1	1	3	0	0	1	0	3	0
OPC 07	23	4	2	2	0	1	2	2	3	4	3	0	3	2	0	0	0
OPC 10	23	3	4	3	3	1	0	1	2	0	1	6	2	4	1	1	1
115		1 2	1 3	12	12	11	8	5	16	9	8	8	10	8	2	6	2
a+b		25		24		19		21		17		18		10		8	



Şekil 4.66 *Hypogymnia physodes* liken türüne 60 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları



Şekil 4.67 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR jeli

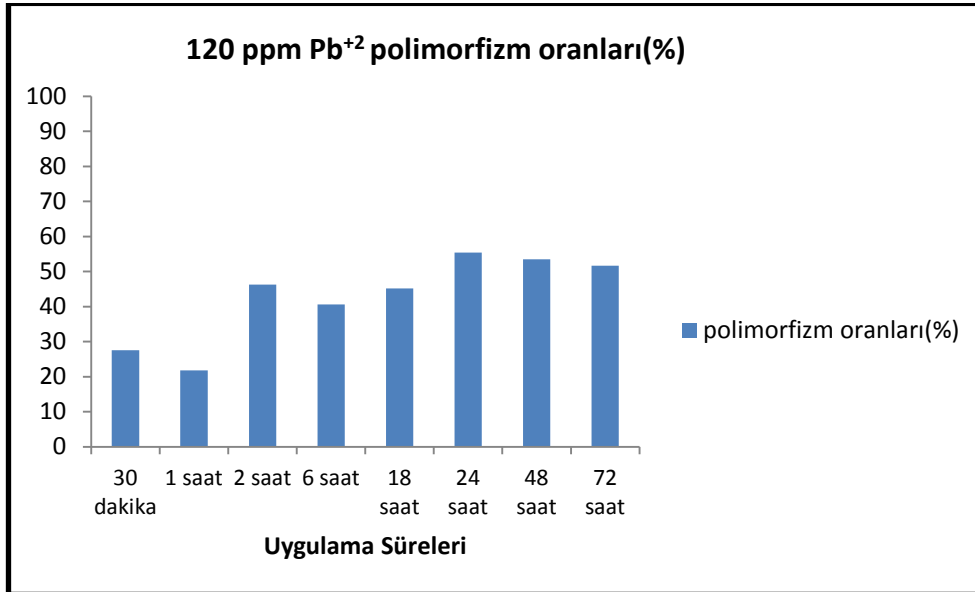
M	MARKER
N	NEGATIF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
120-1	120 ppm 0.5 saat uygulanmış liken örneği
120-2	120 ppm 1 saat uygulanmış liken örneği
120-3	120 ppm 2 saat uygulanmış liken örneği
120-4	120 ppm 6 saat uygulanmış liken örneği
120-5	120 ppm 18 saat uygulanmış liken örneği
120-6	120 ppm 24 saat uygulanmış liken örneği
120-7	120 ppm 48 saat uygulanmış liken örneği
120-8	120 ppm 72 saat uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait 120 ppm Pb<sup>+2</sup> OPC 01, OPC 02, OPC04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.18 *Hypogymnia physodes* liken türünde 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulaması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve OPC 10 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	120 ppm Pb <sup>+2</sup>		120 ppm Pb <sup>+2</sup>		120 ppm Pb <sup>+2</sup>		120 ppm Pb <sup>+2</sup>		120 ppm Pb <sup>+2</sup>		120 ppm Pb <sup>+2</sup>		120 ppm Pb <sup>+2</sup>		120 ppm Pb <sup>+2</sup>	
		30 dk		1 saat		2 saat		6 saat		18 saat		24 saat		48 saat		72 saat	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	23	2	3	1	3	1	4	2	3	1	2	2	2	0	1	2	1
OPC 02	23	3	5	2	3	3	3	3	2	0	5	1	3	2	0	1	2
OPC 04	23	1	1	0	0	0	1	2	1	1	2	0	0	0	0	0	0
OPC 07	23	4	2	1	5	1	4	1	2	2	6	1	2	0	2	1	1
OPC 10	23	0	1	4	2	0	2	1	3	0	0	0	1	3	4	0	1
115		10	12	8	13	5	14	9	11	4	15	6	6	5	7	6	4
a+b		22		21		19		20		19		12		12		10	

a : Yeni oluşan bant, b : Kaybolan bant



Şekil 4.68 *Hypogymnia physodes* liken türüne 120 ppm Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları

Çizelge 4.19 *Hypogymnia physodes* liken türünde Kurşun (Pb<sup>+2</sup>) stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları

Örnekler		GTS Oranları (%)	Örnekler		GTS Oranları (%)	Örnekler		GTS Oranları (%)
30 ppm Pb <sup>+2</sup>	0,5 saat	82,6	60 ppm Pb <sup>+2</sup>	0,5 saat	78,26	120 ppm Pb <sup>+2</sup>	0,5 saat	80,86
	1 saat	83,47		1 saat	79,13		1 saat	81,73
	2 saat	82,6		2 saat	83,47		2 saat	83,47
	6 saat	82,6		6 saat	81,73		6 saat	82,6
	18 saat	88,69		18 saat	85,21		18 saat	83,47
	24 saat	88,69		24 saat	84,34		24 saat	89,56
	48 saat	92,17		48 saat	91,3		48 saat	89,56
	72 saat	93,04		72 saat	93,04		72 saat	91,3
	<b>Primerler</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>		<b>Primerler</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>		<b>Primerler</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>
30 ppm Pb <sup>+2</sup>	OPC 01	95,65	60 ppm Pb <sup>+2</sup>	OPC 01	86,95	120 ppm Pb <sup>+2</sup>	OPC 01	91,30
	OPC 02	91,30		OPC 02	95,65		OPC 02	91,30
	OPC04	73,91		OPC04	78,26		OPC04	78,26
	OPC 07	95,65		OPC 07	95,65		OPC 07	95,65
	OPC 10	73,91		OPC 10	82,60		OPC 10	91,30
	Ortalama	86,08		Ortalama	87,82		Ortalama	89,56

#### 4.3.4.1.3 *Hypogymnia physodes* liken türünün UV(UVA, UVB, UVA+UVB, UVC, UVD ve UVA+UVD) stresi altında RAPD-PCR'larına ait bulgular

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVA, UVB, UVA+UVB, UVC, UVD ve UVA+UVD ışınlarında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup>) uygulama yapılmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden, jelde net görüntü oluşturanlar değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.20). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.69 UV cihazı



Şekil 4.70 UV dozmetre cihazı

Çizelge 4.20 UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVD ve UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

<b>Primer</b>	<b>DİZİ (5'-3')</b>
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC03	GGG GGT CTT T
OPC04	CCG CAT CTA C
OPC07	GTC CCG ACG A
OPC10	TGT CTG GGT G
TUBE-A05	AGG GGT CTT G
OPO-03	CTG TTG CTA C
OPA-18	AGG TGA CCG T
OPA-19	CAA ACG TCG G
TUBE-A01	CAG GCC CTT C
TUBE-A02	TGC CGA GCT G
OPO-19	GGT GCA CGT T

#### 4.3.4.1.3.1 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVA ışınında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup>) uygulama yapılmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden jelde net görüntü oluşturan 5 tanesi değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.21). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.21 UVA radyasyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

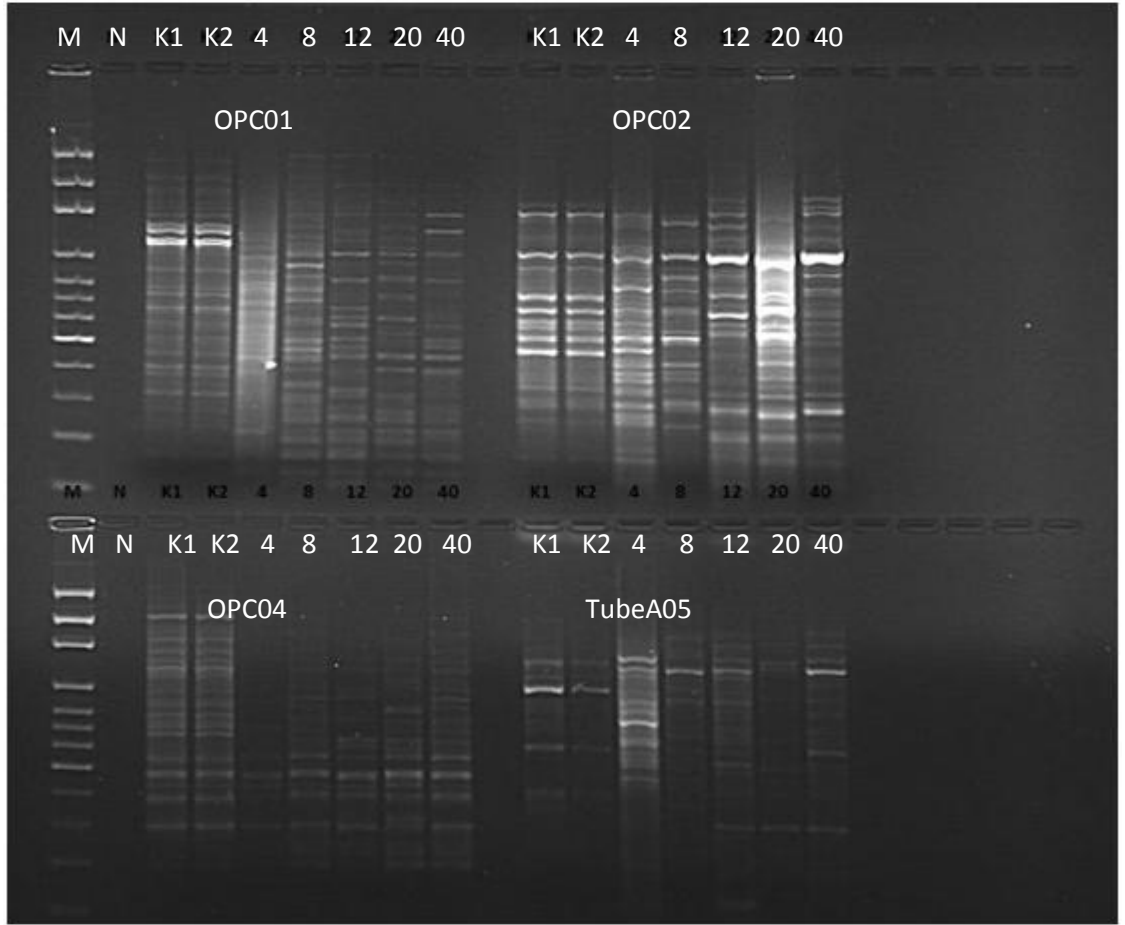
<b>Primer</b>	<b>Dizi (5'- 3')</b>
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC04	CCG CAT CTA C
OPC07	GTC CCG ACG A
TUBE-A05	AGG GGT CTT G

*Hypogymnia physodes* liken türünde UVA uygulanan örneklere ait sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin 4 j/cm<sup>2</sup> dozda %87,82 olduğu görülmektedir.



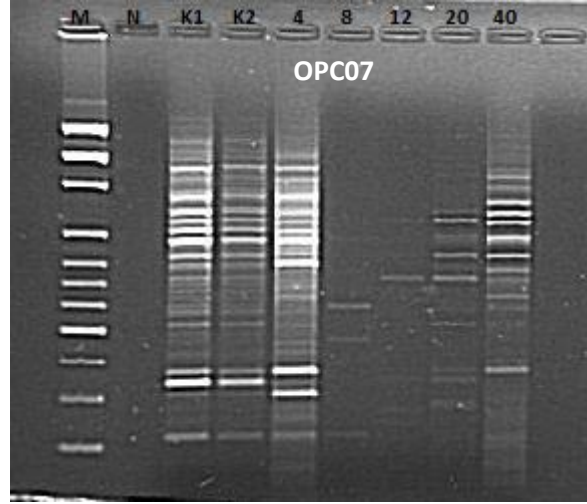
En düşük GTS değerinin ise  $40 \text{ j/cm}^2$  dozda %76,52 olarak bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.23).

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVA radyasyonu uygulanarak OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve TubeA05 primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri şekil 4.71-4.72'de verilmiştir. Ayrıca *Hypogymnia physodes* liken türüne UVA radyasyonu uygulanan örnekler için polimorfizm oranları ise şekil 4.73'de verilmiştir.



Şekil 4.71 UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	$4 \text{ j/cm}^2$ uygulanmış liken örneği
8	$8 \text{ j/cm}^2$ uygulanmış liken örneği
12	$12 \text{ j/cm}^2$ uygulanmış liken örneği
20	$20 \text{ j/cm}^2$ uygulanmış liken örneği
40	$40 \text{ j/cm}^2$ uygulanmış liken örneği



Şekil 4.72 UVA radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

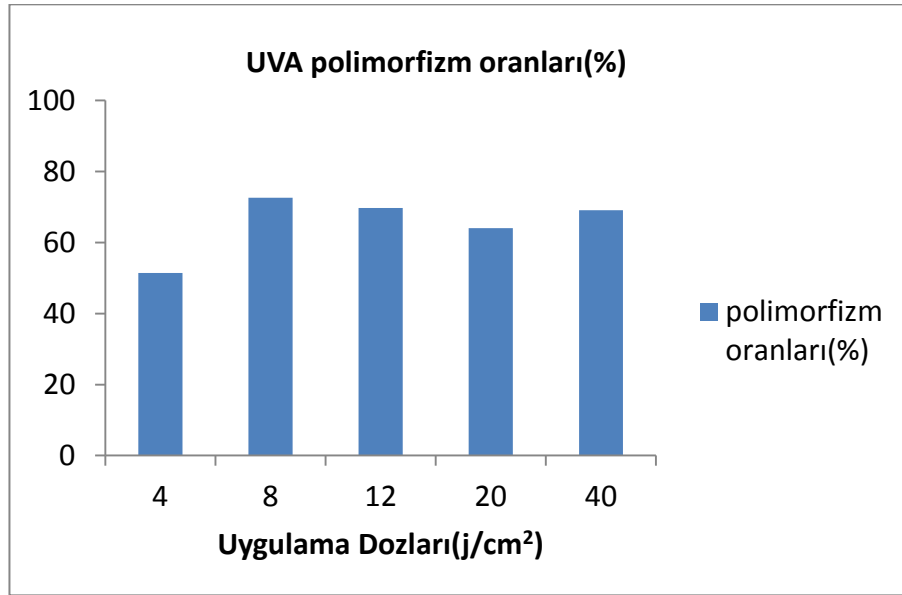
M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait UVA ışınında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup>) uygulama yapılması sonucunda tüm primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.22’de verilmiştir.

Çizelge 4.22 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA ışını uygulanması sonucunda OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve Tube A05 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	4 j		8 j		12 j		20 j		40 j	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	23	1	2	2	4	1	3	2	3	2	1
OPC 02	23	1	3	1	1	2	1	1	0	0	3
OPC 04	23	1	0	2	0	1	1	2	1	2	0
OPC 07	23	1	1	3	3	1	5	2	4	3	7
Tube A05	23	1	3	1	0	0	4	3	6	4	5
	115	5	9	9	8	5	14	10	14	11	16
	a+b	14		17		19		24		27	

a : Yeni oluşan bant, b : Kaybolan bant



Şekil 4.73 *Hypogymnia physodes* liken türüne UVA radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları

Çizelge 4.23 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları

Örnekler		GTS Oranları (%)
UVA	4 j/cm <sup>2</sup>	87,82
	8 j/cm <sup>2</sup>	85,21
	12 j/cm <sup>2</sup>	83,47
	20 j/cm <sup>2</sup>	79,13
	40 j/cm <sup>2</sup>	76,52
UVA	<b>PRİMERLER</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>
	OPC01	91,30
	OPC02	86,95
	OPC04	82,60
	OPC07	91,30
	TubeA05	91,30
	Ortalama	88,69

#### 4.3.4.1.3.2 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA+UVD uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVA+UVD ışımında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup>) uygulama yapılmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden jelde net görüntü oluşturan 5 tanesi değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.24). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır.

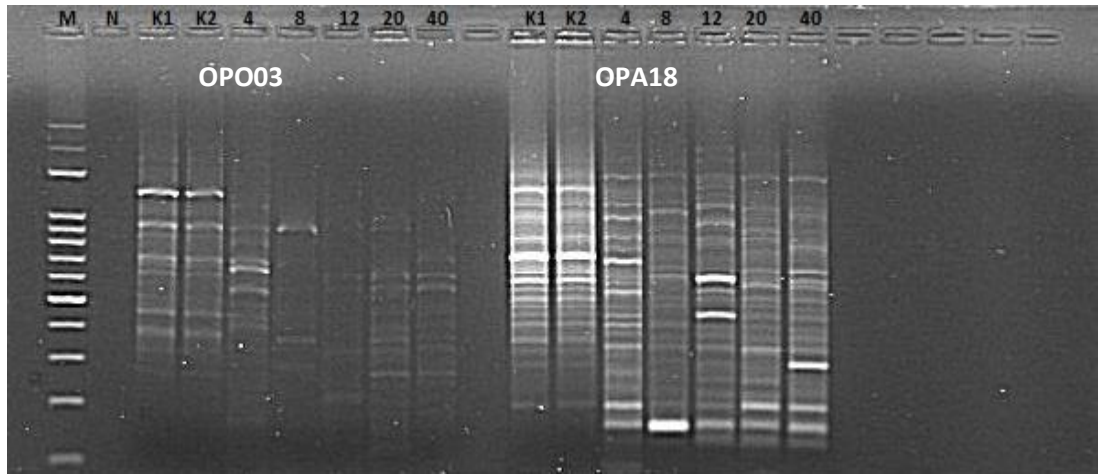
Çizelge 4.24 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

Primer	Dizi (5' - 3')
OPO-03	CTG TTG CTA C
OPA-18	AGG TGA CCG T
OPA-19	CAA ACG TCG G
TUBE-A01	CAG GCC CTT C
TUBE-A02	TGC CGA GCT G

*Hypogymnia physodes* liken türünde UVA+UVD uygulanan örneklerle ait sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin 4 j/cm<sup>2</sup> dozda %88,69 olduğu görülmektedir.

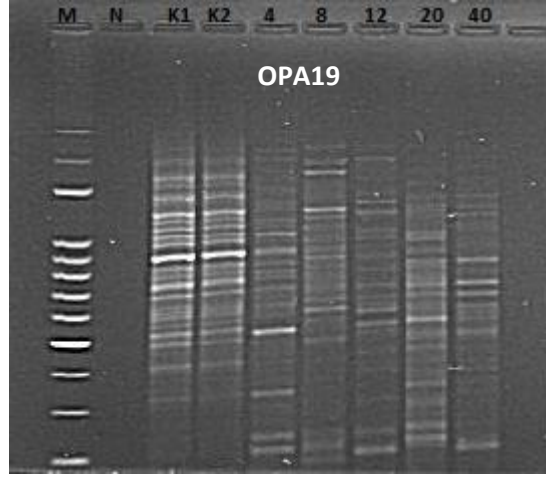
En düşük GTS değerinin ise 12 j/cm<sup>2</sup> dozda %80,86 olarak bulunduğu görülmektedir (izelge 4.26).

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVA+UVD radyasyonu uygulanarak OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve TubeA05 primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri Şekil 4.74-4.75-4.76'da verilmiştir. Ayrıca *Hypogymnia physodes* liken türüne UVA+UVD radyasyonu uygulanan örneklere ait polimorfizm oranları ise Şekil 4.77'de verilmiştir.



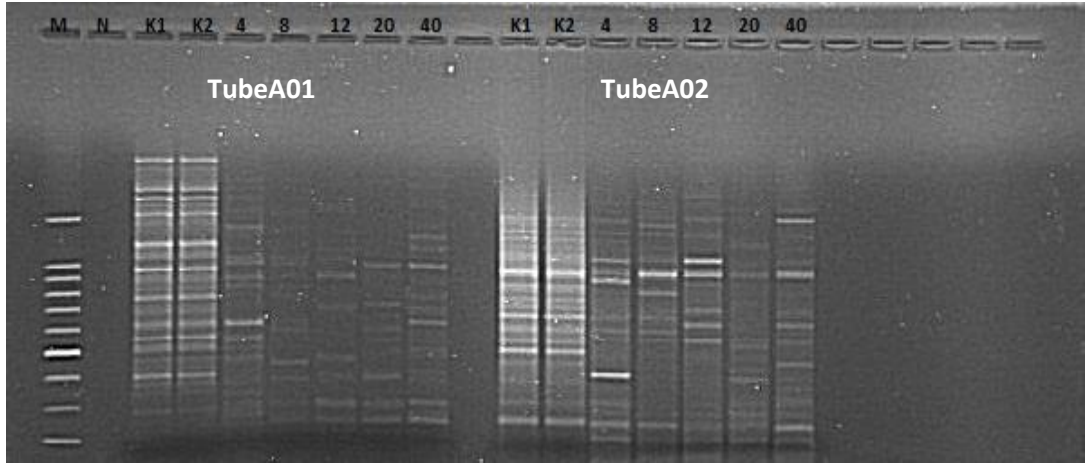
Şekil 4.74 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken rneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken rneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken rneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken rneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken rneği



Şekil 4.75 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği



Şekil 4.76 UVA+UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

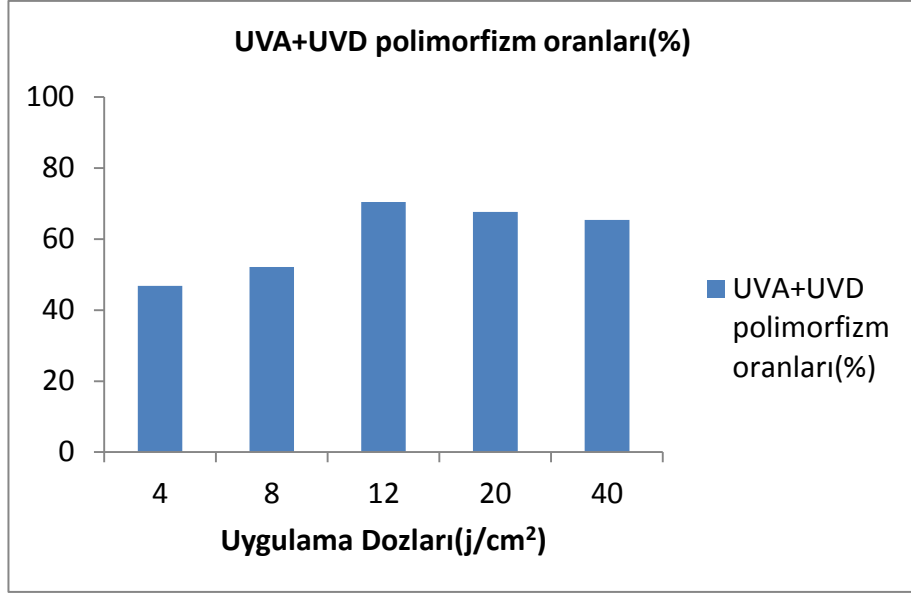
M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait UVA+UVD ışığında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j) uygulama yapılması sonucunda tüm primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.25’de verilmiştir.

Çizelge 4.25 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA+UVD ışını uygulanması sonucunda TubeA01, TubeA02, OPO03, OPA19 ve OPA18 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	4 j		8 j		12 j		20 j		40 j	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
OPO 03	23	1	3	1	1	2	4	6	2	2	3
OPA 18	23	0	1	1	2	1	3	3	2	3	1
OPA 19	23	2	1	0	4	3	1	0	2	2	4
Tube A01	23	1	3	2	1	4	3	2	2	1	2
Tube A02	23	1	0	4	3	0	1	0	1	0	2
	115	5	8	8	11	10	12	11	9	8	12
	a+b	13		19		22		20		20	

a : Yeni oluşan bant b : Kaybolan bant



Şekil 4.77 *Hypogymnia physodes* liken türüne UVA+UVD radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları

Çizelge 4.26 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA+UVD stresi uygulanan örneklere ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları

Örnekler		GTS Oranları (%)
UVA+UVD	4 j/cm <sup>2</sup>	88,69
	8 j/cm <sup>2</sup>	83,47
	12 j/cm <sup>2</sup>	80,86
	20 j/cm <sup>2</sup>	82,6
	40 j/cm <sup>2</sup>	82,6
UVA+UVD	<b>PRİMERLER</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>
	TubeA01	82,60
	TubeA02	86,95
	OPO03	95,65
	OPA18	91,30
	OPA19	91,30
	Ortalama	89,56



#### 4.3.4.1.3.3 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVC uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular

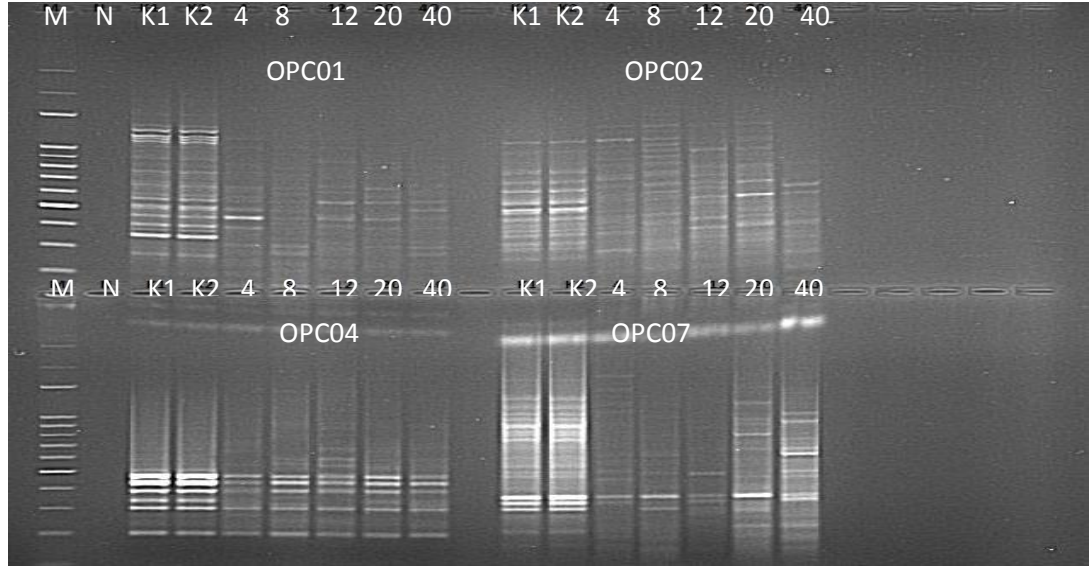
*Hypogymnia physodes* liken türüne UVC ışığında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup>) uygulama yapılmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden jelde net görüntü oluşturan 5 tanesi değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.27). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.27 UVC radyasyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

Primer	Dizi (5'- 3')
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC04	CCG CAT CTA C
OPC07	GTC CCG ACG A
OPC10	TGT CTG GGT G

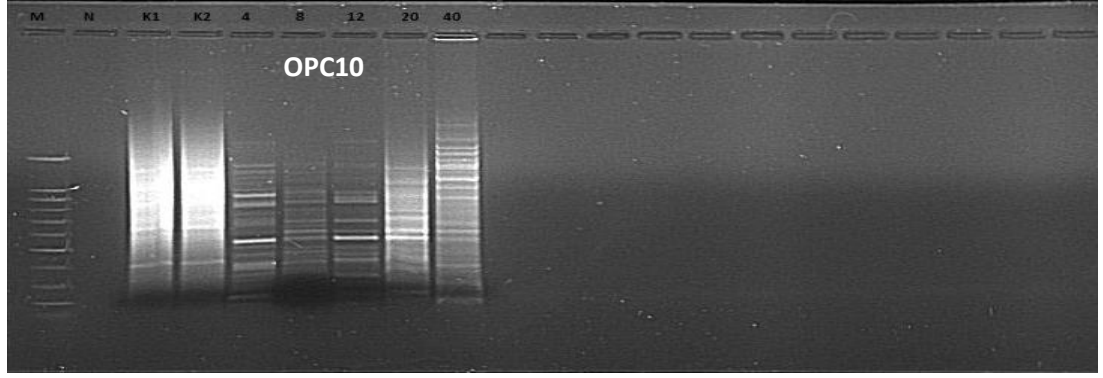
*Hypogymnia physodes* liken türünde UVC uygulanan örnekler için sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin 4 j/cm<sup>2</sup> dozda %92,17 olduğu görülmektedir. En düşük GTS değerinin ise 40 j/cm<sup>2</sup> dozda %76,52 olarak bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.29).

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVC radyasyonu uygulanarak OPC 01, OPC 02, OPC 04, OPC 07 ve OPC10 primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri şekil 4.78-4.79'da verilmiştir. Ayrıca *Hypogymnia physodes* liken türüne UVC radyasyonu uygulanan örnekler için polimorfizm oranları ise şekil 4.80'de verilmiştir



Şekil 4.78 UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği



Şekil 4.79 UVC radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

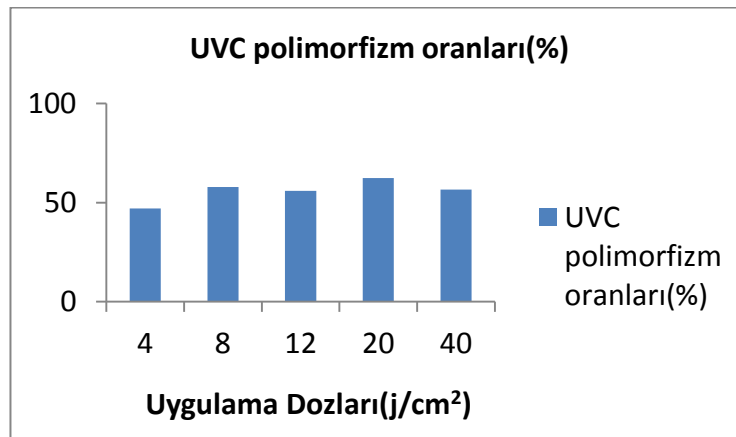
M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait UVC ışınında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j) uygulama yapılması sonucunda tüm primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.28’de verilmiştir.

Çizelge 4.28 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVC ışını uygulanması sonucunda OPC01, OPC02, OPC04, OPC07 ve OPC10 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	4 j		8 j		12 j		20 j		40 j	
		a	b	A	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	23	1	1	3	1	1	3	2	4	4	2
OPC 02	23	1	2	1	1	3	2	1	5	3	4
OPC 04	23	0	0	0	1	1	2	1	1	0	3
OPC 07	23	1	1	1	4	4	1	0	4	1	7
OPC 10	23	1	1	2	1	0	3	4	1	2	2
	115	4	5	7	8	9	11	8	15	9	18
	a+b	9		15		20		23		27	

a : Yeni oluşan bant b : Kaybolan bant



Şekil 4.80 *Hypogymnia physodes* liken türüne UVC radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları

Çizelge 4.29 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVC stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları

Örnekler		GTS Oranları (%)
UVC	4 j/cm <sup>2</sup>	92,17
	8 j/cm <sup>2</sup>	86,95
	12 j/cm <sup>2</sup>	82,6
	20 j/cm <sup>2</sup>	80,0
	40 j/cm <sup>2</sup>	76,52
UVC	<b>PRİMERLER</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>
	OPC 01	91,30
	OPC 02	86,95
	OPC04	91,30
	OPC 07	91,30
	OPC 10	82,60
	Ortalama	88,69

#### 4.3.4.1.3.4 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVD uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular

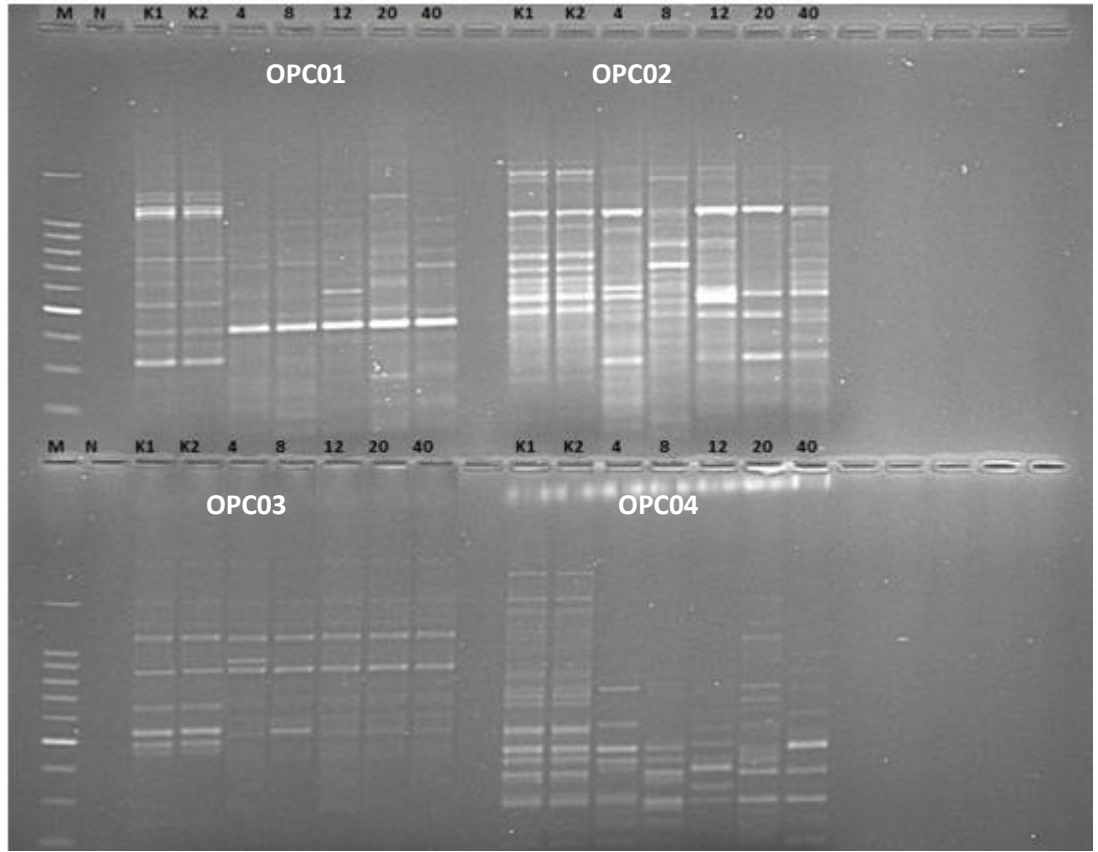
*Hypogymnia physodes* liken türüne UVD ışınında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup>) uygulama yapılmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden jelde net görüntü oluşturan 5 tanesi değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.30). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.30 UVD radyasyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

Primer	Dizi (5' - 3')
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC03	GGG GGT CTT T
OPC04	CCG CAT CTA C
TUBE-A05	AGG GGT CTT G
OPC07	GTC CCG ACG A
OPC10	TGT CTG GGT G
OPO-19	GGT GCA CGT T

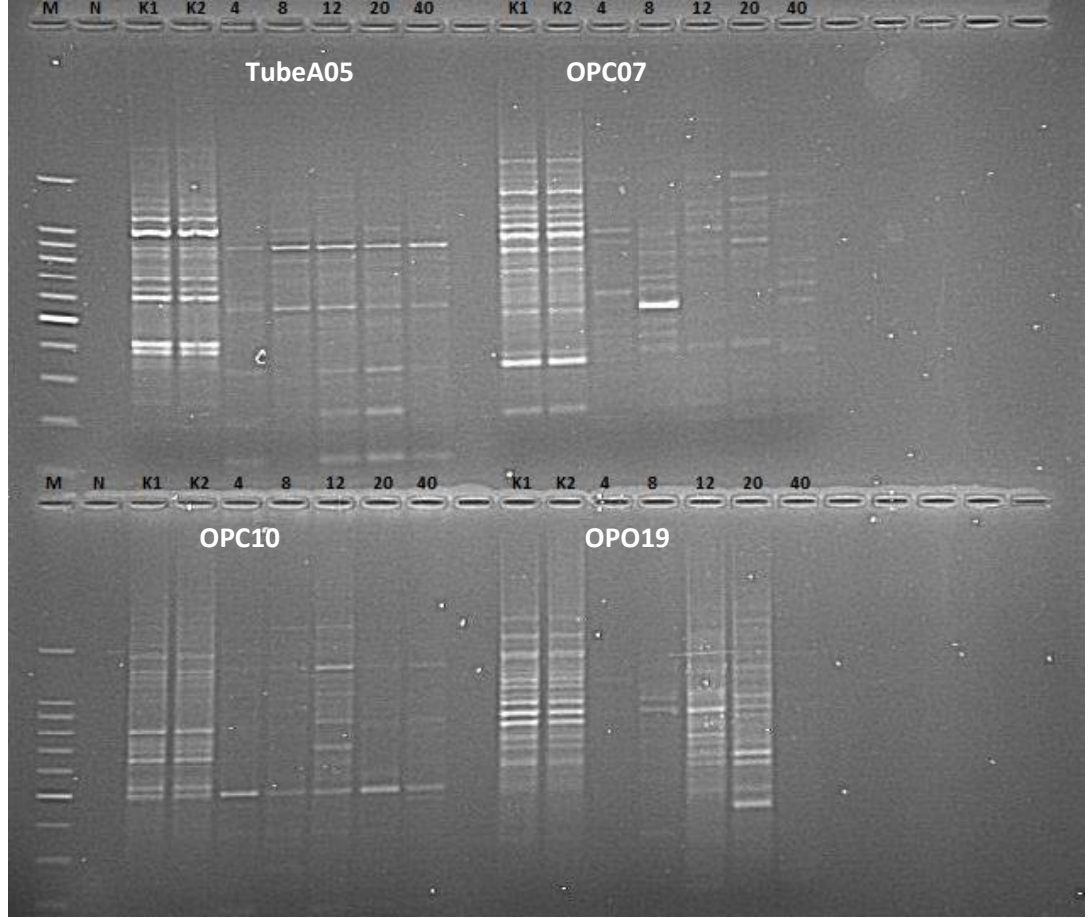
*Hypogymnia physodes* liken türünde UVD uygulanan örneklerle ait sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin 8 j/cm<sup>2</sup> dozda %89,67 olduğu görülmektedir. En düşük GTS değerinin ise 40 j/cm<sup>2</sup> dozda %84,78 olarak bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.32).

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVD radyasyonu uygulanarak OPC 01, OPC 02, OPC03 OPC 04, TubeA05, OPC07, OPC10 VE OPO19 primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri şekil 4.81-4.82’de verilmiştir. Ayrıca *Hypogymnia physodes* liken türüne UVD radyasyonu uygulanan örneklerle ait polimorfizm oranları ise şekil 4.83’de verilmiştir



Şekil 4.81 UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği



Şekil 4.82 UVD radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K1	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
K2	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği

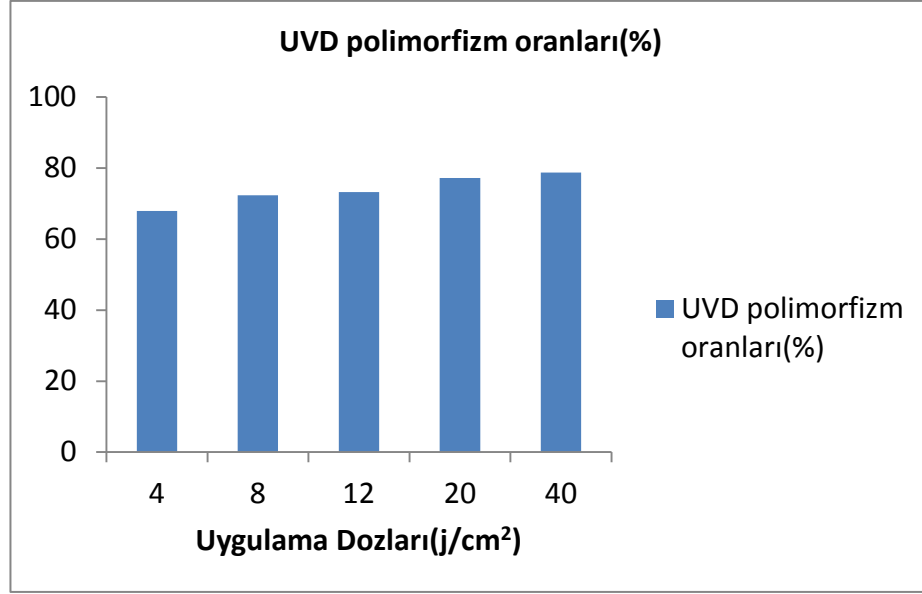
*Hypogymnia physodes* liken türüne ait UVD ışınında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j) uygulama yapılması sonucunda tüm primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.31’de verilmiştir.

Çizelge 4.31 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVD ışını uygulanması sonucunda OPC01, OPC02, OPC03, OPC04, OPC07, OPC10, OPO19 ve TubeA05 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	4 j		8 j		12 j		20 j		40 j	
		a	b	A	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	23	2	3	1	2	2	2	0	1	2	1
OPC 02	23	2	2	0	2	1	3	2	0	1	2
OPC 03	23	0	1	1	2	0	0	0	0	1	0
OPC 04	23	1	2	2	4	1	2	0	1	1	1
OPC 07	23	1	1	0	0	0	1	3	4	0	1
OPC 10	23	1	1	0	2	2	4	5	0	1	6
OPO 19	23	1	0	0	0	1	3	1	6	2	5
Tube A05	23	1	1	0	2	0	2	2	1	0	4
	184	9	11	4	15	7	17	13	12	8	20
	a+b	20		19		24		25		28	

a : Yeni oluşan bant b : Kaybolan bant





Şekil 4.83 *Hypogymnia physodes* liken türüne UVD radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları

Çizelge 4.32 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVD stresi uygulanan örneklere ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları

	Örnekler	GTS Oranları (%)
UVD	4 j/cm <sup>2</sup>	89,13
	8 j/cm <sup>2</sup>	89,67
	12 j/cm <sup>2</sup>	86,95
	20 j/cm <sup>2</sup>	86,41
	40 j/cm <sup>2</sup>	84,78
UVD	<b>PRİMERLER</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>
	OPC 01	95,65
	OPC 02	82,60
	OPC03	86,95
	OPC04	86,95
	OPC 07	91,30
	OPC 10	86,95
	OPO19	91,30
	TubeA05	91,30
	<b>Ortalama</b>	<b>89,12</b>

#### 4.3.4.1.3.5 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVB uygulanmış örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular

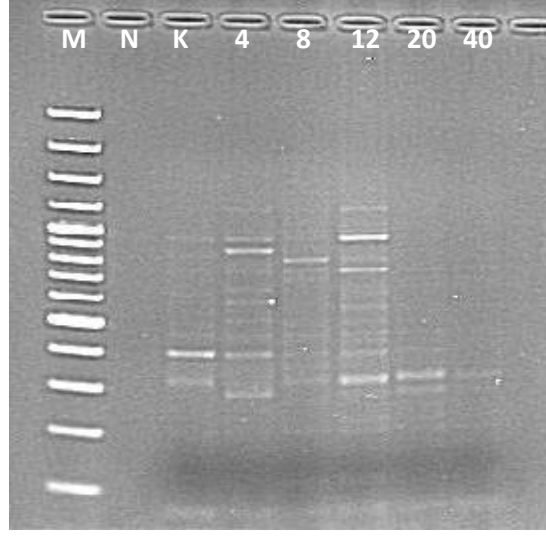
*Hypogymnia physodes* liken türüne UVB ışığında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup>) uygulama yapılmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden jelde net görüntü oluşturan 6 tanesi değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.33). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.33 UVB radyasyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

Primer	Dizi (5' - 3')
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC04	CCG CAT CTA C
TUBE-A05	AGG GGT CTT G
OPC07	GTC CCG ACG A
OPC10	TGT CTG GGT G

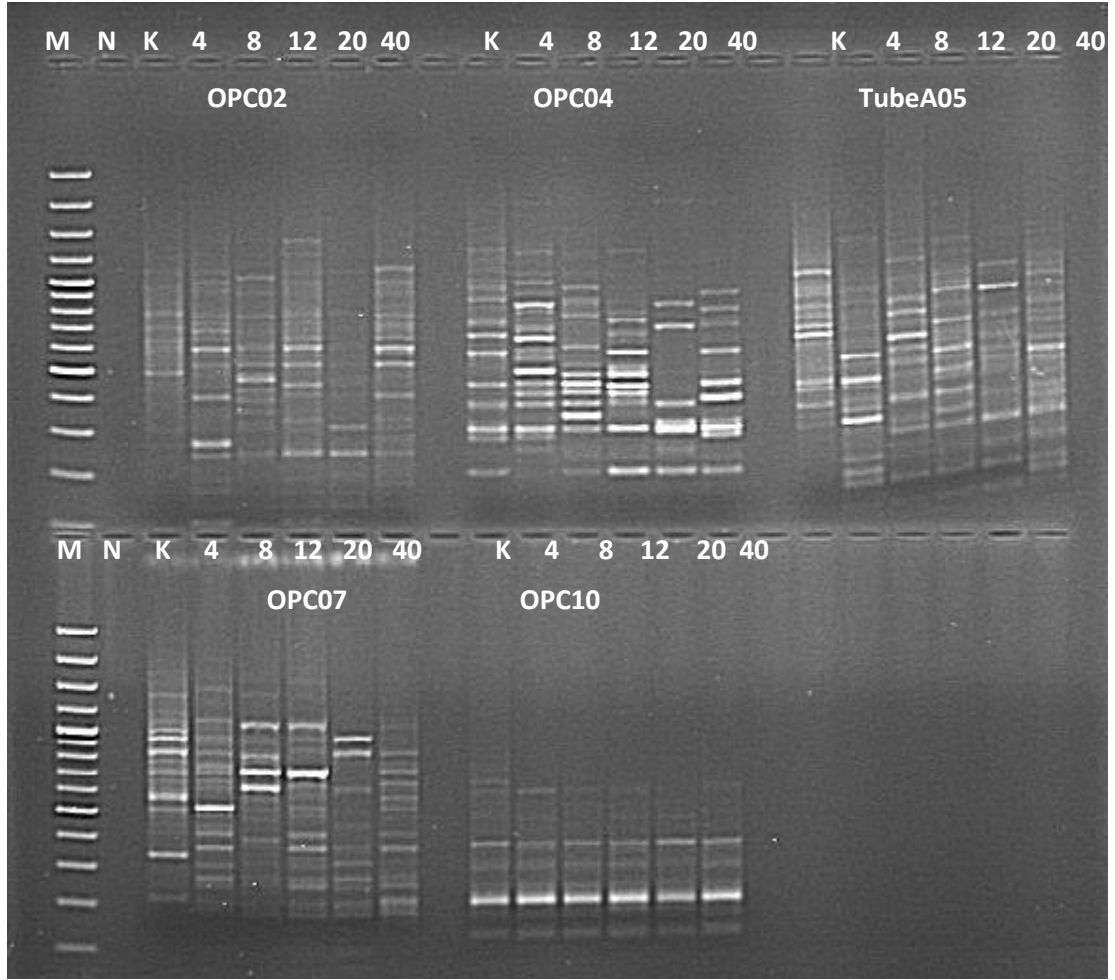
*Hypogymnia physodes* liken türünde UVB uygulanan örnekler için sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin 4 j/cm<sup>2</sup> dozda %88,4 olduğu görülmektedir. En düşük GTS değerinin ise 40 j/cm<sup>2</sup> dozda %73,18 olarak bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.35).

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVB radyasyonu uygulanarak OPC 01, OPC 02, OPC 04, TubeA05, OPC07 ve OPC10 primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri şekil 4.84-4.85'te verilmiştir. Ayrıca *Hypogymnia physodes* liken türüne UVB radyasyonu uygulanan örnekler için polimorfizm oranları ise şekil 4.86'da verilmiştir.



Şekil 4.84 OPC01 primeri kullanılarak UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR jeli

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği



Şekil 4.85 UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

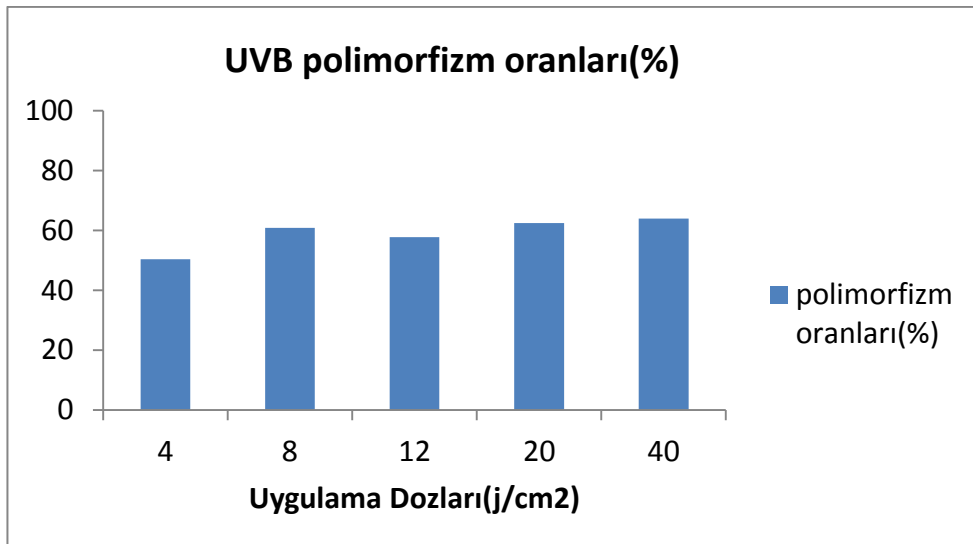
M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait UVB ışınında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j) uygulama yapılması sonucunda tüm primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.34'de verilmiştir.

Çizelge 4.34 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVB ışını uygulanması sonucunda OPC01, OPC02, OPC04, OPC07, OPC10 ve TubeA05 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	4 j		8 j		12 j		20 j		40 j	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	23	1	3	1	1	0	3	2	4	2	4
OPC 02	23	2	0	3	2	4	2	3	3	1	3
OPC 04	23	0	0	0	2	0	3	4	3	3	7
OPC 07	23	1	4	2	3	1	3	1	7	0	4
OPC 10	23	2	0	1	2	2	2	1	2	2	6
Tube A05	23	0	3	0	1	2	4	2	0	1	4
	138	6	10	7	11	9	17	13	19	9	28
	a+b	16		18		26		32		37	

a : Yeni oluşan bant, b : Kaybolan bant



Şekil 4.86 *Hypogymnia physodes* liken türüne UVB radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları

Çizelge 4.35 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVB stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları

Örnekler		GTS Oranları (%)
UVB	4 j/cm <sup>2</sup>	88,4
	8 j/cm <sup>2</sup>	86,95
	12 j/cm <sup>2</sup>	81,15
	20 j/cm <sup>2</sup>	76,81
	40 j/cm <sup>2</sup>	73,18
UVB	<b>PRİMERLER</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>
	OPC01	95,65
	OPC02	91,30
	OPC04	82,60
	OPC07	91,30
	OPC10	91,30
	TubeA05	86,95
	Ortalama	89,85

#### 4.3.4.1.3.6 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA+UVB uygulanmış Örneklerin RAPD-PCR'larına ait bulgular

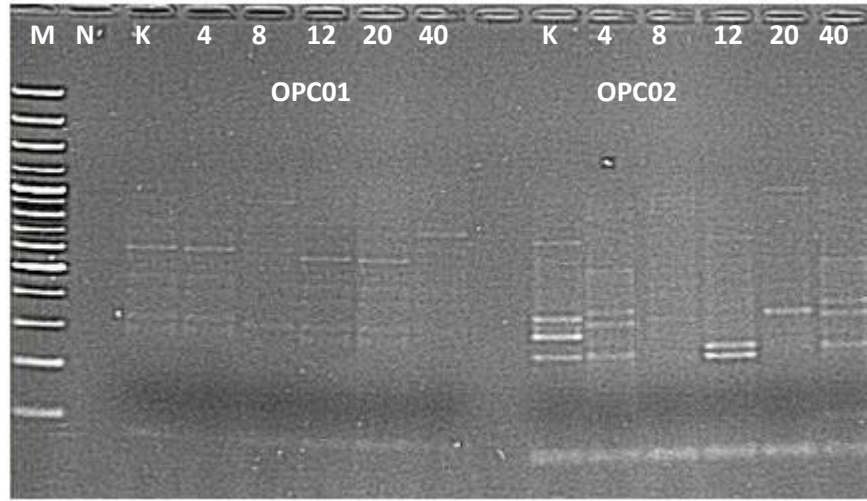
*Hypogymnia physodes* liken türüne UVA+UVB ışığında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup>) uygulama yapılmıştır. *H. physodes* liken türünde 18 tane primer denenmiştir. Ancak bu primerlerden jelde net görüntü oluşturan 5 tanesi değerlendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.36). Kullanılan primerlerin bir kısmı ise amplifikasyon vermediği için değerlendirilmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.36 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *H. physodes* liken türünde kullanılan primerler

Primer	Dizi (5'- 3')
OPC01	TTC GAG CCA G
OPC02	GTG AGG CGT C
OPC04	CCG CAT CTA C
OPC07	GTC CCG ACG A
OPC10	TGT CTG GGT G

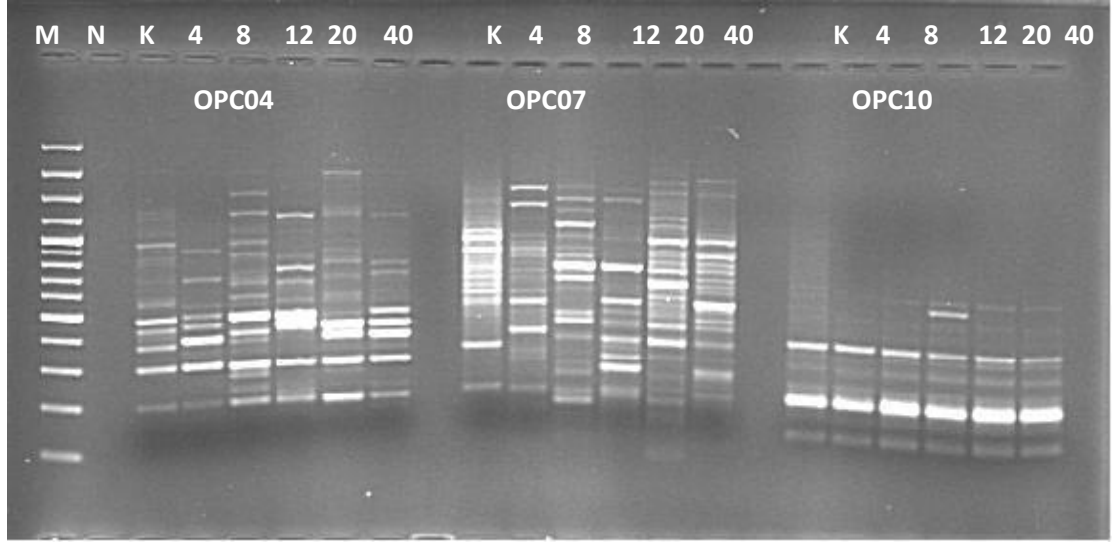
*Hypogymnia physodes* liken türünde UVA+UVB uygulanan örneklerle ait sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin 4 j/cm<sup>2</sup> dozda %84,34 olduğu görülmektedir. En düşük GTS değerinin ise 40 j/cm<sup>2</sup> dozda %63,47 olarak bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.38).

*Hypogymnia physodes* liken türüne UVA+UVB radyasyonu uygulanarak OPC 01, OPC 02, OPC 04, TubeA05, OPC07 ve OPC10 primerleri kullanılarak elde edilen jel görüntüleri şekil 4.87-4.88'de verilmiştir. Ayrıca *Hypogymnia physodes* liken türüne UVA+UVB radyasyonu uygulanan örneklerle ait polimorfizm oranları ise şekil 4.89'da verilmiştir.



Şekil 4.87 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği



Şekil 4.88 UVA+UVB radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

M	MARKER
N	NEGATİF KONTROL
K	<i>Hypogymnia physodes</i> Kontrol
4	4 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
8	8 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
12	12 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
20	20 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği
40	40 j/cm <sup>2</sup> uygulanmış liken örneği

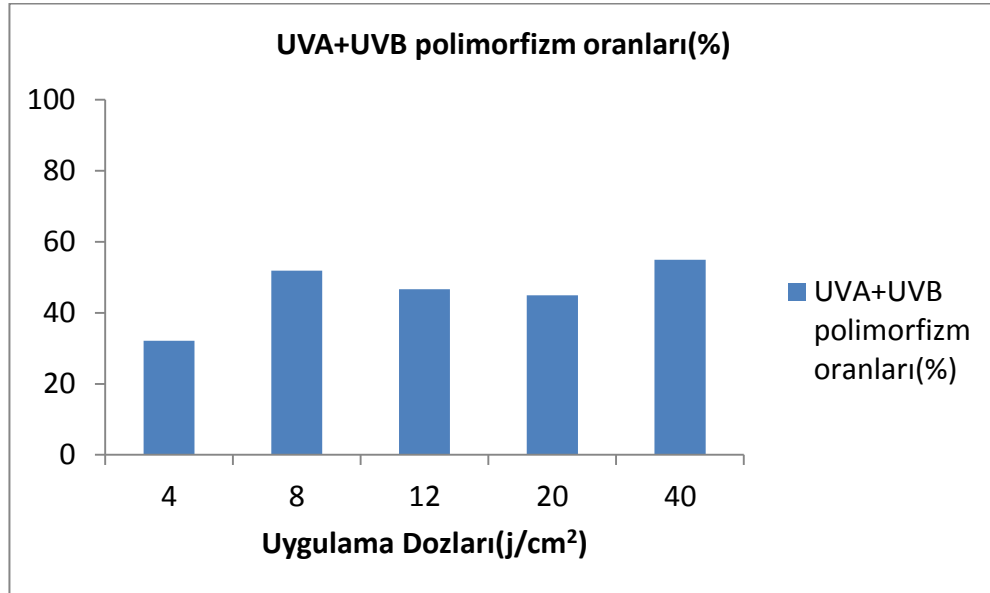
*Hypogymnia physodes* liken türüne ait UVA+UVB ışınında farklı dozlarda (4, 8, 12, 20 ve 40 j) uygulama yapılması sonucunda tüm primerlerine ait kontrol örneğine karşın artan ve azalan bant sayısındaki değişim, polimorfik bant değişimi sonucu çizelge 4.37'de verilmiştir.



Çizelge 4.37 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA+UVB ışını uygulanması sonucunda OPC01, OPC02, OPC04, OPC07 ve OPC10 primerlerine ait değişen bant sayısı

Primer	C	4 j		8 j		12 j		20 j		40 j	
		a	b	A	b	a	b	a	b	a	b
OPC 01	23	1	1	0	5	3	6	3	3	2	3
OPC 02	23	1	3	1	6	2	5	2	4	4	5
OPC 04	23	0	2	1	4	1	4	5	6	3	4
OPC 07	23	2	4	3	2	4	3	4	7	5	7
OPC 10	23	2	2	1	2	2	1	3	1	6	3
	115	6	12	6	19	12	19	17	21	20	22
	a+b	18		25		31		38		42	

a : Yeni oluşan bant b : Kaybolan bant



Şekil 4.89 *Hypogymnia physodes* liken türüne UVA+UVB radyasyonu uygulanmış örneklerin polimorfizm oranları

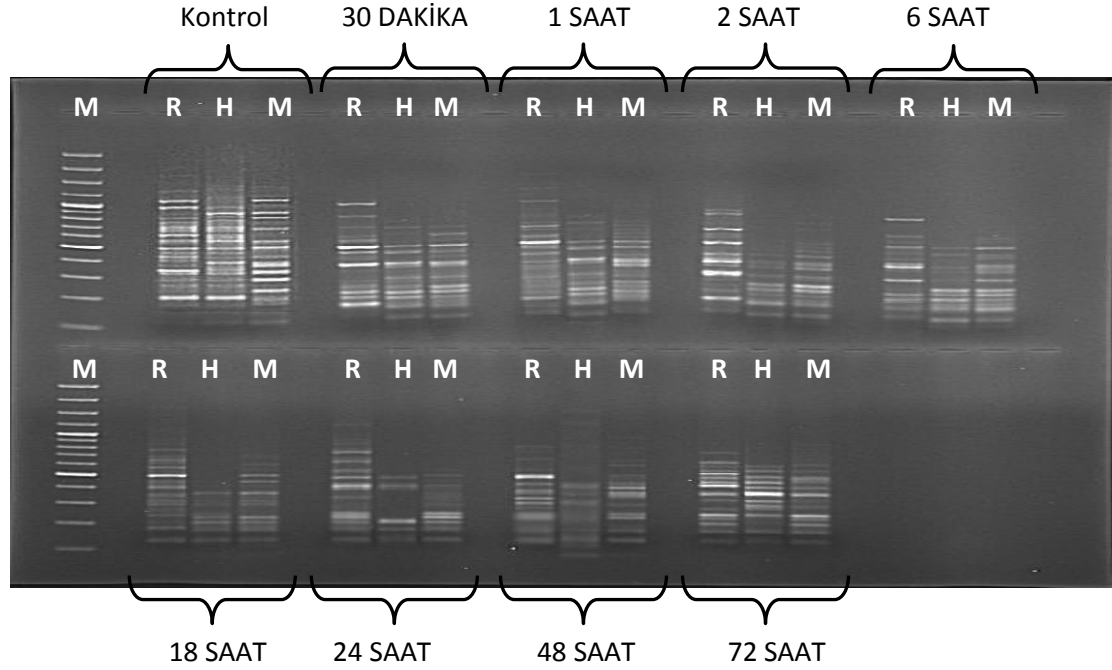
Çizelge 4.38 *Hypogymnia physodes* liken türünde UVA+UVB stresi uygulanan örneklerle ait GTS ve primerlere ait polimorfizm oranları

Örnekler		GTS Oranları (%)
UVA+UVB	4 j/cm <sup>2</sup>	84,34
	8 j/cm <sup>2</sup>	78,26
	12 j/cm <sup>2</sup>	73,04
	20 j/cm <sup>2</sup>	66,95
	40 j/cm <sup>2</sup>	63,47
UVA+UVB	<b>PRİMERLER</b>	<b>Polimorfizm Oranları (%)</b>
	OPC 01	95,65
	OPC 02	91,30
	OPC 04	91,30
	OPC 07	95,65
	OPC 10	100,0
	Ortalama	94,78

#### 4.3.5 CRED-RA bulguları

CRED-RA analizinde RAPD analizi sırasında keskin bantlar veren primerlerden biri olan OPC10 primeri kullanılmıştır. Ayrıca ağır metal stresi uygulanmış liken örneklerinin CRED-RA ile metilasyon analizinde orta değer olan 60 ppm strese maruz kalmış örnekler kullanılmıştır.

#### 4.3.5.1 *Hypogymnia physodes* liken türünde $Pb^{+2}$ kationunun CRED-RA analizlerine ait bulgular



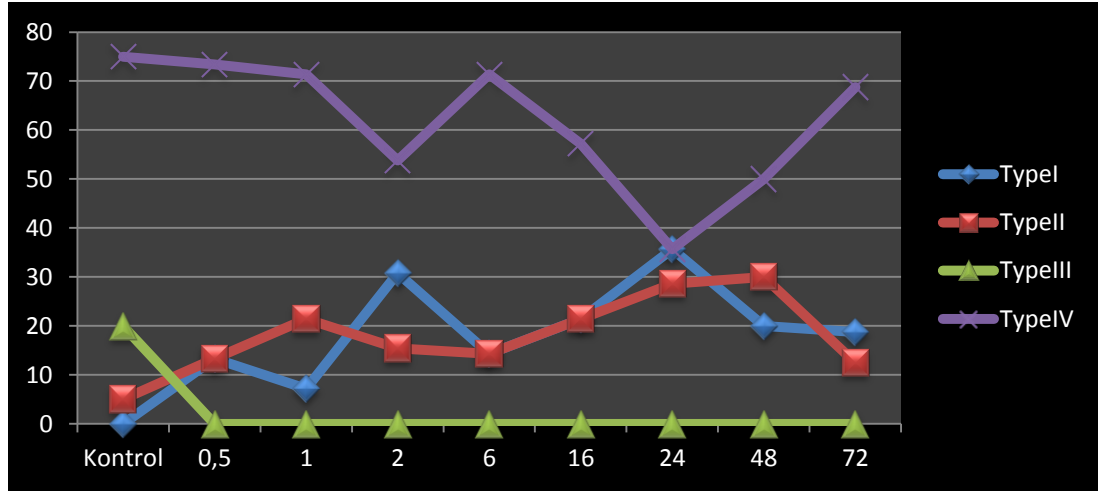
Şekil 4.90 60 ppm  $Pb^{+2}$  stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü

Çizelge 4.39 60 ppm  $Pb^{+2}$  stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge

Metilasyon Tipi	Kontrol	30 Dakika	1Saat	2Saat	6Saat	18Saat	24saat	48saat	72saat
TypeI (0-0)	0	13,3	7,2	30,8	14,3	21,4	35,7	20	18,75
TypeII (0-1)	5	13,3	21,4	15,4	14,3	21,4	28,6	30	12,5
TypeIII (1-0)	20	0	0	0	0	0	0	0	0
TypeIV (1-1)	75	73,4	71,4	53,8	71,4	57,2	35,7	50	68,75

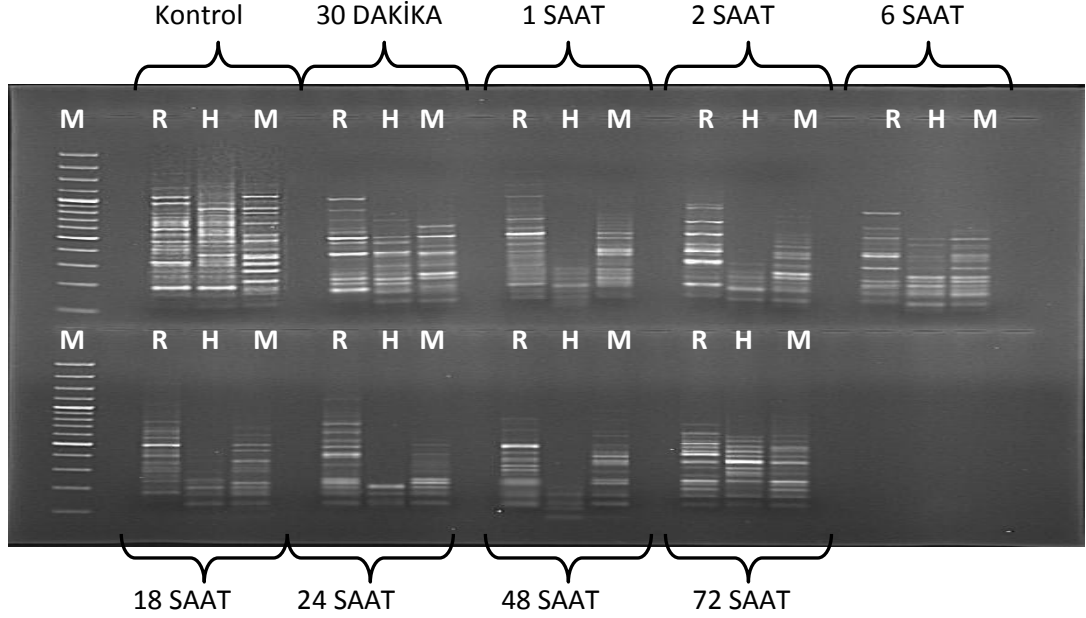
Kurşun stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken örneklerinde grafikte de görüldüğü üzere ilk yarım saatten itibaren, yani stres faktörünün uygulanmaya başlamasıyla birlikte Type III metilasyon ortadan kalkmıştır. Type I ve Type II metilasyon ise doğrusal olmamakla birlikte 24. Saate kadar bir artış grafiği

oluşturmaktadır. Aynı noktada Type IV metilasyon en düşük seviyeye gelmiştir. 24. saat sonrasında ise metilasyon tiplerinin kontrol seviyesine gerilediği görülmektedir. Buradan hareketle ilk 24 saat metilasyon hareketlilikleriyle stresle başa çıkmaya çalışan organizmanın, 24. saatten sonra bu direncinin kırıldığı yorumuna gidilebilir.



Şekil 4.91 60 ppm Pb<sup>2+</sup> stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik

#### 4.3.5.2 *Hypogymnia physodes* liken türünde $Cr^{+6}$ kationunun CRED-RA analizlerine ait bulgular



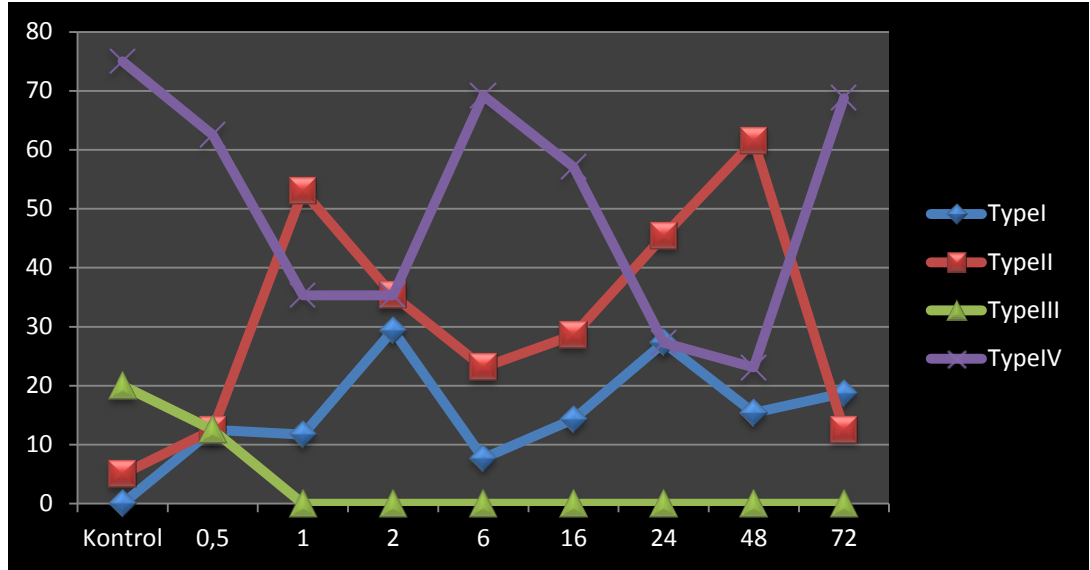
Şekil 4.92 60 ppm  $Cr^{+6}$  stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü

Çizelge 4.40 60 ppm  $Cr^{+6}$  stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge

Metilasyon Tipi	Kontrol	30 Dakika	1Saat	2 Saat	6Saat	18Saat	24saat	48saat	72saat
TypeI (0-0)	0	12,5	11,7	29,4	7,7	14,3	27,3	15,4	18,75
TypeII (0-1)	5	12,5	53	35,3	23,1	28,6	45,4	61,5	12,5
TypeIII (1-0)	20	12,5	0	0	0	0	0	0	0
TypeIV (1-1)	75	62,5	35,3	35,3	69,2	57,1	27,3	23,1	68,75

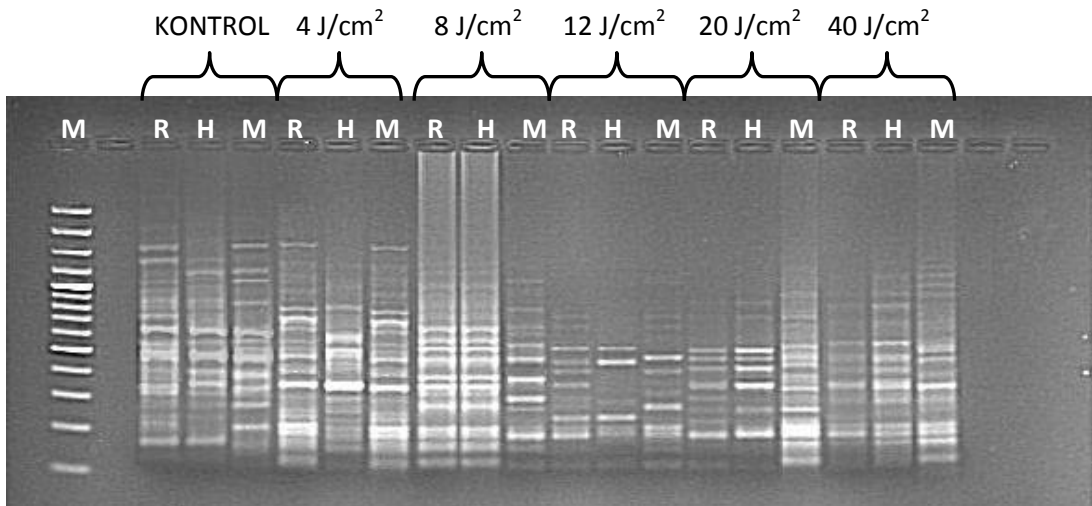
Krom stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait metilasyon eğrisi incelendiğinde 1. ve 48. saatlerde en düşük Type IV metilasyon oranı görülürken Type II metilasyon oranı en yüksek değerine ulaşmaktadır. Ayrıca 6. ve 72. saatlerdeki Type II metilasyona ait değerler düşüşe geçerken, Type IV metilasyon oranı yükselmektedir. Buradan da anlaşılacağı gibi krom stresinin uygulandığı *Hypogymnia physodes* liken türünde meydana gelen metilasyon farklılıklarının Type II ve Type IV metilasyon modellerinin birbirine dönüşümünü içerdiği görülmektedir. Type III metilasyon modelinin ise kurşun stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinde olduğu gibi

düşük süreli stres uygulamalarından sonra ortadan kalktığı ve grafik boyunca tekrar varlık göstermediği görülmektedir.



Şekil 4.93 60 ppm Cr<sup>+6</sup> stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik

#### 4.3.5.3 UVA uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular

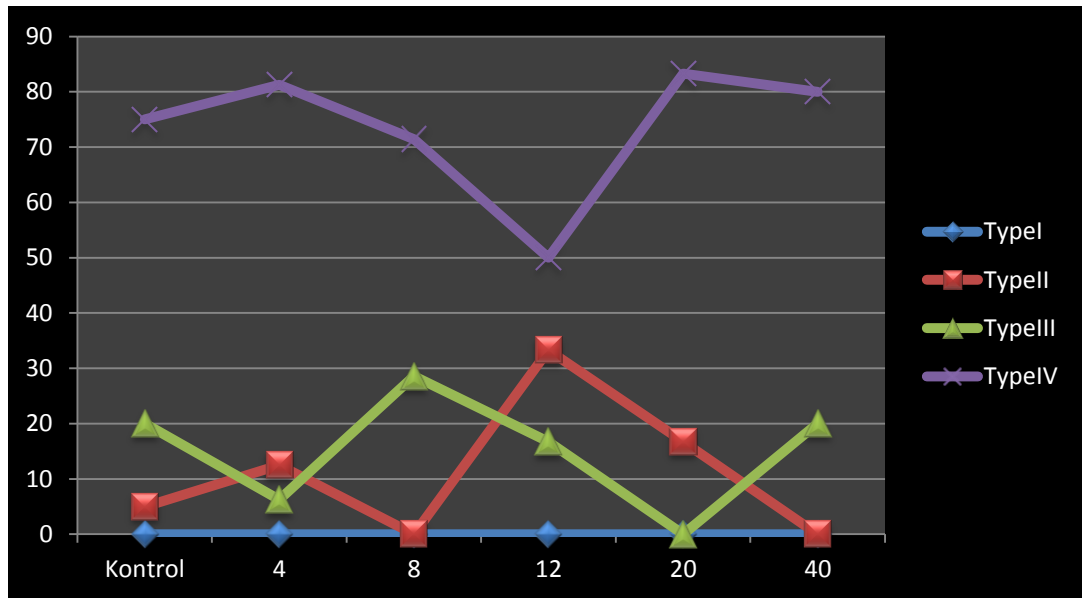


Şekil 4.94 UVA stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü

Çizelge 4.41 UVA stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge

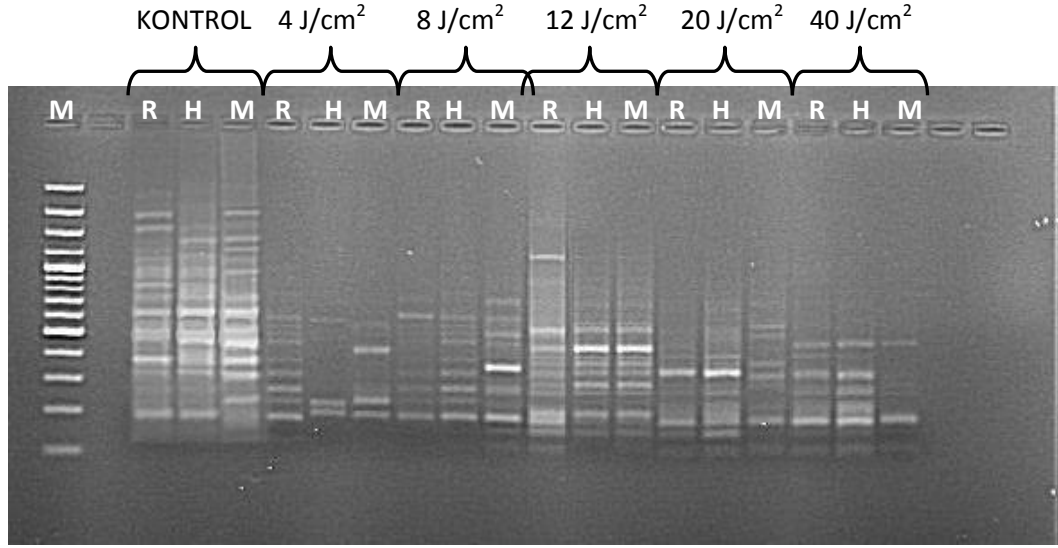
Metilasyon Tipi	Kontrol	4J/m <sup>2</sup>	8J/m <sup>2</sup>	12J/m <sup>2</sup>	20J/m <sup>2</sup>	40J/m <sup>2</sup>
TypeI (0-0)	0	0	0	0	0	0
TypeII (0-1)	5	12,5	0	33,3	16,7	0
TypeIII (1-0)	20	6,25	28,6	16,7	0	20
TypeIV (1-1)	75	81,25	71,4	50	83,3	80

UVA uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken örneklerinde kontrol grubundan itibaren Type I metilasyon modeline rastlanmamıştır. 12 ve 20 j/cm<sup>2</sup> UVA dozları hariç olmak üzere Type II ve Type III metilasyon oranları birbirine zıt yönde değişim gösteren bir grafik izlemektedir. Bu UVA dozlarını içeren dilimlerde Type IV metilasyon modelinde büyük değişimler olmadığı ve Type I metilasyon modelinin hiç görülmediği göz önünde bulundurulursa, Type II ve Type III metilasyon modellerinin birbirine dönüşüm halinde olduğu söylenebilir. 12 j/cm<sup>2</sup> dozunda UVA uygulandığında Type IV metilasyonda görülen büyük düşüşe karşılık Type II metilasyonun arttığı görülmektedir.



Şekil 4.95 UVA stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik

#### 4.3.5.4 UVB uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular



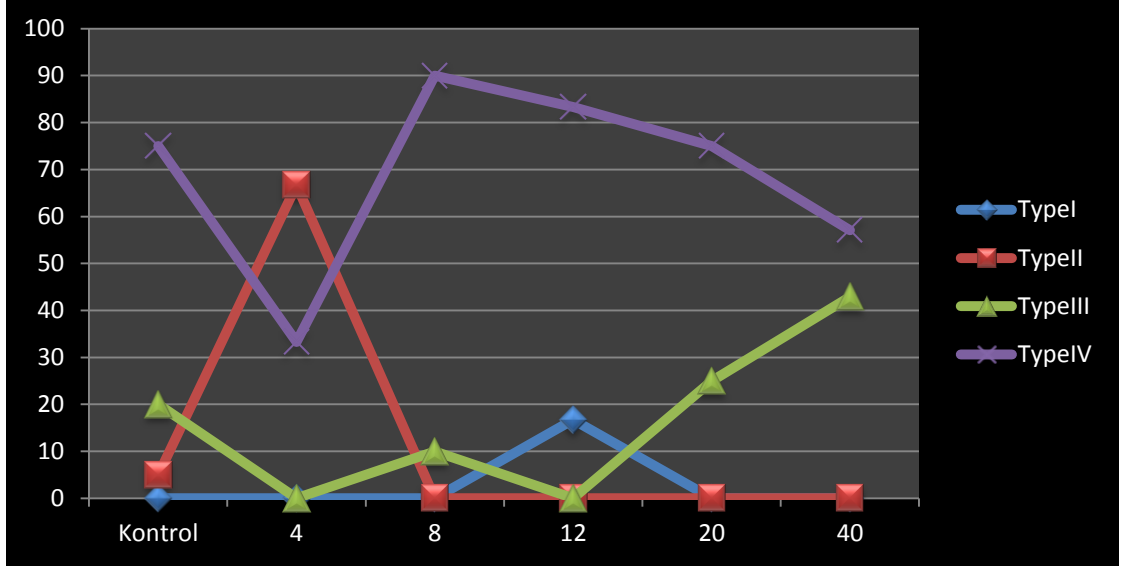
Şekil 4.96 UVB stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü

Çizelge 4.42 UVB stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge

Metilasyon Tipi	Kontrol	4J/m <sup>2</sup>	8J/m <sup>2</sup>	12J/m <sup>2</sup>	20J/m <sup>2</sup>	40J/m <sup>2</sup>
TypeI (0-0)	0	0	0	16,7	0	0
TypeII (0-1)	5	66,7	0	0	0	0
TypeIII (1-0)	20	0	10	0	25	42,9
TypeIV (1-1)	75	33,3	90	83,3	75	57,1

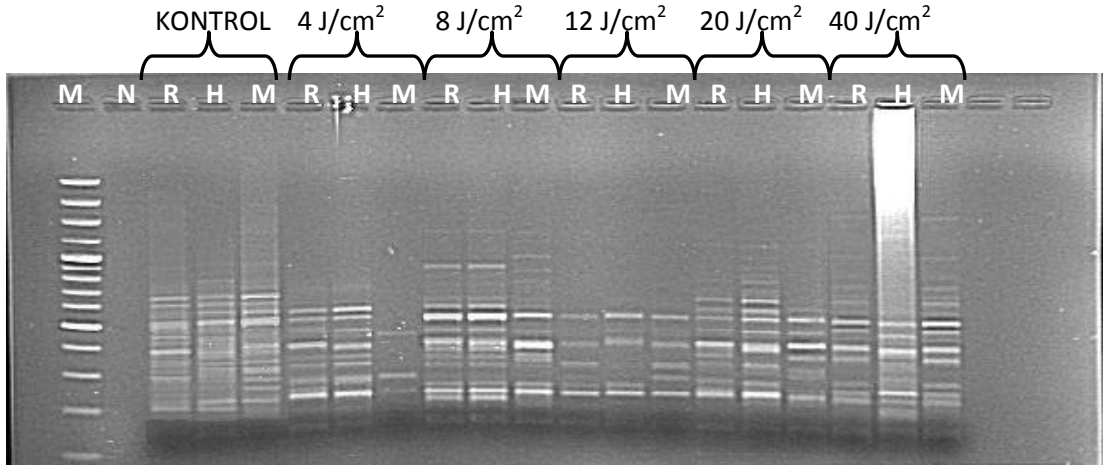
UVB stresine maruz kalan *Hypogymnia physodes* liken örneklerine ait metilasyon değişim çizelgesine göre, Type II metilasyon 4j/cm<sup>2</sup>'de yüksek bir artış göstermiş, buna karşılık aynı anda Type IV metilasyon yüksek bir düşüş göstermiştir. Type I metilasyon ise 12 J/cm<sup>2</sup> 'de %16,7'lik bir artış göstermiş, diğer dozlarda ise başlangıçta olduğu gibi sıfır seviyesinde seyretmiştir. 12 J/cm<sup>2</sup> dozunda UVB uygulamasından sonra artan dozlarda Type IV metilasyon düzeyinde düşüş görülürken, Type III modelinde artış görülmektedir.





Şekil 4.97 UVB stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik

#### 4.3.5.5 UVC uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular

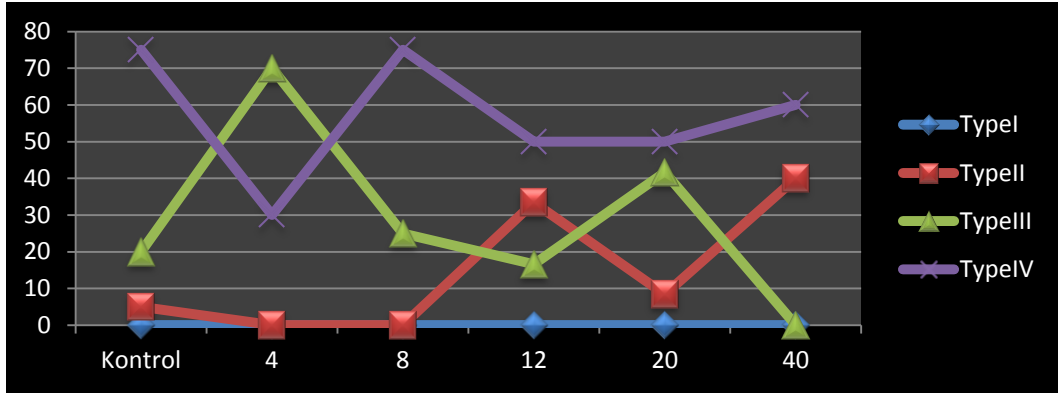


Şekil 4.98 UVC stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü

Çizelge 4.43 UVC stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge

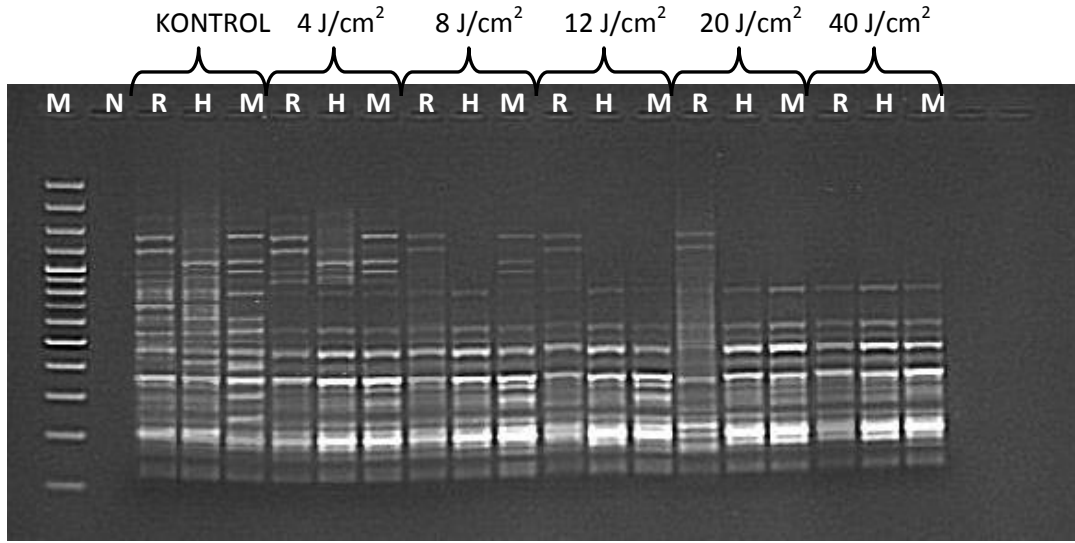
Metilasyon Tipi	Kontrol	4J/m <sup>2</sup>	8J/m <sup>2</sup>	12J/m <sup>2</sup>	20J/m <sup>2</sup>	40J/m <sup>2</sup>
TypeI (0-0)	0	0	0	0	0	0
TypeII (0-1)	5	0	0	33,4	8,4	40
TypeIII (1-0)	20	70	25	16,6	41,6	0
TypeIV (1-1)	75	30	75	50	50	60

UVC stresi uygulanan *Hypogymnia physodes* liken örneklerinde Type I metilasyona raslanmamıştır. 12 J/cm<sup>2</sup> Type II metilasyon %0'dan %33,4'e yükselirken, Type IV metilasyon %75'den %50'ye gerilemiştir.



Şekil 4.99 UVC stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik

#### 4.3.5.6 UVD uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular

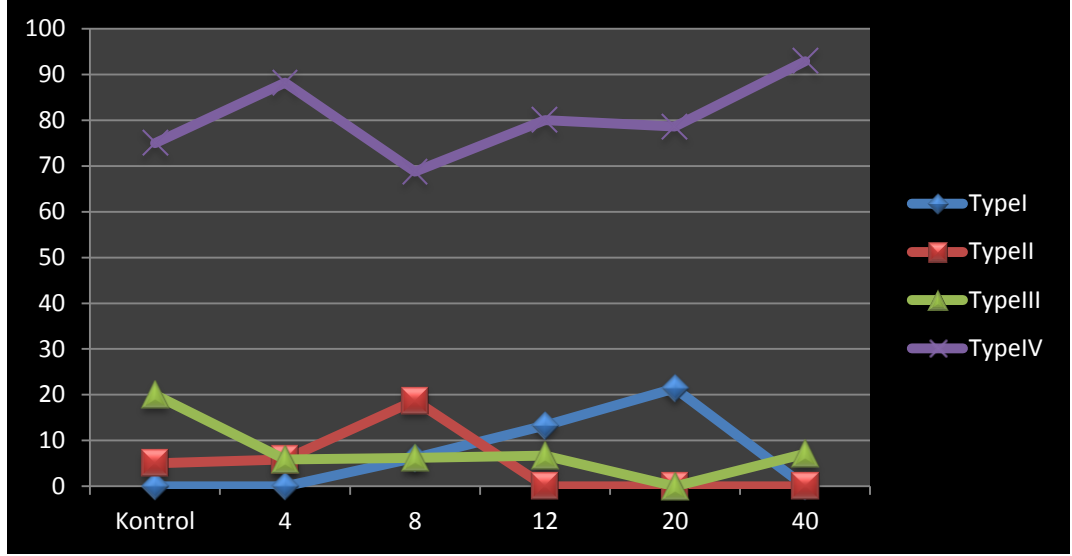


Şekil 4.100 UVD stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü

Çizelge 4.44 UVD stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge

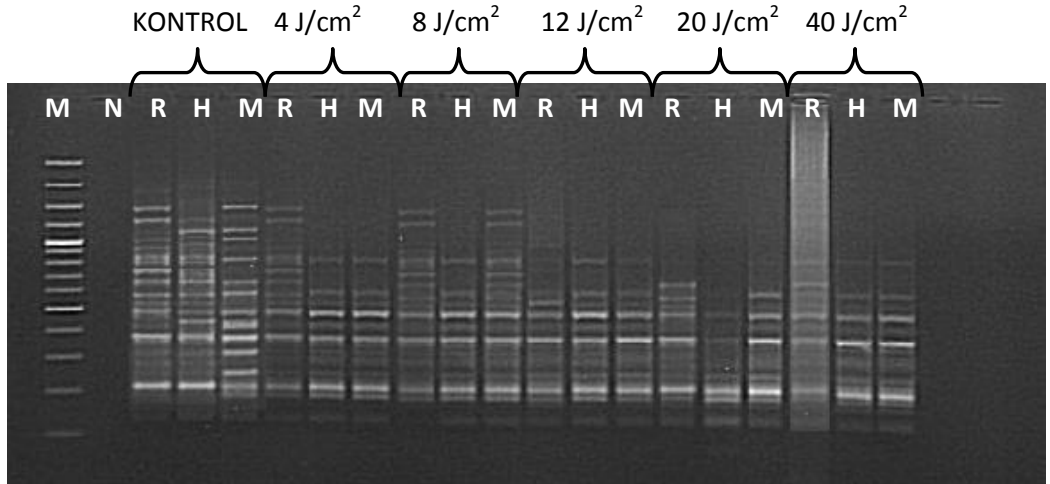
Metilasyon Tipi	Kontrol	4J/m <sup>2</sup>	8J/m <sup>2</sup>	12J/m <sup>2</sup>	20J/m <sup>2</sup>	40J/m <sup>2</sup>
TypeI (0-0)	0	0	6,25	13,3	21,4	0
TypeII (0-1)	5	5,9	18,75	0	0	0
TypeIII (1-0)	20	5,9	6,25	6,7	0	7,15
TypeIV (1-1)	75	88,2	68,75	80	78,6	92,85

Güneş ışığı uygulaması ile birlikte *Hypogymnia physodes* liken türünde meydana gelen metilasyon tiplerindeki değişimler grafikte açıkça görüldüğü gibi UVA, UVB ve UVC'ye göre oldukça minimal düzeydedir. 4 J/cm<sup>2</sup> ile 20 J/cm<sup>2</sup> arasında Type I metilasyon kademeli bir artış göstermiş, sonrasında ise başlangıç seviyesine gerilemiştir. Type I metilasyon modelinin metilasyonun bulunmadığı bir pozisyonu da ifade ettiğini hatırlayacak olursak, organizmanın gen ifadesini artırmak için 20 J/cm<sup>2</sup>'ye kadar metilasyonu ortadan kaldırmak için direnç gösterdiği düşünülebilir.



Şekil 4.101 UVD stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik

#### 4.3.5.7 UVA+UVB uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular

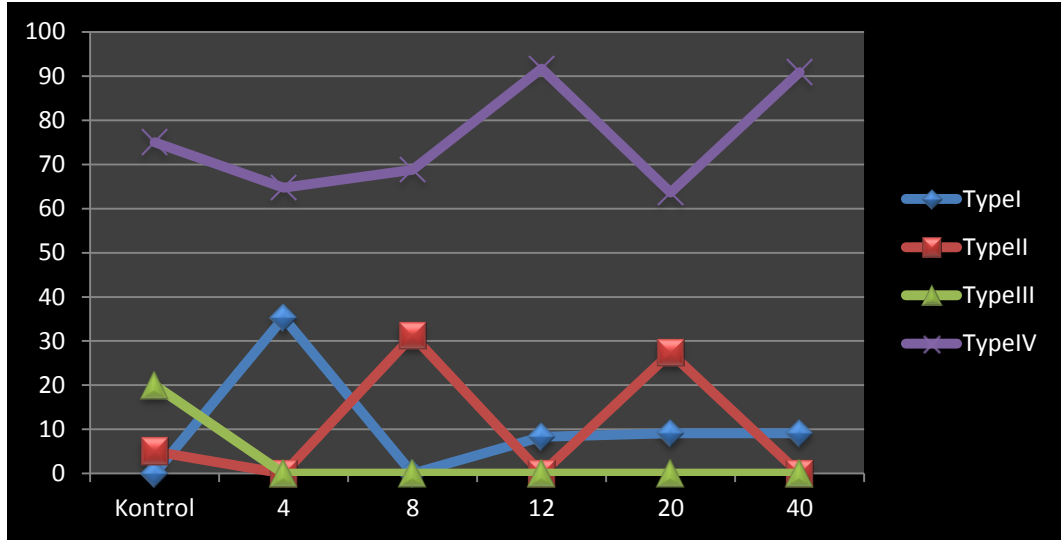


Şekil 4.102 UVA+UVB stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü

Çizelge 4.45 UVA+UVB stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge

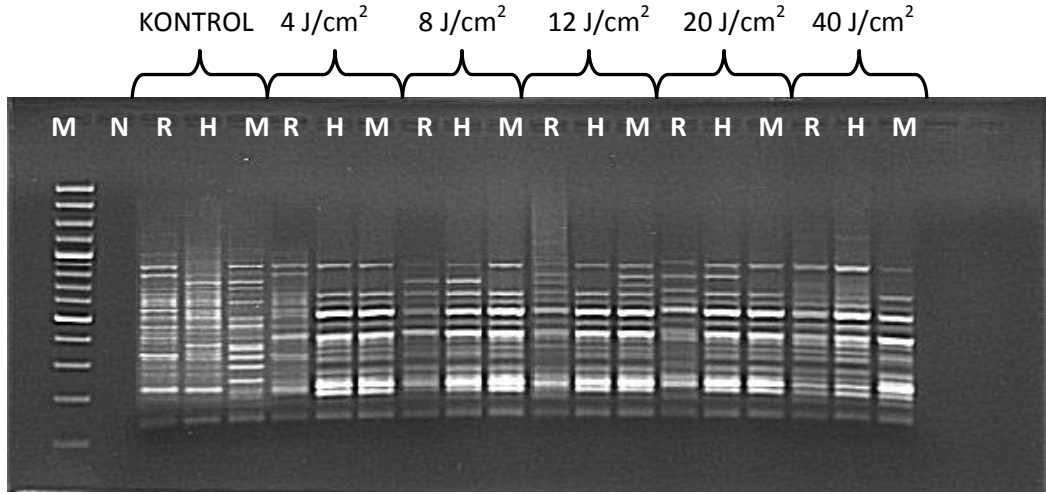
Metilasyon Tipi	Kontrol	4J/m <sup>2</sup>	8J/m <sup>2</sup>	12J/m <sup>2</sup>	20J/m <sup>2</sup>	40J/m <sup>2</sup>
TypeI (0-0)	0	35,3	0	8,3	9,1	9,1
TypeII (0-1)	5	0	31,25	0	27,3	0
TypeIII (1-0)	20	0	0	0	0	0
TypeIV (1-1)	75	64,7	68,75	91,7	63,6	90,9

UVA ve UVB'nin birlikte uygulandığı *Hypogymnia physodes* liken örneklerindeki metilasyon değişimini, bu UV ışınlarının ayrı ayrı oluşturduğu değişimle karşılaştıracak olursak, UVA uygulamasının 12 J/cm<sup>2</sup> de Type II ve Type IV metilasyon modellerinde meydana getirdiği değişimin benzeri değişimler, UVA ve UVB'nin birlikte uygulandığı *Hypogymnia physodes* liken örneklerinde 12 J/cm<sup>2</sup>, 20 J/cm<sup>2</sup> ve 40 J/cm<sup>2</sup> dozlarında gözlemlenmektedir.



Şekil 4.103 UVA+UVB stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik

#### 4.3.5.8 UVA+UVD uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türünde CRED-RA analizlerine ait bulgular

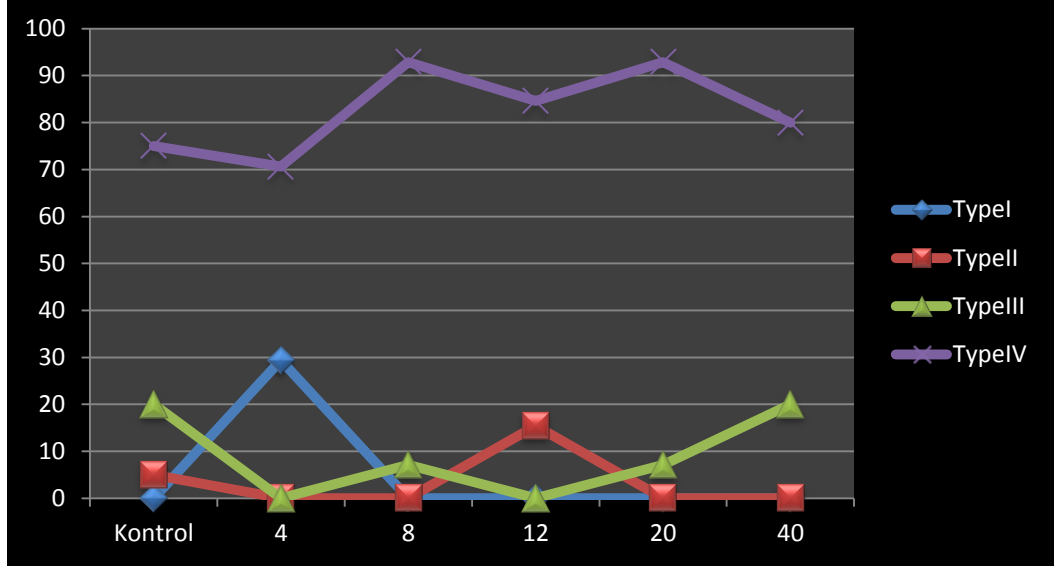


Şekil 4.104 UVA+UVD stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarını gösteren jel görüntüsü

Çizelge 4.46 UVA+UVD stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren çizelge

Metilasyon Tipi	Kontrol	4J/m <sup>2</sup>	8J/m <sup>2</sup>	12J/m <sup>2</sup>	20J/m <sup>2</sup>	40J/m <sup>2</sup>
TypeI (0-0)	0	29,4	0	0	0	0
TypeII (0-1)	5	0	0	15,4	0	0
TypeIII (1-0)	20	0	7,15	0	7,15	20
TypeIV (1-1)	75	70,6	92,85	84,6	92,85	80

UVA ve Gün ışığı'nın birlikte uygulandığı *Hypogymnia physodes* liken örneklerindeki metilasyon değişimini, bu ışınların ayrı ayrı oluşturduğu değişimle karşılaştıracak olursak, UVA uygulamasının 12J/cm<sup>2</sup> de Type II ve Type IV metilasyon modellerinde meydana getirdiği değişimin benzeri değişimler, UVA ve gün ışığının birlikte uygulandığı *Hypogymnia physodes* liken örneklerinde de görülmektedir. Ancak UVA'nın tek başına oluşturduğu değişimden daha az oranda bir değişim meydana gelmiştir.



Şekil 4.105 UVA+UVD stresi uygulanmış *Hypogymnia physodes* örneklerinin OPC10 primeri ile yapılan CRED-RA sonuçlarının değerlendirilmesiyle oluşturulan metilasyon tiplerinin yüzde olarak oranlarını gösteren grafik

## 5. TARTIŞMA

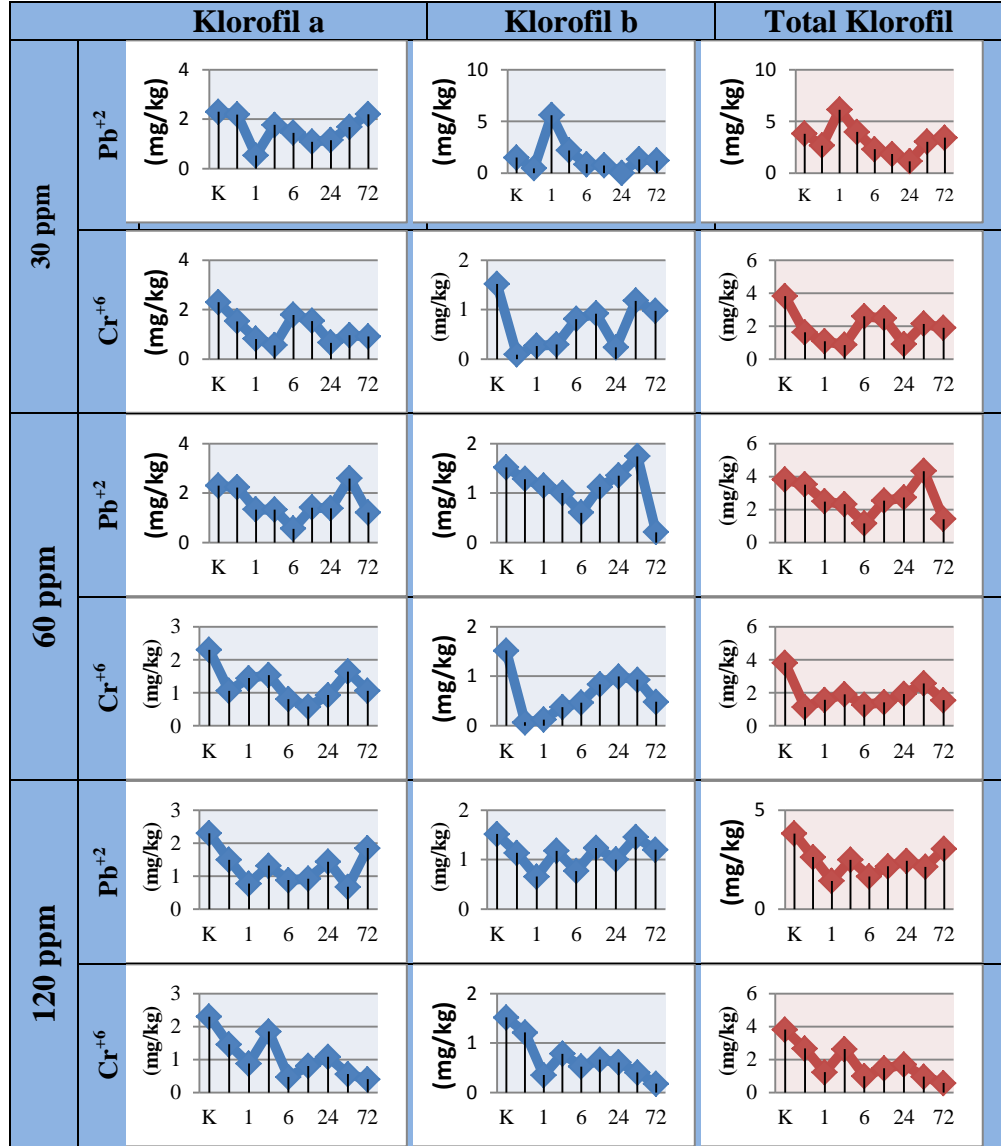
Özellikle yirminci yüzyılın ikinci yarısında, nüfus artışındaki hızlanmaya bağlı olarak artan çevre kirliliği, yaşam kaynaklarının daha fazla kirlenmesine neden olmuş ve sonuçta ekosistemin bozulması giderek çok daha ciddi bir hal almıştır. Bu çalışmada artan konsantrasyonlarda ve uygulama sürelerinde  $Cr^{+6}$  ve  $Pb^{+2}$  ağır metalleri ile artan dozlarda UV radyasyonları uygulanmıştır. *Hypogymnia physodes* liken türüne ait toplam protein içeriği, toplam AAS ağır metal cihazı ile ölçümleri ve toplam klorofil tayini yapılmıştır. Bu çalışmada ayrıca likendeki ağır metal birikiminin genotoksik etkisi RAPD ve CRED-RA teknikleri ile incelenmiştir.

Tez çalışmasında *Hypogymnia physodes* liken türünün ağır metal biriktirebilme yetisi incelenmiştir. Bu liken örneğine farklı konsantrasyonlarda ve farklı uygulama sürelerinde  $Pb^{+2}$  ve  $Cr^{+6}$  ağır metalleri uygulanmıştır. Atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile yapılan analiz sonuçlarına göre  $Cr^{+6}$  elementleri için *Hypogymnia physodes* liken türünde daha fazla akümüasyonu gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları göstermektedir ki, *Hypogymnia physodes* liken türleri her iki elementi de biriktirebilme eğilimini ortaya çıkarmıştır. Bu çalışma ile seçilen liken türlerinin ağır metal biriktirebilmede ne kadar önemli oldukları gösterilmiştir. Fernandez ve arkadaşları 1992 yılında yaptıkları çalışmada kaynağa yakın olmaya meyilli olan uçucu kül normal olarak kaba fraksiyon ile ilişkili olduğunu belirtmiştir. Aynı çalışmada, demir çelik fabrikasının 5 km etrafından toplanan örneklerin krom biriktirme kapasitesinin fazla olduğu belirtilmiştir. Özellikle *Hypogymnia physodes* ve *Evernia prunastri*'nin krom konsantrasyonlarının benzer düzeyde olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca Aslan ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada, Ordu ilinden toplanan *Hypogymnia physodes* liken türünün yüksek miktarda  $Ca^{+2}$ ,  $Ti$ ,  $Fe^{+2}$  ve  $Ba^{+2}$  ağır metallerini biriktirebildiğini belirtmişlerdir. Bu anlamda tez sonucu elde ettiğimiz veriler literatür verilerine uyum sağlamıştır.

Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda ağır metal ve UV radyasyonu uygulanarak *Hypogymnia physodes* liken türünde klorofil miktarını saptamak amacıyla spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. 649 nm ve 665 nm dalga boylarında absorbans



değerleri ölçülerek klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarları hesaplanmıştır. 30 ppm Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> ağır metal stresine maruz bırakılan *Hypogymnia physodes* liken türünde klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarlarında bir azalış saptanmıştır. 60 ppm Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> ağır metal stresine maruz bırakılan *Hypogymnia physodes* liken türünde Pb<sup>+2</sup> katyonu uygulanmasında bekleme süresi olan 48 saat sonucunda klorofil a, klorofil b ve total klorofil içeriğinde bir artış saptanmıştır. 120 ppm Cr<sup>+6</sup> ve Pb<sup>+2</sup> ağır metal stresine maruz bırakılan *H. physodes* liken türünde 120 ppm Pb<sup>+2</sup> ve Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmasında klorofil a, klorofil b ve total klorofil içeriğinde bir azalma gözlenmiştir. Benzer olarak, İngiliz çimi (*Lolium perenne*) bitkisinde yapılmış olan ağır metal stres çalışmalarında elde edilen klorofil miktarında 10 ppm ile yapılan klorofil a miktar tayininde sekiz güne kadar klorofil a miktarında bir artış gözlenirken sekiz günden sonraki artan uygulama zamanlarında klorofil a miktarında bir azalma gözlenmiştir (Monnet vd. 2001). Garty ve arkadaşları (1987) *Ramalina duriaei* liken türünde düşük pH, ağır metal ve anyonlarının klorofil degradasyonuna etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada OD 435nm/ OD 415nm oranının değeri yüksek Pb<sup>+2</sup> ve Fe<sup>+2</sup> ağır metal konsantrasyon miktarlarının artışıyla birlikte azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca Garty ve arkadaşları, OD 435nm/ OD 415nm oranı *R. duriaei* liken türünde Pb, Cu ve Zn miktarlarıyla tersine bir ilişkide olduklarını göstermişlerdir (Garty vd. 1987).



Şekil 5.1 Ağır metal stresi altında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil değişimi

UV radyasyonu uygulanarak *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarını saptamak amacıyla spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Bitkiler, fotosentetik sistemlerini kullanarak güneşten hayati enerjiyi üretmek için fotosentetik olarak aktif radyasyona (PAR) ihtiyaç duyarlar. Fotosentez, UV radyasyonunun ana hedefidir. UV radyasyonu fotosistem II'yi iki yolla etki etmektedir. Birincisi, UV radyasyonu fotosistem II'nin D1 proteinleri gibi anahtar komponentlerine direk olarak etki eder, böylece fotosentetik pigmentler kaybolur ve Rubisko aktivasyonu inhibe edilir. Bu etkilere ek olarak UVA radyasyonu oksidatif stres ve oksidatif hasarı tetikler, fotosentetik etkiyi düşürür ve büyümeyi engeller. UVA radyasyonuna maruz

bırakılan liken türünde uygulama dozu  $8 \text{ j/cm}^2$  sonrasında itibaren klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarlarında bir azalma gözlenmiştir.

Yapılan benzer bir çalışmada Ünal ve arkadaşları (2008), *Physica semipinnata* 'da UVA stresi altında fotosentetik cevaplar, lipit peroksidasyonu, protein ve klorofil a içeriğinde dış poliaminlerin rolünü araştırmışlardır. *Physica semipinnata* radyasyona yanıt olarak, PSII fotosentetik kuantum verimindeki değişimin gözlemek için 30 dakika, 1, 2, 24 ve 48 saat görünür ışık ( $210, 800$  ve  $2000 \text{ mW/cm}^2$ ) ve UVA (352 nm) radyasyonuna maruz bırakmışlardır. Klorofil a içeriği görünür ışıktan etkilenmemiştir. Fotosentetik kuantum verim oranı ise artan UVA radyasyonuna bağlı olarak özellikle 24 ve 48. saatlerde *P. semminata*'da azalmıştır. Bu çalışmada ayrıca poliaminlerin klorofil degradasyonundaki rolü de incelenmiştir. Poliamin eklenmemiş örneklerle kıyaslandığında, ekzojen poliaminlerin eklenmesiyle yüksek klorofil degradasyonu engellenmiştir. Ayrıca ekzojenli spm ve spd eklenmesi klorofil a seviyesinin miktarında artışı tetiklemektedir. Bu çalışma poliaminlerin UVA radyasyonundan fotosistem II'yi koruyabildiği açıkça belirtilmiştir.

Çanakçı ve Munzuroğlu (2007) yılında yaptıkları çalışmada kontrollü şartlarda yetiştirilen 3 günlük mısır (*Zea mays L. cv. Luce*) fidelerinde farklı konsantrasyonlardaki (0, 20, 200 ve 2000 ppm) asetilsalisilik asit (ASA)'in taze ağırlık değişimi, pigment ve protein miktarı üzerine etkileri araştırmışlardır. Elde edilen bulgulara göre 200 ve 2000 ppm ASA uygulamasının fidelerin klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarlarını önemli oranda azalttığını belirlemişlerdir. Asetilsalisilik asit'in yüksek konsantrasyonlarının mısır fidelerinde osmotik ve toksik stres yaratarak taze ağırlık artışını engellediği, pigment ve protein miktarını azalttığı sonucuna varılmıştır. Tez kapsamında UVB radyasyonuna maruz bırakılan liken türünde ise klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarında bir artış gözlenmiştir.

Benzer bir çalışmada Yamauchi ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada, brokoli çiçeğinin klorofil degradasyonunda ve klorofil degrade enzim aktivitesi üzerinde UVB radyasyonunun etkisini araştırmışlardır. Brokoli çiçeğine 4.4, 8.8 ve 13.1  $\text{kJ m}^{-2}$ 'lik UVB radyasyonu uygulanmıştır ve sonra karanlıkta  $15^\circ\text{C}$  sıcaklıkta bekletilmiştir.

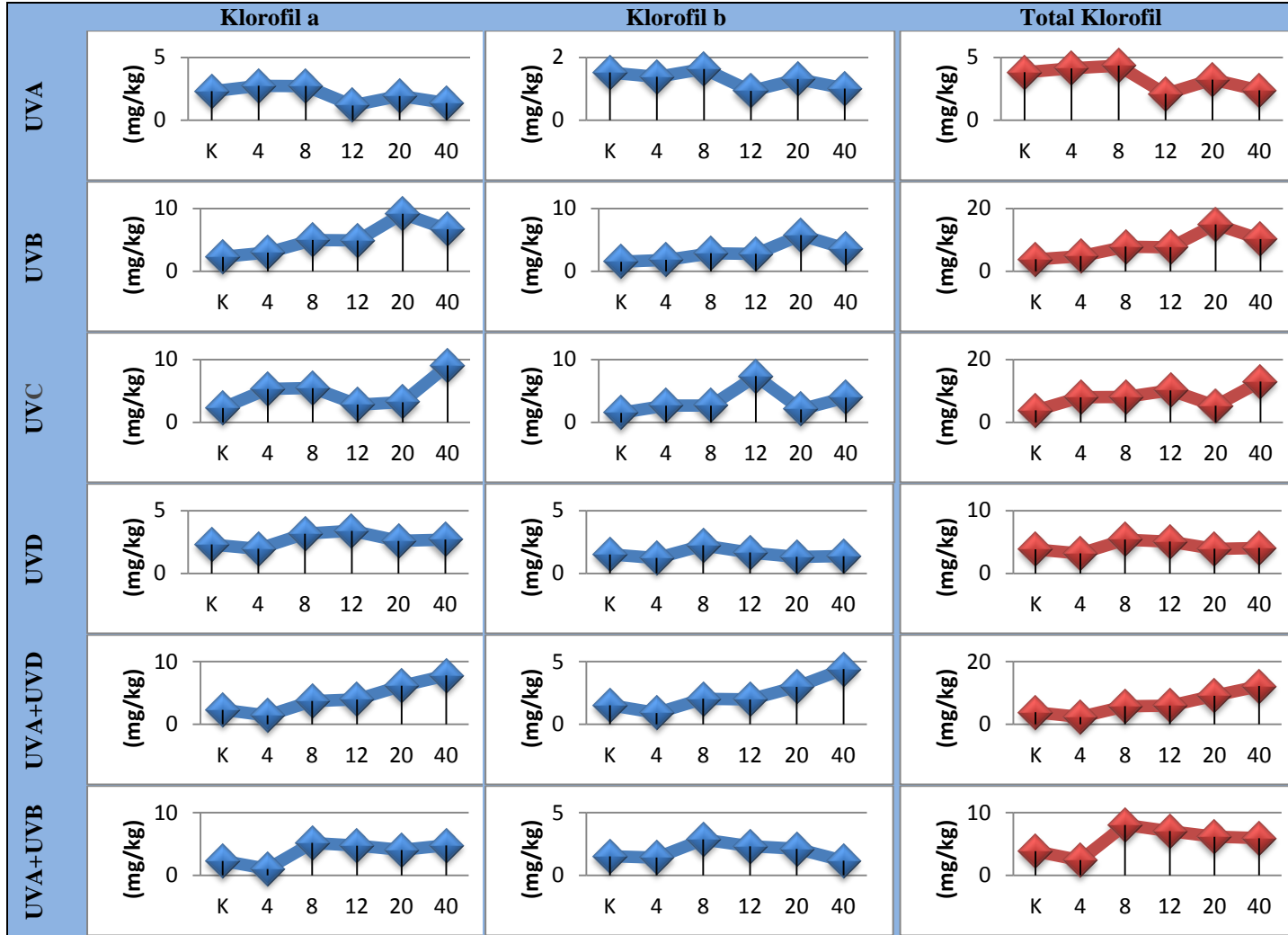
Yamauchi 8.8 kJ m<sup>-2</sup> UVB radyasyonu uygulanmış örneğe kadar klorofil a ve klorofil b içeriği ile renk açısı değerinin azalmasını etkili bir biçimde engellediğini bulmuşlardır. Klorofil a ve 13<sup>2</sup>-hidroksiklorofil a yaşlılıkla birlikte yavaş bir şekilde azalmaktadır. Feforbit a ve pirofeforbit a seviyeleri ise UVB uygulaması olmadan önemli derecede yüksektir. Klorofilaz ve klorofil-degrede peroksidaz aktivitesi UVB uygulanmasından dolayı baskılanmıştır. Depolanmış brokoli çiçeğinde klorofil degradasyonunda UVA ve UVB etkisi açığa kavuşturulamamıştır. Önceki çalışmalar UVA ve UVB radyasyonlarının bitkilerde antioksidan bileşenlerini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı gözlenmiştir. Süperoksit dismutaz, peroksidaz ve katalaz içeren antioksidan enzimleri brokolide klorofil degradasyonunu geciktirmek için oldukça önemlidir. Fakat brokoli çiçeğinde hasat sonrası UVA ve UVB radyasyonunun etkisine ait bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Ayrıca UVA ve UVB, UVC ile karşılaştırıldığında daha az zararlı dalga boyuna sahiptir ve bu bize meyve ve sebzelerin kalitesinin hasat sonrası da devam edebilmesi için yeni bir yaklaşım sunmaktadır.

Yapılan diğer bir çalışmada Sass ve Vass (1988) yaptıkları çalışmada *Cladonia convolute* ve *Peltigera aphthosa* liken türlerinin kısa vadede ve yüksek yoğunlukta UVB radyasyonuna karşı fotosistem II'nin yüksek tolerans gösterdiğini bulmuşlardır. Ayrıca De Vera ve arkadaşları (2003) yaptıkları çalışmada, *Xanthoria elegans*'ın mikobiyontunun yüksek UV radyasyonuna karşı oldukça yüksek direnç gösterdiğini belirtmişlerdir. Ölümcül UV streslerinden korunmak için birçok organizma çeşitli stratejiler geliştirmiştir.

Birçok araştırma grupları, poliaminlerin bu stratejilerden biri olduğunu önermektedir. An ve arkadaşları (2004) yaptıkları çalışmada, salatalık yapraklarında poliamin birikiminin UVB stresiyle başa çıkmak için adaptif bir mekanizma olabileceğini belirtmişlerdir. Poliamin ve poliaminlerle ilişkili tilakoidler, fotosentetik cihazların korunmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda dış poliaminlerin likenlerde UV stresi altında F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> oranında önemli koruyucu etkileri olduğunu söylemişlerdir. UVC ve UVD (Daylight) radyasyonuna maruz bırakılan liken türünde klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarında bir artış gözlemlendi.

Martinez ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada, brokoli çiçeğinde hasat sonrası yaşlılığın UVC radyasyonu ile birlikte geciktiğini belirtmişlerdir. Brokoli örnekleri toplandıktan sonra 4, 7, 10 ve 14 kJ m<sup>-2</sup>'lük UVC radyasyonu uygulanmıştır. Tüm uygulamalarda 20°C'de sararma ve klorofil degradasyonu geciktirilmiştir. UVC uygulaması sararmayı, klorofil a ve klorofil b degradasyonu geciktirmiştir. Ayrıca UVC uygulaması feofitin artışını da geciktirmektedir. Klorofil peroksidaz ve klorofilaz aktivitesi UVC uygulanmış brokolide düşüktür. Fakat Mg-deşelataz UVC uygulanmış örneklerin hemen ardından artış göstermiştir. Yapılan çalışma sonucunda UVC uygulamasının klorofil degradasyonunu geciktirmede, doku hasar ve yıkımını azaltmada ve brokolide antioksidant kapasitesini sürdürmede kimyasal olmayan bir metot olarak kullanılabilceğini önermişlerdir.

UVA+UVB ve UVA+UVD (daylight) radyasyonuna maruz bırakılan liken türünde uygulama dozu 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında itibaren klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarlarında bir artış gözlenmiştir. Likenler mantar lifleri içinde fotobiyont olarak alg içeren simbiyotik birliklerdir. Likenler kuraklık koşulları altında bile aşırı ışık radyasyonu tarafından fotoinhibisyona karşı toleranslı olabilir. Görünür ışığa karşı özellikle fotosentez ürünlerinden sorumlu algin tepki verdiği bilinmektedir. Benzer bir çalışmada, Larsson ve arkadaşları (2009) 21°C'lik ortam sıcaklığında *Xantoria aureola* liken türünde yapmış oldukları çalışmada artan UVB radyasyonu ile klorofil a/b oranının artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise 8 j/cm<sup>2</sup> UVA+UVB uygulanmış liken örneğinde total klorofil oranı 8,01 mg/kg iken kontrol örneği 3,81 mg/kg olarak bulunmuştur. 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup> UVA+UVB uygulanan liken örneklerinde de artış gözlenmiştir. UVA+UVD uygulanmış liken örneklerinde de 4 j/cm<sup>2</sup> sonrasında 8, 12, 20 ve 40 j/cm<sup>2</sup> 'de total klorofil oranı sırasıyla 5,7 mg/kg, 5,9 mg/kg, 9 mg/kg ve 12 mg/kg bulunmuştur. Kontrol örneğine göre tüm uygulama dozlarında artış gözlenmiştir.



Şekil 5.2 UV stresi altında *Hypogymnia physodes* liken türüne ait klorofil değişimi

*Hypogymnia physodes* liken türüne ait total protein sonuçlarına baktığımızda da artan metal konsantrasyonlarıyla genel olarak ters yönde bir ilişki tespit edilmiştir. 30 ppm  $Pb^{+2}$  ve  $Cr^{+6}$  katyonları karşılaştırıldığında total protein içeriğinde uygulama süresi olan 30 dakika sonucunda protein içeriğinin arttığı fakat sonrasında protein miktarının azalmaya başladığı gözlemlendi. 60 ppm  $Pb^{+2}$ ,  $Cr^{+6}$  karşılaştırıldığında bekleme süresi olan 2 saat sonucunda protein miktarının arttığı fakat 2 saat sonrasında azalmaya başladığı belirlenmiştir. 120 ppm  $Pb^{+2}$  ve  $Cr^{+6}$  katyonları karşılaştırıldığında ise  $Pb^{+2}$  katyonu uygulanmış liken türünde bekleme süreleri 18 ve 48 saat sonucunda kontrole yakın olmakla birlikte protein miktarının arttığı  $Cr^{+6}$  katyonu uygulanmış liken türünde ise bekleme süresi 1 saat sonucunda protein miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Diğer parametrelerde artan metal konsantrasyonları ve uygulama süreleriyle birlikte total protein içeriğinde azalma gözlemlenmiştir.

Doğan ve Saygıdeğer 2009 yılında yaptıkları çalışmada, farklı derişimlerdeki kadmiyum (Cd) (0, 0.01, 0.1 ve 1 ml/L) etkisinde 96 saat bırakılan *Ceratophyllum demersum* L.'de meydana gelen bazı fizyolojik ve morfolojik değişiklikleri araştırmışlardır. Toplam çözülebilir şeker ve protein miktarlarının kadmiyum uygulaması tarafından azaldığını belirtmişlerdir (Doğan ve Saygıdeğer, 2009). Shukla ve Urpeti 2007 yılında yaptıkları çalışmada, Garhwal Himayalarında dört farklı bölgeden topladıkları *Phyxine subcinerea* Stirton likeninde Fe, Ni, Cu, Cr, Zn ve Pb gibi ağır metal kirleticilerinin klorofil a, klorofil b, toplam klorofil, karotenoid ve protein içeriklerinde değişimlere neden olduğu ve bu değişimlerin örneklerin toplandığı bölgelere göre farklılık göstermesi sonucunda bu türün Himalaya biyosferinde çölleşme ve şehirleşmeye bağlı olarak değişen hava kalitesinin analizi için biyomonitör bir tür olarak kullanılabilceğini göstermişlerdir. Sonuçlar aynı zamanda metalik kirleticiler ve bu türün bazı fizyolojik parametreleri arasında net bir ilişki olduğunu ve bu ilişkinin uzun vadede bu türün metabolik süreçleri üzerinde zararlı etkileri olacağını göstermiştir. Yüksek konsantrasyonlarda metalik kirleticilerin özellikle klorofil ve protein içeriklerinde yarattığı değişimler baz alınarak bu türün geniş alanda hava kirliliğinin göstergesi olarak kullanılabilceği de anlaşılmıştır. Yaptığımız çalışmamızda görüldüğü gibi protein miktarında azalmalar olmuştur. Protein miktarları kontrole göre azalmalar göstermiş olmasına rağmen, akümüle olan  $Cr^{+6}$  ve  $Pb^{+2}$  ile protein miktarları arasında

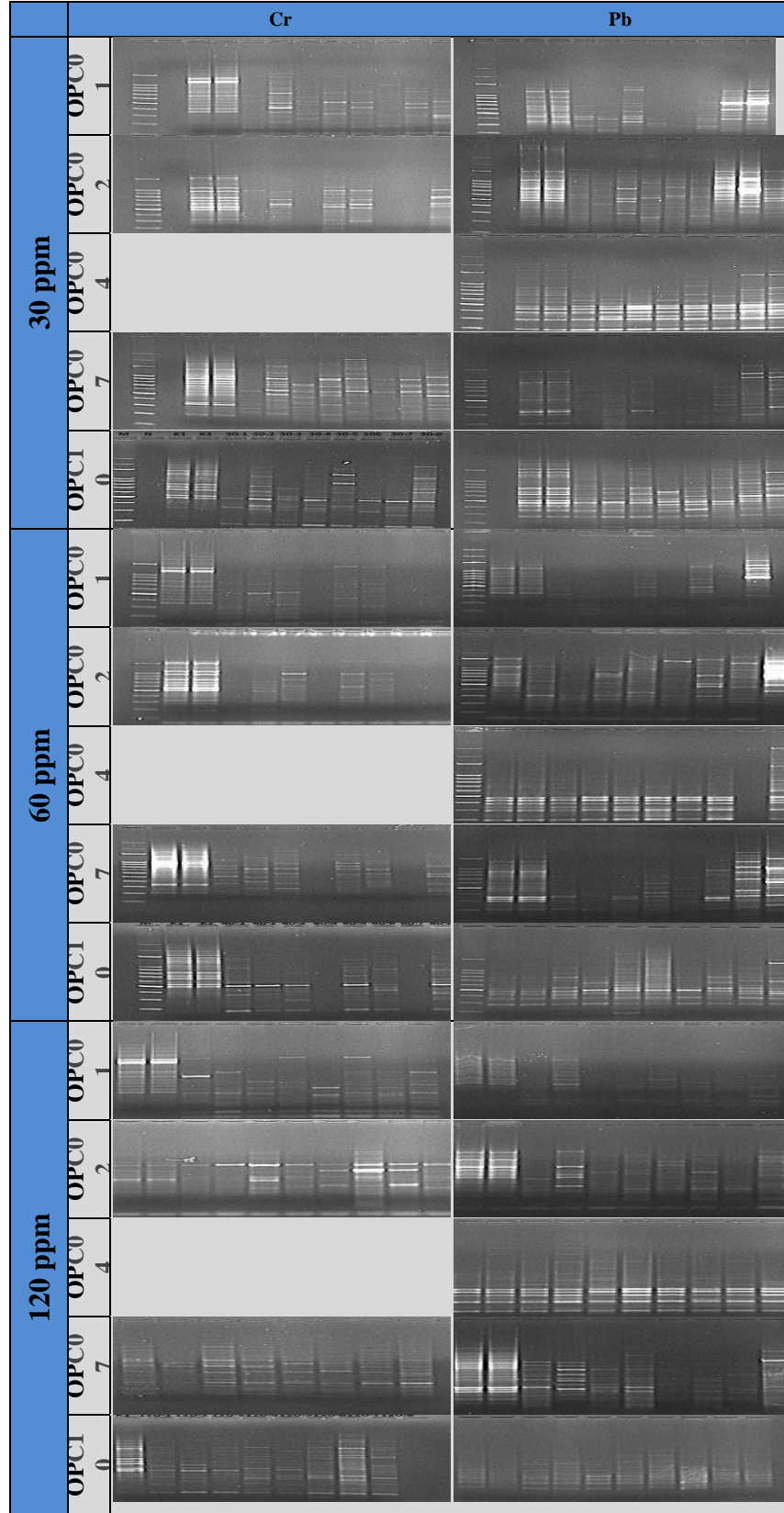
önemli bir korelasyon bulunmamıştır. Ağır metal streslerinde bitkilerin protein miktarlarının azalmalarının nedenlerinin genelde protein sentezinin engellenmesinden ya da oksidatif strese üretilen ROT'ların tetiklediği proteolizisten kaynaklandığı düşünülebilir. Bizim çalışmamızda ise 60 ppm Cr<sup>+6</sup> katyonu uygulanmış örneklerde uygulama süresi 2 saat sonucunda protein miktarı 0,012 mg/L iken kontrol örneğindeki protein miktarı 0,018 mg/L bulunmuştur. 6, 18, 48 ve 72. saatlerde protein miktarları sırasıyla 0,010 mg/L, 0,011 mg/L, 0,009 mg/L, 0,008 mg/L bulunmuştur. Sonuçta kontrol örneğine göre diğer parametrelerde total protein oranı azalmıştır.

UV radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türünde total protein miktarına baktığımızda tüm UV radyasyonu uygulanmış örneklerde ters yönde bir ilişki tespit edilmiştir. UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVD ve UVA+UVB radyasyonlarında uygulama dozuna bağlı olarak protein içeriğinde kontrol örneğine göre bir azalma gözlemlendi. Duman ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları çalışmada, sucül bir bitki olan *Ceratophyllum demersum L.*'nin Cr<sup>+6</sup>'ya karşı oluşturduğu biyolojik cevabın incelenmesi amaçlanmıştır. Krom akümüasyonu, bitki büyümesi, lipit peroksidasyonu, iyon kaçıışı, fotosentetik pigmentasyon, protein ve prolin içeriğinin konsantrasyona bağlı değişimleri incelenmiştir. Protein içeriği açısından 1mM Cr<sup>+6</sup> uygulaması ile 5 ve 10 mM Cr<sup>+6</sup> uygulamaları arasında istatistiksel bir fark belirlemişlerdir. Ünal ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmada, *Physica semipinnata*'da UVA stresi altında fotosentetik cevaplar, lipit peroksidasyonu, protein ve klorofil a içeriğinde dış poliaminlerin rolünü araştırmışlardır. Liken örneklerindeki total protein içeriği UV-A radyasyonuna maruz bırakıldığında etkilendiğini belirtmişlerdir. Kontrol gruplarında total protein içeriğinin miktarı 213.15 mg/ml iken, 24 ve 48 saat UVA radyasyonu uygulanmış liken örneklerindeki protein miktarı sırasıyla 75.9 ve 144.12 mg/ml bulunmuştur. Fakat ekzojenli poliamin eklenmiş örneklerde eklenmemiş örneklere göre daha yüksek protein miktarı belirlenmiştir. Özellikle ekzojenli spm eklenen örnekler, spd ve put eklenen örneklere göre daha yüksek protein konsantrasyonunda olduğunu göstermişlerdir.

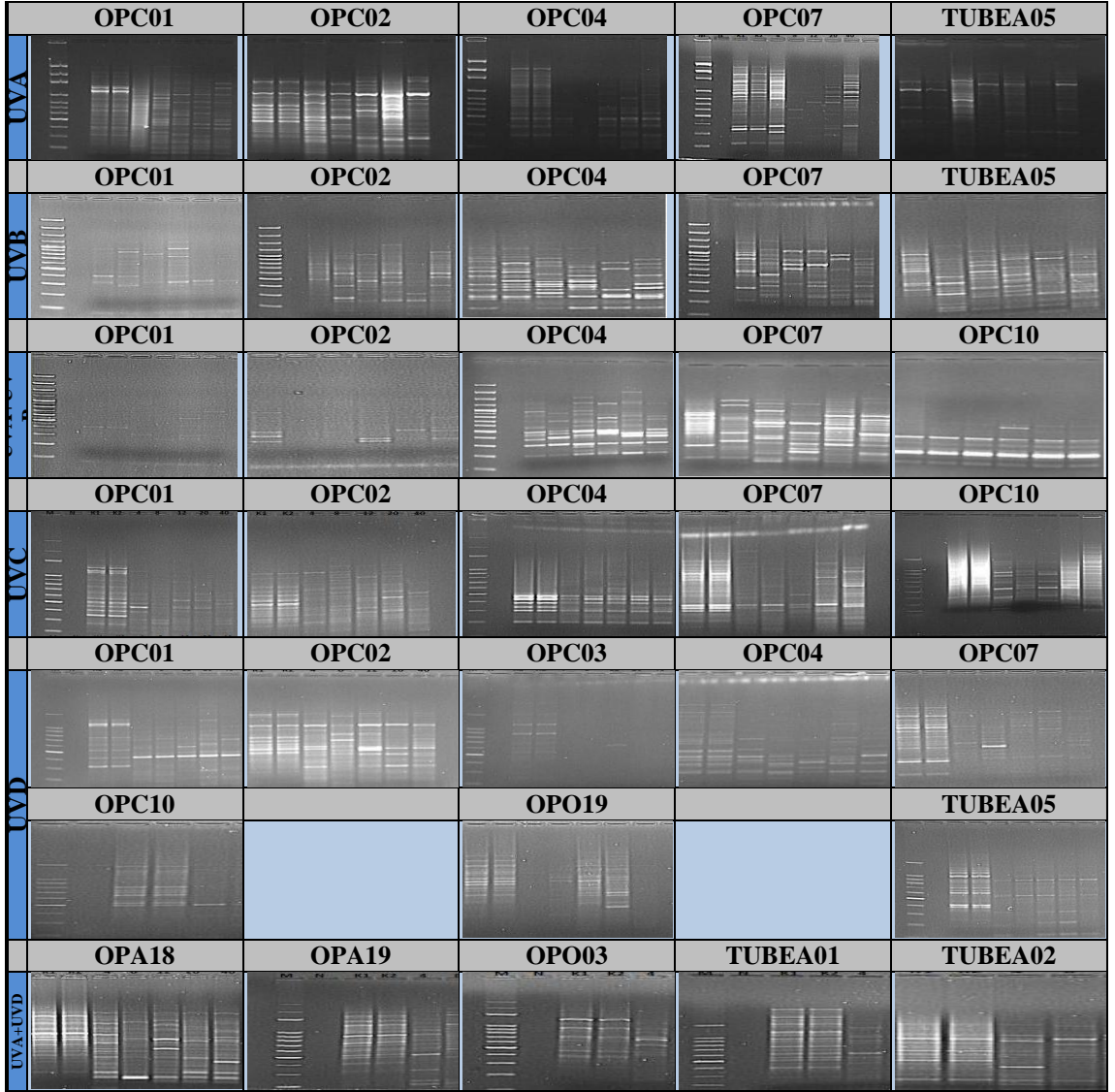
Bitki gelişiminin epigenetik düzenlenmesi stres koşullarına adaptasyon kadar ürün üretiminin gelişimi için de kullanılabilir çünkü bir genin ifade edilmesi epigenetik düzenlemeyle ilişkili olan kromatin yapısı tarafından etkilenmektedir (Viswanathan



Chinnusamy ve Jian-Kang Zhu 2009; Mirouze ve Paszkowski 2011). Genomda metilsitozin varlığının seviyesi birçok bakış açısından çoklu yaklaşımlarla belirlenebilir. Çünkü genomda metilasyon oranının belirlenmesi için birçok uygun teknik bulunmaktadır (Saluz ve Post 1993 ; Grig ve Clark 1994 ; Rein vd. 1998). CRED-RA (Çift Restriksiyon Enzim Kesimi ve Rastgele Çoğaltma) genom metilasyon durumunu çalışmak için oldukça güçlü bir yöntemdir (Cai vd. 1996). Tez kapsamında uygulanan ağır metal ( $Cr^{+6}$ ,  $Pb^{+2}$ ) ve UV (UVA, UVB, UVC, UVD, UVA+UVB ve UVA+UVD) streslerine maruz bırakılmış örneklerde yapılan RAPD ve CRED-RA analizlerinin sonucunda önemli derecede polimorfizm ve metilasyon değişimleri gözlemlenmiştir. RAPD ve CRED-RA analizlerinin karşılaştırılması sonucunda ağır metal stresi uygulanan örneklerde metilasyon modelindeki değişim oranı UV uygulanan örneklere göre daha fazla değişkenlik gösterirken, RAPD sonuçlarında ağır metal stresi uygulanan örneklerin yüksek GTS oranına sahip olduğu, UV uygulamasında ise artan dozlarla bağlı olarak GTS oranının düştüğü gözlemlenmiştir. Buradan yola çıkarak UV ışınlarının liken DNA stabilitesine etkisinin ağır metallerden daha fazla olduğu düşünülmektedir. Öte yandan epigenetik açıdan ağır metal uygulanan örneklerin metilasyon modelinin stabilitesinin daha az olduğu düşünülmektedir. Cansaran-Duman ve arkadaşlarının 2011 yılında gerçekleştirildiği çalışmada *Evernia prunastri* liken örneklerindeki genotoksik kontaminasyon RAPD analizi ile belirlenmiştir. Karabük Demir-Çelik fabrikası, otoyollar ve demiryolu yakınlarındaki *E. prunastri* örneklerinde genotoksik etki RAPD tekniği ile gösterilmiştir. En yüksek GTS oranı %93,24 olarak bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada *Hypogymnia physodes* liken türünde krom (Cr) stresi uygulanan örneklere ait sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin 30 ppm'de 48. saatte (%88,54), 60 ve 120 ppm'de ise 72. saatte (%90,62) olarak bulunmuştur. Körpe-Aksoy ve Aras 2010 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada patlıcan tohumlarına farklı konsantrasyonlarda bakır (Cu) metali stresi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar göstermiştir ki farklı Cu konsantrasyonlarında gelişmiş tohumların genomik kalıp stabilitesindeki değişimler RAPD profilleri ile tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada *Hypogymnia physodes* liken türünde Kurşun (Pb) stresi uygulanan örneklere ait sonuçlar incelendiğinde, en yüksek GTS değerinin her üç Pb konsantrasyonu için 72. saatte olduğu görülmektedir. Bunlar 30, 60 ve 120 ppm Pb stresi uygulanan örneklerde sırasıyla %93,04-%93,04-%91,3'dir.



Şekil 5.3 Ağır metal uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları



Şekil 5.4 UV radyasyonu uygulanmış *Hypogymnia physodes* liken türüne ait RAPD-PCR sonuçları

Sonuç olarak, krom ve kurşun ağır metali ile UV radyasyonuna maruz kalmış *Hypogymnia physodes* liken türünde, moleküler seviyede ciddi değişimler gözlenmiştir. Çalışma sonucunda krom ve kurşun ağır metali ile birlikte Uv radyasyonunun *H. physodes* liken türünde genotoksik bir ajan olduğu belirlenmiştir. Ayrıca biyoindikatör olarak kullanılan organizma ile kirliliğin biyolojik etkileri de kantitatif olarak tespit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Anonymous. 1998. Web Sitesi. <http://www.mdc.mo.gov/conmag/1998/10/20.htm>, Erişim Tarihi: 15.09.2009
- Anonymous. 2009. [http://biologmehmet.blogcu.com/likenler\\_2490\\_9361.html](http://biologmehmet.blogcu.com/likenler_2490_9361.html), Erişim Tarihi: 15.09.2009.
- Anonymous. 2001. Web Sitesi. <http://www.ipcc.ie/infolichens.html>. Erişim Tarihi: 15.09.2009.
- Anonymous. 2009. Web Sitesi. <http://www.yerkoy.bel.tr/yr4.php>, Erişim Tarihi: 15.09.2009.
- Anonymous. 2003. Cancer Facts ve Figures. American Cancer Society, p.6.
- Anonymous. 1994. Chemical ve Engineering News. American Chemical Society, April 18, p.13.
- Anonymous. 2003. Web Sitesi. <http://www.blm.gov/or/plans/surveyvemanage/MR/Lichens/20041022/Lichens-346949.pdf>, 12.02.2004
- Anonymous, 1999. [http://www.biol.paisley.ac.uk/bioref/Fungi\\_lichens/Hypogymnia\\_physodes.html](http://www.biol.paisley.ac.uk/bioref/Fungi_lichens/Hypogymnia_physodes.html), 2004
- Anonymous, 1998. <http://www.epa.gov/ozone/science/effects/index.html>
- Abelson, P.H. 1998. Airborne particulate matter. Science, 281 ; 1609.
- Adamo, P., Giordano, S., Vingiani, S., Castaldo-Cobianchi, R. and Violante, P. 2003. Trace element accumulation by moss ve lichen exposed in bags in the city of Naples (Italy). Environmental Pollution, 122; 91-103.
- Ahmadjian, V. 1993. The lichen symbiosis. John Wiley & Sons Inc, New York.
- An, L.Z., Liu, G.X., Chen, T., Liu, Y.H., Feng, H.Y., Xu, S.J., Qiang, W.Y. and Wang, X.L. 2004. Effect of enhanced UV-B radiation on polyamine content and membrane permeability in cucumber leaves, Russ. J. Plant Physiol. 51 (5), 658–662.
- Anastassopoulou, J. 2003. Magnesium-DNA interactions ve the possible relation of magnesium to carcinogenesis. Irradiation ve free radicals, 42(1) ; 79.
- Aras, S., Cansaran, D., Özdemir-Türk, A., Kandemir, İ. and Candan M. 2007. Resolving genetic relationships in mana group of lichens from genus *Aspicilia*. African Journal of Biotechnology, 6: 9,1154-1160.
- Aras, S., Beyaztaş, T., Cansaran-Duman, D. and Gökçe, E. 2012. Evaluation of genotoxicity of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf by RAPD Analysis. Genetics ve Molecular Research. Accepted for publication.
- Aras, S., Kanlıtepe, Ç., Cansaran-Duman, D., Halıcı, M.G. and Beyaztaş, T. 2010. Assessment of air pollution genotoxicity by molecular markers in the exposed samples of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf in the Province of Kayseri (Central Anatolia). Journal of Environmental Monitoring, 12; 536-543.

- Arda, N. ve Ertan, H. 2004. Proteinler izolasyonu, analizi ve saflaştırılması. In: Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Temizkan, G. ve Arda, N. (eds), Nobel Tıp Kitapevleri, s. 161-174, İstanbul.
- Arı, Ş. 2004. DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması, IN: Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Temizkan, G. ve Arda, N. (eds), Nobel Tıp Kitapevleri, s, 101-120, İstanbul.
- Armstrong, R. 2004. Lichens, lichenometry ve global warming. *Microbiologist*, September; 32-35.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24 (1); 1-15.
- Aslan, A., Budak, G., Tıraşoğlu, E. and Karabulut, A. 2006. Determination of elements in some lichens growing in Giresun ve Ordu province (Turkey) using energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. *J Quan Spect Rad Tran*, 97(1) ; 10-9.
- Atienzar, F.A., Cordi, B. and Evenden, A.J. 1999. Qualitative assesment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo[a]pyrene. *Environ. Toxicol. Chem*, 18, 2275-2282.
- Ayres, N.M., McClung A.M., Larkin, P.D., Bligh, H.F.J., Jones, C.A. and Park, W.D., 1997. Microsatellite and a Single Nucleotide Polymorphism Differentiate Apparent Amylose Classes in an Extended Pedigree of US Rice Germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 773-781.
- Bargagli, R. 1989. Determination of metal deposition patterns by epiphytic lichens. *Toxicol Environ Chem*, 18, 249-256.
- Bargagli, R. 1998. Trace Elements in Terrestrial Plants. An Ecophysiological Approach to Biomonitoring ve Biorecovery. Springer, Berlin.
- Becerril, C., Acevedo, H., Ferrero, M., Sanz, F. and Castano, A. 2001. DNA fingerprint comparison of rainbow trout ve RTG-2 cell line using rveom amplified polymorphic DNA. *Ecotoxicology*, 10, 115-124.
- Becerril, C., Ferrero, M. and Sanz, F. 1999. Detection of mitomycin C-induced genetic damage in fish cells by use of RAPD. *Mutagenesis*, 14, 449-456.
- Belfiore, N.M. and Anderson, S.L. 2001. Effects of contaminants on genetic patterns in aquatic organisms: a review. *Mutat Res*, 489, 97-122.
- Bender, J. and Fink, G.R. 1995. Epigenetic control of an endogenous gene family is revealed by a novel blue fluorescent mutant of Arabidopsis. *Cell*, 83, 725-734
- Bishnoi, N.R., Chugh, L.K. and Sawhney, S.K. 1993. The effect of chromium on photosynthesis, respiration ve nitrogen fixation in pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 142, 25-30.
- Bitter, G. 1901. Zur morphologie und systematik von Parmelia, untergattung Hypogymnia. *Hedwigia*, 40, 171-274.

- Bjerke J.W., Gwynn-Jones D., and Callaghan T.V. 2005. Effects of enhanced UV-B radiation in the field on the concentration of phenolics ve chlorophyll fluorescence in two boreal ve arctic–alpine lichens. *Environmental ve Exp. Bot.*, 53, 139-149.
- Blair, G.E. and Blair Zadjel, M.E. 1992. The polymerase chain reaction already an established technique in biochemistry. *Biochemical Education*, 20(2), 87-91.
- Boonpragob K. and Nash III, T.H. 1991. Physiological responses of the lichen *Ramalina menziesii* Taylor., to the Los Angeles urban environment. *Environmental ve Experimental Botant*, 31; 229-238.
- Bornman, J.F. and Sundby-Emmanuelson, C. 1995. Response of plants to UV-B radiation:some biochemical and physiological effects. In N. Smirnoff (ed), *Environment and Plant Metabolism*, Bioscientific, Oxford, pp 245-262.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid ve sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. *Anal. Biochem*, 72 ; 248-254.
- Brodo, I.M., Sharnoff, S.W. and Sharnoff, S. 2001. *Lichens of North America*, Yale University Press/New Haven ve London.
- Brosche M., Fant C., Sharon W., Bergkvist W., Strid H., Svensk A., Olsson O. and Strid A. 1999. Molecular markers for UV-B stress in plants: alteration of the expression of four classes of genes in *Pisum sativum* and the formation of high molecular mass RNA adducts. *Biochimica et Biophysica Acta* 1447:185-198.
- Brown, D.H. 1987. The location of mineral elements in lichens; implications for metabolism. *Bibliotheca Lichenologica*, 25 ; 361-375.
- Brown, D.H. 1984. Uptake of mineral elements ve their use in pollution monitoring. In: Dyer, A.F., Duckett, J.G. (Eds.), *The Experimental Biology of Bryophytes*. Academic Pres, pp. 229-255, New York.
- Brown, D.H. and Beckett, R.P. 1984. Uptake ve effect of cations on lichen metabolism. *The Lichenologist*, 16 ; 173-188.
- Brown, S.M., Hopkins, M.S., Mitchell, S.E., Senior, M.L., Wang ,T.Y., Duncan,R.R., Gonzales-Candelas, F. and Kresovich, S., 1996. Multiple Methods for the Identification Polymorphic Simple Sequence Repeats (SSRs) in Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 190-198
- Brutnell, T.P. and Dellaporta, S.L. 1994. Somatic inactivation ve reactivation of Ac associated with changes in cytosine methylation ve transposase expression. *Genetics*. 138 ; 213-225
- Büdel, B. and Scheidegger, C. 1996. Tallus morphology ve anatomy, In: *Lichen biology*. Nash T.H. (ed), Cambridge University Pres, pp. 37-64, Cambridge.
- Büdel, B. 1992. Taxonomy of lichenized procaryotic blue-green algae, In: *Algae ve symbioses*. Reisser, W. (ed), Biopress, pp. 301-324, Bristol.
- Cai, Q., Guy, C.L. and Moore, G.A. 1996. Detection of cytosine methylation ve mapping of a gene influencing cytosine methylation in the genome of *Citrus*. *Genome*. 39 ; 235-242.

- Caldwell, M.M., Björn, L.O., Bornman, J.F., Flint, S.D., Kulandaivelu, G., Teramura, A.H. and Tevini, M. 1998. Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 46: 40-52.
- Camatini, M., Bonfante, P., Colombo, A. and Urani, C. 1998. Molecular approaches to evaluate pollutants. *Chemosphere*, 37; 2717-2738.
- Canakci, S. ve Munzuroğlu, Ö. 2007. Asetilsalisilik Asit 'in Mısır (*Zea mays* L.) Fidelerinin Taze Ağırlık Değişimi, Pigment ve Protein Miktarları Üzerine Etkileri. *Science ve Eng. J of Fırat Univ*, 19 (3), 259-264.
- Cansaran-Duman, D., Beyaztaş, T., Atakol, O. and Aras, S. 2011. Assesment of the air pollution genotoxicity by RAPD in *Evernia prunastri* L. Ach. province of iron-steel factory in Karabük, Turkey. *Journal of Environmental Sciences- Chine*, 23(7), 1171-1178.
- Cansaran-Duman, D., Altunkaynak, E. and Aras, S. 2013. Heavy metal accumulation and genotoxicity indicator capacity of the lichen species, *Ramalina pollinaria* collected from around the iron-steel factory in Karabük, Turkey. *Turkish Journal of Botany*. Accepted for publication.
- Cansaran, D. ve Yurdakulol, E. 2003. Likenler ve Ağır Metal Birikimleri. *Tabiat ve İnsan*. ISSN 1302-1001. 37/4.
- Cansaran, D., Kahya, D., Yurdakulol, E. and Atakol, O. 2006. Identification and Quantitation of Usnic Acid from the Lichen *Usnea* Species of Anatolia and Antimicrobial Activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61c, 773-776.
- Cansaran D., Çetin D., Halıcı G.M. and Atakol O. 2006. Determination of Usnic Acid in some *Rhizoplaca* Species from the Middle Anatolia and their Antimicrobial Activities *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61(1-2): 47-51.
- Cansaran D., Atakol O., Halıcı M.G. and Aksoy A. 2007. HPLC Analysis of the Usnic Acid in some *Ramalina* Species from Anatolia and Investigation of their Antimicrobial Activities. *Pharmaceutical Biology*, 45-1, 77-81.
- Cansaran-Duman, D., Çetin, D., Şimsek, H. and Çoplu, N. 2010. Antimicrobial Activities of the Lichens *Hypogymnia vittata*, *Hypogymnia physodes* and *Hypogymnia tubulosa* and HPLC Analysis of their Usnic Acid Content. *Asian Journal of Chemistry*. 22:8, 6125-6132.
- Cansaran-Duman, D., Atakol, O., Aras, S. and Atasoy, İ. 2012. Accumulation of trace elements in *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. transplanted to a polluted site in Ankara and assesment of air pollution genotoxicity by molecular markers. *Ekoloji*. 21, 85, 1-14.
- Cansaran-Duman, D. 2011. Study on accumulation ability of two lichen species (*Hypogymnia physodes* (L.) Nyl and *Usnea hirta* (L.) Weber ex F.H. Wigg) at Iron-Steel Factory site, Turkey. *Journal of Environmental Biology*. 32, 839-844.
- Cansaran-Duman, D., Atakol, O., Atasoy, İ., Kahya, D., Aras, S. and Beyaztaş, T. 2009. Heavy metal accumulation in *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf from the Karabük Iron-Steel Factory in Karabük, Turkey. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 9/10, 64c, 717-723

- Citterio, S., Aina, R., Labra, M., Ghiani, A., Fumagalli, P., Sgorbati, S. and Santagostino, A. 2002. Soil genotoxicity: a new strategy based on biomolecular tools ve plants bioindicators. *Environ. Sci. Tech*, 36, 2748-2753.
- Constantin, J. and Nilan, R.A. 1982. Chromosomal aberration assays in barley (*Hordeum vulgare*) a report of the US environmental protection agency gene tox program. *Mutat. Res*, 99, 13-36.
- Conte, C., Mutti, I., Puglisi, P., Ferrarini, A., Regina, G.R.G., Maestri, E. and Marmioli, N. 1998. DNA fingerprint analysis by PCR based method for monitoring the genotoxic effects of heavy metals pollution. *Chemosphere*, 37, 2739-2749.
- Conti, M.E. and Cecchetti, G. 2001. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment-a review. *Environmental Pollution*, 114, 471-492.
- Csintalan, Z., Tuba, Z., Takacs, Z. and Laitat, E. 2001. Responses of nine bryophyte ve one lichen species from different microhabitats to elevated UV-B radiation. *Photosynthetica*, 39, 317-320.
- Culberson, C.F. and Elix, J.A. 1989. Lichen substances, In: *Methods in plant biochemistry*, Vol. 1. Plant phenolics. Dly, P.M. ve Harbourne, J.B. (eds), Academic Pres, pp. 509-535, London.
- De Vera, J.P., Horneck, G., Rettberg, P. and Ott, S. 2003. The potential of the lichen symbiosis to cope with extreme conditions of outer space. I. Influence of UV radiation and space vacuum on the vitality of lichen symbiosis and germination capacity, *Int. J. Astrobiol.* 1, 285–293.
- Dimitrova, S., Pavlova, K., Lukanov, L. and Zagorchev P. 2010. Synthesis of Coenzyme Q10 ve  $\beta$ -carotene by Yeasts Isolated from Antarctic Soil ve Lichen in Response to Ultraviolet ve Visible Radiations. *Appl Biochem Biotechnol*, 162, 795-804.
- Doğan, M. and Saygıdeğer S.D. 2009. Effect of Lead Toxicity on Aquatic Macrophyte *Elodea canadensis* Michx. *Bulletin of Environmental Contamination ve Toxicology*, 83, 249-254.
- Duman, F., Şahan, S., Ceylan, A. ve Koca, F.D. 2010. Cr<sup>+6</sup>ya maruz bırakılmış *Ceratophyllum demersum* L.'nin Biyolojik Cevabı. *SDU Journal of Science (E-Journal)*, 5(2), 163-171.
- Elix, J. A. 1979. A taxonomic revision of the lichen genus *Hypogymnia* in Australasia. *Brunoia*, 2, 175-245.
- Feige, G.B. and Jensen, M. 1992. Basic carbon ve nitrogen metabolism of lichens, In: *Algae ve symbioses*. Reisser, W. (ed), Biopress, pp. 277-299, Bristol.
- Fernandez, M.A., Martinez, L., Segarea, M., Garcia, J.C. and Espella, F. 1992. Behavior of heavy metals in the combustion gases of urban waste incinerators. *Environ Sci Technol*, 26, 1040-1047.
- Fiskesjo, G. 1997. Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. In: *Plants for Environmental Studies*. Lewis Publisher. Boca Raton, pp. 307-333, New York.



- Fomin, A., Paschke, A. and Arndt, U. 1999. Assessment of the genotoxicity of mine-dump material using the tradescantia stem hair (trad-shm) and the tradescantia-micronucleus (trad-shm) bioassay. *Mutat. Res.*, 426, 173-181.
- Friedl, T. and Büdel, B. 1996. Photobionts, In: *Lichen biology*. Nash T.H. (ed), Cambridge University Press, pp. 8-23, Cambridge.
- Garty, J., Levin T., Lehr H., Tomer S., and Hochman A. 2004. Interactive Effects of UV-B Radiation and Chemical Contamination on Physiological Parameters in the Lichen *Ramalina lacera*. *Journal of Atm. Chem.*, 49, 267-289.
- Garty, J., Weissman L., Levin T., Garty-Spitz R., and Lehr H. 2004. Impact of UV-B, Heat and Chemicals on Ethylene-Production of Lichens. *Journal of Atm. Chem.*, 49, 251-266.
- Garty, J. 2001. Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens: theory and application. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 20, 309-371.
- Garty, J. 1993. Lichens as bioindicators of heavy metal pollution, In: *Plants as biomonitors: Indicators for heavy metals in the terrestrial environment*. Markört, B. (ed), VCH, pp. 193-263, Weinheim.
- Garty, J., Galun, M., Fuchs, C. and Zisapel, N. 1977. Heavy metals in the lichen *Caloplaca aurantia* from urban, suburban and rural regions in Israel (a comparative study). *Water, Air and Soil Pollution*, 8, 171-174.
- Garty, J., Ronen, R., Bubrick, P. and Garty, J. 1987. The influence of air pollution on the concentration of ATP and on chlorophyll degradation in the lichen, *Ramalina duriaei* (De Not.) Bagl. *New Phytologist*, 106, 697-706.
- Garty, J., Karary, Y. and Harrel, J. 1992. Effect of low pH, Heavy metal and Anions on chlorophyll degradation in the lichen *Ramalina duriaei* (DE NOT) BAGL. *Environmental and Experimental Botany*, 32(3), 229-241.
- Galloway, D.J. 1996. Lichen biogeography, In: *Lichen biology*. Nash, T.H. (ed), Cambridge University Press, pp. 199-216, Cambridge.
- Glasencnik, E., Ribaric-Lasnik, C., Savinek, K., Zalubersek, M., Mueller, M. and Batic, F. 2004. Impact of air pollution on genetic material of shallot (*Allium cepa* L. var. *ascalonicum*) exposed at differently polluted sites in Slovenia. *J Atmos Chem.*, 49, 363-76.
- Goodman, G.T. and Roberts, T.M. 1971. Plants and soils as indicators of metals in the air. *Nature*, 231, 287-292.
- Goldsmith J.R. and Friberg, L.T. 1977. Effects of air pollution on human health, In: *Air Pollution*. Stern, A.C. (ed), Academic Press, p.561, New York.
- Gómez-Arroyo, S., Díaz-Sánchez, Y., Meneses-Pérez, M., Villalobos-Pietrini, R. and De León-Rodríguez D. 2000. Cytogenetic in a biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutat Res.* 466; 117-124.
- Grand, W.F., 1998. Higher plant assay for the detection of genotoxicity in air polluted environments. *Ecosyst Health*, 4, 210-29.

- Grayson, T.H., Cooper, L.F. and Atienzer, F.A. 1999. Molecular differentiation of *Renibacterium salmoninarum* isolates from world-wide locations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 961-968.
- Gries, C. 1996. Lichens as indicators of air pollution, In: *Lichen biology*. Nash T.H. (ed), Cambridge University Press, pp. 240-254, Cambridge.
- Griffits, A.J.F., Miller, J.H., Suzuki, D.T., Lewontin, R.C. and Gelbart, W.M. 1996. *An introduction to genetic analysis*, W.H. Freeman and Company, New York, USA.
- Güner, H. 1986. Likenlerin biyolojisi ve Ege bölgesinde bulunan bazı türleri. *Ege Üniversitesi Yayınları*, 2-18, İzmir.
- Hale, M.E. 1974. The Biology of Lichens In: *Contemporary Biology*, Editors, E.J.W., Bornington, F.R.S. ve Wills, Clowe Sons, London.
- Hall, R.S.B., Bornman, J.F. and Björn, L.O. 2002. UV-induced changes in pigment content ve light penetration in the fruticose lichen *Cladonia arbuscula* ssp. *mitis*. *Journal of Photochemistry ve Photobio. B*, 66, 13-20.
- Hauck, M., Dulamsuren, C. and Muhlenberg, M. 2007. Lichen diversity on steppe slopes in the northern Mongolian mountain taiga ve its dependence on microclimate. *Flora*, 202, 530-546.
- Hauck, M. and Paul, A. 2005. Manganese as a site factor for epiphytic lichens. *Lichenologist*, 37, 409-423.
- Hawksworth, D.L. 1988. The fungal partner, In: *Handbook of lichenology*, Vol. 1. Galun, M. (ed), CRC Press, pp. 35-38, Boca Raton.
- Herzig, R., Liebendörfer, L., Urech, M., Amman, K., Cuecheva, M. and Lveolt, W. 1989. Passive biomonitoring with lichens as a part of an integrated biological measuring system for monitoring air pollution in Switzerland. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 35, 43-57.
- Honegger, R. 1996. Mycobionts, In: *Lichen biology*. Nash T.H. (ed), Cambridge University Press, pp. 24-36, Cambridge.
- Jacobson, K.B. and Turner, J.E. 1980. The interaction of cadmium ve certain other metal ions with proteins ve nucleic acids. *Toxicology*, 16, 1-37.
- Jahns H.M. 1988. The lichen thallus. In: *The handbook of lichenology I* (Edited by Galun) Florida, CRC Press, 95-143.
- Jansen, M.A.K., Van den Noort, R.E., Tan, M.Y.A., Prinsen, E., Lagrimini, L.M. and Thorneley, R.N.F. 2001. Phenol-oxidizing peroxidases contribute to the protection of plants from ultraviolet radiation stress *Plant Physiol.*, 126, 1012-1023.
- Jordan, B.R. 1996. The effects of ultraviolet-B radiation on plants: a molecular perspective. In: *Advances in Botanical Research* vol. 22 (ed. J.A. Callow). Academic Press Ltd, pp. 97-162.
- Kappen, L. 1993. Lichens in antartic region, In: *Antartic microbiology*. Friedmann, E.I. (ed), Wiley-Liss, pp.433-490, New York.

- Kliebenstein, D.J., Lim, J.E., Landry, L.G. and Last, R.L. 2002. Arabidopsis UVR8 regulates Ultraviolet-B signal transduction and tolerance and contains sequence similarity to Human Regulator of Chromatin Condensation 1. *Plant Physiol*, 234-243.
- Koppen, G. and Verschaeve, L. 1996. The alkaline comet test on plant cells: A new genotoxicity test for DNA strve breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutation Research*, 360, 193-200.
- Körpe-Aksoy, D. and Aras, S. 2010. Evaluation of copper stress on Eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings at molecular ve population levels using various biomarkers. *Mutat. Res*, 719/1-2, 29-34.
- Krog, H.1968. The macrolichens of Alaska. *Norsk. Polarinst. Skr. (Oslo)* 144, 1-180.
- Labra, M., Fabio, Di T., Grassi, F., Regondi, S.M.G., Bracale, M., Vannini, C. and Agradi, E. 2003. AFLP analysis as biomarker of exposure to organic ve inorganic genotoxic substances in plants. *Chemosphere*, 52, 1183-1188.
- Larsson P., Vecerova K., Cempirkova H., and Solhaug K.A., Y.G. 2009. Does UV-B influence biomass growth in lichens deficient in sun-screening pigments?. *Environmental ve Exp. Bot*, 67, 215-227.
- Lefort, F., Lally, M., Thompson, D. and Douglas, G.C. 1998. Morphological traits microsatellite fingerprints and genetic relatedness of a stand of elite oaks (*Q. robur* L.) at Tuallynally, Ireland. *Silvae Genet.* 47 ; 5-6.
- Leljak-Levanić, D., Bauer, N., Mihaljević, S. and Jelaska, S. 2004. Changes in DNA methylation during somatic embryogenesis in *Cucurbita pepo* L. *Plant Cell Rep*, 23, 120-127
- Levizou E. and Manetas Y. 2001. Enhanced UV-B radiation, artificial wounding ve leaf chemical defensive potential in *Phlomis fruticosa* L. *Plant Ecology*, 154, 213-217.
- Liebendörfer, L., Herzig, R., Urech, M. and Amman, K. 1988. Evaluation und Kalibrierung der Schweitzer- Indikationsmethodemit Wichtigen Liftshadstoffen. *Staub Reinhalt Luft*, 48, 233-238.
- Liu, W., Li, P.J., Qi, X.M., Zhou, Q.X., Zheng, L., Sun, T.H. and Yang, Y.S. 2005. DNA changes in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings induced by cadmium pollution using RAPD analysis. *Chemosphere*, 61, 158-167.
- Liu, W., Yang, Y.S, Zhou, Q., Xie, L., Li, P., and Sun, T. 2007. Impact assessment of cadmium contamination on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings at molecular ve population levels using multiple biomarkers. *Chemosphere*, 67-1155-1163.
- Lowe, L.A., Supp, D.M., Sampath, K.,Yokoyama, T., Wright,C.V., Potter, S.S.,Overbeek, P. and Kuehn, M.R. ,1996. Conserved left-right asymmetry of nodal expression and alterations in murine situs inversus. *Nature* 381:158–161.
- Lud D., Huiskes A.H.L., Moerdijk T.C.W. and Rozema J. 2001. The effects of altered levels of UV-B radiation on an Antarctic grass ve lichen. *Plant Ecology*, 154, 89–99.

- Lukens L.N. and Zhan S. 2007. The plant genome's methylation status ve response to stress: implications for plant improvement. Current Opinion in Plant Biology 10(3), 317-322.
- Majone, F. and Levis, A.G. 1979. Chromosomal aberrations ve sister chromatic exchanges in Chinese hamster cells treated in vitro with hexavalent chromium compounds. *Mutation Research*, 67, 231-238.
- Manning, W.J. and Feder, W.A. 1980. Biomonitoring air pollutants with plants. Applied Science Publishers, London.
- Markert, B. 1993. Plants as biomonitors: Indicators for heavy metals in the terrestrial environment, VCH, Weinheim.
- Martienssen, R. and Baron, A. 1994. Coordinate Supression of Mutations Caused by Robertson's Mutator Transposons in Maize. *Genetics*, 136,1157-1170
- Martin, M.H. and Coughtrey, P. J. 1982. Biological monitoring of heavy metal pollution. Applied Science Publishers, London.
- Martinez, A.G., Chaves A.R., Civello, P.M., Vicente, A.R. and Costa L. 2006. UVC treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology*, 39 ; 204-210.
- Matzke, M.A. and Matzke, A.J.M. 1995. Homology-dependent gene silencing in transgenic plants: what does it really tell us? *Trends Genet*, 11, 1-3.
- Mirouze, M. and Paszkowski, J. 2011. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 14(3) ; 267-274.
- Monarcha, S., Feretti, D., Zanardini, A., Moretti, M., Villarini, M., Spiegelharder, B., Zerbini, I., Gelatti, U. and Lebbolo, E. 2001. Monitoring airborne genotoxicants in the rubber industry using genotoxicity tests and chemical analyses. *Mutat. Res.*, 490, 159-169.
- Monnet F., Vaillant N., Vernay P., Coudret A., Sallanon H. and Hitmi A. 2001. Relationship between PSII activity, CO<sub>2</sub> fixation, ve Zn, Mn ve Mg contents of *Lolium perenne* under zinc stres. *Journal of plant Physiology*, 158(9), 1137-1144.
- Morton, R.A. 1993. Evolution of *Drosophila* insecticide resistance. *Genome*, 36, 1-7.
- Nash, T.H. 1996. Lichen biology, Cambridge University Pres, Cambridge.
- Nash, T.H. 1989. Metal tolerance in lichens, In: Heavy metal tolerance in plants; Evolutionary aspects. Shaw, A.J. (ed), CRC Press, pp. 119-131, Boca Raton.
- Natusch, D.F.S., and Wallace, J.R. 1974. Urban aerosol toxicity: the influence of particle size. *Science*, 186, 695.
- Nimis, P.L., Lazzarin, A., Lazzarin, G. and Gasparo, D. 1991. Lichens as bioindicators of air pollution by SO<sub>2</sub> in the Veneto region region (NE Italy). *Studia Geobot*, 11, 3-76.
- Nimis, P.L. 1996. Radiocesium uptake ve cycling by cryptogams in natural ecosystems. In: Giovani, C., Padovani, R., (Eds.), *Atti 3-9 ANPA 1996, Conv. 10 Anni da Chernobyl*, Roma, pp. 279-289.

- Nimis, P.L., Castello, M. and Perotti, M. 1993. Lichens as bioindicators of heavy metal pollution; A case study at La Spezia (Italy), In: Plants as biomonitors; Indicators for heavy metals in the terrestrial environment. Markört, B. (ed), VCH, pp. 265-284, Weinheim.
- Nimis P.L. and Purvis O.L. 2002. Monitoring lichens as indicators of pollution, In: Monitoring with lichens-Monitoring lichens. Nimis, P.L., Scheidegger, C. ve Wolseley P.A. (eds), Kluwer Academic Publishers, pp. 7-10, Netherlands.
- Nriagu, J.O. 1996. History of global heavy metal pollution. *Science*, 272, 223.
- Núñez-Olivera E., Martínez-Abaigar J., Tomás R., Beaucourt N. and Arróniz-Crespo M. 2004. Influence of temperature on the effects of artificially enhanced UV-B radiation on aquatic bryophytes under laboratory conditions. *Photosynthetica*, 42, 201-212.
- Nylander, W. 1896. Les lichens des environs de Paris. P. Schmidt, Paris
- Olmez, I., Cetin, Gulovali M. and Gordon, GE. 1985. 'Trace element concentrations in lichens near a coal-fired power plant', *Atmos. Environ*, 19(10), 1663-1669.
- Özcan, S., Gürel, E. ve Babaoğlu, M. 2004. Bitki Biyoteknolojisi II Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları 2. Baskı. Selçuk Üniversitesi Vakfı, 456s, Konya.
- Piraino, F., Aina, R., Palin, L., Prato, N., Sgorbati, S., Santagostino, A. and Citterio, S. 2006. Air quality biomonitoring: Assessment of air pollution genotoxicity in the Province of Novara (North Italy) by using *Trifolium repens* L. ve molecular markers. *Science of the Total Environment*, 372, 350-359.
- Poblet, A., Scagliola, M., Vodopivec, C., Curtosi, A. and Marcovecchio, J. 1994. *Usnea aurantiacoatra*: un organismo integrador de metales pesados transportados atmosféricamente en ecosistemas de altas latitudes? III Jorn. Comunic. Sobre Invest. Antarticas, DNA IAA, 397-400.
- Poelt, J. 1973. Classification. In the lichens (Ahmadjian, V. Ve Hale M. E. Ed.) Academic Press, 599-632.
- Prakash, A.P. and Kumar, P.P. (1997). Inhibition of shoot induction by 5-azacytidine ve 5-aza-2'-deoxycytidine in Petunia involves DNA hypomethylation. *Plant Cell Reports*, 16, 719-724
- Puckett, K.J. 1988. Bryophytes ve lichens as monitors of metal deposition. *Bibliotheca Lichenologica*, 30, 231-267.
- Purvis, O.W. and Halls, C. (1996) A review of lichens in metal-enriched environments. *Lichenologist*, 28, 571-601.
- Rai, A.N. 1988. Nitrogen metabolism, In: Hvebook of lichenology, Vol. 1. Galun, M. (ed), CRC Press, pp. 201-237, Boca Raton.
- Rai, A.N., Rowell, P. and Stewart, W.D.P. 1980. NH<sup>4+</sup> assimilation ve nitrogenase regulation in the lichen *Peltigera aphthosa*. *New Phytologist*, 85, 545-555
- Rancan F., Rosan S. and Boehm K., F.E. 2002. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. *Journal of Photochemistry ve Photobio. B*, 68, 133-139.

- Ronchi, A., Petroni, K. and Tonelli, C. (1995) The reduced expression of endogenous duplications (REED) in the maize R gene family is mediated by DNA methylation. *EMBO J*, 14, 5318-5328
- Rozema J., Björn L.O., Bornman J.F. and Gaberscik A. 2002. The role of UV-B radiation in aquatic ve terrestrial ecosystems—an experimental ve functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry ve Photobio. B*, 66, 2-12.
- Röder, M.S., Plaschke, J., König, S.U., Börner, A., Sorrells, M.E., Tanksley, S.D. and Ganai, M.W., 1995. Abundance, Variability and Chromosomal Location of Microsatellites in Wheat. *Molecular General Genetics*, 246:327-332.
- Sammour, R.H. 1991. Using electroforetic techniques in varietal identification, biosystematic analysis, phylogenetic relations and genetic resources management. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, 74, 5463-5467.
- Sass, L. and Vass, I. 1998. Characterization of UV-B tolerance in lichens by photosystem II electron transport measurements, in: G. Garab (Ed.), *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*, Kluwer Academic Publishers, pp. 2381–2384, Dordrecht.
- Savva, D. 1996. DNA fingerprinting as a biomarker assay in ecotoxicology. *Toxicol. Ecotoxicol. News. Rev*, 3, 110-114.
- Savva, D. 1998. Use of the DNA fingerprinting to detect genotoxic effects. *Ecotoxicol. Environ. Safely*, 41, 103-106.
- Savva, D. 2000. The use of Arbitrarily primed PCR (AP-PCR) fingerprinting detects exposure to genotoxic chemicals. *Ecotoxicology*, 9, 341-353.
- Schilappi, M., Raina, R. and Fedoroff, N. 1994. Epigenetic regulation of the maize Spm transposable element: novel activation of a methylated promoter by TnpA. *Cell*, 77, 427-437
- Shaw, G., Connell, D. and Barron, W. 1995. The use of in vitro adduct formation to estimate the genotoxicity of residues at contaminated sites. *Chemosphere*, 30, 957-1968.
- Sheoran, I.S., Singal, HR. and Singh, R. 1990. Effect of cadmium ve nickel on photosynthesis ve the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan L.*). *Photosynthetic Research*, 23, 345-351.
- Smith, D.C. 1980. Mechanism of nutrient movement between the lichen symbionts, In: *Cellular interactions in symbiosis ve parasitism*. Cook, C.B., Pappas, P.W. ve Rudolph, E.D. (eds), Ohio State University Press, pp. 197-227, Columbus.
- Smith, D.C. and Douglas, A.E. 1987. *The biology of symbiosis*. Edward Arnold Ltd., London.
- Shukla, V. and Upreti, D.K. 2008. Effect of metallic pollutants on the physiology of lichen, *Pyxine subcinerea* Stirton in Garhwal Himalayas. *Environ Monit Assess*, 141, 237–243.

- Shukla, V. and Upreti, D.K., 2007. Physiological response of the lichen *Phaeophyscia hispidula* (Ach.) Essl. To the urban environment of Pauri ve Srinagar (Garhwal), Himalayas. *Environmental Pollution*.
- Solheim B., Zielke M., Bjerke J.W. and Rozema J. 2006. Effects of enhanced UV-B radiation on nitrogen fixation in arctic ecosystems. *Plant Ecology*, 182, 109-118.
- Steinkellner, H., Mun-Sik, K., Helma, C., Ecker, S., Ma, T.H., Kundi, M. and Knasmuller, S. 1998. Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. *Environ. Mol. Mutag*, 31, 183-191.
- Strid, A., Chow, W.S. and Anderson, J.M. (1990). Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on photosynthesis in *Pisum sativum*. *Biochem. Biophys. Acta* 1020: 260-268.
- Sugiyama, M., Lin, X. and Costa, M. 1991. Protective effect of vitamin E against chromosomal aberrations ve mutation induced by sodium chromate in Chinese hamster V79 cells. *Mutation Research*, 260, 19-23.
- Surplus, S.L., Jordan, B.R., Murphy, A.M., Carr, J.P., Thomas, B. and Mackerness, A.S.H. 1998. Ultraviolet induced responses in *Arabidopsis thaliana*: role of salicylic acid and reactive oxygen species in regulation of transcripts encoding photosynthetic and acidic pathogenesis-related proteins. *Plant Cell Environ*, 21, 685-694.
- Tardiff, R.G., Lohman, P.H.M. and Wogan, G.N. 1994. *Methods to Assess DNA Damage ve Repair*. John Wiley & Sons, New York.
- Temel, A., Kartal, G. and Gözükırmızı, N. 2008. Genetic ve epigenetic variations in barley calli cultures. *Biotech.ve Biotechnol. Equipment*, 22(4), 911-914.
- Temizkan, G. ve Arda, N. 2008. *Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. N. (edt). Nobel Tıp Kitabevleri, sf: 45, İstanbul.
- Temple, P.J., McLaughlin, D.L., Linzon, S.N. and Wills, R. 1981. Moss bags as monitors of atmospheric deposition. *J. Air Pollution Association*, 31, 668-670.
- Theodorakis, C.W., Bickham, J.W. and Lamb, T. 2001. Integration of genotoxicity ve population genetic analyses in kangaroo rats (*Dipodomys merriami*) exposed to radionuclide contamination at the Nevada test site, USA. *Environ Toxicol Chem*, 20(2), 317-326.
- Theophanides, T. 1981. "Fourier Transform Infrared Spectra of Calf Thymus DNA ve its Reactions with Anticancer Drug *cis-platin*", *Appl. Spectrosc*, 35, 461.
- Tschermak-Woess, E. 1989. Development studies in trebouxoid algae ve taxonomical consequences. *Plant Systematics ve Evolution*, 164, 161-195.
- Tsuda, H. and Kato, K. 1977. Chromosomal aberrations ve morphological transformation in hamster embryonic cells treated with potassium dichromate in vitro. *Mutation Research*, 46, 87-94.
- Ünal, D., Tuney, I. and Sukatar A. 2008. The role of external polyamines on photosynthetic responses, lipid peroxidation, protein and Chlorophyll a content under the UVA (352 nm) stress in *Physica semipinnata*. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 90 ; 64-68.
- Waddington, C.H. 1942. The epigenotype. *Endeavour*, 1, 18-20.

- Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18(24), 7213-7218.
- Walton, M. 1993. Molecular markers: which ones to use? *Seed World*, July, p:23-29.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markörs. *Nucleic Acids Research*, 18; 6531–6535.
- Wittig, R. 1993. General aspects of biomonitoring heavy metals by plants, In: *Plants as biomonitors: Indicators for heavy metals in the terrestrial environment*. Markört, B. (ed), VCH, pp. 3-27, Weinheim.
- Yamouchi, N., Shigyo, M., Kaewsuksaeng, S. and Aiamla-or S. 2010. Impact of UVB irradiation on chlorophyll degradation and chlorophyll-degrading enzyme activities in stored broccoli (*Brassica oleracea* L. Italica Group) florets. *Food Chemistry*, 120, 645-651.
- Yang, D. and Wang, A.H.J. 1996. The structural studies of interactions between anticancer platinum drugs ve DNA. *Progress in Biophysics ve Molecular Biology*, 66, 81-111.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N. 2001. Genetik markörler ve analiz metodları. *Bitki Biyoteknolojisi II*, 351-361.
- Yu, M.H. 2005. *Environmental toxicology: Biological ve health effects of pollutants*. CRC pres, Boca Raton.
- Zhao X., Jia E., Yang W., Dong Y. and Liu, B. 2006. *Cereal Research Communications*. 34(2), 879-886
- Zeybek U., Thorsten, L. H., Benno, F. G., Elix J. A. and John, V. 1993a. Chemosyndromic Variation in *Hypogymnia* species, mainly from Turkey (lichenized Ascomycotina). *Crypt. Bot*, 3, 260-263.
- Zeybek, U., John, V. and Lumbsch, H.T. 1993b. A taxonomical investigation in Turkey lichen genus *Hypogymnia* (Nyl.) Nyl. *Doga – Tr. J. of Botany*, 17, 109-116.
- Zhiyi R. and Haowen Y. 2004. A method for ecotoxicity detection using random amplified polymorphism DNA with *Danio rerio*. *Ecotoxicol Environ Saf* 58:96–103.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Rasim HAMUTOĞLU

Doğum Yeri : İskenderun

Doğum Tarihi : 22.02.1987

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : İskenderun Lisesi (2005)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi- Biyoloji Bölümü (2010)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji  
Anabilim Dalı (Eylül 2010-Temmuz 2013)

### Yayınlar

**Hamutoğlu R.,** Dinçsoy B., Cansaran-Duman D., Aras, S. 2012. Biyosorpsiyon, Adsorpsiyon, Fitoremediasyon Yöntemleri ve Uygulamaları. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 69:4, 235–253.