

Buğday (*Triticum aestivum* L.) Tohumlarında Büyüme Düzenleyicisi 2,4-D Isooctylester Herbisitinin Meydana Getirdiği Retrotranspozon Hareketliliğinin Moleküler Yöntem ile Değerlendirilmesi

Serap SUNAR^{1*} , Hüseyin BULUT²

¹Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Botanik Anabilim Dalı,
Erzincan 24000, Türkiye.

²Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Eczane Hizmetleri, Erzincan 24000, Türkiye.

Geliş / Received: 08/11/2018, Kabul / Accepted: 09/04/2019

Öz

Bu çalışmanın amacı, herbisitlerin retrotranspozon aktiviteleri üzerindeki etkilerini IRAP (Retrotranspozon-arası çoğaltılmış polimorfizm) tekniği kullanarak araştırmaktır. Bu amaçla buğday tohumlarına çimlenme aşamasında artan dozlarda (0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 ve 0,5 ppm) 2,4-D Isooctylester uygulanmıştır. IRAP analizleri için altı primer kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, 2,4-D Isooctylester uygulamasında retrotranspozon polimorfizminin yüksek olduğu (%15.38 - %53.84) gözlemlenmiştir. Doz artışına bağlı olarak DNA hasarı sonucu GTS (Genomik Kararlılık Sabitliği) oranının (%84.62 ve %46.16) azaldığı görülmüştür. Sonuçlar bize stres faktörlerinin retrotranspozon hareketliliğine etkisinin incelenmesinde IRAP yönteminin etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Herbisit, Retrotranspozon-arası çoğaltılmış polimorfizm, Retrotranspozon, *Triticum aestivum* L.

Evaluation of Retrotransposon Mobility Caused by Growth Regulator 2,4-D Isooctylester Herbicide in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seeds by Molecular Method

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of herbicides on retrotransposon activity using IRAP (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism) technique. For this purpose, 2,4-D Isooctylester was applied on wheat seeds with increasing doses (0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 ppm). Six primers were used for IRAP analysis. As a result of the study, it was observed that retrotransposon polymorphism was high (15.38% -53.84%) in 2,4-D Isooctylester application. As a result of the increase in DNA damage, the rate of GTS (Genomic Stability Stability) decreased (84.62% and 46.16%). The results showed that IRAP method can be used effectively to examine the effect of stress factors on retrotransposon mobility.

Keywords: Herbicide, Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism, Retrotransposon, *Triticum aestivum* L.

1. Giriş

Dünya nüfusu hızla artmakta olup 2050 yılına kadar 10 milyar olması beklenmektedir (FAO, 2017). Dünya nüfusundaki artışa paralel olarak şehirleşmenin artması, su kaynaklarının azalması, erozyon gibi etkenler daha az alandan daha fazla ürün yetiştirilmesi zorunluğuna neden olmaktadır. Ülkemizde son on yılda ekim yapılan tarım alanı

büyüklüğü 39.504 bin hektardan 38.002 bin hektara gerilemiştir (TÜİK, 2017). Küresel nüfusun talebini karşılamak için tarımsal üretimde sürdürülebilir ve bilimsel yaklaşımlar gereklidir (Singh vd., 2017). İstenilen gıda üretimine yönelik olarak, dünya çapında en önemli ve etkili yaklaşımlardan biri yıllık gıda üretiminin %50 “den fazlasının ortadan kalkmasına neden olan zararlılarla

mücadeledir (FAO, 2016). Tarımsal üretkenliği arttırmak için pestisitler, bitki koruma maddeleri olarak önemli araçlardır (Wu vd., 2017). Kimyasal pestisitler, zararlıları ve çeşitli bitki kaynaklı hastalıkları kontrol ederek tarımsal verimi arttırmak için önemli ve potansiyel bir rol oynamaktadır (Rastogi vd., 2017; Moreno-González vd., 2017; Malarkodi vd., 2017; Cheng vd., 2017). Türkiye “de 2016 yılında toplam tarım ilacı kullanım miktarı, 2015 yılına göre %28,2 artarak 50.054 ton “ a yükselmiştir. Kullanılan pestisit miktarı incelendiğinde ülkemizde herbisit (yabancı ot öldürücü) kullanımının %20 gibi yüksek bir oranda olduğu görülmektedir (ÇŞB, 2018). Bitkisel üretim ve verimi arttırmak için istenmeyen bitkilere karşı kullanılan herbisitler organizmalar, toprak ve hava için birer kirleticidir (EFSA 2015). 2,4-D Türkiye “de kullanımı yaygın bir herbisittir (Hansoy 2010). 2,4-D, bir tür fenoksi asit herbisiti olup bunun tuzları ile esterleri, verimli, yüksek oranda seçici herbisitlerdir (Gehring vd.,1990). Orta derecede kararlı kimyasallardır ve yarı ömürleri 20 ila 200 gün arasında değişir. Uygulandıkları ürünlerin gelişiminde yavaşlamaya neden olurlar (Donald vd., 1999). Ayrıca 2,4-D nin konsantrasyonuna bağlı bir şekilde mutajenik ve genotoksik etkiye sahip olduğu bazı çalışmalarda ifade edilmiştir (Pavlica vd., 1991; Enan 2009). Herbisitlerin canlılar üzerinde toksik etki yaptığı bilinmektedir. Bu sebeple son yıllarda herbisitlerin oluşturduğu etkiler ve bu etkilere karşı hücrelerin verdiği cevaplar üzerine yoğun olarak çalışmalar yapılmaktadır (Giray 2007). Herbisitlerin veya çeşitli kimyasalların neden olduğu mutajenik etkiler genellikle sitogenetik olarak test edilir. Diğer taraftan, DNA düzeyindeki bazı etkiler sitogenetik testlerle saptanamamıştır (Khanna vd., 2013). Amplifiye edilmiş parça uzunluk polimorfizmi (AFLP), rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) ve basit sekans tekrarı (ISSR) gibi moleküler belirteçler, DNA seviyesinde genotoksik ve mutajenik

etkileri saptamak için yaygın olarak kullanılmıştır (Piraino vd., 2006; Sobieh vd., 2016). Ancak, Retrotranspozon-arası çoğaltılmış polimorfizm (IRAP) markör tekniği Bu markörler ile karşılaştırıldığında bazı avantajları vardır. IRAP, genomdaki büyük değişiklikleri RFLP AFLP ve ISSR gibi diğer işaretleyicilere göre daha uygun hale getirmektedir. Ayrıca, RAPD “ den farklı olarak, IRAP tekrarlanabilir, daha ucuz ve AFLP “ den daha kolay uygulanabilir bir tekniktir (Schulman vd., 2012; Yüzbaşıoğlu vd., 2016)

Retrotranspozonların çoğu ökaryotik organizmanın başlıca genomik bileşenleridir. Ortaya çıkan veriler, ökaryotik genomların önemli bir kısmının transposable elementlerden oluştuğunu göstermektedir. (Jurka vd., 2007). Örneğin, bitkilerde *Arabidopsis thaliana* “daki nükleer DNA “nın% 15 “ini, bazı çim genomlarının% 50-80 “ini ve bazı Liliaceae “de% 90 “dan fazlasını oluştururlar (Feschotte vd., 2002; Sabot ve Schulman, 2006). İnsanda ise insan genomunun neredeyse yarısını (%42) temsil ederler (IHGSC, 2001).

“Kes-yapıştır” mekanizmasıyla retrotranspozonlar; RNA ara aşaması ile bir genomda, farklı yerlere girerek mutasyonlara yol açabilmektedirler (Schulman ve Kalendar, 2005). Bu hareketli elemanlar çevre koşullarından kolayca etkilenebilirler (Alzohairy vd., 2013, 2012) ve savunma mekanizmalarında önemli rollere sahiptirler (Alzohairy vd., 2014).

Bu çalışmada, *Triticum aestivum* L da 2,4-D isooctylester uygulamalarına bağlı olarak meydana gelen retrotranspozon polimorfizminin boyutunu ve bu hareketliliğin neden olduğu genetik ve epigenetik değişiklikleri tespit etmek amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Tohumların sterilizasyonu ve ekimi

Triticum aestivum L. tohumlarının %5 "lik NaOCl "de 10 dakika muamele edilerek sterilizasyonları sağlanmış ve daha sonra saf su ile durulanıp kurutulmuştur. Yıkanan tohumlar steril kurutma kağıdına konulduktan sonra petrilere ekilmiştir. Üzerlerine artan dozlarda (0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 ve 0,5 ppm) 2,4-D Isooctylester eklenmiş, kontrol grubu ile birlikte petrilere 25°C "de karanlık ortamda çimlenmeye bırakılmıştır.

2.2. IRAP

2.2.1. IRAP-PCR protokolü

Shagai-Maroo ve arkadaşlarının (1984) protokolünde küçük değişiklikler yapılarak buğday örneklerinden genomik DNA "nın izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 6 IRAP primeri (Metabion International AG Lena-Christ-Strasse 44/I D82152 Martinsried, Deutschland) kullanılmıştır. Primerlerin Baz Dizilimi, adı ve erime dereceleri Tablo1. de gösterilmiştir.

Tablo 1. IRAP-PCR analizi için kullanılan primer dizileri ve (Tm) sıcaklıkları

Primerin Adı	Baz Dizilimi 5 "3 "	TM(°C)
SUKKULA	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC	63,3
3LTR-5	TGTTTCCCATGCGACGTTCCCAACA	64,6
LTR 6150	CTGGTTCGGCCATGTCTATGTATCCACACATGTA	64,4
5LTR1 E2647-	TTGCCTCTAGGGCATATTTTCCAACA	58,4
NIKITA	ACCCCTCTAGGCGACATCC	58,7
LTR 6149 -5	CTCGCTCGCCACTACATCAACCGCGTTTATT	65,9

Retrotranspozon hareketliliğinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan IRAP-PCR işlemi için gerekli olan bileşenler ve

miktarları Tablo 2. "da verilen değerlerde hazırlanmıştır. Bu master karışımları 6 primer için de oluşturulmuştur.

Tablo 2. IRAP-PCR analizi için master karışımı

Bileşen	Miktar (µl)
10 x PCR tamponu	0.5
dNTP karışımı (10 mM)	2
Magnezyum klorür (25 mM)	1.25
5 U/µlTaq-DNA polimeraz (Sigma, D6677)	1
IRAP primer (5 mM)	1
Ultra saf su	13.25
50 ng/µl Kalıp DNA	1
Toplam Hacim	20

Tablo 2 “de verilen standart değerlere göre her bir örnekten izole edilen genomik DNA ve Çizelge Tablo 1 “de verilen IRAP primerleri ile her bir örnek için ayrı PCR tüpü hazırlanmıştır. Bu işlemlerin ardından örnekler primerlerin bağlanma sıcaklarına

göre Bio-Rad C1000 Touch PCR cihazında Tablo 3. “ de verilen protokol uygulanmıştır. Bu işlemler her dozda 5 farklı buğday örneğinde ayrı ayrı uygulanmıştır.

Tablo 3. IRAP-PCR protokolü

Döngünün adı	Sıcaklık	Süresi	Döngü Sayısı
Denatürasyon (Başlangıç)	95 °C	2 dk.	1
Denatürasyon	95 °C	30 sn.	2
Primer Bağlanması	* °C	1 dk.	1
Uzama	72 °C	2 dk.	1
Denatürasyon	95 °C	30 sn.	41
Primer Bağlanması	35 °C	1 dk.	1
Uzama	72 °C	2 dk.	1
Son Uzama	72 °C	5 dk.	1
Bekleme	4 °C	∞	1

*ilgili IRAP primerinin bağlanma sıcaklığı

2.2.2. IRAP Analizleri ve genomik kararlılık sabitliğinin (%GTS) Hesaplanması

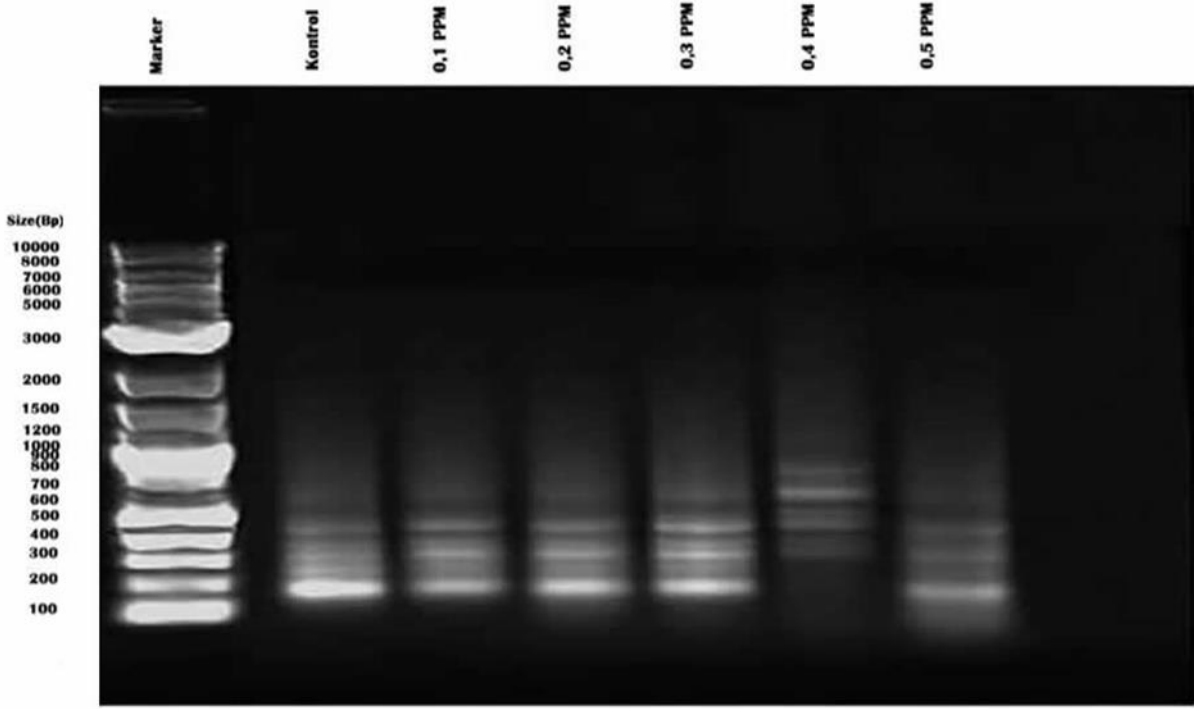
Genomik kalıp sabitliliği (%) Ateizar (1999) “a göre her bir primer ürünü için $100-(100-a/n)$ formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Formülde yer alan a her bir örnek için saptanan IRAP polimorfik profillerini, n ise ilgili primerle negatif kontrol grubunda elde edilen toplam DNA bant miktarını ifade etmektedir. Örneklere ait IRAP profillerinde gözlenen polimorfizm negatif kontrol grubuna göre oluşan yeni bir bantı ya da olan bantın kaybolmasını kapsamıştır. Bu bantların değerlendirilmesinde Total Lab TL120 kullanılmıştır.

3. Sonuç

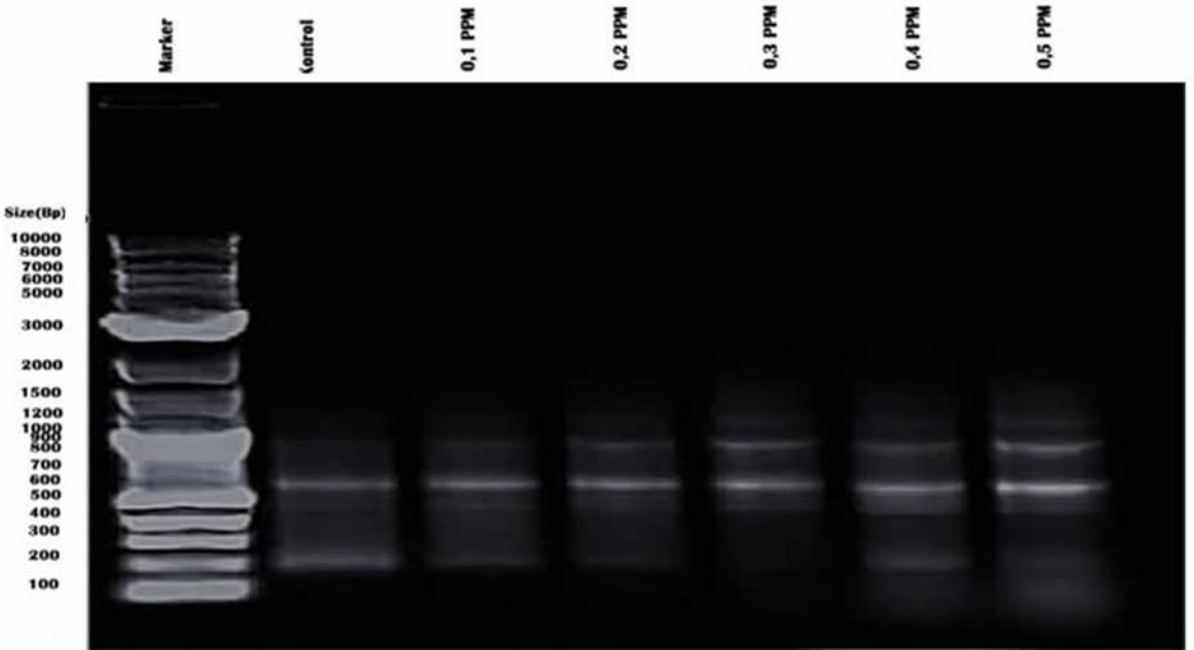
Gen anlatımını ve genomun boyutunu etkileyerek önemli epigenetik değişimlere

sebeplere neden olan retrotranspozonlara 2,4-D Isooctylester herbisitinin neden olduğu stres düzeyi buğday örneklerinde IRAP yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Kullanılan *3LTR-5*, *Sukkula*, LTR 6150, *5LTR1*, *Nikita* E2647, LTR 6149-5 LTR retrotranspozonlarının hareketliliği sebebiyle polimorfizmler tespit edilmiştir. 6 IRAP primerinden 62 ila 1.298 baz çifti (bc) arasında değişen toplam 45 bant oluşmuştur.

Kontrol ile karşılaştırıldığında polimorfizm oranı % 15.38 ila % 53.84 aralığında meydana geldiği görülmüştür. En yüksek polimorfizm 0,5 ppm herbisit uygulanan örnekte %53.84 olarak tespit edilmiştir. Toplam 14 polimorfik bant varlığı veya eksikliğinin olduğu tespit edilmiştir. Şekil 1. “de *3LTR-5* ve Şekil 2. “de *LTR6150* IRAP primerlerinden elde edilen jel görüntüleri verilmiştir.



Şekil 1. 3LTR5 primerinden elde edilen bantlar.



Şekil 2. LTR6150 primerinden elde edilen bantlar.

Retrotranspozonların bu hareketliliği genomik kararlılık sabitliğinin oranında değişimlere yol açmıştır. Genomik kararlılık sabitliğinin üzerine dozların ana etkileri karşılaştırıldığında uygulama dozu artışına bağlı olarak azalma olduğu görülmüştür. Polimorfizm tespit edilen 5

örneğin GTS değerleri % 84.62 ve % 46.16 aralığında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. IRAP analizi sonucu buğday örneklerinde oluşan bantların dağılımı, Genomik Kararlılık Sabitliği (GTS%) ve polimorfizm oranları Tablo 4. “de gösterilmiştir.

Tablo 4. Polimorfizm oranı ve GTS%

	KONTROL	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm	5 ppm
LTR6150	4	1.033+	1.033+	1.035+	1.032+	1.033+
					454+	479+
					102+	94+
3LTR-5	5			692+	744+	729+
					692+	691+
NIKITA E2647	4	343-	343-	343-	343-	592+
LTR 6149-5	4	426+	429+	391+	440+	436+
		278-	278-	334-	406+	334-
					278-	278-
						87+
5LTR1	3			1.298+	1.282+	1.282+
				526-	1.106+	1.106+
					526-	526-
SUKKULA	6			1.123+	1.123+	1.123+
TOPLAM	26	4	4	8	13	14
Polimorfizm %		%15,38	%15,38	%30,76	%50,00	%53,84
GTS Değeri %		%84,62	%84,62	%69,24	%50,00	%46,16

“+ “ “ Kontrol gurubuna göre ekstra bant oluşumunu, “-“ “ “ Kontrol gurubuna göre kaybolan bantı ifade etmektedir.

4. Tartışma

Tarımın başlıca amacı ekolojik dengeleri bozmadan, birim alandan olabildiğince çok miktarda ve yüksek kalitede ürün elde etmektir. Bu amacı sınırlayan en önemli etmenlerden biri kuşku yok ki hastalık, zararlı ve yabancı otlardır (Topal, 2011). Yabancı otlardan kaynaklanan ürün kaybının yaklaşık %32 olduğu ve bu kaybın tüm bitki koruma sorunlarından

kaynaklanan zararın yaklaşık yarısına ulaştığı bildirilmektedir (Aydın ve Tursun, 2010). Dünyanın sürekli artan nüfusunun gıda gereksinimini karşılamak için ürün kayıplarını azaltmaya yönelik olarak tarımda zararlı otları belli sınır değerlerinin altında tutmak için herbisit kullanımı kabul edilebilir bir yaklaşım olmuştur. Ancak herbisitlerin sürekli ve yüksek dozlarda kullanılması çevre kirliliğine neden

olmakta, bitkilerde strese neden olmaktadır (Bhadoria, 2011).

Farklı streslerin birçok bitki retrotranspozonunu etkilediği bilinmektedir. Ökaryotik organizmalarda genomun önemli bir bölümünü oluşturan retrotranspozonlar çoğunlukla sessiz olup, stres koşullarında etkin hale geçerler (Jurka vd., 2007). Çeşitli biyotik ve abiyotik streslerin çeşitli transkripsiyonel aktif LTR retrotranspozonlarının anlatımını arttırdığına dair birçok çalışma bulunmaktadır (Hirochika vd., 1995; Grandbastien et al., 2005; Salazar vd., 2007; Yıldırım Doğan ve Bulut, 2017). Bu çalışmada, IRAP tekniği ile 2,4-D Isooctylester in buğday tohumları üzerine genotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Analizlerde kullanılan LTR6150, 3LTR-5, NIKITA E2647, LTR 6149-5, 5LTR1, SUKKULA primerlerinde retrotranspozonların hareketliliği sebebiyle polimorfizmler elde edilmiştir. Kullanılan 2,4-D Isooctylester herbisitinin en yüksek dozunda polimorfizm değerlerinin yüksek olduğu görülmüştür. Uygulanan herbisit sebebiyle hareketlilik düzeyi artan retrotranspozonlardan buğdayın (GTS) “ini olumsuz yönde etkilediği anlaşılmıştır. Retrotranspozonların hareketliliğinden kaynaklı olarak primer bağlanma noktalarında ve genom profilindeki meydana gelen değişimler yeni bantların oluşumuna veya var olan bantın yok olmasına yol açabilmektedir. Bu sebeple herbisit stresine maruz kalan örnekler ile kontrol grubu örnekleri karşılaştırıldığında polimorfizmler elde edilmiştir.

Herbisitlerin bitkilerde toksik etkilere neden olduğu önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Ceneci vd.(2010) yaptığı çalışmada fasülye (*Phaseolus vulgaris*) bitkisine uyguladığı farklı dozlarda (2,4-D) and (Dicamba) kaynaklı olarak genetik farklılıkların ortaya çıktığını tespit etmiştir.

Yılmaz vd.(2018) herbisitlerin prinç (*Oryza sativa*) üzerindeki Retrotranspozon aktivitelerini, IRAP markör tekniği kullanılarak araştırdığı çalışmada Bentazone ve MCPA herbisit uygulamasının, artan konsantrasyon ile pirinçte retrotranspozon aktivitelerini artırabileceğini göstermiştir. Taspınar vd.(2016), farklı konsantrasyonlarda deltametrine maruz kalan *Phaseolus vulgaris* fidelerinde CRED-RA tekniği kullanarak DNA metilasyon değişimini ve DNA hasar düzeyini incelemiştir. Deltametrinin RAPD profil değişikliklerinde (DNA hasarı) artışa ve Genomik Şablon Stabilitesinde (GTS) azalmaya neden olduğunu sonucuna varmışlardır. Literatür sonuçları incelendiğinde çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür. Sonuç olarak çalışmamızda 2,4-D Isooctylester herbisitinin tahıllarda meydana getirdiği stres sebebiyle retrotranspozon hareketliliğine neden olduğu IRAP analizlerinde tespit edilmiş olup stres faktörlerinin retrotranspozon hareketliliğine etkisinin incelenmesinde IRAP yönteminin kullanılabilirliği anlaşılmıştır

5. Kaynaklar

Alzohairy, A.M., Yousef, M.A., Edris, S., et al. 2012. “Detection of LTR retrotransposons reactivation induced by *in vitro* environmental stresses in barley (*Hordeum vulgare*) via RT-qPCR”. *Life Sci J.*,9,5019–5026.

Alzohairy, A.M., Gyulai, G., Jansen, R.K., et al., 2013. “Transposable elements domesticated and neo functionalized by eukaryotic genomes”. *Plasmid.*,69,1–15.

Alzohairy, A.M., Sabir, J.S.M., Gyulai, G., et al. 2014. “Environmental stress activation of plant long-terminal repeat

retrotransposons". *Funct Plant Biol.*,41,557–567.

Bhadoria, B P S. 2011. "Allelopathy: A Natural Way Towards Weed Management". *Ajea* 1(1),7-20.

Bulut, H., Yildirim Doğan, N., 2017. "Determination by Molecular Methods of Genetic and Epigenetic Changes Caused by Heavy Metals in Ashes Discharged from Thermic Power Plants". *Tabad - Rjas*, 10, 38-43.

Cenkci, S. , Yildiz, M., Ciğerci, I.H. , Bozdağ, A. , Terzi, H. , Terzi, E.S. 2010. "Evaluation of 2,4-D and Dicamba genotoxicity in bean seedlings using comet and RAPD assays. *Ecotox Environ Safe*". 73, 1558-1564.

Cheng, H. Marín-Sáez, J. Romero-González, R. Frenich, A.G. 2017. "Simultaneous determination of atropine and scopolamine in buckwheat and related products using modified QuEChERS and liquid chromatography tandem mass spectrometry". *Food Chem.*, 218, 173-180.

Donald D.B., Syrgiannis J, Hunter F, Weiss G.1999. "Agricultural pesticides threaten the ecological integrity of northern prairie wetlands". *Sci. Total Environ. Jul.*, 23, 173-81.

EFSA (European Food Safety Authority), 2015. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance bentazone. *EFSA J.* 26,4077.

Enan, M.R. 2009. "Genotoxicity of the herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D): higher plants as monitoring systems". *JTFE*, 25, 147-155.

FAO - Dünya Tarım Örgütü. 2016. "Summary Report on World Fertilizer Trends on Outlook to 2019".

FAO- Dünya Tarım Örgütü. 2017. "The Future of Food and Agriculture: Trends and Challenges".

Feschotte, C., Jiang, N. and Wessler, S.R. 2002. "Plant transposable elements: where Genetics meets genomics". *Nat. Rev. Genet.*, 3, 329- 341.

Gehring, C.A., Irving, H.R., Parish, R.W. 1990. "Effects of auxin and abscisic acid on cytosolic calcium and pH in plant cells". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 9645–9649.

Giray Kurt, A. 2007. "Callisto Herbisitinin Zea mays L. (Mısır) "in Martha F1 Kültür Formunda Total Glutatyon, Glutatyon Redüktaz, Glutatyon-S-Transferaz ve Pigment İçeriği Üzerine Etkileri". Y. Lisans Tezi, *İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Malatya,1-91.

Grandbastien, M.A., Audeon, C.E., Bonnivard, J.M., Casacuberta B, Chalhoub, A.P.P, Costa, Q.H., Lea, D., Melayah, M., Petit, C., Poncet, S.M., Tam, M.A., Van Sluys, C. and Mhiria 2005. "Stress activation and genomic impact of Tnt1 retrotransposons in *Solanaceae*". *Cytogenet Genome Res.*, 110, 229- 241.

Hansoy, Z. 2010. "Bir Herbisit Olan 2,4-D (2,4-diklorofenoksiasetik asit) "nin *Poecilia reticulata* (*Teleostei, Poeciliidae*) "da Testis Dokusu Üzerine Etkisi". Y. Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 1-98.

IHGSC (International Human Genome Sequencing Consortium) 2001, "Initial sequencing and analysis of the human genome". *Nature*, 409, 860- 921.

Hirochika, H. 1995. "Activation of plant retrotransposons by stress, in Oono K, Takaiwa F (eds): Modification of Gene Expression and Non-Mendelian Inheritance". *NIAS-Japan* pp 15-21.

- Jurka J, Kapitonov VV, Kohany O and JurkamMV. 2007. “Repetitive Sequences in Complex Genomes: Structure and Evolution”. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 8, 241-259.
- Khanna, N., Sharma, S. 2013. “Allium cepa root chromosomal aberration assay: a review”. *IJPBR*, 1,105–119.
- Malarkodi, C. Rajeshkumar, S. Annadurai, G. 2017. “Detection of environmentally hazardous pesticide in fruit and vegetable samples using gold nanoparticles”. *Food Control*, 80, 11-18.
- Moreno-González, D. Pérez-Ortega, P. Gilbert-López, B. Molina-Díaz, A. García-Reyes, J.F. Fernández-Alba, A.R. 2017. “Evaluation of nanoflow liquid chromatography high resolution mass spectrometry for pesticide residue analysis in food”. *J. Chromatogr. A*, 1512, 78-87.
- Pavlica, M., Papes, D. and Nagy, B. 1991. “2,4-Dichlorophenoxyacetic acid causes chromatin and chromosome abnormalities in plant cells and mutation in cultured mammalian cells”. *Mutat Res.*, 263, 77-81.
- Piraino, F., Aina, R., Palin, L., et al. 2006. “Air quality biomonitoring: assessment of air pollution genotoxicity in the province of Novara (North Italy) by using *Trifolium repens* L. and molecular markers”. *Sci Total Environ.*, 72,350–359.
- Rastogi, L. Dash, K. Ballal, A. 2017. “Selective colorimetric/visual detection of Al³⁺ in ground water using ascorbic acid capped gold nanoparticles”. *Sensor Actuat B-Chem*, 248, 124-132.
- Sobieh, S.S., Kheirallai, Z.M.H., Rushdy, A.A., et al. 2016. “In vitro and in vivo genotoxicity and molecular response of silver nanoparticles on different biological model systems”. *Caryologia*, 69,147–161.
- Sabot, F. and Schulman, A.H. 2006. “Parasitism and the retrotransposon life cycle in plants: a hitchhiker’s guide to the genome”. *Heredity*, 97,381-388.
- Schulman, A.H., Flavell, A.J., Paux, E., et al. 2012. “The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants”. *Methods Mol Biol.*, 859,115–153.
- Schulman, A.H., Kalendar, R. 2005. “A movable feast: Diverse retrotransposons and their contribution to barley genome Dynamics”. *Cytogenet Genome Res*, 110, 598-605
- Saghai-Marroof, M.A., Soliman, K.M., Jorgensen, R.A., Allard, R.W. 1984. “Ribosomal DNA sepaacer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population Dynamics”. *Proc Natl Acad Sci.*,81,8014–8019.
- Salazar, M., González, E., Casaretto, J.A., Casacuberta, J.M. and Ruiz-Lara, S. 2007. “The promoter of the TLC1.1 retrotransposon from *Solanum chilense* is activated by multiple stress-related signaling molecules”. *Plant Cell Rep.*,26, 1861-1868.
- Singh, S. Tripathi, P. Kumar, N. Nara, S. 2017. “Colorimetric sensing of malathion using palladium-gold bimetallic nanozyme Biosens”. *Biosensors & Bioelectronics*, 92, 280-286.
- Taspınar, M.S., Aydin, M., Arslan, E., Yaprak, M., Agar, G. 2016. “5-Aminolevulinic acid improves DNA damage and DNA Methylation changes in deltamethrin-exposed *Phaseolus vulgaris* seedlings”. *Plant Physiol Bioch.* 118, 267-273.
- Topal, S. 2011. “Allelokimyasalların herbisit etkileri “. *Dumlupınar Üniversitesi*,

Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 25, 1302-3055.

TÜİK. “2017 Türk İstatistik Enstitüsü”,

“<http://www.turkstat.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>“, Son Erişim Tarihi 12.08.2018

Üremiş, İ. 2006. “Türkiye “de *Brassicaceae* Familyasından Bitkilerin Allelopatik Etkileri Üzerine Yapılan Çalışmalar”. *Allelopati Çalıştayı (Türkiye’de Allelopatinin Kullanımı: Dün, Bugün, Yarın)* Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, 24.

Wu, C.C. 2017. “Multiresidue method for the determination of pesticides in Oolong tea using QuEChERS by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry”. *Food Chem*, 229, 580-587.

Yılmaz, S., Maraklı, S., Yüzbaşıoğlu, G., Gözükırmızı, N. 2018. “Short-term mutagenicity test by using IRAP molecular marker in rice grown under herbicide treatment”. *Biotechnol Biotec Eq*. DOI: 10.1080/13102818.2018.1474137

Yüzbaşıoğlu, G., Yılmaz, S., Gözükırmızı, N. 2016. “Houba retrotransposon- based molecular markers, tool for variation analysis in rice”. *Turk J Agric For.*,40,456–464.