

**TARLA SARMAŞIĞI (*Convolvulus arvensis* L.)
POPULASYONLARININ İSTİLACI
ÖZELLİKLERİNİN GENETİK VE
BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE
BELİRLENMESİ**

Serap SUNAR

**Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Prof. Dr. Güleray AĞAR
2012**

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

TARLA SARMAŞIĞI (*Convolvulus arvensis* L.)
POPULASYONLARININ İSTİLACI ÖZELLİKLERİNİN GENETİK
VE BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Serap SUNAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2012

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

Tarla Sarmaşığı (*Convolvulus arvensis* L.) Populasyonlarının İstilacı Özelliklerinin Genetik ve Biyokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi

Prof. Dr. Güleray AĞAR danışmanlığında, Serap SUNAR tarafından hazırlanan bu çalışma 17/05/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Güleray AĞAR

İmza :

Üye : Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE

İmza :

Üye : Doç Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Ali KANDEMİR

İmza :

(imza)

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 2009\238

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

TARLA SARMAŞIĞI (*Convolvulus arvensis* L.) POPULASYONLARININ İSTİLACI ÖZELLİKLERİNİN GENETİK VE BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Serap SUNAR
Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Güleray AĞAR

Bu çalışmada, istilacı karakterdeki *C. arvensis* L. türünün populasyon içi ve populasyonları arasındaki genotipik ve fenotipik farklılıklar rastgele arttırılmış polimorfik DNA (RAPD) ve yağ asidi metil esterleri (FAMES) teknikleri kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla, Aşkale, Erzurum (merkez), Oltu, Tortum ve İspir olmak üzere 5 populasyondan 75 birey toplanmıştır. RAPD analiz sonuçlarına göre seçilmiş 14 primer ortalama %55.35 oranında polimorfik lokus oluşturmuş, populasyonlar orta seviyede genetik çeşitlilik göstermiştir ($H=0.2053$, $I=0.3047$). Genetik farklılaşma değeri $Gst=0.293$, gen akışı değeri $Nm=0.6032$ olarak belirlenmiştir. Yağ asidi analizleri sonucunda 18:2 w6c ve 18:1w8c/18:3w3c yağ asidinin bütün populasyonlarda ortak olduğu, 18:1w8c/18:3w3c yağ asidinin ise yüzde olarak en fazla bulunduğu görülmüştür. Türün istilacı özellik kazanmasında allelopatinin rolü olup olmadığını belirlemek amacıyla *C. arvensis*'in kök, gövde ve yapraklarının metanol ekstraktları çıkarılmış, mısır tohumları üzerine allelopatik potansiyeli araştırılmıştır. Metanol ekstresi uygulandıktan sonra çimlendirilen mısır tohumlarındaki bitkisel hormonların miktarı HPLC cihazında ölçülmüştür. Bu hormonlardan Giberellik Asit ve İndol Asetik Asit miktarının tüm uygulama gruplarında azaldığı, Absisik Asit ve Salisilik Asit miktarının ise arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca *C. arvensis* ekstraktlarının sitotoksik ve genotoksik etkileri araştırılmıştır. Metanol ekstresi uygulanan mısır tohumlarının mitotik indeks ve GTS seviyelerinde doz artışına bağlı olarak azalma, çözümlü protein seviyelerinde ise artış belirlenmiştir.

2012, 112 sayfa

Anahtar Kelimeler: Absisik Asit, *C. arvensis*, FAMES, Giberellik Asit, GTS, İndol Asetik Asit, mitotik indeks, RAPD, Salisilik Asit

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

DETERMINATION OF INVASIVE PROPERTIES OF THE POPULATIONS FIELD BINDWEED (*Convolvulus L.*) BY USING GENETIC AND BIOCHEMICAL METHODS

Serap SUNAR
Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Güleray AĞAR

In this study, phenotyping and genotyping differences between intra- and interpopulations of invasive species, *C. arvensis* L. by using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and yağ acit metil ester (FAMES) techniques. With this aim, 75 individuals of 5 different populations from Aşkale, Erzurum, Tortum, Oltu and İspir were collected. According to RAPD analysis, 14 primers selected composed polymorphic locus at the ratio of 55.35% and populations reflected genetic differences at median level ($H=0.2053$, $I=0.3047$). Genetic differences value was determined as $Gst=0.293$, and gene flow value was determined as $Nm=0.6032$. Fatty acid analysis showed that 18:2 w6c and 18:1w8c/18:3w3c fatty acid is common, and 18:1w8c/18:3w3c fatty acid exists with the biggest ratio in all the populations studied. In order to define whether allelopathy has effects on invasiveness of the species; allelopathic potential of methanol extracts of root, stem and leaf of *C.arvensis* on corn seeds was assayed. After the application of methanol extracts, corn seeds was germinated and hormone levels were measured with HPLC device. In these hormones, it was observed that gibberellic acid and indole acetic acid levels were decreased, and abscisic acid and Salicylic acid level was increased in all the groups. Moreover, the cytotoxic and genotoxic effects of *C. arvensis* extracts were investigated. It was determined that mitotic index and genomic template stability levels decreased, but total soluble protein levels increased in a dose-dependent manner.

2012, 112 Pages

Keywords: Abscisic Acid, FAMES, *C. arvensis*, Gibberellic Acid, GTS, Indole Acetic Acid, mitotic index, RAPD, Salicylic Acid

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu alıŐma Atatürk Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafında desteklenmiŐ olup, Atatürk Üniversitesi Fen Fakóltesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji, Bakteriyoloji ve Bitki fizyolojisi laboratuvarlarında yürütölmüŐtür.

AraŐtırmanın yürütölmesi ve değerlendirilmesinde yardımcı olan danıŐmanım, Sayın Prof. Dr. Güleray AĞAR'a, tez izleme komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE ve Sayın Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ'ye teŐekkürü bir borç bilirim.

ÇalıŐmalarımın farklı aŐamalarında yardımlarını gördüğüm, Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji, Bakteriyoloji Laboratuvarındaki alıŐma arkadaşlarımın tümüne teşekkür ederim. Ayrıca çalıŐmalarımın her aşamasında beni yalnız bırakmayan eŐime ve aileme teŐekkürlerimi sunarım.

Serap SUNAR

Mayıs 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	11
2.1. Bitki Populasyonlarının Genetik Yapısını Etkileyen Faktörler.....	11
2.2. Genetik Markır	13
2.2.1. Markır seçiminde arzulanan özellikler.....	14
2.2.2. Genetik markır tipleri.....	14
2.2.2.a. Fenotipik (morfolojik) markırlar	14
2.2.2.b. Biyokimyasal markırlar.....	15
2.2.2.c. Moleküler markırlar	18
2.3. Allelopatonsiyelin Tesbiti için Gerekli Olan Biyoteknolojik Yöntemler	25
2.3.1. Mitotik indeks.....	25
2.3.2. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE.....	26
2.3.3. RAPD Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliğinin (Genomik Template Stability; GTS%)Belirlenmesi.....	26
2.3.4.Fitohormonlar	27
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	29
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Kullanılan materyal	29
3.1.2. Kullanılan alet ve cihazlar	29
3.1.3. Kullanılan çözelti ve solüsyonlar	30
3.1.3.a. FAMEs profillerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler.....	30
3.1.3.b. DNA izolasyonu için kullanılan çözeltiler	31
3.1.3.c. PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan çözeltiler.....	32

3.1.3.d. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi için kullanılan çözeltiler	32
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Populasyonların örneklenmesi	34
3.2.2. Bitkilerin FAMES (Fatty Asit Metil Esterleri) profillerinin belirlenmesi	34
3.2.2.a. Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılması	34
3.2.2.b. Örneklerin yağ asidi içeriklerinin analiz edilmesi.....	35
3.2.2.c. Örneklerin FAMES profillerinin istatistiksel analizi	35
3.2.3. Bitkilerin RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA/ Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) profillerinin belirlenmesi	36
3.2.3.a. DNA İzolasyonu	36
3.2.3. b.RAPD primerleri	37
3.2.3.c. PCR protokolü	38
3.2.3.d. Agaroz jel elektroforezi.....	38
3.2.3.e. Jellerin yorumlanması.....	39
3.2.3.f. Veri analizleri.....	39
3.3. Allelopatoniyelin Tesbiti için Gerekli Olan Biyoteknolojik Yöntemler	40
3.3.1. Hormonların ekstraksiyon, saflaştırma ve analiz işlemleri	40
3.3.1.a. Ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri	40
3.3.1.b. Hormonların analizi.....	42
3.3.2. Mitotik İndeks	43
3.3.3. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE.....	45
3.3.4. RAPD Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliğinin (Genomik Template Stability; GTS%) Belirlenmesi	46
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	48
4.1. RAPD	48
4.1.1. Aşkale populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	48
4.1.2. Tortum populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	50
4.1.3. Oltu populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	51
4.1.4. Erzurum populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar	53
4.1.5. İspir populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar.....	54
4.2. FAMES Profillerine Göre Elde Edilen Sonuçlar	59
4.2.1. Aşkale populasyonunda FAMES profillerine göre elde edilen sonuçlar	59

4.2.2. Tortum populusyonunda FAMEs profillerine göre elde edilen sonuçlar	61
4.2.3. Oltu populusyonunda FAMEs profillerine göre elde edilen sonuçlar	64
4.2.4. Erzurum populusyonunda FAMEs profillerine göre elde edilen sonuçlar	68
4.2.5. İspir populusyonunda FAMEs profillerine göre elde edilen sonuçlar	71
4.3. Allelopatensiyelin Tesbiti	76
4.3.1. Hormon Verilerine Göre Elde Edilen Sonuçlar	76
4.3.2. RAPD Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)	79
4.3.3. Mitotik İndeks	84
4.3.3.a. Mitotik İndeks Oranı (%)	84
4.3.3.b. Mitotik Anormallik Oranı	85
4.3.4. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)	87
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	89
5.1. Öneriler	99
KAYNAKLAR	100
EKLER	111
EK 1	111
EK 2	112
ÖZGEÇMİŞ	113

SİMGELER DİZİNİ

ABA	Absisik asit
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
AP-PCR	Arbitrarily Primed PCR
Bç	Baz çifti
°C	Santigrat Derece
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
CTAB	Setil Trimetil Amonyum Bromür
DAF	DNA Amplification Fingerprinting
dNTP	Deoksinükleotid Tri Fosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FAMEs	Fatty Asit Metil Esterleri
GA	Giberellik asit
IAA	Indol asetik asit
ISSR	Inter-Simple Sequence Repeats
M	Molar
ml	Mililitre
mM	Milimolar
µl	Mikrolitre
PCR	Polimerase Chain Reaction
PVP	Polivinilpirolidon
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SCAR	Sequence-Characterized Amplified Region
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SRAP	Sequence Related Amplified Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeats
TBE	Tris-Borat-EDTA tamponu
TE	Tris-EDTA tamponu
v/v	Hacim / Hacim
w/v	Ağırlık / Hacim

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Aşkale populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı	49
Şekil 4.2. Aşkale populasyonunun OPBB14 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	50
Şekil 4.3. Tortum populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı	50
Şekil 4.4. Tortum populasyonunun OPW01 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	51
Şekil 4.5. Oltu populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı	52
Şekil 4.6. Oltu populasyonunun OPY07 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	53
Şekil 4.7. Erzurum (merkez) populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı	53
Şekil 4.8. Erzurum (merkez) populasyonunun OPA01 RAPD primerine karşı Oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	54
Şekil 4.9. İspir populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı	55
Şekil 4.10. İspir populasyonunun OPW06 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri	56
Şekil 4.11. Nei (1972)'ye göre <i>C. arvensis</i> populasyonları arasındaki genotipik bağlantı	58
Şekil 4.12. Nei (1972)'ye göre <i>C. arvensis</i> bireyleri arasındaki genotipik bağlantı	58
Şekil 4.13. Aşkale populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	59
Şekil 4.14. Tortum populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	62
Şekil 4.15. Oltu populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	65
Şekil 4.16. Erzurum (merkez) populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	69
Şekil 4.17. İspir populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı	72
Şekil 4.18. Populasyonlar arası biyokimyasal bağlantı	75
Şekil 4.19. <i>C. arvensis</i> ekstrelerinin mısır tohumlarında gibberellik asit (GA) miktarı üzerine etkisi	77

Şekil 4.20. <i>C. arvensis</i> ekstrelerinin mısır tohumlarında absisik asit (ABA) miktarı üzerine etkisi	77
Şekil 4.21. <i>C. arvensis</i> ekstrelerinin mısır tohumlarında SA miktarı üzerine etkisi.....	79
Şekil 4.22. <i>C. arvensis</i> ekstrelerinin mısır tohumlarında indol asetik asit (IAA) miktarı üzerine etkisi	79
Şekil. 4.23. OPH17 RAPD primerine karşı oluşan amplifikasyon ürünleri	83
Şekil. 4.24. OPA13 RAPD primerine karşı oluşan amplifikasyon ürünleri	83
Şekil. 4.25. Metafaz anormalliği.....	87
Şekil. 4.26. Anafaz anormalliği	87
Şekil. 4.27. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi	88

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan RAPD primerleri ve baz dizilimleri.....	37
Çizelge 4.1. Aşkale popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi..	49
Çizelge 4.2. Tortum popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi .	51
Çizelge 4.3. Oltu popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi	52
Çizelge 4.4. Erzurum (merkez) popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi	54
Çizelge 4.5. İspir popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi.....	55
Çizelge 4.6. Genetik mesafe ve genetik benzerlik hesaplamaları.....	57
Çizelge 4.7. Tüm lokuslar için genetik varyasyon analizleri.....	57
Çizelge 4.8. Aşkale popülasyonunun yağ asidi içeriği	60
Çizelge 4.9. Aşkale popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi	61
Çizelge 4.10. Tortum popülasyonunun yağ asidi içeriği	63
Çizelge 4.11. Tortum popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi.....	64
Çizelge 4.12. Oltu popülasyonunun yağ asidi içeriği	66
Çizelge 4.13. Oltu popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi	68
Çizelge 4.14. Erzurum(merkez) popülasyonunun yağ asidi içeriği	70
Çizelge 4.15. Erzurum (merkez) popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi.....	71
Çizelge 4.16. İspir popülasyonunun yağ asidi içeriği	73
Çizelge 4.17. İspir popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi	74
Çizelge 4.18. Popülasyonlar arası biyokimyasal uzaklık indeksi	75
Çizelge 4.19. <i>C. arvensis</i> 'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış kök, gövde ve yaprak ekstresinin mısır tohumlarında GA ve ABA üzerine etkisi.....	76
Çizelge 4.20. <i>C. arvensis</i> 'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış kök, gövde ve yaprak ekstresinin mısır tohumlarında SA ve IAA üzerine etkisi.....	78

Çizelge 4.21. <i>C. arvensis</i> 'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış gövde ekstresinin mısır tohumların üzerine etkisi ile oluşan polimorfik bantların moleküler ağırlığı	80
Çizelge 4.22. Genomik Kalıp Sabitliliği(Genomik Template Stability; GTS%).....	80
Çizelge 4.23. <i>C. arvensis</i> 'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış yaprak ekstresinin mısır tohumların üzerine etkisi ile oluşan polimorfik bantların moleküler ağırlığı	81
Çizelge 4.24. Genomik Kalıp Sabitliliği(Genomik Template Stability; GTS%).....	81
Çizelge 4.25. <i>C. arvensis arvensis</i> 'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış kök ekstresinin mısır tohumların üzerine etkisi ile oluşan polimorfik bantların moleküler ağırlığı	82
Çizelge 4.26. Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS).....	82
Çizelge 4.27. Mitotik indeks oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	84
Çizelge 4.28. Farklı bitki kısımları ekstraktları ve dozlarında mitotik indeks oranı	84
Çizelge 4. 29. Mitotik anormallik oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	86
Çizelge 4.30. Farklı bitki kısımları ekstraktları ve dozlarında mitotik anormallik oranı	86
Çizelge 4.31. Toplam çözünür protein seviyesi.....	88

1. GİRİŞ

Tarla sarmaşığı veya gündüzsefası olarak da bilinen *C. arvensis* L. Convolvulaceae familyasına ait olan çok yıllık bir bitkidir. 20-100 cm arasında boylanabilmektedir. Bitkinin sapı, tüysüz, yatık, sarılıcı ve altı köşelidir. Gövde üzerindeki yapraklar ok başlı veya tabanda zıpkınsı, bölmelidir. Dıştaki sepal yapraklar ters yumurta biçimli, kör uçlu, veya belirsiz sivri uçludur. Çok derinlere kadar kök ve toprak altı gövdesi oluşturabilen bitkinin yaprakları çok farklı şekilde parçalı olup, dar-geniş ok ucu şeklinde, 20 mm saplıdırlar. Taç yaprakları beyaz, pembe, mor veya sarı renklidir. Bu çiçekler huni şeklinde yaprak koltuklarından çıkmışlardır. Bir bitki yaklaşık 500 adet tohum oluşturabilmektedir (Davis 1978).

Orijini Avrupa kıtası olan *C. arvensis*, Avrupa'nın ılıman bölgelerinde Batı Asya ve Kuzey Amerika'da baskın olmasına karşın Avrupa'da ekili alanlara zarar vermektedir (Holm *et al.* 1977). Dünyadaki 15 önemli zararlı ottan biri olan *C. arvensis*'in 44'den fazla ülkede 32 değişik ürün için ciddi bir problem teşkil ettiği rapor edilmiştir (Holm *et al.* 1977; Schroeder 1993). Yine bu tür buğday ve mısır tarlalarında, üzüm bağlarında, süs bitkisi yetiştirme alanlarında ciddi ekonomik zararlar ortaya çıkarmaktadır (Holm *et al.* 1977).

C. arvensis yüksek ışığa gereksinim duyar, gölgede iyi bir rekabetçi değildir. Çok sayıda yan kökleri ve derin kök sistemi sayesinde kuraklığa karşı dayanıklıdır. Kuraklık sırasında güçlü bir rekabetçidir. Yan kökleri, yer altı dokuları kök tomurcukları üretir ve yeni filizler oluşturur. Toprak yüzeyine yakın yerlerde yalnızca 1cm uzunluğunda kök parçalarından yeniden üreyebilir, daha uzun kök parçaları daha büyük derinlikte yeniden üretilebilir. *C. arvensis*'in kök sistemi 6 cm çapında çevreyi kaplar ve derinliği 9 m ye kadar uzanır (Vogelgsang 1998).

Bu tür ortamdaki diğer türler ile ya su ve gıda rekabetine girerek ya da tırmanarak büyüdüğünden dolayı biçmeye engel olarak ürün azalmasına neden olur. Ayrıca tür

toprak yüzeyinin 60 cm derinliğinde mevcut olan suyu azaltma yeteneğine sahip olduğundan dolayı ürünlerin susuz kalıp solmasına ve ürün veriminde azalmaya sebep olmaktadır. Öte yandan *C. arvensis* çalı ve küçük ağaçları sararak budama ve ürün toplama çalışmaları süresini de uzatmaktadır (Vogelgsang 1998).

C. arvensis'in kontrolü için yaygın olarak kullanılan toprağı işleme, ürün rotasyonu ve kimyasal bitki öldürücüleri gibi metodlar bu yabancı otun güçlü rekabetçiliğı ve geniş kök sistemi sebebiyle etkin değildir. Ancak yapılan araştırmalar sonucunda bu türün uygulanan çeşitli herbisitlere karşı değışik duyarlılık gösterdiğini saptanmıştır (Vogelgsang 1998).

Günümüzde meyve bahçeleri ve ekili alanlarda *C. arvensis*'in kontrolü için 2,4-D, dikamba, glifosat veya pikloram gibi etken maddeler tek tek ya da kombine bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca kışlık buğday (*Triticum aestivum L.*), yonca (*Medicago sativa*), çavdar (*Secale cereale L.*), soya fasülyesi (*Glycina mas L.*) bu tür ile rekabet edebildiğinden dolayı kontrol amaçlı olarak tarlalara ekilmektedir. Ancak bu yöntemler de uzun vadede pratik olarak çok kullanışlı değildir (Vogelgsang 1998).

Ürün rotasyonunu kısaltmak, suni gübre ve kimyasal herbisitlerin kullanımı gibi değışen tarım uygulamaları sonucunda *C. arvensis*'in yaygınlığı artmıştır ve bu tür birçok önemli kültür ürünü için başta gelen bir zararlı ot haline gelmiştir (Vogelgsang 1998).

Önemli bir yabancı ot olmasının yanı sıra *C. arvensis* yol kenarlarında erozyonu kontrol etmek amacıyla da ekilmektedir. Ayrıca yem ve süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Foster and Duke (1990), Avrupalıların *C. arvensis*'in çiçeklerini ateşlenme ve yaralanmalar için kullandığını bildirmişlerdir. Yine kuvvetli müşhil özellik gösterdiğini değışik araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Vogelgsang 1998).

Hemen hemen dünyanın her yerindeki zirai bölgelerde yaygın olarak gelişen *C. arvensis* çok yıllık önemli istilacı bitkilerin başında yer almaktadır. Sahip olduğuna geniş kök

sistemi ve yüksek rekabetçiliği sebebiyle de geleneksel yabancı ot kontrol metotlarıyla bu türü kontrol altına almak zordur (Vogelgsang 1998). Bu tür üzerinde yapılmış çalışma sayısı kısıtlı olmakla birlikte bazıları aşağıda verilmiştir.

Garcia-Baudin and Darmency (1979), aynı şartlarda yetişen *C.arvensis* populasyonları arasındaki tür içi çeşitliliği belirlemek için yaprak şekilleri, çiçek şekilleri, tohum ağırlığı ve tohumdaki çözülebilir proteinleri gözlemlemiştir. Whitesides (1979), *C. arvensis* ekotiplerinin içindeki her bitkinin değişen uzunluklarını, sarmaşık sayısını, yaprak ve çiçek sayısını ve tohum verimini kaydetmiştir. Buna ilave olarak çiçeğin karakteristiğini, sürgün toplamını, kök ağırlığındaki değişimini ve çiçeklenmeye erişme kapasitesinin değişkenliği ile kimyasal herbisitlere olan hassasiyetin birbiriyle bağlantılı olduğunu bulmuştur (Vogelgsang 1998).

C. arvensis'in istilasını sonucu kışlık buğday ürünleri üçte bir oranında ve yazlık buğday ürünleri dörtte üç oranında azalmıştır (Phillips *et al.* 1976). Benzer şekilde Wies and Phillips (1976), *C. arvensis*'in güçlü rekabeti sonucu yazlık buğday ürünlerinde şaşırtıcı bir şekilde yok olduğunu gözlemlemiştir. Ontario'da kontrol edilemeyen *C. arvensis* populasyonlarının tahıl ürünlerinde hasılatı %70'den %25'e düşürdüğünü bildirilmiştir (O'Toolle and Horn 1989).

Kanada'da yerli bir yaprak patojeni olan *Phomopsis C. arvensis*'un *C. arvensis* bitkilerine bulaştığı ilk olarak 1988'de bulunmuştur (Ormeno-Nunez 1988). O zamandan beri konak özgüllüğü, aseksüel sporların üretimi, depolama ve yaprak uygulamalarının etkinliği ile ilgili çalışmalar yürütülmektedir. Voyelsang *et al.* (1999), yaptıkları çalışmada Kuzey Amerika ve Avrupa'da 11 farklı bölgede *P. C. arvensis* konidyumlarının aşılandığı *C. arvensis* bitkisinin filizlerini toplamış ve bütün bitkilerin benzer hastalık reaksiyonları gösterdiğini gözlemlemiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda Kanada ve İspanya orijinli bitkilerde Montana'dakilere oranla daha önemli büyüklükte hastalık geliştiği belirlenmiştir. Daha sonra Yunanistan ve Montana orijinli, toprak yüzeyine tanecikli yapıda *P. C. arvensis* uygulanmış kök stoklarından bitkiler geliştirilmiştir. Her iki gruptaki gelişen filizlerde çeşitli hastalıklar gözlenmiş, toprak

üstündeki biyokütlenin Yunanistan grubunda %100'den %83'e, Montana grubunda ise %86'dan %65'e düştüğünü gözlemlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda *C. arvensis*'in kontrolü için *P. C. arvensis*'un kullanılabileceğini önermişlerdir.

C. arvensis'in kontrolü için çeşitli fungal patojenlerin herbisit olma potansiyelleri araştırılmıştır. Giannopolitis and Chrysayi (1989), septoia ve phoma cinslerinden konak özgülüğü olan ve yeterli patojenite göstermiş üç patojen izole etmiştir. Bir küf olan, *Erysiph convolvuli*'nin *C. arvensis*'in yapraklarına zarar verdiği belirlenmiştir. Ancak patojenin tek başınamı yoksa kuru hava ve sıcaklık gibi çevresel stres faktörleriyle oluşturduğu kombinasyon sonucumu bu yabancı ota zarar verdiği tam olarak açıklanamamıştır (Rosenthal and Buckingham 1982). Yine *Puccinia convolvuli*, *C. arvensis* için biyokontrol ajanı olarak önerilmiştir (Hasan 1973).

Ekstresi yutulduğunda insan yumurtalık kanserini hafifletme etkisinin olduğu söylentilerinden dolayı *C. arvensis*'in antianjiogenik ve immunojenik etkileri test edilmiştir. Bitki ekstraktında ekstraksiyon aşamasında yok olan ve hemen hemen fark edilmeyecek düzeyde alkaloidlere rastlanmıştır. Bu özel ekstrakt proteoglikan molekülleri (PGM) içerir ve Amerika'da vaskustatin adı altında bulunur. Nicholas Calvino (2002), fare akciğer kanseri ve insan kan kanseri üzerine yaptığı bir çalışmada *C. arvensis* bitki ekstraktının immün sistemi uyarıcı etkilerinin olması ve anjiogenite engelleyebilmesi bakımından antikanser ajanı olarak büyük bir umut olduğunu belirtmiştir. Fakat bitki ekstraktının antianjiogenetik mekanizması üzerine olan etkisi tam olarak anlaşılamamıştır.

Avustralya'da çok yıllık bir bitki olan *C. arvensis*'in m²'de 140 adet sürgünün bulunmasının, buğday verimini %56 civarında düşürdüğü belirlenmiştir (Black *et al.* 1994). Jurado *et al.* (2004), İspanya'da 1999 ve 2001 yılında buğdayda yaptıkları bir çalışmada m²'de 14 adet bulunan *C. arvensis* %33-64 oranlarında; 2000 ve 2002 yılında ayçiçeğinde ise *C. arvensis*'in 14 adet/m² bulunduğu durumda %17-19 arasında zarar meydana getirdiği belirtilmiştir.

Bunlara ilaveten *C.arvensis*'inde dahil olduğu istilacı veya işgalci olarak adlandırılan bu türlerin bir kısmı, yeni geldikleri bölgelerde hızla çoğalarak doğal bitki birliklerinin yapı ve kompozisyonlarını ekosistemlerdeki süreçleri önemli ölçüde etkilemektedir. Hatta bu türler mevcut yerli popülasyonların yok olmasına (Holmes and Cowling 1997; Mack *et al.* 2000; Levine *et al.* 2003), bitki tozlaştırıcı etkileşimlerinin ve düzeninin değişmesine sebep olmaktadır (Chittka and Schurkens 2001; Brown and Mitchell 2001).

Örneğin *Cirsium arvense* ve *Barbarea vulgaris* gibi işgalciler, yine toksik yabancı otlardan *Euphorbia* türleri ve *Senecio jacobaeana* gerek yurdumuzda gerekse Avrupa ve Güney Amerika'nın birçok yerinde ciddi ürün kaybına ürün kalitesinin düşmesine ve ciddi zehirlenmelere de yol açmaktadır (Zengin 1999; Lonsdale 1999; Pimentel *et al.* 2000).

Öte yandan dünyanın bir çok bölgesinde istilacı bitkilerin yangın rejiminde oluşturduğu değişiklikler rapor edilmiştir (D'Antonio and Vitousek 1992). Örneğin Hawaii adalarında *Penissetum setaceum*'un gelmesiyle birlikte yangınların sayısında önemli miktarda artışın olduğu, başka bir istilacı bitki olan *Myrica faya*'nın yerleşmesi sonucu besin döngüsünde değişimin meydana geldiği belirtilmiştir (Vitousek *et al.* 1987; Vitousek and Walker 1989). Wilgen *et al.* (2001) 180 kadar istilacı bitki türünün Afrika'da 10 milyon hektar alanı işgal ettiğini ve bunlarla mücadele etmek için milyonlarca dolar harcadığını belirtmişlerdir.

Hindistan ve İngiltere gibi ülkelerin istilacı bitkilerle ilgili ciddi problemler yaşadıkları, Amerika Birleşik Devletleri'nin istilacı bitkilerle mücadelesinde her yıl 137 milyar dolar harcadığı rapor edilmiştir (Pimental *et al.* 2000). Bu açıdan bakıldığında, biyolojik istila olayının küresel çeşitliliği tehdit eden en önemli faktörlerin başında geldiği görülmektedir (Wilcove *et al.* 1998; Sala *et al.* 2000).

İstilacı türlerin bu kadar yaygın olmasının sebebi yerli türlere oranla bir takım ekolojik ve evrimsel avantajlara sahip olmasından kaynaklanmaktadır. İstilacı türlerin populasyon büyüklüklerini çok hızlı artırmaları, kısa hayat döngüsüne sahip olmaları ve çok fazla miktarda tohum bırakmaları gibi özellikleri sahip oldukları avantajlar arasında yer alır (Zangerl and Bazzaz 1992; Maron and Vila 2001; Keane and Crawley 2002; Mitchell and Power 2003). Bunun dışında bu türlerin ekolojik toleranslarının geniş olduğu ve herbivorlarla olan ilişkilerinde bazı direnç mekanizmalarına sahip oldukları belirlenmiştir (Baker 1965, 1974; Zangerl and Bazzaz 1992; Strauss and Agrawal 1999; Rautio *et al.* 2002). Bu direnç mekanizmaları arasında, morfolojik yapılarında tüyler ve dikenlerin bulunması, bitki dokularındaki tadı değiştiren antiseptik ve antibakteriyal özellik gösteren çeşitli sekonder metabolitler ve ekstra floral salgılar gösterilebilir (Marquis 1992; Hartley and Jones 1996).

Bunun dışında bilim insanları istila olaylarının başarısını açıklamak için Rapid Evolutionary Change (Hızlı Evrimsel Değişim) adı verilen bir izahla açıklamaya çalışmışlardır. Bu açıklamaya göre istilacı türlerin yayılma sebepleri olarak;

1. Döllenme sistemi ve genetik sürüklenme ile bu türler evrimleşebildiği ileri sürülmüştür (Brown and Marshall 1981).

2. İstilacı bitkilerdeki tür içi ve türler arası hibridizasyon yeni genotipler oluşturabildiği kabul edilmiştir. Poliploid hibritlerin genellikle istilacı olduğuna dair bazı deliller bulunmaktadır (Brown and Marshall 1981). Örnek olarak Güneydoğu İngiltere'deki *Spartina anglica* dan bahsedilebilir (Thompson 1991).

3. İstila olayında seleksiyon rejiminin hızlı değişime yol açarak istilacı tür için adaptif evrimsel değişime neden olması gösterilmiştir. (Baker 1974; Rice and Mack 1991; Weber and Schmid 1998; Neuffer and Hurka 1999; Money and Cleland 2001). Bu evrimsel değişimi takiben, istilacı bitkilerin çoğu bir biçme döneminden sonra istilacı özelliklerini kazanmaktadırlar (Williamson 1996). Seleksiyon rejimindeki bu değişim

ve genetik darboğazın kombinasyonundan dolayı, hızlı evrimsel değişimi açıklamak için istilacı türler en iyi model sistemlerden birini oluşturmaktadırlar (Thompson 1998; Lee 2002).

Bitkilerdeki istila olayının kapsamını ve özelliklerini açıklamaya çalışan ve en çok bilinen hipotez Blossey and Nötzold (1995) tarafından (Evolution of Increased Competitive Ability (EICA) ileri sürülmüştür. Bu hipoteze göre, istilacı yeni bölgelere yayıldığında zaman içerisinde seleksiyon daha güçlü olan işgalci türlerden yana işler. Her ne kadar EICA hipotezini destekleyen deneysel veriler şüpheli ise de EICA hipotezi istilacı bitkiler hakkındaki son araştırmaların birçoğunu teşvik etmiştir. İstilacılar yeni ortama cevap olarak hızlı bir şekilde evrim geçirdikleri gibi istila edilenler de istilacılara cevap olarak bunu yaparlar. İstilacı türler, özellikle hâkim duruma geçerlerse, doğrudan veya dolaylı yeni seleksiyon baskısı oluştururlar ve bu sebeple yerli türlerde niş değişimine yol açarlar (Vitousek *et al.* 1996; Money and Cleland 2001; Sakai *et al.* 2001; Lee 2002). Ayrıca istilacı bitkiler, sıklıkla beslenme seviyelerindeki karmaşık etkilerinden dolayı, tür etkileşimlerinde de hızlı evrimleşmelere sebep olurlar (Thompson 1991; Richardson *et al.* 2000).

EICA hipotezi şüphesiz istilacı bitkilerin evrimi üzerine yapılan araştırmaların çoğunu etkilemesine rağmen istilacı bitkilerin evrimsel değişimi hakkında bir çok farklı hipotezde ortaya konmuştur (Baker 1974; Brown and Marshall 1981; Callaway and Ridenour 2004). İstilacı popülasyonlarda görülen genetik farklılık, yeni seleksiyon koşullarında olan bazı ekolojik özellikler için bazı genetik varyasyonlar olduğunun göstergesidir. Adaptif evrimsel değişimi açıklayan bu hipotezi test etmenin en doğru yolu, sıradan bir çevrede yerli ve istilacı popülasyonlardaki döllerini karşılaştırmaktır. Yerli ve istilacı popülasyonlar aynı şartlarda ekolojik karakterler bakımından önemli bir biçimde farklılaşırsa, bu genetik farklılaşmanın varlığını göstermektedir (Bossdorf *et al.* 2005).

İstilacı türlerin kontrol altına alınabilmesi için genetik farklılaşma değerinin ve evrimsel değişimi bilinmesi gerekmektedir. Kısacası evrimsel değişimi, kısacası genetik

varyasyonu tespit etmenin yolu ise DNA markırları ve alloenzimler ile araştırma yapmaktır (Bossdorf *et al.* 2005). Moleküler markırlar istilacıların genetik çeşitliliğinin miktarı ve istilanın seyri hakkında bilgi vermektedirler. İstilacı bitki popülasyonlarında yapılan genetik çalışmaların çoğu, polimorfik moleküler markırlar (RAPD, RFLP, AFLP, SSR, ISSR gibi) tarafından karakterize edilen çeşitlilik üzerine yoğunlaşmıştır (Ward 2006).

Bunun yanı sıra bitki türleri arasındaki allelopatik etkileşim bazı istilacı ve yerli olmayan bitkilerin neden baskın hale geldiklerini, yerli türlere karşı rekabette nasıl üstünlük sağladıklarını ve hatta tek türden oluşan bitki örtüsü oluşturmalarını açıklamak için sıkça kullanılmıştır (Wardle *et al.* 1993; Dolling *et al.* 1994; Ridenour and Callaway 2001). Ayrıca allelopatik etkileşimin türlere özgü olduğu bilinmektedir. Ancak bitki işgallerinde allelopatik etkileşimin önemli bir rol oynadığına dair ampirik deliller hala şüphelidir. Allelokimyasalları test etmek için kullanılan kontrollü biyo-ölçümler, allelopatik etkiyi göstermekte çoğunlukla başarısız olmuşlardır ve bunlar genellikle yapay olmalarından dolayı eleştirilmişlerdir (Choesin and Boerner 1991; Williamson 1996; Dietz *et al.* 1996; Conway *et al.* 2002). Wardle *et al.* (1998) allelokimyasalların ekosistem özelliklerinde oluşan değişimler nedeniyle de dolaylı olarak bitki rekabetini değiştirebildiğini ifade etmişlerdir. Mesela, istilacı *Carduus nutans* bitkisinin çürümekte olan yapraklarının varlığı, nodülasyondaki bir azalma sebebiyle, baklagil bitkilerinde azot tespitini azalttığını bildirmişlerdir (Wardle *et al.* 1993).

İstilacı türler istila ettikleri birlikle ortak bir evrimsel geçmişi paylaşmadıkları için, bu tür sistemlerde daha büyük allelopatik etkiler görülebilir. Bir istilacı türün yerli ve istila edilmiş alandaki allelopatik etkilerinin karşılaştırıldığı çalışma fazla değildir. Callaway and Aschehoug (2000) istilacı *Centaurea diffusa* ile birlikte yaşadığı çimenler arasındaki rekabetin sonuçlarının, aktif karbonun bu türler arasındaki allelopatik etkileşimi azaltıp azaltmadığına bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Son zamanlarda türün istilacı olmasını sağlayan faktörlerinden salınan allelokimyasalların etkisinin tespit edilmesinde genomik DNA’da meydana gelen çeşitli DNA hasarları ve mutasyonlar araştırılmaktadır. Bunun yanı sıra fide kök uzunlukları, protein içerikleri gibi fizyolojik ve biyokimyasal verilerde bu konuda bilgi vermektedir. Moleküler ekotoksikoloji kapsamında gerçekleştirilen son yıllardaki bazı çalışmalarda, laboratuvar ortamında oluşturulan bitki veya hayvan düzeneklerinde genotoksinlerce uyarılmış DNA hasarları RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) tekniği ile belirlenmektedir. 10 bazlık RAPD primerindeki tek nükleotid değişikliği verilen kalıp DNA’nın parmakizinde önemli farklılıklara neden olmaktadır (Atienzar and Jha 2006). Teorik olarak, genomik DNA’daki tek baz değişim mutasyonları da RAPD ile tespit edebilmektedir (Welsh and Mc Clelland 1990).

DNA hasarı ve mutasyonal olaylar RAPD profillerinde yeni DNA bantlarının oluşmasına, kontrol grubu RAPD profillerinde mevcut olan DNA bantların kaybolmasına ve RAPD profillerinin görünüşünde değişikliklere (DNA yoğunluğunun artması veya azalması) neden olur (Atienzar *et al* 1999). RAPD tekniği kullanılarak genotoksik etkinin teşhisi, kontrol ve uygulama örneklerinden elde edilen RAPD profillerin karşılaştırılmasıyla yapılır (Atienzar and Jha 2006). Bunlara ilaveten, klasik fizyolojik ve biyokimyasal verilerde kontrol grubuna göre meydana gelen değişim oranları ile RAPD profillerinde meydana gelen değişimler karşılaştırılarak toksik maddelerin organizma üzerindeki etkileri kapsamlı olarak değerlendirilmektedir (Atienzar 1999).

Toksik maddelerin etkisinde kontrol grubuna göre RAPD profillerindeki değişiklikler her bir primer için genomik kalıp dayanıklılık yüzdesi (Genomic Template Stability; GTS %) olarak hesaplanır (Atienzar 1999). GTS yüzdeleri ile fide kök uzunlukları, protein içerikleri, pigment içerikleri gibi klasik fizyolojik ve biyokimyasal verilerin kontrol gruplarına göre değişim yüzdeleri karşılaştırılarak toksik maddelerin ve allelokimyasalların organizma üzerindeki etkileri yaygın olarak mukayese edilmektedir (Atienzar 1999; Liu 2005, 2007).

Bitkilerin allelopatisinin temelinde yapılarında bulunan fenolik bileşiklerin rolü vardır. Bu bileşikler ise sitotoksik, mutajenik veya antimutajenik etkiye sahiptir (Eliana *et al.* 2002, Murugan *et al.* 2007) ve bu özelliklerinden dolayı da bitki ekstraktları ile ilgili sitogenetik çalışmalar yapılmıştır. Özmen ve Sümer (2004), *Melia azadirachta* ekstraktlarının, mutfak soğanı kök ucu hücreleri üzerinde mitotik indeksi önemli bir şekilde düşürücü etkide bulunduğunu, kromozom ve mitotik anormalliklere neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bitkiler abiyotik ve biyotik strese maruz kaldıkları zaman fizyolojik olarak bazı değişikliklerde meydana gelmektedir. Mesela çevresel strese maruz kaldığı zaman stomaların kapanmasına ve stresle ilgili bir çok genin ifadesinin uyarılmasına neden olur (Thompson *et al.* 2000). Strese yanıt olarak özellikle köklerde ABA seviyesi artar (Shashidhar *et al.* 1996). Son yıllarda, antioksidan savunmanın uyarılmasında ABA'nın rolü olduğuna ilişkin çalışmalar yapılmıştır (Jiang and Zhang 2003; Keles ve Ünyayar 2004). ABA O_2 ve H_2O_2 gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasına neden olur (Jiang and Zhang 2002). Ayrıca ABA enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminin kapasitesini artırır ve antioksidan genlerin ifadesini uyarır (Zhang and Jiang 2002). Buna ilaveten stres şartlarında salisilik asitin ABA'ya paralel bir rolü olduğu, büyüme hormonlarından olan oksin ve giberallinin ise stres altında azaldığı ve gen işleyişinde değişikliklere sebep olduğu bilinmektedir.

Bu tez kapsamında tarlalarda yaygın olarak gelişen istilacı türlerinden *C. arvensis* L.'in istilacı olmasında yardımcı olan faktörleri belirlemek amacıyla populasyon içi ve populasyonlar arasındaki genetik ve biyokimyasal çeşitliliğinin belirlenerek genetik farklılaşma değerinin hesaplanması ve türün istilacı olmasında yardımcı olan allelopatisinin biyoteknolojik yöntemlerle tespit edilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlara dayanarak, benzer istilacı türlerin biyolojik üretkenliğini anlamak için uygun model ortaya koymak, istilacı türlerin kontrolü ve yönetimine yardımcı olacak stratejiler geliştirmek hedeflenmektedir.

2. KURAMSAL TEMELLER

Bilim insanları populasyon genetiğinin metot ve prensiplerini kullanarak canlı topluluklarının genetik yapısı, genlerin populasyonlardaki dağılımı, belirli gen ve genotip frekanslarının populasyonlarda nasıl ve neden korunduğu, bazı genotip frekanslarının neden zamanla sona erdiğini ya da kaybolduğunu, populasyonlar ve jenerasyonlar arası gen akışı, yaygın hastalıklarda genetik faktörlerin etkisinin belirlenmesi ile ilgili birçok araştırma yapmaktadırlar. Bu bilgiler evrimsel sürecin anlaşılmasında oldukça önemlidir. Populasyon genetiği ayrıca genetik polimorfizm nesillerdeki dağılımını belirleyen mutasyon ve reproduksiyon gibi genetik faktörlerle, seleksiyon ve migrasyon gibi çevresel ve sosyal faktörlerle de ilgilenir.

2.1. Bitki Populasyonlarının Genetik Yapısını Etkileyen Faktörler

Polimorfizm, DNA'daki yer değiştirmeler, ters dönmeler, parça eksilmeleri ve parça yerleşmeleri ile meydana gelir ve genleri, onların düzenlenmelerini, biyokimyayı, gelişmeyi, morfolojiyi, davranışı etkileyeceğinden evrim sürecinde fenotipik varyasyonun da kaynağıdır (Britten 1996). DNA sekansı, hücre başına düşen DNA miktarı, kromozom sayısı ve yapısındaki varyasyonu ifade eder. Seleksiyon, mutasyon, migrasyon, genetik sürüklenme ve/veya rekombinasyonun bir sonucudur.

Seleksiyon, populasyonu oluşturan bireyler arasında görülen fenotipik farklılıklardan bazılarının kalıtsal olabileceği ve yaşamak için verilen savaşlarda bu özelliklere sahip bireylerin diğerlerine göre hayatta kalmaları ve daha hızlı üremeleri olarak açıklanır. Populasyonlarda süper genotip frekanslarının yükselmesine neden olur.

Mutasyon, varyasyonun en büyük kaynağıdır, fakat tür ve populasyon evrimini tek başına yönlendiremez. En basit şekliyle gen sekansındaki tek nükleotid değişiklikleridir. Böyle bir mutasyon, bir allelin populasyonda var olan diğer bir allele (dominant bir

allelin resesif bir allele dönüşmesi gibi) veya tamamen yeni bir allele dönüşmesine neden olur. Sonra bu allel frekansları nesilden nesile aktararak yayılır.

Migrasyon (göç), bireylerin veya gen akışı denilen herhangi bir genin bir populasyondan diğerine hareketi olup populasyonlarda önemli frekans değişikliklerine sebep olur.

Genetik sürüklenme (drift), küçük populasyonların allel frekanslarında meydana gelen dalgalanmalardır, populasyonlardaki farklılığı azaltır. Çünkü populasyonlardaki nadir allellerin kaybına neden olur.

Gen akışı, populasyonlar arası genetik materyal değiş tokuşunu; genetik erozyon, genetik farklılığın populasyon içi veya populasyonlar arasındaki kaybı ya da azalması olarak tanımlanır ve bunlar, genetik mesafeye (populasyonlar arasındaki benzerlik/benzemezlik ilişkisinin derecesi) katkıda bulunan diğer faktörlerdendir.

Rekombinasyon, yeni gen düzenlenmeleri olarak tanımlanır, yeni bir farklılık yaratmaz fakat varolan farklılığın yeni kombinasyonlarını üretir (de Vicente and Fulton 2004).

Kurucu etkisi, geldikleri orijinal populasyonun yalnızca bir altkümesini temsil eden birkaç bireyden yeni bir populasyon geliştiği zaman görülür. Bu genellikle tek veya sınırlı sayıda girişe dayalı, yeni bir çevrenin kolonileşmesinde görülür. Kurucu etkisinin görüldüğü populasyon orijinal kaynak populasyonla kıyaslandığında toplam genetik çeşitlilikte bir azalma görülebilir veya kurucu bireylerin özelliklerini taşıyan fakat daha büyük olan kaynak populasyondaki genotip frekanslarını temsil etme zorunluluğu olmayan allel kombinasyonları ortaya çıkabilir.

Sınırlı sayıdaki doğal kaynaklarımızdaki genetik çeşitliliğin korunması ve gerektiğinde verimli bir şekilde kullanımları için bünyelerindeki genetik varyasyonun belirlenmesi gerekir. Bu varyasyonları tespit etme amacıyla sitolojik veriler, izoenzimler, tohum

depo proteinleri gibi biyokimyasal işaretleyiciler ve RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeats), ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) gibi moleküler işaretleyiciler başarıyla kullanılmaktadır (Stuber 1992).

Genetik varyasyon, fenotipik ve genotipik olmak üzere iki şekilde değerlendirilir. Fenotipik değerlendirmeler morfolojik karakterler (bireyin şekli ve görünüşü) üzerinde yoğunlaşır. Bazıları genetiksel düşünülebilir, eğer çevreden bağımsız kalıtılabilen bir özellikse, bu DNA'nın belli bir sekansı ile ilgilidir. Fakat belli gen etkilerini fenotipik farklılıklardan bulabilmek zordur. Genotipik değerlendirmeler ise DNA seviyesinde olup bireyler arasındaki mitokondrial veya nükleer DNA polimorfizmini belirleyebilmektedir.

Bitkilerin genetik potansiyellerinin amaca uygun biçimde yönlendirilmesi açısından moleküler markırlardan genel olarak kalitatif ve kantitatif özelliklerin ıslahında, seleksiyonda, genetik ve linkage haritalamalarında, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde yararlanılmaktadır (Bilgin ve Korkut 2005).

2.2. Genetik markır

Bir populasyon içinde birden fazla gen veya fenotipik özellik varsa, o populasyonun polimorfik olduğu söylenir ve polimorfizm genetik markırlarla belirlenir. Bireyin fenotipik ve/veya genotipik özelliklerini saptayan genetik işaretler genetik markır olarak tanımlanır ve hem protein hem de DNA sekansındaki varyasyonu açığa çıkaran ölçülebilir, belirlenebilir bir karakterdir.

2.2.1. Markır seçiminde arzulanan özellikler

Her markır sistemi avantaj ve dezavantajlara sahiptir. Hiçbir markır sistemi tek başına arzu edilen bütün özellikleri taşımamaktadır. Bu nedenle markır seçiminde öncelikler iyi belirlenmeli ve seçilen markır sistemi araştırılan biyolojik sorulara iyi bir cevap olabilmelidir.

İdeal bir markır;

Polimorfik olmalı: Bireyler arasında oldukça polimorfik olmalı ve en az %1 sıklıkla görülmeli.

Tekrarlanabilir olmalı: Aynı veya farklı laboratuvar koşullarında tekrarlanabilir, nesilden nesile aktarılabilir ve kolaylıkla belirlenebilir olmalı.

Kodominant olmalı: Heterozigotluğu homozigotluktan ayırabilmeli.

Genom boyunca düzenli dağılımı olmalı: Markırın genom boyunca dağılımının sık oluşu polimorfizm çalışmaları için idealdir.

Çevresel etkilere maruz kalmamalı: Bireyin gelişim basamaklarından etkilenmemeli

Nötr olmalı: Mevcut diğer allellerden bağımsız ve etkilenmez olmalı.

Ekonomik olmalı: Kolay, hızlı, analiz maliyeti ucuz olmalı; mümkünse çok amaçlı donanım gerektiren markır sistemleri tercih edilmeli (de Vicente and Fulton 2004).

2.2.2. Genetik markır tipleri

Genetik markerler, fenotipik, biyokimyasal ve moleküler markerler olarak 3'e ayrılırlar.

2.2.2.a. Fenotipik (morfolojik) markırlar

Bitki popülasyonu içinde, bir bitki ya da bir grubu diğerlerinden ayıran seçici özellik, o genotipi ayıran bir markır olarak değerlendirilir. Meyve kabuğu, kök ve yaprak yapıları, çiçek formülü ve çiçeklenme durumu, tohum yapısı, tek veya çok yıllık olması, iletim demetleri gibi morfolojik özellikler bu grup markırları oluşturur (Kaya 1999). Bu

özellikler ve geliştiği habitat özellikleri de dikkate alınarak, isimlendirilmiş bir bitki ile benzerlik ve farklılıkların karşılaştırılması (Klasik taksonomi) yapılır. Bu tip markırlar, genetik olarak uzak akraba olarak kabul edilen bitki toplulukları arasında etkili olarak kullanılabilmesine karşın, yakın akraba olan bitki toplulukları için yeterli ve etkili bir markır değildir (Gülşen ve Mutlu 2005). Fenotipin en direk değerlendirme şekli olması, kolay elde edilebilir olmaları, genellikle basit donanım gerektirmeleri gibi sebepler bu markırlar için avantaj olup tür seviyesinde uzmanlık ve tecrübe gerektirmesi, çevresel etkilere maruz kalmaları ve çeşitli gelişim aşamaları geçirmeleri (Staub and Sequen 1996) sebebiyle fenotipe dayalı olarak oluşturulan taksonomiler hatalı sınıflandırmalara neden olabilir. Sayılarının sınırlı sayıda olmasına rağmen yine de tarımsal karakterlere bağlı morfolojik markırlar ıslah çalışmalarında kullanım alanı bulmuştur (Gülşen ve Mutlu 2005).

2.2.2.b. Biyokimyasal markırlar

Morfolojik karakterlerin sınırlı sayıda olması nedeniyle kimyasal analiz, sitoloji ve moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler sonucunda yeni sınıflandırma teknikleri geliştirilmiştir. Kemotaksonomi olarak adlandırılan bu sınıflandırma tekniğinde markır olarak tohum depo proteinleri, yapraklarda bulunan kimyasallar, sekonder metabolitler ve izoenzimler kullanılır. Ancak en yaygın olarak kullanılanlar tohum depo proteinleri ve izoenzimler olup elektroforez tekniğiyle belirlenebilmektedirler. Orjini 1930'lara dayanan bu teknik sistematik ve populasyon genetiği ile ilgilenen bilim adamları tarafından kalıtsal varyasyon çalışmaları için kullanılmakta olup, bitki koleksiyonlarının genetik yapısını tanımlamadaki kolaylığı ve geçerliliği nedeniyle oldukça geniş kullanım alanı bulmaktadır. Yöntemde protein ve enzimlerin moleküler ağırlıkları ve yüklerine göre katottan anoda göç edebilme ve kendilerine spesifik histokimyasal boyaarla belirlenebilme avantajlarından yararlanır. Temelde moleköl ağırlığı, moleköl konformasyonu, saflığı vb. tanımlama, ayrıca saflaştırma amacıyla kullanılan bu yöntem doğal veya rekombinant bir proteinin sentezlenip sentezlenmediği, sentezleniyorsa işlevsel olup olmadığı hakkında da bilgi verir.

Tür içi ve türler arası genetik çeşitliliğin analizinde, genetik kaynakların korunması ve ıslah çalışmalarında, genom ilişkilerinin belirlenmesinde, mahsüllerin geliştirilmesinde genetik markır olarak kullanılan tohum depo proteinlerindeki polimorfizm, DNA düzeyindeki baz değişiklikleri, kromozomlardan bir bölümünün kaybı veya yer değiştirmesinden kaynaklanır. Elektroforezle elde edilen tohum depo protein profilleri pek çok türün taksonomik ve evrimsel problemlerini çözmekte kullanılmaktadır. Çünkü elde edilen bant desenleri her tür için özel ve doğrudan doğruya genotipe bağlıdır. Tohum depo proteinleri elektroforezinin geleneksel morfolojik yaklaşımlara göre avantajları, oldukça polimorfik ve tekrarlanabilir olmaları, gelişme mevsimlerinden bağımsız olması, hızlı analiz edilebilmesi, saklanmasıdaki kolaylıklar ve ihtiyaç duyulan örneğin az olmasıdır (Binnetoğlu 2008).

Bazı türlerdeki düşük varyasyon, farklılığın doğru bir şekilde anlaşılması için yeterli olabilen izoenzimler tarafından açıklanır. İzoenzimler bir veya daha fazla gen lokusu tarafından kodlanan, tek bir enzimin alternatif formlarıdır ve elektrik ortamında farklı hız ve yönlerde hareket ederler. Kaba enzim ekstraktları jel ortamında ayrıldıktan sonra biyokimyasal olarak tespit edilir. Bir tek enzim sisteminde tespit edilen bantların sayısı; **1)** enzimi oluşturan alt ünitelerin (subunit) sayısına, **2)** bitkinin çalışılan enzim sistemi için heterozigot veya homozigot olmasına, **3)** çalışılan enzimi kodlayan lokus sayısına bağlıdır. Birçok morfolojik karakterin aksine izoenzimlerin fenotipik ekspresyonu basit genetik kontrol altındadır ve kodominant kalıtılır. Bu nedenle heterozigotlar homozigotlardan belirgin bir şekilde ayrılabilir. Pleiotrofik, epistatik ve çevresel şartlardan etkilenmeleri minimal düzeydedir (Binnetoğlu 2008).

İzoenzimler, elektroforetik olarak analiz edilebilmeleri, az miktarda reaktif gerektirmesi, kolay, hızlı, nispeten ekonomik olması nedeniyle sistematik ve genom haritalama çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Fakat türler arası veya nispeten uzak bitkiler arasındaki varyasyonları çalışmada oldukça yararlı olmasına rağmen, yakın akrabalar arasındaki ilişkileri tespit için uygun değildir. Yine, bu tip markırların en önemli dezavantajı, çalışılabilecek lokus sayısının azlığıdır. Bir diğer dezavantajı ise, enzimlerdeki translasyon sonrası görülen yapısal değişikliklerdir. Bu

olayda, o enzimi kodlayan DNA'lar aynı olmasına rağmen, bir bilinmeyen lokus o enzimin yapısını değiştirecek ve bu yüzden de jelin analizinde yanlış yorumlamalara neden olabilecektir. Ayrıca test edilen izoenzimlerin bitkilerde bolca ve sürekli biçimde sentezlenmesi ve elektroforetik olarak ayrımlarında tekrarlanabilir sonuçlar almak için çalışma sırasında tüm detayları kaydetmek, ayrımı etkileyebilecek tüm şartları aynı tutmak ve böylece deneyleri çok iyi optimize etmek gerekmektedir (Binnetoğlu 2008).

Yine, yüksek bitkilerdeki fatty (yağ) asidi içeriği ve kompozisyonu kemotaksonomik markır vazifesi görür. Tohumların uzun zincirli fatty asit içeriğinin fazla oluşu, endüstriyel amaçlar için kullanımlarına dikkat çekmiştir. Bünyelerindeki fatty asit içeriği bitkiler arasındaki taksonomik ve filogenetik ilişkilerin tespitinde ilgilenilen bitki için karakteristik bilgi sunmaktadır. Yağ asitleri hidrokarbon yapısında olan makromoleküllerdir. Hücre sitoplazması ve diğer hücresel organellerin çift tabakalı membranlarında fosfolipit, glikolipit veya lipopolisakkarit formunda yapı molekülü olarak bulunurlar. Yapılarındaki farklılıklar dikkate alındığında yağ asitleri tek zincirli yağ asitleri ve dallanmış zincir oluşturan yağ asitleri olarak 2 ana grup altında incelenirler. Biyolojik sistemlerde tek zincirli yağ asitleri oldukça yaygındır. Yağ asitlerinin içerdikleri karbon atomu sayısı, karbon atomları arasındaki çift bağ sayısı ve yeri, tek zincirli ya da dallanmış zincir oluşturmaları, karbonların hidrojen atomları tarafından doyurulmuş olup olmamaları, ökaryotik hücrelerde genellikle çift karbon sayısı (C14-C24) , prokaryotik hücrelerde tek ve çift sayılı karbon (C9-C20) bulunuşu, yağ asitlerinin taksonomik markır olarak kullanılma sebepleridir (Binnetoğlu 2008).

Genetik olarak aynı olan organizmaların hücrelerindeki yağ asitlerinin sayısı, çeşitliliği ve % olarak miktarları (yağ asitleri profilleri) aynıdır ve çevre şartları aynı olduğu sürece değişmez. Yani yağ asitleri profillerindeki farklılıklar organizmalar arasındaki kimyasal ve genetik akrabalığın bir göstergesidir (Binnetoğlu 2008).

Bitkilerde kimyasal içeriklerine göre sınıflandırma, 1950'li yıllardan itibaren çalışılsa da istenilen başarı elde edilememiştir. Bunun nedeni biyokimyasal markırların sınırlı sayıda oluşu ve çevresel şartlardan etkilenmeleri, bitkilerdeki makromoleküllerin türler

için yeterince ayırt edici olmaması ve daha küçük moleküller olan sekonder metabolitlerin ise çevresel etkenlere göre değişiklik gösterebilmesidir (Binnetoğlu 2008).

2.2.2.c. Moleküler markırlar

Genom üzerinde belli bir bölgeyi tanılamak için kullanılan genetik işaretlerdir, DNA'nın geniş bir kısmının veya tek bir spesifik nükleotidin simgesi olabilirler. Son yıllarda bitki araştırmacıları tarafından çok yaygın olarak kullanılan moleküler markırlar, kaynağını kendilerinin üretildiği bitkilerin hücrelerinde bulunan DNA'lardan aldığı için, bitki populasyonundaki çeşitlilik veya o populasyon içindeki bitki genotipleri arasındaki ilişkilerin tespitinde %100'e yakın güvenilirlikle değerlendirilir (Gülşen ve Mutlu 2005). Bu markırlar yardımıyla araştırmacılar morfolojik olarak çok benzerlik gösteren tür, çeşit veya tipler ve ebeveynleri hakkında kesin bilgiler elde edebilmektedirler (Karaca vd 2002). Moleküler markırlardan genel olarak seleksiyonda, genetik ve linkage haritalamalarında, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası genetik uzaklığın belirlenmesinde yararlanılmaktadır (Bilgin ve Korkut 2005).

Moleküler markırlar çeşitli avantajlara sahiptir; **1)** çevre faktörlerinden etkilenmezler, **2)** çekirdek ve farklı kalıtım şekline sahip kloroplast ve mitokondri gibi organel genomlar ayrı ayrı çalışılabilir, **3)** genetik değişiklikleri daha fazla yansıttıkları için daha az pleiotrofiktir (bir genin birden fazla karakteri kontrol etmesi), **4)** her bir ebeveyn den gelen farklı karakterler tespit edilebildiği için bitkilerin genetik orjini tespit edilebilir, **5)** sonsuz sayıda moleküler markır elde edilebilir. DNA markırlarında amaç, bireyler (çeşit, hat, tür vb.) arasındaki DNA seviyesinde farklılığın ortaya çıkarılmasıdır. Eğer bu farklılık genomda tek bir bölgeyi gösteriyorsa bu bir allel olarak adlandırılır. DNA seviyesinde bunu yapmanın başlıca avantajı, herhangi bir DNA zincirinin iki birey arasındaki allelik farklılığı gösterebilmesidir. Bunun için o DNA dizininin herhangi bir proteini kodlayıp kodlamadığını bilmeye gerek yoktur (Gülşen ve Mutlu 2005).

Geçtiğimiz 10 yılda bitkilerdeki genetik çeşitliliğin coğrafi örnekleri ve populasyonların genetik çeşitliliği üzerine yapılan çalışmalarda nötral moleküler markırların kullanımı egemen olmuştur. Günümüzde mevcut markırların sayısının fazla olması, bir markırdan ziyade çok sayıda markırın kullanılabilmesi, araştırmacılar için oldukça kolaylık sağlamaktadır. Bu muhtemel ranj, metapopulasyonun genetik yapısını daha iyi ölçmek için coğrafik varyasyonun temelini geçmişten günümüze kadar genişletmektedir. Populasyon genetiği çalışmaları için popüler moleküler markır teknikleri arasında izoenzimler ve DNA temelli teknikler restriction fragment length polymorphism/Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), random amplified polymorphic DNA/Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism/Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi (AFLP) ve microsatellitler veya simple sequence repeat (SSR)/Basit Dizi Tekrarları gösterilebilir. Bu markırlardan izoenzimler, RFLP ve SSR kodominant olup tekli lokus markırları olarak gösterilirler. Buna karşın RAPD ve AFLP dominant markırlardır ve multilokusturlar.

Hibridizasyona Dayalı Moleküler Markırlar

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism/Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi)

RFLP analizinde, organizmaya ait çeşitli dokulardan izole edilen genomik DNA'nın nükleik asit dizilişini tanıyan DNA kesim enzimlerince kesilmesine ve kesilen DNA parçaları çeşitli yöntemlerle işaretlenmiş prob DNA molekülleri yardımıyla görüntülenmesi esasına dayanır. İzole edilen DNA molekülünün kesimi 4 veya 6 nükleotidi tanıyan enzimlerce yapılmaktadır. Kesilen DNA parçaları bir jel (agaroz jel veya %6'lık poliakrilamid jel) içerisinde elektroforeze tabi tutulurlar. Kesilen parçalar elektroforez sonucunda jel içerisinde büyüklüklerine göre sıralanırlar. Bu sıralama sonrası DNA jel ortamından daha kullanışlı olan naylon filtrelelere tek iplikçik halinde Southern transfer metoduyla aktarılır. Filtrelelere DNA'yı jel üzerindeki dizilişiyile taşıyan ve çoğunlukla radyoaktif ³²P veya radyoaktif olmayan chemiluminescent sistemi

ile etiketlenmiş tek iplik halindeki DNA uygulanır. Kesilmiş ve jel elektroforez yapıldıktan sonra filtreye aktarılmış DNA'ların, işaretlenmiş olan bu DNA'lar ile hibridize olmaları sağlanır. Filtredeki fazlalıklar çeşitli tamponlar ile yıkama yapılarak uzaklaştırılır ve otoradyografi yapılarak oluşan polimorfizmler değerlendirilir (Yıldırım ve Kandemir 2001).

PCR Temeline Dayalı Moleküler Markırlar

PCR, genetik materyaller üzerinde seçilmiş bir veya birden fazla bölgenin in vitro koşullar altında oligonükleotid primer ve Taq polimeraz enzim kullanılarak bir otomatik termocycle sistem yardımıyla çoğaltılma metodudur (Bej *et al.* 1991). Özet olarak PCR çalışması için kullanılan genetik materyal kalıp (template) DNA olarak adlandırılır. Test edilecek organizmalardan saf olarak izole edilmiş kalıp DNA'dan az miktarda (2-50ng) alınır ve PCR için özel hazırlanan bir karışıma (master mix: steril deiyonize su, PCR tamponu, Taq polimeraz enzimi, MgCl₂, dNTPs ve primerler) ilave edilir. Hazırlanan bu karışım mikrosantrifüj tüpleri içerisinde otomatik DNA termocycler cihazına yerleştirilir ve kalıp DNA üzerindeki bazı spesifik bölgeler yaklaşık 30 PCR döngüsü sonucu en az milyon kez çoğaltılır. Kalıp DNA üzerindeki spesifik bir bölgenin termocycler cihazı yardımıyla tek bir defa sentezlenmesine bir PCR döngüsü denir. Herbir PCR döngüsü birbirini takip eden 3 farklı aşamadan oluşur; **1)** DNA zincirlerinin ayrıştırılması (DNA denaturation), **2)** Primerlerin bağlanması (DNA annealing), **3)** DNA sentezi (Primer extention). Elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde elektroforez ile yürütülerek birbirinden ayrıştırılır ve UV transuliminator ile görüntülenir. Spesifik PCR metodları ile test edilen organizmada kullanılan primer ile amplifikasyon olup olmadığı veya amplifikasyon bölgesinden elde edilen DNA bandının uzunluğu dikkate alınarak tanı yapılır. Hassas, ekonomik ve kısa süreli olup alternatif tekniklere ihtiyaç duymayan bir metottur.

RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA)

RAPD'in temeli genellikle 10bp uzunluğunda ve nükleotid dizilimi rastgele seçilmiş tek çeşit primerlerin kullanımına dayanır (Williams *et al.* 1990). Bu primerler tasarlanırken primerlerin GC/AT oranlarının %50 ya da daha fazla olmasına dikkat edilir (Gregor *et al.* 1994). Yaygın olarak diğer PCR uygulamalarının aksine iki değil bir primer kullanılır, ancak bu primer her iki yöndeki DNA üretimi için de kullanılır. Dolayısıyla kullanılan primerler genomun birden fazla bölgesine yapışır ve genel olarak yöntem şu aşamaları içermektedir; Primerleri içeren PCR reaksiyonlarıyla hedef bölgeler kopyalanır, spesifik DNA zincirleri agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezi ile büyüklüklerine göre ayrıldıktan sonra Et-Br veya gümüş nitrat ile tespit edilir. Prosedür olarak aynı aşamaları kullanan fakat primer uzunluğu, amplifikasyon şartları ve DNA bantlarının belirlenmesi için kullanılan işlemlerle birbirinden ayrılan (Kumar 1999) iki yöntem daha vardır ve bunlar DAF (DNA Amplification Fingerprinting) ve AP-PCR (Arbitrarily Primed PCR)'dir (Welsh and McClelland 1990; Owen and Uyeda 1991). DAF, genellikle 8-merlik, çok kısa primerler kullanır. Amplifikasyon ürünleri, üre içeren polyester-poliakrilamid jelde yürütülür, ardından polimorfik ve monomorfik bantların sayısını iki veya üçe katlayan gümüş boyama ile belirlenir. AP-PCR ise genellikle 18-24bp uzunluğunda primerler kullanır ve amplifikasyon ürünleri Et-Br ile ilavesinden sonra agaroz jelde belirlenir (Bassam *et al.* 1991; Caetano-Anolles and Gresshoff 1994; Bassam and Bentley 1995).

Teknik, çabuk sonuç vermesi, ucuz olması, daha az işgücü gerektirmesi, az miktarda ve düşük kaliteli DNA ile çalışılabilmesi gibi bir takım avantajlara sahiptir (Yıldırım ve Kandemir 2001; Karaca vd 2002; Temizkan ve Arda 2004). Ayrıca polimorfizm oranı diğer tekniklerle karşılaştırıldığında oldukça yüksektir (Whitkus 1994). Ancak RAPD markırlarının bazı dezavantajları vardır. Bunlardan biri, dominant özellikte markır vermesi, diğeri de RAPD markırlarının tekrarlanabilirliğinin, PCR ve DNA tespiti sırasında şartların tam olarak kontrol edilememesi nedeniyle düşük olmasıdır (dos Santos *et al.* 1994; Harris 1999). RAPD verilerinin tekrarlanabilirliği için amplifikasyon

reaksiyonlarının her bir basamağının dikkatli bir şekilde optimize edilmesi gerekir (Michelia and Bova 1997). Bu nedenle hassasiyet gerektiren durumlarda RAPD markırları daha güvenli olan SCAR markırlarına dönüştürülerek bu markırların güvenilirliği arttırılabilmektedir (Yu *et al.* 2000).

Moleküler sistematik, filogeni, populasyon genetiği ve genom haritalama çalışmalarında verimli bir şekilde kullanılmaktadır (Welsh and McClelland 1990; Williams 1990; Rafalski and Tingey 1993; Burr 1994; Chaparro *et al.* 1994; Parker *et al.* 1998; Skoula *et al.* 1998, Vazquez *et al.* 1999, Yıldırım ve Kandemir 2001, Temizkan ve Arda 2004).

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi)

Bitki populasyon genetiği çalışmalarında sonradan kullanılmaya başlanmış bir tekniktir. Tıpkı RAPD gibi rastgele primer kullanılması, sekans bilgisi gerektirmemesi ve dominant özellikte markır vermesi ile RFLP'den farklılık gösterir. Tıpkı RAPD gibi dominant markır verir. Ancak RAPD protokolünün aksine, tek bir AFLP reaksiyonu ile 100-200 lokus incelenebilir (Mueller and Wolfenbarger 1999). Polimorfizm tipik olarak mendel kalıtımı gösterir. Restriksiyon enzimleriyle kesilen DNA parçalarının adaptör DNA ile birleştirilmesinden sonra arka arkaya yapılan iki PCR reaksiyonu ve bu reaksiyonlarda seçici primer kullanılmasıyla yürütülür (Zabeau and Vos 1993). Bu markır sisteminin temeli, PCR'la daha önceden iki enzimle kesilip uygun adaptörler bağlanmış DNA fragmentlerinden bir kısmının klonlanması ve tespitidir. Adaptörün ve onun bağlandığı restriksiyon dizini, DNA primerlerinin bağlanma yeri olarak görev yapar. Seçici baz primerin 3' ucuna eklenir. Her iki primer çiftinin sonundaki seçici bazlar değiştirilerek veya değişik kombinasyonlarda kullanarak her seferinde yeni fragmentler klonlanır ve bu yolla yeni polimorfizm elde edilir ki bu özellik yöntemin en büyük avantajını oluşturur (Gülşen ve Mutlu 2005). Son amplifikasyon ürünleri poliakrilamid jelde yürütülür ve farklı genotiplere ait, farklılık gösteren bantlar gümüş boyama ve radyoaktif işaretli primerlerle tespit edilir. Polimorfizm oranı oldukça yüksektir (Yıldırım ve Kandemir 2001). Farklı primer kombinasyonları kullanılarak

sınırsız sayıda markır geliştirilebildiğinden dolayı bitki populasyon genetiğinde kullanılan en etkili moleküler markırlardan biridir.

RAPD kullanıldığında karşılaşılan tekrarlıma problemleri ile AFLP analizlerinde karşılaşılmamasına rağmen, her ikisi de dominant markırlardır ve bu yüzden populasyon genetiği tahminleri için yapılan değerlendirmelerde güven konusunda benzer sıkıntılar karşımıza çıkarmaktadırlar. Bununla birlikte, AFLP analizlerinin yüksek ayırma gücü ve hangisinin büyük oranda genetik markırlar üretebileceği ile ilgili sağladığı kolaylık sayesinde, bitki türlerinde populasyon düzeyi varyasyon analizlerinde AFLP'nin uygulanabilirliği daha fazladır.

AFLP ve mikrosatellitler gen akışı, döllenme sistemi, bitki populasyonlarının genetik yapısı çalışmaları için en çok seçilen DNA temelli moleküler markırlardır. Son zamanlarda bitki populasyonları üzerine yapılan birçok çalışmada bu markırların potansiyel ayırma gücü ve etkinliği mukayese edilmiştir. Beklendiği gibi mikrosatellitler lokus seviyesinde AFLP'den çok daha fazla polimorfik olmasına karşın, polimorfik lokus belirlemede AFLP daha etkilidir. Örneğin, *Avicennia marina* bitkisinde mikrosatellitler için 0,780 ile mukayese edildiğinde AFLP için heterozigotluk oranı ortalama sadece 0,193 belirlenmiştir. Ancak belirlenen 918 AFLP bandının tamamının polimorfik olduğu belirtilmiştir (Maguire *et al.* 2002).

ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats/Basit Dizi Tekrar Arası)

Teknik, 5' ve 3' ucunda güçlendirilen, kısa tekrarlanan DNA zincirlerinin primer olarak PCR reaksiyonunda kullanılmasını, PCR ürünlerinin elektroforez ile büyüklüklerine göre ayrılmasını ve jel üzerinde DNA'ların tespitini içerir (Zietkiewicz *et al.* 1994). Primer olarak 2 ile 4 arasında değişen farklı veya aynı nükleotidlerle sabitleştirilen, basit olarak tekrarlanan DNA zincirleri kullanılır. Bir reaksiyonda tekrarlanan zincir aynı kalmak kaydıyla, sabitleştirici DNA'ların farklı kombinasyonları primer olarak aynı reaksiyonda kullanılarak bir tek PCR reaksiyonunda güçlendirilen hedef DNA

zincirlerinin sayısı artırılır. Dolayısıyla bir tek jel üzerinde üretilebilecek bant ya da markır sayısı artırılır. Bu, diğer DNA markırlarının üretebildiği sayılarla karşılaştırıldığında önemli bir avantaj sağlar (Fang *et al.* 1997).

SCAR (Sequence-Characterized Amplified Region/Dizisi Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler)

RAPD ve ISSR gibi markır spesifitesi düşük olan markırların gücü, bu yöntemlerle elde edilen bantların jel üzerinden çıkarılarak, 3' uçlarındaki DNA zincirlerinin tespiti ve bunların daha uzun, dolayısıyla da daha spesifik primerler olarak PCR reaksiyonlarında kullanılması ile artırılır (Paran and Micheltore 1993). Tekrarlanabilirliği, RAPD ve ISSR markırlarına nazaran çok daha yüksektir. Genellikle dominant markırlar oluşturmasına rağmen, tek tek bantların kısa nükleotid kesici restriksiyon enzimleriyle kesilmesiyle kodominant markırlara dönüştürülebilir.

CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence/Çoğaltılmış Kesilmiş Polimorfik Dizi) (PCR-RFLP)

Bu teknik, PCR reaksiyonu ile güçlendirilen ürünlerin restriksiyon enzimleriyle kesilmesi ve elektroforezle büyüklüklerine göre ayrılan bu kesilmiş fragmentlerin tespitini içerir (Konieczyn and Ausubel 1993; Jarvis *et al.* 1994). Primerler cDNA veya genomik DNA klonlarından klonlanan ve DNA zincirleri tespit edilen RAPD veya ISSR bantlarından elde edilir.

Hem SCAR hem de CAPS primerleri geliştirebilmek için DNA zincir bilgisine gereksinim duyulduğundan ve RAPD ile AFLP gibi alternatif markır sistemleri bulunduğundan her iki yöntem de yaygın olarak kullanılmayıp daha çok RAPD, ISSR ve AFLP gibi spesifitesi düşük markırların spesifitesini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır.

SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism/Çoğaltılan Sekans Polimorfizmi)

Bu markırlar 17 veya 18bp uzunluğundaki ileri (forward) ve ters (reverse) primerlerin kullanılmasıyla elde edilir. İleri primerler 13 veya 14bp uzunluğundaki çekirdek dizini ve buna 5' ucunda eklenmiş CCGG dizini, ters primerlerde ise yine aynı uzunluktaki çekirdek dizini ve bu dizine eklenmiş AATT dizini içermektedir. Hem ileri hem de ters primerler 3' ucunda üç adet seçici nükleotid içermektedir. Bu primerler doğrudan gen bölgelerini hedef almaktadır. SRAP markırları, RAPD markırlarına göre daha yüksek oranda tutarlı sonuçlar ortaya koymaktadır ve AFLP markırlarına göre ise daha ucuz ve daha az işgücü gerektirmektedir (Li and Quiros 2001).

2.3. Allelopatonsiyelin Tesbiti için Gerekli Olan Biyoteknolojik Yöntemler

2.3.1. Mitotik indeks

Aynı cins hücrelerden oluşan bir hücre populasyonundaki bütün hücrelerin, hücre siklus süreleri aynı değildir. Bir takım faktörlere bağlı olarak, bu hücrelerin hücre siklusu süreleri arasında oldukça büyük varyasyonlar görülür. Bir hücre populasyonundaki hücrelerin hücre siklusları ile ilgili kantitatif verilerin elde edilmesi için hücre populasyonundaki mitoz bölünme yapan hücrelerin sayısı saptanır ve bu sayının tüm hücrelere oranını hesaplanır. Bu değere mitotik indeks (Mİ) adı verilmektedir (Özalpan 2001).

Tüm bitki hücrelerinden metafazlar elde edilebilirse de, kök ucu meristem hücreleri kolay ve güvenli olması sebebiyle, mitotik indeks elde etmek için daha uygun olmaktadır (Eroğlu 2004).

2.3.2. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Elektroforetik analizler, gen ürünleri olan enzimlerin ya da proteinlerin yapısal değişikliklerini belirleyen önemli yöntemlerdir. Protein ve enzimlerin elektroforetik ayrımı uygulamaları, çevresel stres şartlarına dayanma, verim artırımı ve çaprazlama belirlenmesi gibi konularda kullanımı yaygındır (Tanksley and Orton 1983; Van Geyt and Smed 1984). Bitkilerin tohum veya yaprak proteinlerinin ya da enzimlerinin elektroforetik analiziyle, çeşitlerin saflığını belirlemek, çeşitler arası tanımlama yapmak, biyosistemik analizlere yardımcı olmak ve genetik çeşitlilik hakkındaki bilgileri arttırarak evrime destek sağlamak konularında bilgiler elde edilmiştir (Cooke 1984).

Poliakrilamid jelin avantajları; bir çok amaç için ayırma gücünün yeterli olması, kullanımının kolay ve zaman kısa sürede olması, karşılaştırma gerektiren çalışmalarda, birçok örneğin birlikte yan yana ayrıştırılabilmesi, poliakrilamid jel elektroforezi ile ayrıştırılmış örnekler, gümüş gibi hassas boyama metotlarının geliştirilmesi, poliakrilamid jel elektroforezinde analizi yapılmış örneğin nitroselüloz membrana transferini sağlayan (blot) metodun geliştirilmesidir (Brett *et al.* 1989).

2.3.3. RAPD Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliğinin (Genomik Template Stability; GTS%) Belirlenmesi

Genotoksinlere maruz bırakılmış organizmalara ait RAPD profillerinde gözlenen değişiklikler DNA hasarı ve/veya mutasyonlar sebep olmaktadır (Atienzar and Jha 2006). DNA hasarı ve mutasyonal olaylar yeni bantların oluşmasına, mevcut bantların kaybolmasına ve bantların görünüşünde çeşitli değişikliklere (parlaklığın artması veya azalması) neden olur (Atienzar *et al.* 1999). RAPD tekniği kullanılarak genotoksik etkinin teşhisi, kontrol ve uygulama örneklerinden elde edilen DNA profillerin karşılaştırılmasıyla yapılır.

2.3.4. Fitohormonlar

Bitkilerde doğal olarak bulunan veya sentetik olarak üretilen hormonlara bitki büyüme düzenleyicileri denilmektedir. Bitki hormonları (fitohormonlar) bitkide düşük konsantrasyonlarda üretilen sinyal molekülleri meydana getiren bitki büyümesini düzenleyen kimyasallardır. Hücrelerin belirli bölgelerinde sentezlendikten sonra bitkinin diğer bölgelerine taşınırlar. Bitki hormonları tohum çimlenmesi ve büyümesini, çiçeklenmeyi, yaprakların oluşumu ve senesensi, gövde büyümesini, meyve oluşumu ve olgunlaşmasını etkiledikleri için bir anlamda bitkiyi biçimlendirmektedirler. Bitki büyümesi için hayati öneme sahiptirler. Bitki hormonlarının bir kısmı bitki büyüme ve gelişmesini uyarıp hızlandırmaktadır. Stimülasyon adı verilen bu gruba oksin, sitokinin ve giberellinler dahildir. Bir kısmı ise büyüme ve gelişmeyi geriletken etkilere sahip olduklarından dolayı bunlara inhibitörler adı verilir, absisik asit ve etilen bu gruptandır (Taiz and Zeiger 2004).

Bitki hormonlarının genel özellikleri;

Oksinler, bitkinin her yerinde olmalarına rağmen özellikle gövde ve kök uçlarında sentezlenir ve bitki içine transfer edilirler. Bitki hücre çeperinin mekaniksel özelliklerini değiştirerek hücre uzamasını sağlarlar. Solunum, protein ve RNA sentezlerini yöneterek hücre büyümesini, mitoz bölünmeyi düzenleyici özelliklere sahip olduklarından hücre bölünmesini etkilerler.

Sitokininler, bitki doku kültürü yöntemlerinde hücre bölünmesini uyarma özelliğine sahip, adenin bazı türevleridir. Hücre bölünmesinin uyarılmasına ek olarak, sitokininler sürgün ve kök farklılaşması, lateral tomurcukların büyümesi, yaprak gelişmesi, kloroplast gelişimi ve senesens üzerine de etkilidirler.

Giberellinler, verim ve kalitenin artırılmasıyla ilgili değişik fizyolojik gelişmelerde etkilidirler. Boyca uzama ve dormansiyi kırma, partenokarpik meyve oluşumu, meyve

tutumu ve meyve gelişiminin arttırılması, genetik bodurluğun ortadan kaldırılması, soğuklama gereksiniminin giderilmesi ve bazı enzimlerin sentezlenmesi gibi olayları sağlayan hormondur (Taiz and Zeiger 2004).

Absisik asit birçok bitkide ve bir bitkinin çeşitli organlarında büyümeyi inhibe edici etkiye sahiptir. Stres koşulları durumunda bitki dokularındaki ABA sentezi artar ve kloroplastlarda sentezlenen ABA hızlı bir şekilde diğer bölgelere taşınır (Taiz and Zeiger 2004).

Salisilik asit bütün bitkilerde, özellikle ziraaı açıdan önemli birçok bitki türünde yaygın olarak bulunmaktadır. Bitki büyüme düzenleyicisi olarak SA büyüme ve gelişme, fotosentez, iyon alınımı ve stres koşullarına karşı koyma gibi birçok önemli fizyolojik olaylarda rol almaktadır (Lynn and Chang 1990). Patojenlerin saldırısı altında bulunan bitkilerde salisilik asit, içsel bir sinyal molekül olarak görev yapmakta ve patojenite ile ilgili proteinlerin (PR proteins) sentezlenmesine yol açarak sonradan kazanılan sistemik direncin (systemic acquired resistance) oluşmasında rol oynamaktadır (Enyedi *et al.* 1992).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan materyal

Genetik analizler için bitkisel materyal olarak, 5 farklı bölgeden örneklenen *C. arvensis* L. türünün populasyonlarının genç yaprakları kullanılmıştır. Allelopatik aktivitenin ölçülmesi için çiçekli dönemde genç yaprak, kök ve gövde örnekleri toplanıp her birinin ekstraksiyonu hazırlanmıştır.

3.1.2. Kullanılan alet ve cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki alet ve cihazlar kullanıldı:

Otoklav (Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)

Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Mikro 22R, M10, SN 0001279-03-00)

Santrifüj (Hettich, GERMANY, EBA-20)

PCR (Corbett Research CG1-96, AUSTRALIA)

Elektroforez Tankı (Yatay) (OWL B2, U.S.A.)

Elektroforez Akım Sağlayıcı (OWL OSP300-2Q, U.S.A.)

Jel Görüntüleme Sistemi (DNR BioImaging Systems MiniBis Pro, ISRAEL)

Su Banyosu (Memmert WNB14, GERMANY)

Otomatik Pipetler (Eppendorf, GERMANY)

Spektrofotometre (Cecil, CE 5502)

Magnetik Karıştırıcı (Daihan Scientific MSH 20A, KOREA)

pH Metre (InoLab pH730 wtw Series, GERMANY)

Derin Dondurucu (Nuarie, U.S.A. , -86 Ultralow Freezer, SN P07K-476316-PK)

Hassas Terazi (Mettler Toledo AL204, CHINA)

Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)

Saf Su Cihazı (GFL 2004, GERMANY)

Steril Kabin (Esco AC2-4E1, SINGAPORE)

Mikrodalga Fırın (Arçelik, TÜRKİYE, MD 592)

Kar makinesi (Scotsman, U.S.A. , AH 19828 5)

3.1.3. Kullanılan Çözelti ve Solüsyonlar

Araştırma süresince kullanılan çözeltilerin kimyasal içerikleri aşağıdaki gibidir:

3.1.3.a. FAMEs profillerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

Çözelti 1: Hücre parçalayıcı

45gr	NaOH
150ml	Metil alkol
150ml	Saf su

Çözelti 2: Metilleştirme

325ml	HCl (6N)
275ml	Metil alkol

Çözelti 3: Saflaştırma

200ml	Hekzan
200ml	MTBE (Metil-tert-butil eter)

Çözelti 4: Bazik yıkama

10,8gr	NaOH
900ml	Saf su

3.1.3.b. DNA izolasyonu için kullanılan çözeltiler**DNA ekstraksiyon tamponu:**

100mM	Tris-HCl	(pH 8.0)
50mM	EDTA	(pH 8.0)
500mM	NaCl	
%2	SDS	(w/v)
%2	β -merkaptoetanol	(v/v)
%1	PVP	(w/v)

CTAB/NaCl:

%10 CTAB (Setil trimetil amonyum bromür)
0,7M NaCl

Fenol: Kloroform: İzoamil alkol:

25:24:1 oranında hazır olarak kullanılmıştır.

Kloroform: İzoamil alkol:

24:1 oranında hazır olarak kullanılmıştır.

TE tamponu:

10mM	Tris-HCl	(pH 8.0)
1mM	EDTA	(pH 8.0)

%70'lik Etil Alkol:

70 ml etil alkolün hacmi steril distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

3.1.3.c. PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan çözeltiler

Ethidium Bromür Çözeltisi: 500 ml 0,5x TBE tamponu içerisine 300 µl ethidium bromür ilave edilerek hazırlanmıştır. Karanlık ortamda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Bovine Serum Albumin: 1 ml steril distile su içerisinde 20 mg bovine serum albumin olacak şekilde hazırlanarak -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Bromfenol Blue Çözeltisi: 0,25g bromfenol blue, 0,25 g xylene cyanol FF ve 30 ml gliserol'ün toplam hacminin 100 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Çözelti otoklavda steril edildikten sonra +4°C'de muhafaza edilmiştir.

0,5x TBE tamponu: Bu araştırmada kullanılan TBE tamponu 10x TBE olarak satın alınmış ve 0,5 birim 10x TBE tampon +9,5 birim saf su ilavesi ile 0,5x TBE tamponu hazırlanmıştır.

Primerlerin Hazırlanması: Kullanılan primerler üretici firmanın önerdiği miktarda sulandırılarak stok solüsyonu, daha sonra da uygun hesaplamalar ile 1µM olacak şekilde çalışma solüsyonları hazırlanmıştır.

3.1.3.d. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi için kullanılan çözeltiler

1 M Tris-HCl (pH: 8.8): 12 g Tris bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH'sı 8.8'e ayarlanmış ve toplam hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

%10'luk SDS: 1 g SDS üzerine 9 ml saf su ilave edilerek çok hafif ısıtmak suretiyle, şeffaflaşmaya kadar karıştırılmıştır.

%30'luk akrilamid çözeltisi: 30 g akrilamid ve 0,8 g bis-akrilamid saf su ile iyice çözüldükten toplam hacim 100 mL'ye tamamlanmış, kullanım dışında renkli şişede 4°C'de saklanmıştır.

%10'luk akrilamid çözeltisi: 10 g akrilamid ve 2,5 g bis-akrilamid saf su ile iyice çözüldükten sonra üzerine 87,5 ml saf su ilave edilmiş, kullanım dışında renkli şişede 4°C' de saklanmıştır.

SDS-PAGE'de kullanılan yürütme tamponu: 1,5 g Tris ile 7,2 g glisin yaklaşık 50 mL saf suda iyice çözülmüş ve üzerine 5 ml %10'luk SDS ilave edilerek hacmi saf su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.

%0,1'lik brom timol mavis: 0,1 g indikatör boya, 16 ml 0,1 N NaOH içerisinde çözüldükten sonra su ile hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır.

SDS-PAGE'de kullanılan numune tamponu: 0,65 mL 1 M Tris-HCl pH: 6.8, 3 ml %10'luk SDS, 1 ml %100'lük gliserin ve 1 ml %0,1'lik brom timol mavisinden karıştırılarak toplam hacimleri 10 ml'ye tamamlanarak hazırlanmış ve bu tampona kullanmadan hemen önce 50 µl β-merkaptoetanol ilave edilmiştir.

Fixing çözeltisi: 40 ml saf su üzerine 10 g TCA ilave edilerek iyice çözüldükten sonra, 50 ml izopropil alkolün yavaş yavaş ilavesiyle 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Boyama çözeltisi: 10 g TCA 58 ml saf suda iyice çözüldükten sonra üzerine 15 g amonyum sülfat ilave edilerek bununda çözünmesi sağlanmış ve daha sonra bu karışımın üzerine 15 ml izopropil alkol konulduktan sonra şeffaflaşmaya kadar magnetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra ayrı bir beherde 6 ml fosforik asit üzerine 0,6 g Coomassie G-250 azar azar eklenerek iyice çözülmüş üzerine daha önce hazırlanan çözelti yavaş yavaş ilave edilerek karıştırılmış ve toplam hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Yıkama çözeltisi: 100 ml asetik asit üzerine 500 ml metanol 400 saf su ilave edilerek toplam hacim 1 L'ye tamamlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Populasyonların örnekleme

Araştırmada *C. arvensis* (L.) türünün beş populasyonu (Tortum, Oltu, Erzurum (merkez), Aşkale, İspir) örnekleştir. *C. arvensis*' in bu populasyonlarından Mayıs-haziran aylarında reproduktif olgunluğa erişmiş olan her populasyondan 15 birey toplanmıştır. Bireyler arasındaki mesafenin en az 50 m olmasına dikkat edilmiştir.

Toplanan örnekler, FAMES ve RAPD için kullanılmak üzere -80°C'de saklanmıştır. Daha sonra sıvı azot ile dondurulup havanda öğütülerek 2 ml'lik tüplere aktarılmış ve kullanılmaya kadar yine -80°C'de saklanmıştır.

3.2.2. Bitkilerin FAMES (Fatty Asit Metil Esterleri) profillerinin belirlenmesi

Bitkilerin FAMES profilleri MIS (Sherlock Microbial Identification System, version 4,5, MIDI, Newark, DE) kullanılarak belirlenmiştir (Ek 2).

3.2.2.a. Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılması

FAMES profillerinin belirlenmesinde daha önce bahsedilen çözeltiler kullanılarak aşağıdaki protokol izlenmiştir (Şahin 1999).

a. İçinde yaklaşık olarak 40 mg öğütülmüş bitkinin yaprak kısmı bulunan her bir test tüpüne 1 ml Çözelti 1 ilave edilmiş ve 5-10 sn çalkalanarak 5 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

b. Test tüplerine 2 ml Çözelti 2 eklenerek 5-10 sn'lik bir çalkalamadan sonra 80°C'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilmiş ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenerek yağ asidi metil esterleri elde edilmiştir. Bu durum yağ asitlerine yüksek sıcaklıkta buharlaşma özelliği vermektedir.

c. Soğutulan tüplere 1,25 ml Çözelti 3 eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısı ile çalkalanmıştır. Alt kısmında inorganik, üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz oluşmuştur. Pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılmış ve yağ asitlerinin toplandığı organik faz muhafaza edilmiştir.

d. En son aşamada ise her tüpe 3 ml Çözelti 4 ilave edilerek 5 dk süreyle çalkalandıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözelti 4, bazik bir solüsyon olup serbest yağ asidi metil esterlerini daha saf olarak elde etmemize yardımcı olur. Tüp içerisinde yine iki ayrı faz oluşmuştur. Üst fazda toplanan ve yağ asidi metil esterlerini içeren faz, pastör pipeti ile alınarak 2 ml'lik gaz kromatografi tüplerine transfer edilmiş ve ağızları sıkıca kapatılmıştır.

3.2.2.b. Örneklerin fatty asit içeriklerinin analiz edilmesi

Tüpler, MIS cihazı üzerindeki örnek toplama tepsisine yerleştirildikten sonra cihaz çalıştırılarak sistem kılavuzunda belirtildiği gibi örnekler tek tek analiz edilmiş ve tanı sonuçları alınmıştır. Bu testler bütün örnekler için üç kez tekrar edilmiş ve en yüksek tanı sonucu değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.2.c. Örneklerin FAMEs profillerinin istatistiksel analizi

FAMEs analizi her bir bireydeki fatty asitlerin varlığı (%0,1-100) ve yokluğu (%0) şeklinde değerlendirilmiş, türler arası değerlendirmeler SPSS V.16 ile hesaplanmış ve UPGMA yöntemi ile dendogramları oluşturulmuştur. Populasyonlar arasındaki

değerlendirmeler ise POPGENE (Yeh *et al.* 1997) ve POPULATION 1.2.28 programı ile hazırlanmıştır (Langella 2000).

3.2.3. Bitkilerin RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA/ Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) profillerinin belirlenmesi

3.2.3.a. DNA İzolasyonu

DNA izolasyon protokolü olarak Yıldırım *et al.* (2009) esas alınmış ve birkaç maddesinde değişiklik yapılarak aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

- a.** Önceden sıvı azotta parçalanıp 2 ml'lik tüplere alınan bitki materyali üzerine 1000 µl DNA ekstraksiyon tamponu eklenmiş, alt üst ederek karıştırılmış ve önceden 65°C'ye ısıtılmış su banyosunda 10-60 dk bekletilmiştir.
- b.** 12000 rpm ve 4°C'de 10 dk santrifüjlenerek üst faz yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- c.** 1000 µl Fenol: Kloroform: İzamil alkol eklenerek birkaç kez alt üst ederek karıştırılmıştır. 12000 rpm ve 4°C'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Üst faz dikkatli bir şekilde yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- d.** Üst faza 1/10 hacim CTAB/NaCl çözeltisinden eklenmiş ve alt üst ederek karıştırılmıştır.
- e.** 1000 µl Kloroform: İzamil alkol eklenerek birkaç kez alt üst edilerek karıştırılmıştır. 12000 rpm ve 4°C'de 5 dk santrifüjlenerek üst faz dikkatli bir şekilde yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- f.** DNA'yı çöktürmek için 0,6 hacim soğuk izopropanol eklenerek -20°C'de 10 dk bekletilmiştir.
- g.** 12000 rpm ve 4°C'de 10 dk santrifüjlenerek üst faz atılmıştır.
- h.** Pelet önce %100'lük sonra %70'lik soğuk etanol ile yıkanmıştır.
- i.** Yıkanan pelet bir gece bekletilerek kurutulmuştur.
- i.** Kurutulan DNA 100 µl TE tamponunda çözülmüştür.
- j.** Kullanılincaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Elde edilen DNA 250 kat (3µl DNA+747µl TE tamponu) seyreltilerek spektrofotometrede 260nm ve 280nm dalga boylarında absorbans (A) değerleri okunmuştur. OD (okuma değeri) 260/280 değeri 1,1-1,8 arasında olması DNA'nın saf olduğunu göstermektedir. 50 (DNA için multifikasyon katsayısı) x 250 (seyreltme katsayısı) x OD₂₆₀ (260nm'de okuma değeri) formülünden faydalanılarak stoktaki DNA miktarı hesaplanmıştır. Stok DNA'dan 50ng/µl DNA içeren çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

3.2.3.b. RAPD primerleri

Çalışmada toplam 40 RAPD primeri (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, USA) denenmiş, bunlardan 14 tanesi amplifikasyon vermiştir. Kullanılan primerlerin baz dizileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan RAPD primerleri ve baz dizimleri

Primerin Adı	Baz Dizilimi 5'→3'
OPA04	AATCGGGCTG
OPH17	CACTCTCCTC
OPA02	TGCCGAGCTG
OPA01	CAGGCCCTTC
OPY07	AGAGCCGTCA
OPH19	CTGACCAGCC
OPW01	CTCAGTGTCC
OPW06	AGGCCCGATG
OPB08	GTCCACACGG
OPW08	GACTGCCTCT
OPBA07	GGGTCGCATC
OPBB11	TGCGGGTTCC
OPBB14	GTGGGACCTG
OPBC05	GAGGCGATTG

3.2.3.c. PCR protokolü

PCR işlemi için şu protokol izlenmiştir; 0,5 ml'lik tüpe 3 µl 10x PCR tamponu, 1,8 µl BSA (10mg/ml), 1,2 µl dNTP (10mM), 1,2 µl MgCl₂ (25mM), 3 µl DNA (100 ng/µl), 1,2 µl primer (5 µM), 0,4 µl 5Unit/µl *Taq* DNA polimeraz (Promega Crop. Madison, Wis.) ve 17,4 µl saf su ilave edilerek hacim 30 µl'ye tamamlanmıştır.

Bu işlemlerin ardından örnekler PCR aletine (Eppendorf Mastercycler Gradient Authorized Thermal Cycle) yerleştirilmiş ve aşağıdaki döngüye tabi tutulmuştur.

- 1) PCR aleti otomatik olarak 5 dk 94°C tutulmuş,
- 2) 4 döngü olacak şekilde sırasıyla,
1 dk 30 sn 94°C
1 dk 30 sn 37°C
3 dk 72°C'de tutulmuş,
- 3) 41 döngü olacak şekilde sırasıyla,
1 dk 94°C
1 dk 36°C
1 dk 42°C
3 dk 72°C'de tutulmuş,
- 4) Son olarak 7 dk 72°C'de tutularak süreç tamamlanmıştır.
- 5) PCR aletinden çıkarılan örnekler 4°C'de saklanmıştır.

3.2.3.d. Agaroz jel elektroforezi

PCR işleminden sonra örnekler agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve oluşan bantlara göre primerlerin hibridize olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. İşlem sırası aşağıdaki gibidir;

- a. Jel içerisinde agarın konsantrasyonu %1,5 konsantrasyon olacak şekilde agaroz tartılıp 0,5x Tris-Borat EDTA (TBE) tamponu içerisinde mikrodalga fırında hazırlanmıştır.
- b. Mikrodalga fırından çıkarılan 0,5x TBE + agaroz çözeltisi içerisinde 0,5 µg/ml olacak miktarda Ethidium bromid eklenmiştir.
- c. Hazırlanan jel katılaşmadan elektroforez tankına dökülmüş ve donmadan önce jel üzerine tarak konularak örneklerin yükleneceği kuyucuklar oluşturulmuştur.
- d. Jel donduktan sonra her bir kuyucuğa ayrı bir örnek (3 µl bromfenol mavisi + 7 µl PCR ürünü) yüklenmiştir.
- e. Elektrik akımı verilerek 70V–150 dk süre ile DNA'lar elektroforez işlemine tabi tutulmuş, iki saat sonunda elektrik akımı kesilmiştir.
- f. Elektroforez tankından çıkarılan jel UV ışık altında incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.3.e. Jellerin yorumlanması

Amplifikasyon ürünleri görsel olarak değerlendirilmiştir. Tüm bantlar değerlendirmeye alınmıştır. RAPD bantlarının büyüklüğünü belirlemek amacıyla 50–10000 baz çifti arasındaki bantları içeren DNA standartı (Generuler™ 100 base pair DNA Ladder, MBI Fermentas) kullanılmıştır. Çalışılan örneklerde bantlar var olma ve olmama durumuna göre değerlendirilmiştir. Var olan her bir haploit bant için “1” rakamı, olmayan bant için ise “0” rakamı kullanılmıştır.

3.2.3.f. Veri analizleri

Final veri seti sadece polimorfik bantları içermiştir. Veri dosyaları POPGENE (Yeh *et al.* 1997) ve POPULATION 1.2.28 analiz edilecek şekilde hazırlanmıştır (Langella 2000). Her örnek için gözlenen allel sayısı (Na), etkili allel sayısı (Ne), Nei'nin genetik çeşitliliği (1972) (H) ve Shannon information indeksi (I) hesaplanmıştır. POPULATIONS 1.2.28 programı ile Nei (1972)'nin genetik mesafe değerleri (Ds) kullanılarak bir dendogram (Neighbour-joining trees= yakın bağlantı ağacı= NJ)

kurulmuştur. Yine populasyon içi değerlendirmeler Jaccard (1908)'in benzerlik indeksine göre yapılmış, SPSS V16 ile hesaplamalar yapılmış ve UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Means) yöntemi ile dendogramlar oluşturulmuştur.

3.3. Allelopatonsiyelin Tesbiti için Gerekli Olan Biyoteknolojik Yöntemler

C. arvensis (L.) türünün birkaç populasyondan alınmış örnekleri gölgede kurutulmuş, kök, gövde ve yapraklar birbirinden ayrılarak ğtlmştir. Öğütülmüş kök, gövde ve yapraklar bir Soksolet ekstraktör (Isopad Heidelberg, Germany) kullanılarak 72 saat süresince 1 litre metanol kullanılarak ekstrakte edilmiş daha sonra filtre kâğıdından (Whatman no:1) szlerek ve bir rotary evaporator kullanılarak 40°C'de uçucu maddeler uçurulmuştur. Elde edilen residue testlerde kullanılana kadar +4°C'de saklanmıştır. Elde edilen ekstraktların mısır tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi test etmek için mısır tohumları %2,5'lik NaOCl'de 3 dakika sterilize edilmiş, saf su ile yıkanan tohumlar steril kurutma kağıdına konulduktan sonra petrilere ekilmiştir (ortalama mısır için 15 tohum ve 5 paralel). Üzerlerine *C. arvensis*'in kök, gövde ve yaprak ekstraktlarından 50, 75 ve 100 µl eklenmiş, kontrol grubu ile birlikte petrilere 25°C'de karanlıkta çimlenmeye bırakılmıştır. Hormon analizleri için 5. gün sonunda 1 g örnek alınmış ve -20°C'de saklanmıştır.

3.3.1. Hormonların ekstraksiyon, saflaştırma ve analiz işlemleri

3.3.1.a. Ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri

Ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri Kuraishi *et al.* (1991) ve Battal ve Tileklioğlu (2001) metotlarına göre ve üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Derin dondurucudan çıkarılan küçük parçalar halindeki örnekler sıvı azot içerisinde bir havan yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örnekler zerine -40°C'de bekletilen %80'lik metanol ilave edilerek (Davies 1995) 10 dk ultra doku parçalayıcıda (Ultrasonic Processor, Jencons LTD.) homojenize edildikten sonra, +4°C'de ve karanlıkta 24 saat homojenize işlemine devam edilmiştir. Örnekler Whatman No:1 filtre kâğıdından szlmş ve

süpernatant alındıktan sonra kalan parçalar tekrar aynı işlemlere tabi tutulmuş ve sonra her iki süpernatant birleştirilmiştir. Birleştirilen süpernatantlar tekrar 0,45 µml'lik PTFE filtrelerinden (Cutting 1991) geçirilmiş ve bir evaporator pompası yardımıyla 35°C'de kurutulmuştur. Kurutulan ekstraktlar 0,1 molarlık KH₂PO₄ (pH 8) tamponunda tekrar çözülmüştür. Çözünen ekstraktlarda bulunan yağ asitlerini ayırmak için örnekler 1 saat 4°C'de 5.000 rpm'de sanrifüj (Hermle Z 320 K) edilmiştir (Palni *et al.* 1983). Süpernatant otomatik pipetle tüplerden alınmış ve bir beher içerisine bırakılmıştır. Fenolik bileşikleri ve renk maddelerini ayırmak için (Qamaruddin 1990; Chen 1991; Kovac and Zel 1994), her örneğe ait 1 gramlık çözünmeyen Polivinilpolipirolidon (PVPP, Sigma) hazırlanmış ve süpernatantın bulunduğu beher içerisine bırakılarak, iyice karıştırılmıştır (Money and Staden 1984; Hernandez-Minea 1991).

PVPP (Polivinilpolipirolidon)'nin hazırlanması: 1 gram çözünmeyen PVPP bir beher içerisine bırakılmış ve üzerine 30 mM asetik asit konarak süspansiyon şeklinde iyice karıştırıldıktan sonra süzümüştür. Tekrar üç kat hacimdeki asetik asitle yıkanıp süzöldükten sonra kullanılmıştır.

PVPP ile karıştırılan süpernatant Whatman No:1 filtre kâğıdından süzölerek PVPP'den ayrılmıştır. Ekstrakt alınarak ya hemen kullanılmış ya da daha sonra kullanılmak üzere -40°C'de saklanmıştır (Cheik and Jonmes 1994). Daha spesifik ayırma yapabilmek için Sep-Pak C18 (Waters) kartüjleri kullanılmıştır (Machackova *et al.*1993). Kartüjler kullanılmadan önce aşağıdaki açıkladığı şekilde şartlandırılmıştır.

Şartlandırma işlemi: Kartüjler önce 5 ml %80'lik metanolden geçirildikten sonra, 5 ml saf suyla yıkanmak suretiyle kullanıma hazırlanmıştır. Süpernatantlar (dondurulmuşsa çözünmesi beklendikten sonra) 5 mililitrelik şırıngalarla şartlandırılmış Sep-Pak C18 kartüjlerinden (1 ml/dak) geçirilmiştir.

Kartüjler tarafından adsorbe edilen hormonlar %80'lik metanolde (1 g taze örnek için 3 ml) çözmek suretiyle küçük şişelere alınmıştır. Küçük şişelere alınan numuneler HPLC analizleri için kullanılmıştır (Qamaruddin *et al.* 1990).

3.3.1.b. Hormonların analizi

Hormon analiz yönteminde Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılmıştır (Horgan and Kramers 1979; Koshimizo and Iwamura 1986; Morris *et al.* 1990). HPLC analizleri aşağıdaki sistemler kullanılarak yapılmıştır (Ek 1).

Pompa: Araştırmamızda basıncı 20.000 psi'ye kadar çıkabilen Waters marka (Waters 1525) pompa kullanılmıştır (Robyt and White 1990).

Dedektör: Çalışmamızda Waters marka ve 4020 model UV dedektörü kullanılmıştır (Roberts and Hooley 1988; Horgan 1988). Dedektörün en uygun dalga boyunun ise 245 nm olduğu tespit edilmiştir (Featonby-Smith and Van Staden 1984; Banowetz 1994).

Kolon: Çalışmamızda Bondapak C18 (Waters; 30x0,2 cm) kolon kullanılmıştır (Horgan and Kramer 1979; Brenner 1981; Palni *et al.* 1983; Hernandez–Miana 1991; Chen 1991).

İzokratik sistem: Bu sistemde, sabit konsantrasyondaki mobil fazın dakikadaki akış hızı ile beraber maddelerin kolonlardaki alıkonma zamanına bağlı olarak birbirlerinden ayrılabilmesi temeline dayanmaktadır. Çalışmamızda izokratik sistem kullanılmıştır (Turnbull and Hanke 1985; Taylor *et al.* 1990).

Kaydedici (Integratör): Dedektörün gönderdiği uyarılar Waters marka ve Breeze Software tarafından kaydedilmiştir.

Mobil faz: Çalışmamızda %11'lik asetonitril (HPLC'ye özgü, Merck) tampon olarak 40 mM trietil amonyum asetat (TEAA) ilave edilmiş ve pH'sı 4,91'e ayarlanan mobil faz kullanılmıştır (Soejima *et al.* 1992; Kovac and Zel 1994; Chamberlain 1995).

TEAA'nın hazırlanması: Belli bir miktarda trietilamilin (Merck) alınarak bir mezür içerisine bırakılmış, üzerine trietilamilin miktarından biraz daha az olacak şekilde asetik asit yavaş yavaş ilave edilmiştir. Daha sonra elde edilen çözelti buzdolabına bırakılmış soğuduktan sonra kullanılmıştır.

Degaze işlemi: Millipore marka vakum pompası kullanılarak pH'sı ayarlanan mobil fazda oluşan gazlar uzaklaştırılmıştır.

İstatistiksel analiz: Her bir örneğe ait GA, ABA, IAA ve SA miktarının ölçümü 3 kez tekrarlanmış, SPSS 16.0 istatistik programında one way ANOVA testi kullanılarak standart sapmaları ve ortalamaları hesaplanmış, $P \leq 0.01$ seviyesinde önem durumu belirlenerek standart hata çubukları eklenmiştir.

3. 3. 2. Mitotik İndeks

Bitki Materyali: Bitki materyali olarak MayAgro Tohumculuk Sanayi ve Ticaret A.Ş tarafınca ticari olarak değerlendirilmekte olan RX9292 sert mısır çeşidi kullanılmıştır.

Tohumların çimlendirilmesi: Tohumlar musluk suyunda yıkandıktan sonra %70'lik etil alkolde 1 dakika karıştırılıp steril saf su ile 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra %1'lik sodyum hipoklorit içersinde 10 dakika karıştırılıp, 3 defa steril saf su ile yıkandıktan sonra steril edilen tohumlar *C. arvensis* (L.) türünün, kök, gövde ve yaprak ekstraktlarının 3 farklı dozunu içeren (50, 75, 100 µl) petri kaplarında, kağıt arasında 25°C'de çimlendirilmeye alınmıştır. Çalışmada, her petri kabı bir tekerrür olarak kabul edilmiş ve her bir petri kabına 25 adet tohum konulmuş ve çalışma tam şansa bağlı deneme planına göre 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Mitoz Preparatların Hazırlanması: Mitoz preparatların hazırlanması sırasında aşağıda belirtilen işlemler uygulanmıştır.

- 1) Çimlenmiş tohumlardan boyları 1,5-2 cm olmuş kök uçları kesilmiş ve 3 saat süreyle oda sıcaklığında %0,05'lik kolçisin çözeltisinde ön fiksasyon amacıyla bekletilmiştir.
- 2) Kök uçları musluk suyunda yıkandıktan sonra kök uçları fikse edilmek üzere %100'lük glasiyal asetik asitte oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir.
- 3) Kök ucu materyali, %70 etil alkolle yıkanmış ve çalışma zamanına kadar %70'lik etil alkolde +4°C'de saklanmıştır.
- 4) Kök ucu materyalleri saf su ile yıkandıktan sonra 1 N HCl'de, 60°C sıcak su banyosunda, 12 dakika hidroliz edilmiştir.
- 5) Kök uçları hidroliz edildikten sonra saf su ile yıkanmış ve %2'lik aseto-orsein çözeltisinde bir gece karanlık ortamda boyanmaya bırakılmıştır.
- 6) Boyadan alınan kök örnekli musluk suyunda yıkandıktan sonra, koyu bir renk alan kök uçlarının apeksinin 1-2 mm uzunluğundaki bölümü kesilerek bir lam üzerine alınmıştır.
- 7) Alınan doku üzerine 1 damla %45'lik glasiyal asetik asit çözeltisi damlatılarak, üzerine lamel kapatılmıştır.
- 8) Preparatın üzerine kurutma kağıdı konarak, kromozomların tek düzlem üzerine gelmesi için, preparata baş parmak ile sertçe bastırılmıştır.
- 9) Hücrelerin homojen şekilde dağılması için kurutma kağıdı arasındaki preparatın üzerine, standart bir kursun kalemin düz arka yüzü ile dik vuruşlar yapıldı. Preparatlar hemen incelenmiştir.

Mikroskopik Gözlem: Mikroskopik gözlemler, LEICA DM-500 marka ışık mikroskobu ile 10 x 40 ve 100 büyütmelemlerde yapılarak hücreler incelenmiştir.

Mitotik İndeks: Mitotik indeks, mitoz geçiren hücre sayısının yüzde (%) olarak ifadesidir. Mitotik indeks hesaplanırken her bir kimyasalın dozu için 10 köke ait preparattan rastgele seçilen 3 preparatta toplam 1500 hücre sayılmış (Her preparatta 500

hücre), bu hücrelerin içinde mitoz geçirmekte olanların geçirmeyenlere yüzdeleri hesaplanmıştır.

İstatistiksel Verilerin Hesaplanması: Araştırma tam şansa bağlı deneme planına göre 8x5 faktöriyel düzende Genel Linear modelde varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Kimyasal ve dozlara ait ortalamalar arasındaki farklar %5 önem seviyesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Kimyasal x doz interaksyonu ise basit ana etki ile açıklanmıştır.

3.3.3. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Çimlenmiş tohumlardan mitotik indeks için kök uçları kesilmiş ve daha sonra kalan tohumlar 72 saat daha çimlendirilmeye devam edilerek, *C. arvensis* (L.) ekstraktlarının mısır tohumlarının proteinleri üzerine etkisi test edilmiştir. Çimlenen tohumlardan elde edilen proteinlerdeki değişim, elektroforezle kontrol edilmiştir.

Proteinler 100 µl numune tamponu içinde çözüldükten sonra elektroforeze hazırlanmıştır. Elektroforez için %4–14 kesikli sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jeli hazırlanmıştır.

Ayırma jelini hazırlamak için, bir behere %30'luk akrilamid-%0,8'lik bisakrilamid çözeltisinden 25 ml alınmış ve üzerine sırasıyla 1 M'lık Tris-HCl (pH:8.8)'den 22,5 mL, %10'luk SDS'den 0,9 ml, 0,6 ml %5'lik TEMED ve 9 ml saf su konularak karıştırılmıştır. Bu karışımın üzerine en son olarak 15 mg (1,2 ml) amonyum persülfat hızlıca pipetlenmiştir.

Yığıma jelini hazırlamak için, bir behere %30'luk akrilamid-%0,8'lik bisakrilamid çözeltisinden 2 ml alınmış ve üzerine sırasıyla 0,5 M'lık Tris-HCl (pH:6.8)'den 2,48 mL, %10'luk SDS'den 0,2 ml, %5'lik 5 µl TEMED ve 15,6 ml saf su konularak

karıştırılmıştır. Bu karışımın üzerine günlük hazırlanmış %1,5'lük amonyum persülfattan 0,4 ml ilave edilmiştir.

Protein numuneleri, toplam hacim 100 µl olacak şekilde tüplerde hazırlanıp 3 dakika kaynar suda inkübe edilmiş ve oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Numuneler bir mikroenjektörle jelin kuyularına tatbik edilmiştir. Molekül ağırlıkları bilinen standart proteinlerde 100 µl tamponda çözülerek numunelerle birlikte dikey elektroforezde jele yüklenmiştir. Tank kapağı kapatılarak elektroforez tankının alt ve üst kısmına yeterince yürütme tamponu konulmuş ve elektrik bağlantıları yapılmıştır. Daha sonra numuneler ayırma jelinin hizasına kadar 120 voltta yürütülmüştür. Ayırma jelinden sonra 200 voltta yaklaşık 4-5 saat yürütmeye devam edilmiştir. Yürüme işlemi bittiğinde akım kesilerek jel, camlar arasından dikkatlice çıkarılmış ve sabitleme çözeltisinde hafif tempoda 45 dakika çalkalanmıştır. Yürütme tamponu tekrar kullanılmak üzere özel kabına konulmuştur. Daha sonra, jel boyama çözeltisine alınmış ve iki saat tekrar çalkalanmış, daha sonra boyama çözeltisinden alınarak protein bantları iyice görülünceye kadar yıkama çözeltisinde yıkanmıştır. Belirli zaman periyotlarında değiştirilmek suretiyle jelin zemin rengi açılıp, protein bantları belirginleşinceye kadar bu çözelti içinde çalkalanmıştır. Yıkama çözeltisi aktif karbondan geçirilerek tekrar kullanılmıştır. Jel, yıkama çözeltisinden çıkarıldıktan sonra fotoğrafı çekilmiştir (Taşğın 2004).

3.3.4. RAPD Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliğinin (Genomik Template Stability; GTS%) Belirlenmesi

Her bir primer için tüm örneklerde amplifiye olan DNA bantlarının varlığı ve yokluğu, negatif kontrol RAPD profillerine göre bant yoğunluklarındaki azalma ve artmalar temin edilecek olan agaroz jel görüntüleme cihazı ile belirlenmiştir. Genomik kalıp sabitliliği (%) her bir primer ürünü için Ateizar (1999)'a göre $100 - (100 - a/n)$ formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Formüldeki a her bir uygulama örneği için tespit edilen RAPD polimorfik profillerini, n ise ilgili primerle negatif kontrol grubunda elde edilen DNA toplam bantı sayısını göstermektedir. Uygulama gruplarına ait RAPD

profillerinde gözlenen polimorfizm negatif kontrol grubuna göre yeni bir bandın ortaya çıkması veya mevcut bir bandın kaybolmasını kapsamıştır.

Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi: PCR ürünlerinin değerlendirilmesi her bir bireyde her primer için bantların varlığı (1) ve yokluğu (0) şeklinde ifade edilmiştir. Oluşan bantlara göre primerlerin hibridize olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Bantların varlığı primerlerin hibridize olduğu ve bu primerlerin ait olduğu operon bölgelerinin incelenen örneklerde bulunduğu anlamında değerlendirilmiştir. Bu bantların değerlendirilmesinde TotalLab TL120 kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

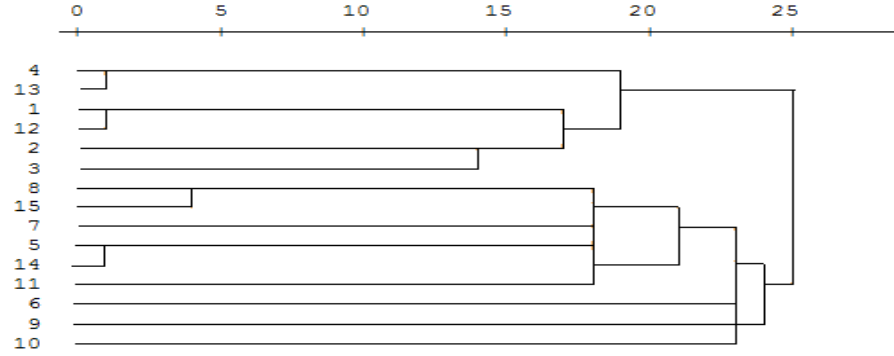
4.1. RAPD

Aşkale, Erzurum (merkez), İspir, Oltu ve Tortum a ait 5 farklı lokaliteden toplanan *C. arvensis* (L.) türünün 75 bireyi için toplam 40 RAPD primeri denenmiş ve bunlar arasından en iyi amplifikasyon veren 14 primer seçilerek değerlendirilmeye alınmıştır. Bu 14 RAPD primerinden büyüklüğü 50 baz çifti (bç) ile 750 baz çifti arasında değişen toplam 429 bant elde edilmiştir. Elde edilen bu bantlardan 142 tanesi polimorfiktir. Kullanılan primerlerden OPA02 primeri en yüksek sayıda bant oluştururken, OPB11 primeri en az bant veren primer olmuştur. Çalışılan 14 primerin oluşturduğu bantlar var (1) veya yok (0) şeklinde değerlendirilmiştir. Populasyon içi ve populasyonlar arası değerlendirmeler hem SPSS V16 hem de POPGENE Microsoft Windows-based Freeware for Population Genetics Analysis ve Version 1.31 (Yeh *et al.* 1997) programları kullanılarak yapılmıştır. SPSS V16 paket programı içerisinde yer alan Jaccard'ın benzerlik indeksiyle populasyon içindeki değerlendirmeler yapıp UPGMA yöntemi ile dendrogramlar oluşturulurken, POPGENE programı ile Nei'ye göre tüm lokuslar için genetik çeşitlilik ile genetik benzerlik ve genetik farklılaşma değerleri verilmiş (Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8), yakın bağlantı ağacı (Neighbour Joining Trees) oluşturulmuştur (Şekil 4.8). Ayrıca her örnek için gözlenen allel sayısı (N_a), etkili allel sayısı (N_e), gen akışı (N_m), Nei'nin genetik çeşitliliği (H) ve Shannon bilgi indeksi (I) hesaplanmıştır.

4.1.1. Aşkale populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar

Çalışılan RAPD primerleri, populasyon bireyleri arasında molekül büyüklüğü 50-750 bç arasında değişen toplam 84 bant oluşturmuştur (Çizelge 4.7). Çalışılan bütün primerlerin polimorfik olduğu gözlenmiştir ve polimorfik bant sayısı 84, polimorfizm oranı ise %59,15 olarak tespit edilmiştir. Aşkale populasyonu için hesaplanan genetik farklılaşma değeri $H=0,2019$, Shannon'un bilgi indeksi ise $I=0,3048$ olarak

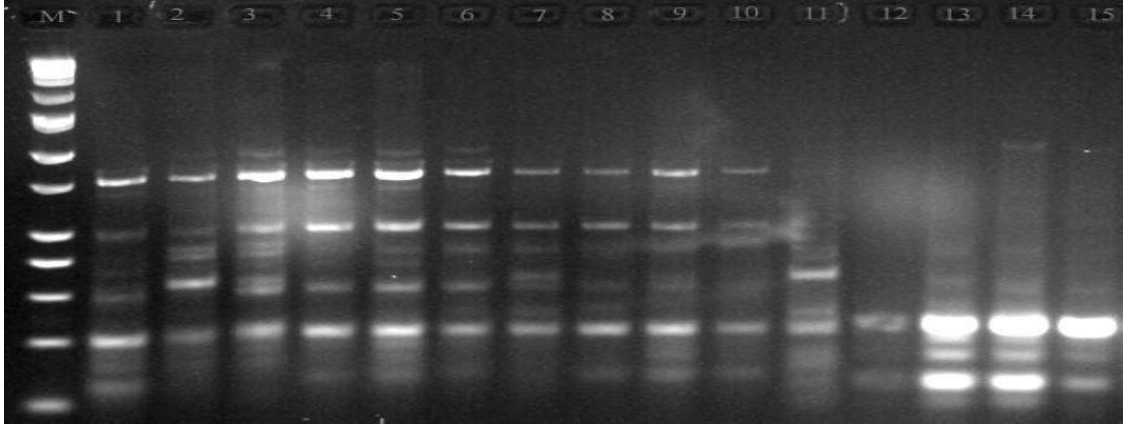
belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Jaccard'ın benzerlik indeksi ile oluşturulan dendrogram sonuçlarına göre tüm bireyler iki grupta toplanmıştır (Şekil 4.1). Aşkale popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,316 ile 0,685 arasında değişmektedir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Aşkale popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı

Çizelge 4.1. Aşkale popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

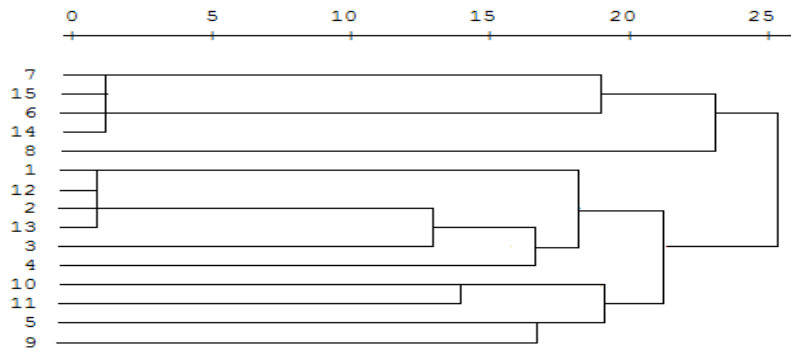
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15
A1	1,00														
A2	0,674	1,00													
A3	0,556	0,685	1,00												
A4	0,609	0,528	0,544	1,00											
A5	0,375	0,472	0,662	0,493	1,00										
A6	0,316	0,367	0,435	0,362	0,529	1,00									
A7	0,386	0,387	0,431	0,456	0,565	0,474	1,00								
A8	0,349	0,373	0,356	0,391	0,462	0,475	0,567	1,00							
A9	0,450	0,469	0,443	0,444	0,468	0,460	0,477	0,457	1,00						
A10	0,323	0,388	0,351	0,324	0,402	0,319	0,357	0,443	0,471	1,00					
A11	0,338	0,441	0,458	0,357	0,579	0,412	0,493	0,514	0,440	0,466	1,00				
A12	0,970	0,674	0,556	0,609	0,375	0,316	0,386	0,349	0,450	0,323	0,338	1,00			
A13	0,609	0,528	0,544	0,950	0,493	0,362	0,456	0,391	0,444	0,324	0,357	0,609	1,00		
A14	0,380	0,458	0,647	0,500	0,984	0,515	0,574	0,449	0,456	0,390	0,587	0,380	0,500	1,00	
A15	0,359	0,403	0,384	0,400	0,487	0,438	0,600	0,925	0,507	0,451	0,543	0,359	0,400	0,474	1,00



Şekil 4.2. Aşkale popülasyonunun OPBB14 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

4.1.2. Tortum popülasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar

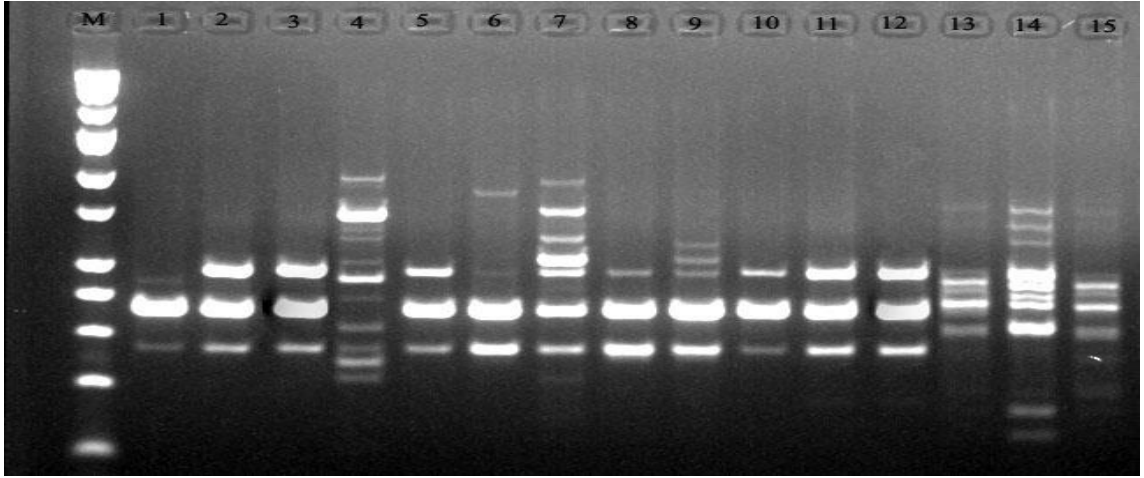
Çalışılan RAPD primerleri, popülasyon bireyleri arasında molekül büyüklüğü 50-750 bp arasında değişen toplam 86 bant oluşturmuştur (Çizelge 4.7). Bütün primerlerin polimorfik olduğu gözlenmiştir ve polimorfik bant sayısı 82, polimorfizm oranı ise %60,56 olarak tespit edilmiştir. Tortum popülasyonu için hesaplanan genetik farklılaşma değeri $H=0,2330$, Shannon'un bilgi indeksi ise $I=0,3437$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Jaccard'ın benzerlik indeksi ile oluşturulan dendrogram sonuçlarına göre bireyler iki grupta toplanmıştır (Şekil 4.3). II. Grup kendi arasında iki alt gruba ayrılmıştır. Tortum popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,286 ile 0,986 arasında değişmektedir (Çizelge 4.2).



Şekil 4.3. Tortum popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı

Çizelge 4.2. Tortum popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

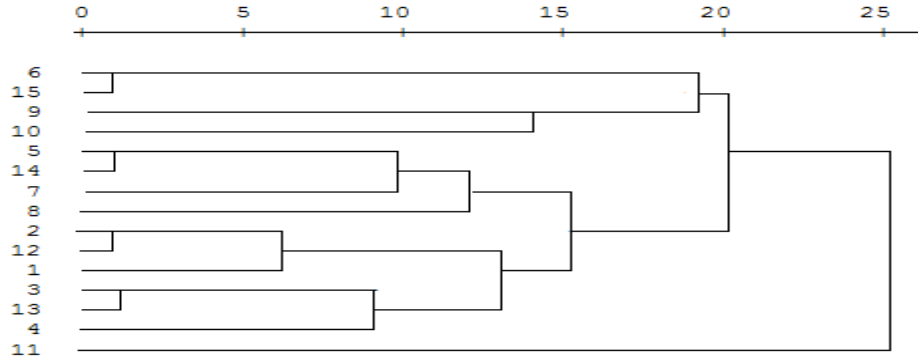
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15
T1	1,000														
T2	0,569	1,000													
T3	0,630	0,679	1,000												
T4	0,508	0,632	.552	1,000											
T5	0,478	0,609	0,471	0,529	1,000										
T6	0,342	0,286	0,333	0,333	0,392	1,000									
T7	0,316	0,382	0,360	0,377	0,432	0,534	1,000								
T8	0,338	0,333	0,288	0,309	0,456	0,439	0,464	1,000							
T9	0,421	0,473	0,395	0,429	0,600	0,432	0,488	0,479	1,000						
T10	0,548	0,540	0,567	0,485	0,543	0,405	0,486	0,453	0,520	1,000					
T11	0,493	0,464	0,485	0,478	0,514	0,421	0,520	0,448	0,553	0,656	1,000				
T12	0,922	0,569	0,630	0,508	0,478	0,342	0,316	0,338	0,421	0,548	0,493	1,000			
T13	0,569	0,886	0,679	0,632	0,609	0,286	0,382	0,333	0,473	0,540	0,464	.569	1,000		
T14	0,342	0,286	0,333	0,333	0,392	0,957	0,534	0,439	0,432	0,405	0,421	0,342	0,286	1,000	
T15	0,316	0,382	0,360	0,377	0,432	0,534	0,986	0,464	0,488	0,486	0,520	0,316	0,382	0,534	1,000

**Şekil 4.4.** Tortum popülasyonunun OPW01 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

4.1.3. Oltu popülasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar

Çalışılan RAPD primerleri, popülasyon bireyleri arasında molekül büyüklüğü 50-750 bp arasında değişen toplam 86 bant oluşturmuştur (Çizelge 4.7). Çalışılan bütün primerlerin polimorfik olduğu gözlenmiştir ve polimorfik bant sayısı 86, polimorfizm oranı ise %60,56 olarak tespit edilmiştir. Oltu popülasyonu için hesaplanan genetik farklılaşma değeri $H=0,2381$, Shannon'un bilgi indeksi ise $I=0,3488$ olarak

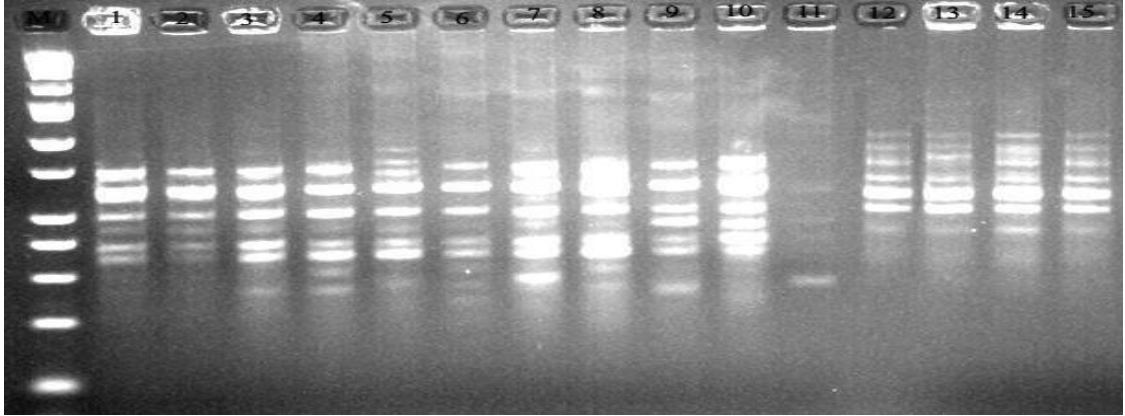
belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Jaccard'ın benzerlik indeksi ile oluşturulan dendrogram sonuçlarına göre bireyler iki grupta toplanmıştır (Şekil 4.5). 1. Grup kendi içinde iki alt gruba ayrılmıştır. Oltu popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,293 ile 0,965 arasında değişmektedir (Çizelge 4.3).



Şekil 4. 5. Oltu popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı

Çizelge 4.3. Oltu popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

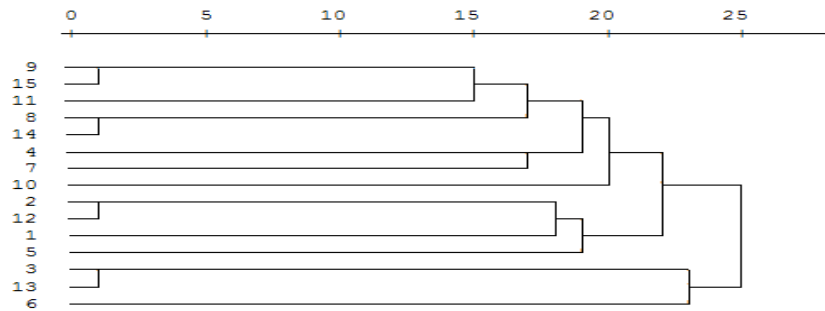
	O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O9	O10	O11	O12	O13	O14	O15
O1	1.000														
O2	0,846	1.000													
O3	0,693	0,649	1.000												
O4	0,724	0,724	0,769	1.000											
O5	0,568	0,549	0,654	0,663	1.000										
O6	0,453	0,434	0,468	0,519	0,568	1.000									
O7	0,602	0,565	0,628	0,655	0,750	0,525	1.000								
O8	0,679	0,701	0,663	0,753	0,683	0,463	0,735	1.000							
O9	0,421	0,459	0,474	0,526	0,494	0,590	0,513	0,587	1.000						
O10	0,520	0,520	0,494	0,524	0,494	0,471	0,549	0,582	0,645	1.000					
O11	0,293	0,311	0,405	0,385	0,405	0,284	0,358	0,403	0,393	0,358	1.000				
O12	0,846	0,975	0,649	0,724	0,549	0,434	0,565	0,701	0,459	0,520	0,311	1.000			
O13	0,693	0,649	0,965	0,769	0,654	0,468	0,628	0,663	0,474	0,494	0,405	0,649	1.000		
O14	0,568	0,549	0,654	0,663	0,897	0,568	0,750	0,683	0,494	0,494	0,405	0,549	0,654	1.000	
O15	0,453	0,434	0,468	0,519	0,568	0,889	0,525	0,463	0,590	0,471	0,284	0,434	0,468	0,568	1.000



Şekil 4.6. Oltu populasyonunun OPY07 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

4.1.4. Erzurum (merkez) populasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar

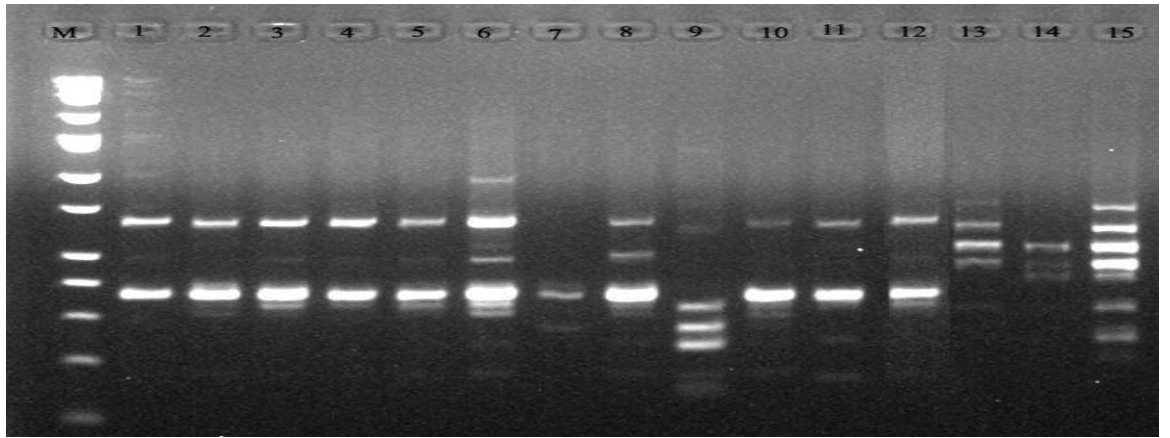
Çalışılan RAPD primerleri, populasyon bireyleri arasında molekül büyüklüğü 50-750 bp arasında değişen toplam 61 bant oluşturmuştur (Çizelge 4.7). Çalışılan bütün primerlerin polimorfik olduğu gözlenmiştir ve polimorfik bant sayısı 61, polimorfizm oranı ise %42,96 olarak tespit edilmiştir. Erzurum populasyonu için hesaplanan genetik farklılaşma değeri $H=0,1672$, Shannon'un bilgi indeksi ise $I=0,2463$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Jaccard'ın benzerlik indeksi ile oluşturulan dendrogram sonuçlarına göre tüm bireyler iki grupta toplanmıştır (Şekil 4.7). Birinci grup kendi arasında gruplara ayrılmıştır. Erzurum populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,152 ile 0,982 arasında değişmektedir (Çizelge 4.4).



Şekil 4.7. Erzurum (merkez) populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı

Çizelge 4.4. Erzurum (merkez) popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15
E1	1,000														
E2	0,463	1,000													
E3	0,306	0,344	1,000												
E4	0,333	0,277	0,205	1,000											
E5	0,349	0,459	0,206	0,349	1,000										
E6	0,244	0,343	0,308	0,214	0,286	1,000									
E7	0,396	0,296	0,213	0,510	0,333	0,271	1,000								
E8	0,365	0,314	0,227	0,340	0,327	0,234	0,500	1,000							
E9	0,321	0,404	0,152	0,346	0,280	0,239	0,509	0,540	1,000						
E10	0,435	0,292	0,167	0,375	0,333	0,178	0,434	0,352	0,412	1,000					
E11	0,479	0,367	0,200	0,420	0,300	0,289	0,500	0,418	0,571	0,431	1,000				
E12	0,463	0,965	0,344	0,277	0,459	0,343	0,296	0,314	0,404	0,292	0,367	1,000			
E13	0,306	0,344	0,982	0,205	0,206	0,308	0,213	0,227	0,152	0,167	0,200	0,344	1,000		
E14	0,365	0,314	0,227	0,340	0,327	0,234	0,500	0,925	0,540	0,352	0,418	0,314	0,227	1,000	
E15	0,321	0,404	0,152	0,346	0,280	0,239	0,509	0,540	0,896	0,412	0,571	0,404	0,152	0,540	1,000

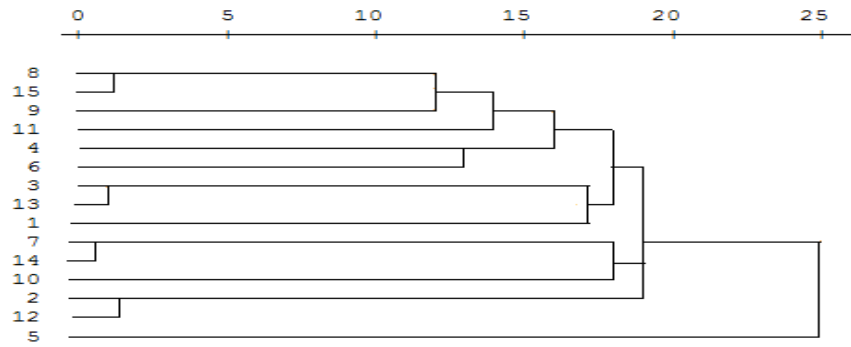


Şekil 4.8. Erzurum (merkez) popülasyonunun OPA01 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

4.1.5. İspir popülasyonunda RAPD profillerine göre elde edilen sonuçlar

Çalışılan RAPD primerleri, popülasyon bireyleri arasında molekül büyüklüğü 50-500 bp arasında değişen toplam 76 bant oluşturmuştur (Çizelge 4.7). Çalışılan bütün primerlerin polimorfik olduğu gözlenmiştir ve polimorfik bant sayısı 76, polimorfizm oranı ise %53,52 olarak tespit edilmiştir.

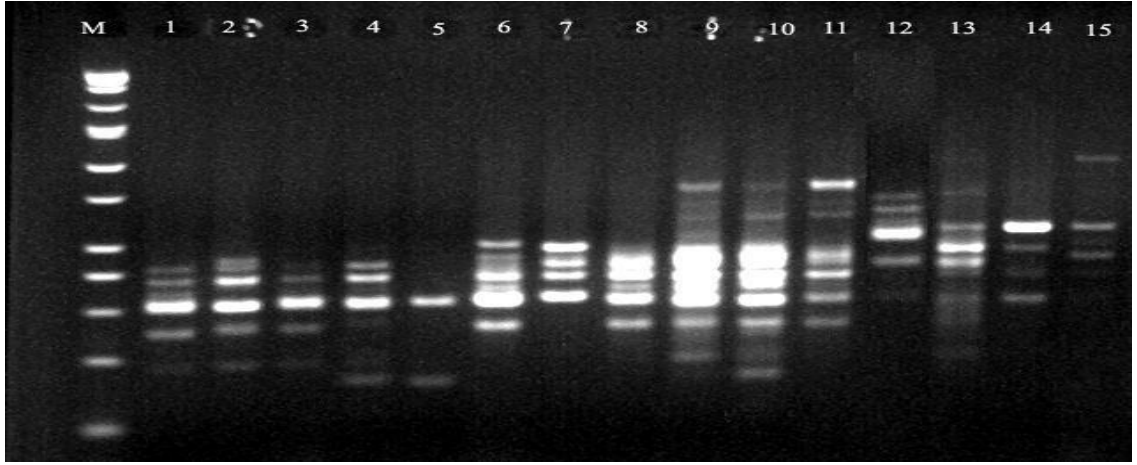
İspir popülasyonu için hesaplanan genetik farklılaşma değeri $H=0,1863$, Shannon'un bilgi indeksi ise $I=0,2801$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Jaccard'ın benzerlik indeksi ile oluşturulan dendrogram sonuçlarına göre tüm bireyler iki grupta toplanmıştır (Şekil 4.9). Her bir grupta kendi içinde gruplara ayrılmıştır. İspir popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik benzerlik indeksi 0,143 ile 0,987 arasında değişmektedir (Çizelge 4.5).



Şekil 4.9. İspir popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki genotipik bağlantı

Çizelge 4.5. İspir popülasyonuna ait bireyler arasındaki genetik benzerlik indeksi

	İ1	İ2	İ3	İ4	İ5	İ6	İ7	İ8	İ9	İ10	İ11	İ12	İ13	İ14	İ15
İ1	1,000														
İ2	0,333	1,000													
İ3	0,491	0,490	1,000												
İ4	0,450	0,473	0,474	1,000											
İ5	0,174	0,143	0,275	0,229	1,000										
İ6	0,421	0,415	0,472	0,593	0,178	1,000									
İ7	0,412	0,375	0,438	0,453	0,257	0,420	1,000								
İ8	0,534	0,361	0,433	0,516	0,196	0,544	0,436	1,000							
İ9	0,515	0,382	0,448	0,522	0,161	0,523	0,406	0,646	1,000						
İ10	0,404	0,426	0,429	0,418	0,250	0,412	0,432	0,429	0,422	1,000					
İ11	0,431	0,406	0,429	0,521	0,172	0,500	0,409	0,571	0,613	0,424	1,000				
İ12	0,333	0,890	0,490	0,473	0,143	0,415	0,375	0,361	0,382	0,426	0,406	1,000			
İ13	0,491	0,490	0,987	0,474	0,275	0,472	0,438	0,433	0,448	0,429	0,429	0,490	1,000		
İ14	0,412	0,375	0,438	0,453	0,257	0,420	0,924	0,436	0,406	0,432	0,409	0,375	0,438	1,000	
İ15	0,534	0,361	0,433	0,516	0,196	0,544	0,436	0,898	0,646	0,429	0,571	0,361	0,433	0,436	1,000



Şekil. 4.10. İspir popülasyonunun OPW06 RAPD primerine karşı oluşturduğu amplifikasyon ürünleri

Nei (1972)'ye göre popülasyonlar arasındaki genetik mesafe değerleri 0,0937 (Erzurum(merkez)-Aşkale) ile 0,2091 (Oltu-İspir) arasındadır. Böylece genetik olarak en uzak popülasyonların Oltu ve İspir, birbirine en yakın popülasyonların ise Erzurum ve Aşkale popülasyonları olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6). Genetik benzerlik verileri genetik mesafe değerleri ile tamamen uyumlu çıkmıştır. Beklendiği gibi Oltu ve İspir popülasyonları en az benzerlik gösteren popülasyonlarken (0,1294), Erzurum (merkez) ve Aşkale popülasyonları ise genetik benzerlik değerleri bakımından birbirine en yakın popülasyonlardır (0,9105). Genetik mesafe değerleri ile oluşturulan dendrogramda iki kümelenme gözlenmiştir (Şekil 4.11). Aşkale, Tortum, Oltu, Erzurum (merkez) popülasyonları bir grupta ve İspir popülasyonu da diğer grupta yer almıştır. I. Grupta kendi içinde Aşkale, Erzurum (merkez), Oltu ve Tortum grubu şeklinde ikiye ayrılmıştır. Popülasyonlar için ortalama polimorfik lokus yüzdesi %55,35 gözlenen allel sayısı 1,5535, ortalama etkili allel sayısı 1,3533 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Popülasyonlar arasındaki gen akışı değeri (Nm) 0,6032, genetik farklılaşma değeri (Gst) 0,293 olarak hesaplanmıştır ($Nm=0,25 \times (1-GST)/GST$).

Çizelge 4.6. Genetik mesafe ve genetik benzerlik hesaplamaları (Nei 1972)

Populasyon	Aşkale	Oltu	Tortum	Erzurum (merkez)	İspir
Aşkale	****	0,8244	0,8386	0,9105	0,8759
Oltu	0,1931	****	0,9038	0,8568	0,8113
Tortum	0,1760	0,1011	****	0,9020	0,8786
Erzurum (merkez)	0,0937	0,1545	0,1031	****	0,8541
İspir	0,1326	0,2091	0,1294	0,1577	****

Çizelge 4.7. Tüm lokuslar için genetik varyasyon analizleri (Nei 1978)

Populasyon	Örnek Sayısı	Na	Ne	H	I	P	%P
Aşkale	15	1,5915	1,3391	0,2019	0,3048	84	59,15
Oltu	15	1,6056	1,4208	0,2381	0,3488	86	60,56
Tortum	15	1,6056	1,4042	0,2330	0,3437	86	60,56
Erzurum (merkez)	15	1,4296	1,2891	0,1672	0,2463	61	42,96
İspir	15	1,5352	1,3135	0,1863	0,2801	76	53,52
Ortalama	15	1,5535	1,3533	0,2053	0,3047	78,6	55,35

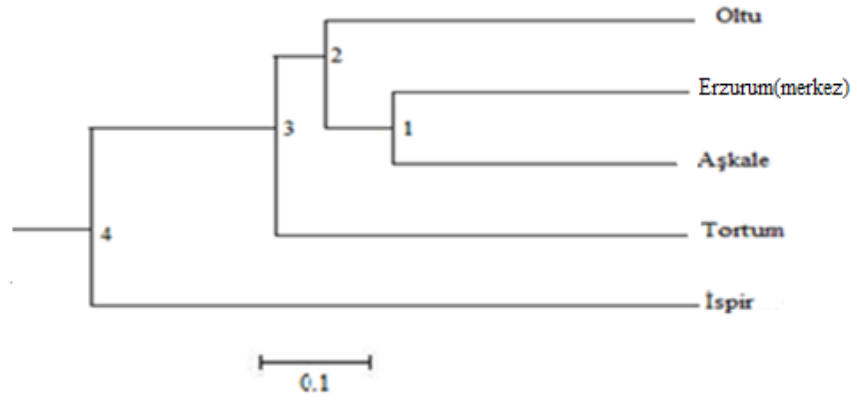
Na, Her örnek için gözlenen allel sayısı

Ne, etkili allel sayısı

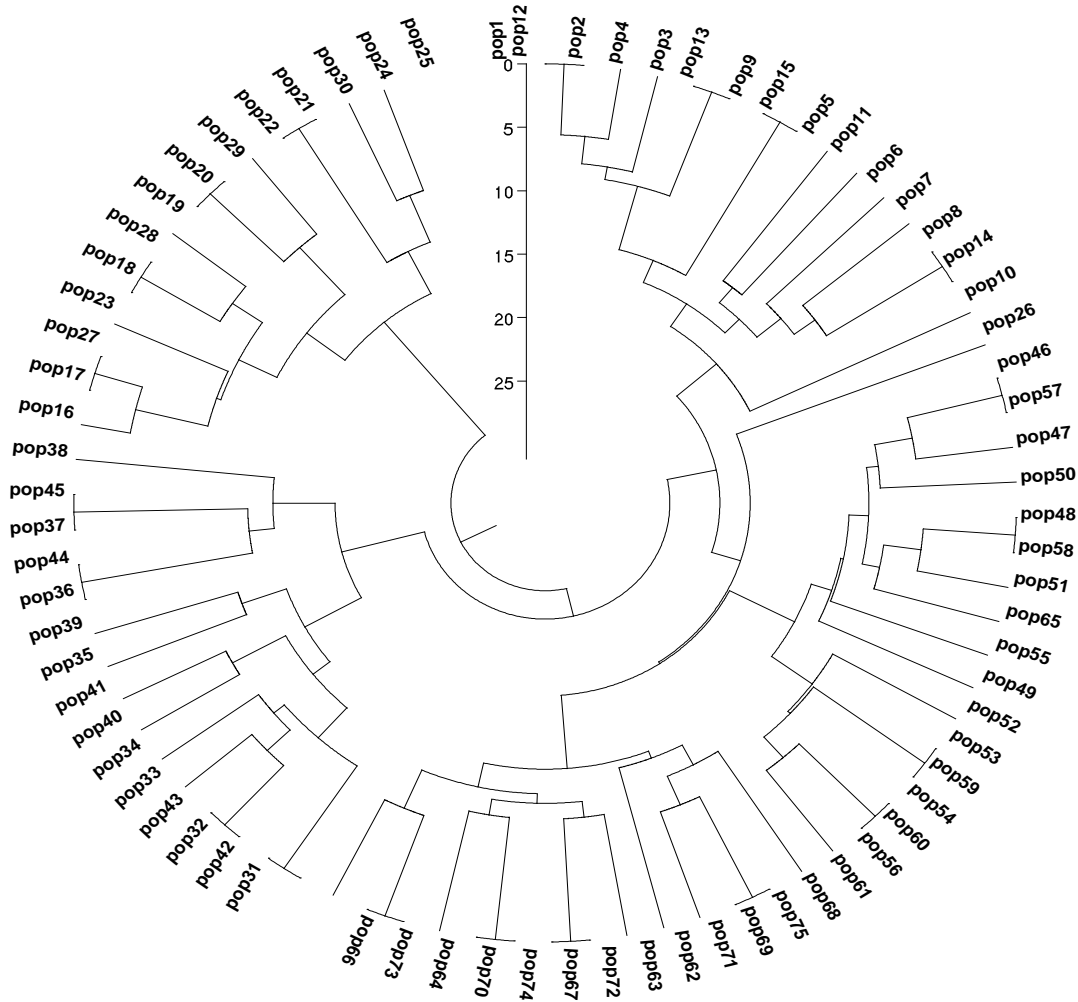
H, Nei'nin genetik çeşitliliği

I, Shanon information indeksi

P, Polimorfik bant sayısı



Şekil 4.11. Nei (1972)'ye göre *C. arvensis* populasyonları arasındaki genotipik bağlantı

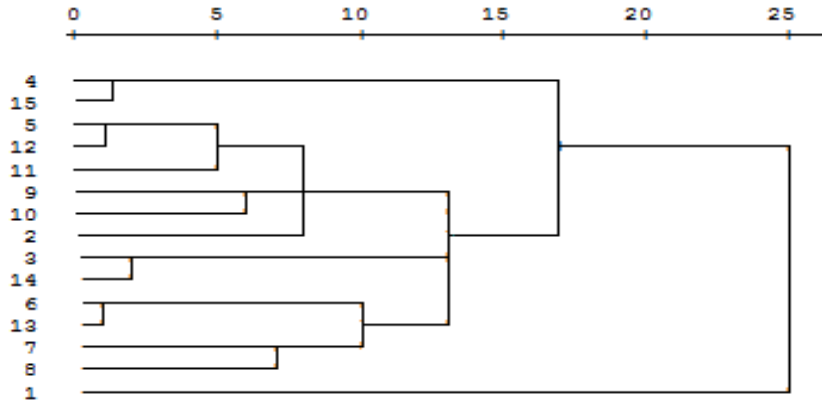


Şekil 4.12. Nei (1972)'ye göre *C. arvensis* bireyleri arasındaki genotipik bağlantı

4.2. FAMES Profillerine Göre Elde Edilen Sonuçlar

4.2.1. Aşkale popülasyonunda FAMES profillerine göre elde edilen sonuçlar

Aşkale popülasyonunun % olarak yağ asidi içeriği çizelge 4.8’de verilmiştir. Çizelgeye göre popülasyonun 21 çeşit yağ asidi içerdiği ve yağ asidi oranlarının %0,55 (16:1 Cis Alkol w7) ile %65,13 (18:1w8c/18:3w3c) arasında değiştiği görülmektedir. 18:1 w7c DMA yağ asiti sadece 9, C23 Primer Alkol yağ asiti ise sadece 3 numaralı bireyde görülmektedir. . 16:1 Cis 7DMA(w9) ,16:1 Cis 7DMA(w9),18:2w6c, 18:1w8c/18:3w3c sadece 1 nolu bireyde, belirlenmemiştir. 18:3 w6c yalnızca 4 numaralı bireyde yoktur. 18:1w8c/18:3w3c ise 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 nolu bireylerde oldukça yüksek oranda mevcut olup (%51,97-%65,13) sadece 1 nolu bireyde bulunmamaktadır. C23Primer Alkol yalnızca 3 numaralı bireyde çok az bir miktarda (%0,84) belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda bireyler üç gruba ayrılmıştır (Şekil 4.13). Aşkale popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,121 ile 0,922 arasında değişmektedir (Çizelge 4.9).



Şekil 4.13. Aşkale popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.8. Aşkale populasyonunun yağ asidi içeriği

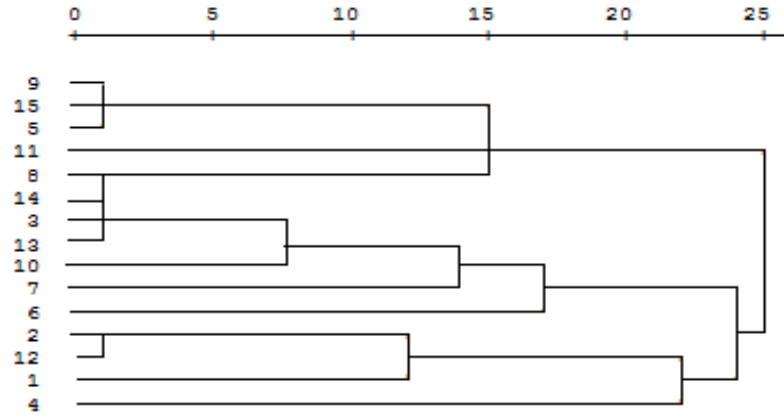
Yağ Asitleri/bitki	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
18:3 w6c	31,86	1,20	3,61	--	2,05	2,87	2,08	2,35	1,42	2,32	2,03	2,01	2,57	3,01	--
16:1 Cis Alkol w7	--	--	0,59	--	0,68	--	--	--	0,75	--	0,55	0,62	--	0,52	--
16:0	--	17,17	12,18	16,44	14,88	15,19	14,81	10,03	14,24	16,79	14,53	14,22	15,12	12,02	16,04
16:1 Cis7DMA(w9)	--	2,23	3,30	3,07	2,49	3,57	2,51	3,37	1,56	1,23	1,78	2,30	3,21	3,05	3,21
C17Primer Alkol	20,43	--	2,52	--	--	3,01	1,44	2,52	--	--	--	--	3,05	2,12	--
C25 N Alkol	--	3,49	--	--	1,01	--	--	--	--	--	--	1,12	--	--	--
18:1 w9t Alkol	--	--	2,89	3,46	3,61	--	2,45	2,43	--	--	2,47	3,42	--	2,76	3,03
18:2 w6c	--	8,65	5,87	9,20	5,87	7,58	7,79	6,09	6,66	9,86	6,51	5,75	7,12	5,36	9,47
C20 N Alkol	11,14	--	0,74	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0,52	--
18:1 w7c DMA	--	--	--	--	--	--	--	--	1,29	--	--	--	--	--	--
18:0	--	2,73	1,79	--	1,67	2,41	--	--	1,34	1,90	1,75	1,32	2,09	1,57	--
19:1 w8t	--	--	1,56	--	1,32	3,11	1,41	1,92	1,42	1,56	--	1,01	3,01	1,36	--
21:0 ISO	--	4,61	8,53	8,71	6,27	15,34	5,48	12,83	9,11	4,19	3,86	6,02	15,05	8,47	8,21
17:0 Alkol	--	--	2,52	--	--	3,01	1,44	--	--	--	--	--	3,07	2,12	--
C16 N Alkol	20,56	1,34	1,49	--	0,96	0,94	1,40	--	0,73	1,51	1,38	0,86	0,76	1,21	--
18:1w8c/18:3w3c	--	58,60	51,97	52,57	59,19	45,99	51,58	50,02	61,49	60,63	65,13	50,21	40,32	50,90	52,12
11:0 ISO 3OH	--	--	0,84	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0,75	--
18:1 w3c	--	--	--	6,56	--	--	5,82	5,15	--	--	--	--	--	--	6,06
C22Primer Alkol	8,46	--	0,78	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0,72	--
C23Primer Alkol	--	--	0,84	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
ISO 17:1G	--	--	--	--	--	3,21	--	3,29	--	--	--	--	3,05	--	--

Çizelge 4.9. Aşkale popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15
A1	1,000														
A2	0,167	1,000													
A3	0,294	0,444	1,000												
A4	0,132	0,455	0,333	1,000											
A5	0,133	0,750	0,611	0,462	1,000										
A6	0,214	0,615	0,611	0,357	0,600	1,000									
A7	0,214	0,500	0,611	0,583	0,600	0,714	1,000								
A8	0,140	0,429	0,474	0,636	0,533	0,643	0,769	1,000							
A9	0,143	0,667	0,556	0,385	0,769	0,643	0,533	0,467	1,000						
A10	0,167	0,800	0,529	0,455	0,750	0,750	0,615	0,538	0,818	1,000					
A11	0,154	0,727	0,588	0,545	0,833	0,571	0,571	0,500	0,750	0,727	1,000				
A12	0,133	0,750	0,611	0,462	0,885	0,600	0,600	0,533	0,769	0,750	0,833	1,000			
A13	0,214	0,615	0,611	0,357	0,600	0,852	0,714	0,643	0,643	0,750	0,571	0,600	1,000		
A14	0,313	0,471	0,850	0,353	0,647	0,647	0,647	0,500	0,588	0,563	0,625	0,647	0,647	1,000	
A15	0,121	0,455	0,333	0,922	0,462	0,357	0,583	0,636	0,385	0,455	0,545	0,462	0,357	0,353	1,000

4.2.2. Tortum popülasyonunda FAMEs profillerine göre elde edilen sonuçlar

Tortum popülasyonunun % olarak yağ asidi içeriği çizelge 4.10 da verilmiştir. Çizelgeye göre popülasyonun 16 çeşit yağ asidi içerdiği ve yağ asidi oranlarının %0,58 (C16 N Alkol) ile %62,61 (18:1w8c/18:3w3c) arasında değiştiği görülmektedir. Bireylerin tamamı 16:0, 18:2 w6c, 21:0 ISO, 18:1w8c/18:3w3c yağ asitlerini içermektedir. C17 Primer Alkol 17:0 Alkol yağ asitleri sadece 4 numaralı bireyde, 19:1 w8t yağ asiti ise yalnızca 7 nolu bireyde görülmektedir. 16:1 w9c yağ asiti bütün bireylerde oldukça yüksek oranda (%41,65-%62,61) bulunmaktadır. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda bireyler iki gruba ayrılmıştır (Şekil 4.14). Tortum popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,435 ile 0,880 arasında değişmektedir (Çizelge 4.11).



Şekil 4.14. Tortum populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.10. Tortum popülasyonunun yağ asidi içeriği

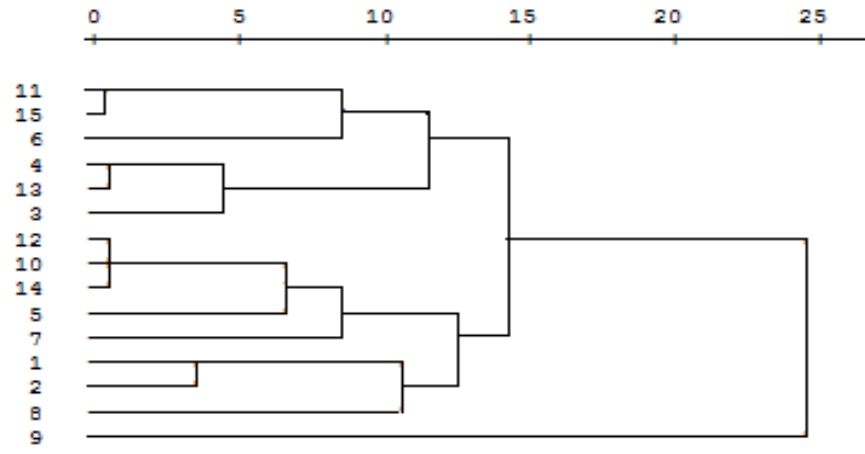
Yağ Asitleri/bitki	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
18:3 w6c	3,67	4,58	2,97	3,53	--	3,97	3,03	2,16	--	2,10	--	4,01	2,27	2,07	--
14:0	--	1,08	--	--	--	--	--	--	--	--	--	1,25	--	--	--
16:1 Cis Alkolw7	--	--	--	--	1,90	--	--	--	0,99	--	--	--	--	--	0,95
16:0	27,52	21,06	22,27	21,17	30,65	24,51	17,55	20,49	20,99	23,83	19,46	21,01	22,02	20,15	20,71
16:1 Cis7DMA(w9)	2,02	1,88	1,77	1,65	--	2,44	3,53	--	--	--	--	1,02	1,67	--	--
C17Primer Alkol	--	--	--	1,52	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C25 N Alkol	--	--	--	--	--	3,25	--	--	--	--	2,41	--	--	--	--
18:1 w9t Alkol	3,43	--	3,16	2,55	5,56	4,47	3,04	2,24	2,96	3,19	3,02	--	3,16	2,42	2,76
18:2 w6c	11,14	9,71	7,79	10,33	12,31	10,21	9,79	10,38	8,11	9,46	7,99	9,52	7,25	10,22	8,05
18:0	3,23	2,19	--	2,51	4,78	--	3,07	2,84	1,89	--	2,58	2,05	--	2,65	1,98
19:1 w8t	--	--	--	--	--	--	2,67	--	--	--	--	--	--	--	--
21:0 ISO	4,87	2,70	6,91	4,40	2,54	3,00	12,37	3,95	1,41	1,94	1,93	2,02	6,71	3,74	1,72
17:0 Alkol	--	--	--	1,52	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
C16 N Alkol	0,88	0,58	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0,12	--	--	--
18:1w8c/18:3w3c	43,24	55,06	45,52	52,35	42,26	48,14	35,89	57,93	61,75	48,00	62,61	52,06	35,52	53,63	41,65
18:1 w3c	--	--	9,60	-	--	--	9,07	--	--	11,49	--	--	8,60	--	--

Çizelge 4.11. Tortum popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15
T1	1,000														
T2	0,800	1,000													
T3	0,700	0,545	1,000												
T4	0,727	0,583	0,636	1,000											
T5	0,600	0,455	0,500	0,545	1,000										
T6	0,700	0,545	0,778	0,636	0,500	1,000									
T7	0,727	0,583	0,800	0,667	0,545	0,636	1,000								
T8	0,778	0,600	0,667	0,700	0,750	0,667	0,700	1,000							
T9	0,600	0,455	0,500	0,545	0,840	0,500	0,545	0,750	1,000						
T10	0,600	0,455	0,875	0,545	0,556	0,667	0,700	0,750	0,556	1,000					
T11	0,600	0,455	0,500	0,545	0,750	0,667	0,545	0,750	0,750	0,556	1,000				
T12	0,800	0,850	0,545	0,583	0,455	0,545	0,583	0,600	0,455	0,455	0,455	1,000			
T13	0,700	0,545	0,880	0,636	0,500	0,778	0,800	0,667	0,500	0,870	0,500	0,545	1,000		
T14	0,778	0,600	0,667	0,700	0,750	0,667	0,700	0,832	0,750	0,750	0,750	0,600	0,667	1,000	
T15	0,600	0,435	0,500	0,545	0,862	0,500	0,545	0,750	0,856	0,556	0,750	0,455	0,500	0,750	1,000

4.2.3. Oltu popülasyonunda FAMEs profillerine göre elde edilen sonuçlar

Oltu popülasyonunun % olarak yağ asidi içeriği çizelge 4.12 de verilmiştir. Çizelgeye göre popülasyonun 36 çeşit yağ asidi içerdiği ve yağ asidi oranlarının %0,34 (16:1 Cis Alkol w7) ile %64,07 (18:1w8c/18:3w3c) arasında değiştiği görülmektedir. Bireylerin tamamı 18:3 w6c, 16:0, 18:2 w6c,18:0,21:0 ISO,18:1w8c/18:3w3c yağ asitlerini içermektedir. 12:0 ISO, C25 N Alkol,12:1 w7c,16:2 w6c,18:1 w7c DMA,14:1 w8c,10:0 3OH,11:0 ISO 3OH,17:0 Antesyo,18:1 w3c,19:2 w6c,18:1 2OH, Cis 9 10epoksi 18:0, C22Primer Alkol, 21:0 2OH, 24:1w9cAlkol ve 24:0 yağ asitleri sadece 9 nolu bireyde belirlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucuna göre bireyler üç grup altında toplanmıştır (Şekil 4.15). Oltu popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,242 ile 0,889 arasında değişmektedir (Çizelge 4.13).



Şekil 4.15. Oltu popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.12. Oltu populasyonunun yağ asidi içeriği

Yağ Asitleri/bitki	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
18:3 w6c	1,01	1,07	2,34	2,76	5,30	2,05	3,09	3,70	1,77	8,93	1,69	2,25	2,82	7,92	1,56
14:0	--	--	--	--	--	--	0,66	--	0,65	--	--	--	--	--	--
16:1 Cis Alkolw7	0,57	0,60	2,78	1,69	--	--	--	0,71	0,34	--	0,50	2,05	1,51	--	0,40
16:0	14,41	14,56	12,71	12,25	17,43	23,76	14,13	15,63	9,89	17,80	15,35	12,07	12,05	14,60	14,05
16:1 Cis7DMA(w9)	1,35	1,83	--	--	2,10	2,18	2,21	0,94	1,02	2,12	1,15	--	--	2,03	1,51
12:0 ISO	--	--	--	--	--	--	--	--	0,87	--	--	--	--	--	--
C17Primer Alkol	--	--	2,06	1,58	--	--	0,85	0,89	--	2,50	0,74	1,06	1,47	1,50	0,82
C25 N Alkol	--	--	--	--	--	--	--	--	1,87	--	--	--	--	--	--
18:1 w9t Alkol	--	--	2,16	1,79	--	3,36	--	--	1,34	--	2,11	1,46	1,52	--	2,07
18:2 w6c	12,05	9,94	11,99	9,63	7,46	9,00	10,58	10,47	7,05	11,63	9,36	10,92	9,78	7,53	9,65
12:1 w7c	--	--	--	--	--	--	--	--	1,12	--	--	--	--	--	--
C20 N Alkol	--	--	0,91	1,02	1,65	--	0,99	--	0,68	1,71	--	0,98	1,07	1,01	--
16:2 w6c	--	--	--	--	--	--	--	--	0,46	--	--	--	--	--	--
18:1 w7c DMA	--	--	--	--	--	--	--	--	0,42	--	--	--	--	--	--
18:0	2,27	2,42	1,81	1,29	2,56	2,69	1,26	2,41	0,93	1,67	1,18	1,16	1,62	1,43	1,43
19:1 w8t	--	--	1,49	1,34	--	1,68	--	--	--	--	0,77	1,08	1,21	--	0,85
21:0 ISO	4,56	5,51	5,78	5,87	3,49	5,02	2,93	3,16	2,71	4,14	2,62	3,79	2,97	4,03	2,41
17:0 Alkol	--	--	2,06	1,58	--	--	0,85	--	--	--	--	1,06	1,50	--	--
14:1 w8c	--	--	--	--	--	--	--	--	0,61	--	--	--	--	--	--
C16 N Alkol	--	--	0,62	0,69	3,23	--	1,10	0,60	0,92	2,79	1,18	0,72	0,65	2,01	1,36
18:1w8c/18:3w3c	62,49	64,07	54,30	57,89	56,78	50,26	62,21	60,64	38,72	45,28	63,35	44,50	47,87	43,08	58,35
17:0 Alkol	--	--	--	--	--	--	--	0,89	0,95	--	--	--	--	--	--

Çizelge 4.12 devamı

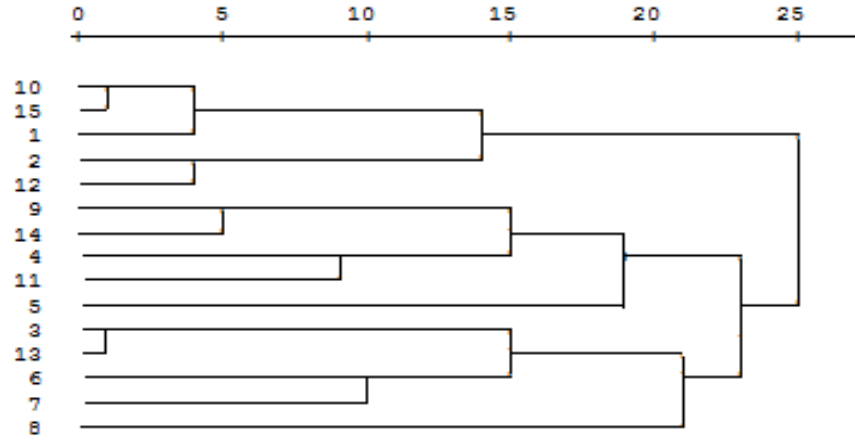
10:0 3OH	--	--	--	--	--	--	--	--	5,72	--	--	--	--	--	--
11:0 ISO 3OH	--	--	--	--	--	--	--	--	0,23	--	--	--	--	--	--
17:0 Antesyo	--	--	--	--	--	--	--	--	0,87	--	--	--	--	--	--
18:1 w3c	--	--	--	--	--	--	--	--	5,81	--	--	--	--	--	--
19:2 w6c	--	--	--	--	--	--	--	--	1,31	--	--	--	--	--	--
19:1 w6c/19:0 cyclo	0,83	--	54,30	--	--	--	--	0,86	0,92	1,42	--	0,90	--	1,02	--
25:0	--	--	--	--	--	--	--	--	0,77	--	--	--	--	--	--
19:0 Alkol	--	--	1,05	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
18:1 2OH	--	--	--	--	--	--	--	--	0,65	--	--	--	--	--	--
Cis 9,10epoksi 18:0	--	--	--	--	--	--	--	--	2,11	--	--	--	--	--	--
C22Primer Alkol	--	--	--	--	--	--	--	--	0,57	--	--	--	--	--	--
21:0 2OH	--	--	--	--	--	--	--	--	0,74	--	--	--	--	--	--
24:1w9cAlkol	--	--	--	--	--	--	--	--	0,62	--	--	--	--	--	--
24:0	--	--	--	--	--	--	--	--	0,81	--	--	--	--	--	--

Çizelge 4.13. Oltu popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

	O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O9	O10	O11	O12	O13	O14	O15
O1	1,000														
O2	0,889	1,000													
O3	0,500	0,438	1,000												
O4	0,467	0,500	0,867	1,000											
O5	0,636	0,700	0,500	0,571	1,000										
O6	0,636	0,700	0,500	0,571	0,636	1,000									
O7	0,500	0,538	0,588	0,667	0,750	0,500	1,000								
O8	0,750	0,667	0,588	0,563	0,615	0,500	0,600	1,000							
O9	0,281	0,250	0,306	0,286	0,281	0,242	0,294	0,333	1,000						
O10	0,667	0,583	0,625	0,600	0,818	0,538	0,769	0,769	0,303	1,000					
O11	0,615	0,667	0,688	0,786	0,615	0,750	0,600	0,714	0,294	0,643	1,000				
O12	0,500	0,438	0,850	0,867	0,500	0,500	0,588	0,588	0,306	0,625	0,688	1,000			
O13	0,467	0,500	0,847	0,875	0,571	0,571	0,667	0,563	0,286	0,600	0,786	0,867	1,000		
O14	0,667	0,583	0,625	0,600	0,818	0,538	0,769	0,769	0,303	0,645	0,643	0,625	0,600	1,000	
O15	0,615	0,667	0,688	0,786	0,615	0,750	0,600	0,714	0,294	0,643	0,882	0,688	0,786	0,643	1,000

4.2.4. Erzurum (merkez) popülasyonunda FAMEs profillerine göre elde edilen sonuçlar

Erzurum popülasyonunun % olarak yağ asidi içeriği çizelge 4.14 de verilmiştir. Çizelgeye göre popülasyonun 20 çeşit yağ asidi içerdiği ve yağ asidi oranlarının %0,65 (C25 N Alkol) ile %70,22 (18:1w8c/18:3w3c) arasında değiştiği görülmektedir. Bireylerin tamamı 18:1w8c/18:3w3c ve 18:2 w6c yağ asitlerini içermektedir. 18:1 w9t Alkol yağ asidi 5 nolu birey hariç bütün bireylerde bulunmaktadır. 21:0 ISO yağ asidi ise 8 nolu birey hariç bütün bireylerde bulunmaktadır. C20 N Alkol yalnızca 2 nolu bireyde tespit edilmiştir. 18:1 w7c DMA yağ asidi ise yalnızca 9 nolu bulunmaktadır. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre tüm bireyler iki grupta toplanmıştır (Şekil 4.16). Erzurum popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,231 ile 0,885 arasında değişmektedir (Çizelge 4.15).



Şekil 4.16. Erzurum (merkez) populasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.14. Erzurum (merkez) popülasyonunun yağ asidi içeriği

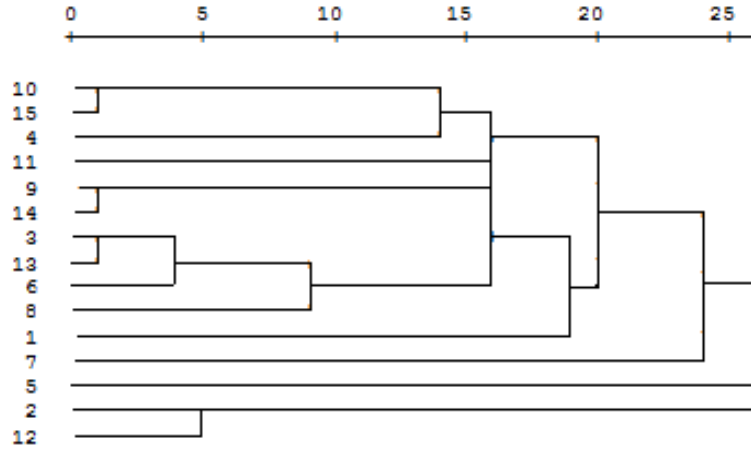
Yağ Asitleri/bitki	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
18:3 w6c	5,67	3,81	--	1,36	--	--	3,26	--	1,12	3,14	1,83	3,21	--	1,43	2,54
16:1 Cis Alkol w7	--	--	--	--	--	--	--	--	0,68	--	--	--	--	0,52	--
16:0	10,05	--	18,96	20,81	16,11	16,10	23,38	19,22	13,48	13,47	19,07	--	15,92	11,42	11,27
16:1 Cis 7DMA(w9)	4,42	2,26	--	1,62	1,34	1,57	--	--	1,10	3,27	2,42	2,35	--	1,70	3,07
C17 Primer Alkol	3,99	1,16	--	--	--	--	--	--	--	1,80	--	1,52	--	--	1,50
C25 N Alkol	5,95	--	2,19	--	--	--	--	--	--	0,83	--	--	2,63	--	0,65
18:1 w9t Alkol	2,28	2,49	2,28	3,93	--	3,40	3,58	2,63	2,94	2,60	3,27	2,25	2,12	2,57	2,43
18:2 w6c	4,93	7,43	12,37	8,80	7,11	7,80	7,36	9,67	8,58	7,06	5,82	6,42	9,38	8,42	5,03
C20 N Alkol	--	0,99	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
18:1 w7c DMA	--	--	--	--	--	--	--	--	1,06	--	--	--	--	--	--
18:0	--	--	--	1,63	1,37	--	--	--	--	--	1,75	--	--	--	--
19:1 w8t	--	1,05	--	2,09	--	--	--	--	--	--	--	1,26	--	--	--
21:0 ISO	6,38	3,06	1,61	8,11	3,86	5,47	4,01	--	3,57	5,20	5,72	3,75	5,60	3,62	5,48
17:0 Alkol	3,99	1,16	--	--	--	--	--	--	--	1,80	--	1,62	--	--	1,25
C16 N Alkol	3,62	12,93	--	--	--	--	--	--	--	0,70	--	5,93	--	--	5,60
18:1w8c/18:3w3c	41,85	52,89	59,88	51,65	70,22	59,99	47,98	62,07	67,48	51,93	57,01	45,79	49,89	57,28	49,73
18:1 w3c	10,85	10,27	2,71	--	--	2,62	8,54	--	--	4,75	--	8,25	2,51	--	4,32
19:1 w6c/19:0 cyclo	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	1,56	--	--	--	--
ISO 17:1G	--	--	--	--	--	3,05	1,89	--	--	--	--	--	--	--	--
18:4 w6c	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3,16	--	--	--	--	--

Çizelge 4.15. Erzurum (merkez) popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15
E1	1,000														
E2	0,714	1,000													
E3	0,583	0,357	1,000												
E4	0,500	0,500	0,455	1,000											
E5	0,385	0,286	0,444	0,667	1,000										
E6	0,538	0,429	0,667	0,545	0,556	1,000									
E7	0,538	0,429	0,667	0,545	0,400	0,778	1,000								
E8	0,333	0,231	0,571	0,444	0,429	0,500	0,500	1,000							
E9	0,500	0,400	0,455	0,636	0,500	0,545	0,545	0,444	1,000						
E10	0,870	0,667	0,538	0,467	0,357	0,500	0,500	0,308	0,467	1,000					
E11	0,500	0,400	0,455	0,800	0,667	0,545	0,545	0,444	0,636	0,467	1,000				
E12	0,769	0,872	0,385	0,538	0,308	0,462	0,462	0,250	0,429	0,714	0,429	1,000			
E13	0,583	0,357	0,880	0,455	0,444	0,667	0,667	0,571	0,455	0,538	0,455	0,385	1,000		
E14	0,538	0,429	0,500	0,700	0,556	0,600	0,600	0,500	0,881	0,500	0,700	0,462	0,500	1,000	
E15	0,923	0,667	0,538	0,467	0,357	0,500	0,500	0,308	0,467	0,885	0,467	0,714	0,538	0,500	1,000

4.2.5. İspir popülasyonunda FAMES profillerine göre elde edilen sonuçlar

İspir popülasyonunun % olarak yağ asidi içeriği çizelge 4.16'de verilmiştir. Çizelgeye göre popülasyonun 21 çeşit yağ asidi içerdiği ve yağ asidi oranlarının %0,67 (17:0 Alkol) ile %60,80 (18:1w8c/18:3w3c) arasında değiştiği görülmektedir. Bireylerin tamamı 18:1w8c/18:3w3c, 21:0 ISO, 18:2 w6c, ve 18:3 w6c yağ asitlerini bulundurmaktadır. 18:1w8c/18:3w3c diğer popülasyonlardada olduğu gibi bütün bireylerde oldukça yüksek oranda bulunmaktadır. 18:1 w3c ve ISO 17:1 G yağ asitleri sırasıyla sadece 5 nolu bireyde belirlenmiştir. C25 N Alkol yağ asidi ise yalnızca 2 nolu bireyde gözlenmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre bireyler bir grupta toplanmıştır (Şekil 4.17). İspir popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi 0,345 ile 0,960 arasında değişmektedir (Çizelge 4.17).



Şekil 4.17. İspir popülasyonunu oluşturan bireyler arasındaki biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.16. İspir popülasyonunun yağ asidi içeriği

Yağ Asitleri/bitki	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
18:3 w6c	1,84	3,25	1,59	2,03	0,99	1,75	3,50	2,13	0,84	2,24	3,03	3,05	1,79	0,72	1,34
16:1 Cis Alkol w7	0,93	1,07	1,03	--	--	0,50	--	0,66	0,89	0,54	--	0,77	1,01	0,63	0,72
16:0	22,47	--	21,88	--	12,54	19,59	13,75	17,13	20,23	17,18	14,76	--	15,89	18,20	15,13
16:1 Cis 7DMA(w9)	0,99	--	1,01	2,92	1,19	1,22	2,29	1,61	0,88	1,81	1,65	--	1,07	0,66	1,05
C17 Primer Alkol	--	1,32	0,88	1,21	0,94	0,77	--	1,71	--	0,69	1,63	1,21	0,75	--	0,62
C25 N Alkol	--	1,03	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
18:1 w9t Alkol	3,31	2,36	3,79	2,02	2,04	2,51	--	--	3,11	2,45	2,19	2,06	3,06	2,01	2,05
18:2 w6c	9,64	14,68	11,02	8,57	6,26	8,56	7,99	9,71	10,81	9,23	10,58	8,67	8,02	8,80	7,25
C20 N Alkol	0,75	1,02	--	--	--	--	1,11	--	--	--	--	1,05	--	--	--
18:0	2,46	1,87	1,71	--	--	1,65	1,37	1,92	1,84	1,88	--	1,54	1,56	1,43	1,62
19:1 w8t	--	0,95	--	2,05	1,22	1,70	--	--	--	1,37	--	0,98	--	--	1,07
21:0 ISO	1,87	2,96	2,38	8,13	7,29	6,92	13,36	2,98	1,08	3,49	2,67	2,75	2,47	1,02	3,42
17:0 Alkol	--	--	0,88	--	0,94	0,77	--	1,71	--	--	--	--	0,78	--	--
C16 N Alkol	0,76	--	0,51	0,47	--	1,17	1,85	0,99	--	1,22	0,89	--	0,77	--	1,25
18:1w8c/18:3w3c	52,58	47,78	53,56	51,22	60,80	52,93	52,81	59,95	59,89	57,04	62,60	45,72	43,46	55,69	52,04
17:0 Antesyo	--	--	--	1,21	--	--	--	--	--	0,69	1,63	--	--	--	0,67
18:1 w3c	--	--	--	6,49	4,42	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
19:1 w6c/19:0 cyclo	--	--	--	--	--	--	1,98	1,20	--	--	--	--	--	--	--
C22Primer Alkol	0,76	--	--	1,34	--	--	--	--	--	0,86	--	--	--	--	0,82
28:0	0,88	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
ISO 17:1 G	--	--	--	--	2,29	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

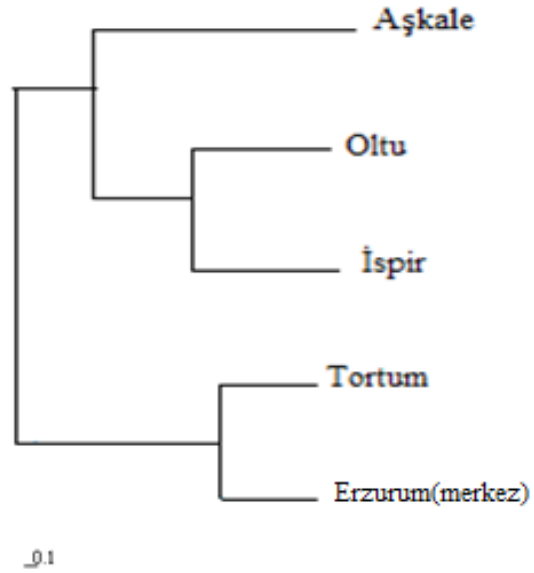
Çizelge 4.17. İspir popülasyonuna ait bireyler arasındaki biyokimyasal benzerlik indeksi

	İ1	İ2	İ3	İ4	İ5	İ6	İ7	İ8	İ9	İ10	İ11	İ12	İ13	İ14	İ15
İ1	1,000														
İ2	0,500	1,000													
İ3	0,667	0,533	1,000												
İ4	0,471	0,438	0,500	1,000											
İ5	0,389	0,438	0,600	0,600	1,000										
İ6	0,625	0,600	0,923	0,563	0,667	1,000									
İ7	0,643	0,400	0,571	0,345	0,375	0,533	1,000								
İ8	0,563	0,438	0,846	0,412	0,500	0,786	0,692	1,000							
İ9	0,692	0,538	0,750	0,400	0,500	0,692	0,583	0,615	1,000						
İ10	0,688	0,563	0,733	0,733	0,529	0,800	0,500	0,625	0,643	1,000					
İ11	0,533	0,400	0,692	0,692	0,571	0,643	0,538	0,571	0,583	0,714	1,000				
İ12	0,533	0,909	0,571	0,467	0,467	0,643	0,429	0,467	0,583	0,600	0,429	1,000			
İ13	0,667	0,533	0,943	0,500	0,600	0,923	0,571	0,846	0,750	0,733	0,692	0,571	1,000		
İ14	0,692	0,538	0,750	0,400	0,500	0,692	0,583	0,615	0,952	0,643	0,583	0,583	0,750	1,000	
İ15	0,688	0,563	0,733	0,733	0,529	0,800	0,500	0,625	0,643	0,960	0,714	0,600	0,733	0,643	1,000

FAMEs profil sonuçlarına bakıldığında Aşkale popülasyonunda 21, tortum popülasyonunda 16, Erzurum (merkez) popülasyonunda 20 ve ispir popülasyonunda 21 çeşit yağ asiti görülmüştür. 18:4 w6c yağ asiti sadece Erzurum popülasyonunda, 28:0 yağ asiti ise yalnızca ispir popülasyonunda bulunmaktadır. Oltu popülasyonu 36 yağ asiti çeşiti ile diğer popülasyonlardan farklılık göstermiştir. 12:0 ISO,12:1 w7c, 16:2 w6c, 14:1 w8c, 17:0 Alkol, 10:0 3OH, 19:2 w6c, 19:1 w6c/19:0 cyclo, 25:0, 19:0 Alkol, 18:1 2OH, Cis 9,10 epoksi 18:0, 21:0 2OH,24:1w9c Alkol yağ asitlerine yalnızca oltu popülasyonunda rastlanmıştır.

FAMEs profillerine göre popülasyonlar 2 ana grupta toplanmıştır (Şekil 4.18). Aşkale, Oltu ve İspir popülasyonları I. Grupta, Tortum ve Erzurum (merkez) popülasyonları II. Grupta toplanmıştır. Birinci grup kendi arasında Aşkale popülasyonu ve Oltu, İspir

populasyonları olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Biyokimyasal uzaklık indeksine göre Oltu ve Erzurum (0,0617) birbirine en uzak populasyonlardır (Çizelge 4.18)



Şekil 4.18. Populasyonlar arası biyokimyasal bağlantı

Çizelge 4.18. Populasyonlar arası biyokimyasal uzaklık indeksi

Populasyon	Aşkale	Oltu	Tortum	Erzurum (merkez)	İspir
Aşkale	****	0,9659	0,9656	0,9686	0,9761
Oltu	0,0347	****	0,9634	0,9402	0,9848
Tortum	0,0351	0,0373	****	0,9892	0,9708
Erzurum (merkez)	0,0319	0,0617	0,0108	****	0,9728
İspir	0,0242	0,0153	0,0296	0,0316	****

4.3. Allelopatonsiyelin Tesbiti

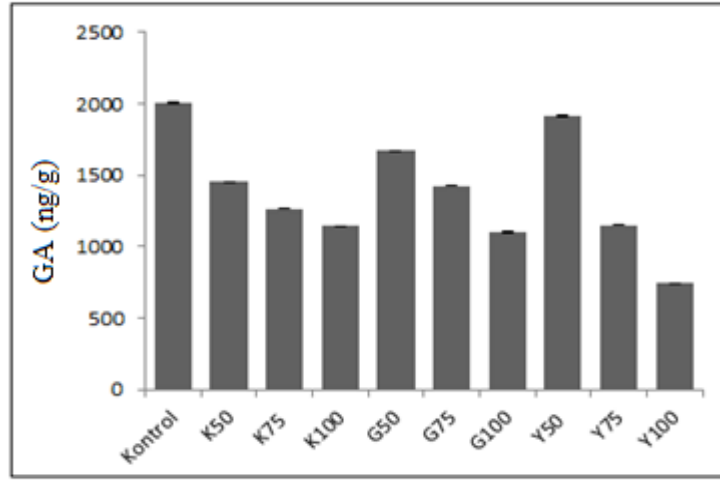
4.3.1. Hormon Verilerine Göre Elde Edilen Sonuçlar

C. arvensis türünün kök, gövde ve yapraklarına ait metanol ekstralarının uygulandığı mısır tohumlarında ölçülen GA miktarı kontrol ile kıyaslandığı zaman kök, gövde ve yaprak ekstresi uygulama gruplarında önemli oranda azalmıştır (Çizelge 4.19). Doz artışına bağlı olarak ise GA miktarında tüm konsantrasyonlarda azalma kaydedilmiştir (Şekil 4.19). Buna karşılık ABA miktarı tüm uygulama gruplarında kontrol ile kıyaslandığında artmıştır (Şekil 4.20, Çizelge 4.19). Doz artışına bağlı olarak kök ve gövde ekstresi uygulamalarında azalma, yaprak ekstresi uygulamalarında ise artma belirlenmiştir. Kullanılan ekstraların mısır tohumlarında SA miktarını kontrole oranla önemli miktarda arttırdığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.21, Çizelge 4.20). IAA miktarında ise kontrole oranla azalma belirlenmiştir. Doz artışına bağlı olarak da kök ekstralarında artma, gövde ve yaprak ekstralarında ise azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.22, Çizelge 4.20).

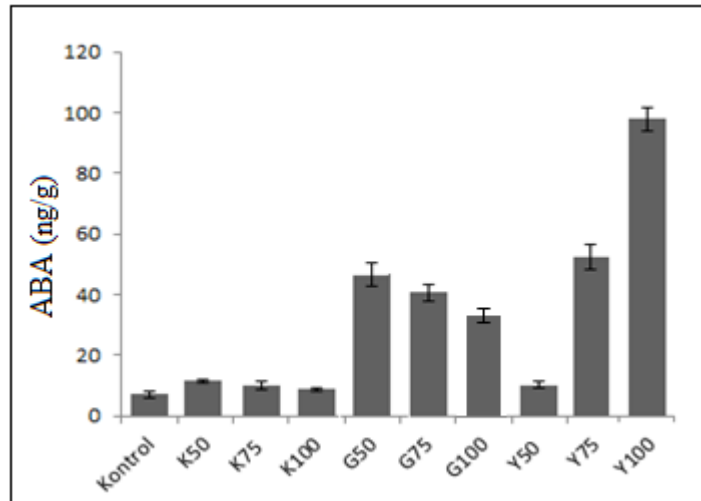
Çizelge 4.19. *C. arvensis*'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış kök, gövde ve yaprak ekstresinin mısır tohumlarında SA ve ABA üzerine etkisi

Kons.	SA (ng/g)			ABA (ng/g)		
	Kök	Gövde	Yaprak	Kök	Gövde	Yaprak
Kontrol	260± 2,88	260± 2,88	260± 2,88	7,06± 1,15	7,06± 1,15	7,06± 1,15
50 µl	841,94± 2,08*	1414,75± 1,52*	1245,11± 2,64*	11,35± 0,57	47,05± 4,04*	10,05± 1,15
75 µl	890,5± 2,64*	1209,19± 3,05*	794,99 ± 1,15*	9,9125± 1,45*	40,53± 2,88*	52,3± 4,61
100 µl	989,86± 3,50*	683,53± 1,73*	502,89 ± 1,85*	8,7± 0,57	35,62± 2,48*	97,80± 4,95*

*P≤0.01 seviyesinde önemli



Şekil 4.19. *C. arvensis* ekstrelerinin mısır tohumlarında Giberellik Asit (GA) miktarı üzerine etkisi

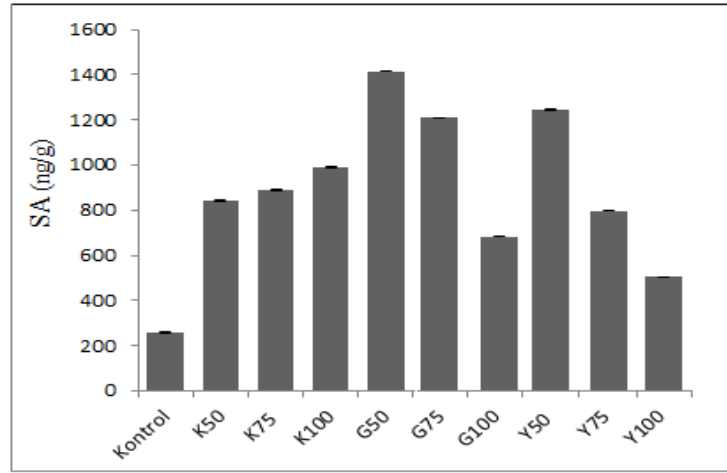


Şekil. 4.20. *C. arvensis* ekstrelerinin mısır tohumlarında Absisik Asit (ABA) miktarı üzerine etkisi

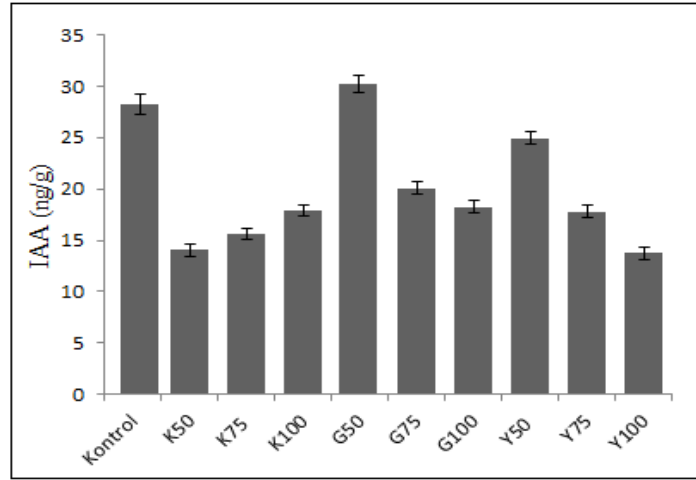
Çizelge 4.20. *C. arvensis*'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış kök, gövde ve yaprak ekstresinin mısır tohumlarında GA ve IAA üzerine etkisi

Kons.	GA (ng/g)			IAA (ng/g)		
	Kök	Gövde	Yaprak	Kök	Gövde	Yaprak
Kontrol	2004,70 ± 2,64	2004,70 ± 2,64	2004,70 ± 2,64	32,31± 1,15	32,31± 1,15	32,31± 1,15
50µl	1451,53± 1,52*	1668,98± 2,08*	1912,4± 2,05*	14,05± 0,57*	30,21± 0,88*	24,96± 0,57*
75 µl	1264,01± 2,30*	1424,76± 1,52*	1149,95± 3,04*	15,6± 0,57*	20,06± 0,57*	17,78± 0,57*
100 µl	1144,29± 1,73*	1100,89± 3,00*	741,48± 3,04*	17,91± 0,57*	18,24± 0,57*	13,72± 0,57*

*P≤0.01 seviyesinde önemli



Şekil 4.21. *C. arvensis* ekstrelerinin mısır tohumlarında Salisilik Asit (SA) miktarı üzerine etkisi



Şekil 4.22. *C. arvensis* ekstrelerinin mısır tohumlarında İndol Asetik Asit (IAA) miktarı üzerine etkisi

4.3.2. RAPD Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)

C. arvensis (L.) türünün, kök, gövde ve yaprak ekstraktlarının uygulandığı mısır tohumları üzerindeki genotoksik etkisini test etmek için hesaplanan GTS değerlerinin tesbiti için toplam 32 RAPD primeri denenmiş ve bunlar arasından en iyi amplifikasyon veren 13 primer seçilerek değerlendirilmeye alınmıştır. Bu 13 RAPD primerinden büyüklüğü 18 baz çifti (bç) ile 689 baz çifti arasında değişen toplam 131 bant elde edilmiştir. (Çizelge 21, 23, 25) Genomik Kalıp Sabitliliği oranı üzerine dozların ana etkileri karşılaştırıldığında uygulama dozu artışına bağlı olarak GTS oranında azalma olmuştur. En yüksek Genomik Kalıp Sabitliliği oranı (%67,5) kök kısmının 50µl dozundan, en düşük (%31,1) gövde kısmının 100 µl dozundan elde edilmiştir (Çizelge 22, 24, 26). Bant yoğunluğunda azalma en çok 100 µl dozlarda ve OPA-2, OPA-6, OPY-6 primerlerinde gözlemlenmiştir. Yeni bant oluşumu ise en çok 50 ve 75 µl dozlarda, OPB-8, OPY-15, OPW-5 ve OPH-14 primerlerinde görülmüştür.

Çizelge 4.21. *C. arvensis*'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış gövde ekstresinin mısır tohumları üzerine etkisi ile oluşan polimorfik bantların moleküler ağırlığı

Primer	Gövde			
	Kontrol	50µl	75 µl	100µl
OPA-13	10	- 84	-303, -269,- 84	-84 , -269
OPH-17	12	-162,-132,-116	-132 ,-206,-326	-326,-132,-80
OPA-2	11	-480,-375,-266,+232,- 62 - 51- 27,- 18	-480,-375,-266,-165,-110 -90,-62,-51,-41,-27,-18	-480,-375,-266,-165 -110,-90,-62,-51,-41,-27,-18
OPA-6	10	-609,-449,-319,-68,-40 ,-16	-609,-449,-319,-109 -68,-50,-40,-16,+ 246	-609,-449,-319,-109,-68,-50 -40-16
OPH-14	11	-628,-466,-334,-275,-222 -67,-60-30,+243,+203	-628,-466,-334,-275,-222 -86,-67,-60,-30,+243,+209	-628,-466,-334,-275,-222 -86,-67,-60,-30,+235,+201
OPY-6	12	-608,-452,-322,-276 -64,-50,-32,-16	-608,-452,-322,-276,-217 -64,-50,-32,-16	-608,-452,-322,-276,-217 -64,-50,-32,-16
OPY-1	9	-416,-343, -215,-176,+63	-416,-343, -215,-176,+63	-416,-343, -215,-176
OPY-8	11	-584,-437,-347,-311 -133,-103,-79	-584,-437,-347,-274,-157 -133,-103,-79	-584,-437,-347,-274,-247 -133,-103,-79
OPY-15	11	-539,-315,-191,+281,+143	-539,-504,-462,-402,-315 -236,-215,-191,-126 -84,-49	-539,-504,-462,-402,-315 -236,-215,+365,+161,+70
OPY-16	8	-600,-294	-60,-315,-294,-279,-234	-60,-315,-294,-279,-234,-191 -148
OPW-1	6	-364,-223	-364,-223,-144	-364,-223,-144
OPB-8	10	-689,-512,-375,-204,-98,- 48 +122+233,+203	-689,-512,-375,-204,-98 -48+233,+203	-689,-512,-375,-204,-98
OPW-5	10	-400,-330,-280,-205,-91 -75,+189	-400,-330,-280,-205,-91 - 75	-400,-330,-280,-224,-205,-164 -138,-114,-91,-75

Çizelge 4.22. Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)

Primer	Gövde			
	Kontrol	50µl	75 µl	100 µl
OPA-13	100	90	70	80
OPH-17	100	75	75	75
OPA-2	100	45,4	54,5	0
OPA-6	100	40	30	20
OPH-14	100	45,4	36,3	36,3
OPY-6	100	33,3	25	25
OPY-1	100	66,6	66,6	55,5
OPY-8	100	36,3	27,2	27,2
OPY-15	100	90,9	0	63,6
OPY-16	100	75	37,5	12,5
OPW-1	100	66,6	50	50
OPB-8	100	70	60	50
OPW-7	100	50	40	0
Ortalama	100	60,3	44	31,1

Çizelge 4.23. *C. arvensis*'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış yaprak ekstresinin mısır tohumları üzerine etkisi ile oluşan polimorfik bantların moleküler ağırlığı

Primer	Yaprak			
	Kontrol	50µl	75 µl	100 µl
OPA-13	10	-84	-84,-269	-84
OPH-17	12	-326,-116,-80	-326,-283,-206,-116	-326 , -206, -162, -116,-95 - 80
OPA-2	11	-480,-375,-266,-165 -110,-90,-62,-51,-41 -27,-18	-480,-375,-266,-165 -110,-90,-62,-51,-41 -27,-18	-480,-375,-266,-165,-110 , -90,-62,-51,-41,-27,-18
OPA-6	10	-609,-449,-319,-68,-50 -40,-16,+ 172	-609,-449,-319,-109 -50,-40,-16	-609,-449,-319,-109,-68,-50,-40 -16
OPH-14	11	-628,-466,-334,-275 -222,-86,-67,-60 -30,+231,+200	-628,-466,-334,-275 -86,-67,-60,-30	-628,-466,-334,-275,-86 -67,-60,-30,+179
OPY-6	12	-608,-452,-322,-276 -50,-32,-16	-608,-452,-322 , -81,-64,-50,-32,-16	-608,-452,-322 -125,-81,-64,-50,-32,-16
OPY-1	9	-416,-343,-215,-176	-416,-343, -215,-176 + 64	-416,-343, -215,-176,+ 64
OPY-8	11	-584,-437,-157,-133 -103,-79,+ 295	-584,-437,-347,-133 -100, -79+296	-584,-437,-347,-311,-272 -247,-196,-157
OPY-15	11	-539,-504,-462,-402 -315-236,215,+365 +255,+161,+70	-539,-315, +436 +362,+138	-539,-315,+ 138
OPY-16	8	-60,-315,-294	-60,-315,-294,-279 -234,+358	-60,-315,-294,-279,-234
OPW-1	6	-18,-110,-78	-364,-223,-144,-110 -78,+98	-364,-223,-144,-110,-78
OPB-8	10	-689,-512,-375,-204 -130,-98,+238,+208	-689,-512,-375,-264 -98	-689,-512,-375,-264,-204 -98,-88,-48
OPW-5	10	-280,-138,-114 +300,+151	-400,-330,-280,-75	-400,-330,-280,-205,-138 -75,+222,+181

Çizelge 4.24. Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)

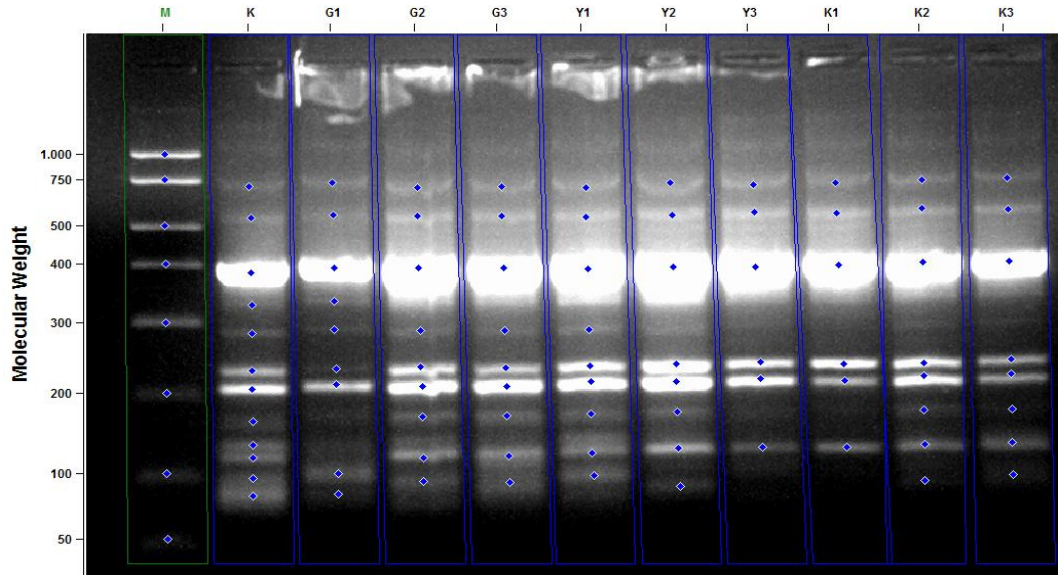
Primer	Yaprak			
	Kontrol	50µl	75 µl	100 µl
OPA-13	100	90	80	90
OPH-17	100	75	66.7	50
OPA-2	100	81,8	63,6	54,5
OPA-6	100	40	20	20
OPH-14	100	36.3	27,2	36,3
OPY-6	100	41,6	33,3	25
OPY-1	100	55,5	66,6	66,6
OPY-8	100	54,5	54,5	27,2
OPY-15	100	72,7	90,9	90,9
OPY-16	100	62,5	50	37,5
OPW-1	100	50	33,3	16,6
OPB-8	100	60	40	20
OPW-5	100	90	60	60
Ortalama	100	62,3	52,7	45,7

Çizelge 4.25. *C. arvensis*'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış kök ekstresinin mısır tohumları üzerine etkisi ile oluşan polimorfik bantların moleküler ağırlığı

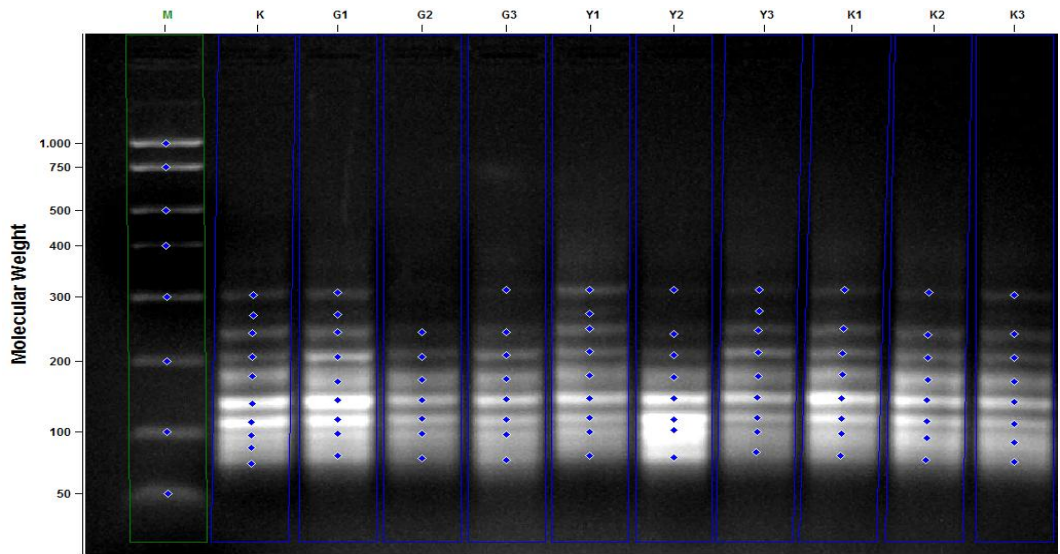
Primer	Kök			
	Kontrol	50µl	75 µl	100 µl
OPA-13	10	-84,-269	-84,-269	-96,-269
OPH-17	12	-326,-206,-162,-116 -95,-80	-326,-283,-206,+224 -132,-116	-326,-283,+247,-206,-132 -116
OPA-2	11	-480,-375,-266,-165 -110,-90	-480,-375,-266,-165,-110 -90,-62,-51,-41,-27,-18	-480,-375,-266,-165,-110,-51 -18
OPA-6	10	-609,-449,-319,-109,-68 -50,-40,-16,+174	-609,-449,-205,-319 -109,-68,-50,-40 -16,+178	-609,-449,-205,-319,-109 -68,-50,-40,-16,+272
OPH-14	11	-628,-466,+385 +179,+97,-67,-60,-30	-628,-466,-334,-275 -222,-157,-67,-60 -30,+177	-628,-466,-334,-275,-222 -67,-60,-30,+184
OPY-6	12	-608,-452,-322,-276	-608,-452,-322,-276,-217 -50,-32,-16	-608,-452,-322,-276,-217 -64,-50,-32,-16
OPY-1	9	-416,-343,-215,+62	-416,-343,-215,-176,+62	-416,-343,-215,-176,+62
OPY-8	11	-584,-437,-347 -79,+302,+291	-584,-437,-347,-311 -196,-157,-133,-103,-79	-584,-437,-347,-311,-272 -247,-133,-103,-79
OPY-15	11	-504,-462,-315,-236 -215,+356,+150,+66	-539,-504,-462,-315 +115,+77	-539,-504,-462,-402,-315 -215,+203,+110,+62
OPY-16	8	-60,-315,-294,-279,-234 -191,+446,+68	-60,-315,-29,-148,-102	-60,-315,-294,-279,-234,-191
OPW-1	6	-144	-364,-223,-144	-364,-223,-144,-110,-78
OPB-8	10	-689,-512,-375 -98,+241	-689,-512,-375,-130,-98 +195	-689,-512,-375,-264,-204,-48 +484
OPW-5	10	-359,-243,-184 -75,+400,+205	-400,-330,-205,-138,-75 +361,+249,+187	-280,-224,-138,-75

Çizelge 4.26. Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)

Primer	Kök			
	Kontrol	50µl	75 µl	100 µl
OPA-13	100	80	80	80
OPH-17	100	50	66,7	66,7
OPA-2	100	45,4	0	36,3
OPA-6	100	30	20	20
OPH-14	100	81	27,2	36,3
OPY-6	100	66,6	33,3	25
OPY-1	100	77,7	66,6	66,6
OPY-8	100	81,8	18,1	18,1
OPY-15	100	81,8	81,8	72,7
OPY-16	100	50	37,5	25
OPW-1	100	83,3	50	16,6
OPB-8	100	70	60	50
OPW-5	100	80	80	60
Ortalama	100	67,50	47,7	44,1



Şekil. 4.23. OPH17 RAPD primerine karşı oluşan amplifikasyon ürünleri



Şekil. 4.24. OPA13 RAPD primerine karşı oluşan amplifikasyon ürünleri

4.3.3. Mitotik İndeks

4.3.3.a. Mitotik İndeks Oranı (%)

C. arvensis (L.) türünün, kök, gövde ve yaprak ekstraktlarının uygulandığı mısır tohumlarının mitotik indeks oranı üzerine ekstrakt olarak kullanılan bitki kısmı ve dozunun ana etkileri çok önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.27). En yüksek mitotik indeks oranı %6,6 ile gövde kısmından elde edilen ekstraktın uygulandığı köklerden elde edilmiştir. Bunu %6,5 ile yaprak ve %5,2 ile kök kısımlarından elde edilen ekstrap uygulamaları izlemiştir (Çizelge 4.28). Ancak gövde ile yaprak kısımlarından elde edilen ekstrap uygulamaları arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.27. Mitotik indeks oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Bitki kısmı	2	7,534	319,071	0,000**
Doz	3	9,334	395,306	0,000**
Bitki kısmı x Doz	6	0,969	41,047	0,000**
Hata	24	0,024		
Genel Toplam	35			

** : Çok önemli ($p < 0,01$).

Çizelge 4.28. Farklı bitki kısımları ekstraktları ve dozlarında mitotik indeks oranı ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$) (%)

Bitki Kısmı	Doz (μ l)				ORTALAMA
	0	50	75	100	
Gövde	7,6 \pm 0,1a	6,8 \pm 0,1b A	6,4 \pm 0,1c A	5,6 \pm 0,1d B	6,6\pm0,2A
Yaprak	7,6 \pm 0,1a	6,3 \pm 0,1b B	6,2 \pm 0,1bc A	6,0 \pm 0,1c A	6,5\pm0,2A
Kök	7,6 \pm 0,1a	4,6 \pm 0,2b C	4,4 \pm 0,1bc B	4,1 \pm 0,0c C	5,2\pm0,4B
ORTALAMA	7,6\pm0,0a	5,9\pm0,3b	5,7\pm0,3c	5,2\pm0,3d	

¹: Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Mitotik indeks oranı üzerine dozların ana etkileri karşılaştırıldığında uygulama dozu artışına bağlı olarak mitotik indeks oranında azalma olmuştur. En yüksek mitotik indeks oranı (%7,6) kontrol (0) dozundan, en düşük (%5,2) 100 dozundan elde edilmiştir (Çizelge4. 28).

Mitotik indeks oranı üzerine bitki kısımlarından elde edilen ekstratların etkileri dozlara göre değiştiğinden bitki kısmı x doz interaksiyonu çok önemli ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.27). Bitki kısımlarından elde edilen ekstratların etkileri dozlara göre karşılaştırıldığında, tüm bitki kısımlarında en yüksek mitotik indeks oranı kontrol dozunda, en düşük ise 100 µl dozundan elde edilmiştir (Çizelge 4.28). Diğer taraftan dozlara göre bitki kısımlarından elde edilen ekstratların etkileri karşılaştırıldığında en yüksek mitotik indeks oranları 50 ve 75 µl dozlarında gövde, 100 µl dozunda ise yaprak kısımlarından elde edilen ekstratların uygulandığı tohumlarda belirlenmiştir. En düşük mitotik indeks oranı ise tüm dozlarda kökten elde edilen ekstrat uygulamasında saptanmıştır (Çizelge 4.28). Diğer taraftan 75 µl dozunda gövde ile yaprak kısımlarından elde edilen ekstrat uygulamaları arasındaki fark önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.28).

4.3.3.b. Mitotik Anormallik Oranı (%)

Mitotik anormallik oranı üzerine bitki kısımlarından elde edilen ekstrat ve dozunun ana etkileri çok önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Çizelge 29). Mitotik anormallik oranı bakımından bitki kısımları karşılaştırıldığında en yüksek mitotik anormallik oranı (%0,4), yapraktan elde edilen ekstrat uygulamasından elde edilmiştir. Yaprak ekstratını %0,3 ile kök ve %0,2 ile gövde ekstrat uygulamaları izlemiştir. Ancak, gövde ile kök ekstrat uygulamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.30).

Çizelge 4. 29. Mitotik anormallik oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Bitki kısmı	2	0,072	13,632	0,000**
Doz	3	0,387	73,404	0,000**
Bitki kısmı x Doz	6	0,014	2,614	0,043*
Hata	24	0,005		
Genel Toplam	35			

** : Çok önemli (p<0,01)

* : Önemli (p<0,05)

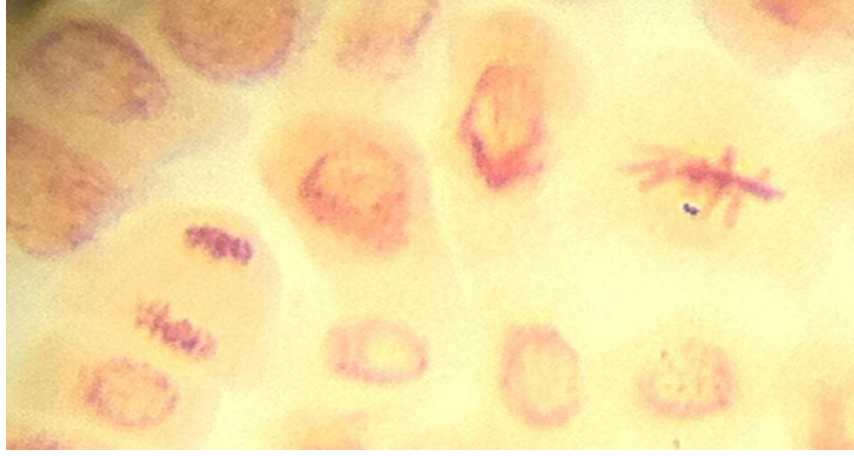
Çizelge 4.30. Farklı bitki kısımları ekstraktları ve dozlarında mitotik anormallik oranı ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$) (%)

Bitki Kısımı	Doz (µl)				ORTALAMA
	0	50	75	100	
Gövde	0,0±0,00d	0,3±0,03c AB	0,3±0,03b B	0,4±0,03a B	0,2±0,04 B
Yaprak	0,0±0,00c	0,4±0,06b A	0,5±0,06ab A	0,6±0,06a A	0,4±0,07 A
Kök	0,0±0,00d	0,2±0,06c B	0,4±0,06b AB	0,5±0,03a B	0,3±0,06 B
ORTALAMA	0,0±0,00d	0,3±0,04c	0,4±0,04b	0,5±0,04a	

†: Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Dozların ana etkileri incelendiğinde doz artışına paralel olarak mitotik anormallik oranı artış göstermiştir. En yüksek mitotik anormallik oranı (%0,5) 100 µl dozu uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.30). Kontrol (0) doz uygulamasında ise mitotik anormallik meydana gelmemiştir.

Mitotik anormallik oranı üzerine bitki kısmı x doz interaksiyonunun etkisi önemli (p<0,05) bulunmuştur. Bu özellik bakımından bitki kısımlarından elde edilen ekstratlara göre dozlar karşılaştırıldığında tüm ekstrap tiplerinde 100 µl doz uygulamasından elde edilmiştir. Diğer taraftan dozlara göre bitki kısımlarından elde edilen ekstratların etkileri karşılaştırıldığında en yüksek mitotik anormallik oranı tüm dozlarda yaprak ekstrapında, en düşük ise 50 µl dozunda kök, 75 ve 100 µl dozlarında ise gövde ekstrapında saptanmıştır (Çizelge 4.29).



Şekil. 4.25. Metafaz anormalliği



Şekil. 4.26. Anafaz anormalliği

4.3.4. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ve Çözünür Protein Miktarı

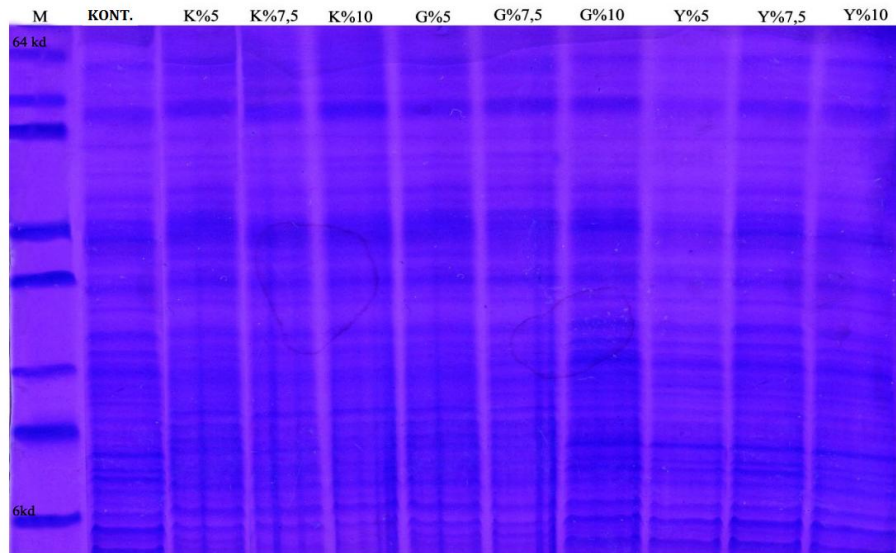
C. arvensis bitki ekstraktının uygulandığı mısır tohumlarının çözünür protein miktarı üzerine etkileri önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.31). En yüksek artış oranı %14,76 ile gövde kısmından elde edilen 100 μ l ekstraktın uygulandığı tohumlardan elde edilmiştir. En düşük artış oranı ise %2 ile yaprak kısmından elde edilen 100 μ l ekstraktın uygulandığı tohumlardan elde edilmiştir (Çizelge 4.31). Oluşan protein bantlarının büyüklüğü 3 kd ile 69 kd arasında değişmektedir. Kontrolle

karşılaştırıldığında yaprak kısmının 50 µl lik ekstraktının uygulanmasıyla bant yoğunluğunun azaldığı, gövde kısmının 100 µl lik ekstraktında ise bant yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.31. Toplam çözümlü protein seviyesi

Konsantrasyon	Toplam çözümlü protein seviyesi Konsan./kont
Kontrol	4,50±0,42 ^a
Kök 50µl	4,60±0,08 ^a
Kök 75 µl	4,80±0,06 ^{ab}
Kök 100 µl	5,01±0,09 ^b
Gövde 50µl	4,9±0,40 ^a
Gövde 75 µl	4,6±0,29 ^a
Gövde 100 µl	4,5±0,28 ^a
Yaprak 50µl	4,75±0,06 ^{ab}
Yaprak 75 µl	5,11±0,11 ^b
Yaprak 100 µl	5,10±0,09 ^b

*p<0,05 seviyesinde önemli



Şekil. 4.27. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu tezde moleküler markır teknolojisi tekniklerinden RAPD, çeşitli ülkelerde istilacı olan *C. arvensis* populasyonlarındaki genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Yapılan POPGENE analiz sonuçlarına göre Oltu populasyonu en yüksek sayıda polimorfik lokus oluşturan populasyon olurken (%60,56), Erzurum en düşük sayıda polimorfik lokus veren populasyondur (%42,96). Tüm populasyonlar için ortalama polimorfik lokus yüzdesi %55,35 olarak belirlenmiştir. Bu değer Fedorenko ve Gritskikh tarafından (2008) *Arabidopsis thaliana* (%43,7) için verilen değerden yüksektir. Çizelge 4.7 de görüldüğü gibi toplama Polimorfik lokus yüzdesi (% 55,35) Nei'nin genetik çeşitliliği ($H=0,2053$), Shannon'un bilgi indeksi ($I=0,3047$), gözlenen allel sayısı (N_a , 1,5535) ve etkili allel sayısı (N_e , 1,3533) olarak kaydedilmiştir. Araştırmamızda yer alan populasyonlar orta seviyede genetik çeşitlilik göstermektedir ($H=0,2053$ ve $I=0,3047$). Populasyonlar arasında Oltu populasyonu en yüksek genetik çeşitlilik gösterirken ($H=0,2381$ ve $I=0,3488$), Erzurum (merkez) populasyonu en düşük genetik çeşitlilik gösteren populasyon olarak belirlenmiştir ($H=0,1672$ ve $I=0,2463$).

Nei'nin genetik mesafe değerlerine göre oluşturulan yakın bağlantı ağacına göre populasyonlar iki ana gruba ayrılmıştır. I. Grupta Aşkale, Tortum, Oltu populasyonu Erzurum populasyonu, II. İspir grupta populasyonu yer almıştır. I. Grupta kendi içinde Aşkale, Erzurum (merkez), Oltu ve Tortum grubu şeklinde ikiye ayrılmıştır. Genetik mesafe olarak olarak, Aşkale, Tortum, Oltu, Erzurum populasyonlarının bir grupta, İspir populasyonunun bir grupta, toplanması beklenen bir durumdur. Yine Nei'ye göre hesaplanan genetik mesafe değerlerine göre Aşkale ve Erzurum populasyonları en yakın, Oltu ve İspir populasyonları en uzak populasyonlar olarak belirlenmiştir. Bu durum coğrafik yakınlığından dolayı populasyonlarda gen akışı ihtimalinin yüksek olduğu görüşünü desteklemektedir. Gen akışı değeri olan N_m ve ayrıca genetik çeşitlilik değeri olan H değerleri populasyonlar arasında gen akışı olduğunu gösteren değerlerdir. Bizim çalışmalarımızda N_m değeri 0,6032 olarak bulunmuştur. Bu değer

istilacı *Coreopsis grandiflora* (Liang *et al.* 2008) için verilen Nm (0,7664) değerinden düşüktür. Bu durumda populasyonlarda gen akışından bahsedilebilir.

Buna ilaveten gen akışının değerinin çok yüksek çıkması populasyonlarda yüksek seleksiyon baskısı olduğunun bir göstergesidir. Mengistiu *et al.* (2000) yaptıkları araştırmada Karaçayır (ryegrass) türü için Nm değerini 15,3 vermişlerdir. Bu durum populasyonda çok büyük bir seleksiyon baskısına atfedilmiştir. *C. arvensis* populasyonlarında Nm değeri bu değer ile kıyaslandığında oldukça düşüktür. Dolayısıyla bu populasyonlarda bir seleksiyon baskısından bahsetmek mümkün değildir. Ayrıca Nm değerinin 1'den küçük olması populasyonlarda genetik sürüklenme yüzünden farklılaşma başladığını göstermektedir (Wright 1969).

Bütün bireyler için gözlenen allel sayısı 1,5535, etkili allel sayısı ortalama 1,3533 olarak belirlenmiştir. Etkili allel sayısı en yüksek Oltu populasyonunda gözlenmiştir. Kimura and Crow (1964), Hartl and Clark'ın (1989) belirttiği gibi etkili allel sayısı resiprokal homozigotluğa hakkında bilgi vermektedir.

Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma değeri (Gst) 0,293 olarak bulunmuştur. Bu değer istilacı tür olan *Coreopsis grandiflora* (Liang *et al.* 2008) için verilen Gst (0,3948) değerinden düşüktür. Bu değer *Poa annua* için verilen Gst (0,146) değeri ile karşılaştırıldığında ise yüksektir (Mengistiu *et al.* 2000). Gst değerinin, kendi kendine döllen türlerde 0,51'den (Hamrick and Godt 1989) daha yüksek olduğu, tohumla üreyen türlerde ise 0,1 ile 0,20 arasında bulunduğu belirtilmiştir. *C. arvensis* hem sürünücü köklerle vejetatif hem de tohumla çoğaldığı için Gst değerinin bu iki değer arasında yer aldığı görülmektedir.

Bitki populasyonları arasındaki genetik farklılaşmayı sağlayan veya populasyon yapısını etkileyen faktörler vardır. Bunlardan birincisi polen/tohum yayılımıyla populasyonlar arasındaki gen akışı sağlanabilir. Reisch *et al.* (2004), populasyonlar arasındaki ve içindeki gen akışını etkileyen faktörler arasında peyzaj, topografya, bitki

yapısı ve artan yükseklikle şiddetli bir şekilde değişen fenolojinin sayılabileceğini belirtmişlerdir. İkinci populasyon farklılaşmaları doğal seleksiyon etkilenebilir. Üçüncüsü populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma gen mutasyonlarından kaynaklanabilir. Ancak gen mutasyonları düşük etki oranından dolayı populasyon farklılaşmalarını etkileyen ana faktör olarak genellikle düşünülmez. Son olarak, populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma genetik sürüklenme sonucu olabilir. Genetik sürüklenmenin etkisi küçük populasyonlarda daha fazla gözlenmektedir. Araştırmalarımızda *C. arvensis* populasyonlarında genetik farklılaşmanın nedeni gen akışı, genetik sürüklenmeden dolayı olabilir. Bunun yanı sıra gen akışını etkileyen iklimatik ve coğrafik faktörlerin etkisinin olduğuda söylenebilir.

C. arvensis türüne ait populasyonların yağ asidi içeriğine bakıldığında bütün populasyonlarda 18:2 w6c ve 18:1w8c/18:3w3c yağ asitleri görülmektedir. Tüm populasyonlarda yüzde olarak en fazla bulunan yağ asidi 18:1w8c/18:3w3c dir. Bu yağ asidinin miktarı bireylerin çoğunluğunda %50'nin üzerindedir. 18:1 w7c DMA Aşkale Oltu Erzurum populasyonlarının birer bireyinde bulunurken, İspir ve Tortum populasyonlarında bu yağ asidi hiç yoktur.

UPGMA yöntemi ile oluşturulan dendrogram sonuçlarına göre İspir ve Oltu populasyonları bir grupta toplanmıştır. İki populasyonun yağ asidi içeriğine bakıldığında, 18:1w8c/18:3w3c ve 16:0 yağ asidinin tüm bireylerde oldukça yüksek miktarda bulunduğu görülmektedir. Yine 18:2 w6c yağ asidi oranlarının benzer olduğu tespit edilmiştir. 21:0 ISO, her iki populasyona ait bireylerde bulunurken, 17:0 Antesyo yağ asidi sadece bu iki populasyonuna ait bazı bireylerde mevcuttur. RAPD sonuçlarına benzer şekilde, Erzurum (merkez) ve Tortum populasyonları aynı grupta toplanmıştır. 16:1 Cis Alkolw7 yağ asidi miktarı her iki populasyonun bireyleri arasında benzerlik göstermiştir. Yine 21:0 ISO ve 16:1 Cis 7DMA(w9) yağ asitlerinin miktarı iki populasyonun bireyleri arasında benzerlik gösterirken Cis 9,10epoksi ve 24:1w9cAlkol yağ asitleri sadece Oltu populasyonunun bir bireyinde, 19:1 w6c/19:0 cyclo asit ise Erzurum populasyonunun bir bireyinde belirlenmiştir. Çok sayıda yağ asiti (36)

bulundurmasıyla ile Oltu popülasyonu RAPD sonuçlarına benzer şekilde diğer popülasyonlardan farklılık göstermiştir.

Genel anlamda bitki popülasyonlarında gözlemlenen yağ asidi farklılığının sebebinin ekolojik faktörlerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bu faktörler arasında sıcaklık, lokalite, toprak yapısı, yükseklik, fotoperiyot, yağmur, ortalama güneş radyasyonu ve beslenme yer almaktadır (Hu *et al.* 2006). Yüksekliğin yağ asit kompozisyonuna etkileri araştırmak için farklı yüksekliklerden toplanan *Vernonia galamensis* türünün popülasyonlarında çalışılmış, çalışılan bütün popülasyonlarda vernolik asit içeriğinin %34-87 arasında olduğunu, diğer yağ asit kompozisyonunda ise geniş bir çeşitlilik gösterdiği bildirilmiştir (Tsfaye *et al.* 2005).

Bizim yağ asidi sonuçlarına göre Aşkale, Oltu ve İspir popülasyonları bir grupta, Tortum ve Erzurum popülasyonları bir grupta toplanmıştır. Yine Tortum ve Erzurum (merkez) popülasyonları birbirine yakındır. Yükseklik ve diğer iklimsel faktörler göz önüne alındığında bu popülasyonların aynı grupta yer alması beklenen bir durumdur. Bazı türlerde biyokimyasal farklılığının sebebi ekolojik faktörlerin yanısıra, genetik farklılıklara da dayanmaktadır. Çalışmamızda elde edilen RAPD sonuçlarında yüksek genetik çeşitlilik göstermesiyle ayrılan Oltu popülasyonu yağ asidi çeşitinin fazla olmasıyla da diğer popülasyonlardan farklılık göstermiştir. Bu yönüyle RAPD sonuçları ile yağ asidi sonuçlarının uyumlu çıktığı, çalışmamızda ortaya çıkan biyokimyasal ve genetik verilerin, popülasyonlar arasındaki farklılığı açıklamada uygunluk gösterdiği söylenebilir.

C. arvensis istilacı olmasında yardımcı olan genetik faktörlerin yanısıra allelopatik özellikleride araştırılması amaçlanmıştır..Bu amaçla *C. arvensis* bitki ekstresinin mısır fidelerindeki GA, ABA, IAA ve SA üzerine etkisi araştırılmıştır. GA konsantrasyonunun tüm uygulama gruplarında doz artışına bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Özellikle yaprak ekstresi uygulama grupları diğerlerinden daha fazla etkilenmiştir. Türker vd (2008) değişik bitki metanol ekstralarının uyguladıkları mısır tohumlarında, konsantrasyondaki artışa bağlı olarak GA miktarını önemli bir biçimde

azalttığını gözlemlemişlerdir. Bulgularımız bununla paralellik göstermektedir. Bitkide GA, hücrenin hacim olarak büyümesi ve sonuçta bölünmesinde (meristem oluşumu) etkili maddelerdir. Bu sebeple büyüme ve gelişmede etkilidirler. Bitki allelopatik strese maruz kaldığı zaman kendini koruma amaçlı GA miktarının azalması beklenen bir durumdur.

IAA sonuçlarına bakıldığında ise mısır tohumlarında kök ekstreleri haricinde doz artışına bağlı olarak azalma göstermiştir. Doz artışına bağlı olarak IAA miktarındaki azalış, Türker vd (2008) tarafından farklı bitki ekstreleri için rapor edilmiştir. Bitkiler tarafından salınan allelokimyasallar besin alınımını azaltmakta, IAA ve GA gibi hormonların aktivitesini baskı altında tutmaktadır.

Uygulanan *C. arvensis* ekstrelerinin hemen hemen tamamı mısır tohumlarında ABA miktarını artırmıştır. Bununla birlikte yaprak ekstresi uygulanan gruplarda artış daha fazladır. Yaprak ekstresinin bütün konsantrasyonları ABA miktarını önemli ölçüde artırırken, kök ekstresinin konsantrasyonları çok büyük bir değişime neden olmamıştır. ABA konsantrasyonunda gözlenen artışa benzer sonuçlar sarımsak köklerinde ve allelopatik stres altındaki buğday fidelerinde de görülmüştür (Bernat *et al.* 2004). Türker vd (2008) *salvia limbata* ve *vicia cracea* bitkilerinin metanol ekstreleri uygulamasının mısır tohumlarındaki ABA miktarını bizim sonuçlarımıza benzer bir şekilde arttırdığını gözlemlemişlerdir. ABA bitkilerde stres hormonu olarakta bilinir, stres koşullarında özellikle yapraklarda artarak diğer bitki dokularına taşınır ve bitkiyi biyotik, abiyotik streslere karşı korur (Taiz and Zeiger 2004). Bu durumda çalışmamızda ABA miktarında artış olması muhtemeldir. Yine allelopati stresi altında ABA miktarındaki artış Gawraska *et al.* (2002) tarafından rapor edilmiştir.

Mısır tohumlarında kontrol ile kıyaslandığında, uygulanan *C. arvensis* ekstrelerinin tüm konsantrasyonları SA miktarını önemli ölçüde arttırdığı gözlenmiştir. Bitkisel hormon olarak da kabul edilen salisilik asit, fenolik maddelerin bir grubunu oluşturmaktadır. Salisilik asitin en bilinen etkisi, etilen biyosentezini engellemek ve yaşlanmayı geciktirmektir. Ayrıca salisilik asit, bitkilerin strese karşı tepkisinde yer alan önemli bir

sinyal moleküldür (Senaratna *et al.* 2000). Bu nedenle çalışmamızda *C. arvensis* ekstresine maruz kalan mısır tohumlarındaki SA miktarındaki artış muhtemeldir.

Yapılan çalışmalarda SA uygulamaları sonrasında kısa süre için sentezi artan hidrojen peroksitin sinyal aktarıcı olarak görev yaptığı ve stres proteinlerinin sentezinde görev alan genleri aktif hale getirdiği (Chen *et al.* 1993) ve/veya hücrelerde antioksidant aktiviteyi artırarak (Dat *et al.* 1998) stress sebebiyle ortaya çıkan serbest radikallerin inaktivasyonunu sağladığı görülmüştür. Bazı araştırmacılar ise SA'nin etkisinin bir koruyucu olmaktan çok bitkide aslında var olan strese karşı koyabilme potansiyelini harekete geçirdiğini belirtmişlerdir (Senaratna *et al.* 2003). Ananieva *et al.* (2004) 0,5 mM düzeyindeki SA uygulamalarının sonucunda arpa bitkilerinin herbisit (paraquat, 10 µmol/L) zararını tolere ettiğini gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar SA'nin antioksidant enzimlerin sentezini ve aktivitesini artırarak bitkileri paraquat zararına karşı koruduğunu ifade etmişlerdir.

Kullanılan ekstre miktarı bitkinin yaşadığı ekolojik ortamda verdiği bir miktar daha fazladır. Allelopati çalışmalarında genellikle %10'luk ekstre kullanılmaktadır (Rutherford and Powrie 1993; Littera and Bazzalo 1999). Fakat düşen yaprakların miktarı, çürüyen bitki artıklarının oranı, diğer bitkilere olan uzaklık ve yağmur gibi faktörler allelopatik maddelerin miktarını etkilemektedir. Çevresel faktörler düşünülerek daha yüksek dozlar kullanılmıştır.

C. arvensis bulunduğu ortamda büyük ve diğer türlerden daha baskın populasyonlar oluşturmaktadır. Muhtemelen kök, gövde veya yapraklarından salgıladığı bazı allelokimyasal maddeler doğal olarak yetiştiği ortamda bulunan türleri etkilemekte ve diğer türlerle olan rekabette bu türe avantaj sağlamaktadır. Salgıladığı bu maddeler, birlikte yaşadığı bitkilerin gelişimini engelleyebilmektedir. Yarışma yeteneği ve allelopati, bitkilerin populasyon dinamiklerini ve büyümelerini eş zamanlı olarak etkileyen faktörlerdir (Nilsson 1994; Ridenour and Callaway 2001). Yabancı otların çoğu ve istilacı türlerin allelopatik potansiyele sahip olduğu ve kültür bitkilerinin üretkenliğini ve yaşamasını önemli bir biçimde etkilediği bilinmektedir.(Putnam and

Duke 1978; Rice 1979; Qasem 1994). Callaway and Aschehong (2000) istilacı karakterdeki bir türün diğer türler üzerine salgıladığı çeşitli allelokimyasallar ile daha üstün duruma geldiğini belirtmişlerdir. Böylece allelopatinin istila konusunda oldukça önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Daha önceki çalışmalarda *C. arvensis* metanol ekstraktlarının fenolik içerikleri kumarik ve hidroksibenzoik asit, sinamik asid, kafeik, ferulik edilmiş ve bunların allelopatik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. (Baziramakenga *et al.* 1997; Hegab 2005; Hegab *et al.* 2008 Hegab and Ghareib 2009). Bu nedenle çalışmamızda *C. arvensis*'in allelopatik özelliğinde bu fenolik bileşiklerin rolü olabilir.

Ayrıca çalışmamızda *C. arvensis* ekstraktının allelopatik etkisini araştırmak için uygulama bitkisi olan mısırın mitotik indeks oranlarına bakılmıştır. İstatistiki olarak değerlendirdiğimiz mitotik indeks oranı üzerine ekstrakt olarak kullanılan bitki kısmı ve dozunun ana etkileri çok önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.27). En yüksek mitotik indeks oranı %6,6 ile gövde kısmından elde edilen ekstraktın uygulandığı köklerden elde edilmiştir. Mitotik indeks oranı üzerine dozların ana etkileri karşılaştırıldığında uygulama dozu artışına bağlı olarak mitotik indeks oranında azalma olmuştur. En yüksek mitotik indeks oranı (%7,6) kontrol (0) dozundan, en düşük (%5,2) 100 µl dozundan elde edilmiştir (Çizelge 4.28). Mitotik indeksdeki düşüşün nedenleri birçok araştırıcı değişik şekilde yorumlamıştır. Schulze and Kirscher (1996), mitozu baskılayıcı etkiye sahip bazı bitki ekstraktlarının bu etkilerini, ekstraktların DNA ve nükleoprotein sentezini bloke etme gücüne sahip olmaları ile açıklamışlardır. El-Ghamery *et al.* (2000) mitodepressif etkiye, G1 fazının bloke olması ile DNA sentezinin baskılanmasının neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bal (1995), yaptığı çalışmada mitotik indeksteki düşüşün nedeninin mitotik döngüye girmiş, ekstrakt bileşenlerine karşı korumasız hücrelerin fizyolojik cevabı olarak; enerji, protein, RNA ve DNA sentezlerinin kısmi olarak engellenmesinden kaynaklanabileceğini belirtmiştir.

Oksin, gibberellin, sitokinin gibi hormonların mitoz bölünmeyi düzenleyici özellikleri sebebiyle hücre bölünmesini etkiledikleri bilinmektedir. Dolayısıyla çalışmamızda da gözlemlendiği gibi mısır tohumlarının hormon seviyelerinde olumsuz bir etki oluşturan *C.*

arvensis bitki ekstraktının mitotik indeksde de bir düşüşe neden olması beklenen bir sonuçtur.

Yapılan literatür araştırmalarında, *C. arvensis*'in mitotik indeks, kromozom davranışları ve hücre döngüsü üzerine etkileri ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. *C. arvensis* bitki ekstraktının mitoz anormalliklerin oluşumuna neden oldukları, ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Mitotik anormallik oranı üzerine bitki kısımlarından elde edilen ekstrakt ve dozunun ana etkileri çok önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.29). Mitotik anormallik oranı bakımından bitki kısımları karşılaştırıldığında en yüksek mitotik anormallik oranı (%0,4), yapraktan elde edilen ekstrat uygulamasından elde edilmiştir. Dozların ana etkileri incelendiğinde doz artışına paralel olarak mitotik anormallik oranı artış göstermiştir. En yüksek mitotik anormallik oranı (%0,5) 100 µl dozu uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.30). Kontrol (0) doz uygulamasında ise mitotik anormallik meydana gelmemiştir. Türker vd (2008) yaptıkları bir çalışmada kullandıkları bitkilerin metanol ekstraktlarının mısır tohumlarında bizim bulgularımıza benzer şekilde mitotik indeksi düşürdüğünü ve kromozom anormalliğine sebep olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmamızda en fazla metafazda kromozom yapışması ve anafaz anormallığı görülmüştür. Kaymak (2005)'e göre; kromozom yapışmalarına, kromatin ipliklerinin hatalı ya da yetersiz kondensasyonu (kısalıp kalınlaşması, yoğunlaşması) sonucunda birbirlerine dolaşması, yapışması ve kırılması sebep olmakta ve bunun sonucunda mitotik iğ iplikleri ile kutuplara çekilmesi esnasında kromozom içindeki yapışıklığın birlikte hareket etmesi sonucu sekonder anormallikler (köprü ve fragment oluşumu gibi) meydana gelmektedir.

C. arvensis metanol ekstraktının mısır tohumlarında meydana getirdiği fizyolojik ve sitolojik etkilere ilaveten genotoksik etkisini incelemek için protein ve RAPD analizi yapılmıştır. Genomik Kalıp Sabitliliği oranı üzerine dozların ana etkileri karşılaştırıldığında uygulama dozu artışına bağlı olarak GTS oranında azalma olmuştur. En yüksek Genomik Kalıp Sabitliliği oranı (%67,5) kök kısmının 50µl dozundan, en düşük (%31,1) gövde kısmının 100 µl dozundan elde edilmiştir (Çizelge 22, 24, 26). Bitki allelokimyasallarının genotoksik etkilerinin moleküler teknikler ile araştırılması

üzerine fazla çalışma bulunmamaktadır. Allelokimyasalların genotoksik etkisi farklı organizmalar üzerinde ve farklı test teknikleri kullanılarak birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Türker *et al.* 2008; Sunar *et al.* 2009). Bizim çalışmamız, protein analizi ve RAPD profilleri kullanılarak *C. arvensis* bitki ekstraktının mısır tohumlarında genotoksik etkileri üzerine yapılan ilk çalışmadır. Kazinczi *et al.* (2007) yaptıkları bir çalışmada *C. arvensis* bitki ekstraktının kültür bitkilerinde çimlenme ve fide büyümesini azalttığını ve bu fitotoksik özelliklerinin flavonoidler, polifenoller ve fenoloid bileşikler ile (klorojenik asit, rutin) bağlantılı olduğunu bulmuşlardır. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar çeşitli allelopatik bitkilerin uçucu yağları ve onların monoterpenlerinin bazı bitkilerde ROS (H_2O_2 , O_2) birikimine neden olduğunu göstermiştir (Batish *et al.* 2006; Singh *et al.* 2006; 2009; Oracz *et al.* 2007; Mutlu *et al.* 2011). Bitkinin doğal antioksidan savunma mekanizması olan ROS üretimi önemli ölçüde arttığında oksidatif stres oluşur, DNA, proteinler ve lipidler gibi makromoleküllere zarar verir. Bizim çalışmamızda GTS ve RAPD bantlarında görülen azalma allelokimyasalların yol açtığı oksidatif hasara bağlı olabilir.

Çalışmamızda GTS ve RAPD bantlarına ilaveten protein analizi de kullanarak *C. arvensis* metanol ekstraktının mısır tohumu üzerindeki olumsuz etkileri araştırılmıştır. Kök ve gövde ekstraktlarının düşük konsantrasyonlarında (50 μ l) önemli bir değişim görülmemiştir (Çizelge 4.27). Diğer konsantrasyonlarında ise (75 μ l, 100 μ l) *C. arvensis* bitki ekstresi toplam protein seviyesinin giderek artmasına sebep olmuştur. Artış ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Protein elektroforez sonuçlarına bakıldığında ise protein bant yoğunluklarında az da olsa bir değişim gözlenmiştir. Hegab and Ghareib (2010) yaptıkları bir çalışmada *C. arvensis* metanol ekstraktının farklı konsantrasyonlarının (75, 150, 300 ve 600 ppm) buğday üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada düşük miktardaki metanol ekstraktın (75, 150 ve 300 ppm) buğdayın kök ve sürgünlerindeki uzunluklarına ve kuru ağırlık miktarına kontrolle karşılaştırıldığında uyarıcı etkileri görülmüştür. Ayrıca klorofil, karbonhidrat, protein ve fenolik bileşiklerin miktarında benzer bir durumun geliştiği görülmüştür ve en yüksek değer 300 ppm olarak kaydedilmiştir. *C. arvensis* sahip olduğu kafeik asit, ferulik asit, protokateşik asit gibi fenolik bileşiklerin düşük konsantrasyonu protein miktarı üzerine

uyarıcı etkiye sahiptir (Baziramakenga *et al.* 1997; Hegab 2005; Hegab *et al.* 2008 Hegab and Ghareib 2009). Bir diğer yandan en yüksek konsantrasyonun (600 ppm) bütün parametreleri daha az miktarda inhibe ettiği görülmüştür. Araştırmacılar allelokimyasalların sitoplazmik ribozomlar ve RNA üretimine müdahale etme niteliğinden dolayı protein sentezini uyarılabileceğini, yüksek konsantrasyonda çözünür proteindeki azalmanın sebebi olarak da fenolik aglikonların birikmesi sonucu sitoplazmik ribozomlar ve RNA'nın üretimine müdahale ederek protein sentezini inhibe etmiş olabileceğini öne sürmüşlerdir. Uyarıcı etkisinden dolayı *C. arvensis* ekstraktının düşük dozdaki konsantrasyonlarının biofertilizer olarak kullanabileceği sonucuna varmışlardır. Bizim çalışmamızda da gövde ekstresi uygulamalarında meydana gelen çözünür proteindeki azalışın sebebi olarak fenolik bileşiklerin birikmesiyle RNA'nın üretiminin ve dolayısıyla protein sentezinin inhibe olması gösterilebilir. Yaprak ekstresi uygulamalarında meydana gelen artışın ise allelokimyasalların protein sentezini uyarması sonucu olduğu söylenebilir. Bitkilerde biyotik ve abiyotik stresler ABA artışına sebep olmaktadır. Artan ABA miktarı epigenetiksel gen işleyişini, histon modifikasyonları, DNA metilasyonu (hipo/hipermetilasyonu) ve siRNA mekanizmasıyla kontrol etmektedir (Chinnusamy *et al.* 2008). Soğuk stresine maruz kalmış mısır bitkisinde artan ABA konsantrasyonuna bağlı olarak demetilasyon meydana geldiği görülmüştür (Steward *et al.* 2002). Buna ilaveten tütün bitkisi hücre süsponsiyon kültürlerinde tuz ve osmotik basınç stresinin hipermetilasyona sebep olduğu tespit edilmiştir (Kovarik *et al.* 1997). Bezelyede yapılan başka bir çalışmada ise kuraklık stresinin DNA spesifik sitozin (CCGG) hipermetilasyonuna sebep olduğu belirtilmiştir (Labra *et al.* 2002). Fakat bu çalışmalarda ABA birikiminin ve abiyotik stres altında ABA gen işleyişindeki rolü bilinmesine rağmen, gen ekspresyonuna bağlı olarak DNA hipo ve hipermetilasyonunda ABA'nın rolü açıklanamamıştır (Chinnusamy *et al.* 2008). Bizim çalışmamızda ABA artışından meydana gelen hipometilasyon sonucu protein seviyesi artmış olabilir. Bir diğer sebep olarak da toplam protein seviyesinin artmasına genotoksik etki sonucu oluşan hücre ölümünün etkisi olduğu da söylenebilir.

Sonuç olarak *C. arvensis* türünün geniş alanları istila etmesinde populasyonlar arasında genetik çeşitlilik göstermesi, farklı ekolojik şartlara uyum yeteneği ve sahip olduğu

allelpatik potansiyel ile diğer türlerle girdiği rekabette üstünlük sağlaması gibi özellikleri sebep olarak gösterilebilir.

5.1. öneriler

Türün biyokontrolu için kodominant özellik gösteren bir markır ile çalışılması genetik çeşitliliğin etkili olan parametrelerin daha detaylı bir şekilde incelenmesi, türün geçirdiği evrimsel süreçlerin tespit edilmesi, herbivorlara karşı direnç mekanizmasının araştırılması, türün doğal yetiştiği ve istilacı olduğu ortamların karşılaştırılması gibi faktörlerinde belirlenmesi önerilmektedir.

Ayrıca yapılan literatür çalışmalarında gorulduği gibi bitkinin fide büyümesi, protein içeriği ve antioksidan enzimler üzerinde uyarıcı etkisinden dolayı metanol ekstraktının duşuk konsantrasyonları farklı bitkilerde uygulanarak biyofertilizer ve bioherbisit olarak da kullanılabilirliğinin test edilmesi için ilave alışmaların yapılmasını ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Ananieva, E.A., Christov, K.N., Popova, L.P., 2004. Exogenous Treatment with Salicylic Acid Leads to Increased Antioxidant Capacity in Leaves of Barley Plants Exposed to Paraquat. *Journal of Plant Physiology*, 161 (3): 319-328.
- Atienzar FA, Conradi M, Evenden AJ, Jha AN, and Depledge MH. 1999. Qualitative assessment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo[a]pyrene. *Environmental toxicology and chemistry*/setac 18:2275–2282.
- Atienzar AF, and Jha AN. 2006. The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: A critical review. *Mutation Research* 613:76–102.
- Baker, H.G., 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. In: Baker HG, Stebbins GL, (eds) *The genetics of colonizing species*, pp. 147-169. Academic Press, New York.
- Baker, H.G. 1974. The evolution of weeds. *Annu Rev Ecol Syst.*, 5: 1-24.
- Bal, S., *Datura stramonium* L. ve *Ureginea maritima* L. özsularının *Allium cepa* L. Kök ucu mitozu üzerinde sitolojik etkileri 1995. Doktora Tezi, Gazi Üniv.
- Bassam, B.J., Caetano-Anolles G., Gresshoff P.M., 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 196: 80-83.
- Bassam, B.J., Bentley S., 1995. Electrophoresis of polyester backed polyacrylamide gels. *Biotechniques*, 19: 568-573.
- Baziramakenga, R., G. D. Levoux, R. R. Simard and P. Nadeau, 1997. Allelopathic effects of phenolic acids on nucleic acid and protein levels in soybean seedlings. *Can. J. Bot.*, 75: 445-450.
- Bej, A.K., Mahbubani M.H., Atlas R.M., 1991. Amplification of nucleic acids by polymerase chain reaction (PCR) and other methods and their applications. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 26, 301-334.
- Batish DR, Singh HP, Setia N, Kaur S and Kohli RK (2006). 2-Benzoxazolinone (BOA) induced oxidative stress lipid peroxidation changes in some antioxidant enzyme activities in mung bean (*Phaseolusaureus*). *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 819–827.
- Battal, P., Tileklioğlu, B., 2001. The effects of different mineral nutrients on the levels of cytokinins in Maize (*Zea mays* L.). *Turkish Journal of Botany* 25, 123-130.
- Bernat, W., Gawronska, H., Janowiak, F., Gawronski, S-W., 2004. The effects of sunflower allelopathics on germination and seedling vigour of winter wheat and mustard. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*, 496, 275-287.
- Bilgin, O. and Korkut K.Z., 2005. Bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşit ve hatlarının genetik uzaklıklarının belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2 (3).
- Binnetoğlu, S., 2008. Doğu Anadolu Bölgesinde Yayılış Gösteren *Centaurea* L. Türleri Arasındaki Farklılığın Rapd ve Fames İle Analizi. Yüksek Lisans Tezi Atatürk Üniv. Erzurum.

- Blossey, B., Nötzold, R., 1995. Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: A hypothesis. *Journal of Ecology*, 83, 887–889.
- Black, I.D; Matic, R. Dyson C B. 1994. Competitive effects of field bindweed (*C. arvensis* L.) in wheat, barley and field peas. *Plant Protection Quarterly* 1, 12-14.
- Bossdorf, O., Auge, H., Lafuma, L., Rogers, W.E., Siemann, E., Prati, D., 2005. Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia*, 144: 1–11.
- Brenner, M.L., 1981. Modern methods for plant growth substance analysis. *Annual Review Plant Physiology*, 32, 511-538.
- Britten, R.J., 1996. Rates of DNA sequence evolution differ between taxonomic groups. *Science*, 231, 1393-1398.
- Brown, A.H.D., Marshall, D.R., 1981. Evolutionary changes accompanying colonization in plants. In: Scudder G C E, Reveal JL (eds) *Evolution today*, pp. 351-363. Carnegie-Mellon University, Pittsburgh.
- Brown, B.J., Mitchell, R.J., 2001. Competition for pollination: effects of pollen of an invasive plant on seed set of a native congener. *Oecologia*, 129: 43-49.
- Caetano-Anolles, G., Gresshoff P.M., 1994. Staining nucleic acids with silver, an alternative to radioisotopic and fluorescent labelling. *Promega Notes*, 45: 13-18.
- Callaway, R.M., Aschehoug, E.T., 2000. Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science*, 290, 521–523.
- Callaway, R.M., Ridenour, W.M., 2004. Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2, 436–443.
- Chaparro, J.X., Werner D.J., O Malley D., Sederoff R.R., 1994. Targeted mapping and linkage analysis of morphological isozyme and RAPD markers in peach. *Theor. Appl. Genet.*, 83, 194-200.
- Chamberlain, J., 1995. *The Analysis of Drugs in Biological Fluids (Second Edition)*. CRC Press, 139-145 p, New York, USA
- Cheik, N., Jonnes, R.J., 1994. Disruption of maize kernel growth and development by heat stress. *Plant Physiology* 106, 45-51.
- Chen, W.S., 1991. Changes in cytokinins before and during early flower bud differentiation in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). *Plant Physiology* 96, 1203-1206.
- Chen, Z.X., Ricigliano J.W., Klessig, D.F., 1993. Purification and characterization of a soluble salicylic acid-binding protein from tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90: (20) 9533-9537.
- Chinnusamy, V., Gong, Z., and Zhu, J. K., 2008. Abscisic acid-mediated epigenetic processes an plant development and stress responses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50 (10), 1187-1195.
- Chittka, L., Schurkens, S., 2001. Successful invasion of a floral market. *Nature*, 411: 653.
- Cutting, J.G.M., 1991. Determination of the cytokinin complement in healthy and witchesbroom malformed protease. *Journal of Plant Growth Regulation* 10, 85-89.
- D'Antonio, C.M., Vitousek, P.M., 1992. Biological invasions by exotic grasses, the grass/ fire cycle and global change. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 23, 63-87.

- Dat, J.F., Lopez-Delgado, H., Foyer, C.H., Scott, I.M., 1998. Parallel Changes in H₂O₂ and Catalase during Thermotolerance Induced by Salicylic acid or heat acclimation in Mustard Seedlings. *Plant Physiology*, 116: 1351-1357.
- Davies, P.J., 1995. The plant hormones; Their nature, occurrence and functions. *Plant Hormones* (Editor: Davies P.J.) Kluwer Academic Publishers, 1-39 p, Boston, USA.
- Davis, P. H., 1978. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh at the University Press, Volume 1 – 10.
- De Vicente, M.C. and Fulton T., 2004. Using Molecular Marker Technology in Studies on Plant Genetic Diversity: Learning module, Vol 1, Institute for Genomic Diversity/International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Cornell University, Rome, Italy.
- DosSantos, J.B., Nienhuis J., Skroch P., Tivang J. and Slocum M.K., 1994. Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theor. Appl. Genet.* 87: 909-915.
- El-Ghamery, A. A., El-Nahas, A.I. and Mansour, M.M., 2000. The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*, *Cytologica*, 55, 209-215.
- Eliana, A.V., et al., 2002. Genotoxicity of *Brosimum gaudichaudii* measured by the *Salmonella*/microsome assay and chromosomal aberrations in CHO cells, *J. Ethnopharm.*, 81, 257-264.
- Enyedi, A.J., N. Yalpani, P. Silverman and I. Raskin, 1992. Localization, conjugation and function of salicylic acid in tobacco during the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 89: 2480-2484.
- Eroğlu, Y., 2004. Bazı Fiziksel ve Kimyasal Mutajenlerin Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Üzerinde Mofolojik ve Sitogenetik Etkileri, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Kayseri.
- Fang, D.Q., Roose M.L., Kruger R.R., Federici C.T., 1997. Fingerprinting trifoliolate orange germplasm accessions with isozymes, RFLPs and inter-simple sequence repeats. *Theo. Appl. Genet.*, 95: 211-219.
- Foster, S. and J. A. Duke., 1990. A Field Guide to Medicinal Plants. Houghton Mifflin Co., Boston. 366 p.
- Garcia-Baudin, J. M., and Darmency, H. 1979. Differences intraspecifics chez *C. arvensis* L. *Weed Res.* 19, 219–244.
- Gawroska, H., Bernat, W., Ciurzynska, M., Garwonski, S.W., 2002. Photosynthesis and water status of mustard plants as influenced by sunflower allelopathics. Abstract of third world congress on allelopathy. Challenge for the new millennium, Tsukuba, Japan.
- Giannopolitis, CN. & Chrysayi, M., 1989. Biological control of *C. arvensis* L. Pathogenicity and host specificity of three promising fungi. In: Proceedings I. EWRS Symposium on Weed Problems in Mediterranean Climates. Vol. 2. Problems of Weed Control in Fruit, Horticultural Crops and Rice. Benaki Phytopathological Institute, Kiphissia, Greece, pp. 172- 177.
- Gregor, D., Hartmann W. And Stosser R., 1994. Cultivar Identification in *Prunus domestica* using Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Acta Horticulturae*, 359.

- Fedorenko, O.M., Gritskikh M.V., 2008. Diversity of *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. natural populations at the northern limits of the species range: RAPD analysis. *Russ J Genet* 44(4):425–428.
- Gülşen, O., Mutlu N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. *Alatırım*, 4 (2): 27-37.
- Hasan, S (1973). Plant pathogens and the biological control of some important weeds occurring in the Mediterranean region. In: Wapshere. AJ (Ed.): Proceedings III International Symposium on Biological Control of Weeds. C.A.B., Farnham Royal, Slough, UK. pp. 127-131.
- Hamrick, J.L., Godt, M.J.W., 1989. Allozyme diversity in plant species. In: Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL Weir BS (eds) *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, pp 43–63.
- Hartl, D.L., Clark, A.G., 1989. *Principles of population genetics* 2nd edn. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Hartley, S.E., Jones, C.G., 1996. Plant chemistry and herbivory, or why the world is green. In: Crawley MJ (eds) *Plant Ecology*. Blackwell, 284± 324 p, Oxford.
- Hegab, M.M. and Ghareib, H.R., 2010. Methanol extract potential of field bindweed (*C. arvensis* L) for wheat growth enhancement. *International Journal of Botany*, ISSN 1811-9700.
- Hegab, M. M. and H. R. Ghareib, 2009. Potential of Swiss chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) autotoxicity for weed control. *Allelopathy J.*, 24: 301-308.
- Hegab, M. M., S.E.A. Khodary, O. Hammouda and H. R. Ghareib, 2008. Autotoxicity of chard and its allelopathic potentiality on germination and some metabolic activities associated with growth of wheat seedlings, *Afr. J. Biotech.*, 7: 884-892.
- Hegab, M. M., 2005. Assessment of the allelopathic effect of some phenolic compounds on some physiological processes of pea plant (*Pisum sativum*). Ph.D. Thesis, Faculty of Science, Beni-Sueif University, Egypt.
- Hernandez-Minea, F.M., 1991. Identification of cytokinins and the changes in their endogenous levels in developing *Citrus sinensis* leaves. *Journal of Horticultural Science*, 66, 505-511.
- Holm, LG, Plunknett, DL, Pancho, JV, Herberger, JP (1977) *The World's Worst Weeds*. University Press of Hawaii, Honolulu, Hawaii. USA. pp. 98-104.
- Holmes, P.M., Cowling, R.M., 1997. The effects of invasion by *Acacia saligna* on the guild structure and regeneration capabilities of South African fynbos shrublands. *J. Appl. Ecol*, 34: 317-332.
- Horgan, R., Kramers, M.R., 1979. High-performance liquid chromatography of cytokinins. *Journal of Chromatography*, 173, 263-270.
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bul. Soc. Vaudoise Sci. Nat.* 44:223–270.
- Jurado-Expósito, M., López-Granados, F., González-Andújar, J.L., García-Torres, L., 2004. Spatial and temporal analysis of *C. arvensis* L. populations over four growing seasons *Europ. J. Agronomy* 21 (2004) 287–296.
- Kazinczi G., Varga P., Takacs A., Torma M., Horvath J. 2007. Early competition between tomato and *C. arvensis* in additive experiment. *Cereal Res. Commun.* 35 (2): 601–604.

- Karaca, M., Saha S., Zipf A., Jenkins J.N. and Lang D.J., 2002. Genetic diversity among forage bermudagrass (*Cynodon* spp.): Evidence from chloroplast and nuclear DNA fingerprinting. *Crop Science*, 42, 2118-2127.
- Kaya Y., 1999. *Tohumlu Bitkiler Sistematigi*. 580 p, Erzurum.
- Kaymak, F. 2005., Cytogenetic Effects of Maleic Hydrazide on *Helianthus annuus* L.. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(1): 104-108.
- Keane, R.M., Crawley, M.J., 2002. Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends Ecol Evol.*, 17: 164-170.
- Kimura, M., Crow, J.F., 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49, 725–735.
- Koshimizo, K., Iwamura, H., 1986. Cytokinins. *Chemistry of Plant Hormones*, (Editor: Takahashi, N.), CRC Press Inc., 154-199 p, Florida.
- Konieczyn, A., Ausubel F.M., 1993. A Procedure for Mapping *Arabidopsis* Mutations Using Co-dominant Ecotype-specific PCR-based Markers. *Plant J.*, 4: 403-410.
- Kovac, M., Zel, J., 1994. The effect of aluminium on the cytokinins in the mycelia of *Lactarius piperatus*. *Planta Science*, 97, 137-142.
- Kovarik, A., Koukalova, B., Bezdek, M., Opatrn, Z., 1997. Hypermethylation of tobacco heterochromatic loci in response to osmotic stress. *Theor. Appl. Genet.* 95,301–306.
- Kumar, L.S., 1999. DNA markers in plant improvement: An overview. *Biotechnology Advances*, 17: 143-182.
- Kuraishi, S., Tasaki, K., Sakurai, N., Sadatoku, K., 1991. Changes in levels of cytokinins in etiolated squash seedlings after illumination. *Plant Cell Physiology*, 32, 585-591.
- Labra, M., Ghiani, A., Citterio, S., Sgorbati, S., Sala, F., Vannini, C., *et al.* 2002. Analysis of cytosine methylation pattern in response to water deficit in pea root tips. *Plant Boil.* 4, 694–699.
- Langella, O., 2000. *Populations: Population Genetic Software (Individuals or populations distances, phylogenetic trees)*. CNRS, France. <http://pge.cnrs-gif.fr/bioinfo/populations>.
- Lattera, P., Bazzalo, M.E., 1999. Seed-to-seed allelopathic effects between two invaders of burned Pampa grasslands. *Weed Research*, 39, 297–308.
- Lee, C.E., 2002. Evolutionary genetics of invasive species. *Trends Ecol. Evol.*, 17: 386-391.
- Levine, J.M., Vilà, M., D'Antonio, C.M., Dukes, J.S., Grigulis, K., Lavorel, S., 2003. Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270: 775-781.
- Li, G., Quiros C.F., 2001. Sequence-related Amplified Polymorphism (SRAP) a New Marker System Based on a Simple PCR Reaction: Its Application to Mapping and Gene Tagging in Brassica. *Theo. Appl. Genet.*, 103: 455-461.
- Liang, Y., Liu, J., Zhang, S.P., Wang, S.J., Guo, W.H., Wang, R.Q., 2008. Genetic diversity of the invasive plant *Coreopsis grandiflora* at different altitudes in Laoshan Mountain, China. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 88(4), 831-837.
- Liu W, Li PJ, Qi XM, Zhou QX, Zheng L, Sun TH, Yang YS. 2005. "DNA changes in barley (*Hordeum Vulgare*) seedlings

- Liu W, Yang YS, Zhou Q, Xie L, Li P, Sun T. 2007. Impact assessment of cadmium contamination on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings at molecular and population levels using multiple biomarkers”, *Chemosphere* 67:1155-1163.
- Lonsdale, W.M., 1999. Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology*, 80: 1522-1536.
- Machackova, I., Krekule, J., Eder, J., Seidlova, F., Strnad, M., 1993. Cytokinins in photoperiodic induction of flowering in *Chenopodium* species. *Physiologia Plantarum*, 87, 160-166.
- Mack, R.N., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Evans, H., Clout, M., Bazzaz, F.A., 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol. Appl.*, 10: 689-710.
- Maguire, T.L., Peakall, R. Saenger, P., 2002. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs. *Theoretical and Applied Genetics* 104: 388–398.
- Maron, J.L., Vilà, M., 2001. When do herbivores affect plant invasion? Evidence for the natural enemies and biotic resistance hypotheses. *Oikos*, 95: 361-373.
- Marquis, R.J., 1992. Selective impact of herbivores In: Fritz RS, Simms EL, (eds) *Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution and genetics*. University of Chicago Press, Chicago, pp 301±325
- Mengistu, L.W., Mueller-Warrant, G.W., Barker, R.E., 2000. Genetic diversity of *Poa annua* in western Oregon grassseed crops. *Theoretical and Applied Genetics*, 101, 70-79.
- Michelia, M.R., Bova R., 1997. *Fingerprinting Methods Based on Arbitrarily Primed PCR*. Springer, Berlin.
- Mitchell, C.E., Power, A.G., 2003. Release of invasive plants from fungal and viral pathogens. *Nature*, 421: 625-627.
- Money, P.A., Staden, J.V., 1984. Seasonal changes in the levels of endogenous cytokinins in *Sargassum heterophyllum* (Phaeophyceae). *Botanica Marina*, 17, 437-442.
- Money, H.A., Cleland, E.E., 2001. The evolutionary impact of invasive species. *Proc Natl. Acad Sci. USA* 98: 5446-5451.
- Morris, J.W., Doumas, P., Morris, R.O., Zaer, J.B., 1990. Cytokinins in vegetative and reproductive buds of *Pseudotsuga menziesii*. *Plant Physiology*, 9, 67-71.
- Mueller, U.G., Wolfenbarger, L.L., 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 389–393.
- Murugan S. S., Balakrishnamurthy P., Mathew Y. J., Antimutagenic effect of broccoli flower head by the ames *salmonella* reverse mutation assay, *Phytother. Res.*, 21(6), 545 – 547, 2007.
- Mutlu S, Atici O., Esim N. and Mete E., 2011. Essential oils of catmint (*Nepetameyeri*) induce oxidative stress in early seedlings of various weed species. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 943–951.
- Neuffer, B., Hurka, H., 1999. Colonization history and introduction dynamics of *Capsella-bursa pastoris* (Brassicaceae) in North America: Isozymes and quantitative traits. *Mol Ecol.*, 8: 1667-1681.
- Nicholas Calvino 2002 Anti-angiogenesis properties of a common weed, *C. arvensis* 0899-3467/02/1002-journal of chiropractic medicine.

- Nilsson, M.C., 1994. Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum*. *Oecologia*, 98, 1–7.
- Oracz K, Bailly C, Gniazdowska A, Co[^]me D, Corbineau F and Bogatek R., 2007. Induction of oxidative stress by sun flower phytotoxins in germinating mustard seeds. *Journal of Chemical Ecology* 33: 251–264.
- Ormeno-Nuñez, J, Reieder, RDT Watson, AK., 1988b. A new species of *Phomopsis* recovered from field bindweed (*C. arvensis* urvenris). *Canadian Journal of Botany* 66,222802233.
- O'Toole, JJ & Horn, J., 1989. Bindweed control in zero-tillage corn. tn: Annual Report Centralia College of Agriculture and Technology, Ontario Ministry of Agriculture and Food, Toronto, ON, Canada, p. 6.
- Owen, J.L., Uyeda, C.M., 1991. Single Primer Amplification of Avian Genomic DNA Detects Polymorphic Loci. *Ann. Biotechnol.*, 2: 107-122.
- Özalpan, A., Temel Radyobioloji, s. 85-87, Haliç Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 2001.
- Özmen, A., Sümer, S., Cytogenetic effects of kernel extracts from *Melia azedarach* L., *Caryologia*, 57(3), 290-293, 2004.
- Palni, L.M.S., Susmons, R.E., Letham, D.S., 1983. Mass spectro analysis of cytokinins in plant tissues. *Plant Physiology*, 7, 858-863.
- Paran, L., Michelmore R.W., 1993. Development of Reliable PCR-based Markers Linked to Downy Mildew Resistance Genes in Lettuce. *Theoretical and Applied Genetics*, 85, 985-993.
- Parker, P.G., Snow, A.A., Schug, M.D., Booton, G.C., Fuerst, P.A., 1998. What molecules can tell us about populations: Choosing and using a molecular marker. *Ecology*, 7: 361–382.
- Phillips, WM (1976) Field bindweed and its control. United States Department of Agriculture, Leaflet 4%. Washington, DCT USA. 8 pp.
- Pimentel, D., Lach, L., Zuniga, R., Morrison, D., 2000. Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *Bioscience*, 50: 53-63.
- Putnam, A.R., and Duke, W.B., 1978. Allelopathy in agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, 16, 431–451.
- Qamaruddin, M., Dormling, I., Eliasson, L., 1990. Increase in cytokinin levels in scots pine in relation to chilling and bud burst. *Physiologia Plantarum*, 79, 236-241.
- Qasem, J.R. 1994. Allelopathic effect of white top (*Lepidium draba*) on wheat and barley. *Allelopathy Journal*, 1, 29–40.
- Rafalski, J.A., Tingey S.V., 1993. Genetic Diagnostics in Plant Breeding: RAPDs, Microsatellites and Machines. *Trends Genet.*, 9, 275-279.
- Reisch, C., Anke, A., Röhl, M., 2005. Molecular variation within and between ten populations of *Primula farinose* (Primulaceae) along an altitudinal gradient in the northern Alps. *Basic Applied Ecology*, 6, 35–45.
- Rice, E.L., 1979. Allelopathy. An update. *Botanical Review*, 45, 17–109.
- Rice, K.J., Mack, R.N., 1991b. Ecological genetics of *Bromus tectorum*. III. The demography of reciprocally sown populations. *Oecologia*, 88: 91-101.
- Richardson, D.M., Allsopp, N., D'Antonio, C.M., Milton, S.J., Rejmanek, M., 2000. Plant invasions – the role of mutualisms. *Biol Rev.*, 75: 65-93.

- Ridenour, W., Callaway, R.M., 2001. The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia*, 126(3), 444–450.
- Rutherford, M.C., Powrie, L.W., 1993. Allelochemic control of biomass allocation in interacting shrub species. *Journal of Chemical Ecology*, 19(5), 893–906.
- Sala, O.E., Chapin, III.F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Money, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M., Wall, D.H., 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287: 1770-1774.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., Dixon, K., 2000. Acetyl Salicylic Acid (Aspirin) and Salicylic Acid Induce Multiple Stress Tolerance in Bean and Tomato Plants. *Plant Growth Regulation*, 30: 157-161.
- Senaratna, T., Merritt, D., Dixon, K., Bunn, E., Touchell, D., Sivasithamparam, K., 2003. Benzoic Acid May Act as The Functional Group in Salicylic Acid and Derivatives in The Induction of Multiple Stress Tolerance in Plants. *Plant Growth Regulation*, 39: 77–81.
- Schroeder, D., MiiUer-Schih. H., Stinson. CSA., 1993. A European weed survey in 10 major crop systems to identify targets for biological control. *Weed Research* 33, 449-458.
- Schulze, E., Kirscher, S., Microtubule dynamics in interphase, *Cellular Journal of Cell Biology*, 102, 1020–1021, 1996.
- Shashidhar, V-R., Prasad, T-G., Sudharshan, L., 1996. Hormone signals from roots to shoots of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Moderate soil drying increases delivery of abscisic acid and depresses delivery of cytokinins in xylem sap. *Annals of Botany*. 78:151-155.
- Singh HP, Batish DR, Kaur S, Arora K and Kohli RK., 2006. α -Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Annals of Botany* 98: 1261–1269.
- Singh HP, Kaur S, Mittal S, Batish D and Kohli RK., 2009. Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *Journal of Chemical Ecology* 35:154–162.
- Skoula, M., El Hilali I. and Makris A.M., 1999. Evaluation of the genetic diversity of *Salvia fruticosa* Mill. Clones using RAPD markers and comparison with the essential oil profiles. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27, 559-568.
- Soejima, H., Sugiyama, T., Ishihara, K., 1992. Changes in cytokinin activities and mass spectrometric analysis of cytokinins in root exudates of rice plant (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology*, 94, 1724-1729.
- Strauss, S.Y., Agrawal, A.A., 1999. The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends Ecol. Evol.*, 14:179-185.
- Steward, N., Ito, M., Yamaguchi, Y., Koizumi N., Sano, H., 2002. Periodic DNA methylation in maize nucleosomes and demethylation by environmental stress. *J. Biol. Chem.* 277, 37741–37746.
- Stuber, W.C., 1992. Biochemical and molecular markers in plant breeding. *Plant Breeding News*, 9, 36-61.
- Sunar S, Yildirim N, Aksakal O, Agar G., 2012. Determination of the genotoxic effects of *C. arvensis* extracts on corn (*Zea mays* L.) seeds. *Toxicol Ind Health* Feb 23.

- Şahin, F., 1999. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanısı (Microbial Identification System) II. Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Kursu, 15-20 Mayıs 2000, Erzurum, p64-68.
- Taız, L.; Zeiger, E. *Fisiologia Vegetal [Plant physiology]*, 3. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2004, 720 p.
- Tanksley, S.D. & Orton, T.J., 1983. *Isozymes in plant genetics and breeding*. Amsterdam, Elsevier, 516p.
- Taylor, J.S., Thompson, B., Pate, S.J., Atkins, C.A., Pharis, R.P., 1990. Cytokinins in the phloem sap of white lupin (*Lupinus albus* L.). *Plant Physiology*, 94, 1714-20.
- Temizkan, G., Arda, N., 2004. *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler* (2. baskı). Nobel Tıp Kitabevleri, 345 s, İstanbul.
- Thompson, J. D., 1991. The biology of an invasive plant. *Bioscience*, 41, 393-401.
- Thompson, J.N., 1998. Rapid evolution as an ecological process. *Trends in Ecology and Evolution*, 13, 329-332.
- Thompson, A-J., Jackson, A-C., Parker, R-A., Morpeth, D-R., Burbidge, A., Taylor, I-B., 2000. Abscisic acid biosynthesis in tomato: regulation of zeaxanthin epoxidase and 9-cis epoxycarotenoid dioxygenase mRNAs by light/dark cycles, water stress and abscisic acid *Plant Molecular Biology*. 42:833-845.
- Turker, M., Battal, P., Agar, G., Güllüce, M., Şahin, F., Erez, M.E., Yıldırım, N., 2008. Allelopathic effects of plant extracts on physiological and cytological processes during maize seed germination. *Allelopathy Journal*, 21(2), 273-286.
- Turnbull, C.G.N., Hanke, D.E., 1985. The control of bud dormancy in potato tubers. Measurement of the seasonal pattern of changing concentration of zeatin. *Planta*, 165, 366-376.
- Tiselius, A., 1937. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. *Trans. Faraday Soc.* 33: 524-531.
- Van Wilgen, B.W., Richardson, D.M., le Maitre, D.C., Marais, C. & Magadla, D. 2001. The economic consequences of alien plant invasions: examples of impacts and approaches to sustainable management in South Africa. *Environment, Development and Sustainability*, 3: 145-168.
- Van Geyt, J.P.C.F., and E. Smed. 1984. Polymorphism of some marker enzymes of the sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) investigated by poly acrylamide gel electrophoresis and starch gel electrophoresis. *Z. Pflanzenzuchtg.* 92:295-308.
- Vazquez, J.L.H., Gomez-Mercado, F., Guerrero, J-L.G., Rodriguez-Garcia, I. and Garcia-Maroto, F., 1999. Genetic relationships and population structure within taxa of endemic *Sideritis pusilla* (*Lamiaceae*) assessed using RAPDs. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 129, 345-358.
- Vitousek, P.M., Walker, L.R., Whiteaker, L.D., Mueller-Dombois, D., Matson, P.A., 1987. Biological invasion by *Myrica faya* alters ecosystem development in Hawaii. *Science*, 238: 802-804.
- Vitousek, P.M., Walker, L.R., 1989. Biological invasion by *Myrica faya* in Hawaii: plant demography, nitrogen fixation, ecosystem effects. *Ecol Monogr.*, 59: 247-265.
- Vitousek, P.M., D'Antonio, C.M., Leppe, L.L., Westbrooks, R., 1996. Biological invasions as global environmental change. *Am. Sci.*, 84: 468-478.
- Vogelgsang, S., 1998. Pre-emergence Efficacy of Phomopsis *C. arvensis* Ormeno to Control Field Bindweed (*C. arvensis* L.). Ph.D. thesis, Department of Plant Science, Macdonald Campus of McGU University Montreal, QC. Canada.

- Voyelgsang, S., A. K. Watson, A. DiTommaso Hurler, K., 1999. Susceptibility of Various Accessions of *C. arvensis* to Phomopsis *C. arvensis* Biological Control 15, 25–32 (1999).
- Yeh, C.F., Yang, R., Boyle, T., 1997. POPGENE Version 1.31. Windows-based Software for Population Genetics Analysis.
- Yıldırım, A., Kandemir, N., 2001. Bitki Biyoteknolojisi (eds. Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S.). Bölüm 23, Genetik Markörler ve Analiz Metodları, 334-363. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 s, Konya.
- Yıldırım, N., Sunar, S., Agar, G., Bozari, S., and Aksakal O., 2009. Biochemical and molecular characterization of some *Centaurea* species growing in the eastern Anatolia region of Turkey, *Biochem. Genet.* 47, 850-859.
- Yu, K., Park S.J., Poysa V., 2000. Marker-assisted Selection of Common Beans for Resistance to Common Bacterial Blight: Efficacy and Economics. *Plant Breeding*, 119, 411-415.
- Ward, S., 2006. Genetic analysis of invasive plant populations at different spatial scales *Biological Invasions*, 8: 541–552.
- Wardle, D.A., Nicholson, K.S., Rahman, A., 1993. Influence of plant age on the allelopathic potential of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) against pasture grasses and legumes. *Weed Research*, 33, 69-78.
- Wardle, D.A., Nilsson, M.C., Gallet, C., Zackrisson, O., 1998. An ecosystem-level perspective of allelopathy. *Biological Reviews*, 73, 305-319.
- Weber, E., Schmid, B., 1998. Latitudinal population differentiation between in two species of *Solidago* (Asteraceae) introduced into Europe. *Am. J. Bot.*, 85: 1110-1121.
- Welsh, J. and McClelland M., 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids. Res.*, 18, 7213-7218.
- Whitesides, R. S. 1979. "Field Bindweed: A Growth Stage Indexing System and its Relation to Control with Glyphosate," Ph.D. thesis, Oregon State Univ. Corvallis.
- Whitkus, R., Doebley J., Wendel J.F., 1994. DNA-based markers in plants, Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Wilcove, D.S., Rothstein, D., Dubow, J., Phillips, A., Loso, E., 1998. Quantifying threats to imperiled species in the United States. *Bioscience*, 48: 607-615.
- Williams, j.G.K., Kubelik A.R., Livak R.J., Rafalski J.A., Tingey S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids. Res.*, 18: 6531-6535.
- Williamson, M., 1996. Biological invasions. Chapman & Hall, London.
- Wright, S., 1969. Evolution and Genetics of Populations: The Theory of Gene Frequencies. Chicago: Univ. Chicago Press, Chicago, USA.
- Zangerl, A.R., Bazzaz, F.A., 1992. Theory and pattern in plant defense allocation. In: Fritz RS, Simms EL, (eds) Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution and genetics. University of Chicago Press, Chicago, pp 363±391.
- Zabeau, M., Vos P., 1993. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprints. European Patent Application. Publ. 0534858A1.

- Zengin, H., 1999. Erzurum yöresinde fasülye ekim alanlarında görülen yabancıotlar, yoğunlukları, yaygınlıkları ve topluluk oluşturma durumları üzerinde çalımsalar. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 23: 69-74.
- Zhang J., Jiang M., 2002. Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in abscisic acid- and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings . Planta, 215: 1022-1030.
- Zietkiewicz, E., Rafalski A., Labuda D., 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. Genomics, 20: 176-183.
- Taız, L., Zeiger, E. Fisiologia Vegetal [Plant physiology], 3. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2004, 720 p.
- Tesfaye, B. and Heiko, C.B., 2005. Exploration of Vernonia galamensis in Ethiopia, and variation in fatty acid composition of seed oil. Genetic Resources and Crop Evolution , 52, 805–811.
- Tiselius, A., 1937. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. Trans. Foraday Soc. 33, 524-531.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Sivas 'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Sivas'da tamamladı. 2001 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2005 yılında mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisansa başladı. 2008 yılında yüksek lisans öğrenimini tamamladı ve aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde doktora öğrenimine başladı.