

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BASUDIN 60 EM VE CUPRAVIT OB 21 PESTİSİTLERİNİN *Allium cepa*
BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ FİZYOLOJİK, SİTOGENETİK VE BİYOKİMYASAL
ETKİLERİ

İLHAN ARSLANOĞLU

OCAK 2011

Biyoloji Anabilim Dalında İlhan ARSLANOĞLU tarafından hazırlanan BASUDIN 60 EM VE CUPRAVIT OB 21 PESTİSİTLERİNİN *Allium cepa* BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ FİZYOLOJİK, SİTOGENETİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Aysun ERGENE

Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Doç. Dr. Bülent İÇGEN _____

Üye (Danışman) : Prof. Dr. Aysun ERGENE _____

Üye : Doç. Dr. Sema TAN _____

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. İhsan ULUER

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

BASUDIN 60 EM VE CUPRAVIT OB 21 PESTİSİTLERİNİN *Allium cepa* BİTKİSİ
ÜZERİDEKİ FİZYOLOJİK, SİTOGENETİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

ARSLANOĞLU, İlhan

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Aysun ERGENE

Ocak 2011, 69 sayfa

Pestisitlerin yaygın kullanımı sağlık, çevre ve ekonomik açıdan çeşitli olumsuzlukları da beraberinde getirmektedir. Özellikle hedef alınmayan canlılar üzerinde pestisitlerin, gelişmeyi durdurucu, hastalık yapıcı, mutajenik, kanserojenik ve öldürücü etkilere sahip olduğu *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla belirlenmiştir. Pestisit uygulanmış ürünlerden insanların ve diğer canlıların zarar görmemesi için, pestisitlerin mutajenik etkilerinin test edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada tarım alanında kullanılan Basudin 60 EM (insektisit) ve Cupravit ob 21 (fungisit) pestisitlerinin, bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın kullanıma sahip olan *Allium cepa* bitkisi üzerine fizyolojik, sitotoksik ve biyokimyasal etkileri incelenmiştir. Tüm pestisitlerle muamele edilen bitki köklerinde kromozom hasarları, mitoz anormallikleri gözlenmiş, mitotik indeks ve mikronükleus tayini yapılmıştır.

Allium cepa tohumlarında kök uzunluğu ve ağırlık kazanımı, genç yapraklardan alınan örneklerde ise enzim, protein ve pigment analizleri gerçekleştirilmiştir. Böylece fazla miktarda ve kontrolsüzce kullanılan pestisitlerin *Allium cepa* üzerindeki etkilerinin zararlı olduğu görölmüştür.

Anahtar Kelimeler: Basudin 60 EM, Cupravit ob 21, *Allium cepa*, Pestisit, İnsektisit, Fungusit.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PHYSIOLOGICAL, CYTOGENETICAL AND
BIOCHEMICAL EFFECTS OF BASUDIN 60 EM AND CUPRAVIT OB 21
PESTICIDES ON *Allium cepa*

ARSLANOĞLU, İlhan

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M. Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Aysun ERGENE

January 2011, 69 Pages

Uncontrolled use of pesticides cause lots of problems on health, environment and economy. Inhibition of nontarget organisms, pathogenicity, mutagenicity, cancerogenicity and lethal effects of pesticides are reported *in vivo* and *in vitro* studies. The mutagenicity effects of the pesticides must be analysed in order to eliminate these harmful effects.

Basudin and Cupravit are used commonly in agricultural areas. In this study, the physiologic, cytotoxic and biochemical effects of Basudin 60 EM (insecticide) and Cupravit ob 21 (fungicide) on *Allium cepa* were studied. Chromosomal aberrations, mitos abnormalities, mitotic index and micronucleus assay of applied pesticides on *Allium cepa* roots were determined. Enzyme, assays protein and pigment analysis were done by using the plants leaves, gained weight and root length of seeds were

also examined. The use of uncontrolled and large amount of pesticides have been shown harmful to *Allium cepa*.

Key Words: Basudin 60 EM, Cupravit ob 21, *Allium cepa*, Pesticide, Insecticide Fungicide.

Biricik Anneme...

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezimi hazırlarken her aşamasında bana destek olan, bilimsel deney imkanlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, tez yöneticisi değerli hocam, Sayın Prof. Dr. Aysun ERGENE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında, bilimsel konularda yardımını esirgemeyen hocalarım Sayın Doç. Dr. Sema TAN'a ve Sayın Doç Dr. Bülent İÇGEN'e, laboratuvar çalışmalarımda destek olan çalışma arkadaşım Bilim Uzmanı Fadime YILMAZ'a, deneysel çalışmaları birlikte yürüttüğüm arkadaşlarım Serap TOPÇU'ya, Arzu KAYA'ya ve çalışmalarım boyunca emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Maddi ve manevi her konuda beni destekleyen aileme, her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen Gamze ÖZER'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, 108T-156 nolu “*Allium cepa* Bitkisi Üzerine Antracol WP 70, Basudin 60 EM, Challenge 600, Cupravit ob 21, Dursban 4, Roundup, Pestisitlerinin Sitotoksik, Biyokimyasal ve Fizyolojik Etkilerinin Araştırılması” isimli proje olarak TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. Kaynak özetleri.....	2
1.1.1. Pestisitler ve Özellikleri.....	3
1.1.2. Pestisitlerin Kullanım Alanları.....	4
1.1.3. Pestisitlerin Etkileri.....	5
1.1.4. Pestisitlerin Mitoz Bölünme Üzerine Etkisi.....	7
1.1.5. Pestisitlerin Antioksidan Sistem Enzimleri Üzerine Etkisi.....	10
1.1.6. Pestisitlerin Fotosentez Üzerine Etkisi.....	12
1.1.7. Tarım İlaçları.....	13
1.1.8. Pestisit Kullanımı.....	14
1.2. Çalışmanın Amacı.....	16
2. MATERYAL VE YÖNTEM	17
2.1. Materyal.....	17
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	17
2.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	18
2.1.3. Materyalin Temini ve Yetiştirilmesi.....	18

2.2. Pestisitlerin Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi.....	19
2.2.1. Fidelerde Kök Uzunluğu ve Ağırlık Kazanımının Tespiti.....	19
2.2.2. Pigment Analizi.....	19
2.2.2.1. Klorofil a ve Klorofil b Tayini.....	19
2.2.2.2. Karotenoid Tayini.....	20
2.3. Pestisitlerin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi.....	21
2.3.1. Biüret Metoduyla Total Protein Tayini.....	21
2.3.2. SOD, CAT ve GSH-Px Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	21
2.3.2.1. Superoksitdismutaz (SOD) Tayini.....	21
2.3.2.2. Katalaz (CAT) tayini.....	22
2.3.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayini.....	23
2.4. Pestisitlerin Sitolojik Parametreler Üzerine Etkisi.....	23
2.4.1. Mikronükleus Testi, Mitotik İndeks, Mitoz ve Kromozom Anormallikleri.....	23
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	25
3.1. Pestisitlerin Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi	25
3.1.1. Çimlenen <i>Allium cepa</i> 'da Kök Uzunluğu ve Ağırlık Kazanımı Tespiti..	25
3.1.2. Çimlenen <i>Allium cepa</i> 'da Pigment Miktarındaki Değişimler.....	28
3.2. Pestisitlerin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi.....	29
3.2.1. Total Protein Tayini.....	29
3.2.2. SOD, CAT ve GSH-Px Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	30
3.3. Pestisitlerin Sitolojik Parametreler Üzerine Etkisi.....	33
3.3.1. MN Testi, Mitotik İndeks, Mitoz ve Kromozom Anormallikleri.....	33
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	43
KAYNAKLAR.....	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	Sayfa
1.1. Türkiye’de yıllara göre pestisit kullanım miktarları.....	4
1.2. Pestisitlerin doğadaki hareketleri.....	7
1.3. <i>Allium cepa</i> ’ da mitoz bölünme safhaları.....	9
1.4. Dünyada pestisit kullanımının gruplara göre dağılımı.....	14
1.5. Dünya pestisit pazar payları.....	15
1.6. Türkiye’ de gruplara göre pestisit kullanım oranları	15
3.1. Basudin (1) ve Cupravit (2) çözeltilerinde [Kontrol (a), 600 (b), 1200 (c) ve 1800 (d) ppm] çimlendirilen <i>Allium cepa</i> örnekleri.....	27
3.2. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve karotenoid miktarları.....	29
3.3. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltileriyle muamele edilen <i>Allium cepa</i> kök uçlarında ölçülen total protein miktarları.....	30
3.4. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> yapraklarındaki SOD aktivitesi.....	31
3.5. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> yapraklarındaki CAT aktivitesi.....	32
3.6. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> yapraklarındaki GSH-Px aktivitesi.....	33
3.7. 1200 ve 1800 ppm Basudin çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde MN oluşumları.....	35

3.8. 600, 1200 ve 1800 ppm Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde MN oluşumları.....	36
3.9. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (600 ppm Basudin).....	37
3.10. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1200 ppm Basudin).....	38
3.11. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1800 ppm Basudin).....	39
3.12. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (600 ppm Cupravit).....	40
3.13. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1200 ppm Cupravit).....	41
3.14. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1800 ppm Cupravit).....	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE	Sayfa
2.1. Çalışmada kullanılan pestisitler.....	17
3.1. Çimlenen <i>Allium cepa</i> ' da kök uzunluğu üzerine pestisitlerin etkileri.....	26
3.2. Farklı pestisit çözeltilerinde çimlenen <i>Allium cepa</i> ' da MI sonuçları.....	34

KISALTMALAR DİZİNİ

CAT	Katalaz
DDT	Dikloro Difenil Trikloretan
G6PD	Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GR	Glutatyon Redüktaz
GSH-Px	Glutatyon Peroksidaz
LD ₅₀	Letal Doz %50
MI	Mitotik İndeks
MN	Mikronükleus
ppm	part per million (milyonda bir birim)
SOD	Süperoksit Dismutaz

1. GİRİŞ

Bitkiler dünya nüfusunun ana besin kaynağını oluşturmaktadır. Ancak bütün dünyada yaklaşık 80.000 – 100.000 adet bitki hastalığı, 1.800'ü ekonomik hasara neden olan 30.000 adet yabancı ot, 1.000'den fazlası şiddetli zarar nedeni olan 3.000 adet nematod, 10.000'i önemli ürün kaybına neden olan 800.000 adet böcek çeşidi tarımsal ürünlere zarar vermektedir. Yapılan çalışmalar dünya gıda üretiminin 1/3'ünün bu zararlılar tarafından tahrip edildiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte yılda ortalama 80 milyon artan dünya nüfusunu beslemek için kullanılan tarım alanlarının miktarı da sınırlıdır ve küresel ısınmanın sonuçlarından biri olarak gün geçtikçe bu alanlar azalmaktadır (1-5). Ortaya çıkan beslenme problemini çözmek amacıyla öncelikli olarak tarım alanlarından maksimum düzeyde ürün sağlanabilmesi yönündeki çalışmalar hız kazanmaktadır (6).

Tarım zararlıları ve hastalıklarla mücadele, tarımsal üretimde kalite ve verimliliğin artırılmasında, hasat öncesi ve sonrasında kayıpların önlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde ve dünyada uygulama kolaylığı ve iyi sonuç alınması nedeniyle daha çok kimyasal savaşa başvurulmaktadır. Bu amaçla kullanılan kimyasallar (tarımsal ilaçlar, pestisitler veya zirai mücadele ilaçları), bitki koruma ürünleri olarak ulusal mevzuata göre kullanılmaktadır. Türk Gıda Kodeksi bitki koruma ürünlerini, tarımsal ürünlerin üretimi, işlenmesi, depolanması, taşınması ve dağıtılması sırasında hastalığın, zararlıların, yabancı otların ve mikroorganizmaların kontrol edilmesi, uzaklaştırılması, imha edilmesi ve önlenmesi amacıyla kullanılan, bitki gelişimini düzenleyiciler dahil, kimyasal maddeler olarak tanımlamaktadır. Bitkilerin büyümesini düzenleyen, yaprak düşüren, filizlenmeyi önleyen maddeler de bu tanım kapsamına girmektedir. Bitki zararlılarına karşı zehir etkisine sahip olan pestisitler, gıda maddeleri için “bulaşan” niteliğindeki istenmeyen maddelerdir. Buna göre bulaşanlar; bitki, hayvan ve/veya toprak kökenli yabancı maddeler, ilaç kalıntıları, insan sağlığına zararlı olan plastik madde, deterjan, dezenfektan, radyoaktif madde kalıntıları ve her türlü istenmeyen maddelerdir (7,8).

Dünyada ve ülkemizde tarım alanındaki zararlıları yok etmek ve daha kaliteli ürün elde etmek amacıyla pestisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal savaşında kullanılan pestisitler hedef organizmaları yok ederek ürün artışına neden olabildikleri gibi, hedef olmayan canlılarda da hasarlara yol açmaktadırlar (9,10). Bu maddeler hedef olmayan organizmaya çeşitli yollarla girebilmekte ve bu organizmada sinir sistemi, endokrin sistem, immün sistem, karaciğer, kas, kalp, kan, boşaltım ve diğer sistemleri etkileyebilmektedir (11-15). Pestisitlerin özellikle hedef alınmayan canlılar üzerinde gelişmeyi durdurucu, hastalık yapıcı, mutajenik, kanser yapıcı ve hatta öldürücü etkilere sahip olduğu *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla belirlenmiştir (2-5).

İnsanlar tarafından tüketilen gıdalardaki pestisit kalıntıları, insan sağlığı açısından önemli bir risk faktörüdür. Bu nedenle, tüketiciye ulaştırılan ürünün güvenli olması bakımından gıdalara bulaşan tarım ilaçlarının minimum seviyede tutulması gerekmektedir. Yasalarda öngörülen limitlerin aşılması sonucunda, insan sağlığı tehlikeye girebilmekte, zehirlenmeler olabilmektedir. Ayrıca hayvan yemlerinde kullanılan pestisitler et, süt, yumurta gibi ürünlerle insan sağlığını olumsuz etkilemektedir (7). Pestisitler ve bu kimyasal maddelerin kalıntıları çeşitli zaman ve yerlerde biyolojik besin zincirine girerek akut ve kronik zehirlenme tehlikesinden başka, muhtemel mutajenik etkileri ile gelecek nesillerin genetik sağlığını tehdit etmektedir (16). Zira pestisitlerin, bitkilerdeki veya insan lenfosit hücrelerindeki nükleik asitlere, kromozomlara ve mitoz bölünmeye olumsuz etkileri bulunmaktadır (17). Tarımı yapılan ürünlerden insanların ve hedef alınmayan canlıların direkt veya dolaylı yollarla zarar görmemesi için pestisitlerin biyokimyasal ve fizyolojik etkileri detaylı olarak incelenmeli, sitotoksikite testleri yapılmalı, mutajenik etkileri test metodlarıyla belirlenmelidir.

1.1. Kaynak Özetleri

Günümüzde artan nüfusun besin ihtiyacını karşılayacak tarım alanlarının kısıtlı oluşu insanoğlunun karşılaştığı en önemli problemlerden birisidir. FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü) verilerine göre mevcut dünya nüfusunun % 40' ı

yeterli seviyede beslenememekte, bunun sonucunda da açlık ve sefaletten dolayı her yıl binlerce kişi ölmektedir (18).

Dünya nüfusunun beslenme ihtiyacını karşılamak için, tarımda birim alandan alınan ürün miktarının artması, iyi tohum kullanımı, gübreleme, sulama, toprak hazırlama gibi faktörlerin yanında hastalık ve zararlılarla mücadele ile mümkün olmaktadır (19). Türkiye' de ve birçok gelişmiş ülkede tarım zararlıları ile mücadele kimyasal ilaçlarla yapılmaktadır. Bugün tarım ilaçlarının kullanılmaması durumunda, bazı ürünlerde ortalama % 65 civarında kayıpların meydana gelebileceği tahmin edilmektedir. Ancak tarım ilaçları, çoğu insan tarafından bilinçsizce kullanılmaktadır. Bu ilaçlardan en önemlisi ve kullanımına dikkat edilmezse en zararlısı, pestisitlerdir (3, 5, 18- 22).

1.1.1. Pestisitler ve Özellikleri

Pestisitler (biyosid), besin maddelerinin üretimi, tüketimi, depolanmaları sırasında tarımsal ürünlere zarar veren ve ürün kaybına neden olan hastalık yapıcı mikroorganizma ve böcek, kemirici, yabancı ot, mantar gibi zararlıları uzaklaştırmak, yok etmek ve bitki büyümesini düzenlemek amacıyla kullanılan kimyasal ya da biyolojik ürünlerdir (23, 24).

Pestisitler, oksitleyici özelliğe sahip bileşiklerdir. Hücre membranındaki lipitleri, proteinleri ve DNA'yı oksitleyebilmektedirler. Membran lipitlerinin oksidasyonu, membrandaki lipitlerin peroksidasyonuna neden olup, hücre membran permeabilitesini bozarak hücre metabolizmasını ve morfolojisini olumsuz yönde etkilemektedirler (25).

Çoğu aromatik bileşikler olan pestisitlerin kirletici potansiyelleri, biyolojik etkinliklerine ve zehir etkilerine bağlı olarak değişmektedir. Pestisitlerin topraktaki kalıcılığı (yarı ömrü), pestisit başlangıç düzeyinin yarısının ortadan kalkması veya diğer bileşiklere ayrışabilmesi için gereken zaman aralığıdır. Ancak bazı durumlarda

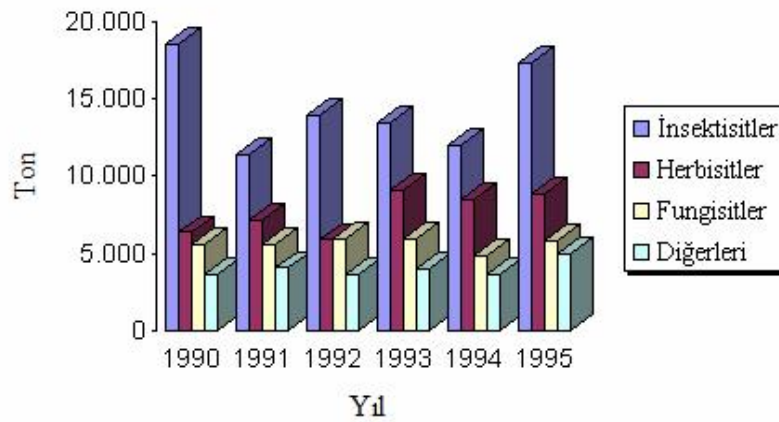
ayırışma ürünleri, özgün bileşik kadar veya ondan daha zararlı etkilere de sahip olabilmektedir (19).

Zehirlilik özelliği gösteren bir maddenin pestisit olabilmesi için biyolojik olarak etkili, güvenilir ve stabil olması; kullanıcılar ve tüketiciler açısından güvenilir olması, besihayvanları için güvenilir olması, yabancı hayata ve faydalı organizmalara zararlı olmaması ve çevre için kabul edilebilir olması, ticarete probleme sebep olmaması gerekir (26).

1.1.2. Pestisitlerin Kullanım Alanları

Pestisitler, tarım ve bahçecilikte böcek ve kemiricilere karşı mahsulün korunmasında, kamu sağlığı çalışmalarında, vahşi yaşamın korunmasında, ev içi ve ev çevresi alanlarda, ormancılıkta kereste korumacılığında, hayvancılıkta, endüstriyel böcek kontrolünde, gıda saklanmasında, tıbbi amaçlı, toplum hijyeninin sağlanmasında ve veterinerlikte kullanılmaktadır (27).

Türkiye'de insektisit kullanımı 1990 yılında 18.551 ton civarında iken 1991 ile 1994 yılları arasında bu miktar düşme göstermiş fakat 1995 yılında tekrar 17.383 ton seviyesine yükselmiştir (Şekil 1.1). Fungisit ve herbisitlerin kullanımı ise 1990 yılında 6.349 ton civarında iken yıllar geçtikçe kullanım miktarları artmaktadır (28).



Şekil 1.1. Türkiye’de yıllara göre pestisit kullanım miktarları (28)

Tarımsal pestisitlerin %14-80'i toprağa uygulanmaktadır (29). ABD'de pestisit kullanımının %75'i tarımsal alandadır. Ayrıca dünyada DDT, aldrin, dieldrin, klordon, heptaklor, lindan, toksofen kullanımları yasaklanmıştır (27). Tarımsal pestisit kullanımında, dünya çapındaki tüm otoritelerce kabul edilen maksimum pestisit seviyesi 0,1µg / l'dir (29).

1.1.3. Pestisitlerin Etkileri

Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturuvcu etkileri saptanmıştır. Pestisitlerin kullanımı bir taraftan tarımda üretimi artırırken, diğer taraftan bilinçsiz ve hatalı kullanım sonucu, hem insan hem de çevre sağlığı problemleri ortaya çıkmaktadır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Pestisitler, tavsiye edilen dozların üzerinde kullanıldıklarında, gereğinden fazla sayıda ilaçlama yapıldığında, gerekmediği halde birden fazla ilaç karıştırılarak kullanıldığında veya son ilaçlama ile hasat dönemi arasında bırakılması gereken süreye uyulmadığı durumlarda, gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir. Yüksek dozda pestisit kalıntısı içeren gıdalarla beslenen insanlarda ve çevredeki diğer canlılarda, akut veya kronik zehirlenmeler olabilmekte, özellikle bazı ürünlerde aroma ve kalite değişimleri meydana gelebilmektedir (18). Hemen bütün insektisitler spesifik olmadıkları için sadece hedef organizmaları öldürmemekte, omurgalı ve omurgasız diğer organizmaları da etkilemektedir (22, 30, 31).

Tarımsal alanlara, orman veya bahçelere uygulanan pestisitler, havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşüme uğramaktadır. Bir pestisitinin çevredeki hareketlerini, pestisitinin kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon tipi ve uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir (32). Pestisitlerin, en önemli yan etkileri şunlardır:

- i. Kuş, balık, mikroorganizma ve omurgasızlar gibi hedef olmayan organizmalarda ölümlere ve üreme potansiyelinin azalmasına,

- ii. Hedef olamayan canlılarda pestisitlere karşı dayanıklılık oluşması sonucu, hastalık taşıyan böcek ve parazitlerin kontrolden çıkmasına,
- iii. Ekosistemin yapısının ve türlerin sayısının değişmesi gibi uzun süren etkilere neden olmaktadır (32).

Pestisitlerin canlılar üzerindeki etkisi fetal yaşamdan itibaren başlamaktadır. Bu ilaçlar plasentadan fetüse geçmekte ve bunun sonucu olarak düşükler olabilmekte, hiperpigmentasyon ve hiperkeratotik (anormal derecede kalın, çatlak bir deriye sahip) çocuk doğumları görülmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde, radyoaktif olarak işaretlenip anneye verilen pestisitlerin 5 saat sonra plasentadan fetüse geçtiği ve fetüsün göz, sinir sistemi ve karaciğerine yerleştiği gözlenmiştir. Kan hücreleri üzerine de olumsuz etkileri bulunan pestisitlerin bazıları, eritrositlerin boyutlarının ve yüzey şekillerinin bozulmasına ve eritrosit antioksidan sistem enzimlerinin aktivitelerinde değişmelere sebep olmaktadır (14, 33).

Pestisitlerin önemli etkilerinden bir diğeri de asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmeleridir ki bu durumda, alt beyin kökünde solunum kontrol merkezlerinin baskılanması canlının ölümüne sebep olur (34).

Pestisitlerin püskürtülerek uygulanması sırasında ise, bir kısmı buharlaşma ve dağılma nedeniyle kaybolurken, diğer kısmı bitki üzerinde ve toprak yüzeyinde kalmaktadır. Toprak ve bitki uygulamalarından sonra toprak yüzeyinde kalan pestisitler, yağmur suları ile yüzey akışı şeklinde veya toprak içerisinde aşağıya doğru yıkanmak suretiyle taban suyu ve diğer su kaynaklarına ulaşabilmektedir (Şekil 1.2). Doğrudan suya yapılan uygulamalar sonucunda (sivrisinek mücadelesi gibi) pestisitler su bitkileri veya dip çamurları tarafından tutulmaktadır (35).



Şekil 1.2. Pestisitlerin doğadaki hareketleri (27)

Pestisitlerin bilimsel denetimden yoksun, gelişi güzel ve aşırı dozda kullanılmaları sonunda, insan ve hayvanlarda zehirlenmeler olabilmekte, yaban hayatı ve yararlı canlı gruplarının öldürülmesiyle doğal dengenin bozulması, havada, suda, toprakta ve gıda maddelerinde ilaç kalıntılarının kalmasının yanında, daha önce zararlı olmayan bazı canlıların zararlı duruma geçmesi, zararlıların bağışıklık kazanması ve çevre kirlenmesi gibi pek çok olumsuz etkiler ortaya çıkar (36, 21, 37, 38).

1.1.4. Pestisitlerin Mitoz Bölünme Üzerine Etkisi

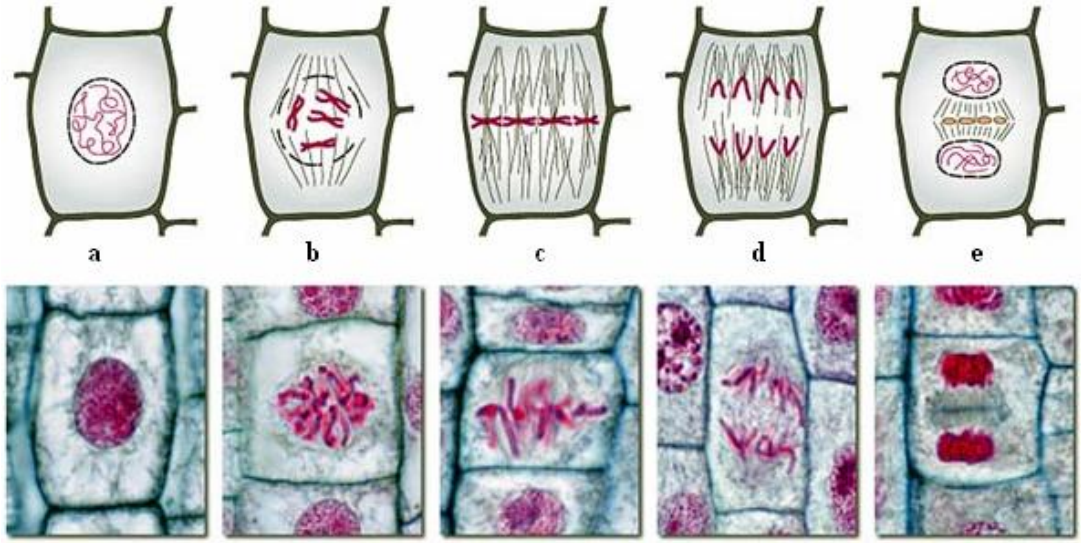
Canlıların büyüme ve gelişmesi, canlıları oluşturan hücrelerin düzenli büyüme ve çoğalmasına bağlıdır. Hücre bölünmesi, makromoleküler düzeyde birbirini izleyen biyokimyasal olayları içermektedir (39). Tek hücreli canlılarda bölünme genellikle amitoz, çok hücrelilerde ise mitoz ve mayoz ile gerçekleşir. Mitoz bölünme tek hücrelilerde ebeveyne benzer bireyler oluşturarak çoğalmayı, çok hücrelilerde ise yeni bir organizmanın oluşumunu, gelişmesini, büyümesini, çeşitli organların meydana gelmesini ve hasar gören bölümlerin onarımını sağlar (40).

Mitoz bölünmenin en önemli karakteristiği kromozom sayısının korunmasıdır ve bu durum DNA'nın semi-konservatif olarak kendini eşlemesi ile sağlanır. Ökaryotik hücre bölünmediği zamanlarda nükleus içindeki DNA, proteinle birlikte kromatin adı verilen ince ve esnek yapıyı oluşturur. Hücre bölünmesi sırasında ise kromatin kısalıp kalınlaşarak bireysel kromozomları oluşturur. İki hücre bölünmesi arasında dinlenme safhası adı verilen, aslında metabolik faaliyetlerin çok yoğun olarak meydana geldiği interfaz safhası (metabolik safha) gerçekleşmektedir.

Mitoz, hücre döngüsünün sadece bir kısmını oluşturur. Mitotik (M) faz, hem mitozu hem de sitokinezi kapsar ve genellikle hücre döngüsünün en kısa parçasıdır. Mitotik hücre bölünmesini çok daha uzun bir evre olan interfaz izler. İnterfaz sırasında hücre büyür ve bölünme için kromozomlarının kopyasını oluşturur. İnterfaz, G1, S ve G2 safhalarından oluşmaktadır. Bu üç alt faz sırasında hücre, proteinlerini, DNA' sını ve sitoplazmik organellerini çoğaltır, kromozomlarını kopyalar (40).

Mitoz bölünme kesintisiz devam eden bir olaydır ve interfazı takiben profaz, metafaz, anafaz ve telofaz safhaları yer alır. Bu safhaların devam etme süreleri farklı olup en çabuk biten safha metafaz, en uzun süren safha profazdır. Profaz safhasında nükleusun içerisindeki kromatin, kromozom halini alır. Profazın başından itibaren her kromozomun kromatid adı verilen iki iplikten oluştuğu görülür. Fakat bu iki iplik henüz bölünmemiş sentromer tarafından bir arada tutulur. Kromozomlar, profazın başında nükleusun içinde eşit bir dağılım gösterirler. Safhanın sonuna doğru nükleus zarına yaklaşır. Profaz ilerledikçe kromozomlar daha büyük çaplı spiraller yaparak kısalıp kalınlaşırlar. Nükleus zarı fragmentli bir duruma geçerek, profazın sonunda nükleoluslar gittikçe küçülür ve kaybolur. Prometafazda, kromozomların kardeş hücrelere dağılması için iğ iplikleri oluşur. Kromozomlar bu iğ ipliklerine bağlanarak ekvator düzlemine doğru hareket ederler. Kinetokorlar ise iğ ipliklerinin farklı kutuplara giden tarafına yerleşirler. Kromozomlar ekvator düzlemine eriştikleri zaman metafaz başlar. Kinetokor liflerine bağlı kromozomlar metafaz plağında sıralanırlar. Küçük kromozomlar daima içe doğru, büyük kromozomlar ise çevreye doğru yerleşirler. Metafazın sonlarına doğru bütün kromozomlarda sentromerler aynı anda yarılr ve kardeş kromatidler birbirinden ayrılır ve böylece anafaz başlamış olur. Bu safhada duplike kromozomun kromatidlerinden birisi bir kutba çekilirken onun

kardeşi de aksi kutba doğru çekilir. Kromatid grupları kutuplara ulaştığında anafaz sona erer ve telofaz başlar. Bu safhada, kromozomlar sıkıca bir araya gelerek bir yığın oluştururlar ve tek tek fark edilemez hale gelirler ve daha sonra profazdaki olaylar ters yönde oluşmaya başlar. Matriks erir, spiraller çözülür ve kromozomlar ince uzun iplikler halinde görülürler. Kutuplardaki kromozom gruplarının etrafında nükleus zarı tekrar oluşur ve nükleoluslar meydana gelir. Böylece iki yavru nükleus meydana gelmiş olur. Bu şekilde tamamlanmış olan nükleus bölünmesini (karyokinez) sitoplazmanın bölünmesi (sitokinez) takip eder. Sitokinez bitki ve hayvan hücrelerinde farklı gerçekleşir. Hayvan hücresinde, aktin filamentinin bulunduğu bir boğumla sitokinez gerçekleşirken, bitki hücresinin etrafındaki hücre çeperi ise bölünmeye izin vermediğinden hücre plağı meydana gelir ve iki hücre için de plazma zarı oluşur. Bir bitki hücresi olan *Allium cepa*' da mitoz bölünmenin evreleri Şekil 1.3' de görülmektedir (40).



Şekil 1.3. *Allium cepa*' da mitoz bölünme safhaları: a. İnterfaz, b. Profaz, c. Metafaz, d. Anafaz, e. Telofaz (41)

Bitkiler üzerinde sitotoksik etkileri olan pestisitlerin hücrelerde neden olduğu kromozomal sapmalar, genetik hasarın göstergesi olarak kabul edilebilir (42). Bu nedenle kullanılan bu pestisitlerin neden olduğu çeşitli toksik etkileri direkt olarak gösteren *Allium cepa*, toksisite ölçümlerinde sıklıkla tercih edilmektedir. Ayrıca bitki kök ucu sistemlerinin incelenmesi, çevresel etkilerin belirlenmesinde hızlı ve hassas

bir metoddur. Çünkü kök uçları, doğada toprağa ve suya karışan kimyasallara maruz kalan ilk yapılardır. Farklı test bitkileriyle çevresel kimyasalların genotoksisitesini test etmek için yapılan çalışmalarda, kirleticilerin farklı konsantrasyon ve sürelerindeki uygulamalarda hem makroskobik düzeyde büyümedeki düzensizlikler gözlenmiş, hem de mikroskobik düzeyde, mitotik indeksin azaldığı ve yapışık kromozomlar, köprü oluşumu, vagrant (dağınık) kromozomlar, c-metafaz, c-anafaz, multipolar anafaz, yanlış kutuplaşma, parça oluşumu, mikronükleus gibi kromozom aberasyonlarının arttığı belirlenmiştir (17). Pestisitlerin iğ iplikleri üzerine etkili olması sonucunda c-mitoz oluşmakta ve buna bağlı olarak poliploidi ve anöploidi meydana gelmektedir. İğ ipliklerinin tamamen parçalanması ile multipolar anafaz oluşurken, iğ ipliği oluşumunun kısmen engellenmesi ile kalgın kromozomlar ve bunun sonucunda da mikronükleuslar meydana gelmektedir (43).

Genotoksisite ve kanserojenitenin belirlenmesinde kullanılan MN (mikronükleus), asentrik kromozom ya da kromatid kırıklarından ve tüm kromozomlar ya da kromatidlerin anafazda gecikmesinden (lagging) dolayı telofazda oluşan, kardeş nükleusun dışında rastlanan küçük nükleuslardır. Ayrıca multipolar anafaz ve telofaz da MN oluşumuna sebep olmaktadır (44-46).

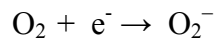
MN oluşumuna neden olabilen kromozom kaybı ya da kromozomların ayrılamaması (non-disjunction), kanser ve yaşlanmada gözlenen önemli olaylardandır. Bu durum, muhtemelen iğ iplikçiklerinde, sentromerde bozulma ya da metafazdan önce kromozom yapısının yoğunlaşması sonucu oluşmaktadır. Mikronükleus, sonraki mitotik bölünmelerde anöploid ve poliploid hücrelere yol açtığından mutasyonlara sebep olmaktadır (47, 48).

1.1.5. Pestisitlerin Antioksidan Sistem Enzimleri Üzerine Etkisi

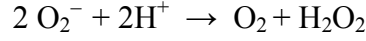
Bitkiler farklı stres faktörlerine karşı aynı veya benzer savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bitkiler stresi ya tolere etmekte ya da ondan kaçınmaktadır. Stres faktörleri yapısal ve metabolik hasarlara neden olmaktadır. Bu hasarlar tersinir ya da geri dönüşümsüz olabilirler. Bu yüzden bitkiler sekonder metabolitlerin yanı sıra başka savunma yolları da geliştirmişlerdir. Bu yollardan biri de antioksidanların

aktivasyonudur (49). Pestisitler, vücuttaki en önemli koruyucu sistemlerden olan antioksidan sistemi olumsuz olarak etkilemektedir. Antioksidantlar, oksidasyonu başlangıç veya gelişme basamağında önleyen ve/veya geciktiren maddelerdir. Biyolojik sistemlerde antioksidant aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşam için bir ihtiyaçtır. Bu antioksidantların antimutajenik, antikarsinojenik ve yaşlanmayı önleyici etkileri bulunmaktadır (50).

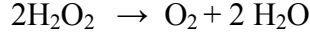
Antioksidan sistem vücutta oluşan reaktif oksijen bileşiklerini etkisizleştirmeyi hedef alır. Bütün aerobik hücrelerde aktif oksijen türevleri kendiliğinden meydana gelmektedir. Dış kaynaklı olarak da UV radyasyonu, sigara dumanı, hava kirleticileri, ozon, organik çözücüler, pestisitler aktif oksijen türevleri oluşturabilirler. Aktif oksijen türevleri, oksijenin tekil elektronlarının uyarılması ile açığa çıkan süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit, hidroksil radikali (OH) ve peroksi anyonu gibi radikallerdir. Bu radikaller hücre membranında doymamış yağ asitleri ve protein üzerine zarar verici etki gösterirler. Serbest radikallerin membrana tutunduğu durumlarda enzimleri ve diğer proteinleri inaktive etmesi, onkojenik olabilen mutasyonlara neden olması, hücrenin hormonlar ve nörotransmitterlere verdiği cevabı değiştirmesi radikallerin önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Antioksidan savunma sisteminde glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) rol alır. Bu enzimler bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır (51-56). SOD canlı organizmalardan süperoksit anyonlarını uzaklaştıran bir enzimdir. SOD, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan endojen veya eksojen kaynaklı süperoksit radikallerinin (O_2^-) suya (H_2O) ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırmaktadır. Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle kararsız bir yapı olan süperoksit (O_2^-) radikali oluşur (57, 58).



Süperoksit anyonuna bir elektron eklenirse (süperoksit dismutasyonu) veya O_2^- 'un doğrudan indirgenmesiyle hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Dismutasyon, spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığı ile katalize edilebilir (59).

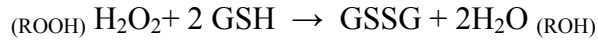


Katalaz, bitki, hayvan ve aerobik bakterilerde bulunan ve hidrojen peroksidi (H_2O_2) su ve moleküler oksijene yıkılmasını katalizleyen bir enzimdir (60).



Katalaz (CAT), somatik bir oksidan koruyucudur. Katalazın hidrojen perokside ilgisi, glutatyon peroksidaza göre daha fazladır. Katalaz, karaciğer ve eritrosit içerisinde bol miktarda bulunur, hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalar (61). Katalazın temel fonksiyonu, moleküler O_2 mevcudiyetinde metabolizmanın bazı kademelerinde sentezlenen H_2O_2 ve ROOH gibi bir peroksidi gidererek, özellikle membranlarda oluşturabilecekleri geri dönüşümsüz hasarları engellemektir. Çünkü H_2O_2 , singlet oksijen ve hidroksil radikalinin potansiyel kaynağıdır (62).

Glutatyon peroksidaz (karaciğerde en yüksek, kalp, akciğer ve beyinde orta, kasta ise düşük düzeyde), aşırı düzeylerde H_2O_2 varlığında redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) dönüşümünü katalize eder. Bu arada H_2O_2 de suya dönüştürülerek detoksifiye olur (60).



Glutatyon mekanizması çok önemli antioksidatif savunma mekanizmalarından biridir. Glutatyon peroksidaz, oksidasyona karşı hücre membranını ve proteinlerini korumaktadır (63).

1.1.6. Pestisitlerin Fotosentez Üzerine Etkisi

Pestisitlerin bitkilere diğer bir etkisi de yapısındaki etken maddenin diğer maddeler ile etkileşerek bitkinin cins, tür ve gelişme devrelerine göre değişik fitotoksik

etkilerde bulunmasıdır (64). Pestisitler, bitki yapraklarında birim alandaki stoma dağılımını azaltarak, fotosentez için gerekli gaz alışverişini ve bunun sonucunda bitkinin fotosentez hızını düşürerek metabolik faaliyetlerin yavaşlamasına sebep olmaktadır (65). Yüksek dozlarda pestisit kullanımı, bitkilerin fotosentez ve transpirasyon gibi işlevlerinin gerçekleştiği yapraklarda da fizyolojik yönden önemli farklılıklara yol açmaktadır (30). Fotosentezin gerçekleştiği bitki kloroplastlarında çeşitli klorofillere rastlansa da klorofil a ve klorofil b en önemlilerindedir. Klorofil a ($C_{55}H_{72}N_4Mg$), algler ve cyanobacteria'da, klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) ise, bütün yüksek bitkilerde ve yeşil alglerde bulunur (66-68).

Bitkilerde ve bazı diğer fotosentetik mikroorganizmalarda bulunan karotenoidler, biyolojik antioksidan olarak hücre çekirdeğini ve dokuları zararlı etkenlerden koruduğu için insan sağlığı açısından önemlidir (69). Karotenoidler OH^- , O_2^- ve peroksi radikalleri ile etkileşime geçerek mükemmel bir radikal tutucu olarak iş görürler. Serbest radikallerin yapısından bir H^+ kopararak radikali etkisiz hale getirir ve yapısından bir elektron transfer ederek radikali nötrleştirirler. Kanser tedavisinde kullanılan β -karoten, lutein, zeaksantin gibi karotenoidler, birçok araştırmacı tarafından insan hastalıklarına karşı koruyucu olarak önerilmektedir (70-72).

1.1.7. Tarım İlaçları

Tarım ilaçları, kullanıldıkları zaman gösterecekleri etki şekillerine göre 2 gruba ayrılır:

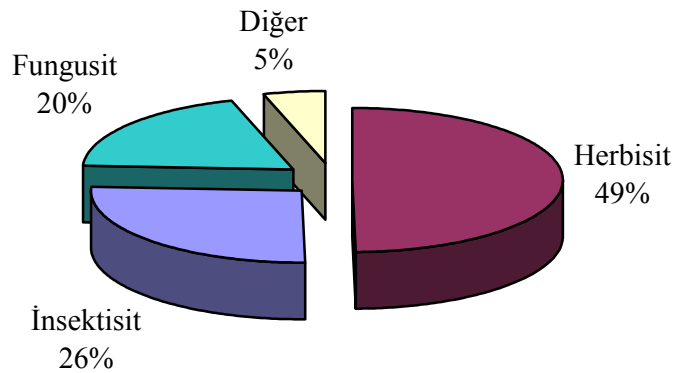
1- Kontak etkili ilaçlar: Uygulandıklarında bitki yüzeyinde kalırlar ve temas ettikleri canlıları öldürürler. Göreceli olarak daha az tehlikelidirler (19).

2- Sistemik etkili ilaçlar: Bitki bünyesi içerisinde hareket ederek meyveye, yaprağa ve bitki köküne ulaşabilir, içsel beslenen zararlıları da öldürebilirler. Sistemik ilaçların bu özellikleri, kullanımları esnasında çok daha fazla dikkat edilmesi ve önem gösterilmesi gerektiği sonucunu doğurmaktadır (19).

Tarımsal ilaçların zehirleyicilik özellikleri, ilacın hayvanlar üzerinde yapılan denemeler neticesinde elde edilen LD₅₀ (letal doz 50%) değerine göre saptanır. Pestisitler LD₅₀ değerlerine göre çok zehirli (Endrin, Endosülfan), zehirli (Lindan, Heptaklor), kısmen zehirli (Triklorofon, Demeton) ve az zehirli (Kloratlar, Dalapon) olarak gruplara ayrılırlar (19).

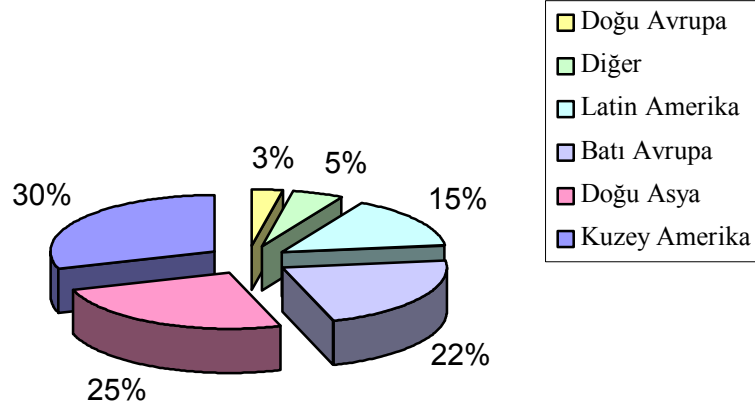
1.1.8. Pestisit Kullanımı

Ülkemizde tarım teşkilatları pestisit kullanımı için alınması gereken önlemler ile ilgili olarak kullanıcıyı bilinçlendirmeye yönelik çalışmalar yapmaktadır. Daha önceden kullanılan fakat çok zehirli olduğu için kullanımı tamamen yasaklanan ilaçların bir kısmı halen ülkemizde ruhsatlı olarak satılmaktadır (19). Özellikle 1970 yılında başlayan çevre koruma hareketlerinden sonra bütün dünyada pestisit kullanımının çok daha kontrollü yapıldığı, mevcut etkili maddelerin yeniden emniyetlilik testlerine alındığı ve bu değerlendirmeler sonunda bazı pestisitlerin çeşitli ülkelerde yasaklandığı, kısıtlandığı ya da kontrollü kullanıldığı bilinmektedir. Avrupa ve Amerika'da tarım ilacı üreten tesisler bile çevresel baskılar nedeni ile kapatılmış, burada üretilen ilaçların birçoğu Avrupa ve Amerika' da kullanılmamakta ve gelişmekte olan ülkelere satılmaktadır. Yılda 2,5 milyon tondan fazla olan küresel çapta pestisit kullanım oranları Şekil 1.4' de görülmektedir (18, 19).



Şekil 1.4. Dünyada pestisit kullanımının gruplara göre dağılımı (27)

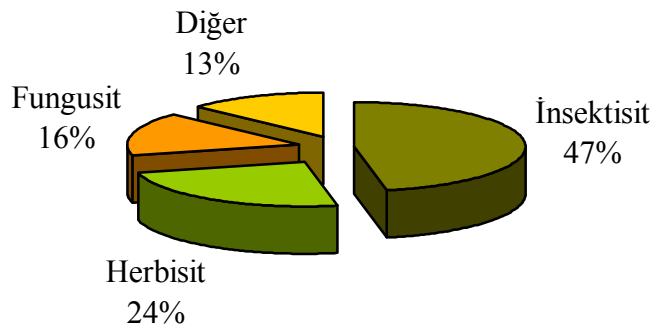
Dünyada değişik kimyasal formülasyonda, her yıl 1,5- 2,6 milyon ton civarında pestisit üretilmekte ve bu 31 milyar dolar civarında bir ticari hacim oluşturmaktadır (73-75). (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Dünya pestisit pazar payları (27)

Türkiye’de formülasyon olarak pestisit kullanımı 49.000 ton civarındadır ve pestisit pazarı yıllık 250 milyon doları bulmaktadır (76, 77). Türkiye’de pestisit kullanımı Avrupa ülkelerine oranla daha düşük olup, yıllık tüketim miktarı 1 hektarlık alanda 400–700 gramdır (27).

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de en çok kullanılan pestisit grupları, insektisitler, herbisitler ve fungusitlerdir (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Türkiye’de gruplara göre pestisit kullanım oranları (27)

Türkiye’de pestisit ruhsatlandırılmalarına temel teşkil eden “Zirai Mücadelede Kullanılan Pestisit ve Benzeri Maddelerin Ruhsatlandırılması” hakkındaki yönetmelik, 17 Şubat 1999 tarihli Resmi Gazete’de yayınlanarak yürürlüğe girmiştir (78).

1.2. Çalışmanın Amacı

Çalışmamızda, mutajenite deneylerinde kullanılan *Allium cepa* bitkisi üzerine tarımsal savaşta kullanılan Basudin 60 EM (insektisit) ve Cupravit ob 21 (fungisit) pestisitlerinin fizyolojik, sitotoksik ve biyokimyasal etkileri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Pestisitlerin denenen tüm konsantrasyonlarında (600, 1200 ve 1800 ppm) çimlendirilen *Allium cepa* örneklerinde, doz artışına bağlı olarak, kök uzunluğu ve ağırlık kazanımlarında, yaprak örneklerindeki klorofil a, klorofil b ve karotenoid içeriklerinde, SOD, CAT ve GSH-Px enzim miktarlarında, kök ucu hücrelerindeki total protein miktarında kontrol grubu *Allium cepa* tohumlarına göre azalmalar gözlenmiştir. Yine *Allium cepa* (tüm pestisit konsantrasyonlarında yetiştirilen) kök ucu meristem hücrelerinde mitoz bölünmede anormallikler, mitoz hücre sıklığında azalmaya bağlı mitotik indeks oranında düşmeler, mikronükleus oluşumu, iki çekirdekli hücreler, parça oluşumu, kromozom kırıkları, anafaz ve telofazda kromozom köprüsü, geciken ve dağınık kromozomlar, telofazda yanlış kutuplaşma, kutup kayması ve çok kutupluluk, düzensiz kromozomlar, orantısız kromozom dağılımları, yapışık kromozomlar ve c-mitoz gibi mitoz bölünmede anormalliklerde artmalar gözlenmiştir. Çalışmamızda, pestisitler farklı konsantrasyonlarda uygulanarak doz-toksik etki ilişkisi değerlendirilmiş, doz artışıyla orantılı olarak toksik etkilerin arttığı görülmüştür. Ayrıca kullanılan farklı pestisit gruplarının *Allium cepa* üzerindeki toksisiteleri hem biyokimyasal olarak hem de fizyolojik ve sitolojik açıdan tümüyle ele alınmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Çevresel etkilerin belirlenmesinde kullanılan temel araştırmalarda bitki materyallerinin kullanılması yerinde ve faydalı olduğundan, çalışmada bitki materyali olarak *Allium cepa* (ıska soğanı) kullanılmıştır (79). Çok iyi çimlenmesi, elde edilmesinin kolay ve ucuz olması, kromozom sayısının azlığı, kromozomlarının büyüklüğü ve bütün bir yıl boyunca köklenerek bol miktarda mitotik hücre elde edilebilmesinden dolayı *Allium cepa*, birçok mutajenite deneylerinde olduğu gibi bu çalışmada da tercih edilmiştir (80-84).

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan pestisitlere ait özellikler Çizelge 2.1’ de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan pestisitler

Pestisit Adı	Basudin 60 EM	Cupravit ob 21
Ürün grubu	İnsektisit	Fungusit
Üretici Firma	Bayer	Bayer
CAS No	333-41-5	1071-83-6
Etken madde	Diazinon	Bakır Oksiklorür

Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar ise şunlardır:

Etanol (%96), metanol (%100), aseton (%99.0), albümin fraction V, EDTA, glasiyal asetik asit (%100), hidroklorik asit (%37), sodyum klorid, hidrojen peroksit (%35), nitroblue tetrazolium klorit, monosodyumfosfat dihidrat, disodyumfosfat heptahidrat, potasyum hidroksit, potasyum dihidrojen fosfat, orsein, gibberellik asit, indol-3-

asetik asit, glutatyon ve BSA (Merck) firmasından, biüret ayıracı (Fluka) firmasından, absisik asit (Sigma) firmasından, asetik asit (%100) (Riedel-de-Haën) firmasından, 4-Metoksi fenol (% 99) (Aldrich) firmasından temin edilmiştir.

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

Hassas Terazi (AND GR-200), UV/Vis Spektrofotometre (Camspec M508), Mini Santrifüj (Mini Spin Plus - Eppendorf), UV Spektrofotometre (Optic Ivymen System), Çalkalamalı İnkübatör (Heidolph Inkubator 1000-Unimax 1010), Manyetik Çoklu Karıştırıcı (Wise Stir, Feedback Control), Vorteks (VELP Scientifica 2x³) Deep freeze (Beko No-Frost Buzdolabı), Distile Su Cihazı (Şimşek Labortechnik SS200), Foto Mikroskop (ZEISS, AXIO Scope-A1), Işık Mikroskobu (Olympus CH20), pH metre (Hanna, pH 211).

2.1.3. Materyalin Temini ve Yetiştirilmesi

Çalışmamızda bitkisel materyal olarak, aşağı yukarı eşit büyüklükteki, sağlıklı *Allium cepa* (Familia: *Liliaceae*, 2n=16) tohumları kullanıldı. *Allium cepa* tohumları Ankara Sebze Hali'nden "Ürgüp ıskası" olarak temin edildi. Deney için ilk olarak soğanlar tartıldı. Uygulama grubundaki soğanların yetiştirilme ortamlarına, Bayer firmasının ürettiği Basudin 60 EM ve Cupravit ob 21 pestisitleri, kullanma talimatında belirtilen doz olan 600 ppm ve kontrolsüz kullanımı test etmek amacıyla yüksek doz olarak belirlenen 1200 ve 1800 ppm konsantrasyonlarda hazırlanarak eklendi. Kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyunda, uygulama grubundaki tohumlar ise çeşme suyu kullanılarak hazırlanan 600, 1200 ve 1800 ppm (1 litre çözeltideki çözünen maddenin miligram cinsinden miktarıdır) pestisit çözeltileri içerisinde 1 hafta boyunca oda sıcaklığında çimlenmeye bırakıldı. 1 hafta sonunda soğanlar tekrar tartıldı, kök uzunlukları ölçüldü.

2.2. Pestisitlerin Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi

2.2.1. Fidelerde Kök Uzunluğu ve Ağırlık Kazanımının Tespiti

Soğanların kök uzunlukları milimetrik bir cetvel yardımıyla ölçüldü. Tohumların ağırlık kazanımları ise, uygulama öncesi ve sonrasında hassas terazi ile tartım yapılarak belirlendi. Kontrol grubu ve her bir pestisit konsantrasyonu için çalışma 3 kez tekrarlanarak, ortalama ve standart sapma hesaplandı.

2.2.2.Pigment Analizi

2.2.2.1.Klorofil a ve Klorofil b Tayini

Klorofil pigment ekstraksiyonu, Arnon (1949) tarafından uygulanan yöntemle yapıldı. Ekstraksiyon için, soğan genç yapraklarından alınan 0,1 g örnek 10 ml %80'lik asetonda ezilerek ekstrakte edildi (85).

Klorofil miktar tayini, Witham ve ark. (1971) tarafından uygulanan spektrofotometrik yöntemle yapıldı. Bu yöntemle göre, 1,5 ml'lik ependorf tüplere alınan örnekler 1 gece -17 °C'de buzdolabında bekletildi. Daha sonra örnekler 10 dk 5000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant alınarak, her grup bitki örneğine ait ekstraktların UV spektrofotometrede 435 ve 663 nm dalga boylarındaki klorofil pigmentinin maksimum absorpsiyon değerleri %80'lik asetona karşı ölçüldü. Spektrofotometrede çeşitli dalga boylarında ölçüm yapılarak en yüksek sonucu veren 2 absorpsiyon değeri seçildi (86).

Klorofil ekstraktının iki farklı dalga boyunda yapılan spektrofotometrik ölçümlerinden elde edilen değerler, aşağıdaki (2.1) ve (2.2) numaralı eşitlikler kullanılarak, bitki yaprak dokusunun 0.1 g'ında bulunan klorofil a ve klorofil b miktarları hesaplandı.

$$\text{mg klorofil a/ g doku} = [12,7 (A_{663}) - 2,69 (A_{435})] (V/ 1000W) \quad (2.1)$$

$$\text{mg klorofil b/ g doku} = [22,9 (A_{435}) - 4,68 (A_{663})] (V/ 1000W) \quad (2.2)$$

A: klorofil ekstraktının belirlenen dalga boylarındaki absorbans değeri

V: %80 asetonun son hacmi (10 ml)

W: Ekstre edilen dokunun g olarak yaş ağırlığı (0,1 g)

2.2.2.2.Karotenoid Tayini

Toplam karoten tayini spektrofotometrik yöntemle göre yapıldı. Soğan genç yapraklarından alınan örnekler, 60°C’de 1 hafta boyunca inkübatörde kurutuldu. Kurutulmuş 5 mg yaprak örneği, 1 gece çalkalamalı inkübatörde 5 ml %100’lük metanolla muamele edildi. Bu süre sonunda yaprak örneklerinin yeşil rengini metanole verdiği gözlemlendi. Bu işlemden sonra hücreler vorteks ile 5 dk homojenize edildi. Daha sonra 10 dk 70°C’lik su banyosunda, ışık kaynağı altında bekletildi. Karışımdaki doku parçaları süzülerek ayrıldı ve elde edilen ekstrakt 10 dk 3500 rpm’de santrifüj edildi, örneklerin süpernatant kısımları alınarak spektrofotometrede 475 ve 663 nm dalga boylarında ölçüm yapıldı. Toplam karoten miktarı aşağıda verilen formül ile hesaplandı (87).

$$C_{\text{Karoten}} \text{ (mg g}^{-1}\text{)} = 4,5 \times A_{475} \text{ (Zou ve Richmond, 2000)} \quad (88)$$

(2.3)

A_{475} : 475 nm’ de ölçülen absorbans değeri,

$$C_{\text{Klorofil-a}} \text{ (mg g}^{-1}\text{)} = 13,9 \times A_{663} \text{ (Sanchez ve ark., 2005)} \quad (89)$$

(2.4)

A_{663} : 663 nm’ de ölçülen absorbans değeri

2.3. Pestisitlerin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

2.3.1. Biüret Metoduyla Total Protein Tayini

Kök ucu ekstraktlarındaki protein miktarı, hızlı, güvenilir ve kolay bir şekilde protein miktarının saptanabildiği Biüret metoduna göre spektrofotometrik olarak ölçüldü (90). Örneklerimizdeki protein miktarları, standart grafikten yararlanılarak hesaplandı.

Total protein miktarının tespiti için kontrol ve uygulama grubuna ait soğanlardan kesilen 0,3 cm. uzunluğundaki kök uçları -17 °C'de bir gece bekletildi. Dondurulan kökler +4 °C'de 2 ml soğuk distile su ile homojenize edildi. Ependorf tüplerine alınan örnekler 10 dk 12.000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant kısmı ayrıldı. Biüret metodu ile 540 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı ve standart grafikten yararlanılarak total protein miktarı hesaplandı.

2.3.2. SOD, CAT ve GSH-Px Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.3.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, Friderich (1969) (58) tarafından ve Worthinton Manual' de (1973) (91) önerilen yöntem modifiye edilerek p-nitrobluetetrazoliumun indirgenme inhibisyonu belirlenerek ölçüldü. SOD ölçümü için, farklı konsantrasyondaki pestisit solüsyonları içinde çimlenen, -20 °C'de saklanan 0,5 g taze yaprak örneği 2 ml fosfat tampon çözeltisi ile homojenize edildi. Homojenizat 20 dk 14500 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatant alındı (92, 93). Elde edilen süpernatant, daha sonra ölçümlerde enzim kaynağı olarak kullanıldı. Ölçüm için 2 ml fosfat tamponu (0,06 M, pH=7.6) ve 0,1 ml NBT içeren reaksiyon tüpüne

0,7 ml enzim kaynağı ve 0,2 ml EDTA (0,1 mM) eklendi. Tüpler 5-6 dakika oda sıcaklığında sabit ışıktaki bekletildi. 0. dakikadaki ve NBT' nin inhibisyonunun gerçekleştiği 12. dk'daki absorbands değerleri 560 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü (91).

Buna göre 1 ünit enzim aktivitesi, 1 dk' da NBT' nin indirgenmesinin % 50 inhibisyonuna neden olan miktar olarak tanımlandı. SOD ünit aktivitesi, NBT için hazırlanan standart regresyon eğrisine ait formülden hesaplanarak bulundu.

2.3.2.2.Katalaz (CAT) tayini

Katalaz aktivitesi, Beer ve Sizer (1952) tarafından önerilen metod modifiye edilerek ölçüldü (94). Metoda göre katalaz aktivitesi 1 mol hidrojen peroksidin birim zamanda 310 nm dalga boyunda ölçülen absorbandsdaki azalma izlenerek bulundu. Katalaz aktivitesini ölçmek için 0,5 g taze yaprak örneği sıvı azot ile muamele edildikten sonra üzerine 2 ml potasyum fosfat tamponu (50 mM, pH: 6.5) eklenerek homojen hale getirildi. Daha sonra +4 °C'de 15 dk 14.500 rpm'de santrifüj edildi, süpernatant enzim kaynağı olarak kullanıldı (95).

Katalaz aktivitesi için, içinde 1,9 ml potasyum fosfat tamponu ve 1,5 ml enzim kaynağı bulunan tüpler 1-2 dk oda sıcaklığında bekletildi. Bu tüplere 0,5 ml 0,06 M H₂O₂ (hidrojen peroksit) eklendi ve 0., 1., 2. dakikada spektrofotometrede 310 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı (96).

1 ünit katalaz aktivesi, 25 °C'de 1 µmol H₂O₂' i yıkan enzim miktarı olarak tanımlandı. Katalaz miktarı hazırlanan standart eğriden yararlanılarak hesaplandı (91).

2.3.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayini

Glutasyon peroksidaz enzim ekstraksiyonu, Loggini (1999)'ye göre yapıldı (97). Bu yöntemde göre -20 °C'de bekletilen 0,5 g taze yaprak örneği 2,5 ml fosfat tamponu (50 mM, pH=7.6) ile homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar +4 °C'de 20 dk 12.000 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatantlar enzim kaynağı olarak kullanıldı.

Glutasyon peroksidaz aktivitesi, Chaoui ve arkadaşları (1997) tarafından uygulanan yöntemde göre yapıldı (98). Bu yöntemde göre, son hacim 3 ml olacak şekilde, 100 µl ekstrakt, 50 µl H₂O₂ (%0.003) ve 2,85 ml fosfat tamponu - 2-metoksi fenol (% 99) (1:1) karışımından (pH=7.2) eklenerek homojenize edildi, 470 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapıldı.

Glutasyon peroksidaz aktivitesi, 1 dk' da 1 µmol H₂O₂'i yıkan enzim miktarı olarak tanımlandı. Glutasyon peroksidaz enzim miktarı standart eğriden yararlanılarak hesaplandı.

2.4. Pestisitlerin Sitolojik Parametreler Üzerine Etkisi

2.4.1. Mikronükleus Testi, Mitotik İndeks, Mitoz ve Kromozom Anormallikler

Çalışmada MN (mikronükleus) Fenech ve arkadaşları (2003) tarafından belirlenen ölçütler dikkate alınarak tespit edilmiştir (99). Buna göre;

- i. MN çapı, ana nükleusun 1/10 büyüklüğünde olmalıdır.
- ii. MN ile hücrenin ana nükleusunun kenarları birbirine temas edebilir. Temas ettiği durumlarda sınırın ayırt edilebilir olması gerekir.
- iii. MN boyandığında ana nükleusun aldığı renge yakın bir renk almalıdır

Hücre bölünmesinin araştırılması için pestisit uygulanarak çimlenen soğanların kök uçları meristematik bölgeden itibaren 1,5-2 mm kesilerek clarke fiksatorü (3: glasiyal asetik asit/ 1: distile su) ile 10 dk fikse edilmiştir. Fiksasyonu takiben örnekler % 96'lık etanolde 15 dk boyunca yıkandı ve kök uçları + 4 °C'de % 70'lik etanolde 30 dk bekletildi. Daha sonra kök uçları 60 °C'de inkübatörde 17 dk boyunca 1 N HCl ile hidroliz edildi. Hidrolizden sonra kök uçları % 45'lik asetik asit ile oda sıcaklığında 45 dk muamele edildi. Asitten alınan kök uçları aseto-orsein ile 1 gece karanlıkta muamele edilerek boyandı. Boyadan alınan kök uçları 1-2 dk % 45'lik asetik asitle yıkanarak fazla boya giderildi. Ezme-yayma yöntemi ile hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile farklı büyütme oranlarında incelenerek fotoğrafları çekildi. Bu yöntem ile hem kromozomal sapmalar tespit edildi, hem de mikronükleusa sahip hücrelerin fotoğrafları çekildi. Mitotik indeks hücre bölünme frekansını yansıtır ve kök gelişim oranını belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılır (100).

Mitotik indeksin hesaplanması için, hazırlanan preparatlarda ortalama 1000'er hücre sayılarak mitoz bölünmenin normal ve anormal evreleri incelendi, özellikle metafaz aşamasında hücredeki kromozom anormallikleri tespit edildi. Mitotik indeks için, her preparatta 1000 hücre sayılarak mitoz giren hücre sayısı belirlendi. Mitotik indeks aşağıdaki eşitlikle hesaplandı.

$$\text{Mitotik indeks (MI)} = \text{Mitoza giren hücre} / \text{Toplam hücre} \times 100 \quad (2.5)$$

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Pestisitlerin Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkileri

3.1.1. Çimlenen *Allium cepa*' da Kök Uzunluğu ve Ağırlık Kazanımı Tespiti

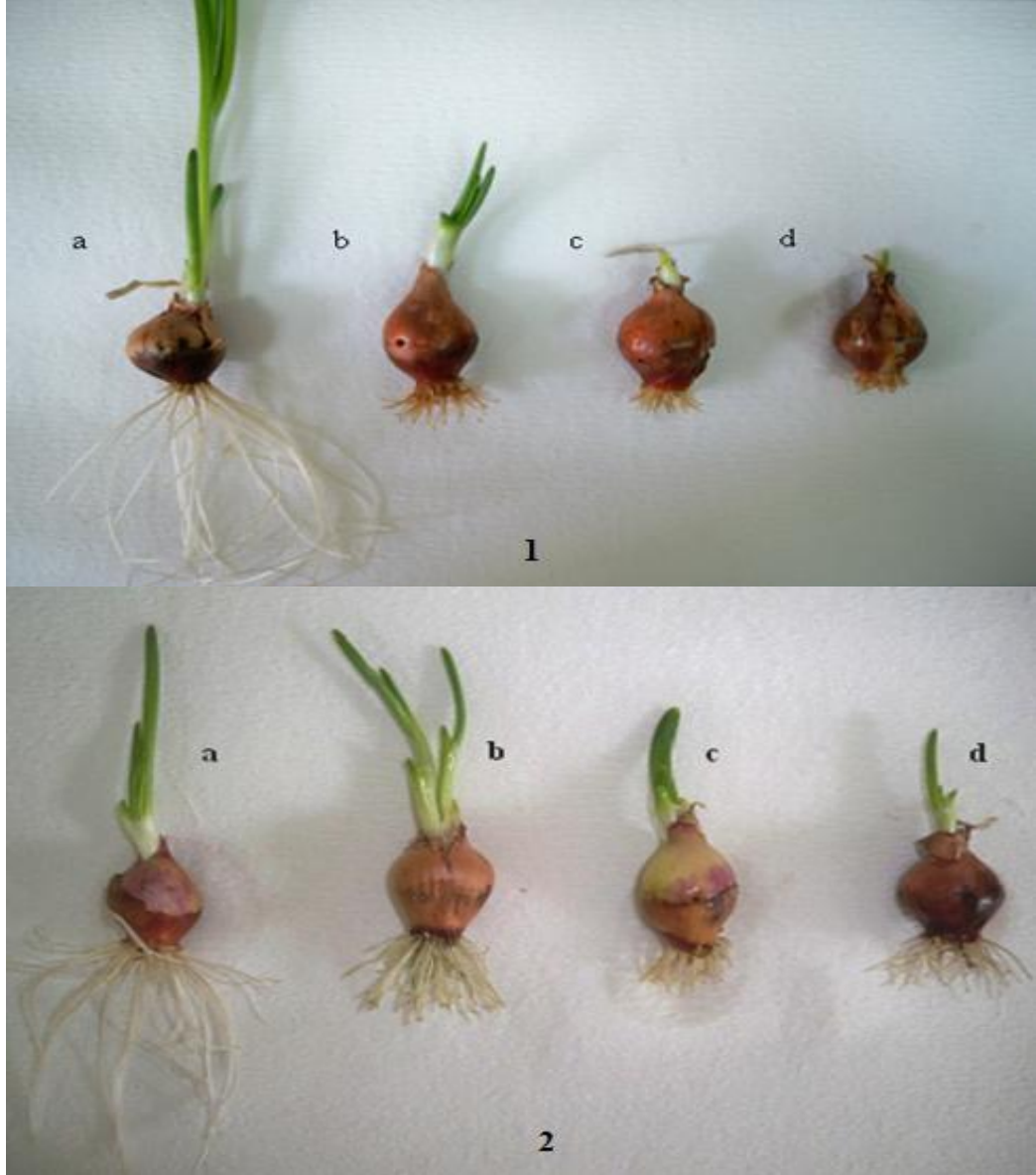
Ölçümler, soğan tohumları farklı konsantrasyonlardaki pestisit solüsyonları içerisine konulduktan bir hafta sonra yapıldı. Her bir pestisit konsantrasyonu için toplam 3 adet ıska soğan kullanıldı.

Bölüm 2.2.1'de belirtildiği gibi Basudin ve Cupravit pestisit çözeltilerinin belirlenen konsantrasyonlarında çimlendirilen *Allium cepa* örneklerine ait kök uzunluğu ve ağırlık kazanımına ait sonuçlar Çizelge 3.1'de ve fotoğraflar Şekil 3.1'de verilmiştir. Şekil 3.1'de, Basudin ve Cupravit'in 600, 1200 ve 1800 ppm konsantrasyonlarındaki çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa* kök uzunluklarının, kontrol *Allium cepa* kök uzunluklarına oranla daha kısa olduğu görülmektedir.

Kontrol grubu *Allium cepa*' da maksimum kök uzunluğu 10 cm, maksimum ağırlık (yaş) kazanımı 11.8 g olarak bulunmuştur. Uygulama grubu örneklerde en fazla kök uzunluğu 1.8 cm olarak 600 ppm Cupravit çözeltilisinde, minimum kök uzunluğu ise 0.4 cm olarak 1800 ppm Basudin çözeltilisinde, maksimum ağırlık kazanımı 8.6 g olarak 600 ppm Cupravit çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa* örneklerinde elde edilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çimlenen *Allium cepa*' da kök uzunluğu üzerine pestisitlerin etkileri (7 günlük inkübasyon) Kontrol: K, Basudin (B), Cupravit (C)

Uygulanan pestisit	Minimum kök uzunluğu (cm)	Maksimum kök uzunluğu (cm)	Ortalama±SD	Ağırlık (g)
K	9.7	10*	9.85±0.15	11.8
B ₆₀₀	1.4	1.6	1.5±0.1	8.5
B ₁₂₀₀	0.75	0.9	0.825± 0.074	6.9
B ₁₈₀₀	0.4*	0.6	0.5± 0.1	5.4
C ₆₀₀	1.75	1.8*	1.77±0.15	8.6
C ₁₂₀₀	1.0	1.2	1.1±0.1	8.4
C ₁₈₀₀	0.8	1.0	0.9±0.1	6.3

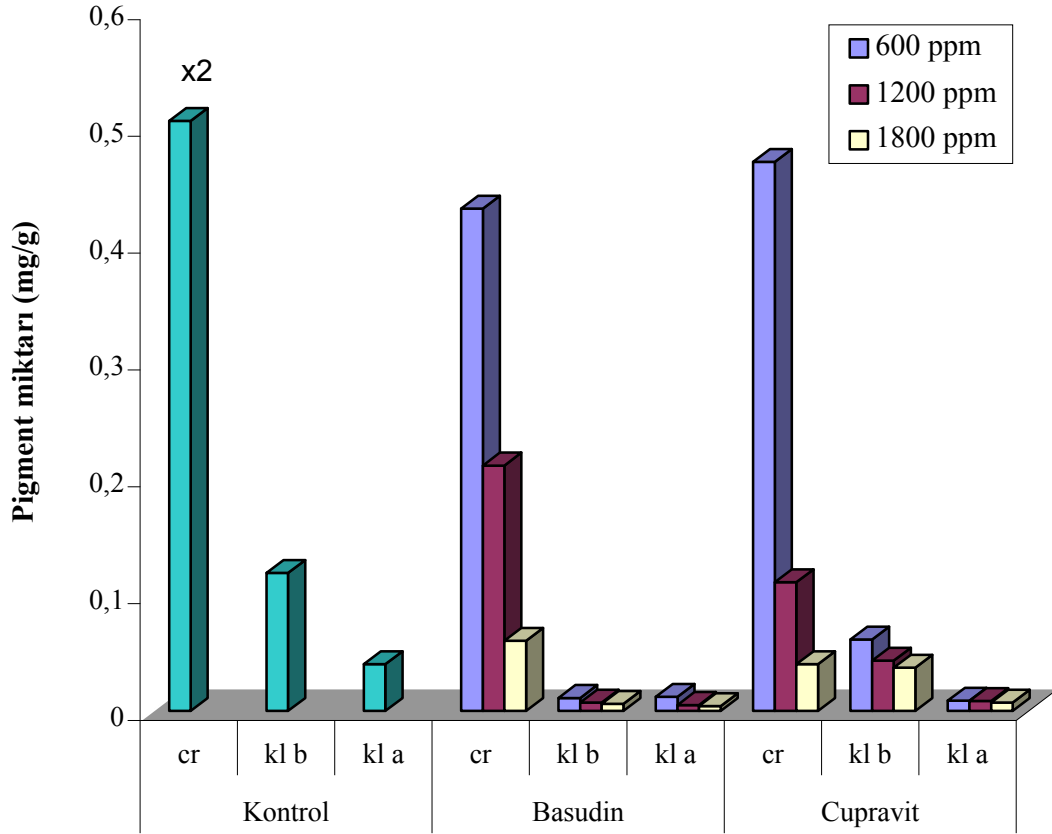


Şekil 3.1. Basudin (1) ve Cupravit (2) çözeltilerinde [Kontrol (a), 600 (b), 1200 (c) ve 1800 (d) ppm] çimlendirilen *Allium cepa* örnekleri

3.1.2. Çimlenen *Allium cepa*' da Pigment Miktarındaki Değişimler

Bölüm 2.2.2' de belirtildiği gibi Basudin ve Cupravit pestisit çözeltilerinin belirlenen konsantrasyonlarında çimlendirilen *Allium cepa* örneklerine ait pigment miktarındaki değişimlere ait sonuçlar Şekil 3.2'de verilmiştir.

Şekil 3.2'de görüldüğü gibi, kontrol grubu *Allium cepa*' da, karotenoid (cr) miktarı 1,01 mg/g, klorofil b (kl b) miktarı 0,118 mg/g ve klorofil a (kl a) miktarı 0,040 mg/g iken, 600 ppm Basudin çözeltisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,43 mg/g cr, 0,011 mg/g kl b ve 0,012 mg/g kl a, 1200 ppm Basudin çözeltisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,21 mg/g cr, 0,007 mg/g kl b ve 0,005 mg/g kl a, 1800 ppm Basudin çözeltisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,06 mg/g cr, 0,006 mg/g kl b ve 0,004 mg/g kl a olarak hesaplanmıştır. 600 ppm Cupravit çözeltisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,47 mg/g cr, 0,061 mg/g kl b ve 0,0087 mg/g kl a, 1200 ppm Cupravit çözeltisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,11 mg/g cr, 0,043 mg/g kl b ve 0,0085 mg/g kl a, 1800 ppm Cupravit çözeltisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,04 mg/g cr, 0,037 mg/g kl b ve 0,007 mg/g kl a olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlardan anlaşılacağı üzere, kontrol soğan örneklerindeki pigment miktarı, farklı pestisit konsantrasyonlarına maruz bırakılan uygulama gurubu soğan örneklerindeki pigment miktarlarından fazladır.



Şekil 3.2. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* yapraklarındaki klorofil a (kl a), klorofil b (kl b) ve karotenoid (cr) miktarları

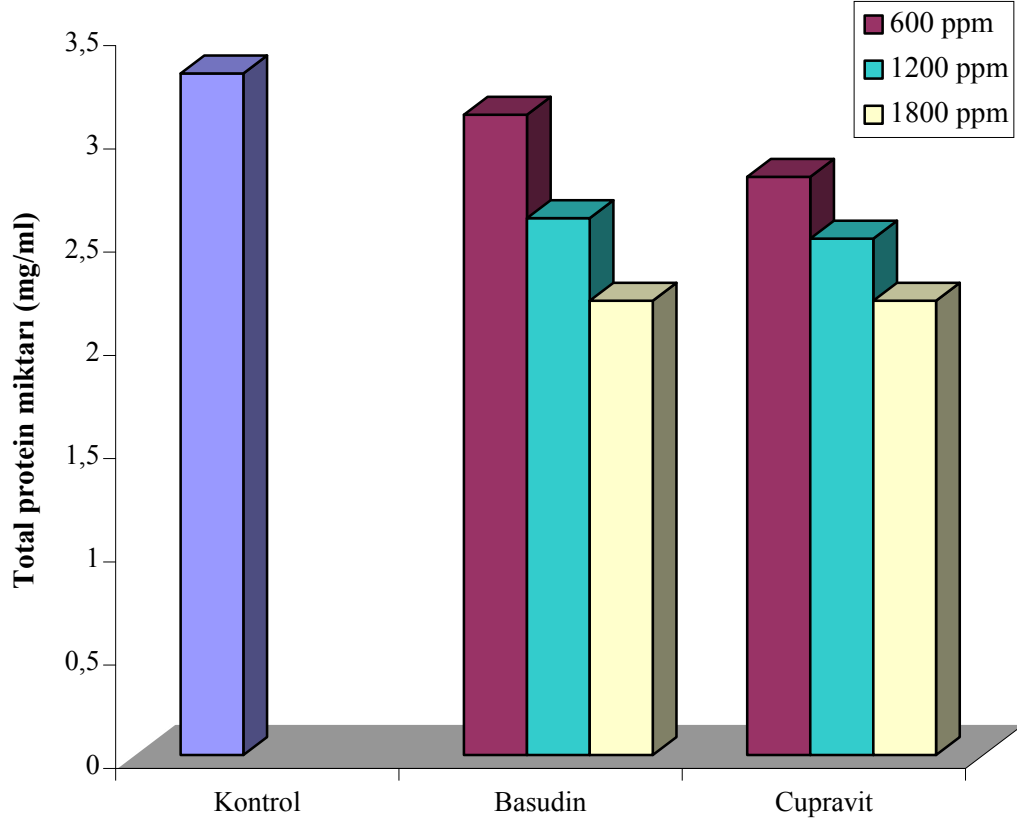
3.2. Pestisitlerin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

3.2.1. Total Protein Tayini

Bölüm 2.3.1’de belirtildiği gibi Basudin ve Cupravit pestisit çözeltilerinin belirlenen konsantrasyonlarında çimlendirilen *Allium cepa* örneklerinin total protein miktarlarına ait sonuçlar Şekil 3.3’ te verilmiştir.

Şekil 3.3’te belirtildiği gibi, kontrol grubu *Allium cepa*’ da total protein miktarı, 3,3 mg/ ml iken, Basudin çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa* örneklerinde total protein miktarları sırasıyla; 600 ppm’de 3,1 mg/ ml, 1200 ppm’de 2,6 mg/ ml ve 1800

ppm'de 2,2 mg/ ml olarak hesaplanmıştır. Cupravit çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa* örneklerinde total protein miktarlarının sırasıyla; 600 ppm'de 2,8 mg/ ml, 1200 ppm'de 2,5 mg/ ml ve 1800 ppm'de 2,2 mg/ ml olduğu görülmektedir.



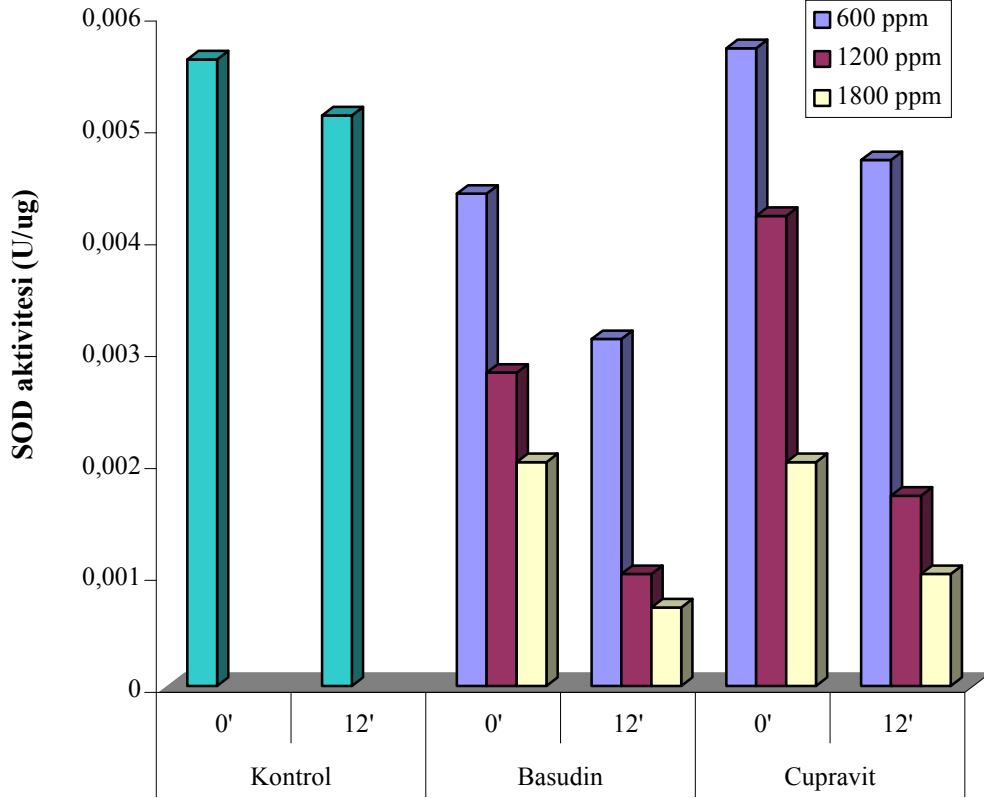
Şekil 3.3. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltileriyle muamele edilen *Allium cepa* kök uçlarında ölçülen total protein miktarları

3.2.2. SOD, CAT ve GSH-Px Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Bölüm 2.3.2'de belirtildiği gibi Basudin ve Cupravit pestisit çözeltilerinin belirlenen konsantrasyonlarında çimlendirilen *Allium cepa* örneklerindeki enzim aktivitelerine (SOD, CAT, GSH-Px) ait sonuçlar Şekil 3.4, 3.5 ve 3.6' da verilmiştir.

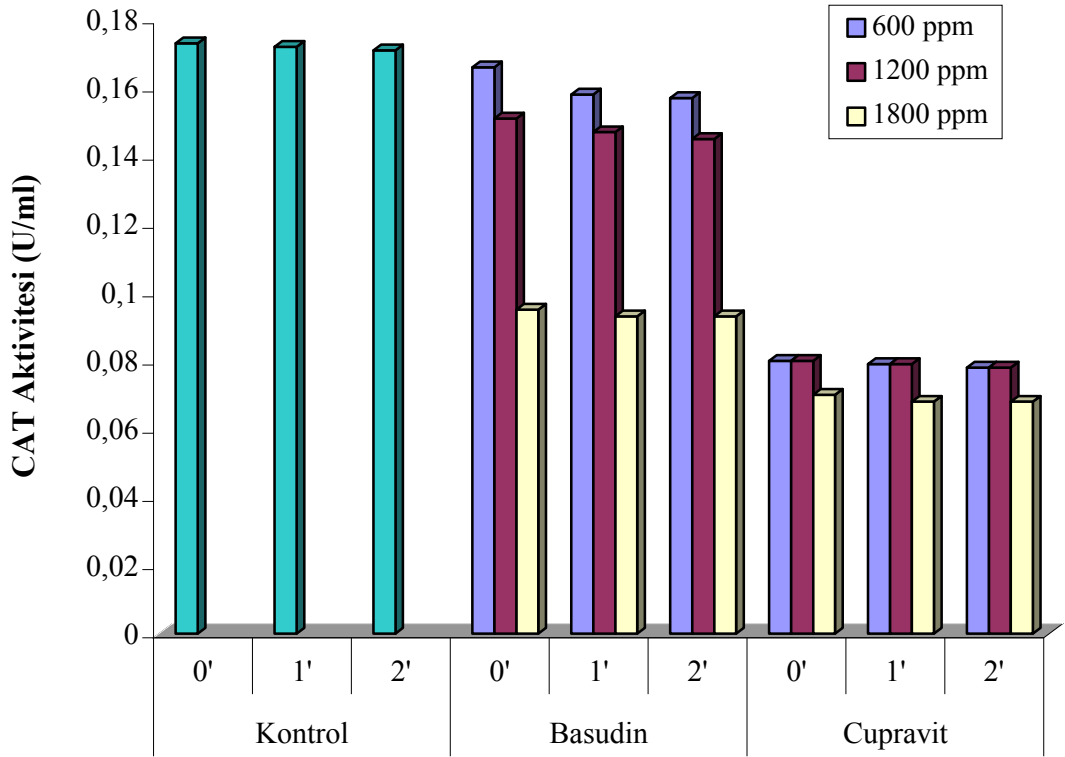
Şekil 3.4'te görüldüğü gibi, kontrol grubu *Allium cepa*' da SOD aktivitesi 0. dk'da 0,0056 U/ μ g, 12. dk'da 0,0051 U/ μ g iken, Basudin pestisitinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde SOD aktivitesi sırasıyla, 600 ppm'de 0,0044 (0'), 0,0031 (12') U/ μ g, 1200 ppm'de 0,0028 (0'), 0,0010 (12')

U/ug ve 1800 ppm'de 0,0020 (0'), 0,0007 (12') U/ug' dir. Cupravit pestisitinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde SOD aktivitesinin sırasıyla, 600 ppm'de 0,0057 (0'), 0,0047 (12') U/ug, 1200 ppm'de 0,0042 (0'), 0,0017 (12') U/ug, 1800 ppm'de 0,0020 (0'), 0,0010 (12') U/ug olduğu görülmektedir.



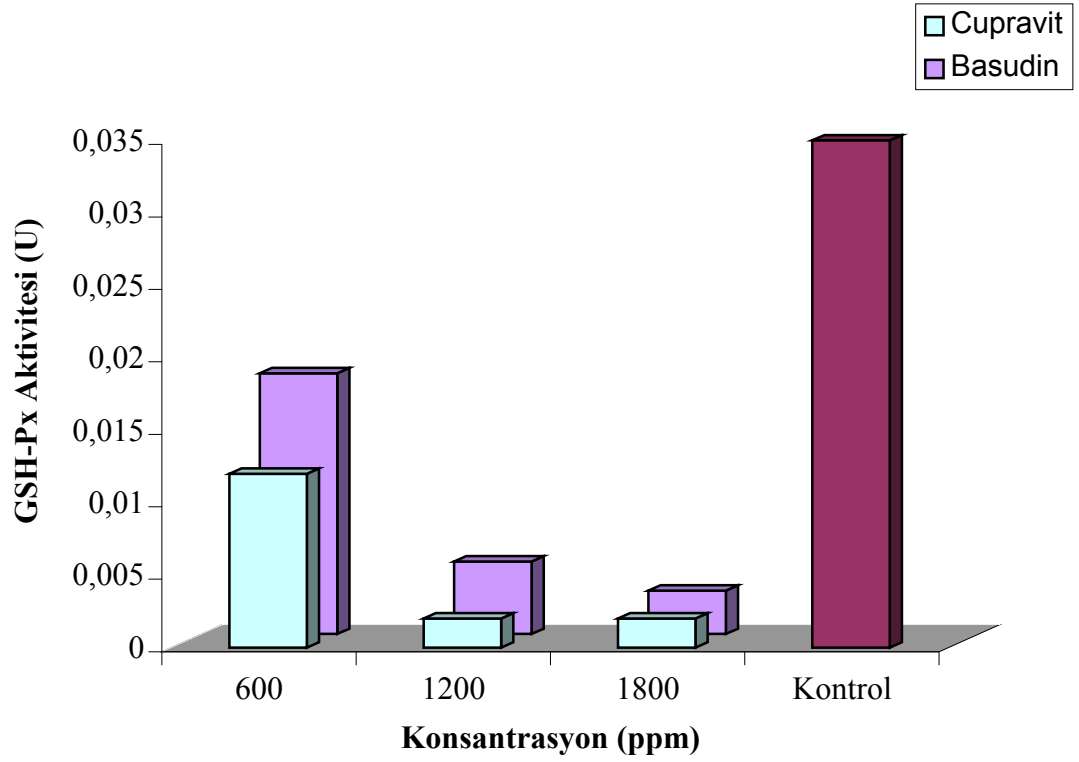
Şekil 3.4. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* yapraklarındaki SOD aktivitesi

Şekil 3.5'te, kontrol grubu *Allium cepa*' da CAT aktivitesi 0. dk'da 0,173 U/ml, 1. dk'da 0,172 U/ml ve 2. dk'da 0,171 U/ml iken, Basudin pestisitinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde CAT aktivitesinin sırasıyla, 600 ppm'de 0,166 (0'), 0,158 (1'), 0,157 (2') U/ml, 1200 ppm'de 0,151 (0'), 0,147 (1'), 0,145 (2') U/ml ve 1800 ppm'de 0,095 (0'), 0,093 (1'), 0,093 (2') U/ml olduğu, Cupravit pestisitinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde CAT aktivitesinin sırasıyla, 600 ppm'de 0,080 (0'), 0,079 (1'), 0,078 (2') U/ml, 1200 ppm'de 0,080 (0'), 0,079 (1'), 0,078 (2') U/ml, 1800 ppm'de 0,070 (0'), 0,068 (1'), 0,068 (2') U/ml olduğu görülmektedir.



Şekil 3.5. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* yapraklarındaki CAT aktivitesi

GSH-Px aktivitesine ait sonuçlar Şekil 3.6' da verilmiştir. Şekil 3.6' da kontrol grubu *Allium cepa'* da GSH-Px aktivitesi, 0,035 ünit (U) iken, Basudin pestisitinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde GSH-Px aktivitesi sırasıyla; 600 ppm'de 0,008 U, 1200 ppm'de 0,005 U, 1800 ppm'de 0,003 U olarak, Cupravit pestisitinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde GSH-Px aktivitesi sırasıyla; 600 ppm'de 0,012 U, 1200 ppm'de 0,002 U ve 1800 ppm'de 0,002 U olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.6. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Basudin ve Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* yapraklarındaki GSH-Px aktivitesi

3.3. Pestisitlerin Sitolojik Parametreler Üzerine Etkisi

3.3.1. Mitotik İndeks, Mitoz ve Kromozom Anormallikleri

Bölüm 2.4.1’de belirtildiği gibi Basudin ve Cupravit pestisit çözeltilerinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerine ait mitotik indeks sonuçları Çizelge 3.2’de, mikronüklüs fotoğrafları Şekil 3.7 ve 3.8’de, kromozom anormalliklerine ait fotoğraflar ise Şekil 3.9, 3.10, 3.11, 3.12, 3.13 ve 3.14’de verilmiştir.

Çizelge 3.2’de kontrol grubu *Allium cepa*’da mitotik indeks 4,9 iken, Basudin pestisitinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde mitotik indeks sırasıyla; 600 ppm’de 3, 1200 ppm’de 2, 1800 ppm’de 1,2 olarak, Cupravit pestisitinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde mitotik indeks sırasıyla; 600 ppm’de 3,7, 1200 ppm’de 3,2 ve 1800 ppm’de 1,8 olarak hesaplanmıştır.

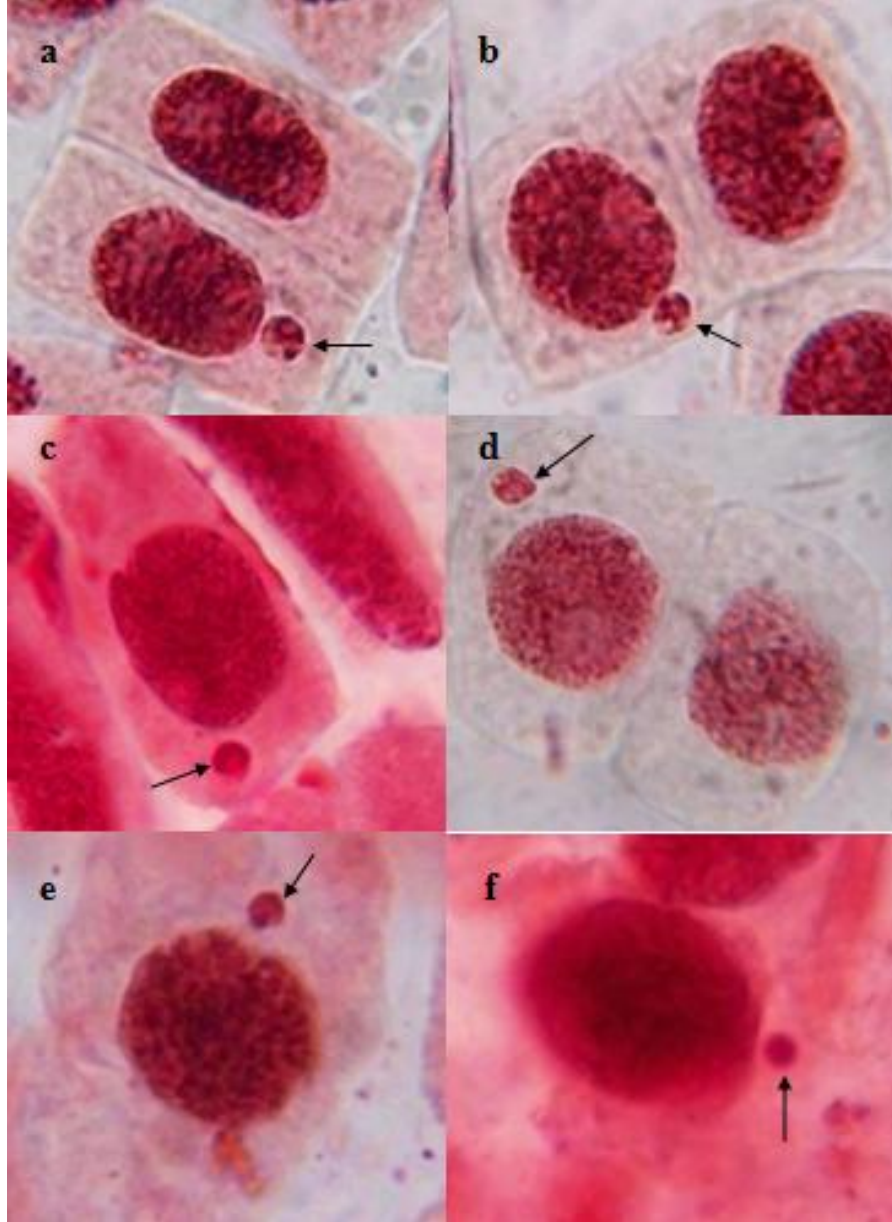
Çizelge 3.2. Farklı pestisit çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa*’ da MI sonuçları

MI	Basudin	Cupravit
600 ppm	3,0	3,7
1200 ppm	2,0	3,2
1800 ppm	1,2	1,8

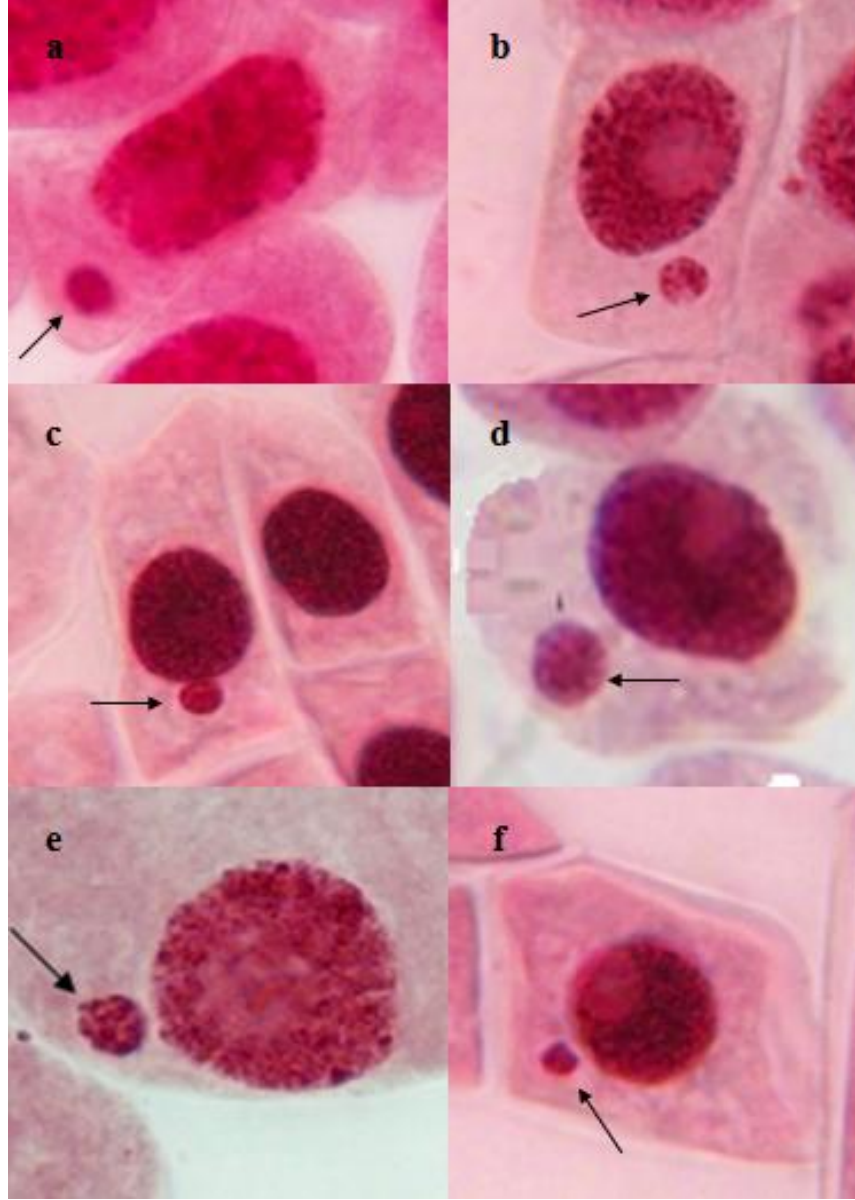
MI (Kontrol) 4.9 olarak hesaplanmıştır.

Şekil 3.7 ve 3.8’de, Basudin’e ait 1200 ppm ve 1800 ppm konsantrasyonlarında, Cupravit’e ait 600 ppm, 1200 ppm ve 1800 ppm konsantrasyonlarında gözlenen mikronükleus oluşumlarına ait sonuçlar gösterilmiştir. Kontrol grubu ve 600 ppm Basudin çözeltilisinde mikronükleus oluşumu gözlenmemiştir.

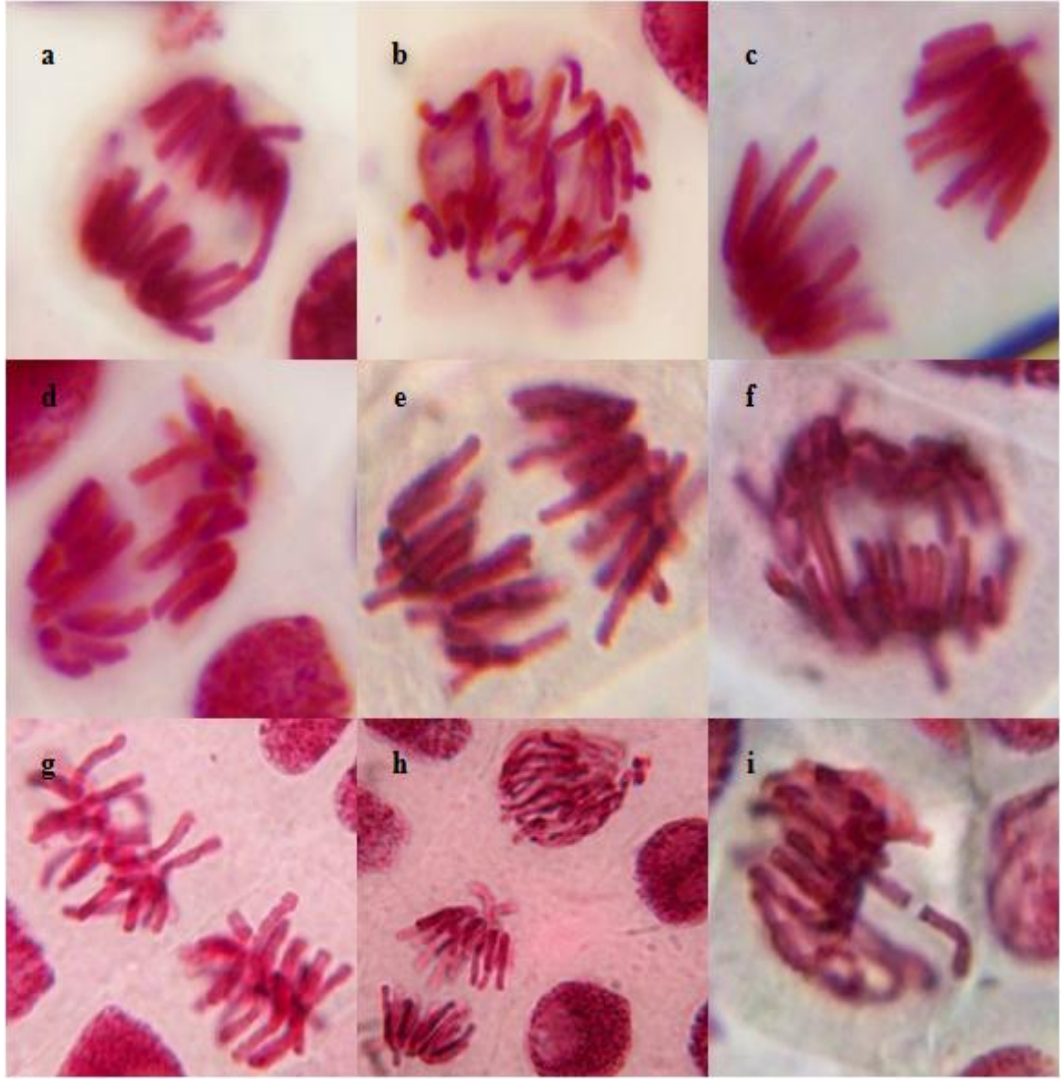
Şekil 3.9, 3.10, 3.11, 3.12, 3.13 ve 3.14’de, uygulanan tüm pestisit konsantrasyonlarında *Allium cepa*’da oluşan kromozom anormallikleri gösterilmiştir ve tüm pestisit konsantrasyonlarında kromozomal anormallikler olduğu görülmektedir. Kontrol grubunda ise kromozom anormallikleri gözlenmemiştir.



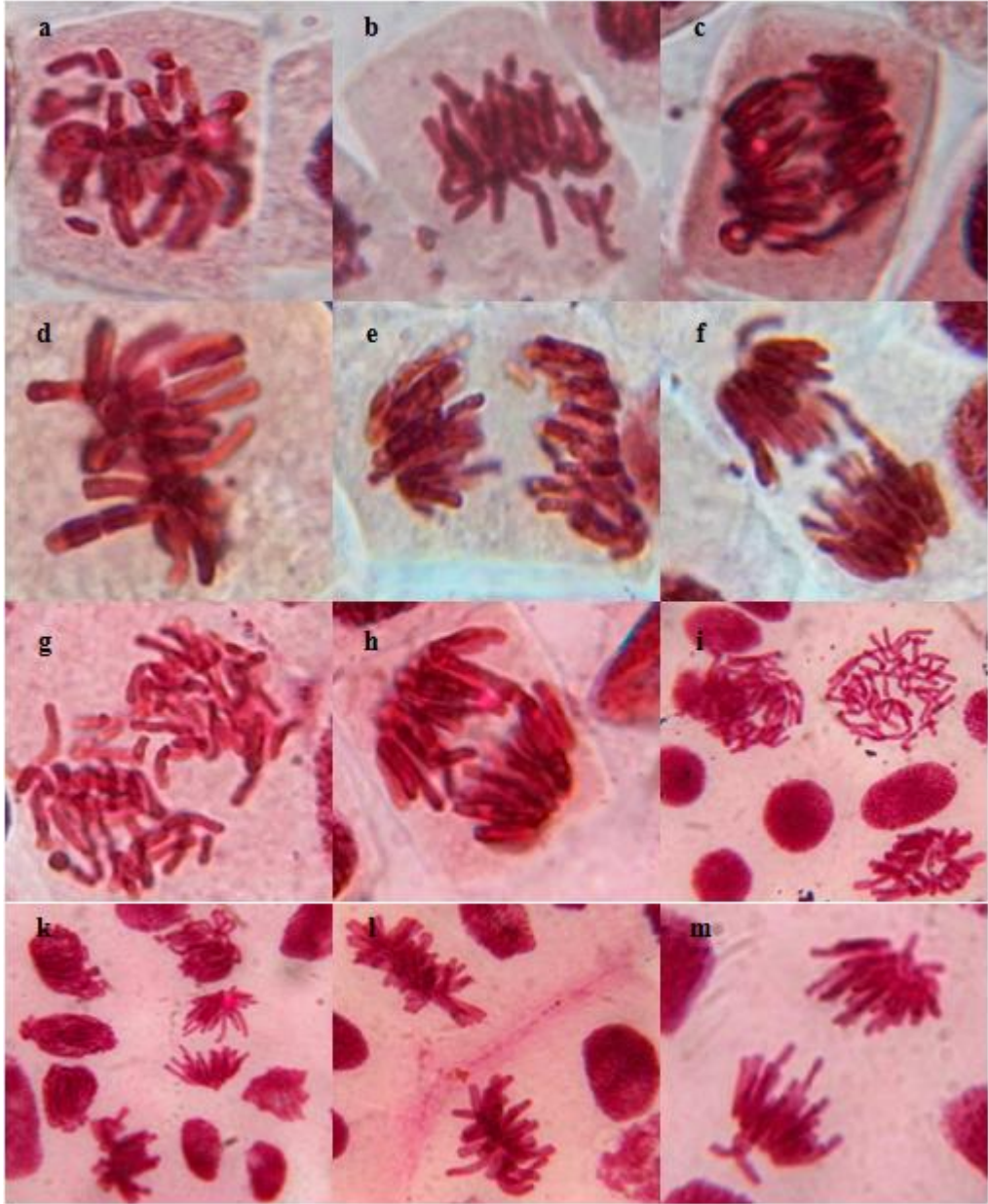
Şekil 3.7. 1200 ppm (a, b) ve 1800 ppm (c, d, e, f) Basudin çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde MN oluşumları (oklarla gösterilmiştir).



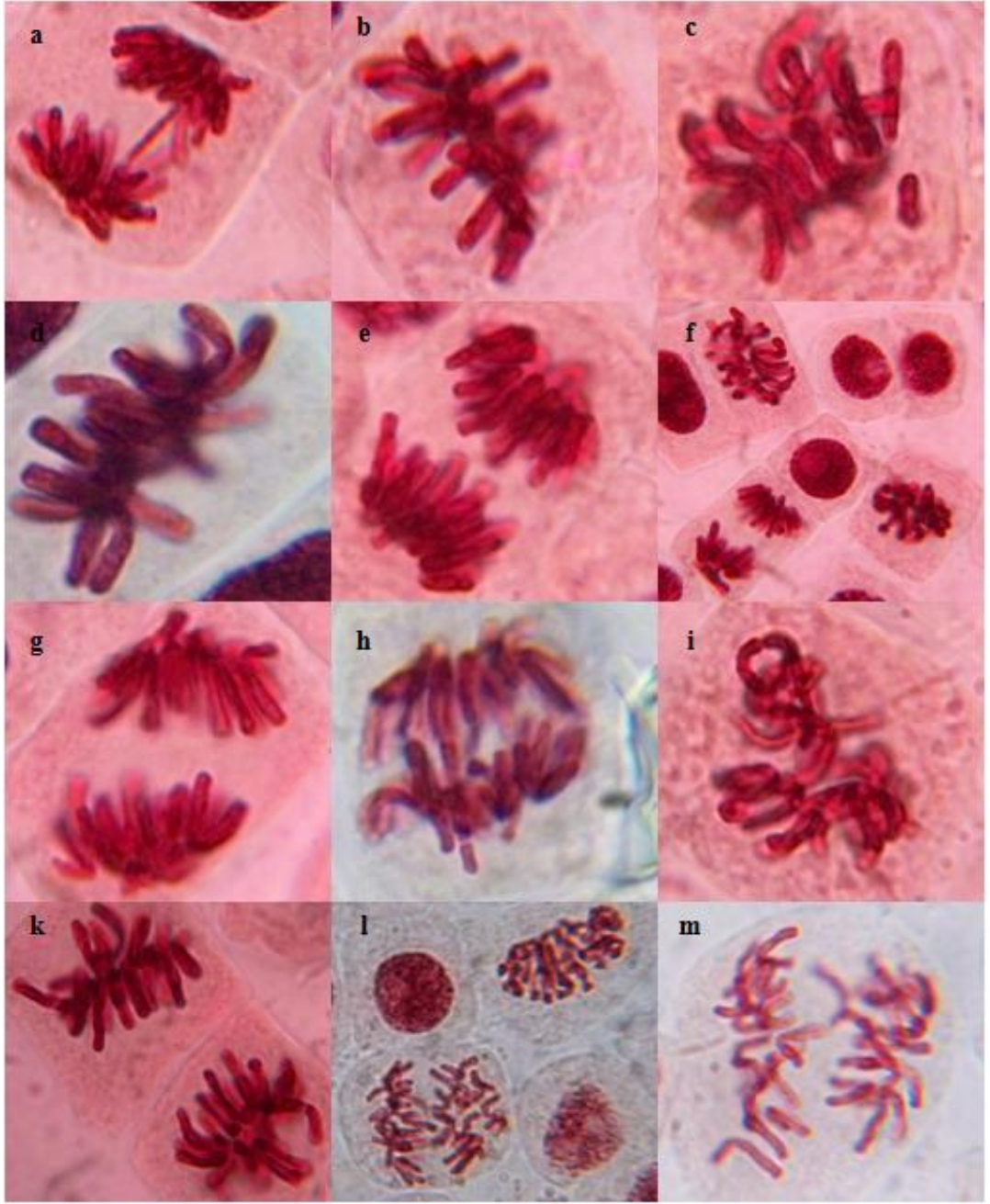
Şekil 3.8. 600 ppm (a, b), 1200 ppm (c, d) ve 1800 ppm (e, f) Cupravit çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde MN oluşumları (oklarla gösterilmiştir)



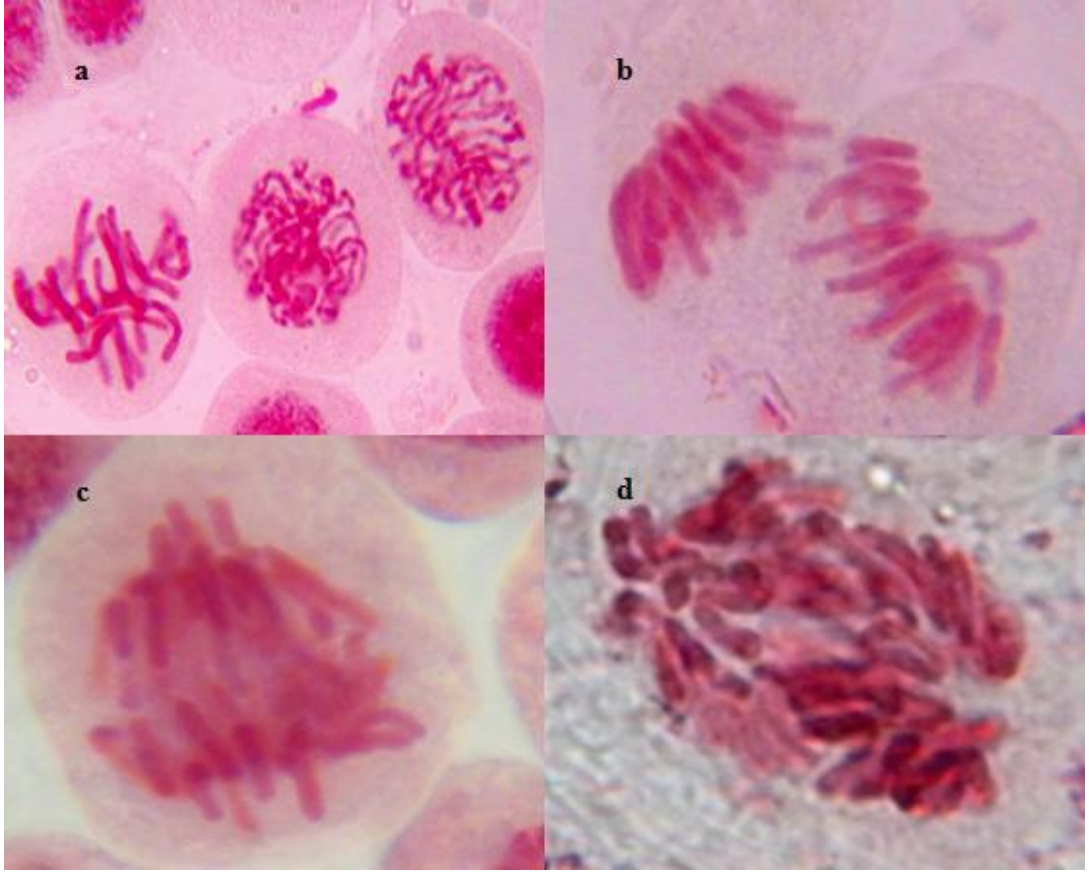
Şekil 3.9. 600 ppm Basudin çözeltisinde çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Anafazda kromozom köprüsü **b)** Bimetafaz **c, e)** Anafazda orantısız dağılım **d)** Anafazda orantısız dağılım ve kutup kayması **f)** Anafazda kromozom köprüsü ve orantısız dağılım **g)** Yapışık kromozomlar **h)** Loop oluşumu ve anormal kromozom yoğunlaşması **i)** Fragmentasyon



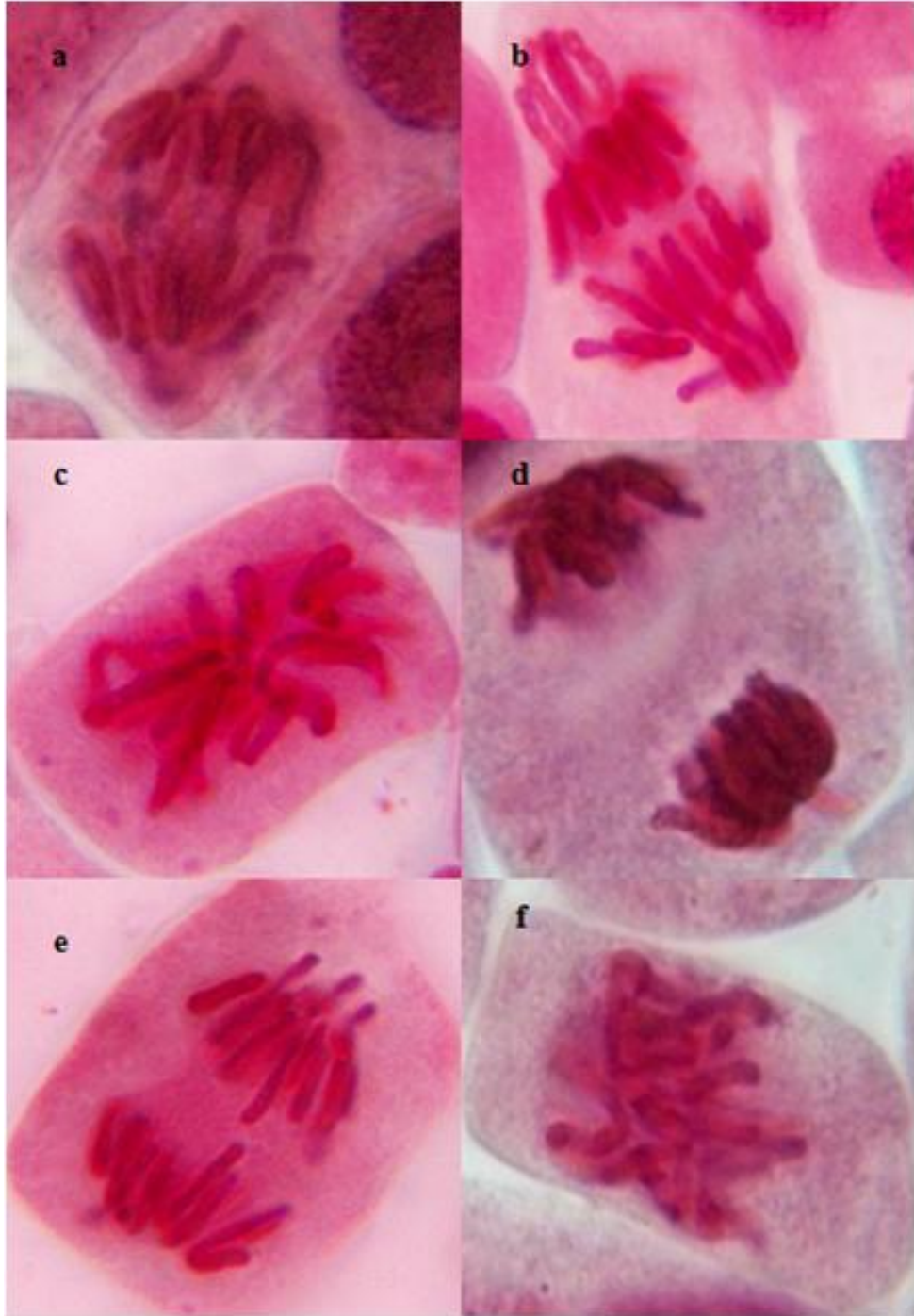
Şekil 3.10. 1200 ppm Basudin çözeltisinde çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Düzensiz metafaz ve kromozom kırıkları **b)** Kalgın kromozom **c)** Loop oluşumu **d)** Yapışık kromozom ve kromozom kırığı **e)** Anafazda orantısız dağılım **f)** Anafazda kromozom köprüsü **g)** Bütünlüğü bozulmuş kromozomlar **h)** Anafazda kromozom köprüsü ve loop oluşumu **i)** Bütünlüğü bozulmuş kromozomlar ve bimetafaz **k)** Kromozom ilmeği, anafazda kutup kayması ve orantısız dağılım, yapışık kromozom **l)** Yapışık kromozomlar **m)** Anafazda orantısız dağılım ve loop oluşumu



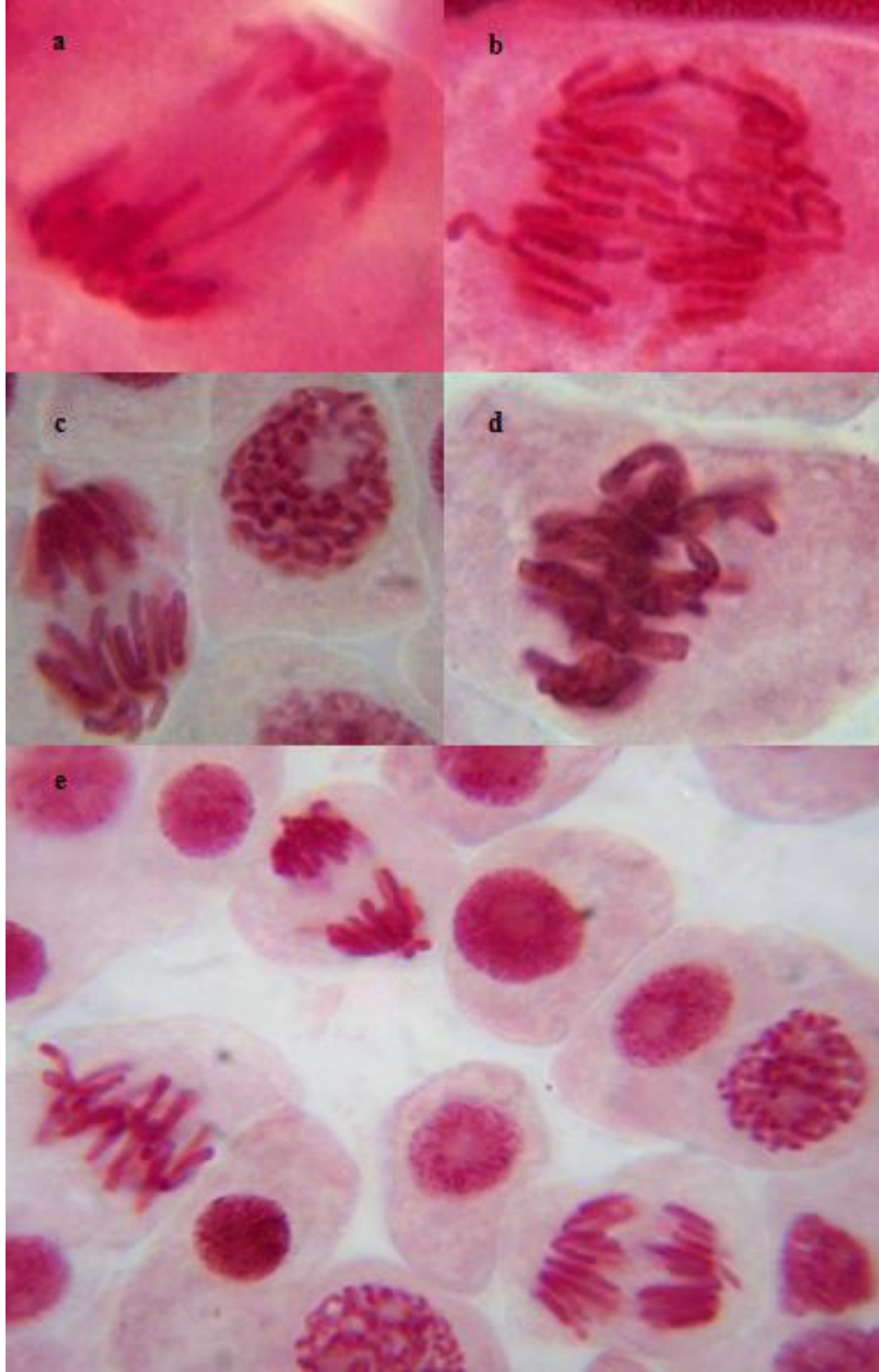
Şekil 3.11. 1800 ppm Basudin çözeltisinde çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Anafazda kromozom köprüsü **b, d)** Yapışık kromozomlar **c)** Düzensiz metafaz ve kromozom kırığı **e)** Anafazda orantısız dağılım **f)** Düzensiz metafaz, anafazda orantısız dağılım ve geciken kromozom **g)** Anafazda kutup kayması ve orantısız dağılım **h)** Kromozom köprüsü ve kromozom kırığı **i)** c-mitoz ve loop oluşumu **k)** Yapışık kromozomlar ve kromozom kırığı **l, m)** Multipolar anafaz ve düzensiz metafaz



Şekil 3.12. 600 ppm Cupravit çözeltisinde çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Yapışık kromozom ve düzensiz metafaz **b)** Anafazda kutup kayması, eşit olmayan kromatin dağılımı ve kalgın kromozom **c)** Anafazda orantısız dağılım ve loop oluşumu **d)** Şişmiş (swollen) kromozom



Şekil 3.13. 1200 ppm Cupravit çözeltisinde çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Anafazda orantısız dağılım, kromozom köprüsü **b)** Eşit olmayan kromatin dağılımı ve geciken kromozom **c)** Yapışık kromozom ve kromozom kırığı **d)** Anafazda orantısız kromatin dağılımı **e)** Geciken kromozom ve kromozom kopması **f)** Düzensiz metafaz



Şekil 3.14. 1800 ppm Cupravit çözeltisinde çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Anafazda kromozom köprüsü **b)** Multipolar anafaz **c)** Eşit olmayan kromatin dağılımı, kromozom kırığı ve geciken kromozom **d)** Yapışık kromozom **e)** Anafazda eşit olmayan dağılım, loop oluşumu ve yapışık kromozom

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Hızla artan dünya nüfusunun temel besin kaynağını bitkiler oluşturmaktadır. Ancak artan dünya nüfusunu beslemek için kullanılan tarım alanlarının miktarı gün geçtikçe azalmaktadır. Hastalık yapıcı bitki patojeni ve böcek türleri, birim alandan elde edilen ürün miktarını ve kalitesini düşürmektedir (2-5). Tarım alanında yoğun olarak kullanılan pestisitler, tarımsal savaşta hedef organizmaları yok ederek ürün artışını sağlamakla birlikte özellikle canlılar üzerinde gelişmeyi durdurucu, hastalık yapıcı, mutajen, kanserojen ve öldürücü etkilere sahiptirler (9,10).

Ülkemizde tarımın hızlı artışına paralel olarak tarım ilacı kullanımının giderek artması sonucu, pestisit uygulanmış ürünlerden insanların ve hedef alınmayan diğer canlıların zarar görmemesi için, pestisitlerin mutajenik etkilerinin test edilmesi gerekmektedir (2-5).

Bitkiler üzerinde sitotoksik etkileri olan pestisitlerin hücrelerde neden olduğu kromozomal sapmalar, genetik hasarın göstergesi olarak kabul edilebilir (42). Bu nedenle kullanılan bu pestisitlerin neden olduğu çeşitli toksik etkileri direkt olarak gösteren *Allium cepa* bitkisi testi, toksisite ölçümlerinde sıklıkla tercih edilmektedir (17). Bitki kök ucu sistemlerinin incelenmesi, çevresel etkilerin belirlenmesinde hızlı ve hassas bir metoddur. Çünkü kök uçları, doğada toprağa ve suya karışan kimyasallara maruz kalan ilk yapılardır. Pestisitler toprak ve suyun kalitesini bozan etmenlerden biridir ve dolayısıyla çalışmamızda kullanılan *Allium cepa*'nın veriminin arttırılması, toprak ve suyun kalitesine bağlıdır (17).

Bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak tüketilen *Allium cepa*'nın geniş alanlarda tarımı yapılmaktadır. Kimyasalların neden olduğu biyolojik etkilerin araştırılmasında, 1938 (Levan)'den beri kullanılan *Allium cepa* kök uçları, uygulanan kimyasalın çeşitli toksik ve genotoksik etkilerini direkt olarak göstermektedir. *Allium cepa* kök meristemi, mitoz bölünme geçiren hücrelerin yüksek bir oranını içermektedir. Ayrıca kromozom sayısının düşük ($2n=16$) ve kromozomların çok

kalın olması doğru ve tam sayım yapma olanağı sağlamaktadır. Kromozom büyüklüğünün ölçülmesinde de kullanılan *Allium cepa* kök uçlarının, kardeş kromatid değişimlerinin frekansı üzerine kimyasal maddelerin etkilerinin çalışılmasında uygun bir materyal olduğu bulunmuştur (101).

Günümüzde çok çeşit ve sayıdaki pestisitlerin büyük bir kısmının sitotoksik, biyokimyasal ve fizyolojik etkileri detaylı olarak incelenmemiştir. Bu nedenle çalışmamızda tarım alanında yaygın bir şekilde kullanılan Basudin 60 EM (insektisit) ve Cupravit ob 21 (fungisit) pestisitlerinin *Allium cepa* bitkisi üzerine sitotoksik, biyokimyasal ve fizyolojik etkileri araştırılmış, ayrıca insektisit, fungusit ve herbisit pestisitlerinin zararlı etkileri kontrolleriyle mukayeseli olarak çalışılmıştır. Her bir gruba ait pestisitlerin sitotoksik etkileri mitoz anormallikleri, mitotik indeks, kromozomal hasarlar ve mikronükleus oluşumu uygulanan testler ile belirlenmiştir.

Bir bitki tohumunun fide haline dönüşebilmesi için biyokimyasal ve fizyolojik reaksiyonlar oldukça önemlidir. Bu nedenle bu çalışma kapsamında pestisitlerin sitotoksik etkilerinin yanında, biyokimyasal ve fizyolojik etkilerini belirlemek için kök uzunluğu, ağırlık kazanımı, enzim ve protein miktarları, pigment düzeyleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Çalışmamızda Basudin ve Cupravit pestisitlerinin denenen 600, 1200 ve 1800 ppm konsantrasyonları ile muamele edilen *Allium cepa* örneklerinde kök uzunluğu ve ağırlık kazanımındaki değişimler, total protein, enzim ve pigment miktarındaki azalmalar, mitoz ve kromozomal anormallikler, mikronükleus oluşumu, mitozda hücre bölünme sıklığında (MI: mitotik indeks oranı) azalma gözlenmiştir.

Ağırlık kazanımı ve kök uzunluğu ile ilgili Çizelge 3.1' deki sonuçlardan pestisit uygulamasının *Allium cepa* ağırlık kazanımı ve kök uzunluklarını önemli oranda engellediği ve fotosentetik pigmentlerin miktarlarında azalmaya sebep olduğu görülmektedir. Uygulanan pestisit dozları ile kök uzunluğu ve ağırlık kazanımları arasında ters bir orantının olduğu tespit edilmiştir. En yüksek kök uzunluğu ve ağırlık kazanımı kontrol grubu *Allium cepa*' da, en düşük kök uzunluğu ve ağırlık kazanımı

ile ilgili sonuçlar 1800 ppm pestisit konsantrasyonunda çimlendirilen *Allium cepa*' da elde edilmiştir.

Işıl ve arkadaşları (2004) tarafından yapılan çalışmada, buğdayda tohum çimlenmesi, kök uzaması, mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerine spermidin, spermin, sikloheksilamin pestisitlerinin etkileri incelenerek kök uzamasını engellediği, kromozomlarda anormallikler yarattığı saptanmıştır (102).

Saladin ve arkadaşlarının (2003) yaptığı çalışmada, Fludioxonil' in yüksek dozlarının *in vitro* koşullarda *Vitis vinifera* L.'nin fotosentetik pigment maddelerini olumsuz yönde etkileyerek fotosentezi bozduğu belirtilmiştir (103). Özörgücü (1990) ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da Antracol WP 70 (Propineb)'in doz artışına paralel olarak tütün yapraklarındaki klorofil içeriğinde azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (104). Tort ve arkadaşları (2003) Captan fungusitinin farklı konsantrasyonlarının biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisinde klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarlarının, fungusitin etikette önerilen dozunda kontrole göre arttığı, ancak doz artışına paralel olarak fotosentetik pigmentlerin miktarının azaldığı bildirilmiştir (105). Tort ve arkadaşlarının (2004) yaptıkları çalışmada, Nemesis DS (%1 Diniconazole) fungusitine maruz bırakılmış arpa bitkisinin (*Hordeum vulgare* L.) Efes 98 ve kaya kültür formlarında, pestisit konsantrasyon artışına paralel olarak, klorofil a ve toplam klorofil miktarlarında azalma tespit edilmiştir (106). Yürekli ve Güven (1989)'in yaptıkları çalışmada, Penoksalin'in mısır ve pamukta klorofil a ve b miktarlarının kontrol bitkilerine oranla azalttığı belirtilmiştir (36).

Çalışmamızda, uygulama gurubu *Allium cepa* kök örneklerinde, total protein miktar tayini yapılmış, pestisit konsantrasyon artışına bağlı olarak (600, 1200 ve 1800 ppm), kontrol gurubuna göre pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan örneklerde protein miktarında bir düşüş meydana gelmiştir.

Aktaş ve arkadaşlarının (1994), Endosülfan'ın mercimek bitkisine uygulanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada, uygulanan pestisit hücrelerdeki total protein miktarını doz artışına bağlı olarak azalttığı bulunmuştur (107). Öztürk ve Tort (2004)

tarafından yapılan başka bir çalışmada, domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisine uygulanan Switch 62.5 WG (% 37.5 Cyprodinil + % 25 Fludioxonil) fungusitinin, bazı fotosentetik pigmentler ve protein miktarları üzerine etkisi incelenmiş, uygulanan fungusitin domates bitkisinde fizyolojik strese neden olduğu görülmüştür (108). Pinheiro ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan bir çalışmada da yüksek dozlardaki fungusit uygulamalarının total serbest amino asitler ile protein konsantrasyonlarını azalttığı bildirilmiştir (109).

Çalışmamızda kullanılan pestisitlerin biyokimyasal etkilerinden biri de antioksidatif enzim miktarlarındaki değişimlerdir. Bunun için, pestisitlerin bitkilerde kimyasal ajanlara karşı bitki metabolizmasını koruyucu olan antioksidatif sisteme ait SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiş ve pestisit stresinin enzim miktarlarında düşüşe neden olduğu görülmüştür. Bu konuyla ilgili olarak yapılan çalışmalara bakılacak olursa, Serap Topçu (2010)'nun yaptığı yüksek lisans tez çalışmasında, Antracol WP 70, Challenge SC 600 ve Dursban 4 pestisitleri uygulanan *Allium cepa* örneklerinde doz artışına paralel olarak SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir (110).

Çalışmamızda pestisitlerin *Allium cepa* kök hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri de araştırılmış, farklı pestisit konsantrasyonlarında çimlendirilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde kontrol grubuna göre, mikronükleus oluşumlarının, mitoz anormalliklerinin ve kromozom hasarlarının arttığı, mitotik indeks oranının ise azaldığı görülmüştür. Kontrol grubuna ait bitkilerde anomali gözlenmezken, 600, 1200 ve 1800 ppm uygulama dozuna maruz bırakılan *Allium cepa* örneklerinde mitozda anormalliklere, kromozomal hasarlara ve mikronükleus oluşumlarına rastlanmıştır. Ancak pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan uygulama grubundaki *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde, doz artışına bağlı olarak mitoz giren hücre sayısında (MI: mitoz sıklığı) ise azalmalar gözlenmiştir. 600 ppm pestisit çözeltisinde yetiştirilen örneklerde MI oranının, 1200 ve 1800 ppm konsantrasyonlarda çimlendirilen örneklerdeki kök ucu hücrelerinin MI oranına göre daha fazla olduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlara göre, uygulama grubu soğan örneklerinde, pestisitlerin tüm konsantrasyonlarının genotoksik açıdan olumsuz etkilere neden olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda ulaştığımız, doz artışına bağlı olarak gözlemlenen anomali sayısındaki artış yapılan bir başka araştırma sonucu ile de desteklenmektedir. Ülkemizde kullanılan pestisitlerden Stomp, Gra-moxone, Afalon, Hyvar x, Korthion ve Thiodan-methyl'in ile yapılan çalışmada, bu pestisitlerin *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerindeki mitotik aktiviteye etkileri, oluşturdukları mitotik anormallikler ve kromozom değişimleri incelenmiş, mitotik aktivitenin engellenmesi, uygulanan doza ve uygulama süresine bağlı bulunmuştur. Uygulamada kullanılan pestisitlerin, mitotik evrelerin dağılışında da değişimlere sebep olduğu, metafazların oranının arttığı, yani hücrenin bölünmeye gidemediği, buna paralel olarak anafaz ve telofazların oranının azaldığı tespit edilmiştir (111). Çelik ve arkadaşları (2003) tarafından yapılan çalışmada, Dinocap fungusinin soğan kök hücreleri üzerine sitogenetik etkileri araştırılmış, MI oranının tüm uygulama zamanlarında ve artan konsantrasyonlarda düşme gösterdiği, bu fungusitin yapışık kromozomlara, c-mitoza, köprü oluşumuna, multipolariteye, poliploidiye, kardeş kromatit değişimlerine, parça oluşumuna, geciken kromozomlara, mikronükleus ve 2 çekirdekli hücre oluşumuna, mitotik faz sıklığında azalmaya neden olduğu ve Dinocap' ın tüm uygulama zamanlarında toksik etkisi olduğu tespit edilmiştir (112). Yüzbaşıoğlu ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışmada, *Allium cepa* bitkisi üzerinde İlloksan herbisitinin (diklofop-methyl) genotoksik etkileri incelenmiş, herbisitinin farklı konsantrasyonlarıyla tüm uygulama zamanlarında *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde kromozomal anormalliklere neden olduğu, doz artışına bağlı olarak, mitotik indeksi (MI) kontrole göre önemli derecede düşürdüğü, fakat İlloksan' ın mitotik safhaların frekansını etkilemediği bulunmuştur (113). Pandey (2007) tarafından, Endosülfan, Dieldrin ve Aldrin pestisitlerinin *Vicia faba* somatik hücrelerine sitotoksik etkileri üzerine yapılan çalışmada ise, pestisitlerin bakla bitkisi kromozom morfolojisi ve hücre kısımları üzerindeki etkileri araştırılmış, çalışma sonucunda pestisitlerin yüksek konsantrasyonlarda mitodepresif (mitozu baskılayan), düşük konsantrasyonlarda ise mitopromotor (mitozu tetikleyen) oldukları ve c-mitoz, dengesiz metafaz, kromatid bölünmeleri, parçalar, geciken ve yapışkan kromozomlar, geç bölünmeler ve erken hareketlilik gibi kromozom anormalliklerinin meydana geldiği bulunmuş ve mitotik indeksin kontrollere göre daha az arttığı görülmüştür (114). Aydemir ve arkadaşları (2008) tarafından tarımsal bir pestisit

olan 4,6-Dinitro-o-cresol (DNOC)'ün *Allium cepa* kök ucu hücreleri üzerine genotoksik etkileri incelenmiş, tüm uygulama zamanlarında bütün konsantrasyonların mitotik indeks (MI) azalmasına ve kromozomal anormalliklerine (kırıklar, köprüler vb.) neden olduğu bulunmuş, test edilen bütün konsantrasyonlarda ve zamanlarda ($p < 0.001$), DNOC' nin güçlü bir klastogen (kromozomlarda genotoksik etkiye sahip materyal) olduğu tespit edilmiştir (115). Bolle ve arkadaşları (2004) tarafından yapılan çalışmada, soğan kök hücreleri üzerine Atrazinin (herbisit) genotoksik etkileri araştırılmış, soğan örneklerinde yapısal kromozom hasarları atrazinin tüm konsantrasyonlarında elde edilmiştir.

Atrazinin artan konsantrasyonlarının, total somatik kromozom aberasyonlarının sayısını arttırdığı, yapısal kromozom hasarlarının artan baskın lezyon artışı ile kromozom kırıklarına neden olduğu ve bu kromozom kırıklarının çoğaldığı, kök uçlarında morfolojik anormalliklerin görüldüğü; mitoz bölünmedeki gerilemenin en yüksek konsantrasyonda artış gösterdiği, konsantrasyon artışı ile beraber Atrazinin genetik etkilerinin de arttığı tespit edilmiştir (116). Koca ve arkadaşları (2008) tarafından, bitki büyüme düzenleyicisi Shaffer A' nın *Vicia faba* kök ucu hücrelerindeki sitogenetik etkileri üzerine yaptıkları çalışmada, Shaffer A' nın mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkisini araştırmışlar, Shaffer A' nın farklı konsantrasyonlarıyla muamele edilen *Vicia faba* kök örneklerinde, Shaffer A' nın aşırı dozda ve uzun süre uygulanmasının kontrol grubuna göre mitotik indeksi önemli derecede azalttığı; ayrıca anafaz köprüsü, parça, kalgın kromozom, yapışık kromozomlar ve mikronükleus oluşumu gibi kromozomal anormallikler gözlenmiştir (117). Türkoğlu (1996) tarafından *Vicia faba* bitkisi kullanılarak yapılan çalışmada, Paraquat herbisitinin farklı doz ve sürelerde bitkinin kök ve tohumlarına uygulanması sonucunda kontrole oranla mitotik indekste azalma saptanmış, kök ucu hücrelerindeki kromozomlarda hasarlar meydana gelmiş, anafaz köprüsü, yapışkanlık, kalgın kromozom, kırılma ve fragment oluşumu gibi mitozda meydana gelen anomalilere rastlanmıştır (118). Kara ve arkadaşları (1994) tarafından yapılan çalışmada, insektisit olarak kullanılan ve bir sentetik pretroit olan Cypermethrin'in sitogenetik etkileri, *Allium cepa* kök meristemi üzerinde çalışılmış, Cypermethrin'in mitozu önemli derecede baskıladığı ve konsantrasyon artışına bağlı olarak, kromozomal ve mitotik anormalliklerde bir artış olduğu gözlemlenmiştir (119).

Kırımlı (2007) tarafından yapılan çalışmada, bazı fungusit ve insektisitlerin *Vicia faba* L. ve *Capsicum annuum* L. türlerinin kök ucu mitozu üzerine etkileri araştırılmış, pestisit konsantrasyonuna bağlı olarak görülen anomalilerde artış olduğu gözlemlenirken kontrol grubuna ait bitkilerde anomali gözlenmemiştir. Pestisit uygulama dozuna maruz bırakılan *V. faba* L. ve *C. annuum* L. fidelerinde kromozom anomalilerine rastlanmıştır, araştırma bitkilerinde normal mitoz bölünmelerin yanı sıra farklı uygulamalara bağlı olarak çeşitli mitotik anomaliler de gözlenmiştir (120).

Metin (2006) tarafından yapılan çalışmada, Prokloraz fungusiti ile Tralkoksidimin herbisitinin arpa (*Hordeum vulgare*)'da kök uzaması, mitotik indeks, kromozom davranışları üzerine etkileri çalışılmıştır. Pestisit uygulanmış köklerde bazı morfolojik bozuklukların meydana geldiği saptanmış, köklerden hazırlanan ezme preparatlarda doz arttıkça mitotik indekste azalma, kromozom köprüleri, metafaz plağındaki kromozomlarda yapışma gibi mitotik sapmaların değişik tipleri de gözlenmiştir. Herbisit ve fungusit uygulamasının, arpa kök morfolojisinde, kök uzamasında, mitotik bölünme sıklığında ve kromozom davranışlarında olumsuz etki yarattığı görülmüştür (121). Gill ve Shaukat (2000) tarafından Captan fungusitinin *Allium cepa*' da mutajenik etkisi üzerine yapılan çalışmada, farklı fungusit konsantrasyonlarına maruz bırakılan kök ucu bölünen hücrelerde, bütün fungusit uygulamalarının mitozu hemen durdurucu etki yaptığı, Captan fungusitinin kromozomlar üzerinde genotoksik bir etkiye sahip olduğu, mitoz bölünmede; profaz ve metafazda kromozom yapışmalarının, anafazda köprü oluşumlarının, 2 ve 3 çekirdekli hücre oluşumları gibi aberasyonların meydana geldiği görülmüştür (122). Tartar ve arkadaşlarının (2006) yaptıkları çalışmada, Avenoxan herbisitinin *Allium cepa* L. ve *Allium sativum* L. üzerine genotoksik etkileri incelenmiş, Avenoxan' ın tüm konsantrasyonlarının, kontrole göre, c-mitoz, kromozom yapışmaları, köprüler, geciken kromozom, çok kutuplu hücre oluşumları gibi anormalliklere neden olduğu, ayrıca Avenoksa herbisitinin, mitotik indeksi önemli ölçüde azalttığı ve MI azalmasının doza ve muamele zamanına bağlı olduğu sonucu elde edilmiştir (123). Yıldız ve Suna Arıkan (2008) tarafından quizalofop-P-ethyl herbisiti kullanılarak yapılan çalışmada , genotoksik olarak *Allium cepa*' da anafaz-telofaz kromozom aberasyonları araştırılmış, her uygulama zamanında herbisit konsantrasyon artışı ile birlikte Mİ azalmış, anafaz-telofaz hücrelerinde yapışık kromozomlar, köprü

oluşumları, kalgın kromozomlar, c-anafaz, multipolarite ve parça oluşum oranları, kromozom aberasyon sayısı artmış; ayrıca doz artışına paralel olarak interfazda mikronükleusa sahip hücreler elde edilmiştir (124). Başka bir araştırmada, Özörgücü ve arkadaşları (1994), bir insektisit olan Decis' in *Allium cepa* L. kökü meristematik bölgelerinde oluşturabileceği değişikliklerin bulgularından elde edilen sonuçlara göre bizim araştırmamızda da rastladığımız gibi kök ucu hücrelerinde nükleus şekillerinde bozulmalar, kromozomlarda konsantrasyon artışına paralel olarak kromozomda kopmalar, düzensizlikler, ileri derecede fragmentasyon, kromozom yapışması, hücrelerde mikronükleus ve iki çekirdekli hücre oluşumu gibi anomaliler tespit edilmiştir (125).

Tüm bu sonuçları destekler nitelikte, Soyöz ve Özçelik tarafından yapılan çalışmada, zirai mücadelede kullanılan pestisitlerin sitogenetik etkileri araştırılmıştır. Bu pestisitlerin kullanımlarının artmasıyla çevre ve insan sağlığı üzerine zararlı etkileri de beraberinde getirdiği, özellikle mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sahip olduğu, pestisite maruz kalan insanlarda, yapısal ve sayısal kromozom aberasyonları ile kardeş kromatid değişiminin yüksek oranlarda tekrarlandığı bulunmuştur. Ditiyokarbamatlar (ziram, zineb, thiram) ile çalışan ve üreten insanlarda, benzer şekilde organik fosfatlar (trichlorphon, phosmet, diazinon) ve karbamatlarla (pirimicarb) yapılan çalışmalarda, bu maddelerin kromozom anomalilerine ve kardeş kromatid değişimlerine neden oldukları bildirilmiştir (126).

Agar ve Uysal (1997) tarafından yapılan çalışmada, kromozomal anormallikler bölünme safhalarına bağlı olarak birbirinden farklılıklar göstermiştir. Bu anormallikler profaz evresinde düzensiz kromatin dağılımı ve granülleşme, metafaz evresinde ise kromatin kümeleşmesi, geciken kromozomlar ve kromatid kırılmaları şeklinde gerçekleşmiştir. Anafaz evresinde de çoğunlukla kardeş kromatidler arasında düzensiz dağılımlara ve köprü oluşumlarına rastlanmıştır (127).

Bütün bu sonuçlar pestisitlerin, *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde çeşitli sitotoksik etkilere neden olduklarını, kök uzunluğu ve MN sıklığı gibi parametrelerin ise bu etkilerin izlenmesi için uygun indikatörler olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Araştırmamızda, *Allium cepa* kullanarak yaptığımız denemeler sonucunda üç farklı konsantrasyonda (600, 1200 ve 1800 ppm) uygulanan insektisit, fungusit ve herbisit çözeltilerinin soğan bitkisinin kök ucu meristem hücrelerinde, konsantrasyon artışına bağlı olarak anafazda kutup kayması, kalgın kromozom, fragment oluşumu, düzensiz kromozom dağılımları gibi çeşitli kromozom anomalileri gözlenmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, pestisitlerin bitkiler üzerinde yarattığı etkilerin araştırıldığı birçok çalışmanın sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda, mitozda tespit edilen anormalliklerden biri de mikronükleus oluşumudur. MN testi, kimyasal ajanlar tarafından teşvik edilen sitotoksik etkilerin değerlendirilmesi için kullanılan oldukça güvenilir bir teknik olup, bu çalışmada MN testi bir indikatör gibi kullanılarak *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde farklı pestisitler tarafından uyarılan sitotoksosite belirlenmeye çalışılmıştır. Kimyasal toksisitenin en önemli belirtilerinden biri ise kök büyümesi ve tohum ağırlığının engellenmesidir. Bu çalışmada, 600, 1200 ve 1800 ppm pestisit konsantrasyonlarının kök büyümesini büyük ölçüde engellediği belirlenmiştir.

Kontrol grubu *Allium cepa* örneklerinin kök ucu meristem hücrelerinde, mikroskopik incelemeler sonucunda herhangi bir MN (mikronükleus) oluşumuna rastlanmamıştır. Ancak farklı pestisit çözeltileriyle muamele edilen ıska soğan örneklerinin tümünde değişik sayıda MN oluşumları gözlenmiştir. Uygulama grubu *Allium cepa* örneklerine ait kök hücrelerinde MN sayısı, kontrole göre pestisit konsantrasyon artışına paralel olarak artmıştır. Çalışmamızda kullanılan pestisitlerin denenen tüm konsantrasyonlarının iğ iplikleri ve kromozomlar üzerinde etkili olduğu, MN oluşumunu tetiklediği görülmüştür. Yani pestisitlerin direk nükleik asitler ya da onların yapısında yer alan bağlar veya pürin ve pirimidin gibi bazlar ile etkileşime girerek veya protein yapısındaki iğ ipliklerinin konformasyonunu değiştirerek (denatürasyon), kromozomların mitozda gecikmelerine neden oldukları ve MN oluşumunu tetikledikleri düşünülebilir. MN oluşumu tüm bir kromozom veya kromozom parçasından kaynaklanan ve nükleus içindeki genetik materyalin kaybı ile ortaya çıkan bir durumdur.

Literatür çalışmalarından, Sarı (2007) tarafından, Dichlorvos (DDVP)'in *Allium cepa* L.'da kök uzunluğu, kök sayısı, mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine olan etkileri araştırılmış, yapılan değerlendirmeler sonucunda kontrol gruplarına göre uygulama gruplarının kök sayısının süreye bağlı olarak azalma gösterdiği görülmüştür. Ayrıca DDVP' nin *Allium cepa* bitkisinin köklerinde mitotik indeksi azalttığı saptanmış, *Allium cepa* köklerinde ise kromozomal hasarlardan; yapışkanlık, yanlış kutuplaşma, fragmentasyon, anafaz köprüsü ve mikronükleus oluşumlarının meydana geldiği görülmüştür (128). Pestisitlerin toksik etkileriyle ilgili yapılan başka bir çalışmada Konuk ve arkadaşları (2007), Boron herbisitinin *Allium cepa* kök ucu hücreleri üzerine genotoksik etkilerini araştırmış, mitozda meydana gelen anormalliklerin çoğunun c-metafaz, prometafaz ve anafaz-telofazda elde edildiğini, interfazda dengesiz çekirdekler, mikronükleus ve iki çekirdekli hücreler görülürken anafaz köprüleri, poliploid ve geç kromozom parça oluşumlarını tespit etmişlerdir (129). Yüzbaşıoğlu ve arkadaşları (2003) tarafından, bir herbisit olan Flurochloridone'un *Allium cepa* üzerindeki etkileri araştırılmış ve bu herbisit mitotik indeksi kontrole göre azalttığı belirtilmiştir (130). Soheir ve Odette (1983), bir insektisit olan Dursban' ı *Vicia faba* kök ve tohumlarına uyguladıklarında, farklı doz ve sürelerde insektisit konsantrasyonlarının mitotik indeksi etkilemediği bulunmuştur. Organofosforlu bir insektisit olan Malathion'un *Vicia faba* köklerine (Zakia ve ark., 1990) (131) ve Basudin (20 EM)'in arpa tohumlarına uygulanması (Çelik ve Sümer, 1996) sonucu mitotik indeksin azaldığı belirlenmiştir (132). Leptophos (Soheir ve Odette, 1979) ve Dipterex (Soheir ve Enaam, 1983) insektisitleri *Vicia faba* bitkisine uygulanmış ve her iki pestisit de mitotik indeksi kontrole göre azalttığı tespit edilmiştir (133, 134). Badr ve İbrahim (1987) tarafından, Glean herbisiti farklı doz ve sürelerde *Vicia faba* köklerine uygulanmış ve bu maddenin mitotik indeksi kontrole göre azalttığı saptanmıştır (71).

Tüm bu veriler değerlendirildiğinde, çalışmamızda *Allium cepa* üzerinde üç farklı konsantrasyonda uygulanan insektisit, fungusit ve herbisit çözeltilerinin konsantrasyon artışına bağlı olarak, çeşitli mitoz ve kromozom anormalliklerine neden olduğu saptanmıştır. Bu anormallikler genel olarak, anafazda kutup kayması ve çok kutupluluk, kromatin yoğunlaşmaları, kalgın ve geciken kromozom, parça oluşumu, düzensiz kromozom dağılımları olarak tespit edilmiştir. Bilaloğlu (1982)

(111), Türkoğlu (1996) (118) tarafından yapılan araştırmalarda bu tür kromozom anormalliklerine rastlandığı rapor edilmiştir.

Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz sonuçların, tüm pestisitlerin bitkiler üzerinde yarattığı etkilerin araştırıldığı birçok çalışmanın sonuçları ile paralellik gösterdiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, tarımsal alanda kullanılan pestisitlerin uygulandıkları bitkiler üzerinde hem genetik yönden olumsuz etkilere neden oldukları, hem de biyokimyasal parametreleri değiştirerek fizyolojik reaksiyonlar üzerinde baskılayıcı rol oynadıkları söylenebilir.

Türkiye’de gıda ürünlerindeki pestisit kalıntıları üzerinde bugüne kadar yaklaşık 90 çalışma yayınlandığı görülmektedir. Bu çalışmalardan 8’i 1959-1969 yılları arasında, 30’u 1970-1979 yılları arasında, 17’si 1980-1989 yılları arasında, 26’sı 1990-1999 yılları arasında gerçekleşmiştir. 2000-2003 yılları arasında ise 9 çalışma yapılmıştır. Kalıntı analiz çalışmalarının 45 yıl önce başladığı düşünülduğünde bu sayıların oldukça az olduğu anlaşılmaktadır. Son yıllarda, dünya kamuoyunda pestisitlerin çevreye etkileri üzerine yapılan çalışmalar oldukça artmıştır. Pestisitlerin tarımsal mücadelede başarı sağlamaları elbette sevindiricidir; ancak bu kimyasalların bilimsel denetimden yoksun, gelişi güzel ve aşırı dozda kullanılmaları sonunda, insan ve hayvanlarda zehirlenmeler, hedef alınmayan yaban hayatı ve yararlı canlı gruplarının öldürülmesiyle doğal dengenin bozulması, çevrede ve gıda maddelerinde ilaç kalıntıları, daha önce zararlı olmayan bazı canlıların zararlı duruma geçmesi, zararlıların bağışıklık kazanması gibi birçok olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır (21, 37, 38, 135). Günümüzde modern tarımda kimyasal mücadeleden tamamen vazgeçmek mümkün değildir. Ancak, tarımda kullanılan pestisitleri zamanında ve bilinçli olarak uygulamak suretiyle olumsuz etkilerini minimuma indirmek mümkün olabilmektedir (4). Çalışmamızda, laboratuvar ortamında elde ettiğimiz sonuçların arazi uygulamaları ile desteklenebilir nitelikte olduğu ve bu anlamda çalışmamızın yeni çalışmaların planlanmasına ışık tutacağı ve literatüre önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ađar S., Aydınoğlu H., Temel O., İvizunal K., Ece H., Pestisit kullanımının tarihçesi, bugünü ve geleceği, Türk. Entomol. Derg., 15 (4) : 247 – 256, 1991.
2. A. Badr, Cytologia, effects of the S-Triazine herbicide Turbutryn on mitosis, chromosomes and nucleic acids in root of *Vicia faba*, 51: 571- 577, 1986.
3. M. Kumar, M. Prasad. H. Kumar, Cytotoxic effects of two herbicides on meiosis, Maize Genetics Cooperation Newsletter, 69: 25, 1995.
4. S. A. Ashour, R. F. Abdou, Effect of weed control treatments on weeds, seed yield, yield components and nodulation in winter lentil *Fabis* Newsltter, 26: 10-14, 1990.
5. A.D. Kligerman, C.L. Doerr, A.H. Tennant, B. Peng, genotoxicity studies of three triazine herbicides: in vivo studies using the alkaline single cell gel (SCG) assay. Mutation Research, 471:107, 2000.
6. S. Öđüt, H. Seçilmiş, Tarım İlaçlarının (Pestisitler) Olası Çevresel Etkileri , Uluslararası Davraz Kongresi, 24-27 Eylül 2009.
7. I. Çukurova'da Sanayileşme ve Çevre Sempozyumu Bildiriler Kitabı, ISBN: 978-9944-89-420-3, Ankara, Kasım 2007.
8. Öztürk, İ., Tosun, N., Famoxadone ve Cymoxanil etkili maddeli bir fungusitin domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisi üzerine fizyolojik etkisi, Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg. 41 : 77 – 87, 2004.
9. Mc Ewen F.L., Stephenson, G.L., The use and signficiance of pesticides in the environment, John Wiley & Sons Pub., 538, New York, 1979.

10. Amdur, M.O., Doull, J., Klassen C.D., Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons, Pergamon Press, 1033: 565-623, New York, 1991.
11. Guest, J.A., Copley, M.P., Homernic, K.L., Carcinogenic effects of pesticides. Pathol., Pharmacol., 71(3): 387- 390, 1991.
12. Ami, B.H., Haim, S. A., Direct effect of phosphamidon on isolated working rat heart electrical and mechanical function. Toxicol., Apply Pharmacol., 110 (3): 429-434, 1992.
13. Izushi, F., Ogata, M., Hepatic and muscle injuries in mice treated with heptachlor Toxicol. Lett. 54 (1): 47-54, 1990.
14. Weizman, Z., Sofer, S., Acute pancreatitis in children with anticholinesterase insecticide intoxication. Pediatrics. 204-206, 1992.
15. Blasiak, J., Walter Z., Bawronska, M., The changes of osmotic fragility of pig erythrocytes induced by organophosphorus insecticides. Acta Biochim. Pol. 38 (1) 75-80. 1991.
16. Kalkan N., Ames Test Yöntemi ile Dört Ayrı Sentetik Quinoxalin Türevinin Farklı Dozlardaki Mutajenik Aktivitesinin ve Mutajenliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 1996.
17. D. Yüzbaşıoğlu, İloxan ve Racer Herbisitlerinin *Allium cepa* L. Kök Ucu Hücrelerinde Mitoz Bölünmeye ve Kromozomlara Etkileri. Doktora Tezi. G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2001.
18. Heming, J.C., Davis, A. C., Robinson, W. B. Flavor and color evaluation of canning crops grown in soil treated with insecticides. J. of. Food Tech. 8, 227, 1954.

19. Öncüer, C., Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları. 259:117-125. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova- İzmir, 1995.
20. M. Treshow, environment and plant response, New York: Mc Graw-Hill Book Company, p. 380-381, 1970.
21. N. Tort, İ. Öztürk, N. Tosun, metalaxyl uygulamasının domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.)'in anatomik yapısı üzerine etkisi Ege.Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 41 (2): 111-122, 2004.
22. M. Van Iersel, B. Bugbee, effects of benzimidazole fungicides on bedding plants, J. Am. Soc. Hortic. Science, 121: 1095-1102, 1996.
23. Harte, J., Holdren, C., Schneider, C. and Shirley, C., Toxics A to Z, A guide to everyday pollution hazards, University of California Pres, 1991.
24. Vural, N., Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73., 1996.
25. Ames, B.N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1; 90(17):7915-7922, 1993.
26. Baker G. H., The ecology, management and benefits of earthworms in agricultural soils, with particular reference to southern Australia. In Earthworm Ecology, 1998.
27. Şevken, S., Halk Sağlığı Amaçlı Kullanılan Pestisitlerin (Biyosidal) Güvenilirlik Standartlarının Karşılaştırılması. Y.Y.U. Veteriner Fakültesi Dergisi. 20 (1)11-18, ISSN: 1017-8422; e-ISSN: 1308-3651, 2009.
28. Anonymous, 1996. Türkiye' de tarım ilaçları tüketim miktarları. <http://images.google.com.tr/imgres?imgurl> (Erişim tarihi: 26.07.2008)

29. D. N. Denizeri, Yuvacık Barajını Besleyen Derelerdeki Pestisitler, GC-MS Analizleri İleri Arıtım Prosesleri. Yüksek Lisans Tezi. Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 2001.
30. C. R. Sharples, M.R. Hull, A.H. Cobb, multiple resistant blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Resistance to herbicides in groups A/1, B/2, C1/5, C2/7, and K1/3) *Annals of Botany*, (79): 455-4461, 1997.
31. JM Mc Cord, I Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry* 244: 6049-6055, 1969.
32. Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A., Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. TMMOB, Ziraat Mühendisleri Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi. Cilt-2, s: 629-648, 3-7 Ocak, 2005.
33. Curley, F.D., *Arch. Environm. Contam. Toxicology*, 1977.
34. Pope, C.N., Charracorti, T.K., Dose-related inhibition of brain and plasma cholinesterase in neonatal and adult rats following sublethal organophosphate exposures. *Toxicology*, 73: 35-42, 1992.
35. Ögüt, S., Seçilmiş, H., Tarım İlaçlarının (Pestisitler) Olası Çevre Etkileri. Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering Architecture Department of Food Engineering, Turkey, 2003.
36. A. K. Yürekli, A. Güven, Indoleacetic acid, gibberellic acid, zeatin and abscisic acid levels in NaCl-treatment tomato species differing in salt tolerance *J. Plant Growth Regul.*, 15: 69-73, 1989

37. F. H. Witham, D.F. Blaydes, R.M. Deulin, Experiments in Plant Physiology, Van Nostrand Reinhold Company. 245 p, Newyork, 1971.
38. OH Lowry, NJ Rosgrough, AL Farr, RJ Randall, Protein measurement with the folin phenol reagent. J.Biol. Chem.193: 265-275, 1951.
39. Berkes, F. ve Kıslalıoğlu, M., Ekoloji ve Çevre Bilimleri, İstanbul, s.171, 1990.
40. Akı C. ve Karabay N., Genetik Laboratuvar Uygulama Kitabı, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Rektörlük Basımevi, Yayın No: 38, 2004.
41. Stern, K., R., J. E. Bidlack, and S. H. Jansky., Biology of Plants and the Study of Botany (BOT 1103), Lecture Notes; Set No:1, Introductory Plant Biology, McGraw-Hill. 616 p.reading assignments are in the syllabus. <http://www.clt.asetate.edu/mhuss/mitosis1.jpg>, 2008.
42. Reddi T.V.V.S. and V.R. Reddi, Cytological effects of chemical mutagens in rice. Cytologia, 50: 499-405, 1985.
43. Nasta, A., Gunther, E., Mitoseanomalion Bei *Allium cepa* and *Hordeum Vulgare* Nach Einwirkung Eines Carbamat Herbizids. Biol. Zbl. 92: 27-36, 1973.
44. Heddle, J. A., Cimino, M. C., Hayashi, M., Romagna, F., Shelby, M.D., Tucker, J. D., Vanparys, Ph. And Mac Gregor, J. T., Micronuclei as an index of cytogenetic damage: Past, Present, and Future. Environ. and Mol. Mutagen., 18: 277-291, 1991.
45. Fenech, M. And Morley, A. A., Measurement of micronuclei in lymphocytes. Mutat. Res., 147: 29-36.2002. Biomarkers of Genetic Damage for Cancer

Epidemiology. Toxicology,181-182: 411-416, 1985.

46. Surrallés, J., Carbonell, E., Puig, M., Xamena, N., Creus, A. and Marcos, R., Induction of mitotic micronuclei by the pyrethroid insecticide fenvalerate in cultured human lymphocytes. Toxicology Letters, 54: 151-155.,1995a. The suitability of the micronucleus assay in human lymphocytes as a new biomarker of excision repair. Mutat. Res., 342: 43-59, 1990.
47. Topaktaş, M. Ve Speit, G., Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. Ç. Ü. Sağlık Bil. Der., 5 (1, 2, 3), 73-84. ve Rencüzoğulları, E. 1995. Sitogenetik. Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü. s: 68, 1990.
48. Kirsch-Volders, M., Elhajouji, A., Cundari, E. And Van Hummelen, P., The in vitro micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. Mutat. Res., 392 (1-2): 19-30, 1997.
49. E. Koç, S. Üstün, Patojenlere karşı bitkilerde savunma ve antioksidanlar, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 24 (1-2) 82 - 100 ,2008.
50. Cook, N.C., Saman,S., Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. Nutr. Biochem., 7: 66-76, 1996.
51. Sohal, R.S., Toy, P.L., Allen, R.G., Relationship between life expectancy endogenous antioxidants and products or oxygen free radical reactions in housefly *Musca domestica*. Mechanism of ageing and development 36 71-76, 1986.
52. Veris, Vitamin E research and information service., Veris Lagrance, 1989.
53. Sohal, R.S., Farmer, K.J., Allen, R.G., Cohen, N.R., Effect of Age oxygen

consumation superoxide dismutase, catalase, glutathione inorganic peroxides and chloroform-soluble antioxidants in adult male housefly *Musca domestica*. Mechanism of ageing and development 24 185-195, 1983.

54. Halliwell, B., Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, 344: 721-724, 1994.
55. Heinle, H., Betz, E., Effects of dietary garlic supplementation in rat model of atherosclerosis. *Arznei-For*, 44(1):614-617, 1994.
56. Halliwell, B, Gutterige, JMC., Cross, CE., Free radicals antioxidant, and human disease: Where are we now? *J La Cli Med* 119(6) 598-620, 1992.
57. Yamamoto, K., Zhang, P., Banno, Y., Fujii, H., Miake ,F, Kashige, N. and Aso Y., Superoxide Dismutase from the Silkworm, *Bombyx mori*: Sequence, Distribution, and Overexpression. *Biosci. Biotechnol, Biochem*, 69(3); 507-514, 2005.
58. Mc Cord, JM. ve Friderich, I., Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem*, vol. 244, 6049-6055, 1969.
59. Desideri A, Falconi M, Prokaryotic Cu, Zn superoxidies dismutases. *Biochem Soc Trans*, 31,1322–1325, 2003.
60. Mates JM, Perez-Gomez C, De Castro IN, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clin Biochem*, 32, 595–603, 1999.
61. Agar NS, Sadrzadeh SM, Hallaway PE, Eaton JW: Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense? *J Clin Invest*; 77(1): 319-21, 1986.
62. Huang, A.H.C., Trelease, R.N., Moore, T.S., *Plant Peroxisomes*, Academic

Press, New York, 1983.

63. A. Meister, Glutathione Metabolism and It's Selective Modification, *Journal of Biological Chemistry*, 263; 33, 17205–8, 1988.
64. Öztürk, S., *Tarım İlaçları*, Hasat Yayıncılık, İstanbul, 552s., 1990.
65. A. Fidan. Bazı Pestisidlerin Turunçgillerin Fizyolojik ve Anatomik Özellikleri Üzerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Adana, 2007.
66. Goodwin, T.W. (ed.), *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. London and New York: Academic Press., 1965.
67. Gross, J., *Pigments in Fruits*. London: Academic Press.,1987.
68. Gross, J., *Pigments in Vegetables. Chlorophylls and Carotenoids*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991.
69. Yanar, Y., Celik, M., Yanar, M., Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean, *Food Chemistry*, 88(2): 267-269., 2004.
70. Mortensen A, Skibsted LH, Truscott TG, The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch Biochem Biophys*, 385, 13-19, 2001.
71. El-Agamey A, Lowe GM, McGarvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG, Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, *Arch Biochem Biophys*, 430, 37–48, 2004.
72. Ziegler, R.G., Colavito, E.A., Hartge, P., McAdams, M.J., Schoenberg, J.B., Mason, T.J., Fraumeni, J.F.J., Importance of a-carotene, b-carotene and other phytochemicals in the etiology of lung cancer, *Journal of the National Cancer*

- Institute, 88: 612–615, 1996.
73. Willoughby OH. Farm chemicals handbook '99. Meister RT ed. USA. Meister Publishing Company, 1999.
74. Mc Kenzie W. Agrochemical service: the world market in 2000. In: Annual review of the Crop Protection Association. Peterborough: Crop Protection Association, 2001.
75. Pesticide Action Network. Panna: World and U.S. Agrochemical Market in San Francisco, North America, 1999 http://www.panna.org/legacy/panups/panup_19990723.dv.htm. (Erişim tarihi: 04.08.2008).
76. Nükleer ve Kromatografik Tekniklerle Pestisit Kalıntılarının Analiz Edilmesi. Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Ankara Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi, Nükleer Tarım Bölümü. Ankara, 2005. http://kutuphane.taek.gov.tr/internet_tarama/dosyalar/cd/4115/pdf/135.pdf. (Erişim tarihi: 17.10.2010).
77. Tarım ve Köyişleri Bakanı Mehmet Mehdi Eker'in TBMM Genel Kurulu'nda Rusya İle Yaşanan Yaş Meyve Sebze Sorunu İle İlgili Yaptığı Konuşma Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara, 2008. <http://www.tarim.gov.tr/arayuz/10/haberayrintisi.asp?ay=6&yil=2008&ID=1505>. [Erişim tarihi: 08.11.2010].
78. Ataman, R, Petek., Tarımsal İlaç Kullanımının Gıda Güvenliği Açısından Önemi ve Gıda Sanayine Etkileri. I.Çukurova'da Sanayileşme ve Çevre Sempozyumu, ISBN: 978-9944-89-420-3, Kasım 2007.
79. De Serres, F.J., Introduction: Utilization of higher plant systems as monitors of environmental mutagens, Environ. Health Perspect, 27: 3-6, 1978.

80. Badr, A. and A.G. İbrahim. Effect of herbicide Glean on mitosis, chromosomes and nucleic acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* root meristems. *Cytologia*, 52: 293-302, 1987.
81. Badr, A., Cytogenetic activities of some fungicides. *Cytologia (Tokyo)*, 53: 635-640, 1988.
82. Hidalgo A., Gonzalez-Reyes J.A., Navas P. And Garcia-Herdugo G., Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by protham and chlorprotham. *Cytobios*, 57: 7-14. 1989.
83. Hidalgo A., Gonzalez-Reyes J.A., Navas P., Protective effects of ascorbate free radical against caffeine and diclobenil action in onion roots, *Cell Biology International Reports*, 14 (2), 133-141, 1990.
84. Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E. Sitogenetik. Ç.Ü. Fen Fakültesi, 182 S. Adana, 1996.
85. Arnon, D. I., Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-10, 1949.
86. Witham, F. H. ,D. R. Blaydes and R. M. Devlin. *Experiments in Plant Physiology*. Van Nostrand Reinhold, New York. 1-11, 1971.
87. Durmaz, Y., Gökpınar, Ş., Duyar, H.A., Öğretmen, Y.Ö., Bandarra, N., *Ulva* spp. (Sinop, Karadeniz) Türünün Yağ Asitleri, A-Tokoferol ve Toplam Pigment Miktarının Araştırılması. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Bornova-İzmir, Türkiye. Instituto de Investigacao das Pescas e do Mar, IPIMAR, Av. Brasília 1449-006 Lisboa, Portugal 2(3): 350-356, DOI: 10.3153/jfscom.mug. 200723 *Journal of FisheriesSciences*, 2008.
88. Zou, N., Richmond, A., Light-path length and population density in photoacclimation of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae), *Journal of*

Applied Phycology, 12: 349–354, 2000.

89. Sanchez M.D., Mantell, C., Rodríguez, M., Martínez de la Ossa, E., Lubián, L.M., Montero O., Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Nannochloropsis gaditana*, *Journal of Food Engineering*, 66: 245–251, 2005.
90. Peters. T. and Biamonte. G.T., *Selected Methods for the Small Clinical Chemistry Laboratory*. Faulber. W.R. and Meites. S., Ed. Published in American Association for Clinical Chemistry, Washington, D.C, 1981.
91. Worthington Enzyme Manual, Superoxide Dismutase, p. 192-193, 1973.
92. Kelley, R. L. and Reddy, C. A., Purification and characterization of glucose oxidase from lignolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*: *J. of Bacterial.*, vol. 166, p. 269-274, 1986b.
93. Ericson, E. K., Petterson, B., Volc, J., Formation and partial characterization of glucose-2-oxidase, a H₂O₂ producing enzyme in *Phanerochaete chrysosporium*: *Appl. and Environ. Microb.*, vol. 23, p. 257-262, 1986.
94. Beer, R.F. and Sizer, I. W., A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase, *Journal of Biol. Chem.*, vol. 195, p. 133-140, 1952.
95. Kelley, R.L. and Reddy, C.A., Identification of glucose oxidase activity as the primary source of hydrogen peroxide production in lignolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*: *Arch. Microbiol.*, vol. 144, p. 248-253, 1986a.
96. Aebi, H., Catalase in vitro: *Methods in Enzymology*, vol. 105, p.121-126, 1984.
97. Loggini F (1999) in Youbi M., Effets de deux fongicides Artea et Punch

nouvellement introduits en Algerie sur la physiologie et le metabolisme respiratoire du ble dur (*Triticum durum Desf*). These de Magister de l'Universite Badji Mokhtar de Annaba., 2005.

98. Chaoui A, Mazoudi S, Ghorbal MH and Ferjani EEL., Cadmium and Zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Plant Science*.127: 139-147, 1997.
99. Fenech M, Chang Wp, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E. Human Micronucleus Project. Humn Project: Detailed Description of The Scoring Criteria For The Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Using Isolated Human Lymphocyte Cultures. *Mutation Research*, 534, 65–75, 2003.
100. Jiang, W., Liu, D., Effects of Pb²⁺ on root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays* L., *Bull. Environ. Contam. Toxicology*, 65: 786-793, 2000.
101. Levan, A., The effects of colchicine on root mitosis in *Allium*, *Hereditas*, 24, 471-486, 1938.
102. Işıl, İ., Ünal ve M., Ünsal, N.P., Effects of Spermidine, Spermine and Cyclohexylamine on mitotic activity of 2X, 4X and 6X wheats. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 3: 83-88, 2004.
103. G. Saladin, C. Magne, C. Clement, Effects of fludioxonil and pyrimethanil, two fungicides used against *Botrytis cinerea*, on carbohydrate physiology in *Vitis vinifera* L. *Pest Manag. Sci.*, 59: 125-137, 2003.
104. B. Özörgücü, N. Tort, H. Demiray, Effects of Antrocole on Tobacco, X. National Biyology Congress 2, 43-53 (Turkish), 1990.
105. N. Tort, A.E. Dereboylu, *Anadolu, J. of AARI*, 13 (1): 142-157, 2003.

106. Tort N., Türkyılmaz, B., Dereboylu, A.E., Tosun, N., Ege Üniversitesi, Ziraat Fak. Dergisi., 41(1): 169-179, 2004.
107. Aktaç, T., Ekinci, F., Sıdal, U., Sıdal, F. E.,. Endosülfanın mercimek kök ucu hücreleri üzerindeki etkileri, Türk Biyoloji Derg., 18: 27-37, 1994.
108. Öztürk, İ., Tort, N., Fungisit uygulamasının domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisi yapraklarında bazı fotosentetik pigment maddeleri, bitkisel hormonlar ve protein miktarları üzerine etkisi, C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi, Fen Bilimleri Dergisi, Cilt: 25, Sayı: 1, 2004.
109. C. Pinheiro, M.M. Chaves, C.P. Ricardo, Alterations in carbon and nitrogen metabolism induced by water deficit in the stem and leaves of *Lupinus albus* L.. J.Exp. Bot., 52: 1063-1070, 2001.
110. S. Topçu, Antracol WP 70, Challenge SC 600, Dursban 4 Pestisitlerinin *Allium cepa* Bitkisi Üzerindeki Genotipik, Fenotipik ve Biyokimyasal Etkileri. Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale, 2010.
111. R. Bilaloğlu, Bazı Pestisitlerin *Allium cepa* L. Kök Ucu Meristem Hücrelerinde Oluşturdukları Sitolojik Sapmalar Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 1982.
112. Çelik, M. Dinocap fungusininin *Allium cepa* L. kök ucu hücreleri ve insan periferel lenfositlerinde sitogenetik etkileri. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. Ph.D. Thesis., 2003.
113. Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Sancak, C., Genotoxic effects of herbicide Illoxan (Diclofop-Methyl) on *Allium cepa* L., Turk J Biol, TÜBİTAK doi:10.3906/biy-0807-23, 33, 2009.
114. Pandey, R. M., Cytotoxic Effects of Pesticides in Somatic Cells of *Vicia faba*

- L., Cytogenetics Section, National Botanical Research Institute, Cytology and Genetics, Allerton Press, Inc., Published in Russian in Tsitologiya i Genetika, Lucknow-226001, India, Vol. 42, No. 6, pp. 373–377., ISSN 0095-4527, 2008.
115. Aydemir, N., Çelikler, S., Sumak, Ş., Yılmaz, D., Evaluation of Clastogenicity of 4, 6-Dinitro-o-cresol (DNOC) in *Allium* Root Tip Test, Uludag University, Science and Arts Faculty, Biology Department 16059 Görükle, Bursa/Turkey, J. Biol. Environ. Sci., 2(5), 59-63, 2008.
116. Bolle, P., Mastrangelo, S., Tucci, S. Paola., Evandri, M. G., Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test, Department of Pharmacology of Natural Substances and General Physiology, University of Rome La Sapienza, P.le A. Moro 5, 00185 Rome, Italy. Environmental and Molecular Mutagenesis, 43:137–141, 2004.
117. Koca, S., The cytogenetic effects of Sheffer A, A Liquid fertilizer and growth regulator in root tip cells of *Vicia faba* L., Department of Biology, Science and Art Faculty, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey, C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi., ISSN 1305-1385, C.B.U. Journal of Science 4.1, 121-126, 2008.
118. S. Türkoglu, Paraquat'ın *Vicia faba* L.'da Mitoz Bölünme, Kromozomlar ve DNA Miktarı Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi, Ege Üniversitesi, İzmir, 1996.
119. G. Kara, Kirli Suların Bazı Sebze Bitkileri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, İzmir, 1998.
120. R. Kırımlı, Bazı Fungusit ve İnsektisitlerin *Vicia faba* L. ve *Capsicum annuum* L. Türlerinin Kök Ucu Mitozu Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale, Ağustos 2007.
121. N. Selda Metin, Bazı Pestisitlerin Tahıllarda Sitotoksik Etkileri. Yüksek Lisans

Tezi. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2006.

122. S. A. Gill., S. S. Shaukat., Genotoxic effects of Captan fungicide on root meristems of *Allium cepa* L. In vivo Rufus., 2000.
123. Tartar, G., Kaymak, F. ve Muranlı F. D. Gokalp., Genotoxic effects of Avenoxan on *Allium cepa* L. and *Allium sativum* L., Trakya University, Faculty Of Arts And Sciences, Department Of Biology, 22030 Edirne, Türkiye., Pakistan Journal of Biological Sciences; Issue: 1; pp: 114-117; Vol: 3; 2000., Caryologia Vol. 59, No. 3: 241-247, 2006.
124. Yıldız, M., and Arkan, E. Suna., Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay, Department of Biology, Faculty of Science and Arts, Afyonkarahisar Kocatepe University, 03200 Afyonkarahisar, Turkey. Caryologia Vol. 61, no. 1: 45-52, 2008.
125. Özörgücü, B., Türkan, Oğuz, G., Gönüz, A., Acar, O., 1994. Endüstriyel bölge yeraltı sularının *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme üzerine etkileri. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Çevre Biyolojisi Seksiyonu, S: 1-7, Edirne, 52, Tarım ve Köy işleri _ 1 Müdürlüğü, 1995.
126. Zirai mücadelede kullanılan pestisitlerin sitogenetik etkileri, Mustafa Soyöz, Nurten Özçelik, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Isparta, 1999.
127. Agar, G. ve Uysal, H., The effects of mercury chloride on root tips cells of *Allium cepa*, Tr.J.of Biology 21 (1997) 39-47, TÜBİTAK, 1997.
128. H. Soykan (Sarı), Dichlorvos' un (Ddvp) *Allium Cepa* L. Kök Ucu Meristem Hücrelerinde Mitoz Bölünme Ve Kromozomlar Üzerine Etkileri. Yüksek

Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın, 2007.

129. Konuk, M., Liman, R. and Ciğerci, İ. Hakkı., Determination of genotoxic effect of boron on *Allium cepa* root meristematic cells. Biology Department, Faculty Of Science And Literature, Afyon Kocatepe University, 03200-Afyonkarahisar, Turkey. Pak. J. Bot., 39(1): 73-79, 2007.
130. Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Sancak, C., Kasap, R., Cytological effects of the herbicide racer “flurochloridone” on *Allium cepa*., Caryologia. Vol. 56. No: 1. 97-105, 2003.
131. Zakia, M. A., Fawzia, A. E., A., Abo-El-Kheir and Iman-A El-Sheikh, Alteration In Nucleic Asids, Protein Content and Mitotic Division of *Vicia faba* Root Tip Cells as Affected by Malathion and Tamaron İnsecticides., Cytologia, 55: 349-355, 1990.
132. Çelik, T. A., Sümer, Ş., Basudin (20 EM)’ in arpa mitotik kromozomları üzerine etkileri. Türk Biyoloji Dergisi, 20 (1): 21-28, 1996.
133. Soheir, M. A. and Odette, R.F. Cytological Effects of Pesticides IX. Effects of the Phosphonathionate İnsecticide Leptophos on *Vicia faba*. Cytologia., 44: 907-913, 1979.
134. Soheir, M. A., Enaam, M. A. Cytological Effects of Pesticides V. Effects of some herbicides on *Vicia faba*. Cytologia., 39: 633-643, 1983.
135. Yurekli, A. K., Turkan I., Porgali Z.B., Topcuoglu F, Indoleacetic acid, gibberellic acid, zeatin and abscisic acid levels in NaCl-treated tomato species differing in salt tolerance. Israel Journal of Plant Science, 49:(4) 269-277, 2001.