

**AĞIR METALE (Cd, Cr ve Cu) HASSAS ve  
TOLERANSLI ARPA (*Hordeum vulgare* L.)  
ÇEŞİTLERİNİN MOLEKÜLER MARKÖR  
YÖNTEMİ KULLANILARAK TARANMASI ve  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Nevra DOĞAN

Danışman  
Doç. Dr. Süleyman CENKÇİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
Haziran, 2013

Bu tez çalışması 11.FENBİL.08 numaralı proje ile AKU-BABK tarafından desteklenmiştir.

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AĞIR METALE (Cd, Cr ve Cu) HASSAS ve TOLERANSLI ARPA (*Hordeum  
vulgare* L.) ÇEŞİTLERİNİN MOLEKÜLER MARKÖR YÖNTEMİ  
KULLANILARAK TARANMASI ve DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Nevra DOĞAN**

**Danışman**

**Doç. Dr. Süleyman CENKÇİ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Haziran 2013**

### TEZ ONAY SAYFASI

Nevra Doğan tarafından hazırlanan ‘‘Ağır metale (Cd, Cr ve Cu) hassas ve toleranslı arpa (*Hordeum vulgare* L.) eşitlerinin moleküler markör yöntemi kullanılarak taranması ve değerlendirilmesi’’ adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 19/06/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji **Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Süleyman CENKÇİ

**Başkan** : Doç. Dr. Süleyman CENKÇİ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi.

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Özgür KAHRAMAN  
Afyon Kocatepe Üniversitesi,  
Sultandağı Meslek Yüksek Okulu

**Üye** : Yrd. Doç. Mehmet TEMEL  
Afyon Kocatepe Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi.

<p>Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun ...../...../..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.</p> <p>..... Prof. Dr. Mevlüt DOĞAN Enstitü Müdürü</p>
---

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### AĞIR METALE (Cu, Cr ve Cd) HASSAS ve TOLERANSLI ARPA (*Hordeum vulgare* L.) ÇEŞİTLERİNİN MOLEKÜLER MARKÖR YÖNTEMİ KULLANILARAK TARANMASI ve DEĞERLENDİRİLMESİ

Nevra DOĞAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman:** Doç. Dr. Süleyman CENKÇİ

Bu çalışmada, bakır (CuSO<sub>4</sub>), kadmiyum (CdCl<sub>2</sub>) ve krom (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) toksisitesine hassas ve toleranslı arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşitlerinin rastgele çoğalmış polimorfik DNA (RAPD) yöntemi kullanılarak belirlenmesi hedeflenmiştir. Arpa kültürlerinde ağır metal stresi koşulları ½ Hewitt besin çözeltisine farklı konsantrasyonlarda (0, 75, 150, 225 µM) CuSO<sub>4</sub>, CdCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> eklenerek sağlandı. Kontrol bitki materyali ½ Hewitt besi ortamında yetiştirildi (0.3 µM CuSO<sub>4</sub>). Tüm arpa çeşitlerinin kök ve gövde uzunlukları ve biomas birikimi artan bakır, krom, kadmiyum konsantrasyonu (0-225 µM) ile birlikte genelde önemli düzeyde (P<0.05) azalmıştır. RAPD çalışmalarında her üç ağır metalin de arpa çeşitlerinin genomları üzerine genotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. RAPD çalışmalarında toplamda 6866 adet PCR bandı değerlendirilmiştir. RAPD ve fizyolojik parametreler ışığı altında Aydanhanım, Zeynelağa ve Başgül arpa çeşitleri genel olarak ağır metal stresine toleranslı olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan; Orza-96, Tarm-92 ve Bülbül-89 arpa çeşitleri ağır metal stresine hassastırlar. Bu çalışmada, bitkilerin ağır metal stresine karşı arpa çeşitlerinin taranmasında ve sınıflandırılmasında RAPD markör tekniğinin kullanılabileceği gösterilmiştir.

2013, xi +121 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Arpa çeşitleri, Ağır metal stresi, Büyüme, RAPD, Genotoksosite

## ABSTRACT

M. Sc. Thesis

### SCREENING AND EVALUATING OF HEAVY METAL (Cu, Cr and Cd) SENSITIVE AND TOLERANT BARLEY (*Hordeum vulgare* L.) CULTIVARS BY USING A MOLECULAR MARKER TECHNIQUE

Nevra DOĞAN

Afyon Kocatepe University

Institutes of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

**Supervisor:** Assoc. Prof. Dr. Süleyman CENKÇİ

In this study, it was aimed to determine tolerant and sensitive barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars to copper (CuSO<sub>4</sub>), cadmium (CdCl<sub>2</sub>) and chromium (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) toxicity by using random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. Heavy metal stress conditions for barley cultivars was done by adding different concentrations of CuSO<sub>4</sub>, CdCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> into ½ Hewitt culture medium. The control plant materials were grown in only ½ Hewitt culture medium supplemented with 0.3 µM CuSO<sub>4</sub>. In general, the root and stem lengths, and biomass accumulations of all barley cultivars were significantly decreased (P<0.05) by an increasing (0-225 µM) the copper, chromium and cadmium concentrations. It was revealed by RAPD studies that all three heavy metals have genotoxic affects on the genomes of barley cultivars. In total, we had evaluated 6866 PCR bands in RAPD profiles. Under the light of RAPD and physiological parameters, Aydanhanım, Zeynelağa and Başgül barley cultivars were determined as tolerant to heavy metal stress. On the other hand, Orza-96, Tarım 92 and Bülbül-89 barley cultivars were sensitive to heavy metals. In the present study, it was shown that the RAPD marker technique can be used to screen and classify the plants against to heavy metal stress.

2013, xi +121 pages

**Key Words:** Barley cultivars, Heavy metal stress, Growth, RAPD, Genotoxicity.

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince bana olan güvenini her zaman hissettiğim, her türlü destek ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Süleyman CENKCI'ye, içten dileklerle teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında, laboratuvar çalışmalarımda bana gösterdikleri anlayış ve yardımları için Sayın Ezgi Melis KOLUKISA başta olmak üzere yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Lisans ve Yüksek lisans öğrenimim süresince maddi ve manevi destekleri için aileme sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Nevra DOĞAN  
AFYONKARAHİSAR, 2013

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ.....	3
2.1 Arpa'nın Morfolojisi Ve İklim Koşulları.....	3
2.2 Ağır Metal Stresi.....	4
2.2.1 Bakır Genotoksisitesi .....	5
2.2.2 Kadmiyum Genotoksisitesi.....	8
2.2.3 Krom Genotoksisitesi .....	9
2.3 Bitkilerde Ağır Metal Alınımı ve Taşınımı .....	10
2.4 Reaktif Oksijen Türleri (ROT), Antioksidanlar Ve Antioksidatif Enzimler Üzerine Ağır Metallerin Etkileri .....	11
2.5 Stresten Sorumlu Genlerin Aktivasyonunda Transkripsiyon Faktörlerinin Rolü .....	12
2.6 Genotoksisite .....	14
2.6.1 Genotoksisite Belirleme Teknikleri .....	14
2.6.2 Morfolojik Markırlar .....	15
2.6.3 Protein Markırları .....	15
2.6.4 DNA Markırları .....	16
2.7 Genotoksisiteyi Belirlemede RAPD Tekniğinin Kullanımı .....	16
3. MATERYAL ve METOT.....	18
3.1 Bitki Materyali .....	18
3.2 Tohum Sterilizasyonu ve Bitki Büyüme Koşulları .....	18
3.3 Büyüme Deneyleri ve Ağır Metal Toleransının (Cu, Cd, Cr) Belirlenmesi .....	18
3.4 RAPD Tekniği .....	20
3.4.1 CTAB DNA İzolasyon Prosedürü .....	20

3.4.2 DNA Miktarı ve Kalitesinin Spektrofotometrik Yöntemle Tayini.....	21
3.4.3 PCR Karışımı Hazırlama .....	22
3.4.4 PCR Döngüleri .....	22
3.4.5 Agaroz Jel Elektroforezi .....	23
3.4.6 RAPD Ürünlerinin Rakamsal Analizi.....	24
3.4.7 Genomik Kalıp Kararlılığının (GTS, %) Hesaplanması.....	24
3.4.8 GTS (%) ve GB (%) Değerlerinin Toleranslık Sınıflandırmasında Kullanılması.....	24
3.5 İstatistiksel Analizler .....	25
4. BULGULAR.....	26
4.1 Arpa Çeşitlerinin Gövde ve Kök Büyümesi Üzerine Bakır ve Kadmiyum Stresinin Etkisi.....	26
4.2 Kadmiyum ve Bakır Stresine Maruz Kalan Arpa Çeşitlerinde Tolerans Sınıflandırması .....	35
4.3 RAPD Analizleri.....	37
4.3.1 Genomik DNA Ekstraksiyonu .....	37
4.3.2 RAPD Bulguları .....	37
4.3.2.1 Angora RAPD profilleri .....	38
4.3.2.2 Avcı-2002 RAPD profilleri .....	44
4.3.2.3 Aydanhanım RAPD profilleri.....	49
4.3.2.4 Başgül RAPD profilleri .....	54
4.3.2.5 Bülbül-89 RAPD profilleri .....	59
4.3.2.6 Orza-96 RAPD profilleri .....	64
4.3.2.7 Tarm-92 RAPD profilleri .....	69
4.3.2.8 Zeynelağa RAPD profilleri.....	74
4.4 RAPD Yöntemi ile Arpa Çeşitlerinin Cd, Cu ve Cr' a Karşı Toleranslık Sınıflandırması .....	79
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	83
6. KAYNAKLAR .....	90
ÖZGEÇMİŞ.....	105



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### 1. Simgeler

---

$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{g/L}$	Mikrogram/litre
$\mu\text{L}$	Mikrolitre
M	Molarite
$\text{mg/L}$	Miligram/litre
mL	Mililitre
mM	Milimolar
N	Normalite
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir kısım
rpm	Revolutions per minute (r/min)
U	Ünite (birim)
V	Volt

---

### 2. Kısaltmalar

---

CTAB	Cetyl trimethyl ammonium bromide
DNA	Deoksiribo nükleik asit
Dntp	Deoksiribonükleotid trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
GTS	Genomik kalıp kararlılığı
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase chain reaction)
RAPD	Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA
TBE	Tris-Borik asit-EDTA
TE	Tris-EDTA
UV	Ultraviyole ışık

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 4.1</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Angora arpa çeşidi genomik DNA'ları RAPD profili ..... 41
<b>Şekil 4.2</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Angora arpa çeşidi için UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram ..... 42
<b>Şekil 4.3</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Avcı-2002 arpa çeşidi genomik DNA'ları RAPD profili ..... 46
<b>Şekil 4.4</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Avcı-2002 arpa çeşidi için UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram ..... 47
<b>Şekil 4.5</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Aydanhanım arpa çeşidi genomik DNA'ları RAPD profili ..... 51
<b>Şekil 4.6</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Aydanhanım arpa çeşidi için UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram ..... 52
<b>Şekil 4.7</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Başgül arpa çeşidi genomik DNA'ları RAPD profili ..... 56
<b>Şekil 4.8</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Başgül arpa çeşidi için UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram ..... 57
<b>Şekil 4.9</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Bülbül-89 arpa çeşidi genomik DNA'ları RAPD profili ..... 61
<b>Şekil 4.10</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Bülbül-89 arpa çeşidi için UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram ..... 62

<b>Şekil 4.11</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Orza-96 arpa çeşidi genomik DNA'ları RAPD profili .....	66
<b>Şekil 4.12</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Orza-96 arpa çeşidi için UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram .....	67
<b>Şekil 4.13</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Tarm-92 arpa çeşidi genomik DNA'ları RAPD profili .....	71
<b>Şekil 4.14</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Tarm-92 arpa çeşidi için UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram .....	72
<b>Şekil 4.15</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Zeynelağa arpa çeşidi genomik DNA'ları RAPD profili .....	76
<b>Şekil 4.16</b>	Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış ve bırakılmamış Zeynelağa arpa çeşidi için UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram .....	77

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Çizelge 3.1</b>	RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılan primerler, sekansları ve GC içerikleri ..... 22
<b>Çizelge 4.1</b>	Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök uzunlukları üzerine Cd stresinin etkisi ..... 28
<b>Çizelge 4.2</b>	Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök uzunlukları üzerine Cu stresinin etkisi ..... 29
<b>Çizelge 4.3</b>	Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök taze ağırlıkları üzerine Cd stresinin etkisi ..... 31
<b>Çizelge 4.4</b>	Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök taze ağırlıkları üzerine Cu stresinin etkisi ..... 32
<b>Çizelge 4.5</b>	Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök kuru ağırlıkları üzerine Cd stresinin etkisi ..... 33
<b>Çizelge 4.6</b>	Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök kuru ağırlıkları üzerine Cu stresinin etkisi ..... 34
<b>Çizelge 4.7</b>	Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kuru ağırlık temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları ..... 36
<b>Çizelge 4.8</b>	Farklı Cu konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kuru ağırlık temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları ..... 36
<b>Çizelge 4.9</b>	Angora çeşidinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri ..... 43
<b>Çizelge 4.10</b>	Avcı-2002 çeşidinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri ..... 48
<b>Çizelge 4.11</b>	Aydanhanım çeşidinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri .... 53
<b>Çizelge 4.12</b>	Başgül çeşidinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal 58

	uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri ....	
<b>Çizelge 4.13</b>	Bülbül-89 çeşidinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri.....	63
<b>Çizelge 4.14</b>	Orza-96 çeşidinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri .....	68
<b>Çizelge 4.15</b>	Tarm-92 çeşidinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri .....	73
<b>Çizelge 4.16</b>	Zeynelağa çeşidinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri .....	78
<b>Çizelge 4.17</b>	Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kontrol gruplarına göre genomik kalıp DNA kararlılık (GTS, %) ve genetik yakınlık (GY, %) değerlerindeki değişim temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları	80
<b>Çizelge 4.18</b>	Farklı Cu konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kontrol gruplarına göre genomik kalıp DNA kararlılık (GTS, %) ve genetik yakınlık (GY, %) değerlerindeki değişim temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları	81
<b>Çizelge 4.19</b>	Farklı Cr konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kontrol gruplarına göre genomik kalıp DNA kararlılık (GTS, %) ve genetik yakınlık (GY, %) değerlerindeki değişim temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları	82

## RESİMLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Resim 3.1</b> Kabuk yüzey sterilizasyonu yapılmış arpa tohumlarının çimlendirme kaplarına 8*9 şeklinde dizilmesi .....	19
<b>Resim 3.2</b> 3 gün çimlendirme sonunda fidelerin hidroponik kültür ortamına transferi .....	19
<b>Resim 3.3</b> İplik şeklindeki DNA .....	23
<b>Resim 3.4</b> PCR ürünlerinin jele yüklenmesi .....	23
<b>Resim 4.1</b> Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum ve bakır uygulamalarına maruz bırakılmış 7 günlük Avcı-2002 arpa çeşidi fidelerinde gövde büyümesi engellenmesi .....	27
<b>Resim 4.2</b> Farklı konsantrasyonlarda bakır uygulamalarına maruz bırakılmış 7 günlük Avcı-2002 arpa çeşidi fidelerinde kök büyümesi engellenmesi .....	27

## 1.GİRİŞ

Buğdaydan sonra, serin iklim tahılları içerisinde en çok ekimi yapılan arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkisidir. Türkiye’de büyük çoğunluğu (% 90)ı hayvan yemi olarak tüketilmekte, kalan kısmı bira yapımında maltlık olarak kullanılmaktadır (TÜİK 2009). Gıda endüstrisinde kullanılan oran çok düşük olup, bira sanayinde kullanılan oran her geçen yıl artmaktadır (Baik and Ulrich 2008; Schulte *et al.* 2009; Pourkheirandish and Komatsuda 2007; Forster *et al.* 2000; Cho and Dreher 2001).

Toprak, su ve havada çeşitli miktarlarda var olan ağır metaller, beklenen konsantrasyonları üzerinde kirliliğe yol açmaktadır. Ağır metallerin çevrede yaygın bir şekilde birikmesi, tüm canlılar için boyutları giderek artan bir tehlike oluşturmaktadır. Endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların egzoz gazları, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik faaliyetler, tarımda gübreleme ve ilaçlama gibi pek çok etken ağır metal kirliliğinin nedenleri arasında yer alır (Kahvecioğlu vd. 2001). Ağır metallerin bitki dokularında yüksek miktarlarda birikmesi bitkilerde toksiteye neden olan önemli etmenlerdendir (Brekken and Steinnes 2004). Bitki gelişimi için kesin-kez gerekli iyon olsun yahut da olmasın doku ve organlarda ağır metalin aşırı birikimi bitkilerin vejetatif ve generatif organlarında gelişim olumsuz etkilenmektedir (Gür vd. 2004). Bitkilerin çeşitli dokularında ağır metal toplanmasının fazla olması durumlarında (Ouzounidou *et al.* 1992), transpirasyon (Poschenrieder *et al.* 1989), fotosentez (Lidon *et al.* 1993), enzim aktivitesi (Nussbaum *et al.* 1988), nükleik asit işlevi (Doncheva *et al.* 1996), klorofillerin biyosentezi (Somashekaraiyah *et al.* 1992) ve tohum çimlenmesi (Munzuroğlu ve Geçkil 2002) gibi çok sayıda olay olumsuz yönde etkilenir. Bunlara membranlarda hasar (Kennedy and Gonsalves 1987), hormon dengesinin bozulması, su ilişkisinin değişmesi gibi fizyolojik olaylar da eklenebilir.

Genotoksinlerin bitkiler üzerinde oluşturdukları etkiler biyokimyasal, fizyolojik, kromozomal ve moleküler seviyede takip edilebilmektedir (Antonsie-wiez 1990; Gichner and Plewa 1998; Rank and Nielsen 1994; Conte *et al.* 1998; Atienzar *et al.* 1999; Kovalchuk *et al.* 2001; Yıldız vd. 2009; Cenkeci vd. 2009, 2010a, b). Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) tekniği, 10-mer primer kullanarak DNA’daki dizilerin rastgele çoğaltılmasının yapıldığı PCR temelli bir moleküler markör tekniğidir

(Williams *et al.* 1990). Bu teknikte, DNA dizisi hakkında ön bilgiye gerek duyulmaz, pahalı değildir, uygulaması kolaydır, radyoaktivite bulundurmaz ve yüksek polimorfizme sahiptir (Atienzar *et al.* 2006). Bitkilerde; genetik bağlantı haritalarının oluşturulmasında (Reiter *et al.* 1992), kültür çeşitlerinin belirlenmesinde, ırk, kültür ve tür temelinde genetik dağılımın ölçülmesinde, (Joshi and Nguyen 1993; Fahima *et al.* 1999; Cenkci vd. 2008), türler, alt-türler ve kültürler arasında filogenetik ilişkinin çalışılmasında (Landry *et al.* 1994; Cenkci vd. 2008) RAPD tekniği kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, Arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşitlerine (Angora, Avcı-2002, Aydanhanım, Başgül, Bülbül-89, Orza-96, Tarm-92, Zeynelağa) farklı konsantrasyonlarda uygulanan bakır, krom ve kadmiyum ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ağır metallerinin kök ve gövde büyümesi üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışıldı. Ayrıca bu üç ağır metalin, arpa çeşitlerindeki genotoksik etkiler PCR temelli bir yöntem olan RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) yöntemi kullanılarak tespit edildi. Böylece bazı arpa çeşitlerinin bakır, krom ve kadmiyum toksitesine karşı toleranslık sınıflandırılması moleküler markör yöntemi ile analiz edildi.

Sonuç olarak fizyolojik parametrelerle yapılan toleranslık sınıflandırması ve genetik markörleme tekniği ile yapılan toleranslık sınıflandırması arasında bazı benzerliklerin olduğu görülmüştür.



## 2.LİTERATÜR BİLGİLERİ

### 2.1. Arpa'nın Morfolojisi ve İklim Koşulları

Arpa, buğdaygiller (Poaceae) familyasından olup dünyanın en eski kültür bitkilerinden birisidir. Arpa (*Hordeum vulgare* L.) serin iklim tahılları içerisinde buğdaydan sonra en çok ekimi yapılan bitkidir.

Tek yıllık, uzun gün bitkisi olan arpanın tür ya da çeşitleri farklı fotoperiyodik davranışlar gösterebilir. Bitki boyu ortalama 30-110 cm kadardır. Ortalama olarak başaklar 7-14 cm boylarında; 2, 4 ve 6 sıralıdırlar. Arpa taneleri % 9-13 protein, %67 kadar ağırlıklı olarak nişasta bulundurur. Kültür ve yabani türleri kapsayan arpanın temel kromozom sayısı  $n=7$ 'dir. Bütün kültür arpaları diploid ( $2n=14$ ) iken yabani arpaların ise diploid ( $2n=14$ ), tetraploid ( $2n=28$ ) ve hekzaploid ( $2n=42$ ) olanları vardır (Kün 1988).

Arpa, ılık iklimde ve göreceli nemi yüksek olan bölgelerde dah iyi yetişir. Sıcaklığı sıfır derecenin altına düşmeyen ve yirmi derecenin üzerine çıkmayan, nispi nemi % 80 civarı olan bölgeler arpa için oldukça uygundur. Organik madde bakımından zengin, milli, havalanması ve nemliliği uygun, nötr (pH 5-8) topraklar arpa için en uygun topraklardır (Kün 1988).

Tek yıllık bir bitki olması, uzun olmayan yaşam döngüsü ve yedi çift kromozomdan oluşan genom özellikleri arpa bitkisini moleküler ve biyokimyasal çalışmalarda önemli bir model yapmaktadır. Fizyolojik ve morfolojik açılardan geniş varyasyon, iyi bir genetik stokların ve genetik haritaların bulunması, kendine döllek olması, çok farklı testlerin uygulanabilmesi, bu bitkinin fizyolojik ve moleküler çalışmalar için önemini kat kat arttırmaktadır (Koornneef *et al.* 1997; Rodriguez *et al.* 2006; Dolezel *et al.* 2007; Castiglione *et al.* 2008).

## 2.2. Ağır Metal Stresi

Bitkiler yaşamlarını sürdürdükleri alanlarda, gelişimlerini kısıtlayıcı çeşitli olumsuz koşullara maruz kalmaktadırlar. Bitkide metabolizmayı, büyüme ve gelişmeyi etkileyen olumsuz herhangi bir etmen veya madde stres olarak kabul edilir (Lichtenhaler 1998). Stres faktörleri, bitkiler üzerine etkilerini çoğunlukla, eş zamanlı ve kombine şekilde göstermektedirler (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005). Stres faktörleri, orijinlerine göre biyotik ve abiyotik stres faktörleri olmak üzere iki grupta incelenebilmektedir. Bitkiler bu faktörlere karşı kendilerini korumak için çeşitli savunma mekanizmalarına sahiptir (Fujita *et al.* 2006).

Virüs, bakteri ve fungusları içeren patojenler, böcekler ve herbivorlar biyotik stres faktörleridir (Mahajan and Tuteja 2005). Bitkiler, bu stres faktörlerine karşı direnç oluşturmak için birçok mekanizmaya sahiptir. Bitkilerin savunma mekanizması biyotik stres etmeninin hücre yüzeyi reseptörleri tarafından algılanması, ardından da bu etkinin sinyal iletim yolu ile genoma aktarılması ile aktif hale gelir (Aktaş ve Güven 2005).

Bitkilerin maruz kaldığı kuraklık, tuzluluk, yüksek sıcaklık veya don, kimyasal kirlilik gibi birçok abiyotik stres faktörü ürün miktarını büyük ölçüde azaltmaktadır. Bu faktörler bitkiler için birincil stres faktörleri olarak iş görür ve osmotik stres, oksidatif stres ve iyonik stres gibi ikincil stres faktörlerini tetikler. İkincil stresler hücrede osmotik ve iyonik dengenin bozulmasına, yapısal ve işlevsel proteinlerde ve hücre zarında hasara, dolayısıyla hücre zarı akışkanlığında değişikliğe yol açar. Sonuç olarak, hücrede oluşan bu etkiler başlangıç stres sinyalleri olarak da ifade edilir. Başlangıç stres sinyalleri; hücrede bozulan dengenin geri kazanılması, hücre zarında meydana gelen hasarların onarılması ve proteinlerin korunmasında işlevsel olan stres yanıt mekanizmalarını aktive eden sinyal sürecini ve transkripsiyonun kontrolünü uyarır. Bu şekilde bitkide stres toleransı sağlanmış olur (Mahajan and Tuteja 2005; Vinocur and Altman 2005; Valliyodan and Nguyen 2006).

Yoğunluğu  $5 \text{ g/cm}^3$ 'ün üzerinde olan çinko, krom, kadmiyum, nikel, bakır, kurşun, civa gibi metaller ağır metal olarak tanımlanır. Bununla beraber,  $2.75 \text{ g/cm}^3$  yoğunluğa sahip

hafif metal olan alüminyum da diğer ağır metallere benzer zararlı etkileri gösterir (Petrucci and Harwood 1993). Mn, Fe, Cu, Zn ve Ni gibi elementler ağır metaller arasında yer alır ve bunlar bitki büyümesi için gerekli elementlerdir (Nedelkoska and Doran 2000) ve metabolik öneme sahip birçok enzimin önemli bir bileşenini oluşturmaktadır (Dixit *et al.* 2002). Pb, Cd, Se ve Al gibi diğer metaller ise biyolojik olarak gerekli değildir ve belirli bir konsantrasyonun üzerinde toksiktir. Mikro besin elementi olsun ya da olmasın ağır metallerin, atmosferde, suda ve topraktaki konsantrasyonunun belli bir seviyenin üzerine çıkması, tüm canlılar için ciddi problemlere neden olmaktadır (Benavides *et al.* 2005).

Bitkiler köklerinden salgıladıkları organik asitler ve karbohidratlar iler ağır metallerin bünyelerine girmesini engeller. Ayrıca, bünyeye bir şekilde alınmış ağır metallerin aminoasit, ferritin, ağır metalotiyenin ve fitokelatin gibi moleküllerle kompleks yaparak hücre duvarları ve vakuol gibi metabolik yollardan uzak bölgelerde biriktirilmesi yapılabilir. Bunlara ilaveten, antioksidan enzim aktivitelerinin ve antioksidan moleküllerinin miktarlarının artırılması, hücre membranlarının onarılması gibi savunma mekanizmalarına sahiptirler. Tüm bunlar bitkilerin ağır metallere karşı geliştirdikleri tolerans mekanizmalarıdır (Greger and Lindberg 1986; Jackson *et al.* 1990; Verklaij and Schat 1990; Kramer *et al.* 1996; Sanita di Toppi and Gabrielli 1999; Prasad *et al.* 2001; Hall 2002; Verma and Dubey 2003; Zacchini *et al.* 2003; Benavides *et al.* 2005).

Bazı bitki ve mikroorganizmalar ağır metallerin uzaklaştırılmasında potansiyel temizleyici olarak kabul edilmektedir ve bu amaçla yapılmış birçok çalışma mevcuttur. Örneğin, *Thlaspi caerulescens* yüksek Cd konsantrasyonlarında hayatta kalabilen ve Cd'a karşı toleransı oldukça yüksek bir organizma olarak tanımlanmıştır (Magda *et al.* 2006).

### **2.2.1 Bakır Genotoksisitesi**

Bakır (Cu); atom numarası 29 ve atom ağırlığı 63,546 olan bir I B grubu elementidir. Cu yer kabuğunda ve birçok mineral yatağında bol miktarda bulunan bir elementtir. Trafik yoğunluğu, madencilik faaliyetleri, arıtım teknolojileri sonucunda ekosisteme

girer (Kabata Pendias and Mukherjee 2007). Metalik bakır alet, süsleme, heykel, kuyumculuk, madeni para, yiyecek ve içecekler için kap yapımında (Wright 2001), inşaat, makine, taşıma ve ordu donatım malzemesi ile ilgili elektriksel ürünlerin yapımında, ayrıca boya sanayi, petrol rafinerisi, su arıtımı, metal cilası, odun koruma gibi endüstriyel alanlarda da kullanılmaktadır (Barceloux 1999a). Bakır sülfat genellikle fungusit, herbisit, algisit, mollusit olarak, ayrıca hayvan besini ve gübrelere nutrient desteği olarak kullanılmaktadır (WHO 1998; Barceloux 1999a; Campanella *et al.* 2000; Wright 2001).

Bitki bünyesinde enzim aktivasyonu, karbonhidrat ve lipid metabolizmasında yer alması gibi durumlar bakır elementini oldukça önemli kılmaktadır (Kacar ve Katkat 2006). Serbest ve karmaşık formlardaki +2 değerlikli bakır iyonları doğal sularda, hem bitki hem de hayvanlar için gereksinim duyulan temel mikronutrienttir (U.S. EPA 1980; Dökmeçi 2001; Wright 2001; U.S. EPA 2003; Ma *et al.* 2003; Bossuyt and Janssen 2004).

Bakırın temel işlevi; elektron transferi, oksijen taşınımı ve substrat oksidasyon ve redüksiyonu gibi metalloenzim kataliz tepkimelerinde kofaktör olmasıdır. Bitkilerde fotosentetik elektron taşıma sistemine katılır ve aynı zamanda katalaz, peroksidaz, tirozinaz, sitokrom oksidaz (Dökmeçi 2001; Bossuyt and Janssen 2004), ferrokسيدaz, süperoksit dimustaz ve aminoksidaz gibi enzimlerin kofaktörü olarak görev yapar (Wright 2001; Sofyan 2004).

Metaller besin zinciriyle girdikleri canlı yapılardan atılmadıkları için canlılarda fizyolojik olarak birikim olayı gerçekleşir ve bünyede belirli sınırların aşılması durumunda toksik etki yapar (Fargašová *et al.* 1997; Campanella *et al.* 2000; Wright 2001). Bakırın redoks özelliğinden dolayı, Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları ile süper oksit ve hidroksil radikalleri gibi etkin oksijen bileşiklerinin gelişimi ile oksidatif strese neden olduğu, oksidatif stresin doğrudan proteinlere, aminoasitlere, nükleik asitlere ve zardaki lipidlere hasar verdiği vurgulanmaktadır (Perales-Vela *et al.* 2007). Bakır hücrede çok farklı düzeylerde etkili olabilmesine karşın, yeşil bitkilerde en önemli etki mekanizması kloroplastlardaki elektron aktarımını engellemesidir. Ayrıca

fotosentetik pigmentlerin oluşumunu engeller ve hücre içindeki  $K^+$  ve  $Na^+$  derişimlerini azaltır (Bossuyt and Janssen 2004). Topraktaki 100, bitki kuru maddesindeki 15-30 mg/kg'dan fazla bakır stres etmenidir ve bitkiler için toksiktir. Bakırın toksisitesi temel olarak serbest iyonlarla ilişkilidir. Bakır redoks metalidir ve hidroksil, peroksi ve alkoksi radikalleri gibi serbest radikallerin oluşmasını katalizler. Bu sebeple, hücrede oksidatif strese neden olur (Mazhoudi *et al.* 1997). Genellikle, bakırın toksik etkisi bitki köklerinde gözlenir ve bitkide iyon alımı, protein sentezi, solunum, fotosentez ve membran dayanıklılığı gibi fizyolojik etkileri ortaya çıkar (Sosse *et al.* 2004).

Salatalık bitkisinde bakır toksisitesinin fotosentez oranı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; fotosentezin, gelişmiş yapraklarda kontrol grubuna göre %50 civarında, gelişmemiş yapraklarda ise %30 oranda azaldığı belirlenmiştir. Bunun nedeni olarak da fotosentez oranının mature yapraklarda daha fazla azalmasının stomal hareketlerle ve  $CO_2$  asimilasyonun daha fazla azalması ise gerçekleştiği belirlenmiştir (Dunand *et al.* 2002). Bakırın hıyar bitkisinin karbonhidrat birikimi ve iyon içeriği üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bir başka çalışmada 0 ve 20  $\mu g/g$  bakır uygulanmıştır. Genç yaprakların nişasta içeriğinin kontrole göre %155, olgun yaprakların ise %116 oranında arttığı saptanmıştır. Nişasta içeriğindeki bu artışın yüksek dozlardaki bakırın asimilat taşınmasını engellemesinden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Bitkilerin potasyum ve magnezyum içeriklerinin hem genç hem de olgun yapraklarda kontrole göre %40 azaldığı ve bakırın kalsiyumun köklerden yapraklara taşınmasını azalttığı tespit edilmiştir (Sossé *et al.* 2004). Bakırın hücre duvarına bağlanması direkt ya da kalsiyumu yerinden çıkarmak suretiyle iki şekilde meydana gelmektedir. Bu durumda hücre duvarı elastikiyeti bozulmakta ve turgor azalmaktadır.

Artan bakır dozlarının ürün miktarı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada çeltik bitkisi yetiştirilmiştir. Çalışmada toprakta 100 mg/kg bakır bulunduğunda verim %10; 300-500 mg/kg %50 ve 1000 mg/kg olduğunda %90 oranında azaldığı bildirilmektedir (Xu *et al.* 2006).

Toprak (kontrol, 1000 ve 2000 ppm) ve yapraktan (Cu oksiklorid ve metalik bakır) artan düzeylerde bakır uygulamalarının domates bitkisinin ürün miktarı ve kalitesi

üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada topraktan uygulanan artan bakır dozlarının toplam verim, meyve sayısı, kuru kök ağırlığı ve bitki boyunun azalmasına neden olduğu; yaprak ve topraktan yapılan Cu uygulamalarının sadece toprak ya da sadece yaprakтан uygulamalara göre daha tehlikeli olduğu ifade edilmiştir (Sönmez *et al.* 2006 a).

### 2.2.2 Kadmiyum Genotoksitesisi

Kadmiyum (Cd); atom numarası 48 ve atom ağırlığı 112,411 g/mol, yoğunluğu 8.7 g/cm<sup>3</sup> olan periyodik cetvelin II B grubunda bulunan bir geçiş elementidir. Yarılanma ömrü 10-30 yıl arasında olan ağır metallere biridir. Başlıca Cd tuzları CdS, CdCl<sub>2</sub> ve CdSO<sub>2</sub>'dir. Cd ve bileşikleri oldukça zehirlidir (Kabata pendias and Mukherjee 2007) ve havada hızla kadmiyum oksite (CdO) dönüşür. Trafiğin yoğun olduğu alanlardaki yol kenarlarındaki topraklarda toz çökmesi ile yılda m<sup>2</sup>'ye 0.2-1.0 mg kadmiyum ilavesinin olduğu ölçülmüştür (Haktanır 1987).

Kadmiyum ilk olarak bitki kökleriyle alınır ve toksik etkileri ilk bu bölgede olur. Dokulara geçen Cd RNA sentezini değiştirebilir ve ribonükleaz aktivitesini inhibe edebilir (Shah and Dubey 1998). Cd ayrıca sürgünlerde nitrat redüktaz aktivitesinin inhibisyonuna neden olarak sürgünlere azot taşınmasının azalmasına neden olabilir. Genel anlamda Cd stresi bitkilerde yaprak kıvrılmalarına ve kloroza neden olur. Kök ve sürgünlerde büyümeyi engeller.

Köklerde Cd tarafından Fe (III) redüktaz enziminin inhibisyonu ciddi bir Fe<sup>2+</sup> eksikliğine neden olur. Gövdede nitrat redüktaz enzimini inhibe ederek nitrat absorpsiyonunu kısıtlar. Tüm ağır metaller gibi Cd da hücre zarının geçirgenliğini etkileyerek su alımının azalmasına neden olur. Cd hücre zarındaki ADPaz aktivitesini azaltır. Bunun yanı sıra lipit peroksidasyonuna neden olur. Ayrıca Cd fotosentezin karanlık evresinde karbondioksit fiksasyonu aşamasında görevli enzimlerin aktivitesini kısıtlar. Benzer şekilde klorofil biyosentezini de inhibe eder (Benavides *et al.* 2005). Cd toksitesi serbest radikal oluşumunu artırarak ya da enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların oluşumunu azaltarak oksidatif strese neden olurlar. Oksidatif stres

sonucu ortaya çıkan en önemli fizyolojik olay senesestir.Yapılan bazı çalışmalar, bitkilerde Cd birikimi sonucu klorofil miktarının etkilendiğini, peroksidaz aktivitesinde bir artış gözleendiğini (Özden ve Bayçu 2004); klorozun meydana geldiği ve yaprakların kuru ağırlıklarında azalmanın olduğu göstermektedir (Bayçu ve Önal 1993).

*Phaseolus vulgaris* (fasulye) bitkisine 48 saat süreyle 3 µM Cd uygulanmış ve yaprak hücrelerinde genişlemenin engellendiği, hücre duvarı elastikiyetinin azaldığı görülmüştür (Poschenrieder *et al.* 1989). 1 µM Cd ile 24 saat muamele edilmiş mısır bitkisinin kök büyümesinde %30 oranında inhibisyon meydana geldiği bildirilmiştir (Magda *et al.* 2006).

Kadmiyum stresi koşullarında azot metabolizmasının enzimleri olan nitrat redüktaz ve nitrit redüktazın aktiviteleri azalmaktadır. Bu durum bitkilerin nitrat asimilasyonunu azaltmaktadır (Gouia *et al.* 2000). Yapılan bir çalışmada 50 µM kadmiyum uygulanan domates yaprak ve köklerinin nitrat içeriği kontrol bitkilerine göre %24 ve %62 oranında daha düşük bulunurken, toplam aminoasit miktarının arttığı belirlenmiştir (Chaffei *et al.* 2004). Yapılan birçok araştırma kadmiyumun fitotoksik olduğu ve büyümeyi inhibe ettiğini ortaya çıkarmıştır (Wu *et al.* 2004; Nyquist and Greger 2007). Ayrıca bitkinin lipid kompozisyonunu değiştirdiği ve hatta bitkinin ölümüne bile yol açtığını göstermiştir (Quariti *et al.* 1997).

Kadmiyum stresi altında bitkilerin su ve iyon alımının azalmasının en önemli nedeni kök büyüme ve gelişmesini engellemesidir. Ayrıca kadmiyum stresi altındaki bitkilerde stomaların kapanması nedeniyle transpirasyonla su kaybı azaltmakta ve kadmiyum taşınması engellenmektedir (Salt *et al.* 1995).

### **2.2.3 Krom Genotoksitesi**

Krom (Cr), periyodik cetvelin VI B grubunda yer alan bir geçiş metalidir. Bitki metabolizmasında herhangi bir rol oynamayan krom (7.2 g/cm<sup>3</sup>), bitkiler için toksik bir elementtir (Cervantes *et al.* 2001, Dixit *et al.* 2002). Krom; paslanmaz çelik üretimi, çeşitli lehim ve pas engelleyicilerin üretimi ile ilgili metalurji endüstrisinde, boya, cila,

cam ve seramik malzemelerinde, deri endüstrisinde kullanılmaktadır (Cervantes *et al.* 2001). Ana materyale göre değişmekle birlikte toprakta 5-100 mg/kg oranlarında bulunur. Bitkide ise kuru madde de 100 mg/kg bulunması birçok yüksek bitki için toksiktir (Özbek vd. 1995).

Oldukça toksik olan Cr membran zararlarına, organellerde yapısal değişimlere, metabolik aktivitede bozulmalara ve büyümede inhibisyona neden olmaktadır (Kimbrough *et al.* 1999). Krom stresine maruz kalan bitkilerde oluşan tekli (singlet) oksijen, süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri (ROT'lar) lipitler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllerde oksidatif zarara neden olabilmektedir (Vajpayee *et al.* 2001).

Bitkide toksik seviyeye ulaşan Cr'nin etkilediği ilk fizyolojik olay aslında tohum çimlenmesidir. Amilaz aktivitesinin ve embriyoya şeker taşınmasının azalması, bununla birlikte proteaz aktivitesinin artırması Cr'nin tohum çimlenmesi üzerine engelleyici etkilerdir. Yapılan bir çalışmada, toprakta 500 ppm civarı Cr bulunması fasulye tohumlarının çimlenmesini yarı yarıya; 80 ppm Cr bulunması ise şeker kamışı bitkisinde çimlenmeyi üçte bir oranında azalttığı belirlenmiştir (Jain *et al.* 2000).

Krom kök hücrelerinin bölünme ve uzamasını engelleyerek kök gelişimini engeller. Bu durum topraktan alınan bitki besin maddesi ve suyun azalmasına yol açarak bitki büyüme ve gelişmesini azaltır. Dolayısıyla önemli düzeyde verim ve kalite azalması görülür (Khan *et al.* 2000).

### **2.3 Bitkilerde Ağır Metal Alınımı ve Taşınımı**

Metal alınımı ve taşınımı bitki türü ve metal çeşidine göre farklılıklar göstermektedir. Bitkiler, az miktarda da olsa atmosferde bulunan ağır metalleri yaprakları aracılığı ile alabildikleri gösterilmesine rağmen (Harrison and Chirgawi 1989; Lindberg *et al.* 1992; Godzik 1993; Lombi *et al.* 2002) ağır metal alınımı büyük oranda kökler aracılığı ile olmaktadır. Ağır metaller topraklarda, kolloidlere tutunmuş halde, organik maddelere bağlı halde ve toprak çözeltisi içinde iyon halinde bulunurlar. Bitkiler ancak toprak



çözeltisinde iyon halinde bulunan ağır metalleri kökleri aracılığıyla alabilirler. pH, sıcaklık, organik madde miktarı, diğer metallerin varlığı ve mikroorganizmalar gibi koşulların değişmesi toprak çözeltisi içindeki ağır metal konsantrasyonunu değiştireceğinden ağır metal alınımını da etkileyecektir. Örneğin pH'ın düşmesi ortamdaki H<sup>+</sup> iyonlarının artmasına neden olmaktadır. Artan H<sup>+</sup> kanyonları, ağır metal kanyonları ile rekabete girmekte, kolloidlere tutunmasını engellemekte ve böylece ağır metallerin toprak çözeltisindeki konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır (Greger 1999). Ağır metal alınımı, bitki türüne bağlı olarak da değişiklik göstermektedir. Kök kanyon değişim kapasitesi, kök yüzey alanı gibi özellikler ağır metal alınımını etkilemektedir (Davies 1995). Ayrıca bitkiler rizosfer pH'sını değiştirerek (Muranyi *et al.* 1994), ya da rizosfere malat, sitrat, musilaj gibi maddeler salgılayarak (Jackson *et al.* 1990) aldıkları ağır metal miktarını değiştirebilmektedirler.

Köklerden alınan ağır metaller ksilem aracılığı ile gövde ve yapraklara iletilmektedir. Kök içine alınan ağır metaller apoplastik ve/veya simplastik yolla ksileme ulaşırlar. Endodermal hücre tabakası, ksileme apoplastik yoldan ağır metal ulaşımını engelleyen bir bariyer görevi yapmaktadır. Bu nedenle genellikle ağır metaller simplastik yoldan bu tabakayı aşıp ksileme ulaşmak zorundadırlar (Tester and Leigh 2001). Bazı metaller ise (örneğin Cd) iyon halinde ksilemde taşınır. (Mench *et al.* 1988). Bunun yanı sıra organik asitlerin de taşınmada rol oynadığı bildirilmiştir (Greger 1999). Floemin, muhtemelen ağır metalleri bağlayabilen iyon ve moleküllere sahip protoplazma içermesi ağır metallerin taşınmasını zorlaştırmaktadır (Greger 1999; Peng *et al.* 2006).

#### **2.4 Reaktif Oksijen Türleri (ROT), Antioksidanlar ve Antioksidatif Enzimler Üzerine Ağır Metallerin Etkileri**

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROT) de denilmektedir (Çavdar vd. 1997). Oksidatif fosforilasyon, hidroksil ve süperoksit gibi serbest radikallerin oluşumuna neden olur. Bu radikaller ise hücrelerde oksidatif hasarlara neden olmaktadır. Yaşam için gerekli olan serbest radikaller, elektronların

transfer olması gibi enerji üretimi ve diğer metabolik işlevlere temel oluşturur. Bununla birlikte, zincir reaksiyonu kontrol edilemez tavırlar sergilerse oksidatif hasarlara neden olur. Normal koşullarda serbest radikallerin üretimi ve süpürülmesi bitki hücresinde düzenlenmektedir. Bununla birlikte, aşır yoğun ışık, tuzluluk, herbisit, hava kirliliği, patojenik saldırılar ve kuraklık gibi çevresel stresler sonucunda serbest radikaller ile antioksidan sistemin aktivitesi arasında denge bozulmaktadır. Bunlar, lipid peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve DNA mutasyonlarını içine alan oksidatif hasarlar meydana gelmektedir (Poontariga *et al.* 2003).

Reaktif oksijen türleri (ROT) indirgenme ve oksitlenme olaylarında kloroplast ve mitokondri gibi hücre organellerinde elektronların taşınması, bitki hücrelerinde düşük düzeylerde meydana gelmektedirler. ROT'lar geçici olarak meydana gelebilirler veya enzimatik olarak gerçekleşebilir. ROT'ların enzimatik kaynakları hem hücre dışı hem de hücre içi kaynaklıdır (Bolwel 1999). Büyük ROT kaynakları hücre duvarlarında bulunan peroksidazlar ve aminoksidazlar, plazma membranında bulunan NADP oksidaz, mitokondri, kloroplast, peroksizomlarda bulunan intraselüler oksidaz ve peroksidazlardır (Mittler 2002) .

Abiyotik ve biyotik stresler tarafından oluşturulan metabolik dengesizliğe cevap olarak hücrel ROT üretimi artmakta ve sürdürülmektedir (Mithofer *et al.* 2004, Moller *et al.* 2007). Stres koşullarında ROT'ların artan üretimi hücreler için bir tehdit olabilmekte; fakat ROT'ların stres cevabı ve savunma yollarının aktivasyonunda bir sinyal molekülü olarak fonksiyon gördüğü düşünülmektedir (Knight and Knight 2001). Bu nedenle, ROT'ların hücrel stres indikatörleri ve stres-cevap sinyal iletim yollarında sekonder mesajcı olduğu belirtilmiştir (Mittler 2002).

## **2.5 Stresen Sorumlu Genlerin Aktivasyonunda Transkripsiyon Faktörlerinin Rolü**

Gen anlatımının düzenlenmesinde görevli olan proteinler kromozomu oluşturan uzun ikili sarmal yapıda bulunan özgün nukleotid dizilerini tanımakta, çift sarmalın çözülmesine gereksinim duymaksızın molekülün yapısal özelliklerine göre DNA'ya bağlanmaktadır. Molekülün tanınmasından sorumlu olan 20 nukleotid çiftinden daha

kısa özgün diziler bir anlamda sistemin anahtarı şeklinde çalışmaktadır. Moleküler düzeyde proteinin DNA'yı tanınması, protein yüzeyinin belli bölgesinin ikili sarmalın özgün yüzey özellikleri ile geniş ölçüde uyum sağlamasının bir sonucu olarak gerçekleşmektedir. DNA molekülüne bağlanmada ise ikili sarmalın yapısal özellikleri büyük önem taşımaktadır. Şeker-fosfat omurgasından eksene doğru çıkıntı yapan baz çiftlerinin taşıdığı hidrojen bağı alıcıları, hidrojen bağı vericileri ve hidrofobik bölgeler molekülün organizasyonu sırasında meydana gelen büyük ve küçük oluklar üzerinde yer alırlar. Büyük oluk, her baz çifti için bu üç farklı özellikteki bölgeyi farklı dizilim biçimleri şeklinde taşıdığından düzenleyici proteinlerin tanıdıkları hedef bölge olarak tercih edilmektedir. Ayrıca DNA ikili sarmalın konformasyonunun ve dönümde meydana gelen değişimlerin de bağlanmada etkili olduğu bilinmektedir. Protein-DNA arasında meydana gelen bu etkileşimler zayıf olmakla birlikte, DNA ve protein ara yüzünde oluşan 20 ve üzerindeki bağlanmalar, bu etkileşimi özgün ve kuvvetli hale getirir (Alberts *et al.* 2002).

Stres toleransında görevli olan moleküllerin sentezi transkripsiyon faktörleri aracılığıyla gerçekleştirilmiş olur (Meshi and Iwabuchi 1995; Busk and Pages 1998). Bitkilerde bulunan transkripsiyon faktör ailelerinden bazılarının (AP2/EREBP ailesi gibi) diğer organizmalarda homologları bulunmaz. AP2/EREBP ailesi proteinlerinin en önemli özelliği, DNA ile etkileşime giren AP2 bölgesinin korunmuş 70 aminoasitten oluşmasıdır (Okamuro *et al.* 1997). Bitkilerde bugüne kadar tanımlanan dehidrasyondan sorumlu elemente (DRE) bağlanan tüm proteinler AP2/EREBP transkripsiyon faktör ailesine aittir. Özgün nukleotid dizisine (5'-TACCGACAT-3') sahip olan DRE ilk defa kuraklıktan sorumlu *rd29A* geninin promotöründe tanımlanmıştır (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki 1994). DRE elementi dehidrasyon ve yüksek tuzluluk koşullarında *rd29A* geninin hızlı bir şekilde anlatımını sağlamaktadır. DRE'ye bağlanan proteinlerden DREB1 ve DREB2 transkripsiyon faktörleri, DRE elementini taşıyan haberci ("reporter") genin transkripsiyonunu sağlar. Stres etkisiyle aktif hale gelen transkripsiyon faktörlerine ait mRNA molekülleri stres sürecinin başlamasından kısa bir süre sonra hücrede yüksek seviyede birikir (Kizis *et al.* 2001).

Diğer bir transkripsiyon faktör ailesi bZIP (lösin fermuar) ailesidir. Bu transkripsiyon faktörlerinin özelliği yedi sıralı lösin tekrarlı temel amino asitlerce zengin bölgeye sahip olmasıdır. Lösin tekrarları, transkripsiyon faktörünün iki DNA bağlanma bölgesinin dimerizasyonu için gerekli olmakla birlikte, transkripsiyon faktörünün DNA ile etkileşimini de sağlamaktadır (Vinson 1989).

Bitkilerde bulunan diğer önemli transkripsiyon faktör ailesi WRKY ailesidir. Bu aile üyelerinin WRKY bölgesi olarak adlandırılan 60 amino asitlik korunmuş bölgesi DNA'ya bağlanmadan sorumludur. Bu proteinler özgün DNA dizi elementlerine ((T)(T)TGAC(C/T)) bağlanır (Eulgem *et al.* 2000). WRKY üyelerini kodlayan genlerin anlatımı ve/veya bu proteinlerin DNA'ya bağlanma aktiviteleri kuraklık, soğuk, tuz etkisi, patojen saldırısı ve yaralanma aracılığıyla artmaktadır (Fowler and Thomashow 2002; Singh *et al.* 2002; Seki *et al.* 2002). Ayrıca arpada patojenle bulaşmada, soğuk ve kuraklık stresine yanıtta WRKY38 transkripsiyon faktörünün görevli olduğu belirlenmiştir. Bu proteini şifreleyen, 6H arpa kromozomunun sentromerik bölgesinde bulunan genin (*WRKY38*) dizisi de çıkarılmıştır. Ayrıca bu genin *Arabidopsis thaliana* ve *Oryza sativa* genomunda da homologları olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular WRKY38 transkripsiyon faktörünün, bitkilerde abiyotik stres yanıtında görevli proteinlerin sentezini düzenleyerek etkili olduğunu göstermektedir (Marè *et al.* 2004).

## 2.6 Genotoksisite

### 2.6.1 Genotoksisiteyi Belirleme Teknikleri

Bitkilerde ağır metallerin mutajenisitesinin belirlenmesinde bazı testler ileri sürülmüştür. Bunlar; kromozom aberasyon analizleri (Rank and Nielsen 1994), mikronükleus testleri (Steinkellner *et al.* 1998), DNA fingerprint analizleri (Conte *et al.* 1998) ve somatik nokta ve homolog rekombinasyon mutasyonlarının tespitidir (Kovalchuk *et al.* 2001).

Kalıtım şekilleri morfolojik, biyokimyasal ve DNA düzeyinde izlenebilen karakterlere “genetik markır” denir. Genetik markırlar taksonomi, embriyoloji, fizyoloji ve genetik

mühendisliği gibi pek çok alanda genetik haritaların hazırlanması, genetik parmak izi analizi, doğrudan gen etiketlenmesi, gen kopyalanması, genom analizi, evrimsel analizler, genetik varyasyon belirlenmesi ve kromozomlarda oluşan yapısal değişimlerin belirlenmesi gibi pek çok amaca yönelik olarak kullanılmaktadır (Yıldırım ve Kandemir 2001).

Genetik markırlar morfolojik markırlar, protein markırları ve DNA markırları olmak üzere üç gruba ayrılarak incelenebilmektedir (Yıldırım ve Kandemir 2001).

### **2.6.2 Morfolojik Markırlar**

Tek bir lokus tarafından kontrol edilen morfolojik özellikler, eğer buldukları çevrede ekspresyonları tekrarlanıyorsa bir genetik markır olarak kullanılabilir. Morfolojik markırlar çiçek rengi, tohum şekli, pigmentasyon gibi görülebilir fenotipik karakterleri kapsamaktadır. Dominant özellik gösteren markırlardır. Analizlerinin kolay olması en büyük avantajları iken, sayılarının az olması, çevresel şartlardan ya da bitkinin içinde bulunduğu gelişme sürecinden ve diğer lokuslardan etkilenmeleri, kullanımlarını ve güvenilirliklerini etkileyen dezavantajlardır (Winter and Kahl 1995).

### **2.6.3 Protein Markırları**

Protein markırları enzimler ve enzim olmayan proteinler olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Depo proteinleri, bir jel üzerinde yürütülüp boyandıklarında, farklı genotiplerde ortaya çıkan yapı farklılıkları kolaylıkla belirlenebilmekte ve bu özellik genetik markır olarak kullanılabilir. Analizleri çabuk, güvenilir ve tekrarlanabilir özelliktedir; ancak sayılarının az olması nedeniyle geniş bir kullanım alanı bulamamaktadır. İzozimler, farklı genler ya da aynı genin farklı allelleri tarafından kodlanan enzimlerdir. Bu sayede izozimlerin birbirinden ayırt edilebilmeleri için elektroforez tekniği kullanılmaktadır. Elektroforez sonrasında ilgili proteine ait seçici boyama teknikleri kullanılarak, proteinin jel içinde bulunduğu pozisyon belirlenebilmekte ve bu pozisyona göre farklı alleller tanımlanabilmektedir. Enzim markırlarının temel avantajları analizlerinin çabuk, ucuz ve güvenilir olmasıdır. Çevreden ve diğer lokuslardan

etkilenmemektedirler. Sayılarının çok az olması ve post-translasyonel modifikasyonlardan etkilenmeleri, bazı izozimlerin ancak özel dokularda ve belli bir gelişme döneminde gözlenebilir olması, dezavantajları arasında yer almaktadır (Staub *et al.* 1996).

#### **2.6.4 DNA Markırları**

Farklı genotiplere ait DNA'ların dizi farklılıklarını çeşitli şekillerde ortaya koyan markırlardır. DNA markırları, DNA'nın aktif bölgelerinden veya herhangi bir genetik kodlama fonksiyonuna sahip olmayan DNA dizilerinden geliştirilebilir. Çevreden, diğer lokuslardan veya bitkinin gelişme sürecinden etkilenmemeleri, sayılarının çok olması ve güvenilirliklerinin yüksek olması nedeniyle çok geniş bir kullanım alanına sahiptir.

DNA markırları, hibridizasyon ve PCR tekniğine dayanan markırlar olmak üzere sınıflandırılır (Grupta *et al.* 1999). İlk moleküler markır kuşağı olan RFLP (restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri), DNA-DNA hibridizasyonu temeline dayanan, yavaş ve yüksek maliyetli olan bir tekniktir. DNA parçalarını çoğaltmaya yarayan polimeraz zincir reaksiyonunun keşfi ile daha hızlı ve daha düşük maliyetli olan, PCR yöntemine dayalı ikinci kuşak moleküler markırların oluşturulması sağlanmıştır. PCR yöntemine dayanan markır tekniklerinde, rasgele oligonükleotid primerlerin kullanılmaya başlanmasıyla birlikte, daha önceden karakterize edilmemiş olan genomlarla çalışabilmek kolaylaşmıştır.

#### **2.7 Genotoksisiteyi Belirlemede RAPD Tekniğinin Kullanımı**

RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA/ Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA), rasgele nükleotid dizisine sahip kısa oligonükleotid primerleri kullanılarak, herhangi bir DNA parçasını, nükleotid dizi bilgisine ihtiyaç duymadan amplifiye edebilen, PCR temeline dayalı bir DNA markır sistemidir. İlk kez Welsh ve McClelland (1990) tarafından tanımlanmıştır.

Standart PCR'da ilk olarak, analiz edilecek olan DNA bölgesinin dizisi belirlenir. Daha

sonra hedef DNA dizisi içerisinde yer alan, ona komplementer olarak sentezlenmiş iki adet spesifik primer (18–25 bç uzunluğunda), amplifikasyon reaksiyonunu başlatmak üzere kullanılır. Buna karşılık RAPD–PCR metodunda rasgele dizilimde, ortalama PCR reaksiyonlarından daha düşük bağlanma sıcaklığına sahip, tek ve kısa bir primer (6–10 bç uzunluğunda) kullanılır. Primer, DNA'nın karşılıklı zincirleri üzerinde komplementer olduğu bölgelere bağlanır ve amplifikasyon için birbirine uygun mesafede bulunanlar arasındaki (birkaç bin baz çifti aralığında) genom bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleşir. Kullanılan rasgele dizilimli primerler, tüm genom boyunca komplementer oldukları bölgelere bağlanabildiklerinden, belirli bir DNA bölgesi değil, genom boyunca birçok lokusun amplifikasyonu gerçekleşmiş olur. Reaksiyon ürünleri, agaroz jel elektroforeziyle, radyoaktif izotoplar kullanılmasına gerek kalmadan, etidyum bromür ile boyanarak analiz edilebilir. DNA hasarı ve mutasyonel 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. Polimorfizm, ilgili bantların bireylerde “var” ya da “yok” olma durumlarına göre belirlenir. Tekniğin en büyük avantajı, analiz edilecek olan genomik DNA'nın dizi bilgisine ihtiyaç duymamasıdır.

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Bitki Materyali

Bu araştırmada, Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşitleri (Angora, Avcı-2002, Aydanhanım, Başgöl, Bülbül-89, Orza-96, Tarm-92, Zeynelağa) bitki materyali olarak kullanılmıştır.

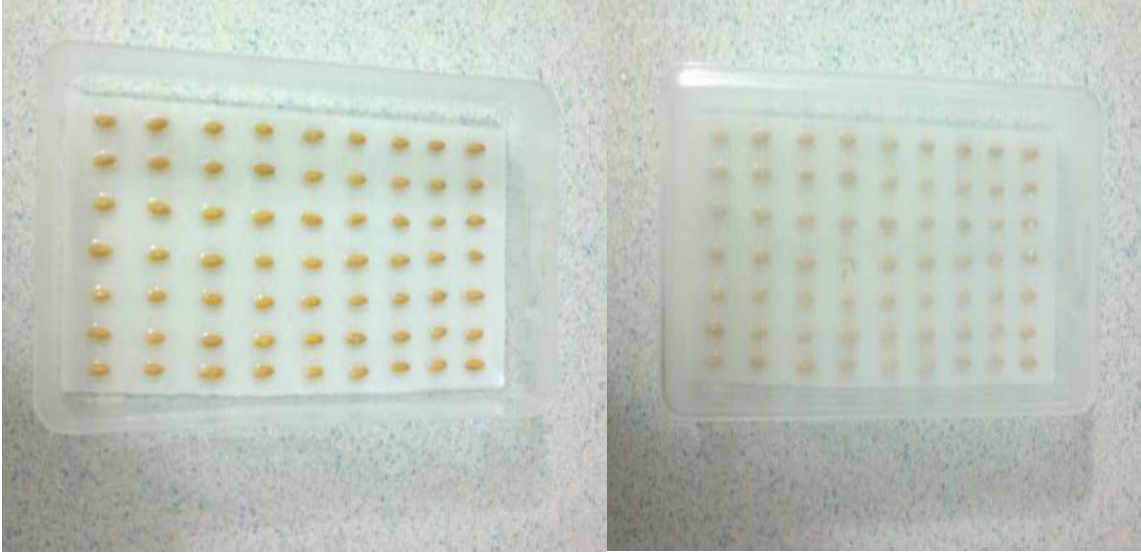
#### 3.2. Tohum Sterilizasyonu ve Bitki Büyüme Koşuları

Tohumların kabuk yüzey sterilizasyonu %10'luk ticari sodyum hipoklorürde 10 dakika süreyle yapıldıktan sonra ve üç kez distile sudan geçirilerek durulanmıştır. Tohumlar, distile su ile ıslatılmış iki filtre kağıdı bulunan çimlendirme kaplarına (20×11.5×5 cm boyutlarında ve kapağında hava giriş çıkışını sağlayacak delikler bulunan şeffaf plastik kaplar) 8\*9 şeklinde dizildikten sonra 3 gün boyunca karanlıkta ve 23±1°C sıcaklıkta çimlendirilmeye bırakılmıştır (Resim 3.1). Bu süre sonunda, yaklaşık aynı koleoptil ve embriyonal kök uzunluğuna sahip seçilmif etiyole fideler, kontrol (½ Hewitt besin çözeltisi) ve ½ Hewitt besin çözeltisine ilaveten üç farklı CuSO<sub>4</sub>, CdCl<sub>2</sub> ve K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> derişikleri (75, 150 ve 225 µM) ile desteklenmiş hidroponik kültür ortamına transfer edilmiştir (Resim 3.2). Transfer edilen bitkiler; kontrollü iklim kabininde 23±1°C, % 60 nispi nem ve 16/8 aydınlık/karanlık fotoperiyotta 7 gün büyütölmüştür. Denemelerde kullanılan kontrol ve uygulama besin çözeltilerinin pH'ı 0,01 N NaOH ile 6.5 olacak şekilde ayarlanmış ve besin çözeltileri güneşarı yenilenmiştir. Denemeler 6 kez tekrarlanmıştır.

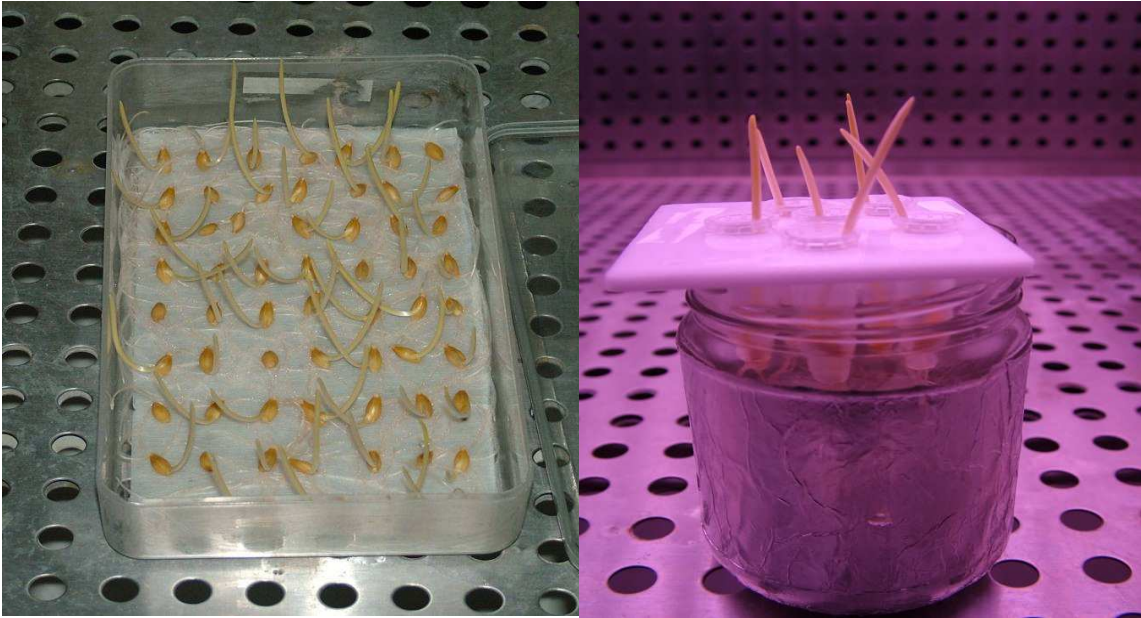
#### 3.3 Büyüme Deneyleri ve Ağır Metal Toleransının (Cu, Cd, Cr) Belirlenmesi

Üç-günlük etiyole fideler, farklı Cu, Cd, Cr konsantrasyonlarına (75, 150 ve 225 µM) maruz bırakıldıktan sonra gövde ve en uzun embriyonal kök uzunlukları ölçölmüştür (cm fide<sup>-1</sup>). Uzunlukları ölçölen fidelerin toplam gövde ve embriyonal kök taze ağırlıkları (TA) belirlendikten sonra, 80<sup>0</sup>C'lik etüvde 48 sa süreyle kurutulmuş ve bu süre sonunda kuru ağırlıkları (KA) alınmıştır.





**Resim 3.1** Kabuk yüzey sterilizasyonu yapılmış arpa tohumlarının çimlendirme kaplarına 8\*9 şeklinde dizilmesi



**Resim 3.2** 3 gün çimlendirme sonunda fidelerin hidroponik kültür ortamına transferi

Arpa çeşitlerinin ağır metal (Cu, Cd, Cr) toleransı bakımından genotipik çeşitliliğini belirlemek için gövde ve kök kuru ağırlığının tolerans indeksi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Bağcı *et al.* 2003):

$$\text{Tolerans indeksi (\%)} = \left[ \frac{(\text{Gövde ve kök KA})_{\text{Ağır metal uygulanmış}}}{(\text{Gövde ve kök KA})_{\text{Kontrol}}} \right] \times 100$$

Her bir ağır metal (Cu, Cr, Cd) konsantrasyonunda 8 arpa çeşidi için hesaplanan tolerans indeksi (%) değerleri, en düşükten (1 puan) en yükseğe (8 puan) doğru puanlandırılmıştır. Daha sonra, her bir arpa çeşidi için tüm konsantrasyonlardaki puanlar toplanmış ve toplam puanlar dikkate alınarak 8 arpa çeşidi ağır metal toleransları bakımından sınıflandırılmıştır.

### **3.4 RAPD Tekniği**

#### **3.4.1 CTAB DNA İzolasyon Prosedürü**

Üç-günlük etiyolet fideler farklı Cu, Cd, Cr konsantrasyonları (75, 150 ve 225 µM) ile 7 gün süre ile uygulamaya tabii tutulduktan sonra uygulama grubu fidelerin kök uçları (1,5 - 2 cm) bir makas yardımı ile kesilmiştir. Her bir uygulama grubuna ait en az 20 fidenin kök uçları (300 mg taze kök dokusu) DNA ekstraksiyonunda kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonları hemen hasat sonrası gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA, RAPD-PCR çalışmalarında yeterli olan Doyle & Doyle (1990) CTAB-DNA izolasyon prosedürünün laboratuvarımıza uyarlanması ile izole edilmiştir.

Kök dokusu, önceden soğutulmuş steril havan içerisine yerleştirilmiştir. Sıvı azot eklenerek kök dokusu hızlı ve etkin bir şekilde öğütülmüştür. Bu işlemi takiben, önceden soğutulmuş steril bir spatula ile havan içerisindeki öğütülmüş bitki örneği iki ayrı steril 1.5 ml ependorf içine eşit miktarda aktarılmıştır. Aktarma işleminin ardından, önceden su banyosunda 60°C'de ön ısıtmaya tutulmuş CTAB ekstraksiyon tampon çözeltisinden (%2 CTAB, %1 PVP- 40.000, 20 mM 2-merkaptotanol, 50mM Tris-HCl pH 8.0, 10mM EDTA pH 8.0, 1.4 M NaCl) 1 ml her tüpe eklenmiştir. Ependorf tüpler

parmaklar arasında ters-düz edilerek karıştırılmış ve 60°C'deki sıcak su banyosuna alınmıştır. Daha sonra tüplere 0.4 ml kloroform eklenmiştir. Her 5 dakikada bir tüpler ters-düz edilerek karıştırılmıştır. Tüpler, inkübasyon sonrası oda sıcaklığında 12000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Tüplerdeki süpernatant dikkatlice temiz bir ependorf tüpe alınmıştır. Tüplere 10 µl RNaz (10 mg/ml RNaz A) eklendikten sonra 60°C'de 20 dk bekletilmiştir. Daha sonra -20 °C'de önceden soğutulmuş izo-propanol son hacmin %60'ı olacak şekilde tüplere eklenmiş ve örnekler sarsılmadan her iki faz birbirine dikkatlice karıştırılmıştır. Bu aşamada iplikçik halinde ve beyaz renkli bir kütle toplanması gözlenmiştir (Resim 3.3). Örnekler 4°C'de 30 dk bekletildikten sonra 3000 rpm'de 3 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant dökülmüş ve kalan sıvı damlaları tekrar santrifüj edildikten sonra mikropipetle alınmıştır. 1 ml %70'lik etanol ile yıkanan DNA pelletleri 4-5 dk oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Son olarak, DNA çöktürmeleri 0,2 ml TE (10 mM Tris HCl pH 8.0, 1 mM EDTA pH 8.0) tampon çözelti içinde çözüldükten sonra 24 saat 4°C'de bekletilmiştir. Genomik DNA, spektrofotometrik miktar tayini ve agaroz jel elektroforezde kontrolü yapıldıktan sonra alikotlara ayrılarak -20°C'de saklanmıştır.

### **3.4.2 DNA Miktarı ve Kalitesinin Spektrofotometrik Yöntemle Tayini**

DNA örnekleri 1 ml kuvars cam küvetler kullanılarak 260 ve 280 nm dalga boylarında Spektrofotometre cihazı (TU-1880 Double Beam UV-VIS) ile okunmuştur. DNA miktarı;

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times \text{Seyreltme Oranı} \times 50$$

formülü kullanılarak belirlenmiştir. DNA saflığı,  $A_{260}/A_{280}$  oranı hesaplanarak tespit edilmiştir. DNA örnekleri TE tamponunda çözüldüğü için çalışmada kör olarak TE tamponu kullanılmıştır.

### 3.4.3 PCR Karışımı Hazırlama

Her bir PCR reaksiyonu 0,2 ml ince cidarlı ependorf tipi tüplerde 25 µl toplam solüsyon içerisinde gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu bileşenlerine ait son konsantrasyonlar ön denemelerde optimize edilmiştir. 25 µl PCR karışımı; 1x PCR tampon çözeltisi (50mM KCl, 1mM Tris-HCl; pH 8.8), 1 U *Taq* (*Thermus aquaticus*) DNA Polimeraz enzimi (Fermentase, Vilnius, Litvanya), 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP (50 µM dATP, dTTP, dGTP ve dCTP), 10µM 10 baz dizimli primer, 50 ng/µl genomik DNA ve steril ddH<sub>2</sub>O ile hazırlanmıştır. Bu çalışmada 8 adet 10 mer oligonükleotit primer (QIAGEN Operon GmbH, Cologne, Almanya) kullanılmıştır. Kullanılan primerler, sekansları ve GC içerikleri Çizelge 3.1’de listelenmiştir.

**Çizelge 3.1** RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılan primerler, sekansları ve GC içerikleri

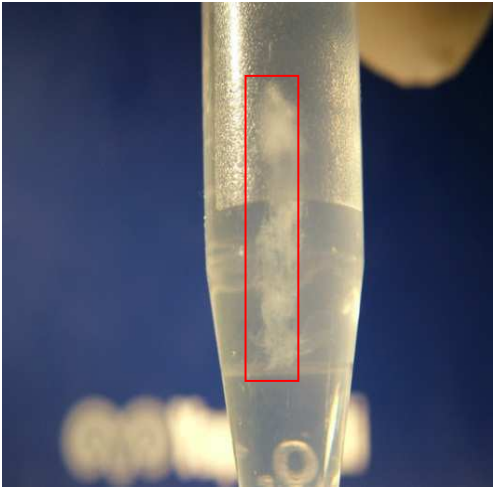
No	Primer	G+C (%)	5’-3’ sekans	Primer	G+C(%)	5’-3’ sekans	
1	OPA01	70	CAGGCCCTTC	5	OPA12	60	TCGGCGATAG
2	OPA02	60	TGCCGAGCTG	6	OPA16	60	AGCCAGCGAA
3	OPA09	70	GGGTAACGCC	7	OPA17	60	GACCGCTTGT
4	OPA10	60	GTGATCGCAG	8	OPA19	60	CAAACGTCGG

### 3.4.4 PCR Döngüleri

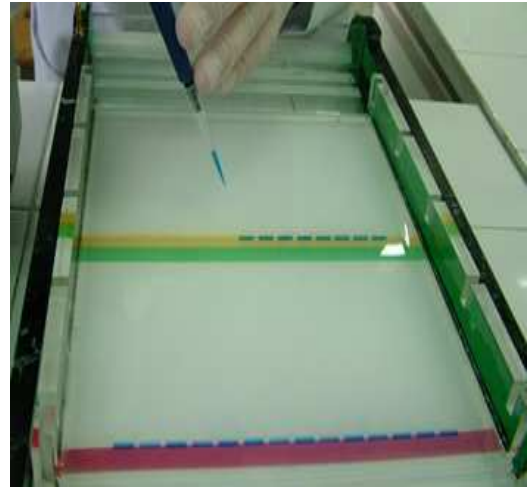
PCR döngüleri, Uvigene (Uvitech Ltd. UK) marka ısı-döngü cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR karışımları 94°C’de 4 dk başlangıç denatürasyonuna maruz bırakıldıktan sonra, toplamda 40 döngü olmak üzere; 94°C’de 45 sn denatürasyon (DNA zincirlerinin ayrılması), 37°C’de 45 sn annealing (primerlerin bağlanması) ve 72°C’de 60 sn polimerizasyon (zincirlerin uzaması) programı kullanılmıştır. 72°C’de 8 dk son polimerizasyon döngüsü gerçekleştirildikten sonra PCR döngüleri tamamlanmıştır. PCR örnekleri bekletilmeden veya -20°C saklandıktan sonra agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür.

### 3.4.5 Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünlerine 6X yükleme tamponu (10mM Tris-HCl pH 7.6, %0.03 bromofenol blue, %0.03 ksilen siyanol FF, %60 gliserol, 60mM EDTA) karıştırılmıştır. 1x TBE [Tris-HCl (10.8 g), Borik asit (5.5 g) ve EDTA (2 ml)] ile hazırlanan %1.8'lik agaroz jele DNA örnekleri 100 bç DNA ladder (Fermentas GeneRuler 100 bç DNA Ladder Plus, 10 mM Tris-HCl, pH 7.6, 1 mM EDTA) ile birlikte yüklenmiştir. DNA örnekleri yürütücü tampon çözeltisi (1xTBE) bulunan jel tankı içerisinde (BIO-RAD Wide Mini Sub-Cell GT System, İtalya) 100 voltta 195 dk yürütülmüştür. Agaroz jel daha sonra 10 µl (0.625 mg/ml) etidyum bromür eklenmiş 200 ml saf su içinde 20 dk bekletilerek boyamaya bırakılmıştır. Distile su ile durulandıktan sonra ultraviyole ışık altında renkli kamera ile agaroz jeli görüntülenmiştir. PCR ürünleri için %1.8 agaroz; genomik DNA'ların analizi için %0.8 agaroz kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) Cd, Cr ve Cu ağır metalleri ile muamele edilmiş ve herhangi bir muamele yapılmamış her bir arpa çeşidine ait bir primer ürünü PCR bantları aynı agaroz jelde yüzdürülmüştür (Resim 3.4)



**Resim 3.3** İplik şeklindeki DNA



**Resim 3.4** PCR ürünlerinin jele yüklenmesi

### 3.4.6 RAPD Ürünlerinin Rakamsal Analizi

Kontrol grubu RAPD profiline göre, uygulama grubu RAPD profillerindeki belirgin değişiklikler (kontrole göre yeni bantların ortaya çıkması ve/veya mevcut bantların kaybolması) değerlendirilmiştir. Değerlendirmesi güç olan veya tüm örnekler için monomorfik DNA bantları üreten primerler değerlendirmeye alınmamıştır. Her bir primer için çoğalmış olan bantların varlığı “1” ve yokluğu “0” belirlenmiştir. Uygulama grupları arasındaki genetik benzerlik katsayıları Nei (1978)’nin taraflı ölçüm metoduna göre POPGENE v 1.31 paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Kümeleme analizi gerçekleştirilmiş ve genetik benzerlik katsayısı deney çiftlerinin ağırlıksız aritmetik ortalamaları (unweighted pair group method with arithmetic means, UPGMA) kullanılarak POPGENE programında bir dendogram oluşturulmuştur.

### 3.4.7 Genomik Kalıp Kararlılığının (GTS, %) Hesaplanması

RAPD profillerinde gözlenen her bir değişikliğe (mevcut bantların kaybolması ve yeni bantların oluşması) +1 keyfi sayısı (arbitrary score) verilmiştir ve test edilen tüm primerler için her bir deneme grubu için ortalama hesaplanmıştır. RAPD profillerinde değişikliğin belirlenmediği veya sayılması güç skorlar üreten primerler genomik kalıp kararlılığı (GTS, Genomic Template Stability) hesaplanmasına katılmamıştır. GTS (%),  $100 - (100 \cdot a/n)$  formülü kullanılarak hesaplanmıştır formüldeki “a” her bir primer için DNA profillerindeki değişiklik gösteren ortalama DNA bant sayısını, “n” ise negatif kontrol grubu profilinde aynı primer için belirlenen toplam DNA bant sayısını ifade etmektedir (Atienzar *et al.* 1999; Lui *et al.* 2007). Her bir deneme grubu için tüm primerlerle hesaplanan GTS değerlerinin ortalamaları hesaplanmıştır.

### 3.4.8 GTS (%) ve GB (%) Değerlerinin Toleranslık Sınıflandırmasında Kullanılması

Her bir ağır metal (Cu, Cr, Cd) konsantrasyonunda 8 arpa çeşidi için hesaplanan GTS (%) ve genetik benzerlik (%), genetik benzerlik katsayısı x100) değerleri, en düşükten (1 puan) en yükseğe (8 puan) doğru puanlandırılmıştır. Daha sonra, her bir arpa çeşidi için

tüm konsantrasyonlardaki puanlar toplanmış ve toplam puanlar dikkate alınarak 8 arpa çeşidi ağır metal toleransları RAPD profillerine göre sınıflandırılmıştır. Böyle bir değerlendirme ilk defa bu çalışmada kullanılmıştır.

### **3.5 İstatistiksel Analizler**

Verilerin varyans analizi SPSS (v 15.0) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Kök büyümesi, toplam çözüner protein içeriği ve comet skorlarındaki farklılıklar tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile gerçekleştirilmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testi, negatif kontrol ve her bir uygulama arasındaki önemli düzeydeki farklılıklar ( $P \leq 0.05$ ) ile değerlendirilmiştir.

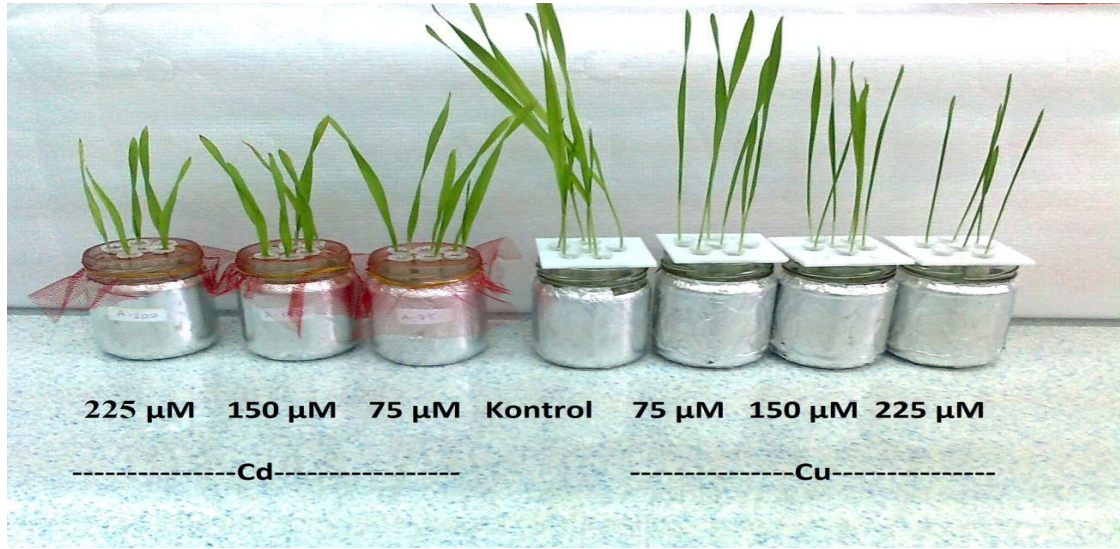
## 4. BULGULAR

### 4.1 Arpa Çeşitlerinin Gövde ve Kök Büyümesi Üzerine Bakır ve Kadmiyum Toksitesinin Etkisi

Bu araştırmada, erken fide gelişimi evresinde hidroponik olarak kültüre edilen bazı arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşitlerinin (Angora, Avcı-2002, Aydanhanım, Başgül, Bülbül-89, Orza-96, Tarm-92, Zeynelağa) gövde ve kök büyümesi (gövde ve kök uzunluğu, taze ve kuru ağırlık) üzerine kadmiyum ve bakır toksitesinin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, üç-günlük etiyole fideler ¼ Hewitt besin çözeltisi (kontrol) ve bu çözeltiye eklenmiş farklı konsantrasyonlardaki (75, 150 ve 225 µM) CdCl<sub>2</sub> veya CuCl<sub>2</sub> ile 7 gün süreyle muamele edilmiştir. Bu süre sonunda, fidelerin gövde ve kök uzunlukları ile gövde ve kök taze ve kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

Erken fide evresindeki arpa çeşitlerinin gövde ve kök uzunlukları Cd ve Cu konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak genellikle önemli düzeyde ( $P<0.05$ ) azalmıştır (sırasıyla Çizelge 4.1 ve 4.2). Arpa çeşitlerinin gövde uzunluklarındaki azalma kontrole göre tüm Cd konsantrasyonlarında %29.0-62.4 aralığında belirlenmişken, tüm Cu konsantrasyonlarında %17.0-44.9 aralığında belirlenmiştir. Cd stresinde arpa çeşitlerinin gövde uzunlukları %28.8-37.8 (75 µM), %37.2-51.0 (150 µM) ve %44.7-62.4 (225 µM) aralığında (Çizelge 4.1), Cu stresinde %17.0-27.6 (75 µM), %21.7-38.0 (150 µM) ve %31.4-44.9 (225 µM) aralığında (Çizelge 4.2) azalmıştır. Arpa çeşitlerinin kök uzunluklarındaki azalma kontrole göre tüm Cd konsantrasyonlarında %22.0-67.1 aralığında, tüm Cu konsantrasyonlarında %37.8-70.6 aralığında belirlenmiştir. Cd stresinde arpa çeşitlerinin kök uzunlukları %22.0-55.9 (75 µM), %37.8-63.7 (150 µM) ve %42.4-67.1 (225 µM) aralığında (Çizelge 4.1), Cu stresinde %37.8-59.6 (75 µM), %41.8-65.5 (150 µM) ve %50.6-70.6 (225 µM) aralığında (Çizelge 4.2) azalmıştır. Resim 4.1 farklı konsantrasyonlarda kadmiyum ve bakır stresine maruz bırakılmış Avcı-2002 arpa fidelerinde gövde büyümesindeki engellemeyi göstermektedir. Kadmiyum uygulanmış fidelerin kontrole ve bakır uygulanmış fidelere göre daha kısa ve yaprak ayasının daha geniş olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, Resim 4.2 farklı konsantrasyonlarda bakıra maruz bırakılmış Avcı-2002 çeşidinin kontrole göre kök büyümesindeki engellemeyi göstermektedir.





**Resim 4.1** Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum ve bakır uygulamalarına maruz bırakılmış 7 günlük Avcı-2002 arpa çeşidi fidelerinde gövde büyümesi engellenmesi



**Resim 4.2** Farklı konsantrasyonlarda bakır uygulamalarına maruz bırakılmış 7 günlük Avcı-2002 arpa çeşidi fidelerinde kök büyümesi engellenmesi

**Çizelge 4.1** Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök uzunlukları üzerine Cd stresinin etkisi

Arpa Çeşidi	Cd ( $\mu\text{M}$ )	Gövde uzunluğu		Kök uzunluğu	
		cm bitki <sup>-1</sup>	% Azalma	(cm bitki <sup>-1</sup> )	% Azalma
<b>Angora</b>	0	22.7 $\pm$ 0.4 a	0,00	11.8 $\pm$ 0.3 a	0,00
	75	14.8 $\pm$ 0.2 b	34,80	9.2 $\pm$ 0.1 b	22,03
	150	12.9 $\pm$ 0.2 c	43,17	7.1 $\pm$ 0.1 c	39,83
	225	10.8 $\pm$ 0.2 d	52,42	5.8 $\pm$ 0.1 d	50,85
<b>Avcı-2002</b>	0	22.2 $\pm$ 0.2 a	0,00	10.9 $\pm$ 0.2 a	0,00
	75	15.3 $\pm$ 0.2 b	31,08	7.1 $\pm$ 0.1 b	34,86
	150	12.1 $\pm$ 0.2 c	45,50	5.7 $\pm$ 0.1 c	47,71
	225	10.9 $\pm$ 0.1 d	50,90	4.6 $\pm$ 0.1 d	57,80
<b>Aydanhanım</b>	0	20.9 $\pm$ 0.2 a	0,00	11.9 $\pm$ 0.3 a	0,00
	75	13.8 $\pm$ 0.1 b	33,97	7.3 $\pm$ 0.2 b	38,66
	150	12.0 $\pm$ 0.2 c	42,58	7.2 $\pm$ 0.2 b	39,50
	225	11.6 $\pm$ 0.2 d	44,70	6.9 $\pm$ 0.1 b	42,40
<b>Başgül</b>	0	24.7 $\pm$ 0.2 a	0,00	10.7 $\pm$ 0.4 a	0,00
	75	16.8 $\pm$ 0.3 b	31,98	6.8 $\pm$ 0.1 b	36,45
	150	13.1 $\pm$ 0.3 c	46,96	5.2 $\pm$ 0.1 c	51,40
	225	11.7 $\pm$ 0.3 d	52,63	4.3 $\pm$ 0.1 d	59,81
<b>Bülbül-89</b>	0	22.9 $\pm$ 0.2 a	0,00	12.7 $\pm$ 0.3 a	0,00
	75	15.2 $\pm$ 0.2 b	33,62	5.6 $\pm$ 0.2 b	55,91
	150	11.5 $\pm$ 0.1 c	49,78	4.6 $\pm$ 0.1 c	63,78
	225	8.6 $\pm$ 0.1 d	62,45	4.2 $\pm$ 0.03 c	67,10
<b>Orza-96</b>	0	24.3 $\pm$ 0.2 a	0,00	13.0 $\pm$ 0.4 a	0,00
	75	15.1 $\pm$ 0.2 b	37,86	7.9 $\pm$ 0.1 b	39,23
	150	11.9 $\pm$ 0.1 c	51,03	6.3 $\pm$ 0.1 c	51,54
	225	10.1 $\pm$ 0.1 d	58,44	5.2 $\pm$ 0.1 d	60,00
<b>Tarm-92</b>	0	23.3 $\pm$ 0.3 a	0,00	11.8 $\pm$ 0.3 a	0,00
	75	14.6 $\pm$ 0.2 b	37,34	7.3 $\pm$ 0.2 b	38,14
	150	12.4 $\pm$ 0.2 c	46,78	6.2 $\pm$ 0.1 c	47,46
	225	11.2 $\pm$ 0.1 d	51,93	5.2 $\pm$ 0.1 d	55,93
<b>Zeynelağa</b>	0	21.5 $\pm$ 0.2 a	0,00	11.1 $\pm$ 0.3 a	0,00
	75	15.3 $\pm$ 0.2 b	28,84	7.8 $\pm$ 0.1 b	29,73
	150	13.5 $\pm$ 0.1 c	37,21	6.9 $\pm$ 0.1 c	37,84
	225	10.3 $\pm$ 0.1 d	52,09	6.1 $\pm$ 0.1 d	45,05

a-d; Bir kritere ait kolondaki farklı harfler ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P<0.05$ ). Her bir değer, her tekrarda 12 fidenin örneklendiği üç tekrarın ortalamasıdır. Standart hata ( $\pm\text{SH}$ ).

**Çizelge 4.2** Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök uzunlukları üzerine Cu stresinin etkisi

Arpa Çeşidi	Cu (µM)	Gövde uzunluğu		Kök uzunluğu	
		cm bitki <sup>-1</sup>	% Azalma	(cm bitki <sup>-1</sup> )	% Azalma
<b>Angora</b>	0	22.0 ± 0.2 a	0,00	11.6 ± 0.2 a	0,00
	75	16.7 ± 0.2 b	24,09	5.7 ± 0.1 b	50,86
	150	14.3 ± 0.2 c	35,00	4.7 ± 0.08 c	59,48
	225	12.7 ± 0.1 d	42,27	4.0 ± 0.07 d	65,52
<b>Avcı-2002</b>	0	21.6 ± 0.3 a	0,00	10.6 ± 0.2 a	0,00
	75	17.9 ± 0.3 b	17,13	5.6 ± 0.2 b	47,17
	150	16.9 ± 0.1 c	21,76	4.7 ± 0.1 c	55,66
	225	14.8 ± 0.2 d	31,48	4.0 ± 0.04 d	62,26
<b>Aydanhanım</b>	0	19.1 ± 0.1 a	0,00	12.2 ± 0.2 a	0,00
	75	14.8 ± 0.1 b	22,51	5.0 ± 0.07 b	59,02
	150	12.9 ± 0.1 c	32,46	4.6 ± 0.07 c	62,30
	225	11.6 ± 0.1 d	39,27	3.9 ± 0.04 d	68,03
<b>Başgül</b>	0	24.1 ± 0.2 a	0,00	11.3 ± 0.3 a	0,00
	75	19.8 ± 0.3 b	17,84	6.4 ± 0.2 b	43,36
	150	17.7 ± 0.3 c	26,56	5.7 ± 0.1 c	49,56
	225	16.3 ± 0.2 d	32,37	5.0 ± 0.1 d	55,75
<b>Bülbül-89</b>	0	23.4 ± 0.2 a	0,00	11.2 ± 0.2 a	0,00
	75	18.4 ± 0.2 b	21,37	6.8 ± 0.1 b	39,29
	150	16.0 ± 0.2 c	31,62	5.2 ± 0.1 c	53,57
	225	14.9 ± 0.2 d	36,32	3.3 ± 0.1 d	70,54
<b>Orza-96</b>	0	24.1 ± 0.2 a	0,00	9.1 ± 0.4 a	0,00
	75	19.7 ± 0.2 b	18,26	5.6 ± 0.1 b	38,46
	150	16.1 ± 0.2 c	33,20	4.6 ± 0.05 c	49,45
	225	13.5 ± 0.2 d	43,98	4.1 ± 0.08 c	54,95
<b>Tarm-92</b>	0	23.0 ± 0.2 a	0,00	8.2 ± 0.4 a	0,00
	75	18.0 ± 0.3 b	21,74	5.1 ± 0.07 b	37,80
	150	15.6 ± 0.2 c	32,17	4.7 ± 0.08 b	42,68
	225	13.4 ± 0.1 d	41,74	4.0 ± 0.06 c	51,22
<b>Zeynelağa</b>	0	21.1 ± 0.1 a	0,00	13.0 ± 0.3 a	0,00
	75	15.3 ± 0.1 b	27,49	5.2 ± 0.1 b	60,00
	150	13.1 ± 0.1 c	37,91	4.4 ± 0.06 c	66,15
	225	11.6 ± 0.1 d	45,02	3.9 ± 0.1 d	70,00

a-d; Bir kritere ait kolondaki farklı harfler ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P < 0.05$ ). Her bir değer, her tekrarda 12 fidenin örneklendiği üç tekrarın ortalamasıdır. Standart hata ( $\pm SH$ ).

Erken fide evresindeki arpa çeşitlerinin gövde ve kök taze ağırlıkları Cd ve Cu konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak genellikle önemli düzeyde ( $P<0.05$ ) azalmıştır (sırasıyla Çizelge 4.3 ve 4.4). Arpa çeşitlerinin gövde taze ağırlıklarındaki azalma kontrole göre tüm Cd konsantrasyonlarında %37.1-65.6 aralığında belirlenmişken, tüm Cu konsantrasyonlarında %36.0-64.2 aralığında belirlenmiştir. Cd stresinde arpa çeşitlerinin gövde taze ağırlıkları %37.1-52.5 (75  $\mu\text{M}$ ), %44.9-59.5 (150  $\mu\text{M}$ ) ve %47.9-65.6 (225  $\mu\text{M}$ ) aralığında (Çizelge 4.3), Cu %36.0-48.4 (75  $\mu\text{M}$ ), %45.5-59.6 (150  $\mu\text{M}$ ) ve %55.0-64.2 (225  $\mu\text{M}$ ) aralığında (Çizelge 4.4) azalmıştır. Bununla birlikte, arpa çeşitlerinin kök taze ağırlıklarındaki azalma kontrole göre tüm Cd konsantrasyonlarında %26.5-63.1 aralığında, tüm Cu konsantrasyonlarında %33.2-66.3 aralığında belirlenmiştir. Cd stresinde arpa çeşitlerinin kök taze ağırlıkları %26.5-55.4 (75  $\mu\text{M}$ ), %33.9-61.0 (150  $\mu\text{M}$ ) ve %37.0-63.1 (225  $\mu\text{M}$ ) aralığında (Çizelge 4.3), Cu stresinde %33.2-50.2 (75  $\mu\text{M}$ ), %39.1-58.7 (150  $\mu\text{M}$ ) ve % 41.6-66.3 (225  $\mu\text{M}$ ) aralığında (Çizelge 4.4) azalmıştır.

Erken fide evresindeki arpa çeşitlerinin gövde ve kök kuru ağırlıkları Cd ve Cu konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak genellikle önemli düzeyde ( $P<0.05$ ) azalmıştır (sırasıyla Çizelge 4.5 ve 4.6). Arpa çeşitlerinin gövde kuru ağırlıklarındaki azalma kontrole göre tüm Cd konsantrasyonlarında %20.2-53.7 aralığında belirlenmişken, tüm Cu konsantrasyonlarında %23.0-52.9 aralığında belirlenmiştir. Cd stresinde arpa çeşitlerinin gövde kuru ağırlıkları %20.2-30.3 (75  $\mu\text{M}$ ), %21.6-42.5 (150  $\mu\text{M}$ ), %24.0-53.7 (225  $\mu\text{M}$ ) aralığında (Çizelge 4.5), Cu stresinde %23.0-36.9 (75  $\mu\text{M}$ ), %30.1-46.1 (150  $\mu\text{M}$ ), %34.2-52.9 (225  $\mu\text{M}$ ) aralığında (Çizelge 4.6) azalmıştır. Bununla birlikte, arpa çeşitlerinin kök kuru ağırlıklarındaki azalma kontrole göre tüm Cd konsantrasyonlarında %10.6-54.3 aralığında, tüm Cu konsantrasyonlarında %7.9-44.2 aralığında belirlenmiştir. Cd stresinde arpa çeşitlerinin kök kuru ağırlıkları %10.6-31.4 (75  $\mu\text{M}$ ), %11.2-37.2 (150  $\mu\text{M}$ ), %20.7-54.3 (225  $\mu\text{M}$ ) aralığında (Çizelge 4.5), Cu stresinde %7.9-28.7 (75  $\mu\text{M}$ ), %18.9-32.0 (150  $\mu\text{M}$ ), %22.9-44.2 (225  $\mu\text{M}$ ) aralığında (Çizelge 4.6) azalmıştır.

**Çizelge 4.3** Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök taze ağırlıkları üzerine Cd stresinin etkisi

Arpa Çeşidi	Cd (µM)	Gövde taze ağırlığı		Kök taze ağırlığı	
		Mg	% Azalma	(mg)	% Azalma
<b>Angora</b>	0	286.3 ± 9.8 a	0,00	121.6 ± 7.0 a	0,00
	75	168.2 ± 4.8 b	41,25	89.4 ± 1.6 b	26,48
	150	131.7 ± 4.8 bc	54,00	80.4 ± 7.5 b	33,88
	225	121.8 ± 2.5 c	57,46	76.6 ± 3.6 b	37,01
<b>Avcı-2002</b>	0	328.7 ± 2.9 a	0,00	105.9 ± 2.7 a	0,00
	75	189.7 ± 5.1 b	42,29	67.3 ± 0.8 b	36,45
	150	159.3 ± 4.0 c	51,54	60.8 ± 2.0 b	42,59
	225	140.9 ± 4.9 d	57,13	60.8 ± 2.0 b	42,59
<b>Aydanhanım</b>	0	308.1 ± 7.4 a	0,00	117.8 ± 2.0 a	0,00
	75	191.4 ± 5.2 b	37,88	73.7 ± 2.2 b	37,44
	150	169.9 ± 0.6 c	44,86	67.3 ± 1.4 b	42,87
	225	160.6 ± 2.1 c	47,87	67.0 ± 4.3 b	43,12
<b>Başgül</b>	0	365.2 ± 6.4 a	0,00	127.0 ± 9.2 a	0,00
	75	229.6 ± 3.0 b	37,13	71.4 ± 3.1 b	43,78
	150	187.4 ± 3.1 c	48,69	62.4 ± 3.1 bc	50,87
	225	179.9 ± 9.2 c	50,74	53.3 ± 1.5 c	58,03
<b>Bülbül-89</b>	0	371.3 ± 9.4 a	0,00	137.2 ± 4.4 a	0,00
	75	208.7 ± 4.8 b	43,79	61.2 ± 1.5 b	55,39
	150	153.2 ± 8.3 c	58,74	53.6 ± 0.9 bc	60,93
	225	139.2 ± 3.6 c	62,51	50.6 ± 0.4 c	63,12
<b>Orza-96</b>	0	327.1 ± 7.8 a	0,00	123.2 ± 0.9 a	0,00
	75	167.2 ± 1.9 b	48,88	67.5 ± 0.3 b	45,21
	150	132.6 ± 5.6 c	59,46	66.9 ± 2.3 b	45,70
	225	112.4 ± 0.7 d	65,64	61.8 ± 0.4 c	49,84
<b>Tarm-92</b>	0	323.0 ± 9.5 a	0,00	112.7 ± 4.3 a	0,00
	75	184.9 ± 4.9 b	42,76	62.1 ± 2.4 b	44,90
	150	151.1 ± 4.2 c	53,22	58.7 ± 2.3 b	47,91
	225	128.6 ± 4.3 c	60,19	52.9 ± 2.2 b	53,06
<b>Zeynelağa</b>	0	321.1 ± 9.9 a	0,00	127.7 ± 1.4 a	0,00
	75	152.4 ± 8.8 b	52,54	80.2 ± 3.0 b	37,20
	150	145.4 ± 6.8 b	54,72	66.6 ± 2.3 c	47,85
	225	126.0 ± 1.8 b	60,76	60.5 ± 1.5 c	52,62

a-d; Bir kritere ait kolondaki farklı harfler ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P<0.05$ ). Her bir değer, her tekrarda 12 fidenin örneklendiği üç tekrarın ortalamasıdır. Standart hata ( $\pm$ SH).

**Çizelge 4.4** Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök taze ağırlıkları üzerine Cu stresinin etkisi

Arpa Çeşidi	Cu (µM)	Gövde taze ağırlığı		Kök taze ağırlığı	
		Mg	% Azalma	(mg)	% Azalma
<b>Angora</b>	0	300.1 ± 9.2 a	0,00	115.2 ± 4.5 a	0,00
	75	165.8 ± 1.2 b	44,75	64.7 ± 3.6 b	43,84
	150	127.0 ± 5.7 c	57,68	55.1 ± 5.9 b	52,17
	225	107.2 ± 0.6 c	64,28	51.9 ± 4.8 b	54,95
<b>Avcı-2002</b>	0	274.5 ± 7.4 a	0,00	88.5 ± 8.4 a	0,00
	75	175.5 ± 3.1 b	36,07	59.2 ± 4.0 b	33,11
	150	149.3 ± 2.3 cb	45,61	53.9 ± 3.2 b	39,10
	225	118.5 ± 1.1 c	56,83	51.7 ± 1.2 b	41,58
<b>Aydanhanım</b>	0	292.8 ± 8.1 a	0,00	133.7 ± 1.9 a	0,00
	75	176.3 ± 7.8 b	39,79	66.6 ± 2.8 b	50,19
	150	148.5 ± 1.5 c	49,28	63.4 ± 3.9 b	52,58
	225	125.7 ± 5.0 d	57,07	58.0 ± 1.5 b	56,62
<b>Başgül</b>	0	368.4 ± 9.9 a	0,00	118.5 ± 6.4 a	0,00
	75	217.3 ± 9.1 b	41,02	61.2 ± 1.5 b	48,35
	150	192.1 ± 4.1 c	47,86	59.6 ± 3.0 b	49,70
	225	165.7 ± 1.2 d	55,02	58.7 ± 0.6 b	50,46
<b>Bülbül-89</b>	0	365.4 ± 3.5 a	0,00	127.0 ± 1.7 a	0,00
	75	194.4 ± 3.5 b	46,80	63.2 ± 1.3 b	50,24
	150	162.2 ± 6.2 c	55,61	52.5 ± 3.6 c	58,66
	225	149.8 ± 0.5 c	59,00	42.8 ± 1.5 d	66,30
<b>Orza-96</b>	0	310.2 ± 9.3 a	0,00	99.0 ± 2.8 a	0,00
	75	187.1 ± 4.1 b	39,68	56.5 ± 2.6 b	42,93
	150	136.6 ± 3.9 c	55,96	50.4 ± 0.3 cb	49,09
	225	114.0 ± 7.2 c	63,25	47.2 ± 2.3 c	52,32
<b>Tarm-92</b>	0	291.5 ± 9.2 a	0,00	82.3 ± 1.5 a	0,00
	75	178.2 ± 5.8 b	38,87	51.9 ± 1.7 b	36,94
	150	143.0 ± 6.2 c	50,94	48.7 ± 2.0 b	40,83
	225	115.8 ± 3.7 d	60,27	46.8 ± 0.3 b	43,13
<b>Zeynelağa</b>	0	340.7 ± 6.3 a	0,00	134.9 ± 5.4 a	0,00
	75	175.5 ± 2.2 b	48,49	70.5 ± 1.1 b	47,74
	150	137.3 ± 1.0 c	59,70	66.3 ± 2.1 b	50,85
	225	121.6 ± 2.0 c	64,31	62.2 ± 1.4 b	53,89

a-d; Bir kritere ait kolondaki farklı harfler ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P<0.05$ ). Her bir değer, her tekrarda 12 fidenin örneklendiği üç tekrarın ortalamasıdır. Standart hata ( $\pm$ SH).

**Çizelge 4.5** Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök kuru ağırlıkları üzerine Cd stresinin etkisi

Arpa Çeşidi	Cd ( $\mu\text{M}$ )	Gövde kuru ağırlığı		Kök kuru ağırlığı	
		Mg	% Azalma	(mg)	% Azalma
<b>Angora</b>	0	28.5 $\pm$ 2.2 a	0,00	9.1 $\pm$ 0.6 a	0,00
	75	22.3 $\pm$ 2.1 b	21,75	7.6 $\pm$ 0.3 ab	16,48
	150	19.4 $\pm$ 1.7 b	31,93	7.3 $\pm$ 0.6 b	19,78
	225	17.7 $\pm$ 0.1 b	37,89	7.0 $\pm$ 0.6 b	23,08
<b>Avcı-2002</b>	0	30.7 $\pm$ 0.3 a	0,00	9.8 $\pm$ 0.9 a	0,00
	75	22.8 $\pm$ 0.7 b	25,73	7.7 $\pm$ 0.1 b	21,43
	150	20.4 $\pm$ 0.4 c	33,55	7.3 $\pm$ 0.2 b	25,51
	225	19.7 $\pm$ 0.4 c	35,83	7.2 $\pm$ 0.1 b	26,53
<b>Aydanhanım</b>	0	31.6 $\pm$ 0.9 a	0,00	9.7 $\pm$ 0.1 a	0,00
	75	25.3 $\pm$ 0.8 b	19,94	8.7 $\pm$ 0.5 b	10,31
	150	24.8 $\pm$ 0.3 b	21,52	8.6 $\pm$ 0.1 bc	11,34
	225	24.1 $\pm$ 0.7 b	23,73	7.7 $\pm$ 0.1 c	20,62
<b>Başgül</b>	0	36.3 $\pm$ 0.7 a	0,00	9.8 $\pm$ 0.3 a	0,00
	75	26.4 $\pm$ 0.7 b	27,27	7.7 $\pm$ 0.4 b	21,43
	150	23.8 $\pm$ 0.7 c	34,44	7.2 $\pm$ 0.2 b	26,53
	225	22.8 $\pm$ 0.4 c	37,19	6.1 $\pm$ 0.2 c	37,76
<b>Bülbül-89</b>	0	35.2 $\pm$ 0.6 a	0,00	10.0 $\pm$ 0.03 a	0,00
	75	24.7 $\pm$ 0.4 b	29,83	6.9 $\pm$ 0.2 b	31,00
	150	20.3 $\pm$ 0.9 bc	42,33	6.3 $\pm$ 0.1 c	37,00
	225	16.3 $\pm$ 2.8 c	53,69	6.2 $\pm$ 0.1 c	38,00
<b>Orza-96</b>	0	31.1 $\pm$ 0.9 a	0,00	9.1 $\pm$ 0.1 a	0,00
	75	21.7 $\pm$ 0.2 b	30,23	7.3 $\pm$ 0.02 b	19,78
	150	18.8 $\pm$ 0.6 c	39,55	6.9 $\pm$ 0.4 b	24,18
	225	16.7 $\pm$ 0.2 d	46,30	6.9 $\pm$ 0.1 b	24,18
<b>Tarm-92</b>	0	32.2 $\pm$ 0.9 a	0,00	9.8 $\pm$ 0.1 a	0,00
	75	24.0 $\pm$ 0.6 b	25,47	7.4 $\pm$ 1.5 ab	24,49
	150	20.4 $\pm$ 0.6 c	36,65	6.8 $\pm$ 0.02 bc	30,61
	225	17.8 $\pm$ 0.7 d	44,72	4.5 $\pm$ 0.7 c	54,08
<b>Zeynelağa</b>	0	31.7 $\pm$ 1.3 a	0,00	9.9 $\pm$ 0.2 a	0,00
	75	24.7 $\pm$ 0.2 b	22,08	8.2 $\pm$ 0.3 b	17,17
	150	21.5 $\pm$ 0.5 c	32,18	7.9 $\pm$ 0.2 bc	20,20
	225	18.5 $\pm$ 0.7 d	41,64	7.2 $\pm$ 0.3 c	27,27

a-d; Bir kritere ait kolondaki farklı harfler ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P < 0.05$ ). Her bir değer, her tekrarda 12 fidenin örneklendiği üç tekrarın ortalamasıdır. Standart hata ( $\pm\text{SH}$ ).

**Çizelge 4.6** Erken fide evresindeki 8 arpa çeşidinin gövde ve kök kuru ağırlıkları üzerine Cu stresinin etkisi

Arpa Çeşidi	Cu ( $\mu\text{M}$ )	Gövde kuru ağırlığı		Kök kuru ağırlığı	
		Mg	% Azalma	(mg)	% Azalma
<b>Angora</b>	0	29.4 $\pm$ 1.2 a	0,00	8.3 $\pm$ 0.2 a	0,00
	75	19.1 $\pm$ 0.1 b	35,03	6.9 $\pm$ 0.1 b	16,87
	150	15.8 $\pm$ 0.5 c	46,26	6.7 $\pm$ 0.2 b	19,28
	225	13.8 $\pm$ 0.1 c	53,06	6.3 $\pm$ 0.3 b	24,10
<b>Avcı-2002</b>	0	26.9 $\pm$ 1.4 a	0,00	8.0 $\pm$ 0.4 a	0,00
	75	20.7 $\pm$ 0.3 b	23,05	7.3 $\pm$ 0.6 b	8,75
	150	18.4 $\pm$ 0.3 cb	31,60	6.5 $\pm$ 0.2 b	18,75
	225	16.1 $\pm$ 0.1 c	40,15	6.1 $\pm$ 0.02 b	23,75
<b>Aydanhanım</b>	0	28.4 $\pm$ 0.4 a	0,00	10.2 $\pm$ 0.1 a	0,00
	75	21.1 $\pm$ 0.7 b	25,70	7.3 $\pm$ 0.3 b	28,43
	150	19.8 $\pm$ 0.2 cb	30,28	6.9 $\pm$ 0.8 b	32,35
	225	18.7 $\pm$ 0.2 c	34,15	6.5 $\pm$ 0.5 b	36,27
<b>Başgül</b>	0	37.7 $\pm$ 0.7 a	0,00	10.7 $\pm$ 0.1 a	0,00
	75	25.4 $\pm$ 1.1 b	32,63	8.6 $\pm$ 0.5 b	19,63
	150	24.4 $\pm$ 0.5 b	35,28	8.3 $\pm$ 0.1 b	22,43
	225	21.9 $\pm$ 0.2 c	41,91	7.6 $\pm$ 0.2 b	28,97
<b>Bülbül-89</b>	0	34.4 $\pm$ 0.2 a	0,00	10.0 $\pm$ 0.1 a	0,00
	75	21.7 $\pm$ 0.4 b	36,92	9.0 $\pm$ 0.7 ab	10,00
	150	19.8 $\pm$ 0.7 c	42,44	7.1 $\pm$ 1.4 bc	29,00
	225	19.1 $\pm$ 0.1 c	44,48	5.6 $\pm$ 0.1 c	44,00
<b>Orza-96</b>	0	29.9 $\pm$ 1.8 a	0,00	8.21 $\pm$ 0.1 a	0,00
	75	20.8 $\pm$ 0.4 b	30,43	6.0 $\pm$ 0.2 b	26,92
	150	17.0 $\pm$ 0.5 c	43,14	5.7 $\pm$ 0.09 b	30,57
	225	15.6 $\pm$ 0.7 c	47,83	5.6 $\pm$ 0.1 b	31,79
<b>Tarm-92</b>	0	28.4 $\pm$ 0.5 a	0,00	7.6 $\pm$ 0.2 a	0,00
	75	19.9 $\pm$ 0.7 b	29,93	5.9 $\pm$ 0.1 b	22,37
	150	17.3 $\pm$ 0.6 c	39,08	5.8 $\pm$ 0.6 b	23,68
	225	15.5 $\pm$ 0.4 c	45,42	5.5 $\pm$ 0.1 b	27,63
<b>Zeynelağa</b>	0	31.2 $\pm$ 1.5 a	0,00	9.7 $\pm$ 0.3 a	0,00
	75	20.9 $\pm$ 0.2 b	33,01	7.4 $\pm$ 0.1 b	23,71
	150	18.3 $\pm$ 0.2 c	41,35	7.2 $\pm$ 0.2 b	25,77
	225	17.3 $\pm$ 0.2 c	44,55	7.1 $\pm$ 0.2 b	26,80

a-d; Bir kritere ait kolondaki farklı harfler ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ( $P < 0.05$ ). Her bir değer, her tekrarda 12 fidenin örneklendiği üç tekrarın ortalamasıdır. Standart hata ( $\pm\text{SH}$ ).



## **4.2 Kadmiyum ve Bakır Stresine Maruz Kalan Arpa eşitlerinde Tolerans Sınıflandırması**

Bu araştırmada, Cd ve Cu stresine en toleranslı ve en hassas arpa çeşitlerinin fizyolojik parametreler ve rastgele oğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) tekniği ile karşılaştırmalı olarak belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, her bir arpa çeşitine ait konsantrasyonlardaki gövde ve kök kuru ağırlıkları için tolerans indeksi (%) değerleri hesaplanmıştır. Her bir ağır metalin konsantrasyonu için hesaplanan tolerans indeksi değerleri arpa eşitleri arasında puanlandırılmıştır. Buna göre, tolerans indeksi değeri en düşük olan arpa çeşitine 1 puan, en yüksek olan arpa çeşitine 8 puan ve diğer çeşitlere de 2 ila 7 arasında puan verilerek değerlendirilmiştir. Her bir eşitin gövde ve köküne ait tüm kadmiyum ve bakır konsantrasyonlarında aldığı puanlar toplanmıştır. Toplam puanlara göre arpa çeşitlerinin kadmiyum ve bakır toleransındaki genotipik farklılıklar sırasıyla izelge 4.7 ve 4.8'de ortaya konulmuştur. Bu bağlamda, fizyolojik temelde tolerans indeksi temel alınarak yapılan kadmiyum toleransı sınıflandırılmasında en toleranslı arpa eşidi Aydanhanım (48 puan), en hassas arpa çeşidi ise Bülbül-89 (8 puan) olarak belirlenmiştir (izelge 4.7). Bununla birlikte, fizyolojik temelde tolerans indeksi temel alınarak yapılan bakır toleransı sınıflandırılmasında en toleranslı arpa eşidi Avcı-2002 (46 puan), en hassas arpa çeşidi ise Zeynelağa (15 puan) olarak belirlenmiştir (izelge 4.8).

**Çizelge 4.7** Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kuru ağırlık temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları

Arpa çeşitleri	Gövde Tolerans İndeksi (%)			Kök Tolerans İndeksi (%)			Toplam Puan
	75 µM	150 µM	225 µM	75 µM	150 µM	225 µM	
Aydanhanım	79.8 (8)*	78.4 (8)	76.0 (8)	89.4 (8)	88.8 (8)	79.3 (8)	48**
Angora	78.2 (7)	67.9 (7)	62.1 (5)	84.1 (7)	80.5 (7)	76.7 (7)	40
Zeynelağa	77.8 (6)	67.8 (6)	58.5 (4)	82.6 (6)	79.6 (6)	72.7 (4)	32
Avacı-2002	74.2 (4)	66.3 (5)	64.0 (7)	78.6 (4)	75.1 (4)	73.4 (5)	29
Başgül	72.8 (3)	65.6 (4)	62.8 (6)	77.7 (3)	73.3 (3)	62.1 (3)	22
Orza-96	69.7 (1)	60.5 (2)	53.8 (2)	79.9 (5)	76.0 (5)	75.3 (6)	21
Tarm-92	74.5 (5)	63.3 (3)	55.4 (3)	75.6 (2)	69.7 (2)	45.7 (1)	16
Bülbül-89	70.1 (2)	57.5 (1)	46.3 (1)	68.6 (1)	62.8 (1)	61.7 (2)	8***

\* Parantez içindeki sayılar tolerans indeksi (%) değerlerine göre verilen puanları, \*\* en yüksek puan en az zararı ve \*\*\*en düşük puan ise en fazla zararı ifade etmektedir.

**Çizelge 4.8** Farklı Cu konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kuru ağırlık temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları

Arpa çeşitleri	Gövde Tolerans İndeksi (%)			Kök Tolerans İndeksi (%)			Toplam Puan
	75 µM	150 µM	225 µM	75 µM	150 µM	225 µM	
Avacı-2002	77.0 (8)*	68.7 (7)	60.0 (7)	92.1 (8)	81.1 (8)	77.1 (8)	46**
Başgül	67.5 (4)	64.7 (6)	58.1 (6)	80.0 (5)	77.5 (6)	71.3 (5)	32
Aydanhanım	74.2 (7)	69.8 (8)	65.7 (8)	71.2 (2)	67.9 (2)	64.2 (3)	30
Tarm-92	70.1 (6)	61.1 (5)	54.6 (3)	77.6 (4)	75.9 (5)	72.3 (6)	29
Angora	64.9 (2)	53.8 (1)	47.0 (1)	82.9 (6)	79.8 (7)	75.1 (7)	24
Bülbül-89	63.1 (1)	57.5 (3)	55.4 (4)	90.2 (7)	70.6 (4)	55.8 (2)	21
Orza-96	69.8 (5)	56.8 (2)	52.4 (2)	74.2 (3)	70.5 (3)	69.0 (4)	19
Zeynelağa	67.2 (3)	58.8 (4)	55.6 (5)	52.2 (1)	49.1 (1)	46.1 (1)	15***

\* Parantez içindeki sayılar tolerans indeksi (%) değerlerine göre verilen puanları, \*\* en yüksek puan en az zararı ve \*\*\*en düşük puan ise en fazla zararı ifade etmektedir.

### 4.3 RAPD Analizleri

#### 4.3.1 Genomik DNA Ekstraksiyonu

Bu araştırmada, erken fide gelişimi evresinde hidroponik olarak kültüre edilen bazı arpa (*Hordeum vulgare* L.) eşitlerinin (Angora, Avcı-2002, Aydanhanım, Başgl, Bülbül-89, Orza-96, Tarm-92, Zeynelağa) Rastgele oğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA) RAPD profilleri üzerine kadmiyum, krom ve bakır toksitesinin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, -günlük etiyole fideler ¼ Hewitt besin çözeltisi (kontrol) ve bu çözeltiye eklenmiş farklı konsantrasyonlardaki (75, 150 ve 225 µM) CdCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> veya CuCl<sub>2</sub> ile 7 gün süreyle muamele edilmiştir. Uygulama sresinin sonunda, yaklaşık 15-20 fideden elde edilen 200 mg taze kök dokusu genomik DNA ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Uygulama yapılmamış (kontrol) ve üç farklı konsantrasyonda (75, 150 ve 225 µM) kadmiyum, krom veya bakır ile muamele edilmiş 8 arpa çeşidinin her birisi için DNA ekstraksiyonları yapılmıştır. Uygulamalar sonrası toplamda 80 ayrı DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Her bir arpa çeşidi için 10 farklı uygulama grubu fideye ait ekstraksiyon sonrası genomik DNA'ların miktar (A<sub>260</sub>) ve kalite (A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>) tayinleri spektrofotometerik olarak yapılmıştır. DNA ekstraksiyonlarında 90-300 ng/µl arasında genomik DNA'lar elde edilmiştir. Bu DNA miktarları binlerce PCR reaksiyonu kurabilecek kadar yeterlilikte olduğu hesaplanmıştır. Ayrıca, ekstraksiyonlar sonunda hesaplanan DNA saflıkları ((A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>)) 1.5-1.9 arasında olmuştur. Bu bulgular oldukça etkin ve verimli DNA ekstraksiyonlarının gerçekleştirildiğini göstermiştir. Genomik DNA'lar 10 ng/µl konsantrasyon olacak şekilde çift-distile suda (ddH<sub>2</sub>O) seyreltildikten sonra PCR reaksiyonu kurulumunda kullanılmıştır. PCR ncesi stok ve çalışma genomik DNA'lar aliotlara ayrılarak -20 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

#### 4.3.2 RAPD Bulguları

Bu araştırmada, GC oranı % 50-70 aralığında Operon Teknolojisi tarafından üretilmiş A kiti (OPA) serisi 20 adet primer n denemelerde kullanılmıştır. Bu primerlerden OPA01, OPA02, OPA09, OPA10, OPA12, OPA16, OPA17 ve OPA19 bilgi verici ve değerlendirilebilir RAPD profilleri üretmiştir. Bu araştırmada kullanılan her bir arpa

çeşidi için; ağır metal uygulaması yapılmamış ve üç farklı ağır metalin (kadmiyum, bakır veya krom) üç farklı uygulama konsantrasyonu (75, 150 ve 225 uM ağır metal) ile uygulamaya maruz bırakılmış bitkilerden elde edilen genomik DNA'lar RAPD çalışmalarında aynı PCR reaksiyonlarında kullanılmıştır. Sonuçta, 8 farklı primer ile 8 farklı arpa çeşidi için toplamda 64 farklı RAPD jeli temin edilmiştir (Şekil 4.1/3/5/7/9/11/13/15) Her bir jelde ise markör DNA ile birlikte 10 farklı genomik DNA'dan elde edilen RAPD-PCR ürünleri yürütülmüştür. Aynı arpa çeşidine ait kök dokularından temin edilmiş 10 farklı genomik DNA'lar: sırasıyla; kontrol, 75, 150 ve 225 µM kadmiyum, krom ve bakır deney gruplarından elde edilmiştir. Araştırmada elde edilmiş tüm RAPD jeli profillerine ait resimler düzenlendikten sonra, arpa çeşitlerinin alfabetik sırasına göre Şekil 4.1 - 4.15 arasında verilmiştir.

#### **4.3.2.1 Angora RAPD profilleri**

Angora arpa çeşidi için 8 farklı primerle elde edilmiş RAPD bulguları Şekil 4.1'de verilmiştir. Kontrol grubu Angora çeşidi için 8 farklı primer ile toplamda 86 DNA bandı elde edilmiştir (Ek Çizelge 1). Tüm uygulama gruplarında elde edilen DNA bandı çeşit sayısı ise 93 olarak belirlenmiştir. Toplam RAPD-PCR bantlarının %25'ü tüm örneklerde belirlendiğinden monomorfik DNA bantları olarak değerlendirilmiştir. %75'inin ise tüm örneklerde tespiti yapılmamış olması nedeni ile polimorfik DNA bantları olarak belirlenmiştir. 10 farklı genomik DNA ve 8 farklı primerler ile elde edilen toplam DNA bant sayısı ise 793 olarak hesaplanmıştır. Tüm uygulama gruplarından elde edilen bu bantların var olması "1" veya olmaması "0" temelinde bir matriks oluşturulmuştur. Angora arpa çeşidi için oluşturulmuş olan "1" ve "0" matriksi PCR ürünlerinin moleküler ağırlıkları ile birlikte Çizelge Ek-1'de verilmiştir. Bu bantların moleküler ağırlıkları 47 bç (OPA02) ile 1958 bp (OPA16) aralığında değişmiştir. OPA12 primeri elde edilen tüm bantlar monomorfik olmuştur.

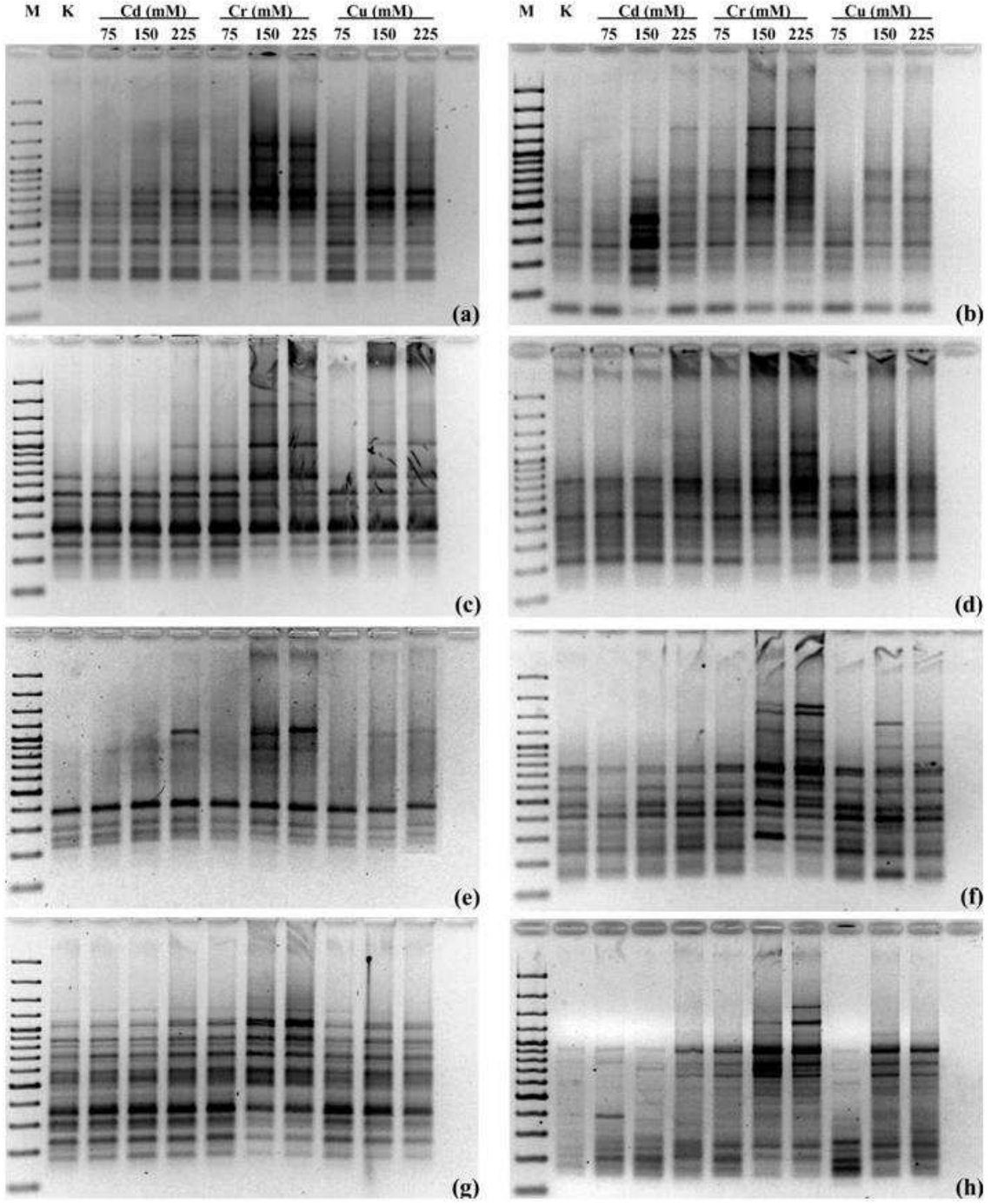
Kontrol grubu RAPD profillerine göre, ağır metal ile uygulama yapılmış fidelerin RAPD profillerinde yeni bantların varlığı veya bazı bantlarda kayıplar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış fidelerin RAPD profillerine bant kayıpları ve yeni bant oluşumları oldukça belirgindir. Bununla

birlikte, kadmiyum stresi altındaki fidelerde Kontrol grubu RAPD profilleri ile karşılaştırıldığında; 150/225 µM Cr veya Cu ile maruz bırakılmış bitkilerin RAPD profillerinde, OPA01 (1587, 1200 ve 986 bp), OPA09 (1867), OPA16 (1958, 1730, 1500, 1325 ve 1081 bp), OPA17 (219 bp) ve OPA19 (1253, 1084 ve 700 bp) primerleri ile yeni veya kayıp bantlar tespit edilmiştir. Özellikle, krom stresinde konsantrasyondaki bir artış yeni oluşan bantların sayısında kademeli olarak bir artışa neden olmuştur (Şekil 4.1).

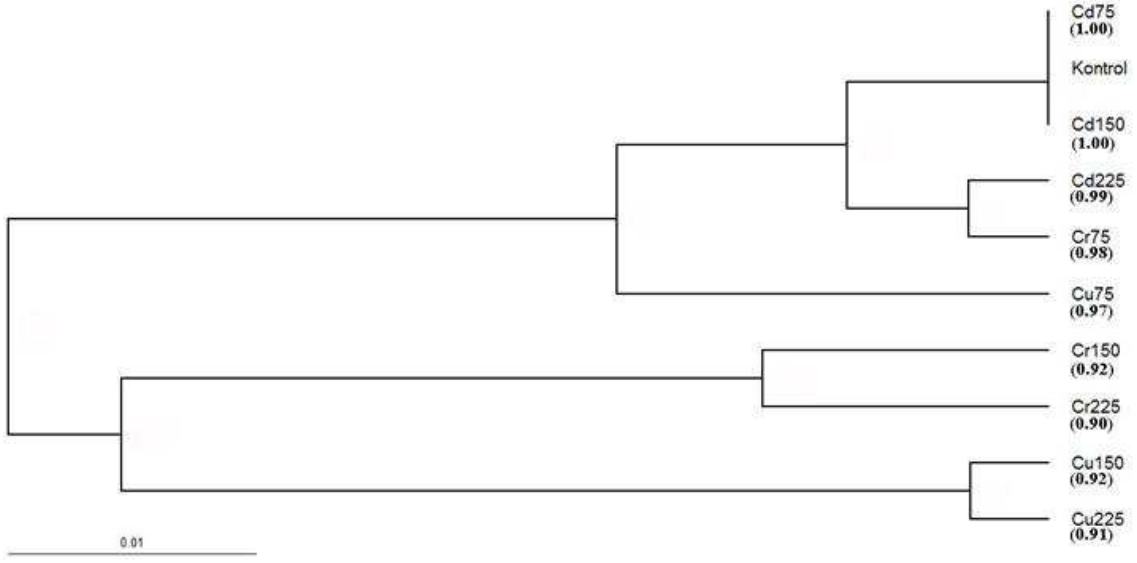
Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225 µM) Cd, Cr ve Cu stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Angora arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram Şekil 4.4’de verilmiştir. Şekil üzerindeki uygulama gruplarının kısaltmaları Cd75, Cd150, Cd225, Cr75, Cr150, Cr225, Cu75, Cu150 ve Cu225 şeklinde verilmiştir. Dendogramda uygulama yapılmış ve yapılmamış fideler üç ana küme oluşturmuştur. İlkinde, kadmiyum uygulamasına maruz bırakılmış fideler kontrol grubu ile birlikte kümelenmiştir. İkincisinde, Cu150 ve 225, üçüncüsünde ise Cr150 ve Cr225 birlikte kümelenmiştir. Tüm uygulama grupları arasındaki genetik benzerlik katsayıları FreeTree paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Cd75 ve Cd150 gruplarına ait RAPD profilleri ile kontrol grubu RAPD profilleri aynı çıkmıştır, yani bu gruplar arasında genetik uzaklık belirlenmemiştir. Bununla birlikte, bakır ve krom uygulamaları RAPD profilleri kontrol grubuna göre çok farklı çıkması genetik yakınlık değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Bu nedenle, krom ve bakır uygulama grupları kontrol grubundan bağımsız olarak kümelenmiştir (Şekil 4.2).

Uygulama yapılmış ve yapılmamış Angora arpa çeşidi RAPD profillerinde belirlenen değişikliklerin nitel bir ölçüsünü gösteren genomik kalıp DNA kararlılığı (GTS,%) değerleri test edilen 8 primer için hesaplanarak Çizelge 4.9’da verilmiştir. Her bir uygulama grubunda ağır metal konsantrasyonundaki bir artış genomik kalıp DNA kararlılığında bir azalmaya neden olmuştur. GTS değerlerindeki en fazla azalma (%20,24) Cr225 uygulamasında belirlenmiştir. RAPD profillerinden elde edilen GTS% bulgularına göre, Angora arpa çeşidinin test edilen ağır metallere toleranslık sıralaması kadmiyum > bakır > krom şeklinde gerçekleşmiştir. Angora arpa çeşidinin kadmiyum,

bakır (sırasıyla, Çizelge 4.7 ve 4.8) ve kroma (Yıldız ve ark. 2010) olan kök toleranslık indeksi değerlerinin karşılaştırmasında, bu sıralama kadmiyum > bakır > krom şeklinde gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.1** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Angora arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).



**Şekil 4.2** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Angora arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendrogram. Parantez içindeki rakamlar her bir uygulama grubunun kontrole göre benzerlik mesafesini göstermektedir.



**Çizelge 4.9** Angora arpa çeşidi kontrol RAPD profillerinde belirlenen DNA bant sayıları (primer adları yanında parantez içinde verilen rakamlar), ve kontrole göre farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) ağır metal (Cd, Cr veya Cu) uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen yeni oluşmuş (+) ve kaybolmuş (-) DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri (GTS, %). Tabloda, Angora arpa çeşidine ait kök toleranslık indeksi GTS değerleri ile karşılaştırılması amacı verilmiştir.

Ağır Metal	µM	OPA01 (9)			OPA02 (10)			OPA09 (8)			OPA10 (8)			OPA12 (4)			OPA16 (9)			OPA17 (17)			OPA19 (10)			Ortalama GTS %	Ort	Kök Toleranslık İndeksi, %	Ort			
		+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)							
Cd	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	100,00	99,1	84,1	80,4
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	100,00		80,5	
	225	0	0	100,0	2	0	80,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	97,50		76,7	
Cr	75	0	0	100,0	2	0	80,0	1	0	87,5	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	95,94	86,3	83,3	79,9
	150	3	0	66,7	2	0	80,0	1	0	87,5	0	0	100,0	0	0	100,0	3	0	66,7	0	2	88,2	2	0	80,0	83,63	79,8					
	225	3	0	66,7	3	0	70,0	1	0	87,5	2	0	75,0	0	0	100,0	3	0	66,7	0	2	88,2	2	0	80,0	79,26	76,5					
Cu	75	0	0	100,0	1	0	90,0	0	1	87,5	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	94,1	0	1	90,0	95,20	87,5	82,9	79,2			
	150	3	0	66,7	1	0	90,0	1	1	75,0	0	0	100,0	0	0	100,0	3	0	66,7	0	1	94,1	1	1	80,0	84,06		79,8				
	225	3	0	66,7	1	0	90,0	1	1	75,0	0	0	100,0	0	0	100,0	3	0	66,7	0	2	88,2	1	1	80,0	83,32		75,1				

Not: Krom kök toleranslık indeks değerleri Yıldız ve ark. (2010)'dan alınmıştır.

#### 4.3.2.2 Avcı-2002 RAPD profilleri

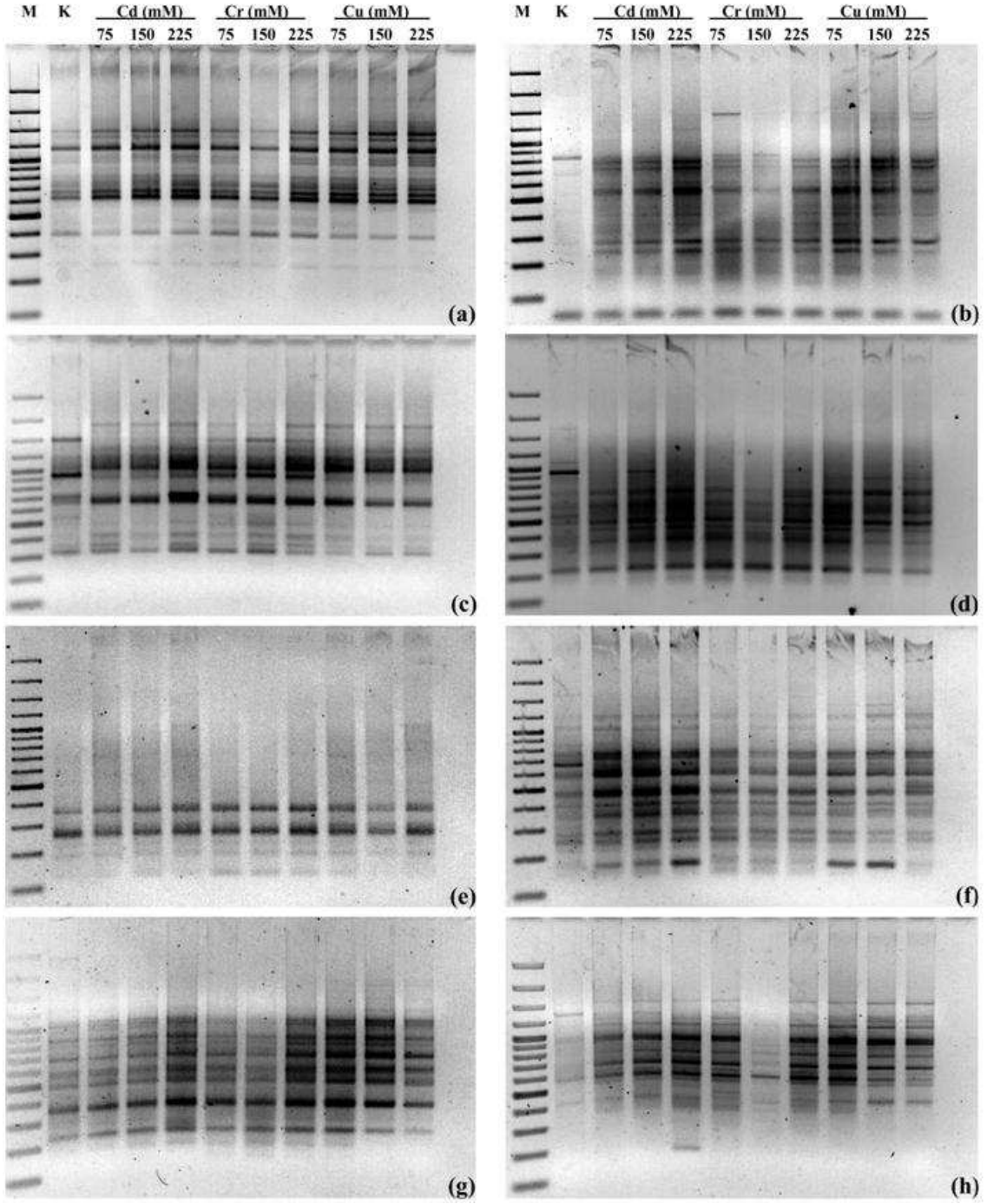
Avcı-2002 arpa çeşidi için 8 farklı primerle elde edilmiş olan RAPD bulguları Şekil 4.3'de verilmiştir. Kontrol grubu Avcı-2002 çeşidi için 8 farklı primer ile toplamda 76 DNA bandı elde edilmiştir. Tüm uygulama gruplarında elde edilen DNA bandı çeşit sayısı ise 97 olarak hesaplanmıştır. DNA bantlarının %16'sı tüm örneklerde belirlendiğinden, bu bantlar monomorfik DNA bantları olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, bu DNA bantlarının %84'ü tüm örneklerde tespit edilmediğinden polimorfik DNA bantları olarak değerlendirilmiştir. 10 farklı genomik DNA ve 8 farklı primerler ile elde edilen toplam DNA bant sayısı ise 839 olarak hesaplanmıştır. Tüm uygulama gruplarından elde edilen bu bantların var olması "1" veya olmaması "0" temelinde bir matriks oluşturulmuştur. Avcı-2002 arpa çeşidi için oluşturulmuş olan "1" ve "0" matriksi moleküler ağırlıkları ile birlikte Ek Çizelge 2'de verilmiştir. Bu bantların moleküler ağırlıkları 47 bp (OPA02) ile 1958 bp (OPA16) aralığında değişmiştir. OPA12 primeri elde edilen bantların hepsi tüm uygulama gruplarında çoğalmıştır. Kontrol grubu RAPD profilleri ile karşılaştırıldığında, ağır metal ile uygulama yapılmış fidelerin RAPD profillerinde yeni bantların varlığı veya bazı bantlarda kayıplar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış fidelerin RAPD profillerine bant kayıpları ve yeni bant oluşumları oldukça belirgindir. Bununla birlikte, kadmiyum stresi altındaki fidelerde kontrol grubu RAPD profilleri ile karşılaştırıldığında; ağır metal stresine maruz bırakılmış bitkilerin RAPD profillerinde; 909, (OPA01), 1128, 840 (OPA02), 532 (OPA09), 1062, 973, 910 (OPA10), 1602, 561, 543 ve 340 (OPA16), 219 (OPA17), 573, 526 ve 230 (OPA19) bantları yeni veya kayıp bantlar olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3).

Kontrol grubuna ait RAPD profilleri ile uygulama grupları karşılaştırıldığında, Cd, Cr ve Cu'nun farklı konsantrasyonları ile muamele edilmiş Avı arpa fidelerinin RAPD profillerinde bant kayıpları ve yeni bant oluşumları gözlemlenmiştir (bkz Ek Çizelge 2). Özellikle, her üç ağır metalin düşük konsantrasyonlarında bant kayıpları daha fazla olmuşken, yüksek konsantrasyonlarda bantların sayısında bir artışa neden olmuştur. Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225 µM) Cd, Cr ve Cu stresine maruz bırakılmış

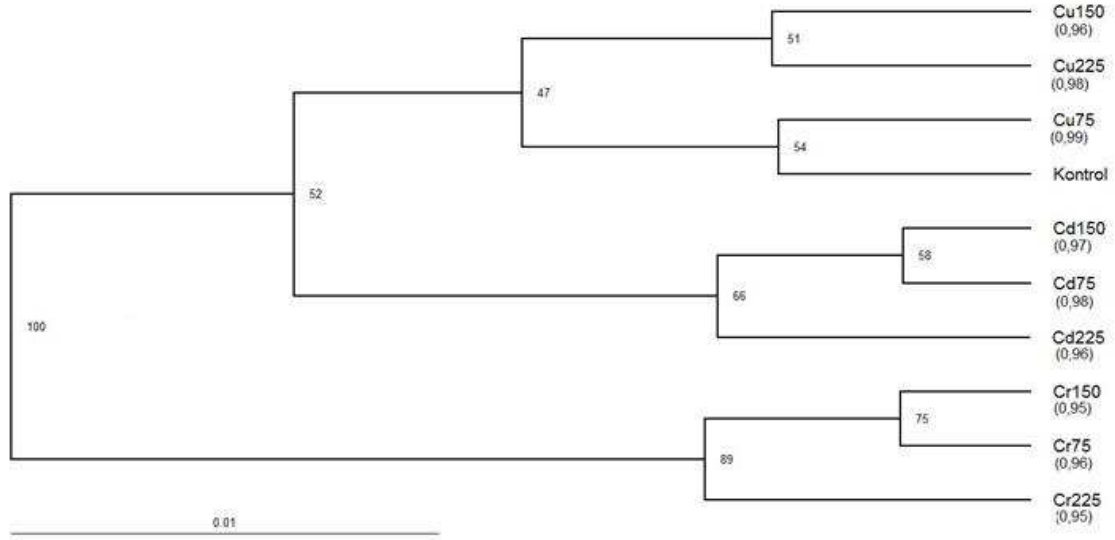
veya bırakılmamış (kontrol) Avcı-2002 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogramda uygulama yapılmış ve yapılmamış fideler üç ana küme oluşturmuştur. İlkinde, üç farklı konsantrasyondaki bakır uygulamasına maruz bırakılmış fideler kontrol grubu ile birlikte kümelenmiştir. İkinci küme kadmiyum ve üçüncüsü ise krom uygulama gruplarından oluşmuştur.

Tüm uygulama grupları arasındaki genetik benzerlik katsayıları FreeTree paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Cu75 grubu kontrol grubuna en yakın (0,999) uygulama grubu olmuşken, Cr225 grubu en uzak (0,995) grup olmuştur. Bununla birlikte, kadmiyum ve krom uygulamalarına ait RAPD profillerinin kontrol grubu RAPD profillerine göre çok farklı çıkmış olması genetik yakınlık değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Bu nedenle, kadmiyum ve krom uygulama grupları kontrol grubundan bağımsız olarak kümelenmiştir (Şekil 4.4).

Uygulama yapılmış ve yapılmamış Avcı-2002 arpa çeşidi RAPD profillerinde belirlenen değişikliklerin nitel bir ölçüsünü gösteren genomik kalıp DNA kararlılığı (GTS,%) değerleri test edilen 8 primer için hesaplanarak Çizelge 4.10'da verilmiştir. Her bir uygulama grubunda ağır metal konsantrasyonundaki bir artış genomik kalıp DNA kararlılığında bir azalmaya neden olmuştur. GTS değerlerindeki en fazla azalma (% 8,6) Cr225 uygulamasında belirlenmiştir. RAPD profillerinden elde edilen GTS% bulgularına göre, Avcı-2002 arpa çeşidinin test edilen ağır metallere toleranslık sıralaması krom > kadmiyum > bakır şeklinde gerçekleşmiştir. Avcı-2002 arpa çeşidinin kadmiyum, bakır (sırasıyla, Çizelge 4.7 ve 4.8) ve kroma (Yıldız ve ark. 2010) olan kök toleranslık indeksi değerlerinin karşılaştırmasında, bu sıralama kadmiyum > bakır > krom şeklinde gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.3** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Avcı-2002 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).



**Şekil 4.4** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Avcı-2002 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendrogram. Parantez içindeki rakamlar her bir uygulama grubunun kontrole göre benzerlik mesafesini göstermektedir.

**Çizelge 4.10** Avcı-2002 arpa çeşidi kontrol RAPD profillerinde belirlenen DNA bant sayıları (primer adları yanında parantez içinde verilen rakamlar), ve kontrole göre farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) ağır metal (Cd, Cr veya Cu) uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen yeni oluşmuş (+) ve kaybolmuş (-) DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri (GTS, %). Tabloda, Avcı-2002 arpa çeşidine ait kök toleranslık indeksi GTS değerleri ile karşılaştırılması amacı verilmiştir.

Ağır Metal	µM	OPA01 (9)			OPA02 (10)			OPA09 (8)			OPA10 (8)			OPA12 (4)			OPA16 (9)			OPA17 (17)			OPA19 (10)			Ortalama GTS %	Ort	Kök Toleranslık İndeksi, %	Ort
		+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)				
Cd	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	88,9	0	1	90,0	0	0	100,0	1	1	85,7	0	0	100,0	0	0	100,0	95,58	94,3	78,6	75,7
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	88,9	0	1	90,0	0	0	100,0	1	1	85,7	0	0	100,0	1	0	92,9	94,68		75,1	
	225	0	0	100,0	1	0	90,0	0	1	88,9	0	1	90,0	0	0	100,0	1	1	85,7	0	0	100,0	2	0	85,7	92,54		73,4	
Cr	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	3	70,0	0	0	100,0	1	1	85,7	0	0	100,0	1	0	92,9	93,57	92,6	95,2	85,6
	150	0	1	92,9	0	0	100,0	0	0	100,0	0	3	70,0	0	0	100,0	1	1	85,7	0	0	100,0	1	0	92,9	92,68		89,1	
	225	0	1	92,9	0	1	90,0	0	0	100,0	0	3	70,0	0	0	100,0	1	1	85,7	0	0	100,0	1	0	92,9	91,43		72,5	
Cu	75	0	0	100,0	0	1	90,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	92,9	0	0	100,0	0	0	100,0	97,86	95,6	92,1	83,4
	150	0	0	100,0	0	1	90,0	0	1	88,9	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	92,9	0	1	90,9	0	0	100,0	95,33		81,1	
	225	0	0	100,0	0	1	90,0	0	1	88,9	0	0	100,0	0	0	100,0	2	1	78,6	0	1	90,9	0	0	100,0	93,32		77,1	

Not: Krom kök toleranslık indeks değerleri Yıldız ve ark. (2010)'dan alınmıştır.

#### 4.3.2.3 Aydanhanım RAPD profilleri

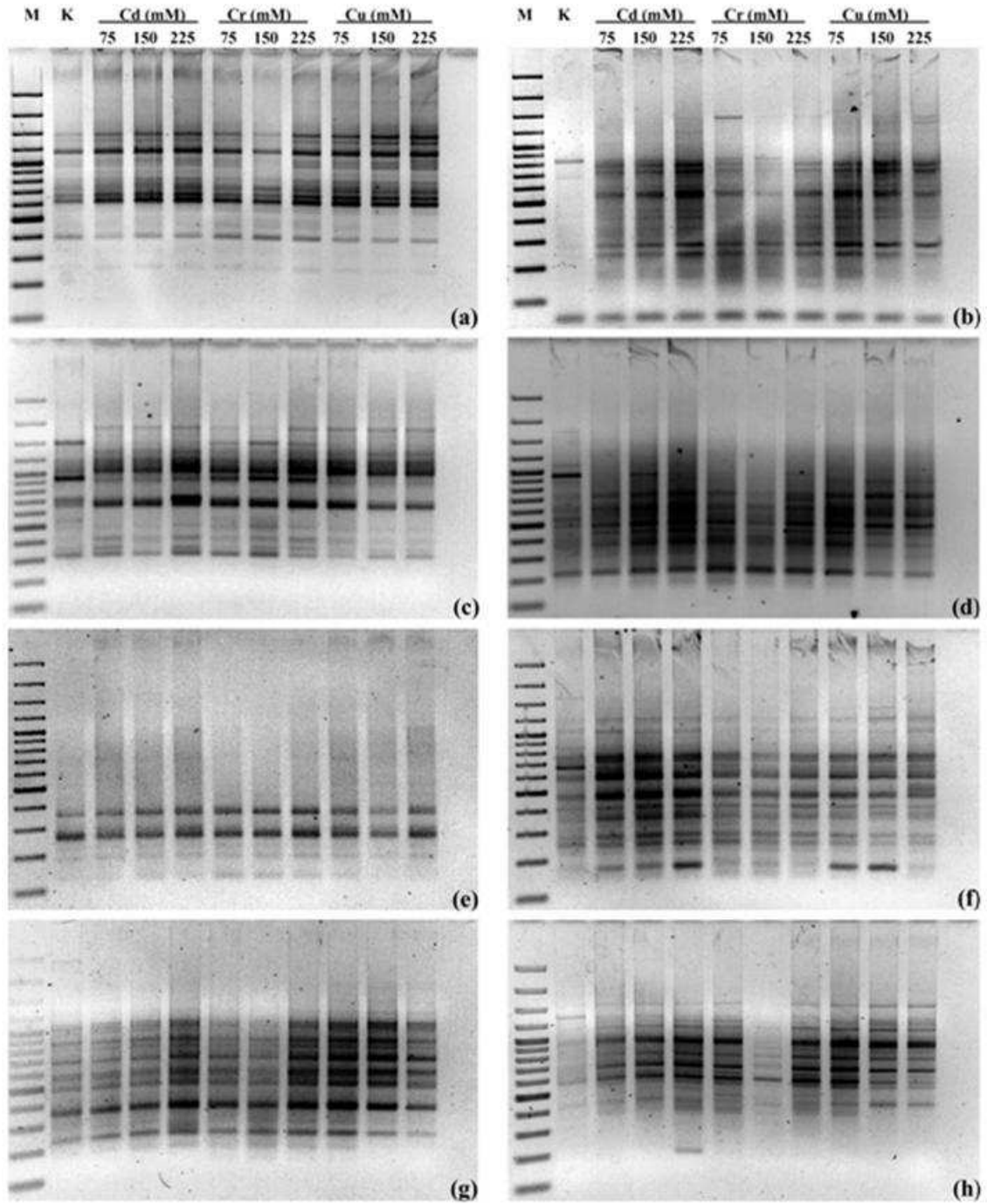
Aydanhanım arpa çeşidi için 8 farklı primerle elde edilmiş RAPD bulguları Şekil 4.5’de gösterilmiştir. Kontrol grubu Aydanhanım çeşidi için 8 farklı primer ile toplamda 94 DNA bandı elde edilmiştir (Ek Çizelge 3). Tüm uygulama gruplarında ise toplamda 104 farklı RAPD bandı belirlenmiştir. Bu bantlardan 89 adedi (%86) tüm örneklerde belirlenmiş olması nedeni ile monomorfik DNA bantları olarak değerlendirilmiştir. Geriye kalan DNA bantların varlığı tüm örneklerde tespiti yapılamadığından, Aydanhanım için elde edilen polimorfizm değeri %14 olmuştur. 10 farklı genomik DNA ve 8 farklı primer ile elde edilen toplam DNA bant sayısı ise 904 olarak hesaplanmıştır. Tüm uygulama gruplarından elde edilen bu bantların var olması “1” veya olmaması “0” temelinde bir matriks oluşturulmuştur. Aydanhanım arpa çeşidi için oluşturulmuş olan “1” ve “0” matriksi moleküler ağırlıkları ile birlikte Ek Çizelge 3’de verilmiştir. Bu bantların moleküler ağırlıkları 144 bç (OPA02) ile 1879 bp (OPA09) aralığında değişmiştir. OPA01, OPA10 ve OPA17 primerleri elde edilen tüm bantlar monomorfik olmuştur. Kontrol grubu RAPD profillerine göre, ağır metal ile uygulama yapılmış fidelerin RAPD profillerinde yeni bantların varlığı veya bazı bantlarda kayıplar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, krom ve bakır stresine maruz bırakılmış fidelerin RAPD profillerine bant kayıpları ve yeni bant oluşumları oldukça belirgindir. Özellikle, kadmiyum stresi altındaki fidelere ait RAPD profilleri ile kontrol grubu RAPD profilleri arasında net farklar olmuştur. OPA02 ile belirlenen 1198 ve 144 bç; OPA09 ile belirlenen 533 bp, OPA12 ile belirlenen 1136 bp; OPA16 ile belirlenen 1774, 634, 524 ve 207 bp; OPA19 ile belirlenen 1673 bp bantlar özellikle Cr225 deney grubu fidelerinden elde edilmiş RAPD bantlarıdır (Şekil 4.5). Buna ilaveten, OPA12 ile elde edilen 834 bp RAPD bandı ve OPA19 ile elde edilen 1295 bp ebatlı bant sadece Cr grupları için elde edilmiştir. Kontrol grubuna ait RAPD profilleri ile uygulama grupları karşılaştırıldığında; Cd, Cr ve Cu’nun farklı konsantrasyonları ile muamele edilmiş fide gruplarının RAPD profillerinde bant kayıpları ve yeni bant oluşumları gözlemlenmiştir (Şekil 4.5 ve bkz Ek Çizelge 3). Özellikle, en yüksek konsantrasyondaki (225 µM) krom stresinde 12 adet fazla DNA bandı elde edilmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225 µM) Cd, Cr ve Cu stresine maruz bırakılmış

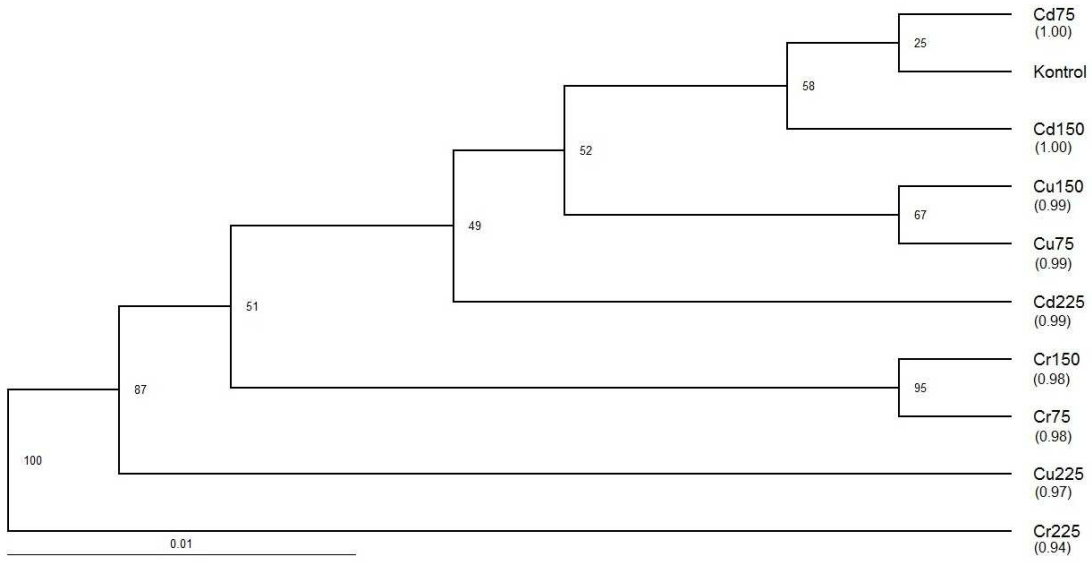
veya bırakılmamış (kontrol) Aydanhanım arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram Şekil 4.8’de verilmiştir. Dendogramda uygulama yapılmış ve yapılmamış fideler altı ana küme oluşturmuştur. İlkinde, Cd75 ve Cd150 kontrol ile birlikte küme oluşturmuştur. Cu75 ve Cu150 ikinci kümeyi, Cr75 ve Cr 150 ise üçüncü kümeyi oluşturmuştur. Tüm uygulama grupları arasındaki genetik benzerlik katsayıları FreeTree paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Cd75 ve Cd150 gruplarına ait RAPD profilleri ile kontrol grubu RAPD profilleri aynı çıkmıştır, yani bu gruplar arasında genetik uzaklık belirlenmemiştir. Bununla birlikte, kontrol grubuna genetik olarak en uzak (0,942) uygulama grubunun Cr225 olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6).

Uygulama yapılmış ve yapılmamış Aydanhanım arpa çeşidi RAPD profillerinde belirlenen değişikliklerin nitel bir ölçüsünü gösteren genomik kalıp DNA kararlılığı (GTS,%) değerleri test edilen 8 primer için hesaplanarak Çizelge 4.11’de verilmiştir. Her bir ağır metal uygulama grubunda 75 ve 150 µM konsantrasyonlarında genomik kalıp DNA kararlılığında aynı oranda azalmıştır. 225 µM ağır metal uygulamaları ise GTS değerlerinde daha fazla bir azalışa neden olmuştur. GTS değerlerindeki en fazla azalma (%13) ile Cr225 uygulamasında belirlenmiştir. RAPD profillerinden elde edilen GTS% bulgularına göre, Aydanhanım arpa çeşidinin test edilen ağır metallere toleranslık sıralaması kadmiyum > bakır > krom şeklinde gerçekleşmiştir. Aydanhanım arpa çeşidinin kadmiyum, bakır (sırasıyla, Çizelge 4.7 ve 4.8) ve kroma (Yıldız ve ark. 2010) olan kök toleranslık indeksi değerlerindeki sıralamada ise krom>bakır>kadmiyum şeklinde gerçekleşmiştir.





**Şekil 4.5** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Aydanhanım arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).



**Şekil 4.6** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Aydanhanım arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram. Parantez içindeki rakamlar her bir uygulama grubunun kontrole göre benzerlik mesafesini göstermektedir.

**Çizelge 4.11** Aydanhanım arpa çeşidi kontrol RAPD profillerinde belirlenen DNA bant sayıları (primer adları yanında parantez içinde verilen rakamlar), ve kontrole göre farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) ağır metal (Cd, Cr veya Cu) uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen yeni oluşmuş (+) ve kaybolmuş (-) DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri (GTS, %). Tabloda, Aydanhanım arpa çeşidine ait kök toleranslık indeksi GTS değerleri ile karşılaştırılması amacı verilmiştir.

Ağır Metal	µM	OPA01 (9)			OPA02 (10)			OPA09 (8)			OPA10 (8)			OPA12 (4)			OPA16 (9)			OPA17 (17)			OPA19 (10)			Ortalama GTS %	Ort	Kök Toleranslık İndeksi, %	Ort
		+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)				
Cd	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	100,00	99,2	89,8	85,9
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	100,00		88,8	
	225	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	91,7	0	0	100,0	1	0	90,0	97,71		79,3	
Cr	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	88,9	0	0	100,0	1	0	90,0	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	90,0	96,11	93,1	82,5	79,3
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	88,9	0	0	100,0	1	0	90,0	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	90,0	96,11		80,3	
	225	0	0	100,0	2	0	81,8	1	0	88,9	0	0	100,0	2	0	80,0	4	0	66,7	0	0	100,0	2	0	80,0	87,17		75,2	
Cu	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	91,7	0	0	100,0	0	0	100,0	98,96	97,38	71,2	67,77
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	91,7	0	0	100,0	0	0	100,0	98,96		67,9	
	225	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	88,9	0	0	100,0	0	1	90,0	2	1	75,0	0	0	100,0	0	0	100,0	94,24		64,2	

Not: Krom kök toleranslık indeks değerleri Yıldız ve ark. (2010)'dan alınmıştır.

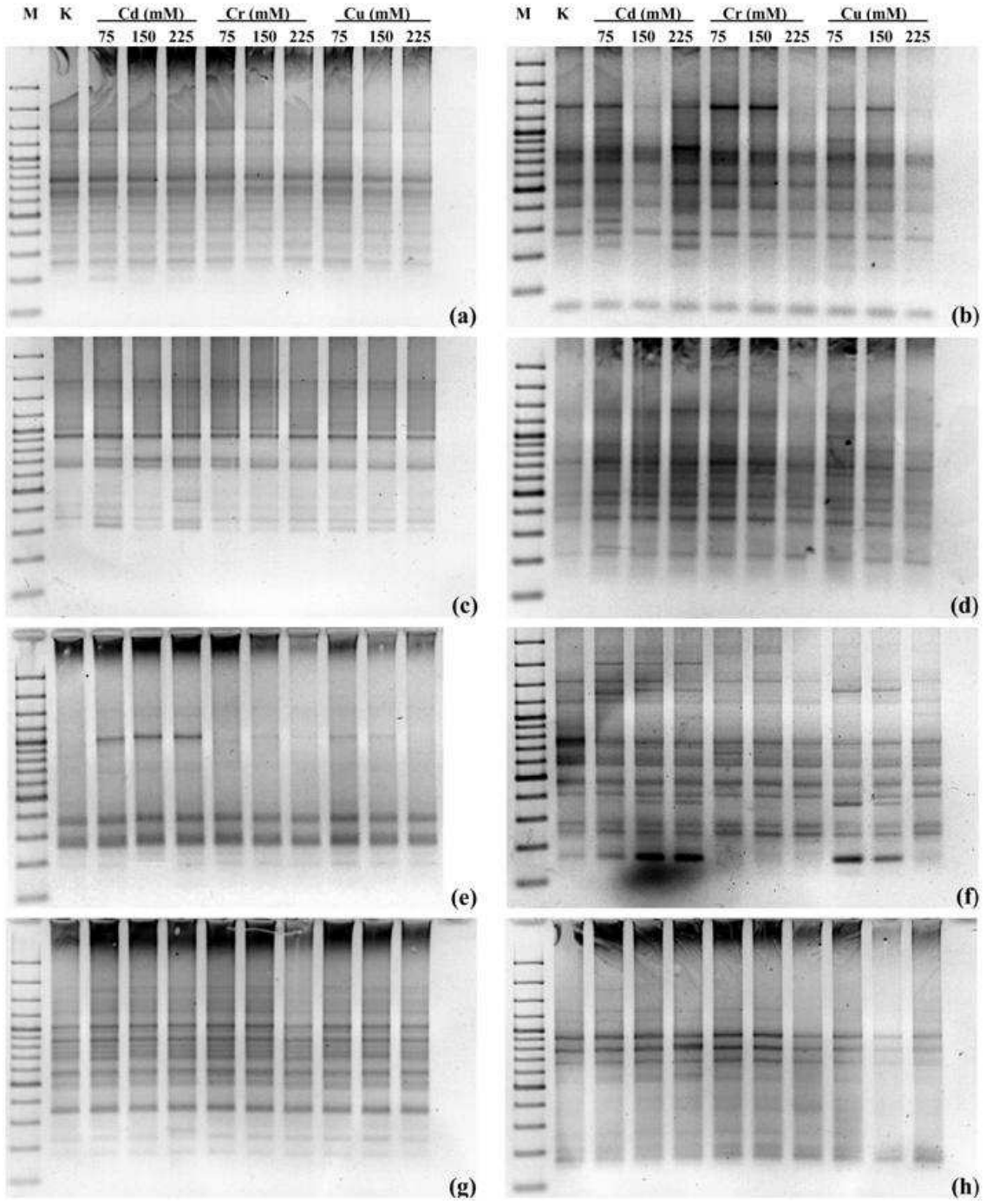
#### 4.3.2.4 Başgöl RAPD profilleri

Başgöl arpa çeşidi için 8 farklı primerle elde edilmiş RAPD bulguları Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Kontrol grubu Başgöl çeşidi için 8 farklı primer ile toplamda 80 DNA bandı elde edilmiştir (Ek Çizelge 4). Tüm uygulama gruplarında ise toplamda 89 farklı RAPD bandı belirlenmiştir. Bu bantlardan 74 adedi tüm örneklerde belirlenmiştir, yani bantların %83’ü monomorfik DNA bandıdır. Geriye kalan 15 DNA bandının varlığı, tüm örneklerde tespit edilemediğinden, Başgöl arpa çeşidi için elde edilen polimorfizm değeri %17 olmuştur. 10 farklı genomik DNA ve 8 farklı primerler ile elde edilen toplam DNA bant sayısı ise 809 olarak hesaplanmıştır. Tüm uygulama gruplarından elde edilen bu bantların var olması “1” veya olmaması “0” temelinde bir matriks oluşturulmuştur. Başgöl arpa çeşidi için oluşturulmuş olan “1” ve “0” matriksi moleküler ağırlıkları ile birlikte Ek Çizelge 4’de verilmiştir. Bu bantların moleküler ağırlıkları 178 bç (OPA19) ile 2138 bp (OPA16) aralığında değişmiştir. OPA10 ve OPA19 primerleri sadece monomorfik bantlar elde edilmiştir. Kontrol grubu RAPD profillerine göre, ağır metal ile uygulama yapılmış fidelerin RAPD profillerinde yeni bantların varlığı veya bazı bantlarda kayıplar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kadmiyum ve krom stresine maruz bırakılmış fidelerin RAPD profillerindeki bant kayıpları ve yeni bant oluşumları oldukça belirgindir. Özellikle, kadmiyum stresi altındaki fidelere ait RAPD profilleri ile kontrol grubu RAPD profilleri arasında net farklılıklar olmuştur. Örneğin, OPA01 ile elde edilen 213 bç bandı; OPA02 ile elde edilen 962 ve 245 bç bantları, OPA09 ile elde edilen 1394 bç bandı ve OPA16 ile elde edilen 2138 ve 393 bç bantları tüm kadmiyum uygulamalarında yeni oluşan bantlar olmuştur. Bununla birlikte, tüm konsantrasyonlarda krom uygulaması ile birlikte kontrol gruplarında var olan OPA12 elde edilmiş 1044 bç bant ile OPA16 elde edilmiş 1440 ve 179 bç ebatlı bantların kaybolmasına neden olmuştur (Şekil 4.7). Dolayısı ile, kadmiyum uygulaması yeni bantların oluşumu ile krom uygulaması ise mevcut bantların kaybolması ile sonuçlanmıştır.

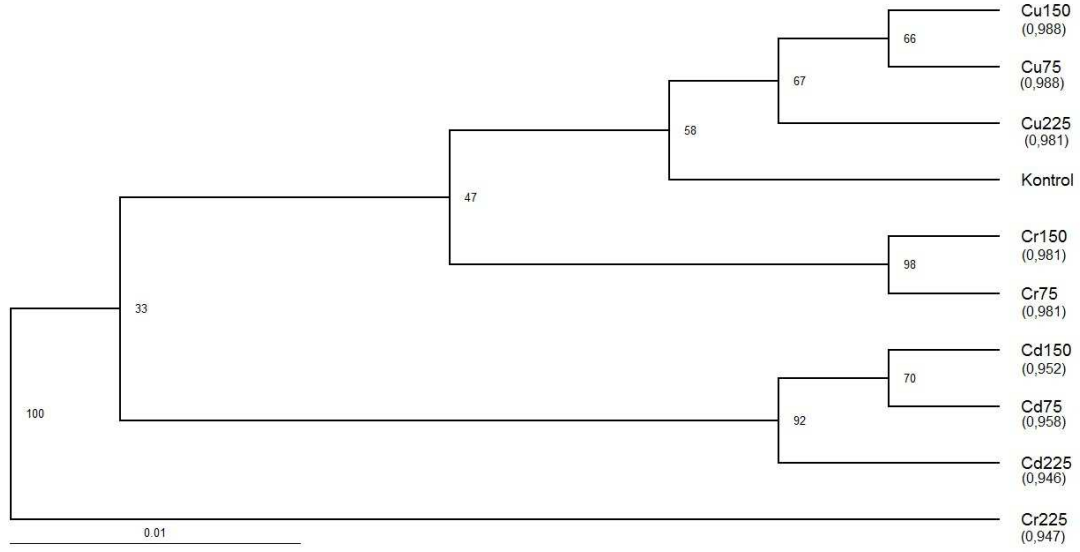
Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225 µM) Cd, Cr ve Cu stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Başgöl arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram Şekil 4.8’de

verilmiştir. Dendograma göre, tüm bakır uygulamaları kontrol grubu bir küme oluşturmuştur. Bununla birlikte, Cr75 ve Cr150 bir küme, tüm kadmiyum uygulamaları ayrı bir küme oluşturmuştur. Tüm uygulama grupları arasındaki genetik benzerlik katsayıları FreeTree paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Kontrol grubuna en yakın genetik benzerlik katsayısı (0,988) Cu75 için ve en uzak (0,946) Cd225 için belirlenmiştir (Şekil 4.8).

Uygulama yapılmış ve yapılmamış Başgül arpa çeşidi RAPD profillerinde belirlenen değişikliklerin nitel bir ölçüsünü gösteren genomik kalıp DNA kararlılığı (GTS,%) değerleri test edilen 8 primer için hesaplanarak Çizelge 4.12’de verilmiştir. Her bir ağır metal uygulama grubunda 75 ve 150 µM konsantrasyonlarında genomik kalıp DNA kararlılığında aynı oranda azalmıştır. 225 µM ağır metal uygulamaları ise GTS değerlerinde daha fazla bir azalışa neden olmuştur. GTS değerlerindeki en fazla azalma (%89,59) ile Cr225 uygulamasında belirlenmiştir. RAPD profillerinden elde edilen GTS% bulgularına göre, Başgül arpa çeşidinin test edilen ağır metallere toleranslık sıralaması kadmiyum > krom > bakır şeklinde gerçekleşmiştir. Başgül arpa çeşidinin kadmiyum, bakır (sırasıyla, Çizelge 4.7 ve 4.8) ve kroma (Yıldız ve ark. 2010) olan kök toleranslık indeksi değerlerinin karşılaştırmasında, bu sıralama kadmiyum > krom > bakır şeklinde gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.7** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Başgül arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).



**Şekil 4.8** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Başgül arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).

**Çizelge 4.12** Başgül arpa çeşidi kontrol RAPD profillerinde belirlenen DNA bant sayıları (primer adları yanında parantez içinde verilen rakamlar), ve kontrole göre farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) ağır metal (Cd, Cr veya Cu) uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen yeni oluşmuş (+) ve kaybolmuş (-) DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri (GTS, %). Tabloda, Başgül arpa çeşidine ait kök toleranslık indeksi GTS değerleri ile karşılaştırılması amacı verilmiştir.

Ağır Metal	µM	OPA01 (9)			OPA02 (10)			OPA09 (8)			OPA10 (8)			OPA12 (4)			OPA16 (9)			OPA17 (17)			OPA19 (10)			Ortalama GTS %	Ort	Kök Toleranslık İndeksi, %	Ort	
		+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)					
Cd	75	1	0	91,7	3	0	50,0	1	0	90,0	0	0	100,0	0	0	100,0	2	0	84,6	0	0	100,0	0	0	100,0	89,54	90,3	77,7	71,0	
	150	1	0	91,7	2	0	66,7	1	0	90,0	0	0	100,0	0	0	100,0	2	0	84,6	0	0	100,0	0	0	100,0	91,62				73,3
	225	1	0	91,7	2	0	66,7	2	0	80,0	0	0	100,0	0	0	100,0	2	0	84,6	1	0	93,8	0	0	100,0	89,59				62,1
Cr	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	80,0	0	2	84,6	0	0	100,0	0	0	100,0	95,58	93,8	93,3	80,2	
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	80,0	0	2	84,6	0	0	100,0	0	0	100,0	95,58				81,8
	225	0	1	91,7	0	1	83,3	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	80,0	0	2	84,6	0	3	81,3	0	0	100,0	90,11				65,4
Cu	75	0	0	100,0	1	0	83,3	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	92,3	0	0	100,0	0	0	100,0	96,96	96,3	80	76,3	
	150	0	0	100,0	1	0	83,3	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	92,3	0	0	100,0	0	0	100,0	96,96				77,5
	225	0	0	100,0	1	1	66,7	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	92,3	0	0	100,0	0	0	100,0	94,87				71,3

Not: Krom kök toleranslık indeks değerleri Yıldız ve ark. (2010)'dan alınmıştır.



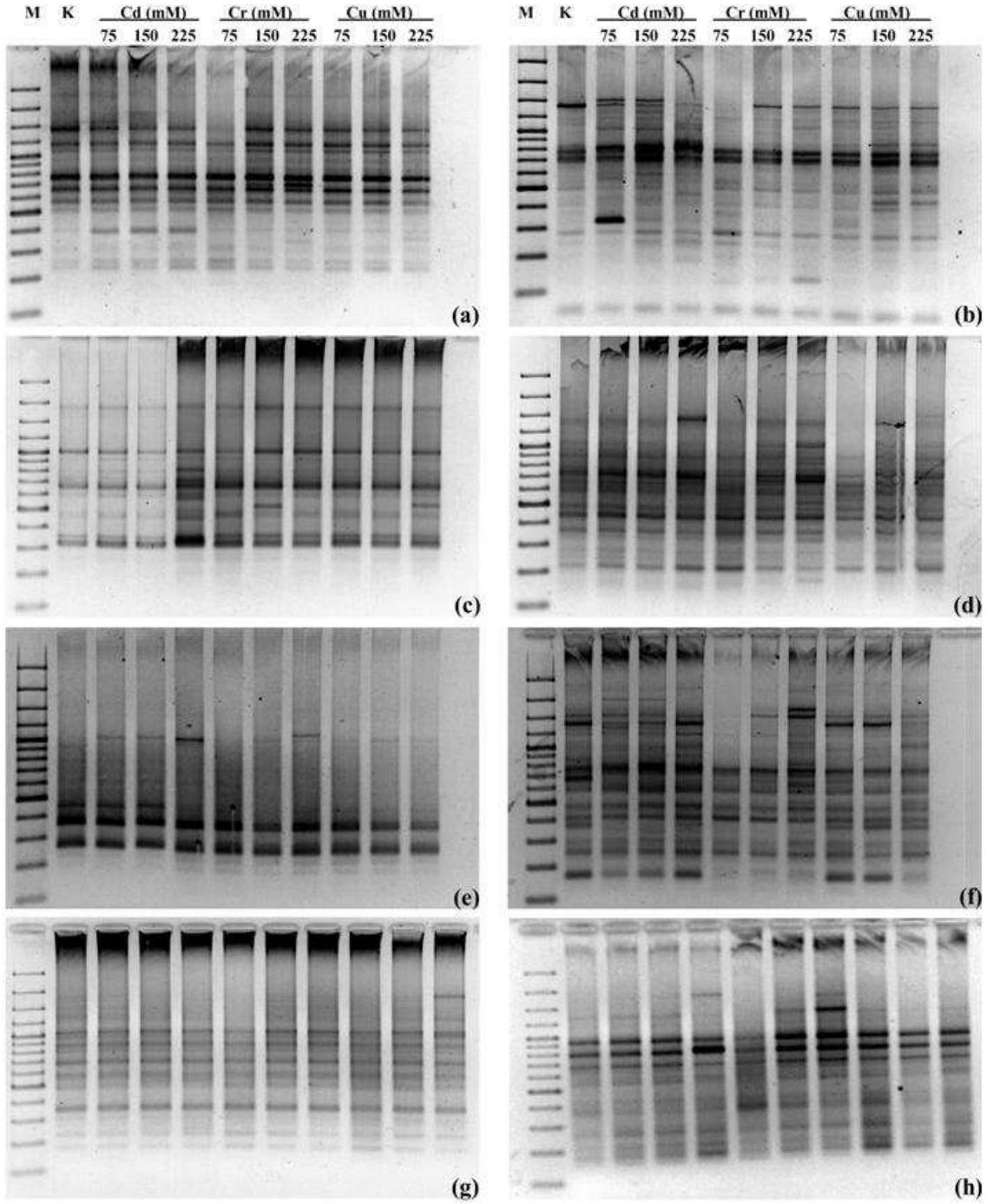
#### 4.3.2.5 Bülbul-89 RAPD profilleri

Bülbul-89 arpa çeşidi için 8 farklı primerle elde edilmiş RAPD bulguları Şekil 4.9'de gösterilmiştir. Kontrol grubu Bülbul-89 çeşidi için 8 farklı primer ile toplamda 85 DNA bandı elde edilmiştir (Ek Çizelge 5). Tüm uygulama gruplarında ise toplamda 102 farklı RAPD bandı belirlenmiştir. Bu bantlardan 87 adedi tüm örneklerde mevcuttur, yani bantların %85'i monomorfik DNA bandıdır. Geriye kalan DNA bantlarının tüm örneklerde tespit edilememesi nedeni ile, Bülbul-89 arpa çeşidi için elde edilen polimorfizm değeri %15 olmuştur. 10 farklı genomik DNA ve 8 farklı primerler ile elde edilen toplam DNA bant sayısı ise 899 olarak hesaplanmıştır. Tüm uygulama gruplarından elde edilen bu bantların var olması "1" veya olmaması "0" temelinde bir matriks oluşturulmuştur. Bülbul-89 arpa çeşidi için oluşturulmuş olan "1" ve "0" matriksi moleküler ağırlıkları ile birlikte Ek Çizelge 5'de verilmiştir. Bu bantların moleküler ağırlıkları 136 bç (OPA02) ile 2000 bp (OPA16) aralığında değişmiştir. Sadece OPA17 primeri monomorfik bantlar üretmiştir. Kontrol grubu RAPD profillerine göre, ağır metal ile uygulama yapılmış fidelerin RAPD profillerinde yeni bantların varlığı veya bazı bantlarda kayıplar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kadmiyum ve krom stresine maruz bırakılmış fidelerin RAPD profillerine bant kayıpları ve yeni bant oluşumları oldukça belirgindir. Özellikle, 225 µM kadmiyum ve krom stresi altındaki fidelere ait RAPD profilleri ile kontrol grubu RAPD profilleri arasında net farklılıklar olmuştur. Örneğin, OPA09 ile sadece bu uygulama gruplarına özgü 732, 573 ve 500 bç bantları elde edilmiştir. Bununla birlikte, OPA01 ile elde edilen 729; OPA10 ile elde edilen 554 bç bandı, OPA16 ile elde edilen 500 bç ebatlı bantlar sadece Cr225 grubuna aittir (Şekil 4.9 ve Ek Çizelge 5). Özellikle, kadmiyum ve krom uygulaması yeni bantların oluşumu ile sonuçlanmıştır.

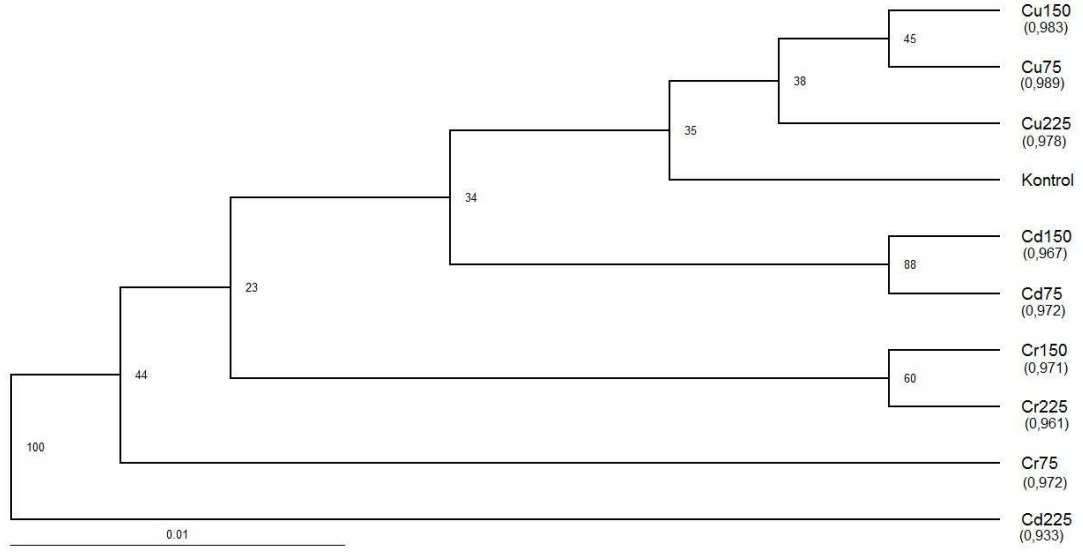
Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225 µM) Cd, Cr ve Cu stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Bülbul-89 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram Şekil 4.10'de verilmiştir. Dendograma göre tüm bakır uygulamaları kontrol grubu bir küme oluşturmuştur. Bununla birlikte, Cr75/150 ve Cd75/150 birer küme, Cr225 ve Cd225 ayrı birer küme oluşturmuştur (Şekil 4.10). Tüm uygulama grupları arasındaki genetik

benzerlik katsayıları FreeTree paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Kontrol grubuna en yakın genetik benzerlik katsayısı (0,989) Cu75 için ve en uzak (0,933) Cd225 için belirlenmiştir (Şekil 4.10).

Uygulama yapılmış ve yapılmamış Bülbül-89 arpa çeşidi RAPD profillerinde belirlenen değişikliklerin nitel bir ölçüsünü gösteren genomik kalıp DNA kararlılığı (GTS,%) değerleri test edilen 8 primer için hesaplanarak Çizelge 4.13'da verilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (%100), her bir ağır metal uygulama grubu konsantrasyondaki bir artış ile birlikte genomik kalıp DNA kararlılığı aynı oranda azalmıştır. GTS değerlerindeki en az azalma (%2,27) Cr75 uygulamasında, en fazla azalma (%13,18) Cd225 uygulamasında belirlenmiştir. RAPD profillerinden elde edilen GTS% bulgularına göre, Bülbül-89 arpa çeşidinin test edilen ağır metallere toleranslık sıralaması kadmiyum > krom > bakır şeklinde gerçekleşmiştir. Başgül arpa çeşidinin kadmiyum, bakır (sırasıyla, Çizelge 4.7 ve 4.8) ve kroma (Yıldız ve ark. 2010) olan kök toleranslık indeksi değerlerinin karşılaştırmasında yapılan ile sıralama GTS değerlerinin sıralaması aynı (kadmiyum > krom > bakır) gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.9** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Bülbül-89 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).



**Şekil 4.10** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu\text{M}$ ) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Bülbul-89 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendrogram. Parantez içindeki rakamlar her bir uygulama grubunun kontrole göre benzerlik mesafesini göstermektedir.

**Çizelge 4.13** Bülbül-89 arpa çeşidi kontrol RAPD profillerinde belirlenen DNA bant sayıları (primer adları yanında parantez içinde verilen rakamlar), ve kontrole göre farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) ağır metal (Cd, Cr veya Cu) uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen yeni oluşmuş (+) ve kaybolmuş (-) DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri (GTS, %). Tabloda, Bülbül-89L arpa çeşidine ait kök toleranslık indeksi GTS değerleri ile karşılaştırılması amacı verilmiştir.

Ağır Metal	µM	OPA01 (9)			OPA02 (10)			OPA09 (8)			OPA10 (8)			OPA12 (4)			OPA16 (9)			OPA17 (17)			OPA19 (10)			Ortalama GTS %	Ort	Kök Toleranslık İndeksi, %	Ort
		+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)				
Cd	75	0	0	100,0	3	0	72,7	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	75,0	1	0	93,3	0	0	100,0	0	0	100,0	92,63	90,52	68,6	64,37
	150	0	0	100,0	3	0	72,7	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	80,0	1	0	93,3	0	0	100,0	1	0	90,9	92,12			
	225	0	0	100,0	3	0	72,7	3	0	66,7	0	0	100,0	1	0	80,0	1	0	93,3	0	0	100,0	1	1	81,8	86,82			
Cr	75	0	0	100,0	1	0	90,9	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	90,9	97,73	94,18	88	65,77
	150	1	0	92,3	1	0	90,9	1	0	88,9	0	0	100,0	1	0	80,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	94,01			
	225	1	0	92,3	1	0	90,9	1	0	88,9	1	0	90,0	1	0	80,0	1	0	93,3	0	0	100,0	1	0	90,9	90,79			
Cu	75	0	0	100,0	1	0	90,9	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	80,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	96,36	95,24	90,2	72,20
	150	0	0	100,0	1	0	90,9	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	80,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	90,9	95,23			
	225	0	0	100,0	1	0	90,9	1	0	88,9	0	0	100,0	1	0	80,0	1	0	93,3	0	0	100,0	0	0	100,0	94,14			

Not: Krom kök toleranslık indeks değerleri Yıldız ve ark. (2010)'dan alınmıştır.

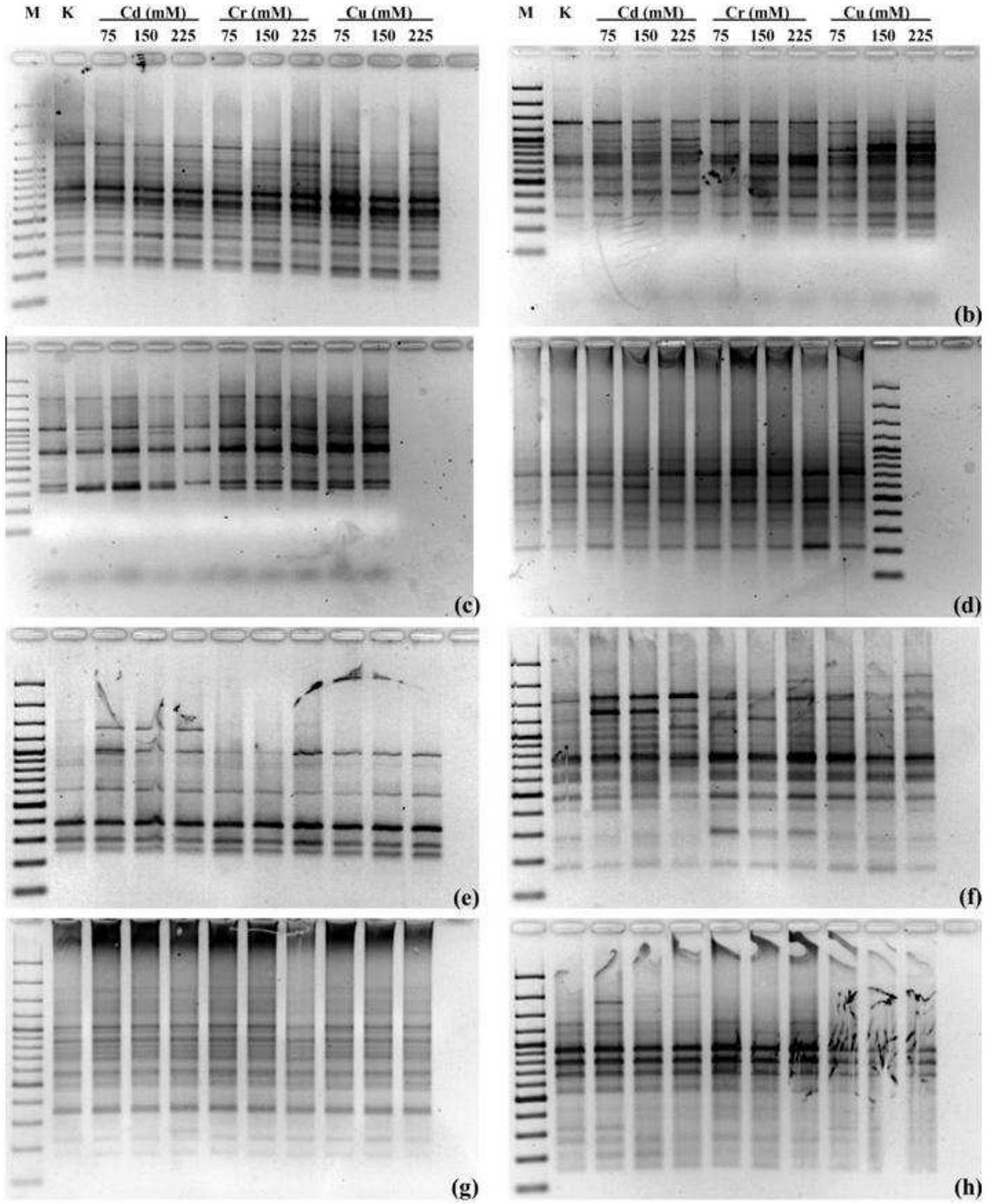
#### 4.3.2.6 Orza-96 RAPD profilleri

Orza arpa çeşidi için 8 farklı primerle elde edilmiş RAPD bulguları Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Kontrol grubu Orza-96 çeşidi için 8 farklı primer ile toplamda 81 DNA bandı elde edilmiştir (Ek Çizelge 6). Tüm uygulama gruplarında ise toplamda 97 farklı RAPD bandı belirlenmiştir. Bu bantlardan 70 adedi tüm örneklerde belirlenmiştir, yani bantların %73’ü monomorfik DNA bandıdır. Geriye kalan 27 DNA bandının varlığı, tüm örneklerde tespit edilemediğinden, Orza-96 arpa çeşidi için elde edilen polimorfizm değeri %27 olmuştur. 10 farklı genomik DNA ve 8 farklı primerler ile elde edilen toplam DNA bant sayısı ise 837 olarak hesaplanmıştır. Tüm uygulama gruplarından elde edilen bu bantların var olması “1” veya olmaması “0” temelinde bir matriks oluşturulmuştur. Orza-96 arpa çeşidi için oluşturulmuş olan “1” ve “0” matriksi moleküler ağırlıkları ile birlikte Ek Çizelge 6’de verilmiştir. Bu bantların moleküler ağırlıkları 163 bç (OPA02) ile 2243 bp (OPA16) aralığında değişmiştir. Sadece OPA01 primeri monomorfik bantlar üretmiştir. Kontrol grubu RAPD profillerine göre, ağır metal ile uygulama yapılmış fidelerin RAPD profillerinde yeni bantların varlığı veya bazı bantlarda kayıplar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bakır ve kadmiyum stresine maruz bırakılmış fidelerin RAPD profillerine bant kayıpları ve yeni bant oluşumları oldukça belirgindir. Örneğin, OPA02 ile üretilmiş olan 1143, 984 ve 900 bç bantları, OPA09 ile üretilmiş olan 933 bandı kontrol grubundan farklı olarak tüm bakır ve kadmiyum uygulamalarında belirlenmiştir. Bunlara ilaveten, kontrol grubundan farklı olarak 225 bakır uygulamasında OPA10 primeri ile birlikte 1512, 1253 ve 1111 bç bantları yeni bantlar olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, OPA17 primeri ile kontrol grubunda mevcut olan 1855, 1725, 1543, 1439, 1022 ve 814 bç bantları Cu225 uygulama grubu RAPD profillerinde belirlenememiştir (Şekil 4.11 ve Ek Çizelge 6).

Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225 µM) Cd, Cr ve Cu stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Orza-96 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram Şekil 4.12’de verilmiştir. Dendograma göre tüm krom uygulamaları bir küme oluşturmuştur. İkinci küme kontrol grubu ve Cu75 uygulama grubundan oluşmuştur. Üçüncü küme ise tüm kadmiyum uygulamalarından oluşmuştur. Son grupta ise Cu150 ve Cu225 uygulamaları

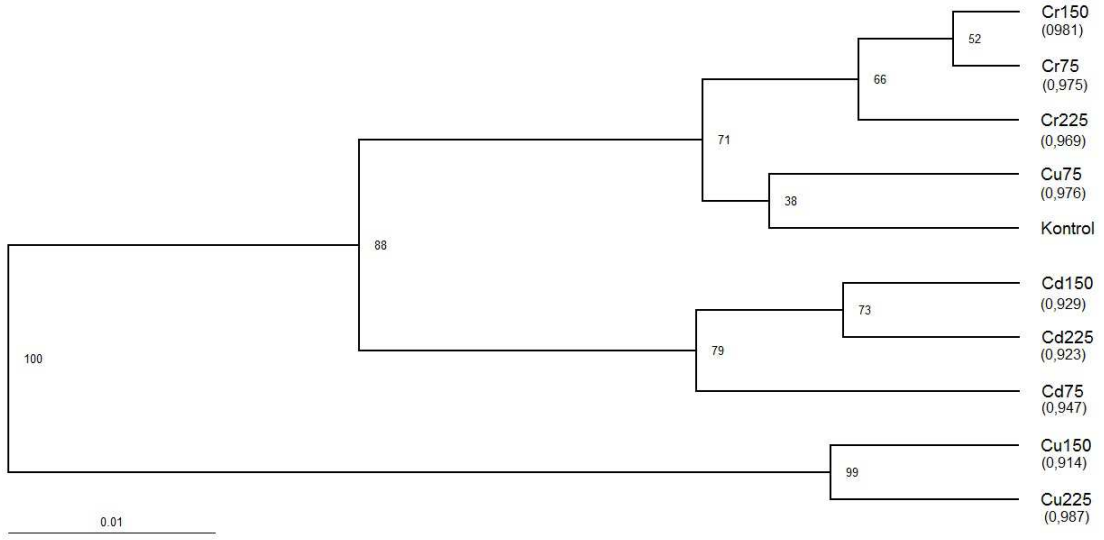
yer almıştır (Şekil 4.12). Tüm uygulama grupları arasındaki genetik benzerlik katsayıları FreeTree paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Kontrol grubuna en yakın genetik benzerlik katsayısı (0,975) Cr75 için ve en uzak (0,897) Cu225 için belirlenmiştir (Şekil 4.12).

Uygulama yapılmış ve yapılmamış Orza-97 arpa çeşidi RAPD profillerinde belirlenen değişikliklerin nitel bir ölçüsünü gösteren genomik kalıp DNA kararlılığı (GTS,%) değerleri test edilen 8 primer için hesaplanarak Çizelge 4.14'de verilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (%100), her bir ağır metal uygulama grubu konsantrasyondaki bir artış ile birlikte genomik kalıp DNA kararlılığı aynı oranda azalmıştır. GTS değerlerindeki en az azalma (%4,42) Cr75 uygulamasında, en fazla azalma (%22,,88) Cu225 uygulamasında belirlenmiştir. RAPD profillerinden elde edilen GTS% bulgularına göre, Orza-96 arpa çeşidinin test edilen ağır metallerle toleranslık sıralaması kadmiyum > bakır > krom şeklinde gerçekleşmiştir. Orza-97 arpa çeşidinin kadmiyum, bakır (sırasıyla, Çizelge 4.7 ve 4.8) ve kroma (Yıldız ve ark. 2010) olan kök toleranslık indeksi değerlerinin karşılaştırmasında, bu sıralamada bakır > krom > kadmiyum şeklinde gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.11** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu\text{M}$ ) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Orza-96 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).





**Şekil 4.12** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Orza-96 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendrogram. Parantez içindeki rakamlar her bir uygulama grubunun kontrole göre benzerlik mesafesini göstermektedir.

**Çizelge 4.14** Orza-96 arpa çeşidi kontrol RAPD profillerinde belirlenen DNA bant sayıları (primer adları yanında parantez içinde verilen rakamlar), ve kontrole göre farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) ağır metal (Cd, Cr veya Cu) uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen yeni oluşmuş (+) ve kaybolmuş (-) DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri (GTS, %). Tabloda, Orza-96 arpa çeşidine ait kök toleranslık indeksi GTS değerleri ile karşılaştırılması amacı verilmiştir.

Ağır Metal	µM	OPA01 (9)			OPA02 (10)			OPA09 (8)			OPA10 (8)			OPA12 (4)			OPA16 (9)			OPA17 (17)			OPA19 (10)			Ortalama GTS %	Ort	Kök Toleranslık İndeksi, %	Ort	
		+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)					
Cd	75	0	0	100,0	2	0	71,4	1	1	75,0	0	0	100,0	2	0	60,0	1	0	92,3	0	0	100,0	2	0	84,6	85,42	83,29	79,9	77,07	
	150	0	0	100,0	3	0	57,1	2	0	75,0	0	0	100,0	2	0	60,0	1	0	92,3	0	0	100,0	2	1	76,9	82,67				76
	225	0	0	100,0	3	0	57,1	2	0	75,0	0	0	100,0	2	0	60,0	1	0	92,3	0	1	92,9	2	1	76,9	81,78				75,3
Cr	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	87,5	0	0	100,0	1	0	80,0	0	1	92,3	0	0	100,0	0	1	92,3	94,01	94,21	89,9	72,33	
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	80,0	0	1	92,3	0	0	100,0	0	1	92,3	95,58				68,1
	225	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	87,5	0	0	100,0	1	0	80,0	1	1	84,6	0	0	100,0	0	1	92,3	93,05				59
Cu	75	0	0	100,0	2	0	71,4	1	0	87,5	0	0	100,0	1	0	80,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	92,37	83,99	74,2	71,23	
	150	0	0	100,0	4	0	42,9	1	0	87,5	0	0	100,0	1	0	80,0	1	0	92,3	0	6	57,1	0	0	100,0	82,48				70,5
	225	0	0	100,0	4	0	42,9	1	0	87,5	3	0	57,1	1	0	80,0	1	0	92,3	0	6	57,1	0	0	100,0	77,12				69

Not: Krom kök toleranslık indeks değerleri Yıldız ve ark. (2010)'dan alınmıştır.

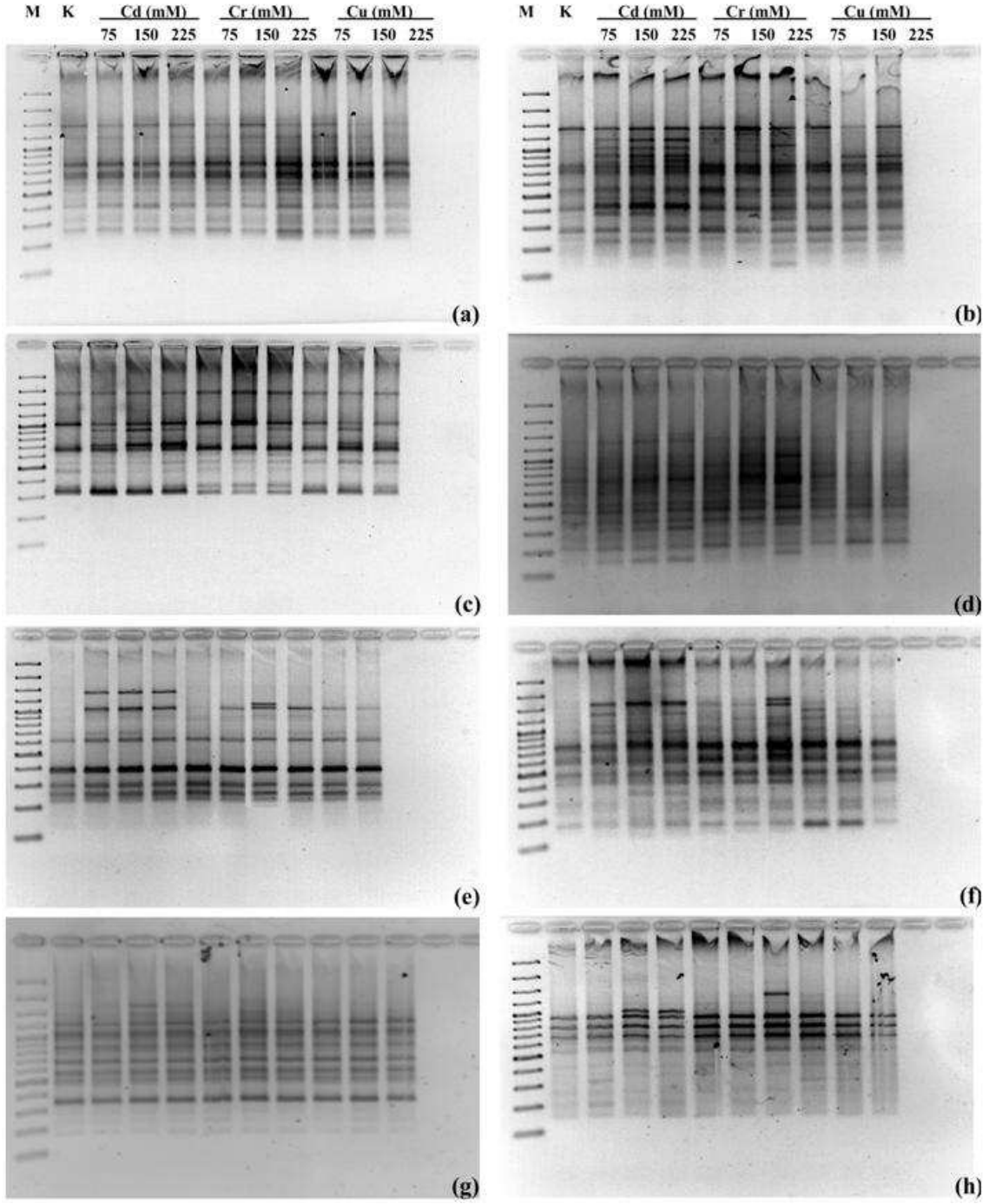
#### 4.3.2.7 Tarm-92 RAPD profilleri

Tarm-92 arpa çeşidi için 8 farklı primerle elde edilmiş RAPD bulguları Şekil 4.13'de gösterilmiştir. Kontrol grubu Tarm-92 çeşidi için 8 farklı primer ile toplamda 75 DNA bandı elde edilmiştir (Ek Çizelge 6). Tüm uygulama gruplarında ise toplamda 101 farklı RAPD bandı belirlenmiştir. Bu bantlardan 75 adedi tüm örneklerde belirlenmiştir, yani bantların %74'ü monomorfik DNA bandıdır. Geriye kalan 26 DNA bandının varlığı, tüm örneklerde tespit edilemediğinden, Tarm-92 arpa çeşidi için elde edilen polimorfizm değeri %26 olmuştur. 10 farklı genomik DNA ve 8 farklı primerler ile elde edilen toplam DNA bant sayısı ise 841 olarak hesaplanmıştır. Tüm uygulama gruplarından elde edilen bu bantların var olması "1" veya olmaması "0" temelinde bir matriks oluşturulmuştur. Tarm-92 arpa çeşidi için oluşturulmuş olan "1" ve "0" matriksi moleküler ağırlıkları ile birlikte Ek Çizelge 7'de verilmiştir. Bu bantların moleküler ağırlıkları 169 bç (OPA10) ile 2243 bp (OPA16) aralığında değişmiştir. Sadece OPA01 primeri monomorfik bantlar üretmiştir. Kontrol grubu RAPD profillerine göre, ağır metal ile uygulama yapılmış fidelerin RAPD profillerinde yeni bantların varlığı veya bazı bantlarda kayıplar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kadmiyum ve krom stresine maruz bırakılmış fidelerin RAPD profillerine yeni bant oluşumları oldukça belirgindir. Örneğin, OPA02 ile üretilmiş olan 1280, 1173, 1040, 845, 435 ve 379 bç bantları, OPA10 ile üretilmiş olan 1578 ve 169 bantları sadece kadmiyum stresi altındaki bitkilerde üretilmiştir. Bunlara ilaveten, kontrol grubundan farklı olarak 225 µM kadmiyum ve krom uygulamalarında OPA17 primeri ile birlikte 1817 bç ebatlı bant sadece krom ve kadmiyum uygulamalarında çoğalmıştır (Şekil 4.13 ve Ek Çizelge 7).

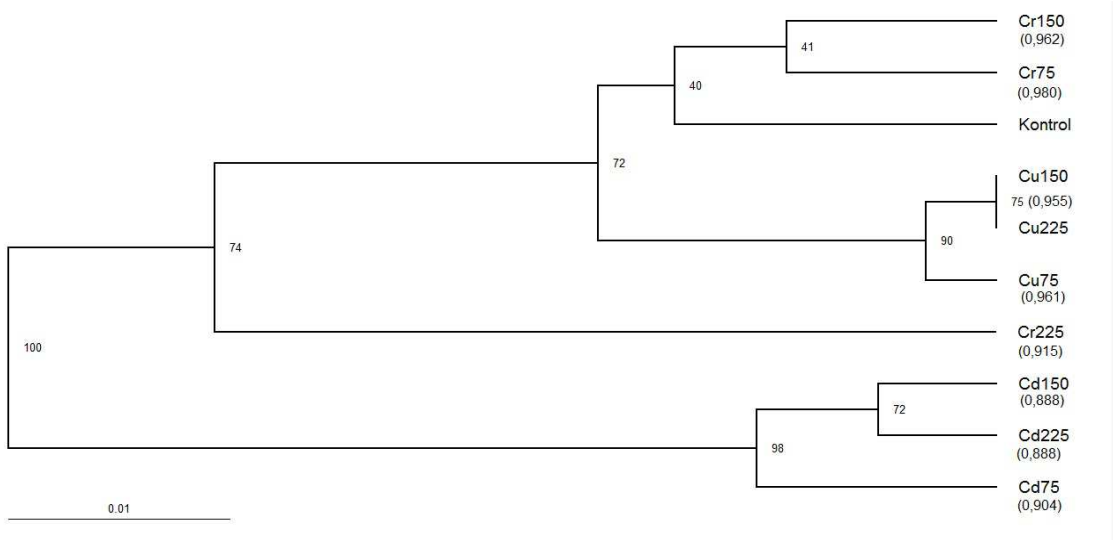
Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225 µM) Cd, Cr ve Cu stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Tarm-96 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram Şekil 4.14'da verilmiştir. Dendograma göre tüm Cr75 ve Cr150 kontrol grubu ile bir küme oluşturmuştur. İkinci kümede, tüm bakır uygulamaları yer almıştır. Üçüncü kümede ise Cr225 tek başına küme oluşturmuştur. Tüm kadmiyum uygulamaları bağımsız bir dördünü küme oluşturmuştur (Şekil 4.14). Tüm uygulama grupları arasındaki genetik benzerlik katsayıları FreeTree paket programı kullanılarak hesaplanmıştır. Kontrol

grubuna en yakın genetik benzerlik katsayısı (0,980) Cr75 için ve en uzak (0,888) Cu225 için belirlenmiştir (Şekil 4.14).

Uygulama yapılmış ve yapılmamış Tarm-92 arpa çeşidi RAPD profillerinde belirlenen değişikliklerin nitel bir ölçüsünü gösteren genomik kalıp DNA kararlılığı (GTS,%) değerleri test edilen 8 primer için hesaplanarak Çizelge 4.15’de verilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (%100), her bir ağır metal uygulama grubu konsantrasyondaki bir artış ile birlikte genomik kalıp DNA kararlılığı aynı oranda azalmıştır. GTS değerlerindeki en az azalma (%3,17) Cr75 uygulamasında, en fazla azalma (%30,03) Cd225 uygulamasında belirlenmiştir. RAPD profillerinden elde edilen GTS% bulgularına göre, Tarm-92 arpa çeşidinin test edilen ağır metallere toleranslık sıralaması kadmiyum > krom > bakır şeklinde gerçekleşmiştir. Tarm-92 arpa çeşidinin kadmiyum, bakır (sırasıyla, Çizelge 4.7 ve 4.8) ve kroma (Yıldız ve ark. 2010) olan kök toleranslık indeksi değerlerinin karşılaştırmasında, bu sıralama kadmiyum > bakır > krom şeklinde gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.13** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Tarn-92 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).



**Şekil 4.14** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Tarm-92 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram. Parantez içindeki rakamlar her bir uygulama grubunun kontrole göre benzerlik mesafesini göstermektedir.

**Çizelge 4.15** Tarm-92 arpa çeşidi kontrol RAPD profillerinde belirlenen DNA bant sayıları (primer adları yanında parantez içinde verilen rakamlar), ve kontrole göre farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) ağır metal (Cd, Cr veya Cu) uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen yeni oluşmuş (+) ve kaybolmuş (-) DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri (GTS, %). Tabloda, Tarm-92 arpa çeşidine ait kök toleranslık indeksi GTS değerleri ile karşılaştırılması amacı verilmiştir.

Ağır Metal	µM	OPA01 (9)			OPA02 (10)			OPA09 (8)			OPA10 (8)			OPA12 (4)			OPA16 (9)			OPA17 (17)			OPA19 (10)			Ortalama GTS %	Ort	Kök Toleranslık İndeksi, %	Ort
		+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)				
Cd	75	0	0	100,0	6	0	14,3	3	0	57,1	1	0	88,9	1	0	87,5	3	0	66,7	0	0	100,0	0	0	100,0	76,81	72,63	75,6	63,67
	150	0	0	100,0	6	0	14,3	4	0	42,9	2	0	77,8	1	0	87,5	4	0	55,6	0	0	100,0	1	0	90,9	71,11			
	225	0	0	100,0	6	0	14,3	4	0	42,9	2	0	77,8	1	0	87,5	4	0	55,6	1	0	90,9	1	0	90,9	69,97			
Cr	75	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	85,7	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	88,9	0	0	100,0	0	0	100,0	96,83	90,72	97,2	81,60
	150	0	0	100,0	1	0	85,7	1	0	85,7	0	0	100,0	0	0	100,0	2	0	77,8	1	0	90,9	0	0	100,0	92,51			
	225	0	0	100,0	3	0	57,1	2	0	71,4	2	0	77,8	1	0	87,5	2	0	77,8	0	0	100,0	1	0	90,9	82,82			
Cu	75	0	0	100,0	0	0	100,0	1	1	71,4	0	0	100,0	0	0	100,0	2	0	77,8	0	0	100,0	0	0	100,0	93,65	92,46	77,6	75,27
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	2	1	57,1	0	0	100,0	0	0	100,0	2	0	77,8	0	0	100,0	0	0	100,0	91,87			
	225	0	0	100,0	0	0	100,0	2	1	57,1	0	0	100,0	0	0	100,0	2	0	77,8	0	0	100,0	0	0	100,0	91,87			

Not: Krom kök toleranslık indeks değerleri Yıldız ve ark. (2010)'dan alınmıştır.

#### 4.3.2.8 Zeynelağa RAPD profilleri

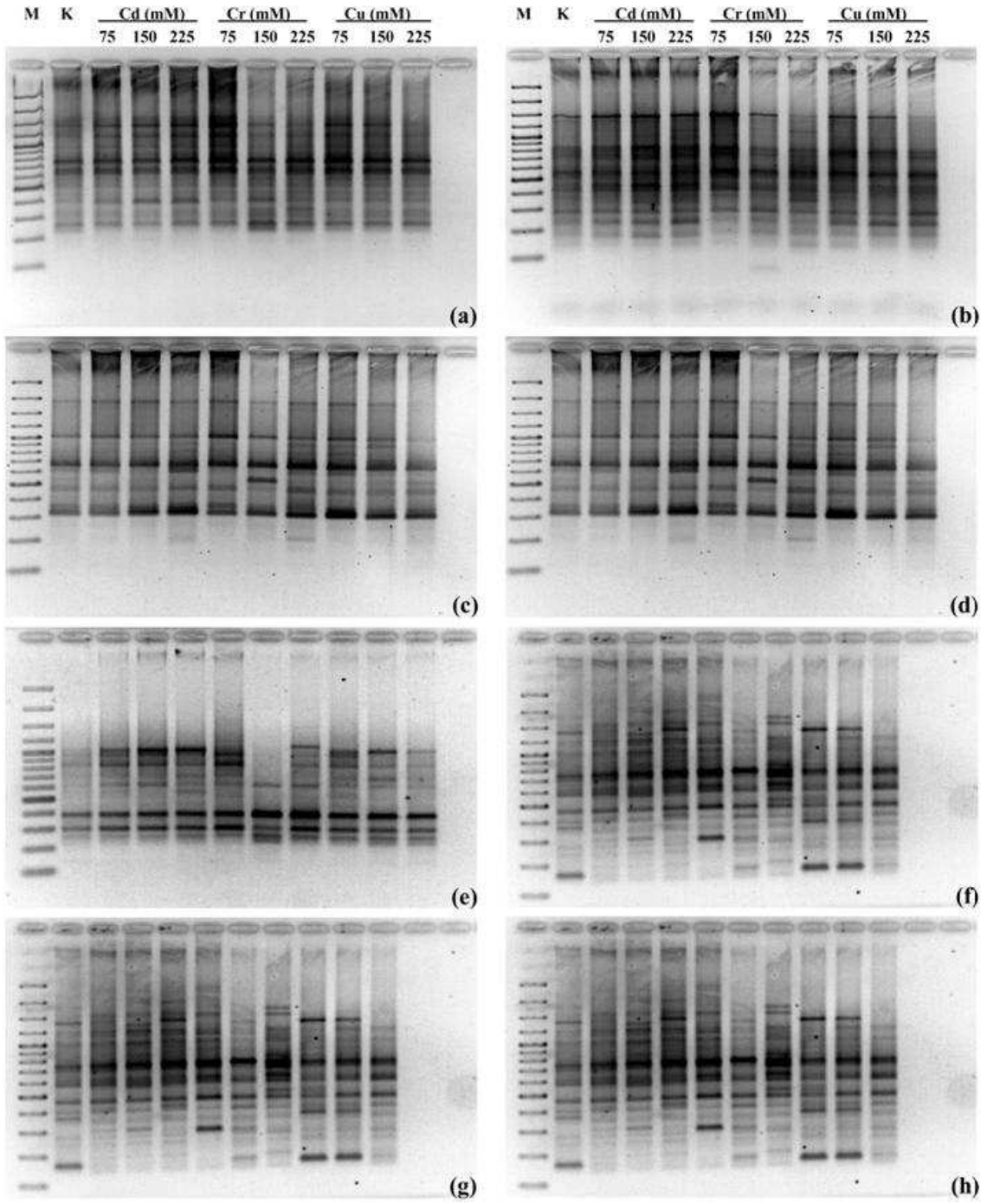
Zeynelağa arpa çeşidi için 8 farklı primerle elde edilmiş RAPD bulguları Şekil 4.15’de gösterilmiştir. Kontrol grubu Zeynelağa çeşidi için 8 farklı primer ile toplamda 98 DNA bandı elde edilmiştir (Ek Çizelge 8). Tüm uygulama gruplarında ise toplamda 104 farklı RAPD bandı belirlenmiştir. Bu bantlardan 80 adedi tüm örneklerde belirlenmiştir, yani bantların %77’si monomorfik DNA bandıdır. Geriye kalan 24 DNA bandının varlığı, tüm örneklerde tespit edilemediğinden, ağır metal uygulamaları altındaki Zeynelağa arpa çeşidi için elde edilen polimorfizm değeri %23 olmuştur. 10 farklı genomik DNA ve 8 farklı primerler ile elde edilen toplam DNA bant sayısı ise 944 olarak hesaplanmıştır. Tüm uygulama gruplarından elde edilen bu bantların var olması “1” veya olmaması “0” temelinde bir matriks oluşturulmuştur. Orza-96 arpa çeşidi için oluşturulmuş olan “1” ve “0” matriksi moleküler ağırlıkları ile birlikte Ek Çizelge 8’de verilmiştir. Bu bantların moleküler ağırlıkları 141 bç (OPA02) ile 1904 bp (OPA9) aralığında değişmiştir. Sadece OPA17 primeri monomorfik bantlar üretmiştir. Kontrol grubu RAPD profillerine göre, ağır metal ile uygulama yapılmış fidelerin RAPD profillerinde yeni bantların varlığı veya bazı bantlarda kayıplar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bakır ve kadmiyum stresine maruz bırakılmış fidelerin RAPD profillerine bant kayıpları oldukça belirgindir. Örneğin, OPA01 kontrol grubu RAPD profillerinde üretilmiş olan 250 bp bandı kadmiyum uygulamalarında belirlenmiştir. Bununla birlikte, kontrol grubu RAPD profillerinde; OPA02 ile üretilmiş 350 bç ebatlı bant, OP10 ile üretilmiş 540 bç ebatlı bant, OPA16 ile üretilmiş 1140 ve 246 bç ebatlı bantlar ve OP19 ile üretilmiş 1170 bç ebatlı bant tüm bakır uygulamalarına ait RAPD profillerinde çoğalmamıştır (Şekil 4.15 ve Ek Çizelge 8).

Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225 µM) Cd, Cr ve Cu stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Orza-96 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogram Şekil 4.16’de verilmiştir. Dendograma göre Cr75, Cr150, Cd75 ve Cd225 uygulamaları kontrol grubu ile bir küme oluşturmuştur. İkinci küme ise Cr225 ve Cd225 uygulama gruplarından oluşmuştur. Tüm bakır uygulamaları ise bağımsız bir küme oluşturmuştur (Şekil 4.16). Tüm uygulama grupları arasındaki genetik benzerlik katsayıları FreeTree paket

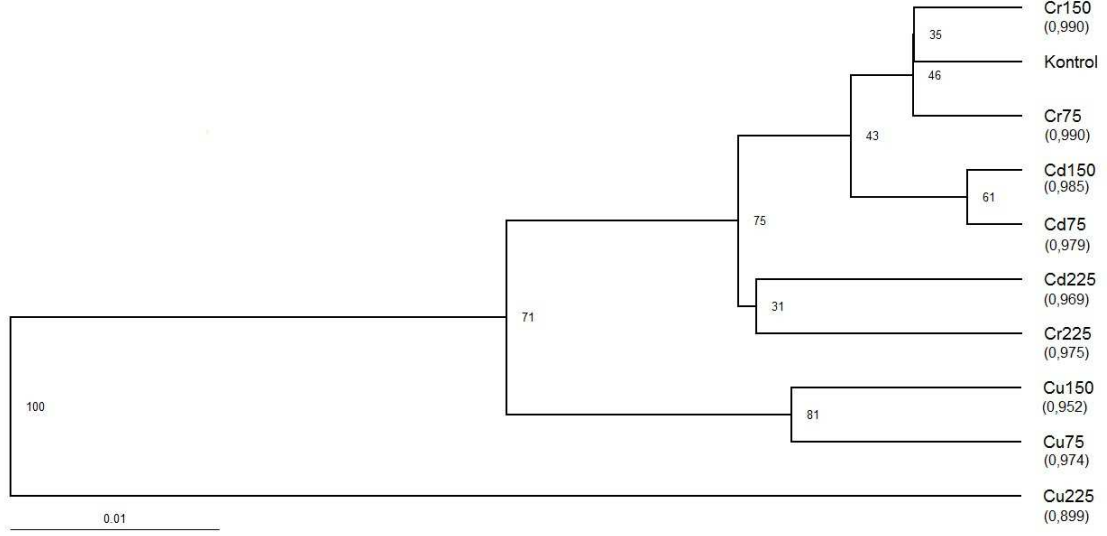


programı kullanılarak hesaplanmıştır. Kontrol grubuna en yakın genetik benzerlik katsayısı (0,990) Cr75 ve Cr150 ve en uzak (0,899) Cu225 için belirlenmiştir (Şekil 4.16).

Uygulama yapılmış ve yapılmamış Zeynelağa arpa çeşidi RAPD profillerinde belirlenen değişikliklerin nitel bir ölçüsünü gösteren genomik kalıp DNA kararlılığı (GTS,%) değerleri test edilen 8 primer için hesaplanarak Çizelge 4.16'de verilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (%100), her bir ağır metal uygulama grubu konsantrasyondaki bir artış ile birlikte genomik kalıp DNA kararlılığı aynı oranda azalmıştır. GTS değerlerindeki en az azalma (%2,29) Cd150 uygulamasında, en fazla azalma (%19,03) Cu225 uygulamasında belirlenmiştir. RAPD profillerinden elde edilen GTS% bulgularına göre, Zeynelağa arpa çeşidinin test edilen ağır metallere toleranslık sıralaması bakır > kadmiyum > krom şeklinde gerçekleşmiştir. Çizelge 4.7 ve 4.8'de Zeynelağa arpa çeşidi için verilen kök toleranslık indeksi değerlerindeki sıralamada ise bakır > krom > kadmiyum sıralaması gerçekleşmiştir (Çizelge 4.16). Zeynelağa arpa çeşidinin kadmiyum, bakır (sırasıyla, Çizelge 4.7 ve 4.8) ve kroma (Yıldız ve ark. 2010) olan kök toleranslık indeksi değerlerinin karşılaştırmasında, bu sıralama aynı şekilde gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.15** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu\text{M}$ ) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (K, kontrol) Zeynelağa arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi genomik DNA'larından OPA01 (a), OPA02 (b), OPA09 (c), OPA10 (d), OPA12 (e), OPA16 (f), OPA17 (g) ve OPA19 (h) primerleri elde edilmiş 8 adet RAPD profili. M: markör DNA (GeneRuler 100 bp, Thermo Scientific).



**Şekil 4.16** Farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 225  $\mu$ M) kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) stresine maruz bırakılmış veya bırakılmamış (kontrol) Zeynelağa-92 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için DNA polimorfizmi temelinde UPGMA kullanılarak oluşturulan dendrogram. Parantez içindeki rakamlar her bir uygulama grubunun kontrole göre benzerlik mesafesini göstermektedir.

**Çizelge 4.16** Zeynelağa arpa çeşidi kontrol RAPD profillerinde belirlenen DNA bant sayıları (primer adları yanında parantez içinde verilen rakamlar), ve kontrole göre farklı konsantrasyonlarda (75, 150 ve 225 µM) ağır metal (Cd, Cr veya Cu) uygulamalarına maruz bırakılmış gruplarda belirlenen yeni oluşmuş (+) ve kaybolmuş (-) DNA bantlarından hesaplanmış genomik kalıp kararlılık değerleri (GTS, %). Tabloda, Zeynelağa arpa çeşidine ait kök toleranslık indeksi GTS değerleri ile karşılaştırılması amacı verilmiştir.

Ağır Metal	µM	OPA01 (9)			OPA02 (10)			OPA09 (8)			OPA10 (8)			OPA12 (4)			OPA16 (9)			OPA17 (17)			OPA19 (10)			Ortalama GTS %	Ort	Kök Toleranslık İndeksi, %	Ort
		+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)	+	-	GTS (%)				
Cd	75	0	0	100,0	1	0	91,7	0	1	90,9	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	90,0	96,57	96,26	82,6 79 72,7	78,10
	150	0	0	100,0	1	0	91,7	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	90,0	97,71			
	225	0	0	100,0	2	0	83,3	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	88,9	0	1	93,8	0	0	100,0	0	1	90,0	94,50			
Cr	75	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	90,9	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	90,0	97,61	96,67	104,6 95,4 80,3	93,43
	150	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	1	0	90,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	1	90,0	97,50			
	225	0	0	100,0	1	0	91,7	0	0	100,0	1	0	90,0	0	0	100,0	1	1	87,5	0	0	100,0	0	1	90,0	94,90			
Cu	75	0	0	100,0	0	1	91,7	0	0	100,0	0	1	90,0	0	0	100,0	0	2	87,5	0	0	100,0	0	1	90,0	94,90	88,65	52,2 49,1 46,1	49,13
	150	0	0	100,0	0	2	83,3	0	1	90,9	0	1	90,0	0	1	88,9	0	2	87,5	0	0	100,0	0	2	80,0	90,08			
	225	0	0	100,0	0	2	83,3	0	3	72,7	0	3	70,0	0	3	66,7	0	4	75,0	0	0	100,0	0	2	80,0	80,97			

Not: Krom kök toleranslık indeks değerleri Yıldız ve ark. (2010)'dan alınmıştır.

#### 4.4 RAPD Yöntemi ile Arpa Çeşitlerinin Cd, Cu ve Cr' a Karşı Toleranslık Sınıflandırması

Arpa çeşitlerinin ağır metal (Cu, Cd, Cr) toleransı bakımından genotipik çeşitliliğini belirlemek için genomik kalıp kararlılığı (GTS) ve genetik yakınlığın (GY) tolerans indeksi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır :

GTS için tolerans indeksi (%) = [(Ağır metal uygulanmış yeni veya kaybolan bant sayısı) / (Kontrol grubu bant sayısı)] x 100

GY için tolerans indeksi (%) = Kontrole RAPD profillerine göre FreeTree programında elde edilmiş UPGMA temelli genetik yakınlık değeri x 100

Her bir ağır metal (Cu, Cr, Cd) konsantrasyonunda 8 arpa çeşidi için hesaplanan GTS ve GY tolerans indeks (%) değerleri, en düşükten (1 puan) en yükseğe (8 puan) doğru puanlandırılmıştır. Daha sonra, her bir arpa çeşidi için tüm konsantrasyonlardaki puanlar toplanmış ve toplam puanlar dikkate alınarak 8 arpa çeşidi ağır metal tolerans sınıflandırması moleküler markör temelinde yapılmıştır. Cd, Cr ve Cu için olan GTS ve GY tolerans indeksleri sırasıyla Çizelge 4.17, 18 ve 19'da özetlenmiştir. RAPD bulgularına göre, Angora ve Aydanhanım arpa çeşitleri Cd stresine toleranslı, Tarm-92 ve Orza-96 çeşitleri Cd stresine hassas oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.17). RAPD bulgularına göre, Aydanhanım ve Başgül arpa çeşitleri Cu stresine toleranslı, Orza-96 ve Angora çeşitleri Cu stresine hassas oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.18). Bunlara ilaveten, Zeynelağa ve Başgül arpa çeşitleri Cr stresine toleranslı, Tarm-92 ve Angora çeşitleri Cr stresine hassas oldukları RAPD bulguları temelinde belirlenmiştir (Çizelge 4.19).

**Çizelge 4.17** Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kontrol gruplarına göre genomik kalıp DNA kararlılık (GTS, %) ve genetik yakınlık (GY, %) değerlerindeki değişim temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları

<i>Arpa çeşitleri</i>	<i>GTS</i>			<i>GY</i>			<i>TOPLAM PUAN</i>
	<i>Tolerans İndeksi (%)</i>			<i>Tolerans İndeksi (%)</i>			
	<i>75 µM</i>	<i>150 µM</i>	<i>225 µM</i>	<i>75 µM</i>	<i>150 µM</i>	<i>225 µM</i>	
Angora	100,0 (8)	100,0 (8)	97,5 (8)	100,0 (8)	100,0 (7)	98,5 (7) *	46**
Avcı-2002	95,9 (5)	94,8 (5)	92,4 (6)	97,6 (5)	97,1 (5)	96,0 (5)	31
Aydanhanım	98,2 (7)	98,2 (7)	95,9 (7)	100,0 (7)	100,0 (8)	98,9 (8)	44
Başgül	94,8 (4)	90,7 (3)	88,6 (4)	95,1 (3)	95,8 (3)	94,6 (4)	21
Bülbül-89	92,6(3)	91,5 (4)	86,2 (3)	97,2 (4)	96,7 (4)	93,3 (4)	21
Orza-96	68,3 (1)	66,1 (2)	65,4 (2)	94,7 (2)	92,9 (2)	92,3 (2)	11
Tarm-92	69,8 (2)	65,3 (1)	61,1 (1)	90,4 (1)	88,8 (1)	88,7 (1)	7**
Zeynelağa	96,6 (6)	96,7 (6)	92,1 (5)	97,9 (6)	98,5 (6)	96,9 (6)	35

\* Parantez içindeki sayılar tolerans indeksi (%) değerlerine göre verilen puanlardır.

\*\* En yüksek puan en az zararı. en düşük puan ise en fazla zararı ifade etmektedir.

**Çizelge 4.18** Farklı Cu konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kontrol gruplarına göre genomik kalıp DNA kararlılık (GTS, %) ve genetik yakınlık (GY, %) değerlerindeki değişim temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları

<i>Arpa çeşitleri</i>	<i>GTS</i>			<i>GY</i>			<i>TOPLAM PUAN</i>
	<i>Tolerans İndeksi (%)</i>			<i>Tolerans İndeksi (%)</i>			
	<i>75 µM</i>	<i>150 µM</i>	<i>225 µM</i>	<i>75 µM</i>	<i>150 µM</i>	<i>225 µM</i>	
Angora	95,2 (3)	84,1 (2)	83,3 (3)	96,9 (2)	92,0 (2)	91,2 (3)*	15
Avcı-2002	97,9 (8)	95,7 (6)	94,0 (8)	98,8 (6)	97,6 (5)	96,5 (5)	38
Aydanhanım	97,2 (7)	97,2 (8)	92,0 (5)	99,4 (8)	99,4 (8)	97,2 (6)	42**
Başgül	97,0 (6)	97,0 (7)	93,8 (6)	98,8 (7)	98,8 (7)	98,1 (8)	41
Bülbül-89	95,7 (4)	94,6 (5)	93,5 (7)	98,9 (5)	98,3 (6)	97,8 (7)	34
Orza-96	73,9 (1)	66,0 (1)	61,7 (1)	97,6 (4)	91,4 (1)	89,7 (1)	9**
Tarm-92	87,2 (2)	85,4 (3)	85,4 (4)	96,1 (1)	95,5 (4)	95,5 (4)	18
Zeynelağa	96,2 (5)	90,1 (4)	81,0 (2)	97,4 (3)	95,2 (3)	89,9 (2)	19

\* Parantez içindeki sayılar tolerans indeksi (%) değerlerine göre verilen puanlardır.

\*\* En yüksek puan en az zararı. en düşük puan ise en fazla zararı ifade etmektedir.

**Çizelge 4.19** Farklı Cr konsantrasyonlarına maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin kontrol gruplarına göre genomik kalıp DNA kararlılık (GTS, %) ve genetik yakınlık (GY, %) değerlerindeki değişim temelinde belirlenen tolerans indeksi (%) değerleri ve puanları

<i>Arpa çeşitleri</i>	<i>GTS</i>			<i>GY</i>			<i>TOPLAM PUAN</i>
	<i>Tolerans İndeksi (%)</i>			<i>Tolerans İndeksi (%)</i>			
	<i>75 µM</i>	<i>150 µM</i>	<i>225 µM</i>	<i>75 µM</i>	<i>150 µM</i>	<i>225 µM</i>	
Angora	95,9 (6)	83,6 (3)	79,3 (3)	97,8 (5)	92,1 (2)	90,1 (2)*	21
Avcı-2002	93,3 (3)	92,4 (4)	91,2 (7)	95,9 (2)	95,3 (3)	95,2 (5)	24
Aydanhanım	93,8 (4)	93,8 (6)	84,1 (4)	98,3 (7)	98,3 (8)	94,2 (3)	32
Başgül	95,6 (5)	95,6 (7)	91,0 (6)	98,1 (6)	98,1 (6)	94,7 (4)	34
Bülbül-89	97,7 (8)	93,4 (5)	90,2 (5)	97,1 (3)	97,2 (4)	96,1 (6)	31
Orza-96	75,2 (2)	76,5 (2)	74,4 (2)	97,5 (4)	98,2 (7)	96,9 (7)	24
Tarm-92	69,8 (1)	65,3 (1)	64,1 (1)	90,4 (1)	88,8 (1)	88,8 (1)	6**
Zeynelağa	97,6 (7)	97,5 (8)	94,9 (8)	99,0 (8)	97,5 (5)	99 (8)	44**

\* Parantez içindeki sayılar tolerans indeksi (%) değerlerine göre verilen puanlardır.

\*\* En yüksek puan en az zararı. en düşük puan ise en fazla zararı ifade etmektedir.



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaklaşık 10000 yıl önce kütlere edildiği düşünülen arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkisinin günümüzün İsrail-Ürdün bölgesinden tüm dünyaya yayıldığı ileri sürülmüştür (Badr *et al.* 2000). Son yıllarda gerçekleştirilen birçok bitki fizyolojisi ve moleküler biyolojisi çalışmasında, tarımsal öneme sahip arpa “bitki sistemi” olarak kullanılmıştır (Chahdi *et al.* 1998; Reuber *et al.* 1996; Liang *et al.* 2003). Tuz, sıcaklık ve ağır metal stresi gibi biyolojik olmayan olumsuz etmenlerin bitkiler üzerindeki fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler etkilerini araştıran çoğu çalışmada *Allium cepa* (Fiskeşjö 1985), *Arabidopsis thaliana* (Filkowski *et al.* 2003), *Triticum aestivum* (Wang and Zhou 1994), *Phaseolus vulgare* (Cenkci vd. 2010, 2011) ve *Hordeum vulgare* (Liu *et al.* 2005) gibi bitkiler, deneysel bitki sistemi olarak kullanılmaktadır.

Kadmiyum (Cd), bitki büyüme ve gelişimi için gerekli bir element değildir. Kadmiyumun aşırı endüstriyel kullanımı bu ağır metali çok zararlı çevresel kirleticilerden birisi yapmaktadır (Satarug *et al.* 2003). Hareketsiz olan bitkiler; toprak, su ve hava aracılığı ile kendilerine ulaşan Cd ve benzeri ağır metallere kaçamazlar. Bitkiler fazla miktarlarda kadmiyuma maruz kaldıklarında büyümeleri durur, fotosentez mekanizmaları bozulur, oksidatif stres teşvik edilir, tüm moleküler mekanizmalar işleyişinde dengesizlikler ortaya çıkar, DNA hasarları ortaya çıkar ve hatta bitki ölümü gerçekleşir (Benavides *et al.* 2005). Benzer şekilde; yüksek bakır (Cu) kirleticisine maruz kalmış bitkilerde konsantrasyona bağlı olarak toksik (Das *et al.* 1997; Vinit-Dunand *et al.* 2001) ve genotoksik (Guecheva *et al.* 2001) sonuçların çıkabileceği ortaya konmuştur. Bununla birlikte; bakır, kadmiyumdaki farklı olarak, bitki beslenmesi için essansiyeldir ve eser miktarda bitki tarafından alınmalıdır (Yruela 2005).

Mevcut araştırmamızın ilk aşamasında, Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü’nden temin edilen sekiz arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi (Angora, Avcı-2002, Aydanhanım, Başgül, Bülbül-89, Orza-96, Tarm-92, Zeynelağa) kadmiyum ve bakır toksitesine toleranslı ve hassas arpa çeşitlerinin fizyolojik yöntemlerle belirlenmesinde kullanılmıştır. Bölümümüzde yapılan bir araştırmada (Yıldız vd. 2010), krom stresine toleranslı ve hassas arpa çeşitlerinin belirlenmesinde aynı arpa çeşitleri

kullanılmıştır. Bu nedenle, krom stresine karşın arpa çeşitlerinin gövde/kök uzunlukları, gövde/gök taze ve kuru ağırlıkları gibi bulgular mevcut çalışmada tekrarlanmamıştır.

Mevcut çalışmamızda, arpa çeşitlerine ait üç-günlük ışık görmemiş fideler 75, 150 ve 225 µM kadmiyum veya bakır konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz bırakılmıştır. Uygulama sonrası, arpa fidelerinin gövde ve kök uzunlukları ile taze ve kuru ağırlıkları ağır metal konsantrasyonunun artmasıyla birlikte genellikle önemli düzeyde ( $P<0.05$ ) azalmıştır. Cd ve Cu stresleri, gövde uzunluğuna göre kök uzunluğunu genellikle daha fazla olumsuz etkilemiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2). Cd ve Cu gibi ağır metal streslerine bağlı olarak bitki büyümesindeki engelleme ve kök dokusunun daha fazla hassasiyeti *Hordeum vulgare*, *Solanum lycopersicum*, *Zea Mays*, *Prunus cerasifera* ve *Brassica juncea* gibi bitki türlerinde belirlenmiştir (Rooney *et al.* 2006; Mocquot *et al.* 1996; Shanker and Pathmanabhan 2004, Shanker *et al.* 2004, Arduini *et al.* 2006, Gopal *et al.* 2009; Lombardi 2005; Singh 2003). Kadmiyum, krom ve bakır gibi ağır metal etkisi altında kalan bitkilerde kök ve gövde büyümesindeki yavaşlama belirgin bir ağır metal stres cevabıdır. Besin ortamında bulunan ağır metal ile köklerin doğrudan temas halinde olması, kök büyümesindeki azalmanın gövde büyümesine göre daha fazla olmasına neden olduğu belirtilmiştir (Das and Samantaray 1997). Ağır metal ile doğrudan temas, köke girmiş ağır metali toprak üstü aksama aktarmaması gibi nedenler köklerin gövdelere göre daha fazla etkilenmesine neden olmaktadır (Benavides *et al.* 2005; Lombardi 2005).

Kadmiyum ve bakırın; gövde ve kök taze ve kuru ağırlıkları üzerine olan olumsuz etkisi ayçiçeği (Cagno *et al.* 1999), nohut (Bavı 2011), hardal (Mohamed *et al.* 2012), mısır (Liu *et al.* 2001) ve buğday (Munzuroğlu ve Geçkil 2002) gibi bitkiler üzerine yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Bulgularımıza göre, Cd ve Cu stresi altındaki arpa çeşitlerinin gövde ve kök taze ve kuru ağırlıkları uygulama konsantrasyonunun artmasıyla genellikle önemli düzeyde azalmıştır.

Toksik ağır metal varlığında canlılığın ve büyümenin sürdürülmesi, birçok savunma mekanizmasını içine alan “ağır metal toleransı” tanımını ortaya çıkarmaktadır (Clemens 2006). Bitki türlerinin veya ıslah yöntemleri ile geliştirilmiş ekonomik öneme sahip bitki çeşitlerinin stres faktörlerine olan toleransları bakımından seçilmesinde, genellikle fizyolojik parametreler kullanılmıştır. Kök ve gövde büyümesi ağır metal toleransının sınıflandırılmasında önemli bir parametre olarak değerlendirilmiştir (Rout 1997; Samantaray 2002; Diwan *et al.* 2010). Diğer taraftan, strese maruz kalan bir türe ait çeşitlerin daha uzun gövde ve köklere sahip olmalarına karşın yeteri kadar kuru ağırlık üretmedikleri; bazı çeşitlerin ise nispeten daha kısa kök ve gövdeye sahip olmalarına rağmen daha iyi kuru ağırlık bağladıkları ve bu nedenle toleranslı ve hassas çeşitlerin seleksiyonunda kuru ağırlığın kullanılmasının daha uygun bir kriter olacağını ileri sürülmüştür (Bağcı vd. 2003). Bununla birlikte, fizyolojik parametreler temelinde abiyotik faktörlere hassas ve toleranslı bitki seçiminde tam bir kabul edilmiş yöntem yoktur. Cd, Cr ve Cu streslerine karşın 8 arpa çeşidinin 0, 75, 150 ve 225 µM ağır konsantrasyonunda 3 tekrarlı toleranslık sınıflandırma çalışmalarında; 8 (arpa çeşidi) x 4 (konsantrasyon) x 3 (ağır metal çeşidi) x 3 (deney tekrarı) x 12 (n) = 3456 fide kullanılmıştır. Bu fidelerin kök ve gövde uzunlukları cetvel kullanarak teker teker ölçülmüştür. 12 adet fidenin kök ve gövdeleri ayrıldıktan sonra taze ağırlıkları ve kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Fizyolojik temelli deneysel sistem çok fazla örnek sayısı, iş gücü ve zaman gerektirmektedir. Ayrıca, bitkilerin toleranslık sisteminde cetvel ile ölçme ve terazide tartma gibi kaba ölçme yöntemleri kullanılmaktadır.

Bu nedenle, araştırmamızda Cd stresine maruz bırakılan 8 arpa çeşidinin gövde ve kök kuru ağırlıklarındaki inhibisyonlar temel alınarak fizyolojik temelli tolerans indeksi (%) değerleri hesaplanmış ve bu arpa çeşitleri hem Cd hem de Cu ağır metal stresine toleransları bakımından sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma temelinde, çalışılan mevcut arpa çeşitleri arasında Cd stresine toleranslılık sırasıyla Aydanhanım > Angora > Zeynelağa > Avcı-2002 > Başgül > Orza-96 > Tarm-92 > Bülbül-89 olarak belirlenmiştir. Bulgularımıza göre Cd stresine en toleranslı Aydanhanım, en hassas Bülbül-89 arpa çeşidi olmuştur. Buna ilaveten, çalışılan mevcut arpa çeşitleri arasında Cu stresine toleranslılık; sırasıyla Avcı-2002 > Başgül > Aydanhanım > Tarm-92 > Angora > Bülbül-89 > Orza-96 > Zeynelağa olarak belirlenmiştir. Bulgularımıza göre

Cu stresine en toleranslı Avcı-2002 ve en hassas Zeynelağa arpa çeşidi olmuştur. Aynı arpa çeşitlerinin kullanıldığı Cr(VI) toleranslık sınıflandırmasında ise Zeynelağa en toleranslı ve Orza-96 en hassas arpa çeşitleri olarak belirlenmiştir.

Krom stresinin; *Vicia faba*'da kromozomal ve mitotik bozukluklara (Chandra *et al.* 2004), *A. thaliana*'da DNA mutasyonuna (Labra *et al.* 2003), *P. sativum*'da klastocenetiye ve DNA hasarına (Rodriguez 2011b), *Solanum tuberosum*'da tek iplik DNA kırıklarına neden olduğu gösterilmiştir. Bakır uygulamasının ise *Lycopersicon esculentum* ve *Cucumis sativus*'da mikronükleus frekansı ve tek iplik DNA kırıklarına (İşeri *et al.* 2011), *Lemna Minor*'da (Cvjetko *et al.* 2010) ve *Zea mays*'de (Xue-mei *et al.* 2006) DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir.

Tuzluluk, sıcaklık, ağır metal gibi abiyotik stres faktörlerinin nihayetinde etki ettiği en son ve hayati noktalardan birisi de, bitkinin genomudur, yani genomik kalıp DNA bütünlüğündeki bozunmadır (Cenkci vd. 2009, 2010). Moleküler markör yöntemleri kullanılarak bu ağır metallerin bitkilerde DNA hasarına ve muatasyona neden olduğu ispatlanmıştır (Labra *et al.* 2003; Liu *et al.* 2005; Enan 2006; Cenkci vd. 2009, 2010). Bu nedenle biz bu araştırmamızda; Cd, Cr ve Cu ağır metalleri stresi altındaki toleranslı ve hassas arpa çeşitlerinin belirlenmesinde büyüme parametreleri ile birlikte rastgele çoğalmış polimorfik DNA tekniğinin kullanılıp kullanılmayacağını hipotezini test etmeyi hedefledik. Nihai amacımızda; moleküler markör tekniklerinin abiyotik strese karşın toleranslı ve hassas bitki çeşitlerin kullanılabileceğini göstermektir. Ayrıca, moleküler markör yönteminde daha az bitki örneğine ihtiyaç duyulması tekniğin fizyolojik yöntemlere göre daha pratik, hızlı ve az iş gücü gerektirmesi avantajlarına sahip olması anlamına gelecektir.

Eko-genotoksikolojide, biyolojik organizasyona zarar verebilecek bir toksik kimyasalın etkilerini tam olarak anlayabilmek için biyolojik organizasyonun farklı seviyelerinde (moleküler ve popülasyon seviyesi) veri toplama genotoksisiteyi belirlemede önemlidir. (Xue-mei *et al.* 2006). Ekotoksikolojide DNA parmakizi kullanışlı bir biyomarkördür (Savva 1998). Uygun şekilde optimize edildikten sonra gerçekçi, hassas ve üretken bir assay olarak rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) yöntemi geniş aralıkta DNA

hasarı (DNA adductları, DNA kırıkları) ve aynı zamanda mutasyonları (nokta mutasyonları, kromozomal düzenlemeler) belirleyebilir ve bu nedenle genotoksisite ve karsinogenez çalışmalarında kullanılabilir (Atienzar and Jha 2006). Çalışmamızda, negatif kontrol RAPD profillerine göre Cd, Cr ve Cu ağır metalleri ile uyarılmış olan DNA tahribatı (DNA hasarı ve/veya mutasyonlar) RAPD profillerinde normal DNA bantlarının kaybolması ve/veya yeni DNA bantlarının ortaya çıkması şeklinde belirlenmiştir. Her üç ağır metal konsantrasyon artışına bağlı olarak kaybolan ve yeni ortaya çıkan bantların sayılarında göreceli bir artış gözlemlenmiştir. Toksik miktarlarda kadmiyum, krom ve bakırın homolog rekombinasyona, A→G mutasyonuna, tek iplik DNA kırıklarına ve gen mutasyonuna neden olduğu önceki raporlarda bildirilmiştir (Kuo *et al.* 2003; Labra *et al.* 2003; Gichner *et al.* 2004; Liu *et al.* 2005; Panda and Choudhury 2005; Gichner *et al.* 2006; Cenkci vd. 2009, 2010).

Bantların kaybolması genomik DNA'da ağır metal teşvikli DNA hasarları (örneğin, tek iplik kırıkları, çift iplik kırıkları, modifiye bazlar, bazsız yerler, okside bazlar, DNA köprüleri, DNA-protein çapraz bağları), veya nokta ve/veya büyük kromozomal düzenlemeleri içine alan mutasyonlardan kaynaklanabilir (Atienzar *et al.* 1999). PCR reaksiyonu sırasında, genomik DNA'nın hasarlı bölgelerine primer bağlanması gerçekleşmemiş veya hasarlı kalıp DNA bölgesi ile karşılaşmış *Taq* DNA polimeraz enzimi reaksiyonu terk etmesiyle bant kaybı gerçekleşmiş olabilir (Atienzar and Jha 2006). Yeni PCR bantlarının ortaya çıkması genellikle nokta mutasyonuyla yeni primer bağlanma yerlerinin oluşması veya iki primer bağlanma yerini yakınlaştıran ya da uzaklaştıran homolog rekombinasyonlar ve/veya delesyon/insersiyonların varlığını gösterir (Atienzar *et al.* 1999; Atienzar and Jha 2006).

Genotoksisite yargıları uygulama yapılmış ve yapılmamış grupların nitel ve nicel değerlendirilmesi ile ortaya çıkarılabilir. Diyagnostik analiz (çoğalmış PCR bant yoğunluklarının azalması veya artması, kaybolan ve yeni ortaya çıkan PCR bantların değerlendirmesi) ve numerik analiz (popülasyonun genel yapısı hakkında analiz yapma, örneğin genetik benzerlik analizi) RAPD gibi moleküler sistematik çalışmalarında iki önemli parametredir. Mevcut çalışmamızda, genotoksisitenin RAPD ile teşhis edilmesinin yanı sıra nümerik analiz uygulayarak uygulama gruplarının negatif

kontrolden genetik olarak ne kadar uzaklaştığının analizi de yapılmıştır. RAPD gibi moleküler markörlerin nümerik analiz yöntemi kullanılarak genomik DNA'lar için oluşturulan dendogram (genetik ilişkinin ağaçlandırılarak gösterilmesi), moleküler bitki sistematiğinde (türler arası, tür içi veya popülasyonlar içi ve arası) etkin bir metodolojidir (Zhiyi and Haowen 2004). Bu kapsamda, RAPD bantları bir genotip olarak değerlendirilmediğinden nümerik yöntem (nümerik analiz) genetik yöntemden (diagnostik analiz) ayrılır.

RAPD analizi henüz mutasyonlara dönüşmemiş geçici DNA hasarlarını bile belirleyebilen oldukça hassas bir tekniktir (Savva 1998). RAPD veya AFLP (çoğalmış fragment uzunluk polimorizm) gibi moleküler markör teknikler mikronükleus veya comet assay gibi klasik genotoksisite testleri kadar hassas tekniklerdir (Labra *et al.* 2003). Ayrıca RAPD ve AFLP'de kaybolan veya yeni DNA bantlarının ileri aşamalarda sekanslanması ile lezyonlar hakkında daha detaylı moleküler bilgilerin elde edilmesi mümkündür. Genotoksinlerin genotoksik etkilerini birden fazla genotoksisite testi ile aynı anda çalışmak genotoksinlerin etkisini tam olarak belirlemede oldukça önemlidir (Depledge 1994). RAPD veya AFLP profillerinde genotoksinlerin etkisi ile meydana gelen değişiklikler genomik kalıp kararlılığındaki değişimleri yansıtır. Büyüme, total çözünür protein içeriği, klorofil pigment içeriği, bazı önemli metabolik enzim aktivitesi gibi biyolojik parametrelerde genotoksinlerce uyarılmış değişimler genomik kalıp kararlılığı ile karşılaştırılabilir (Atienzar *et al.* 1999; Liu *et al.* 2005, 2007; Xue-mei *et al.* 2006; Cenkci vd. 2010). Genomik kalıp kararlılığı, DNA hasar seviyesi, replikasyon ve onarım etkinliği ile ilgilidir. DNA'da meydana gelmiş her hasarın mutasyona dönüşmesi beklenemez. Çünkü organizmanın onarım mekanizması çoğu DNA lezyonlarını onarır. Bu nedenle, hasar seviyesi genomik kalıp bütünlüğünü tam olarak yansıtmaz (Atienzar and Jha 2006).

Mevcut çalışmada, her bir arpa çeşidinin kontrol grubu RAPD profiline göre; üç farklı konsantrasyonda (75, 150 ve 225  $\mu\text{M}$ ) kadmiyum, krom ve bakır uygulama gruplarına ait RAPD profilleri karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar kontrol grubuna göre genomik kalıp kararlılığında azalma ve genetik benzerlik katsayılarında azalma temelli yapılmıştır. RAPD çalışmalarında, 8 farklı arpa çeşidinin 10 farklı uygulama grubundan

toplamda 6866 adet PCR bandı değerlendirilmiştir.

RAPD bulgularımıza göre, sırasıyla Angora ve Aydanhanım arpa çeşitlerinin Cd stresine; Aydanhanım ve Başgül çeşitlerinin Cu stresine ve Zeynelağa ve Başgül çeşitlerinin Cr stresine en toleranslı arpa çeşitleri olarak belirlenmiştir. Fizyolojik temelli bulgulara göre ise; sırasıyla Aydanhanım ve Angora arpa çeşitlerinin Cd stresine; Avcı-2002 ve Başgül çeşitlerinin Cu stresine ve Zeynelağa ve Angora çeşitlerinin Cr stresine (Yıldız vd. 2010) en toleranslı arpa çeşitleri olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde, sırasıyla Tarm-92 ve Orza-96 arpa çeşitlerinin Cd stresine; Orza-96 ve Angora çeşitlerinin Cu stresine ve Tarm-92 ve Angora çeşitlerinin Cr stresine en hassas arpa çeşitleri olduğu RAPD bulguları ile belirlenmiştir. Fizyolojik temelli bulgulara göre ise; sırasıyla Bülbül-89 ve Tarm-92 arpa çeşitlerinin Cd stresine; Zeynelağa ve Bülbül-89 çeşitlerinin Cu stresine ve Orza-86 ve Bülbül-89 çeşitlerinin Cr stresine (Yıldız vd. 2010) en hassas arpa çeşitleri olarak belirlenmiştir. Moleküler ve fizyolojik parametreler ışığı altında Aydanhanım, Zeynelağa ve Başgül arpa çeşitleri genel olarak ağır metal stresine toleranslı; Orza-96, Tarm-92 ve Bülbül-89 arpa çeşitleri ise ağır metal stresine genel olarak hassas oldukları söylenebilir.

Sonuç olarak; ağır metal stresine karşı arpa çeşitlerinin sınıflandırılmasında RAPD markör tekniğinin kullanılabileceği bu çalışma bulguları ile ispatlanmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- Aktaş, Y.L., Güven, A. (2005). "Bitki savunma sistemlerinde hormonal sinyal moleküler ve çapraz iletişimleri", *Journal of Arts and Sciences*, **3(3)**: 1-12.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002). *Molecular Biology of The Cell*, Garland Science, USA, 4th ed., 0-8153-4072-9.
- Antonsie-wiez, D. (1990). "Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of ledakrin", *Folia Histochemica Et Cytobiologica*, **26**: 79-96.
- Arduini, I., Masoni, A. and Ercoli, L. (2006). "Effects of high chromium applications on miscanthus during the period of maximum growth", *Environmental and Experimental Botany*, **58**: 234–243.
- Atienzar, F.A., Conradi, M., Evenden, A.J., Jha, A.N. and Depledge, M.H. (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*, **18**: 2275–2282.
- Atienzar, F.A. and Jha, A.N. (2006). "The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies", *Mutation Research*, **613**: 76-102.
- Badr, A., Sch, R., El Rabey, H., Effgen, S., Ibrahim, H. H., Pozzi, C., Salamini, F. (2000). "On the origin and domestication history of barley (*Hordeum vulgare*) ", *Molecular Biology and Evolution*, **17(4)**: 499-510.
- Bağcı, S. A., Ekiz, H., Yılmaz, A. (2003). "Determination of the salt tolerance of some barley genotypes and the characteristics affecting tolerance", *Turk. J. Agric. For.*, **27**: 253-260.
- Baik, B.K., Ulrich, S.E. (2008). "Barley for Food: Characteristics, Improvement, and Renewed Interest", *Journal of Cereal Science*, **48**: 233–242.
- Barceloux, D. G. (1999a). "Copper", *Clinical Toxicology*, **37 (2)**: 217-230.
- Bavı K., Kholdebarın B., Moradshahı, A. (2011). "Effect of cadmium on growth protein content and peroxidase activity in pea plants", *Pak. Journal Botanic*, **43(3)**: 1467-1470.



- Bayçu, G. ve Önal, M. (1993). "An Investigation of the Levels of Cadmium and Lead in the soils and in the Leaves of selected specimens of *Alianthus altissima* Found growing beside A Freeway in istanbul", *İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Dergisi*, **56**: 21-34.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M., and Tomaro, M. L. (2005). "Cadmium toxicity in plants", *Braz. Journal Plant Physiology*, **17 (1)**: 21-34.
- Bolwell, G.P. (1999). "Role of active oxygen species and NO in plant defense responses", *Current Opinion in Plant Cell*, **2**: 287-294.
- Bossuyt, B. T. A., Janssen, C. R. (2004). "Long-Term Acclimation of *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindak to Different Copper Concentrations: Changes in Tolerance and Physiology", *Aquatic Toxicology*, **68**: 61-74.
- Brekken, A., Steinnes, E., (2004). "Seasonal concentrations of cadmium and zinc in native pasture plants: consequences for grazing animals", *Science of the Total Environment*, **326**: 181–195.
- Busk, P., Pages, M. (1998). "Regulation of abscisic acid-induced transcription", *Plant Molecular Biology*, **37**: 425-435.
- Campanella, L., Cubadda, F., Sammartino, M. P., Saoncella, A. (2000). "An Algal Biosensor for the Monitoring of Water Toxicity in Estuarine Environments", *Water Research*, **35 (1)**: 69-76.
- Castiglione, M.R., Venora, G., Ravalli, C., Stoilov, L., Gecheff, K., Cremonini, R. (2008). "DNA Methylation and Chromosomal Rearrangements in Reconstructed Karyotypes of *Hordeum vulgare* L. ", *Protoplasma*, **232**: 215-222.
- Cenkci, S., Yıldız, M., Konuk, M. and Eren, Y. (2008). "RAPD analyses of some wild *Triticum* L. and *Aegilops* L. species and wheat cultivars in Turkey", *Acta Biologica Cracoviensia. Series: Botanica*, **50**: 41–48.
- Cenkci, S., Yıldız, M., Ciğerci, İ.H., Konuk, M. and Bozdağ, A. (2009). "Toxic chemicals–induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA (RAPD) in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings", *Chemosphere*, **76**: 900–906.
- Cenkci, S., Ciğerci, İ. H., Yıldız, M., Özay, C., Bozdağ, A., & Terzi, H. (2010). "Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa*", *Environmental and Experimental Botany*, **67(3)**: 467-473.

- Cervantes, C., et al. (2001). "Interactions of Chromium with Micro-Organisms and Plants", *FEMS Microbiology Rev.*, **25**: 335-347.
- Chaffei, C., Pageau, K., Suzuki, A., Gouia, H., Ghorbel, M.H and Masclaux-Daubresse, C. (2004). "Cadmium Toxicity Induced Changes in Nitrogen Management in *Lycopersicon esculentum* Leading to a Metabolic Safeguard Through an Amino Acid Storage Strategy", *Plant Cell Physiology*, **45(11)**: 1681-1693.
- Chahdi, M. A. O., Schoefs, B., & Franck, F. (1998). "Isolation and characterization of photoactive complexes of NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase from wheat", *Planta*, **206(4)**: 673-680.
- Chandra, S., Chauhan, L. K. S., Pande, P. N., & Gupta, S. K. (2004). "Cytogenetic effects of leachates from tannery solid waste on the somatic cells of *Vicia faba*", *Environmental toxicology*, **19(2)**: 129-133.
- Cho, S., Dreher, M. (2001). "Handbook of Dietary Fiber", CRC, New York, 082-4789-601.
- Clemens, S. (2006). "Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants", *Biochimie*, **88**: 1707–1719.
- Conte, C., Mutti, I., Puglisi, P., Ferrarini, A., Regina, G., Maestri, E. and Marmoroli, N. (1998). "DNA fingerprinting analysis by a PCR based method for monitoring the genotoxic effects of heavy metals pollution", *Chemosphere*, **37**: 2739-2749.
- Costa, G., ve Morel, J. (1994). "Water relations, gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce", *Plant Physiology Biochemical*, **32**: 561–570.
- Cvjetko, P., Tolić, S., Šikić, S., Balen, B., Tkalec, M., Vidaković-Cifrek, Ž., & Pavlica, M. (2010). "Effect of copper on the toxicity and genotoxicity of cadmium in duckweed (*Lemna minor* L.)".
- Çavdar, C., Sifil A., Çamsarı, T. (1997). *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, **3-4**: 92.
- Das P, Samantaray S, Rout GR. (1997). "Studies on cadmium toxicity in plants: a review. Environ", *Pollut.* **98**: 29-36.
- Davies, B.E. (1995). "Lead and other heavy metals in urban areas and consequences for the health of their inhabitants", *Environmental Contaminants, Ecosystems and Human Health*. Majumdar, S.K., Miller, E.W., and Brenner, F.J., (eds), *The Pennsylvania Academy of Science, Easton P.A., USA*. 287-307.

- Depledge, M.H. (1994). "The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools", *Non-destructive Biomarkers in Vertebrates*. CRC Press, Boca Raton, FL, 271–295.
- Di Cagno, R., Guidi, L., Stefani, A., & Soldatini, G. F. (1999). "Effects of cadmium on growth of *Helianthus annuus* seedlings: physiological aspects", *New phytologist*, **144(1)**: 65-71.
- Diwan, H., Khan, I., Ahmad, A., Iqbal, M. (2010). "Induction of phytochelatin and antioxidant defence system in *Brassica juncea* and *Vigna radiata* in response to chromium treatments", *Plant Growth Regulation*, **61(1)**: 97-107.
- Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R. (2002). "Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) root mitochondria", *Plant Cell and Environment*, **25**: 687-690.
- Doležel, J., Kubaláková, M., Paux, E., Bartoš, J. and Feuillet, C. (2007). "Chromosome-Based Genomics in the Cereals", *Chromosome Research*, **15**: 51-66.
- Doncheva, S., Nicolov, B., Ogneva, V. Physiol. (1996). *Plantarum*, **96**: 118-122.
- Dökmeçi, İ. (2001). *Toksikoloji*, Nobel Tıp Kitabevleri, III. Baskı, 749s, Ankara.
- Dunand, V.F., Epron, D., Sossé, A.B., Badot, P.M. (2002). "Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants", *Plant Science*, **163**: 53-58.
- Enan, M.R. (2006). "Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect the genotoxic effect of heavy metals", *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **43**: 147-154.
- Fahima, T., Sun, G.L., Beharav, A., Krugman, T., Beiles, A., Nevo, E. (1999). "RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations", *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theor. Appl. Genet.*, **98**: 434–447.
- Fargašová, A., Bumbálová, A., Havránek, E. (1997). "Metal Bioaccumulation by the Freshwater Alga *Scenedesmus quadricauda*", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **218 (1)**: 107-110.
- Fiskesjö, G. (1985). "The Allium test as a standard in environmental monitoring". *Hereditas*, **102(1)**: 99-112.
- Filkowski, J., Besplug, J., Burke, P., Kovalchuk, I. and Kovalchuk, O. (2003). "Genotoxicity of 2,4-D and dicamba revealed by transgenic *Arabidopsis thaliana*

- plants harboring recombination and point mutation markers", *Mutation Research*, **542**: 23-32.
- Forster, B.P., Ellis, R.P., Thomas., W.T.B., Newton, A.C., Tuberosa, R., This, D., Enein, R.A., Bahri, M.H. and Ben Salem, M. (2000). "The Development and Application of Molecular Markers for Abiotic Stress Tolerance In Barley, *Journal of Experimental Botany*, **51 (342)**: 19-27.
- Fowler, S., Thomashow, F. (2002). "Arabidopsis transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway", *The Plant Cell*, **14**: 1675–1690.
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. (2006). "Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks", *Current Opinion in Plant Cell*, **9(4)**: 436-442.
- Gichner, T. and Plewa, M.J. (1998). "Induction of somatic DNA damage as measured by single cell gel electrophoresis and point mutation in leaves of tobacco plants", *Mutation Research*, **401**: 143-152.
- Gichner, T., Patková, Z., Száková, J., & Demnerová, K. (2004). "Cadmium induces DNA damage in tobacco roots, but no DNA damage, somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves", *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **559(1)**: 49-57.
- Gichner, T., Patková, Z., Száková, J., & Demnerová, K. (2006). "Toxicity and DNA damage in tobacco and potato plants growing on soil polluted with heavy metals". *Ecotoxicology and Environmental safety*, **65(3)**: 420-426.
- Godzik, B. (1993). "Heavy metal contents in plants from zinc dumps and reference area", *Pollution. Botanical. Study*, **5**: 113-132.
- Gopal, R., Rizvi, A.H. and Nautiyal, N. (2009), "Chromium alters iron nutrition and water relations of spinach", *Journal of Plant Nutrition*, **32**: 1551–1559.
- Gouia, H., Gorbil, M.H. and Meyer, C. (2000). "Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean", *Plant Physiology Biochemistry*, **38**: 629-638.
- Greger, M. (1999). "Metal availability and bioconcentration in plants", Heavy Metal Stress in Plants from molecules to ecosystem. Prasad, M.N.V., and Hagemeyer, J.,

- (eds.), *Springer-Verlag*, Berlin. syf. 1- 27.
- Greger, M., Lindberg, S. (1986). "Effecte of Cd<sup>2+</sup> and EDTA on young sugar beets (Beta vulgaris), I. Cd<sup>2+</sup> uptake and sugar accumulation", *Physiol. Plant*, **66**: 69-74.
- Grupta, P. K., Varshney, R.K., Sharma, P.C and Ramesh, B. (1999). "Molecular markers and their applications in wheat breeding", *Plant Breeding*, **118**: 369-390.
- Guecheva, T., Henriques, J. A., & Erdtmann, B. (2001). "Genotoxic effects of copper sulphate in freshwater planarian in vivo, studied with the single-cell gel test (comet assay) ". *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **497(1)**: 19-27.
- Gür, N., Topdemir, A., Munzuroğlu, Ö ve Çobanoğlu, D. (2004). "Ağır Metal İyonlarının (Cu<sup>+2</sup>, Pb<sup>+2</sup>, Hg<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup>) Clivia sp. Bitkisi Polenlerinin Çimlenmesi ve Tüp Büyümesi Üzerine Etkileri", *F.Ü. Fen ve Matematik Bilimleri Dergisi*, **16(2)**: 177-182.
- Haktanır, K., (1987). "Çevre Kirliliği", A.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Notu, Teksir No:140.
- Hall, J. L. (2002). "Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance", *Journal of Experimental Botany*, **53**: 1-11.
- Harrison, R.M., ve Chirgawi, M.B. (1989). "The assessment of air and soil as contributors of some trace metals to vegetable plants I. Use of a filtered air growth cabinet ", *Sci. Total Environ.* **83**: 13-34.
- İşeri, Ö. D., Körpe, D. A., Yurtcu, E., Sahin, F. I., & Haberal, M. (2011). "Copper-induced oxidative damage, antioxidant response and genotoxicity in *Lycopersicum esculentum* Mill. and *Cucumis sativus* L. ", *Plant cell reports*, **30(9)**: 1713-1721.
- Jackson, P.J., Unkefer, P.J., Delhaize, E., and Robinson, N.J. (1990) "Mechanisms of trace metal tolerance in plants", *Enviromental Injuruy to Plants. Katterman, F., (ed.), Academic Press, San Diego. Pp. 231-258.*
- Jain, R., Srivastava, S and Madan, V.K. (2000). "Influence of chromium on growth and cell division of sugarcane", *Indian Journal Plant Physiol*, (5);228-31.
- Joshi, C.P. and Nguyen, H.T. (1993). "Application of the random amplified polymorphic DNA technique for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats", *Genome*, **36 (3)**: 602–609.

- Kabata- Pendias, A., Mukherjee, A.B. (2007). "Trace element from soil to human", *Springer*, Berlin Heidelberg New York 1-519.
- Kacar, B ve Katkat, V. (2006). "Bitki Besleme". Nobel Yayın No:849.
- Kahvecioğlu, Ö. , Kartal, G., Güven, A. ve Timur, S. (2001). "Metallerin çevresel etkileri -1", *İTÜ, Metalürji ve Malzeme Müh. Bölümü Metalurji Dergisi*, **136**: 47-53.
- Kalefetoğlu, T., and Ekmekçi, Y. (2005). "Bitkilerde kuraklık stresinin etkileri ve dayanıklılık mekanizmaları (Derleme)", *G.Ü., Fen Bilimleri Dergisi*, **18 (4)**: 723-740
- Kennedy, C.D. and Gonsalves, F.A.N. (1987). "The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and efflux of excised roots", *Journal of Experimental Botany*, **38**: 800-817.
- Khan, A.G.,Kuek, C., Chaudhry, T.M., Khoo, C.S. and Hayes, W.J. (2000). "Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation". *Chemosphere*, **41**: 197-207.
- Kimbrough, D.E., et al. (1999). "A Critical Assesment of Chromium in the Enviroment". *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.*, **29**: 1-46.
- Kizis, D., Lumberas, V., Pages, M. (2001). "Role of AP2/EREBP transcription factors in gene regulation during abiotic stress", *FEBS Letters*, **498**: 187-189.
- Knight, H. and Knight, M.R. (2001). "Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk", *Trends in Plant Science*, **6**: 262-267.
- Koornneef, M., Alonso-Blanco, C. and Peeters, A.J.M. (1997). "Genetic Approaches in Plant Physiology", *New Phytologist*, **137**: 1-8.
- Kovalchuk, O., Titiv, V., Hohn, B. and Kovalchuk, I. (2001). "A sensitive transgenic plant system to detect toxic inorganic compounds in the environment", *Nature Biotechnology*, **19**: 568-572.
- Kramer, U., Cotter-Howells, J.M., Charnock, J. M., Baker, A. J. M., and Smith, A.C. (1996). "Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel", *Nature*, **379**: 635-638.
- Kuo, H. W., Chang, S. F., Wu, K. Y., & Wu, F. Y. (2003). "Chromium (VI) induced oxidative damage to DNA: increase of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine concentrations (8-OHdG) among electroplating workers". *Occupational and*

*environmental medicine*, **60(8)**: 590-594.

- Kün E. (1988). "Serin İklim Tahılları". Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları: 1032, Ders Kitabı 299.
- Labra, M., Di Fabio, T., Grassi, F., Regondi, S. M. G., Bracale, M., Vannini, C., & Agradi, E. (2003). "AFLP analysis as biomarker of exposure to organic and inorganic genotoxic substances in plants", *Chemosphere*, **52(7)**: 1183-1188.
- Landry, B. S., Li, R.Q., Cheung, W. Y. and Graner, R.L. (1994). "Phylogeny analysis of 25 apple rootstocks using RAPD markers and tactical gene tagging", *Theoretical and Applied Genetics*, **89**: 847–852.
- Liang, Y., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W., Ding, R. (2003). "Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.) ", *Journal of Plant Physiology*, **160(10)**: 1157-1164.
- Lichtenthaler, H.K., (1998). "The stress concept in plants: An introduction", *Annals of The NewYork of Sciences*, **851**:187-198.
- Lidon, F.C., Ramalho, J., Henriques, F.S. (1993). *Plant Physiology*, **142**: 12-17.
- Lindberg, S., Meyers, T.P., Taylor G.E.J., Turner, R.R., ve Schroeder, W.H. (1992). "Atmosphere–surface exchange of mercury in a forest: results of modeling and gradient approaches". *Journal of Geophysical Research*, **97**: 2519-2528.
- Liu, D. H., Jang, W. S., & Hou, W. Q. (2001). "Uptake and accumulation of copper by roots and shoots of maize (*Zea may* L.)", *Journal of Environmental Sciences*, **13(2)**: 228-232.
- Liu, W., Li, P. J., Qi, X. M., Zhou, Q. X., Zheng, L., Sun, T. H., & Yang, Y. S. (2005). "DNA changes in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings induced by cadmium pollution using RAPD analysis", *Chemosphere*, **61(2)**: 158-167.
- Liu, W., Yang, Y.S., Zhou, Q., Xie, L., Li, P. and Sun, T. (2007). "Impact assessment of cadmium contamination on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings at molecular and population levels using multiple biomarkers", *Chemosphere*, **67**: 1155–1163.
- Lombardi, L. (2005). "Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants". *Plant Science*, **168**: 797–802.
- Lombi, E., Tearall, K. L., Howarth, J. R., Zhao, F. J., Hawkesford, M. J. ve McGrath, S. P. (2002). "Influence of Iron Status on Calcium and Zinc Uptake by Different

- Ecotypes of the Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*". *Plant Physiology*, 128-1359–67.
- Ma, M., Zhu, W., Wang, Z., Witkamp, G. J. (2003). "Accumulation, Assimilation and Growth Inhibition of Copper on Freshwater Alga (*Scenedesmus subspicatus* 86.81 SAG) in the Presence of EDTA and Fulvic Acid", *Aquatic Toxicology*, **63**: 221-228.
- Magda, P., et al. (2006). "Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize", *J. Plant Nutr. Soil Science*, **169**: 239-246.
- Mahajan, S., and Tuteja, N. (2005). "Cold, salinity and drought stress: an overview", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **444**: 139-158.
- Mare, C., Mazzucotelli, E., Crosatti, C., Francia, E., Stanca AM., Cattivelli, L. (2004). "Hv-WRKY38: a new transcription factor involved, in cold- and drought-response in barley", *Plant Molecular Biology*, **55**: 399–416.
- Mazhoudi, S., et al. (1997). "Response of antioxidant enzymes to excess copper in tomato *Lycopersicon esculentum*", *Mill., Plant Science*, **127**: 129-137.
- Mench, M., Morel, J.L., Cuckert, A., Guillet, B. (1988). "Metal binding with root exudates of low molecular weight", *Journal of Soil Science*, **33**: 521-527.
- Meshi, T., Iwabuchi, M. (1995). "Plant Transcription Factors", *Plant Cell Physiol.*, **36(8)**: 1405-1420.
- Mithofer, A., Schulze, B. and Boland, W. (2004). "Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals", *FEBS Letters*, **566**: 1–5.
- Mittler, R. (2002). "Oxidative stress", *Trends in Plant Science*, **7**: 405–410.
- Mocquot, B., Vangronsveld, J., Clijsters, H., Mench, M. (1996). "Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and enzyme activities", *Plant and Soil*, **182(2)**: 287-300.
- Mohamed, A. A., Castagna, A., Ranieri, A., Sanità di Toppi, L. (2012). "Cadmium tolerance in Brassica juncea roots and shoots is affected by antioxidant status and phytochelatin biosynthesis", *Plant Physiology and Biochemistry*, **57**; 15–22.
- Moller, I.M., Jensen, P.E. and Hansson, A. (2007). "Oxidative modifications to cellular components in plants", *Annual Review of Plant Biology*, **58**: 459–481.
- Munzuroglu, O., Geckil, H. (2002). "Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and



- Cucumis sativus", *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **43(2)**: 203-213.
- Muranyi, A., Seeling, B., Ladewig, E. and Jungk, A. (1994). "Acidification in the rhizosphere of rape seedlings and in bulk soil by nitrification and ammonium uptake". *Z. Pflanzenernähr Bodenkd.*, **157**: 61-65.
- Nedelkoska, T.V. and Doran P.M. (2000). "Characteristics of heavy metal uptake by plants species with potential for, phytoremediation and phytomining". *Minerals Engineering*, **13**: 549-561.
- Nussbaum, S., Shemutz, D., Brunold, C. (1988). *Plant Physiology*, **88**: 1407.
- Nyquist J, Greger M. (2007). "Uptake of Zn, Cu, and Cd in metal loaded *Elodea canadensis*". *Environ. Experimental Botany*, **60**: 219-226.
- Okamuro, J., Szeto, W., Lotys-Prass, C., Jofuku D. (1997). " Photo and hormonal control of meristem identity in the Arabidopsis flower mutants apetala2 and apetala1", *Plant Cell*, **9**: 37-47.
- Ouzounidou, G., Eleftheriou, E.P., Karataglis, S. (1992). *Canadian Journal of Botany*, **70**: 947-957.
- Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M ve Kaptan, H. (1995). Toprak Bilimi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak. Genel Yayın No: 73 Ders Kitapları Yayın No:16, ADANA.
- Özden, H.ve Bayçu, G. (2004). "Cadmium exposure and changes in some physiological parameters of *quercus robur ssp. Robur* L.(Common Oak) and *Acer negundo* L. (Box Elder) seedlings". *Fresenius Environmental Bulletin* Vol. **13(3)**: 268-273.
- Panda, S. K., Choudhury, S. (2005). "Chromium stress in plants", *Brazilian Journal of Plant Physiology*, **17(1)**: 95-102.
- Peng, K.J., Li, X.D., Luo, C.L., ve Shen, Z.G. (2006). "Vegetation composition and heavy metal uptake by wild plants at three contaminated sites in Xiangxi Area, China". *Journal of Environmental Science and Health*, **41**: 65-76.
- Perales-Vela, H. V., González-Moreno, S., Montes-Horcasitas, C., Cañizares-Villanueva, R. O. (2007). "Growth, Photosynthetic and Respiratory Responses to Sub-lethal Copper Concentrations in *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae)". *Chemosphere*, **67**: 2274-2281.
- Petrucci R.H. and Harwood, W.S. (1993). "General Chemistry. Principles and modern

- applications". In : Corey P.F., *Macmilan Publishing Company*, New York.
- Poschenrieder, B., Gunse, J., Barcelo (1989). *Plant Physiology*, **190**: 1365-1371.
- Poontariga, H., Darinee P., Kannarat R., Charoensataporn, R. (2003). *Science Asia*, **29**: 109.
- Pourkheirandish, M. and Komatsuda, T. (2007). "The Importance of Barley Genetics and Domestication in a Global Perspective". *Annals of Botany*, **100 (7)**: 999-1008.
- Prasad, M. N. V., Malec, P., Waloszek, A., Bojko, M. and Strzaka, K. (2001). "Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation", *Plant Science*, **161**: 881-889.
- Quariti O, Boussama N, Zarrouk M, Cherif A, Ghorbal MH (1997). "Cadmium and copper induced changes in tomato membrane lipids", *Phytochemistry*, **45**: 1343-1350.
- Rank, J. and Nielsen, M.N. (1994). "Evaluation of *Allium cepa* anaphase- telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater", *Mutation Research*, **312**: 17-24.
- Reiter, R. S., Williams, J.G.K., Feldmann, K.A., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. and Scolnik, P.A. (1992). "Global and local genome mapping in *Arabidopsis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNA probe". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **89**: 1477-1481.
- Reuber, S., Bornman, J.F., & Weissenböck, G. (1996). "A flavonoid mutant of barley (*Hordeum vulgare* L.) exhibits increased sensitivity to UV-B radiation in the primary leaf", *Plant, Cell & Environment*, **19(5)**: 593-601.
- Rodriguez, M., O'Sullivan, D., Donini, P., Papa, R., Chiapparino, E., Leigh, F. and Attene, G. (2006). "Integration of Retrotransposons-Based Markers In a Linkage Map of Barley". *Molecular Breeding*, **17**: 173-184.
- Rodriguez, E., Azevedo, R., Fernandes, P., & Santos, C. A. (2011). "Cr (VI) induces DNA damage, cell cycle arrest and polyploidization: a flow cytometric and comet assay study in *Pisum sativum*", *Chemical research in toxicology*, **24(7)**: 1040-1047.
- Rooney, C. P., Zhao, F. J., & McGrath, S. P. (2006). "Soil factors controlling the expression of copper toxicity to plants in a wide range of European soils",

- Environmental Toxicology and Chemistry*, **25(3)**: 726-732.
- Rout, G.R., Samantaray, S. and Das, P. (1997). "Differential chromium tolerance among eight mung bean cultivars grown in nutrient culture", *Journal of Plant Nutrition*, **20**: 341–347.
- Salt, D., Price, R., Pickering, I and Raskin, I. (1995). "Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard". *Plant Physiology*, **109**: 1427-1433.
- Samantaray, S. (2002). "Biochemical responses of Cr-tolerant and Cr-sensitive mung bean cultivars grown on varying levels of chromium", *Chemosphere*, **47**: 1065–1072.
- Sanita di Toppi, L., Gabbrielli, R. (1999). "Response to cadmium in higher plants", *Environmental Experimental Botany*, **41**: 105-131.
- Satarug, S., Baker, J. R., Urbenjapol, S., Haswell-Elkins, M., Reilly, P. E., Williams, D. J., & Moore, M. R. (2003). "A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population", *Toxicology letters*, **137(1)**: 65-83.
- Savva, D. (1998). "Use of DNA fingerprinting to detect genotoxic effects", *Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety*, **41**: 103-106.
- Schulte, D., Close, T.J., Graner, A., Langridge, P., Matsumoto, T., Muehlbauer, G., Sato, K., Schulman, A.H., Waugh, R., Wise, R.P. and Stein, N. (2009). "The International Barley Sequencing Consortium—At the Treshold of Efficient Access to the Barley Genome", *Plant Physiology*, **149**: 142-147.
- Seki, M., Narusaka, M., Ishida, J., Nanjo, T., Fujita, M., Oonyo, Y., Kamiya, A., Nakajima, M., Enju, A., Sakurai, T., Satou, M., Akiyama, K., Taji, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Carninci, P., Kawai, J., Hayashizaki, Y., Shinozaki, K. (2002). "Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray", *Plant J.*, **31(3)**: 279–292.
- Shah, K., ve Dubey, R.S. (1998). "Effect of cadmium on proline accumulation and ribonuclease activity in rice seedlings: Role of proline as a possible enzyme protectant", *Biology of Plant*. **40**: 121–130.
- Shanker, A.K., Djanaguiraman, M., Sudhagar, R., Chandrashekar, C.N. and Pathmanabhan, G. (2004). "Differential antioxidative response of ascorbate

- glutathione pathway enzymes and metabolites to chromium speciation stress in green gram (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. cv. CO4) roots”, *Plant Science*, **166**: 1035–1043.
- Shanker, A.K. and Pathmanabhan, G. (2004). “Speciation dependant antioxidative response in roots and leaves of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. CO27) under Cr(III) and Cr(VI) stress”, *Plant and Soil*, **265**: 141–151.
- Singh, K.B., Foley, R.C., Onate-Sanchez, L. (2002). "Transcription factors in plant defense and stress responses", *Current Opinion in Plant Biology*, **5**: 430–436.
- Singh, P. K., & Tewari, R. K. (2003). "Cadmium toxicity induced changes in plant water relations and oxidative metabolism of *Brassica juncea* L. plants", *Journal of environmental biology/Academy of Environmental Biology*, India, **24(1)**: 107.
- Sofyan, A. (2004). "Toxicity of Metals to Green Algae and *Ceriodaphnia dubia*: The Importance of Water Column and Dietary Exposures". *The Graduate School University of Kentucky*, Dissertation, 161p, Kentucky.
- Somashekaraiah, B.V., Padmaja, K., Prasad, A.R.K. (1992). *Physiol. Planarum*. **85**: 85-89.
- Sossé, B.A., Genet, P., Dunand-Vinit, F., Toussaint, L.M., Epron, D and Badot, P.M. (2004). "Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbonhydrate accumulation and changes in ion contents", *Plant Science*, (**166**): 1213-1218.
- Sönmez, S., Kaplan, M., Sönmez, N.K., Kaya, H and Uz, İ. (2006a). "High level of copper application to soil and leaves reduce the growth and yield of tomato plants". *Sci. Agric.(Piracicaba, Braz.)*, **63(3)**: 213-218.
- Staub, J.E., Serquen, F.C., Gupta, M. (1996). "Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding". *Hort Science*, **31(5)**: 729–741.
- Steinkellner, H., Mun-Sik, K., Helma, C., Ecker, S., Ma, T.H., Horak, O., Kundi, M. and Knasmü, S. (1998). "Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays", *Environmental Molecular Mutagen.*, **31**: 183-191.
- Tester, M., ve Leigh, R.A. (2001). "Partitioning of nutrient transport processes in roots", *Journal Experiment of Botanical*, **52**: 445-457.
- TÜİK, (2009). “Bitkisel Üretim İstatistikleri”, Ankara.

- U.S. EPA, (1980). "Ambient Water Quality Criteria for Copper", U.S. *Environmental Protection Agency*, EPA 440/5-80-036, 162p, Washington, DC.
- U.S. EPA, (2003). "Draft Update of Ambient Water Quality Criteria for Copper", U.S. *Environmental Protection Agency*, EPA-822-R-03-026, CAS No.7440-50-8, 86p, Washington, DC.
- Vajpayee, P., et al., (2001). "Chromium Induced Physiological Changes in *Vallisneria spiralis* L. And Its Role in Phytoremediation of Tannery Effluent", *B. Environ. Contam. Tox.*, **67**: 246-256,.
- Valliyodan, B., Nguyen, H.T. (2006). "Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants", *Current Opinion in Plant Biology*, **9(2)**: 189-195.
- Verkleij, J. A. C., and Schat, H. (1990). "Mechanisms of metal tolerance in higher plants. Heavy metal tolerance in plant: evolutionary aspects", *Shaw, J. (ed.), CRC Press, Boca Raton*. Pp. 179-193.
- Verma S. And Dubey R.S. (2003). "Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plant", *Plant Science*, **164**: 645-655.
- Vinit-Dunand, F., Epron, D., Alaoui-Sossé, B., & Badot, P. M. (2002). "Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants", *Plant Science*, **163(1)**: 53-58.
- Vinocur, B., Altman, A. (2005). "Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations", *Current Opinian in Biotechnology*, **16**: 123-132.
- Vinson, C.R., Sigler, P.B., Macknight, S.L. (1989). "Scissors-grip model for DNA recognition by a family of leucin zipper proteins", *Science*, **246**: 911-916.
- Wang, Z., Weber, J.L., Zhong, G. and Tanksley, S.D. (1994). "Survey of plant short tandem repeats", *Theor. Appl. Genet.*, **88**: 1-6.
- Welsh, J. and McClelland, M. (1990). "Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers". *Nucleic Acids Res.*, **18**: 7213-7218.
- WHO (World Health Organization) (1998). "Copper. Environmental Health Criteria 200", *IPCS-International Programme on Chemical Safety*, WHO, Geneva.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. (1990).

- "DNA Polymorphism Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers", *Nucleic Acids Research*, **18**: 6531-6535.
- Winter, P. and Kahl, G. (1995). "Molecular marker technologies for plant improvement", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **11**: 438–448.
- Wright, D. (2001). *Environmental Toxicology*. Port Chester, NY, USA: Cambridge University Press, 630p.
- Wu FB, Chen F, Wei K, Zhang GP (2004). "Effect of cadmium on free amino acid, glutathione and ascorbic acid concentrations in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) differing in cadmium tolerance", *Chemosphere*, **57**: 447-454.
- Xue-mei, Q., Pei-jun, L., Wan, L. and Li-jingly, X. (2006). "Multiple biomarkers response in maize (*Zea mays* L.) during exposure to copper", *Journal of Environmental Science*, **18**: 1182–1188.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. (1994). "A novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress", *Plant Cell*, **6(2)**: 251-264.
- Yıldırım, A., Kandemir, N. (2001). "Genetik markörler ve analiz metodları". Özcan, S., Gürel, E., Babaoglu, M., (eds). Bitki Biyoteknolojisi II, Genetik Mühendisliği Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, pp: 334–363.
- Yıldız, M., Ciğerci, İ.H., Konuk, M., Fidan, A.F. and Terzi, H. (2009). "Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays". *Chemosphere*, **75**: 934–938.
- Yıldız M, Uruşak B ve Terzi H (2010). "Türkiye’de Ekimi Yapılan Bazı Arpa Çeşitlerinin Erken Fide Evresinde Krom (VI) Toleransı Üzerine Bir Ön Çalışma". *AKÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 1-10.
- Yruela, I. (2005). "Copper in plants", *Brazilian Journal of Plant Physiology*, **17(1)**: 145-156.
- Zacchini, M., Rea, E., Tullio, M. and Agazio, M. (2003). "Increased antioxidative capacity in maize calli during and after oxidative stress induced by a long lead treatment", *Plant Physiol. Bioch.*, **41**: 49-54.
- Zhiyi, R., Haowen, Y. (2004). "A method for genotoxicity detection using random amplified polymorphism DNA with *Danio rerio*". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **58**: 96-103.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Nevra DOĞAN

**Doğum Yeri** : Ankara

**Telefon** : 0545 242 58 98

**Doğum Tarihi** : 03.05.1988

**Yabancı Dili** : İngilizce

### **Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)**

**Lise** : Ankara Hurin Yavuzalp Lisesi, 2004

**Lisans** : Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2010

**Yüksek Lisans** : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2013

**Ek Çizelge 1.** Angora arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için 8 primerle belirlenen RAPD-PCR bantlarının baz çifti (bç) cinsinden moleküler ağırlıkları ve kontrole (K) göre, üç farklı (75, 150 ve 225 µM) konsantrasyondaki kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) uygulamalarında belirlenen “1” ve belirlenmeyen “0” bantlar. Bu çizelgede, bulgular bölümünde sunulmuş Şekil 4.3’de verilmiş RAPD profillerine ait “0” ve “1” matrisi verilmiştir.

No	Primer	bç	K	Cd (µM)			Cr (µM)			Cu (µM)		
				75	150	225	75	150	225	75	150	225
1	OPA01	1587	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
2		1200	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
3		986	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
4		792	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5		678	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6		589	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7		552	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8		481	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9		413	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10		351	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11		332	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12		279	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13		250	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14	OPA02	1519	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0
15		1113	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
16		809	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
17		694	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
18		551	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
19		516	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
20		414	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
21		355	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22		289	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
23		234	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
24		186	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25		144	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
26		47	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
27	OPA09	1867	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
28		981	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
29		667	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
30		532	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31		462	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
32		417	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
33		328	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
34		264	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
35		211	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
36		OPA10	1557	0	0	0	0	0	0	1	0	0
37	1118		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
38	778		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
39	707		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
40	575		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
41	472		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
42	404		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
43	355		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
44	311		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45	237		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
46	OPA12	396	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
47		317	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
48		277	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
49		232	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
50	OPA16	1958	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
51		1730	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
52		1500	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
53		1325	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1
54		1081	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
55		793	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
56		742	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
57		585	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1



Ek Çizelge 1 Devamı

58		482	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
59		421	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
60		354	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
61		304	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
62		253	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
63		167	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
64	OPA17	1325	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
65		1124	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
66		1053	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
67		892	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
68		839	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
69		745	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
70		674	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
71		600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
72		538	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
73		491	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
74		444	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1
75		366	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
76		306	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
77		284	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
78		242	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
79	219	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	
80	186	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
81	OPA19	1618	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
82		1253	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	
83		1084	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	
84		909	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
85		752	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
86		700	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	
87		652	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
88		600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
89		560	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
90		387	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
91		230	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
92		208	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
93		177	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<b>TOPLAM</b>			76	76	76	78	79	85	89	73	81	80	

**Ek Çizelge 2.** Avcı-2002 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için 8 primerle belirlenen RAPD-PCR bantlarının baz çifti (bç) cinsinden moleküler ağırlıkları (bç) ve kontrole (K) göre, üç farklı (75, 150 ve 225 µM) konsantrasyondaki kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) uygulamalarında belirlenen “1” ve belirlenmeyen “0” bantlar. Bu çizelgede, bulgular bölümünde sunulmuş Şekil 4.5’de verilmiş RAPD profillerine ait “0” ve “1” matrisi verilmiştir.

No	Primer	bç	Kontrol	Cd (µM)			Cr (µM)			Cu (µM)		
				75	150	225	75	150	225	75	150	225
1	OPA01	1500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2		1301	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3		1134	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4		1066	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5		962	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6		909	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
7		792	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8		752	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9		678	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10		665	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11		414	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12		351	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13		330	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14		279	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15	OPA02	1456	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16		1128	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
17		840	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
18		800	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
19		740	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
20		628	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21		551	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22		433	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1
23		289	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
24		234	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25		47	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
26	OPA09	1958	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
27		1734	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28		1675	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
29		1394	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
30		1188	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31		1021	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
32		948	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
33		681	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
34		532	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0
35		417	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
36		364	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
37		328	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
38	OPA10	1062	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
39		973	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
40		910	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
41		730	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
42		641	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
43		558	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
44		506	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45		472	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
46		373	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
47		237	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
48	OPA12	396	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
49		277	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
50		200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
51		141	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
52	OPA16	1602	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53		1222	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
54		1069	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
55		793	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
56		688	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
57		590	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
58		561	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Ek Çizelge 2 Devamı

59		543	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
60		482	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
61		421	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
62		393	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
63		354	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
64		340	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
65		304	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
66		253	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
67		233	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
68		167	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
69	OPAI7	1124	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
70		1053	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
71		892	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
72		839	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
73		745	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
74		600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
75		538	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
76		366	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
77		306	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
78		242	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
79		219	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
80	OPAI9	1590	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
81		1301	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
82		1250	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
83		1134	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
84		909	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
85		808	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
86		688	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
87		667	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
88		623	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
89		589	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
90		573	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
91		526	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
92		429	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
93		230	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<b>Toplam</b>			86	84	85	87	83	82	82	84	82	84

**Ek Çizelge 3.** Aydanhanım arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için 8 primerle belirlenen RAPD-PCR bantlarının baz çifti (bç) cinsinden moleküler ağırlıkları (bç) ve kontrole (K) göre, üç farklı (75, 150 ve 225 µM) konsantrasyondaki kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) uygulamalarında belirlenen “1” ve belirlenmeyen “0” bantlar. Bu çizelgede, bulgular bölümünde sunulmuş Şekil 4.7’de verilmiş RAPD profillerine ait “0” ve “1” matrisi verilmiştir.

No	Primer	bç	K	Cd (µM)			Cr (µM)			Cu (µM)		
				75	150	225	75	150	225	75	150	225
1	OPA01	1500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2		1189	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3		792	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4		661	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5		678	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6		552	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7		473	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8		413	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9		351	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10		279	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11		250	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12	OPA02	1474	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13		1098	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
14		800	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15		740	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16		567	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
17		433	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
18		377	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
19		283	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
20		242	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21		173	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22		144	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
23	OPA09	1879	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
24		1022	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25		928	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1
26		675	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
27		606	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28		533	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
29		482	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
30		344	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31		273	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
32		OPA10	1384	1	1	1	1	1	1	1	1	1
33	1062		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
34	980		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
35	910		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
36	848		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
37	730		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
38	674		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
39	641		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
40	558		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
41	506		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
42	457		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
43	373		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
44	304		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45	224		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
46	OPA12	1136	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
47		1061	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
48		834	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
49		808	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
50		748	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
51		714	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
52		642	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
53		396	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
54		296	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
55		276	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
56	OPA16	1774	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
57		1608	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
58		1474	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
59		1069	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Ek Çizelge 3 Devamı

60		784	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
61		714	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
62		634	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
63		611	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
64		524	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
65		492	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
66		424	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
67		362	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
68		314	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
69		256	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
70		207	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1
71		183	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
72		1846	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
73		1575	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
74		1403	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
75		1340	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
76		1111	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
77		1071	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
78		1010	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
79		892	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
80		831	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
81		700	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
82		595	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
83		564	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
84		505	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
85		366	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
86		280	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
87		248	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
88		191	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
89		1673	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
90		1295	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
91		900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
92		808	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
93		667	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
94		612	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
95		532	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
96		404	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
97		334	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
98		272	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
99		235	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
100		217	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
101		163	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
TOPLAM			89	89	89	91	90	90	100	88	88	90	

**Ek Çizelge 4.** Başgül arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için 8 primerle belirlenen RAPD-PCR bantlarının baz çifti (bç) cinsinden moleküler ağırlıklar ve kontrole (K) göre, üç farklı (75, 150 ve 225 µM) konsantrasyondaki kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) uygulamalarında belirlenen “1” ve belirlenmeyen “0” bantlar. Bu çizelgede, bulgular bölümünde sunulmuş Şekil 4.9’de verilmiş RAPD profillerine ait “0” ve “1” matrisi verilmiştir.

No	Primer	bç	Kontrol	Cd (µM)			Cr (µM)			Cu (µM)		
				75	150	225	75	150	225	75	150	225
1	OPA01	1500	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
2		1175	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3		962	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4		792	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5		678	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6		665	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7		589	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8		552	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9		481	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10		413	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11		351	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12		279	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13		213	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
14	OPA02	1419	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0
15		1049	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16		962	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1
17		793	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
18		713	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
19		562	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
20		412	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21		348	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
22		300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
23		245	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
24	OPA09	1929	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25		1823	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
26		1394	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
27		1027	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28		944	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
29		852	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
30		694	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31		665	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
32		457	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
33		420	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
34		364	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
35		330	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
36	OPA10	1449	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
37		1125	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
38		930	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
39		743	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
40		671	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
41		605	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
42		509	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
43		442	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
44		386	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45		222	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
46	OPA12	1044	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
47		379	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
48		288	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
49		235	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
50		200	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
51	OPA16	2138	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
52		1602	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
53		1440	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
54		1222	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
55		813	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
56		735	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
57		707	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
58		635	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
59		591	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Ek Çizelge 4 Devamı

60		483	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
61		420	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
62		393	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
63		297	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
64		266	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
65		179	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
66	OPAI7	1901	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
67		1779	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
68		1486	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
69		1256	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
70		1010	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
71		955	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
72		858	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
73		808	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
74		737	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
75		682	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
76		589	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
77		486	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
78		358	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
79		274	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
80		231	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
81	185	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
82	OP19	1301	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
83		938	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
84		771	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
85		668	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
86		526	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
87		400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
88		268	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
89		209	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
90		178	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>TOPLAM</b>			80	86	85	87	77	77	72	82	82	81	

**Ek Çizelge 4.5** Bülbül-89 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için 8 primerle belirlenen RAPD-PCR bantlarının baz çifti (bç) cinsinden moleküler ağırlıkları (bç) ve kontrole (K) göre, üç farklı (75, 150 ve 225 µM) konsantrasyondaki kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) uygulamalarında belirlenen “1” ve belirlenmeyen “0” bantlar. Bu çizelgede, bulgular bölümünde sunulmuş Şekil 4.11’de verilmiş RAPD profillerine ait “0” ve “1” matrisi verilmiştir.

No	Primer	bç	Kontrol	Cd (µM)			Cr (µM)			Cu (µM)		
				75	150	225	75	150	225	75	150	225
1	OPA01	1500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2		1175	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3		1066	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4		962	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5		858	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6		792	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7		729	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
8		678	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9		589	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10		552	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11		413	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12		330	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13		279	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14		250	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15	OPA02	1535	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
16		1421	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
17		1314	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1
18		1128	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
19		1082	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
20		1019	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21		793	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22		689	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
23		487	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
24		400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25		367	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
26		332	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
27		282	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28		245	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
29	136	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	
30	OPA09	1187	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31		1031	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
32		948	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
33		807	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
34		732	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
35		664	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
36		617	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
37		573	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
38		525	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
39		500	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
40		460	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
41		356	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
42		324	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
43	OPA10	1404	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
44		1050	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45		892	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
46		730	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
47		679	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
48		616	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
49		554	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
50		510	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
51		451	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
52		375	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
53		336	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
54		223	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
55	OP A12	1030	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1
56		473	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
57		389	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1



Ek Çizelge 5 Devamı

58		278	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
59		234	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
60	OPAI6	2000	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
61		1580	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
62		1421	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
63		1329	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
64		1225	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
65		1008	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
66		878	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
67		780	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
68		706	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
69		611	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
70		500	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
71		483	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
72		412	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
73		380	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
74		297	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
75		258	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
76		177	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
77	OPAI7	1856	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
78		1292	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
79		1071	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
80		992	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
81		900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
82		822	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
83		713	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
84		611	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
85		514	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
86		371	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
87		238	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
88		185	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
89	OPAI9	1883	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
90		1328	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1
91		952	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
92		821	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
93		680	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
94		648	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
95		641	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
96		548	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
97		429	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
98		380	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
99		269	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
100		216	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
101	189	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<b>TOPLAM</b>			87	92	93	93	84	90	92	89	88	91

**Ek Çizelge 4.6** Orza-96 arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için 8 primerle belirlenen RAPD-PCR bantlarının baz çifti (bç) cinsinden moleküler ağırlıkları (bç) ve kontrole (K) göre, üç farklı (75, 150 ve 225 µM) konsantrasyondaki kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) uygulamalarında belirlenen “1” ve belirlenmeyen “0” bantlar. Bu çizelgede, bulgular bölümünde sunulmuş Şekil 4.13’de verilmiş RAPD profillerine ait “0” ve “1” matrisi verilmiştir.

No	Primer	bç	Kontrol	Cd (µM)			Cr (µM)			Cu (µM)		
				75	150	225	75	150	225	75	150	225
1	OPA01	1500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2		1175	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3		1066	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4		962	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5		792	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6		678	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7		665	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8		589	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9		552	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10		481	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11		413	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12		330	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13		279	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14		250	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15	OPA02	1390	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16		1143	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1
17		984	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1
18		900	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1
19		770	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
20		681	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21		542	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22		420	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
23		257	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
24		225	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25		163	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
26	OPA09	1872	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
27		1026	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28		921	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1
29		817	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
30		683	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31		600	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
32		466	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
33		426	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
34		369	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
35		329	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
36	OPA10	1512	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
37		1253	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
38		1111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
39		883	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
40		759	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
41		705	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
42		482	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
43		438	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
44		365	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45		217	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
46	OPA12	1457	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
47		1059	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
48		876	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
49		595	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
50		406	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
51		310	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
52		265	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
53		2243	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
54	OPA16	2028	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
55		1552	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
56		1328	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
57		1211	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Ek Çizelge 6 Devamı

58		1106	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
59		992	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
60		885	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
61		777	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
62		720	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
63		636	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
64		590	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
65		486	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
66		416	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
67		287	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
68		176	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
69		1855	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
70		1725	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
71		1543	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
72		1439	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
73		1293	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
74		1084	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
75		1022	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
76		869	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
77		814	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
78		709	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
79		580	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
80		512	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
81		477	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
82		364	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
83		2117	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
84		1872	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
85		1590	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
86		1319	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
87		1161	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
88		928	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
89		800	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
90		687	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
91		631	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
92		533	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
93		429	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
94		334	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1
95		276	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
96		203	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
97		167	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>TOPLAM</b>			<b>81</b>	<b>88</b>	<b>89</b>	<b>88</b>	<b>79</b>	<b>80</b>	<b>82</b>	<b>85</b>	<b>81</b>	<b>84</b>

**Ek Çizelge 4.7 Tarm-92** arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için 8 primerle belirlenen RAPD-PCR bantlarının baz çifti (bç) cinsinden moleküler ağırlıkları (bç) ve kontrole (K) göre, üç farklı (75, 150 ve 225 µM) konsantrasyondaki kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) uygulamalarında belirlenen “1” ve belirlenmeyen “0” bantlar. Bu çizelgede, bulgular bölümünde sunulmuş Şekil 4.15’de verilmiş RAPD profillerine ait “0” ve “1” matrisi verilmiştir.

No	Primer	bç	Kontrol	Cd (µM)			Cr (µM)			Cu (µM)		
				75	150	225	75	150	225	75	150	225
1	OPA01	1500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2		1175	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3		1066	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4		962	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5		900	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6		792	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7		678	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8		665	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9		589	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10		552	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11		481	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12		413	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
13		351	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14		330	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
15	OPA02	1433	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16		1280	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
17		1173	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
18		1040	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
19		845	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
20		800	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21		738	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22		546	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
23		435	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0
24		410	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25		379	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
26		340	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
27		284	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28		245	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
29		183	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
30	OPA09	1933	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
31		1049	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
32		954	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
33		817	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
34		743	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1
35		685	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
36		627	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
37		532	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
38		472	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
39		371	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
40		335	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
41	OPA10	1578	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
42		1412	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
43		1147	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
44		750	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45		670	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
46		600	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
47		517	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
48		459	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
49		380	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
50		347	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
51		223	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
52		169	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0
53	OPA12	1423	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
54		1173	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
55		1057	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
56		927	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
57		682	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Ek Çizelge 7 Devamı

58		612	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
59		396	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
60		307	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
61		269	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
62		230	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<b>OPAI6</b>												
63		1833	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
64		1694	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
65		1350	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
66		1211	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
67		1105	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
68		1010	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
69		800	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
70		605	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
71		504	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
72		430	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
73		363	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
74		300	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
75		262	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
76		186	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<b>OPAI7</b>												
77		1887	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
78		1711	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
79		1473	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
80		1282	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
81		1081	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
82		1011	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
83		871	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
84		808	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
85		694	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
86		593	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
87		500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
88		369	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<b>OPAI9</b>												
89		1709	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
90		1354	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
91		1175	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
92		1049	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
93		931	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
94		808	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
95		686	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
96		538	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
97		433	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
98		365	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
99		323	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
100		267	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
101		223	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			75	91	94	94	78	81	89	79	80	80	

**Ek Çizelge 4.8** Zeynelağa arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidi için 8 primerle belirlenen RAPD-PCR bantlarının baz çifti (bç) cinsinden moleküler ağırlıkları (bç) ve kontrole (K) göre, üç farklı (75, 150 ve 225 µM) konsantrasyondaki kadmiyum (Cd), krom (Cr) ve bakır (Cu) uygulamalarında belirlenen “1” ve belirlenmeyen “0” bantlar. Bu çizelgede, bulgular bölümünde sunulmuş Şekil 4.17’de verilmiş RAPD profillerine ait “0” ve “1” matrisi verilmiştir.

No	Primer	bç	Kontrol	Cd (µM)			Cr (µM)			Cu (µM)		
				75	150	225	75	150	225	75	150	225
1	OPA01	1500	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2		1175	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3		1066	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4		962	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5		792	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6		678	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7		530	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8		466	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9		414	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
10		330	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11		279	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
12		250	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1
13	OPA02	1456	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
14		1352	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
15		1077	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
16		843	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
17		708	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
18		560	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
19		527	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
20		453	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
21		400	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
22		355	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
23		297	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
24		247	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
25		187	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
26		141	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
27	OPA09	1904	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
28		1675	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
29		1021	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
30		954	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
31		800	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
32		681	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
33		630	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
34		563	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1
35		475	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
36		364	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
37		318	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
38	OPA10	1582	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
39		1447	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
40		1080	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
41		744	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
42		650	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
43		600	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
44		540	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
45		481	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
46		450	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
47		311	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
48		234	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
49	176	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
50	OPA12	1069	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
51		975	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
52		830	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
53		688	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
54		618	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
55		542	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
56		396	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Ek Çizelge 8 Devamı

57		318	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
58		262	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
59		233	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
60	OPAI6	1805	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
61		1565	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
62		1437	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
63		1400	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0
64		1211	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
65		1140	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
66		1044	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
67		768	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
68		616	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
69		582	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
70		473	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
71		407	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
72		371	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
73		309	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
74		275	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
75		246	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
76		167	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
77	OPAI7	1811	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
78		1486	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
79		1274	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
80		1100	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
81		968	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
82		860	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
83		807	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
84		719	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
85		673	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
86		591	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
87		554	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
88		484	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
89		422	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
90		355	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
91		306	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
92		283	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
93		226	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
94	172	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
95	OPAI9	1170	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
96		953	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
97		823	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
98		687	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
99		551	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
100		422	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
101		329	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
102		276	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
103		211	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
104		163	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
TOPLAM			98	96	97	98	96	98	99	93	89	80