

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTRACOL WP 70, CHALLENGE SC 600, DURSBAN 4  
PESTİSİTLERİNİN *Allium cepa* BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ  
GENOTİPİK, FENOTİPİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

SERAP TOPÇU

OCAK 2010

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTRACOL WP 70, CHALLENGE SC 600, DURSBAN 4  
PESTİSİTLERİNİN *Allium cepa* BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ  
GENOTİPİK, FENOTİPİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

SERAP TOPÇU

OCAK 2010

## ÖZET

ANTRACOL WP 70, CHALLENGE SC 600, DURSBAN 4  
PESTİSİTLERİNİN *Allium cepa* BİTKİSİ ÜZERİNDEKİ GENOTİPİK,  
FENOTİPİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLER

TOPÇU, Serap

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Sema TAN

Ocak 2010, 92 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* çalışmalarıyla belirlenmiştir. Pestisit uygulanmış ürünlerden insanların ve diğer canlıların zarar görmemesi için, pestisitlerin mutajenik etkilerinin test edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada tarım alanında kullanılan Antracol WP 70 (fungisit), Challenge SC 600 (herbisit) ve Dursban 4 (insektisit) pestisitlerinin, bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın kullanıma sahip olan *Allium cepa* bitkisi üzerine sitotoksik, fizyolojik 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 uzunlu u ve a ırlık 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 görülmü tür.

**Anahtar Kelimeler:** Antracol WP 70, Challenge SC 600, Dursban 4, *Allium cepa*, Pestisit, Fungisit, Herbisit, nsektisit.



## ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE GENOTYPICAL,  
PHENOTYPICAL AND BIOCHEMICAL EFFECTS OF ANRACOL WP 70,  
CHALLENGE SC 600, DURSBAN 4 PESTICIDES ON *Allium cepa*

TOPÇU, Serap

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M. Sc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sema TAN

January 2010, 92 pages

Wide applications of pesticides cause lots of problems in 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.

Antracol, Challenge and Dursban are used commonly in agricultural areas. In this study, the cytotoxic, physiological and biochemical effects of Antracol WP 70 (fungicide), Challenge 600 (herbicide) and Dursban 4 (insecticide) on *Allium cepa* were studied. Chromosomal aberrations, mitosis 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. It has been shown that the use of uncontrolled and large amount of pesticides is harmful on *Allium cepa*.

**Key Words:** Antracol WP 70, Challenge SC 600, Dursban 4, *Allium cepa*, Pesticide, Fungicide, Herbicide, Insecticide.

*Kendimi geli tirmemde emek veren, her türlü desteklerini benden esirgemeyen*

*de erli anneme ve babama, biricik karde ime ithaf olunur...*

## TE EKKÜR

Yüksek Lisans Tezimi hazırlarken her a amasında bana destek olan, bilimsel deney imkanlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, tez yöneticisi de erli hocam, Sayın Doç. Dr. Sema TAN' a te ekkürlerimi sunarım.

Çalı malarım esnasında, bilimsel konularda yardımını esirgemeyen hocalarım Sayın Doç. Dr. Aysun ERGENE' ye, Sayın Doç. Dr. Bülent ÇGEN' e, laboratuvar çalı malarım da destek olan çalı ma arkada ım Bilim Uzmanı Fadime YILMAZ' a, deneysel çalı maları birlikte yürüttü üm arkada larım İhan ARSLANO LU' na, Arzu KAYA' ya ve çalı malarım boyunca eme i geçen herkese te ekkür ederim.

Maddi ve manevi her konuda beni destekleyen aileme ve her zaman yanımda olan biricik arkada ım Nahide YALÇIN' a te ekkür ederim.

Bu tez çalı ması, 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 Ara tırılması” isimli proje olarak TÜB TAK tarafından desteklenmi tir.

## Ç İNDEK İLER

<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>TE EK KÜR</b> .....	vi
<b>Ç İNDEK İLER D İZ İN</b> .....	vii
<b>EK İLLER D İZ İN</b> .....	x
<b>Ç İZELGELER D İZ İN</b> .....	xii
<b>KISALTMALAR D İZ İN</b> .....	xiii
<b>1. G İR</b> .....	1
1.1. Kaynak özetleri.....	3
1.1.1. Pestisit Nedir.....	4
1.1.2. Pestisitlerin Özellikleri .....	5
1.1.3. Pestisit Kullanım Alanları.....	6
1.1.4. Pestisitlerin Canlılar ve Çevre Üzerindeki Etkileri.....	8
1.1.5. Pestisitlerin Mitoz Bölünme Üzerine Etkisi.....	12
1.1.6. Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	20
1.1.6.1. İnsektisitler.....	22
1.1.6.2. Herbisitler.....	22
1.1.6.3. Fungisitler.....	23
1.1.7. Günümüzde Pestisit Kullanımı.....	24
1.2. Çalışmanın Amacı.....	28
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	29

2.1. Materyal.....	29
2.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	29
2.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	30
2.1.3. Materyalin Temini ve Yeti tirilmesi.....	30
2.2. Pestisitlerin Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi.....	31
2.2.1. Fidelerde Kök Uzunlu u ve A ırlık Kazanımının Tespiti.....	31
2.2.2. Pigment Analizi.....	31
2.2.2.1. Klorofil a ve Klorofil b Tayini.....	31
2.2.2.2. Karotenoid Tayini.....	32
2.3. Pestisitlerin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi.....	33
2.3.1. Biüret Metoduyla Total Protein Tayini.....	33
2.3.2. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	34
2.3.2.1. Superoksit Dismutaz (SOD) Tayini.....	34
2.3.2.2. Katalaz (CAT) tayini.....	35
2.3.2.3. Glutatyon Peroksidaz Tayini.....	35
2.4. Pestisitlerin Sitolojik Parametreler Üzerine Etkisi.....	36
2.4.1. Mikronükleus Testi, Mitotik ndeks, Mitoz ve Kromozom Anormallikleri.....	36
<b>3. ARA TIRMA BULGULARI.....</b>	<b>38</b>
3.1. Pestisitlerin Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi .....	38
3.1.1. Çimlenen <i>Allium cepa</i> ' da Kök Uzunlu u ve A ırlık Kazanımı Tespiti.....	38

3.1.2. Çimlenen <i>Allium cepa</i> ' da Pigment Miktarındaki Değişimler.....	41
3.2. Pestisitlerin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi.....	42
3.2.1. Total Protein Tayini.....	42
3.2.2. Farklı Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	44
3.3. Pestisitlerin Sitolojik Parametreler Üzerine Etkisi.....	47
3.3.1. MN Testi, Mitotik İndeks, Mitoz ve Kromozom Anormallikleri.....	47
<b>4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....</b>	<b>62</b>
<b>5. KAYNAKLAR.....</b>	<b>76</b>

## EK LLER D Z N

<u>EK L</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Türkiye’de yıllara göre pestisit kullanım miktarları.....	7
1.2. Pestisitlerin toprak-bitki-çevre sistemindeki davranı ları.....	10
1.3. Pestisitlerin do adaki hareketleri.....	11
1.4. <i>Allium cepa</i> ’ da mitoz bölünme safhaları.....	15
1.5. Dünyada pestisit kullanımının gruplara göre da ılımı.....	25
1.6. Dünya pestisit pazar payları.....	25
1.7. Türkiye’ de pestisit kullanım oranları .....	26
3.1. Kontrol (a), Antracol (1), Challenge (2) ve Dursban (3) çözeltilerinde [600 (b), 1200 (c) ve 1800 (d) ppm] çimlendirilen <i>Allium cepa</i> örnekleri.....	40
3.2. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve karotenoid miktarları.....	42
3.3. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltileriyle muamele edilen <i>Allium cepa</i> kök uçlarında ölçülen total protein miktarları....	43
3.4. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> yapraklarındaki SOD aktivitesi.....	45
3.5. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> yapraklarındaki CAT aktivitesi.....	46
3.6. Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> yapraklarındaki GSH-Px aktivitesi.....	47
3.7. 600, 1200 ve 1800 ppm Antracol çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i>	



kök ucu hücrelerinde MN olu umları.....	49
3.8. 600, 1200 ve 1800 ppm Challenge çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde MN olu umları.....	50
3.9. 600, 1200 ve 1800 ppm Dursban çözeltilerinde çimlendirilen <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde MN olu umları.....	50
3.10. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde mitotik profaz, metafaz, anafaz ve telofaz safhaları.....	51
3.11. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (600 ppm Antracol).....	52
3.12. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1200 ppm Antracol).....	53
3.13. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1800 ppm Antracol).....	54
3.14.a. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (600 ppm Challenge)....	55
3.14.b. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları(600 ppm Challenge).....	56
3.15. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1200 ppm Challenge).....	57
3.16. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1800 ppm Challenge)....	58
3.17. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (600 ppm Dursban).....	59
3.18. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1200 ppm Dursban).....	60
3.19. <i>Allium cepa</i> kök hücrelerinde kromozom hasarları (1800 ppm Dursban).....	61

## Ç ZELGELER D Z N

<u>Ç ZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Çalı mada kullanılan pestisitler.....	29
3.1. Çimlenen <i>Allium cepa</i> ' da kök uzunlu u üzerine pestisitlerin etkileri.....	39
3.2. Farklı pestisit çözeltilerinde çimlenen <i>Allium cepa</i> ' da MI sonuçları.....	48

## KISALTMALAR D Z N

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

## 1. G R

Bitkiler, hızla artan dünya nüfusunun temel besin kaynağını oluşturmaktadır. Ancak, artan dünya nüfusunu beslemek için kullanılan tarım alanlarının miktarı, küresel ısınma sonucu gün geçtikçe azalmaktadır. Hastalık etmeni olan 100.000 tür bitki patojeni ve 10.000' den fazla böcek türü bitkilerle rekabete girerek, birim alandan elde edilen ürün miktarını ve kalitesini düşürmektedir. Bu tür kayıpların engellenmesi amacıyla farklı kimyasal yapı ve formülasyonda pestisitler kullanılmaktadır. Pestisitlerin yaygın kullanımı gerek sağlık, gerekse çevre ve ekonomik açıdan çeşitli olumsuzlukları da beraberinde getirmektedir. Pestisitlerin, özellikle hedef alınmayan canlılar üzerinde gelişmeyi durdurucu, hastalık yapıcı, genotoksik, mutajenik, kanserojenik ve hatta öldürücü etkilere sahip olduğu *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla belirlenmiştir (1- 4).

Bilindiği gibi, tarımsal üretimde ve hasat sonrası depolamada bitki hastalıkları, zararlılar ve yabancı otlar önemli miktarlarda ürün kaybına neden olmakta veya ürün kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Zararlı ve hastalıklarla mücadele, tarımsal üretimde kalite ve verimliliğin artırılmasında, hasat öncesi ve sonrasında kayıpların önlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Bu mücadelede kullanılan pek çok yöntem bulunmakla birlikte en yaygın kullanım, kimyasal madde (tarımsal ilaçlar, pestisitler veya zirai mücadele ilaçları) uygulamasıdır (ulusal mevzuata göre bitki koruma ürünleri aracılığı ile yürütülen mücadele). Türk Gıda Kodeksi bitki koruma ürünlerini, tarımsal ürünlerin üretimi, toplanması, depolanması, taşıması ve dağıtılması sırasında hastalık, zararlılar, yabancı otlar ve mikroorganizmaların kontrolü, uzaklaştırılması, imha edilmesi, önlenmesi amacıyla

kullanılan, bitki gelişimini düzenleyiciler dahil, kimyasal maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bitkilerin büyümesini düzenleyen, yaprak düşüren, filizlenmeyi önleyen maddeler de bu tanım kapsamına girmektedir. Bitki zararlılarına karşı zehir etkisine sahip olan pestisitler, gıda maddeleri için “bulaşıcı” niteliğindeki istenmeyen maddelerdir. Buna göre bulaşıcılar; 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 (5).

Dünyada ve ülkemizde tarım alanındaki zararlıları yok etmek ve daha kaliteli ürün elde etmek amacıyla yoğun olarak kullanılan pestisitler, tarımsal savaşta hedef organizmaları yok ederek ürün artışına neden olabildikleri gibi, hedef olmayan canlılarda da hasarlara yol açmaktadırlar (6, 7).

İnsanlar tarafından tüketilen gıdalardaki pestisit kalıntıları, insan sağlığı açısından önemli bir risk faktörüdür. Bu nedenle, tüketiciye ulaştırılan ürünün güvenli olması bakımından gıdalara bulaşıcı 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 (5). Zira pestisitlerin, bitkilerdeki veya insan lenfosit hücrelerindeki nükleik asitlere, kromozomlara ve mitoz bölünmeye olumsuz etkileri bulunmaktadır (8).

Pestisitlerin ve etken maddelerinin akut toksik etkileri mevcuttur (9- 12). Organofosfatları ve karbamatları içeren birçok pestisit, genotoksik etkiye sahip olup canlı yaşamını tehdit etmektedir. Tarım ile uğraşan ve pestisite maruz kalan insanlarla yapılan çalışmalarda, bu bireylerde yapısal ve sayısal kromozom

anomalileri ile karde kromatid de i iminde artmalar gözlenmi tir. Pestisitler, hedef olmayan organizmalarda birçok genetik hasarın yanında, sinir sistemi, endokrin sistem, immün sistem, karaci er, kas, kalp, kan, bo altım ve di er sistemleri etkileyebilmektedir (9- 15).

Pestisit uygulanmı ürünlerden insanların ve hedef alınmayan di er canlıların zarar görmemesi için, pestisitlerin mutajenik etkilerinin test edilmesi gerekmektedir. Bitkilerde ve deney hayvanlarında pestisitlerin etkileri ile ilgili yapılan çalı malarda, pestisitlerin çe itli kromozomal hasarlara neden oldukları belirlenmi tir (4, 16-18).

### **1.1. Kaynak Özetleri**

Günümüzde artan nüfusun besin ihtiyacını kar ılayacak tarım alanlarının kısıtlılı ı en önemli problemler arasındadır. FAO (Birle mi 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 ki i ölmektedir (19).

Dünya nüfusunun beslenme ihtiyacını kar ılamak için, tarımda birim alandan alınan ürün miktarının artması, iyi tohumluk, gübreleme, sulama, toprak hazırlama gibi faktörlerin yanında hastalık ve zararlılarla mücadele ile mümkün olmaktadır (20). Zararlılarla yapılacak mücadele, tabi artlarda en uygun olan biyolojik mücadele olmalıyken, Türkiye' de ve birçok geli mi ülkede kimyasal ilaçlarla mücadele yapılmaktadır. Bugün tarımsal ilaçların kullanılmaması durumunda, bazı ürünlerde ortalama % 65 civarında kayıpların meydana gelebilece i tahmin edilmektedir. Ancak tarım ilaçları, ço u insan tarafından bilinçsizce kullanılmaktadır. Bu ilaçlardan en önemlisi ve kullanımına dikkat edilmezse en zararlısı, pestisitlerdir (2,

4, 18- 22).

nsanlara, hayvanlara ve bitkilere çe itli derecelerde zararı dokunabilecek 10.000' den fazla böcek, 600 yabancı ot, 1500' den fazla bitki hastalı ı ve 1500 tür nematod bilinmektedir (23). Bu nedenle do al dengeyi tehdit eden tarım ilaçlarından tümüyle vazgeçmemiz de mümkün de ildir.

Ülkemizde yakla ık 2000 civarında pestisit ve 450 aktif madde ruhsatlıdır. Bu ilaçların % 75' i Çukurova bölgesinde kullanılmakta olup seralarda bilinçsizce yapılan uygulamalar bazı sorunlara yol açmaktadır. Örne in; çilek üretiminde aynı bitki üzerinde olgunla mı ve olgunla mamı meyvenin bulunması nedeni ile hasatın bir kerede yapılamaması, olgunla mamı meyveler için yapılan ilaçlamalar sonucunda olgunla anlar üzerinde de ilaç kalıntılarının kalması, narenciye a açlarında meyve verme a amasına kadar kullanılması gereken sistemik ilaçların meyveden sonra da kullanılması bu sorunlardan bazılarıdır (24).

### **1.1.1. Pestisit Nedir**

nsektisit, herbisit, fungusit, rodentisit, akarisit, bakterisit, avisit, nematosit ekinde sınıflandırılan kimyasal maddelerin tümünü kapsayan pestisitler, karbon, hidrojen ve klor içerdiklerinden klorlu hidrokarbonlar olarak da tanımlanmaktadır. 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 uzakla tırmak, yok etmek ve bitki büyümesini düzenlemek amacıyla kullanılan kimyasal ya da biyolojik ürünlerdir (25, 26).

Ülkemizde tarımı yapılan kültür bitkileri, sayıları 200' ü a an hastalık ve

zararının tehdidi altında olup yeterli sava ım yapılmadı ı için toplam ürünün yaklaşık 1/ 3' i kayba u ramaktadır (27).

### **1.1.2. Pestisitlerin Özellikleri**

Pestisitler, oksitleyici özelli e sahip bile iklerdir. Bu tür elektrofilik moleküller, 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 (28).

Ço u aromatik bile ikler olan pestisitlerin kirletici potansiyelleri, biyolojik etkinliklerine ve zehir etkilerine ba lı olarak de i mektedir. Pestisitlerin topraktaki kalıcılı ı (yarı ömür), pestisit ba langıç düzeyinin yarısının ortadan kalkması veya di er bile iklere ayrı abilmesi için gereken zaman aralı ıdır. Ancak bazı durumlarda ayrı ma ürünleri, özgün bile ik kadar veya ondan daha zararlı etkilere de sahip olabilmektedir (20).

Her zehirli madde, pestisit olarak kullanılmaz ve adlandırılmaz. Zehirlilik özelli i gösteren bir maddenin pestisit olabilmesi için u ölçütlere sahip olması gerekir: Biyolojik olarak etkili, güvenilir ve stabil olmalı, kullanıcılar, tüketiciler açı ından güvenilir olmalı, besi hayvanları için güvenilir olmalı, yabani hayata ve faydalı organizmalara zararlı olmamalı, çevre için kabul edilebilir olmalı, ticarete probleme sebep olmamalıdır (29).

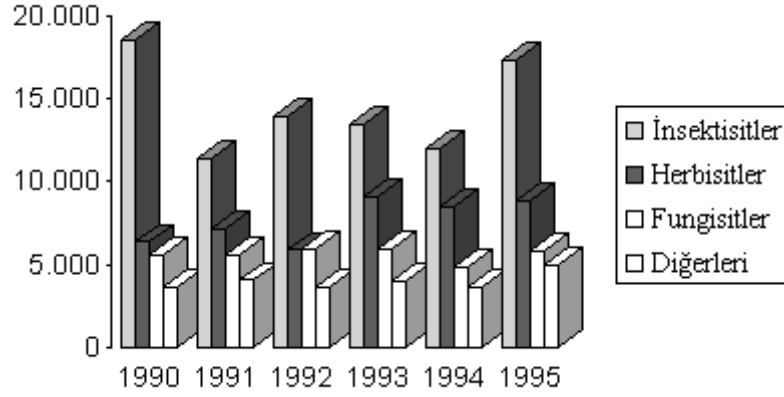
Bununla birlikte bir pestisit ideal bir pestisit olabilmesi için; hedef canlıya spesifik olmalı, insanlara zarar vermemeli, ucuz olmalı, kolay



uygulanabilmeli, kolayca toksik olmayan maddelere dönü ebilmeli ve yanıcı- a indirici-patlayıcı olmamalıdır (30).

### **1.1.3. Pestisit Kullanım Alanları**

Pestisitlerin kullanımı 18. yüzyılda ba lamı ve ilk sentetik pestisit kimyasalları 19. yüzyılın sonlarında ortaya çıkmı tır (30). Eski kültürlerde bazı bitki hastalıklarına kar ı kükürt kullanıldı ı bilinmekle beraber, asıl bitki koruma çalı maları 19. yüzyılda Pasteur' ün, bazı bitkisel ve hayvansal hastalıklara ait mikroorganizmaları ke fetmesi ile ba lamı tır, bu organizmaları etkileyebilecek ilaçların ara tırılması sonucu da tarım ilaçları kullanılmaya ba lanmı tır (31). Ancak pestisitlerin geli mesindeki en önemli evre, son birkaç yıllık döneme rastlamaktadır (30). ekil 1.1' de Türkiye'deki pestisit kullanım miktarları verilmi olup 1990 yılında 18.551 ton civarındaki insektisit kullanımı 1991, 1992, 1993 ve 1994 yıllarında dü me göstermi fakat 1995 yılında tekrar 17.383 seviyesine yükselmi tir. Herbisitler ise 1990 yılında 6.349 ton civarında iken yıllar geçtikçe tüketim miktarları artmaktadır. Fungisitler için de aynı logaritmik artı ı görmek mümkündür (32).



**ekil 1.1.** Türkiye’ de yıllara göre pestisit kullanım miktarları (ton) (32)

Pestisitler, ürün üretiminde tarım ve bahçecilikte, böcek ve kemiricilere karşı mahsulün korunmasında, kamu sağlığı çalı malarında, vah i ya amın korunmasında, ev içi ve ev çevresi alanlarda, ormancılıkta, kereste korumacılı nda, hayvancılıkta, endüstriyel böcek kontrolünde, gıda saklanmasında, tıbbi amaçlı, toplum hijyeni ve veterinerlikte kullanılmaktadır (30).

Endüstriyel alanda pestisitler, boya, zambak, macun, tenis sahaları-aları, kozmetikler, ampuanlar, sabun, ev dezenfektanları, karton ve yiyecek paketleri, kağıt ürünleri, endüstriyel amaçlı so utma sularında, kanallar ve hendeklerde kullanılır. Ayrıca evde herbisitler, insektisitler ve fungusitler kullanılmaktadır. Bunların dı nda pestisitler, halk sa lı nda; sıtma kontrolü, filariazis, istozomiyazis, tripanozomiyazis gibi hastalıklarda kullanılmaktadırlar (30).

Tarımsal pestisitlerin % 14- 80’ i toprağa uygulanmaktadır (33). ABD’ de pestisit kullanımının % 75’ i tarımsal alandadır. Ayrıca dünyada DDT, aldrin, dieldrin, klordon, heptaklor, lindan, toksofen kullanımları yasaklanmıştır (30).

Tarımsal pestisit kullanımında, dünya çapındaki tüm otoritelerce kabul edilen maksimum pestisit seviyesi 0,1 µg / l' dir (33).

#### **1.1.4. Pestisitlerin Canlılar ve Çevre Üzerindeki Etkileri**

Pestisitlerin canlılar üzerindeki etkileri, ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisit kalıntılarının bulunmasıyla anlaşılmıştır. Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturucu etkileri saptanmıştır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu nedenle 1960 yılında FAO ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü), Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi'ni kurmuşlardır. Bu komitenin çalışmaları sonucu, konu ile ilgili tanımlamalar yapılmış ve bilimsel araştırmaya verilerine dayanılarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır. Ülkemizde de tarımsal ürünlerde kullanılan pestisitlerin gıdalarda bulunmasına müsaade edilebilir maksimum miktarları ürün ve ilaç bazında belirlenmiştir (34).

Tarımsal alanlara, orman veya bahçelere uygulanan pestisitler, havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşümüne uğramaktadır. Bir pestisitinin çevredeki hareketlerini, pestisitinin kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon tipi ve uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir (35).

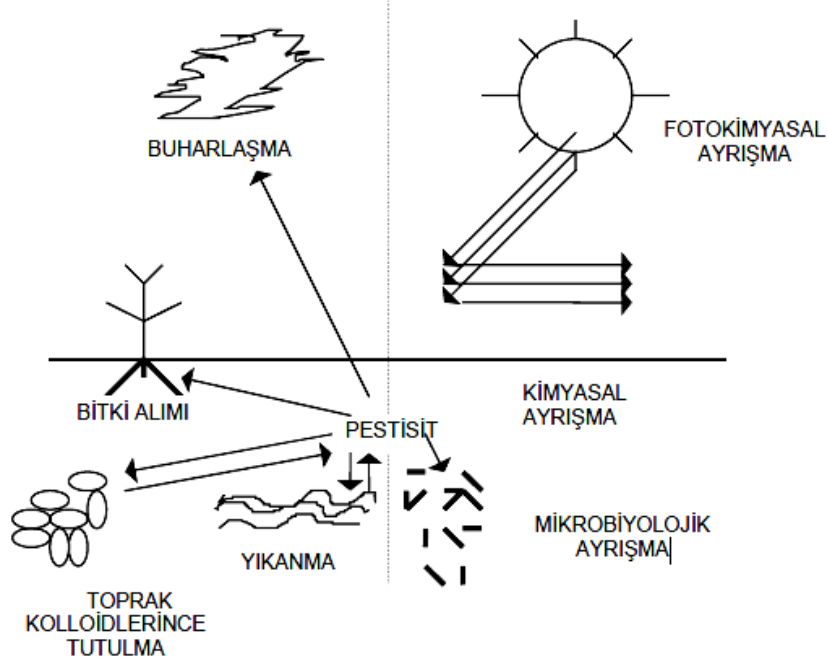
Pestisitlerin kullanımı bir taraftan tarımda üretimi arttırırken, diğer taraftan bilinçsiz ve hatalı kullanım sonucu, hem insan hem de çevre sağlığı problemleri ortaya çıkmaktadır. Pestisitler, tavsiye edilen dozların üzerinde kullanıldıklarında, gereğinden fazla sayıda ilaçlama yapıldığında, gerekmediği halde birden fazla ilaç

karı tırılarak kullanıldı ında veya son ilaçlama ile hasat dönemi arasında bırakılması gereken süreye uyulmadı ı durumlarda, gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da dönü üm ürünleri kalabilmektedir. Yüksek dozda pestisit kalıntısı içeren gıdalarla beslenen insanlarda ve çevredeki di er canlılarda, akut veya kronik zehirlenmeler olabilmekte, özellikle bazı ürünlerde aroma ve kalite de i imleri meydana gelebilmektedir (19). Hemen bütün insektisitler spesifik olmadıkları için sadece hedef organizmaları öldürmemekte, omurgalı ve omurgasız di er organizmaları da etkilemektedir (16, 18, 36).

Pestisitlerin, en önemli yan etkileri unlardır:

- i. Ku , balık, mikroorganizma ve omurgasızlar gibi hedef olmayan organizmalarda ölümlere ve üreme potansiyelinin azalmasına,
- ii. Hedef olamayan canlılarda pestisitlere kar ı dayanıklılık olu ması sonucu, hastalık ta ıyan böcek ve parazitlerin kontrolden çıkmasına,
- iii. Ekosistemin yapısının ve türlerin sayısının de i mesi gibi uzun süren etkilere neden olmaktadır (35).

Pestisitler toprakta, güne ı nlarının etkisiyle fotokimyasal degradasyona, bitki, toprak mikroorganizmaları ve di er organizmaların etkisiyle biyolojik degradasyona u ramakta; topraktaki kil ve organik maddeler tarafından adsorplanıp desorplanmakta veya kimyasal degradasyona u ramaktadırlar. Topra ın yapısı, kil tipi ve miktarı, organik madde içeri i, toprak pH' sı ve toprakta bulunan baskın mikroorganizma türleri, tüm bu olayları etkileyen faktörlerdendir ( ekil 1.2) (34).



**ekil 1.2.** Pestisitlerin toprak-bitki-çevre sistemindeki davranı ları (37)

Pestisitın canlılar üzerindeki etkisi fetal ya amdan itibaren ba lamaktadır. Bu ilaçlar plasentadan fetüseye geçmekte ve bunun sonucu olarak dü ükler olabilmekte, hiperpigmentasyon ve hiperkeratotik (anormal derecede kalın, çatlak bir deriye sahip) çocuk do umları görölmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde, radyoaktif olarak i aretlenip anneye verilen pestisitın 5 saat sonra plasentadan fetüseye geçti i ve fetüsün göz, sinir sistemi ve karaci erine yerle ti i gözlenmi tir. Kan hücreleri üzerine de olumsuz etkileri bulunan pestisitlerin bazıları, eritrositlerin boyutlarının ve yüzey ekilerinin bozulmasına ve eritrosit antioksidan sistem enzimlerinin aktivitelerinde de i melere sebep olmaktadır (14, 38).

Pestisitlerin önemli etkilerinden bir di eri de asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmeleridir ki bu durumda, alt beyin kökünde solunum kontrol merkezlerinin baskılanması canlının ölümüne sebep olur (39).

Pestisitlerin püskürtülerek uygulanması sırasında ise, bir kısmı buharla ma ve da ılma nedeniyle kaybolurken, di er kısmı bitki üzerinde ve toprak yüzeyinde kalmaktadır. Toprak ve bitki uygulamalarından sonra toprak yüzeyinde kalan pestisitler, yağmur suları ile yüzey akı ı ekinde veya toprak içerisinde a a ıya do ru yıkanmak suretiyle taban suyu ve di er su kaynaklarına ula abilmektedir ( ekil 1.3). Do rudan suya yapılan uygulamalar sonucunda (sivrisinek mücadelesi gibi) pestisitler su bitkileri veya dip çamurları tarafından tutulmaktadır (40).



**ekil 1.3.** Pestisitlerin do adaki hareketleri (30)

Pestisitlerin bilimsel denetimden yoksun, geli i güzel ve a ırı 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 baskınlık kazanması ve çevre kirlenmesi gibi pek çok olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır (17, 22, 41, 42).

### **1.1.5. 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 (43). 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 (44).

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. Hücre bölünmesi arasında dinlenme safhası adı verilen, aslında metabolik faaliyetlerin çok yavaş olarak meydana geldiği interfaz safhası (metabolik safha) gerçekleşmektedir. Hücre bölünmesi ve büyümesinde 4 ana safha vardır:

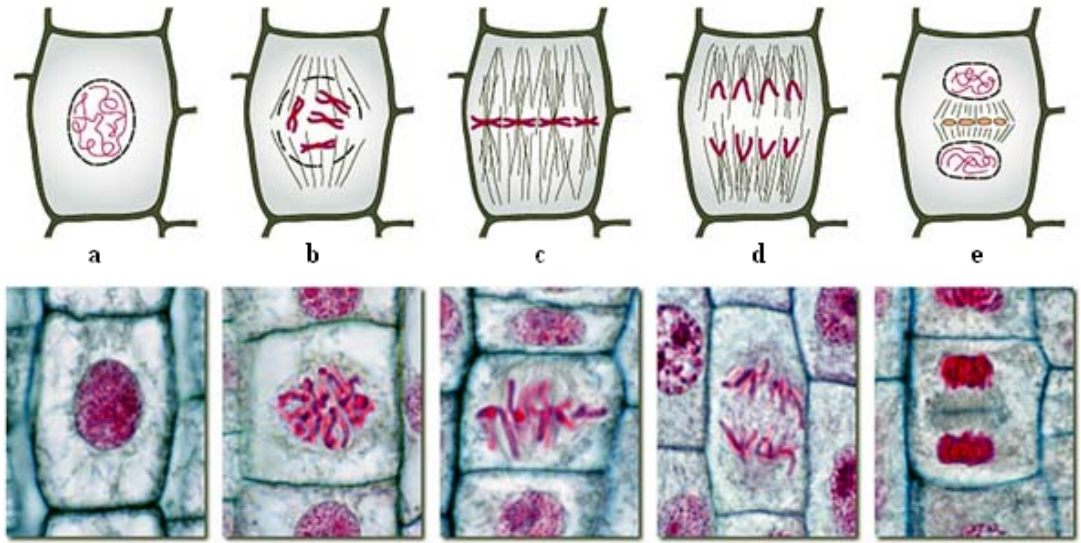
- i. Mitoz ve sitokinezi kapsayan tüm hücre bölünmesi safhaları (M safhası.)
- ii. Hücre bölünmesi ve hücreyel organellerin sayısında artı olan safha (G1 safhası.)
- iii. DNA replikasyonu ile birlikte protein sentezinin oldu u safha (S safhası).
- iv. Mitoz bölünmeye hazırlık için çe itli metabolik olayların gerçekte ti i (G2 safhası.)

Mitoz, hücre döngüsünün sadece bir kısmını olu turur. 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. nterfaz sırasında hücre büyür ve bölünme için kromozomlarının kopyasını olu turur. nterfaz, G1, S ve G2 safhalarından olu maktadır. Bu üç alt faz sırasında hücre, proteinlerini, DNA' sını ve sitoplazmik organellerini ço altır, kromozomlarını kopyalar (44).

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 ba ndan itibaren her kromozomun kromatid adı verilen iki iplikten olu tu u görülür. Fakat bu iki iplik henüz bölünmemi sentromer tarafından bir arada tutulur. Kromozomlar, profazın ba nda nükleusun içinde e it bir da ılım gösterirler. Safhanın sonuna do ru nükleus zarına yakla ır. Profaz ilerledikçe kromozomlar daha büyük çaplı spiraller yaparak kısalıp kalınlıla ırlar. Nükleus zarı fragmentli bir duruma



geçerek, profazın sonunda nükleoluslar gittikçe küçülür ve kaybolur. Prometafazda, kromozomların kardeş hücrelere dağılması için iplikleri oluşur. Kromozomlar bu ipliklerine bağlanarak ekvator düzlemine doğru hareket ederler. Kinetokorlar ise ipliklerinin farklı kutuplara giden tarafına yerleşirler. Kromozomlar ekvator düzlemine eriştikleri zaman metafaz başlar. Kinetokor liflerine bağlı kromozomlar metafaz plaında 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 başlamı olur. Bu safhada dublake 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 bölümla sitokinez gerçekleşirken, bitki hücresinin etrafındaki hücre çeperi ise bölünmeye izin vermediğinden hücre plaı meydana gelir ve iki hücre için de plazma zarı oluşur. Bir bitki hücresi olan *Allium cepa*'da mitoz bölünmenin evreleri ekil 1.4' de görülmektedir (44).



**ekil 1.4.** *Allium cepa*' da mitoz bölünme safhaları: a) nterfaz, b) Profaz, c) Metafaz, d) Anafaz, e) Telofaz (45)

Zirai mücadelede kullanılan pestisitlerin, endüstri bölgelerinin çevre kirleticileri arasında yer alan ağır metaller (Cu, Zn, Hg, Pb, Cd) gibi hem bitki, hem de hayvanlar üzerinde büyüme ve gelişmeye olumsuz etkileri vardır (46- 48). Bitkiler üzerinde sitotoksik etkileri olan pestisitlerin hücrelerde neden olduğu kromozomal sapmalar, genetik hasarın göstergesi olarak kabul edilebilir (49). 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, doğrudan toprağa ve suya karışan kimyasallara maruz kalan ilk yapılardır. Farklı test bitkileriyle çevresel kimyasalların genotoksitesini test etmek için yapılan çalışmalarda, kirleticilerin farklı konsantrasyon ve sürelerindeki uygulamalarda hem makroskobik düzeyde büyümedeki düzensizlikler gözlemlenmiştir, hem de mikroskobik düzeyde, mitotik indeksin azaldığı ve yapısal

kromozomlar, köprü olumu, vragrant (da ınık) kromozomlar, c-metafaz, c-anafaz, multipolar anafaz, yanlı kutuplaşma, parça olumu, mikronükleus gibi kromozom aberasyonlarının arttı ı belirlenmiştir (8). Pestisitlerin i iplikleri üzerine etkili olması sonucunda c-mitoz olmakta ve buna ba lı olarak poliploidi ve anöploidi meydana gelmektedir. ipliklerinin tamamen parçalanması ile multipolar anafaz olurken, i ipli i olumunun kısmen engellenmesi ile kalgın kromozomlar ve bunun sonucunda da mikronükleuslar meydana gelmektedir (50).

Genotoksisite ve kanserojenitenin belirlenmesinde kullanılan MN (mikronükleus), asentrik kromozom ya da kromatid kırıklarından ve tüm kromozomlar ya da kromatidlerin anafazda gecikmesinden (lagging) dolayı telofazda olu an, karde nükleusun dı ında rastlanan küçük nükleuslardır. Ayrıca multipolar anafaz ve telofaz da MN olumuna sebep olmaktadır (51- 53).

MN olumuna neden olabilen kromozom kaybı ya da kromozomların ayrılamaması (non-disjunction), kanser ve ya lanmada gözlenen önemli olaylardır. Bu durum, muhtemelen i iplikçiklerinde, sentromerde bozulma ya da metafazdan önce kromozom yapısının yo unlaşması sonucu olmaktadır. Mikronükleus, sonraki mitotik bölünmelerde anöploid ve poliploid hücrelere yol açtı ından mutasyonlara sebep olmaktadır (54, 55).

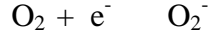
Bitkiler farklı stres faktörlerine kar ı aynı veya benzer savunma mekanizmaları geli tirmişlerdir. Bitkiler stresi ya tolere etmekte ya da ondan kaçınmaktadırlar. Stres faktörleri yapısal ve metabolik hasarlara neden olmaktadır. Bu hasarlar tersinir ya da geri dönü ümsüz olabilirler. Bu yüzden bitkiler sekonder metabolitlerin yanı sıra ba ka savunma yolları da geli tirmişlerdir. Bu yollardan biri de antioksidanların aktivasyonudur (56).

Pestisitler, vücuttaki en önemli koruyucu sistemlerden olan antioksidan sistemi olumsuz olarak etkilemektedir. Antioksidantlar, oksidasyonu ba langıç veya geli me basama ında önleyen ve/veya geciktiren maddelerdir. Biyolojik sistemlerde antioksidant aktiviteye sahip bile iklerin bulunması ya am için bir ihtiyaçtır. Bu antioksidantların antimitojenik, antikarsinojenik ve ya lanmayı önleyici etkileri bulunmaktadır (57).

Antioksidan sistem vücutta olu an reaktif oksijen bile iklerini etkisizle tirmeyi hedef alır. Bütün aerobik hücrelerde aktif oksijen türevleri kendili inden meydana gelmektedir. Dı kaynaklı olarak da UV radyasyonu, sigara dumanı, hava kirleticileri, ozon, organik çözücüler, pestisitler aktif oksijen türevleri olu turabilirler. Aktif oksijen türevleri, oksijenin tekil elektronlarının uyarılması ile açığa çıkan süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit, hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ) ve peroksi anyonu gibi radikallerdir. Bu radikaller hücre membranında doymamı ya asitleri ve protein üzerine zarar verici etki gösterirler. Serbest radikallerin membrana tutundu u durumlarda enzimleri ve di er proteinleri inaktive etmesi, onkolojik olabilen mutasyonlara neden olması, hücrenin hormonlar ve nörotransmitterlere verdi i cevabı de i tirmesi 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 (58-63).

SOD canlı organizmalardan süperoksit anyonlarını uzakla tıran bir enzimdir. SOD, oksidatif enerji üretimi sırasında olu an 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 (64, 65).



Süperoksit anyonuna bir elektron eklenirse (süperoksit dismutasyonu) veya  $O_2^-$ 'nin doğrudan indirgenmesiyle hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşur. Dismutasyon, spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığıyla katalize edilebilir (66).



Katalaz, bitki, hayvan ve aerobik bakterilerde bulunan ve hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ) su ve moleküler oksijene yıkılmasını katalizleyen bir enzimdir (67).



Katalaz (CAT), somatik bir oksidan koruyucudur. Katalazın hidrojen peroksidiyle ilgisi, glutatyon peroksidaza göre daha fazladır. Katalaz, karaciğer ve eritrosit içerisinde bol miktarda bulunur, hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalar (68). Katalazın temel fonksiyonu, moleküler  $O_2$  mevcudiyetinde metabolizmanın bazı kademelerinde sentezlenen  $H_2O_2$  ve ROOH gibi bir peroksidi gidererek, özellikle membranlarda oluşabilecekleri geri dönüşümsüz hasarları engellemektir. Çünkü  $H_2O_2$ , singlet oksijen ve hidroksil radikalinin potansiyel kaynağıdır (69).

Glutatyon peroksidaz (karaciğerde en yüksek, kalp, akciğer ve beyinde orta, kasta ise düşük düzeyde), ağırlık düzeylerinde  $H_2O_2$  varlığında redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) dönüşümünü katalize eder. Bu arada  $H_2O_2$  de suya

dönü türülerek detoksifiye olur (67).



Glutasyon mekanizması çok önemli antioksidatif savunma mekanizmalarından biridir. Glutasyon peroksidaz, oksidasyona karşı hücre membranını ve proteinlerini korumaktadır (70).

Pestisitlerin bitkilere karşı bir etkisi de yapısındaki etken maddenin karşı maddeler ile etkileyerek bitkinin cins, tür ve gelişme devrelerine göre de i ik fitotoksik etkilerde bulunmasıdır (71). Pestisitler, bitki yapraklarında birim alandaki stomada ılımlı azaltarak, fotosentez için gerekli gaz alımını ve bunun sonucunda bitkinin fotosentez hızını düşürerek metabolik faaliyetlerin yavaşlamasına sebep olmaktadır (72). Yüksek dozlarda pestisit kullanımı, bitkilerin fotosentez ve transpirasyon gibi işlevlerinin gerçekleştiği yapraklarda da fizyolojik yönden önemli farklılıklara yol açmaktadır (16). Fotosentezin gerçekleştiği bitki kloroplastlarında çeşitli tipte klorofillere rastlansa da klorofil a ve klorofil b en önemlilerindedir. Klorofil a ( $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{N}_4\text{Mg}$ ), algler ve Cyanobacteria'da, klorofil b ( $\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$ ) ise, bütün yüksek bitkilerde ve yeşil alglerde bulunur (73-75).

Bitkilerde ve bazı diğer fotosentetik mikroorganizmalarda bulunan karotenoidler, biyolojik antioksidan olarak hücre çekirdeğini ve dokuları zararlı etkenlerden koruduğu için insan sağlığı açısından önemlidir (76).

Karotenoidler  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{O}_2^-$  ve peroksi radikalleri ile etkileşime geçerek mükemmel bir radikal tutucu olarak iş görürler. Serbest radikallerin yapısından bir  $\text{H}^+$  kopararak radikali etkisiz hale getirir ve yapısından bir elektron transfer ederek radikali nötrleştirirler. Kanser tedavisinde kullanılan  $\beta$ -karoten, lutein, zeaksantin

gibi karotenoidler, birçok ara tırmacı tarafından insan hastalıklarına karşı koruyucu olarak önerilmektedir (77- 79).

#### **1.1.6. Pestisitlerin Sınıflandırılması**

Tarım ilaçları kullanıldıklarında gösterecekleri etki ekline göre a a ıdaki ekilde sınıflandırılmaktadır;

**Kontak etkili ilaçlar:** Uygulandıklarında bitki yüzeyinde kalırlar ve temas ettikleri canlıları öldürürler. Göreceli olarak daha az tehlikelidirler (20).

**Sistemik etkili ilaçlar:** Bitki bünyesi içerisinde hareket ederek meyveye, yapra a 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 (20).

Tarımsal ilaçların zehirleyicilik özellikleri, ilacın hayvanlar üzerinde yapılan denemeler neticesinde elde edilen LD<sub>50</sub> (letal doz 50 %) değerine göre saptanır. Pestisitler LD<sub>50</sub> değerlerine göre çok zehirli (Endrin, Endosülfan), zehirli (Lindan, Heptaklor), kısmen zehirli (Triklorofon, Demeton) ve az zehirli (Kloratlar, Dalapon) olarak gruplara ayrılırlar (20).

Pestisitler; insektisit (böcek ilacı) olarak bilinmesine rağmen “herbisit”, “fungisit” ve aynı amaca hizmet eden birçok kimyasalların genel adıdır (21, 22, 27) İnsanlar, hayvanlar ve tarım ürünleri üzerinde zararlı etkileri olan organizmalara pest adı verilir. Böcekler, fareler, zararlı bitkiler, mantarlar, mikroorganizmalar (bakteri ve virüsler) pestlere örnek olarak verilebilir (80).

Pestisitler;

a) Etkiledikleri canlı gruplarına (hedef alınan organizma) göre:

insektisit; böcek ve ha erelere kar ı, fungusit; funguslara (mantarlara) kar ı, herbisit; yabancı otlara kar ı, mollusit; yumu akçalara (sümüklüböcek, salyangoz) kar ı, rodentisit; kemirgenlere kar ı, nematisit; yuvarlak solucanlara ve iplik kurtlarına kar ı, akarisit; akarlara kar ı, avisit; ku lara kar ı, afisit; yaprak bitlerine kar ı, bakterisit; bakterilere kar ı, algisit; algilere kar ı, mitisit; kurt ve kenelere kar ı ve virusit; virüslere kar ı kullanılan ilaçlardır (20).

Herbisit, insektisit ve fungusit yaygın ve çok miktarda kullanıldı ndan toprak bula masında en fazla önem verilenlerdir. Pestisitler, suda çözünen tozlar, tozlar, sulu çözeltiler, emülsiyon yo unla tırlımı ilaçlar, granüller, aerosoller, zehirli yemler v.b gibi çe itli formülasyonda bulunmaktadır.

b) Zararlı organizmanın biyolojik dönemine göre; erginleri, larvaları ve yumurtaları öldüren bile ikler geli tirilmi olup, larvasit, ovisit gibi genel adlarla tanınırlar.

c) Zararlı organizmanın habitatına göre; kültür bitkisi zararlıları, orman zararlıları, depo ürünleri zararlıları ekinde çe itlenirler (20).

d) Kullanım ekline göre; gaz, toz halinde ve püskürtülerek uygulanırlar.

e) Etki maddelerine (aktif maddeye) göre; inorganik, do al organik ve sentetik organik maddeler, bitkisel maddeler, petrol ya ları, klorlu hidrokarbonlar, organik fosforular, azotlu bile ikler olarak sınıflandırılmaktadırlar (34).

Sentetik organik pestisitler, zirai mücadelede en fazla kullanılan kimyasallardır ve bu nedenle çevreye ve organizmalara kar ı zararları açısından en önemli pestisit grubunu olu turmaktadırlar (34).



### **1.1.6.1. Insektisitler**

Günümüzde kullanılmakta olan insektisitlerin miktarı, diğer pestisit gruplarının her birinden fazladır. Insektisitler genel olarak, klorlu hidrokarbonlar, organik fosfatlar ve karbamatlar olarak sınıflandırılırlar (26, 81, 82).

Klorlu hidrokarbonlar 1970' e kadar geniş ölçüde kullanılmışlardır. Ekonomik açıdan ucuz olmaları, geniş kullanım alanına sahip olmaları, insanlara karşı toksik etkilerinin azlığı ile avantajlı görünmelerine rağmen biyolojik ayrımaya yavaştıradıkları, ortam koşullarına karşı dirençli olduklarından birikme özelliği gösterdikleri, kuş ve balıklara toksik etkiye sahip oldukları dikkati çekmiş ve bu nedenle kullanılmaları kısıtlanmıştır (37).

Organik fosfatlar genelde biyolojik ayrıma özelliğinde olup toprakta fazla birikmezler. Ancak bu bileşikler göreceli olarak klorlu hidrokarbonlara oranla, insanlar üzerinde daha fazla toksik etkiye sahip olduklarından, kullanırken daha dikkatli olunması gerekmektedir (37).

Karbamatlar çevre sağlığı bakımından popüler bileşiklerdir. Zira bu bileşiklerin çoğu toprakta süratle ayrımaya uğurlar ve memelilerde daha az toksiktirler (37).

### **1.1.6.2. Herbisitler**

Herbisitler de fungusitler gibi akut toksisitelerine oranla kronik toksisiteleri olan önemli pestisitlerdir (35, 83).

Bugün hızlı bir gelişme süreci içerisinde bulunan herbisitleri, kesin bir sınıflandırmaya tabi tutmak hemen hemen imkansızdır. Pek çok ara tırmacı

herbisitleri, aktivite, kullanım, kimyasal yapı, etki ekilleri veya bitki kontrol ekli esas alınarak sınıflandırmı lardır. Ancak genel anlamda herbisitleri 2 ana grupta sınıflandırabiliriz.

Seçici olmayan herbisitler (toplam herbisitler): Tüm bitkileri öldürmektedirler. Bu tip herbisitler toprakta uzun müddet kalıcı olduklarından, tarımsal alanlar ba ta olmak üzere, hava alanları ile demir ile karayolları kenarlarında ve endüstri sahalarındaki bitki örtüsünü tamamen yok etmek maksadı ile kullanılmaktadır. Toplam herbisitlere, bazı bor bile ikleri, sodyum arsenit, sodyum klorat, amonyum sülfamat, sülfürik asit gibi inorganik bile ikler örnek olarak verilebilir. Seçici olmayan herbisitler, seçici olmayan kontakt herbisitler ve seçici olmayan sistemik herbisitler olarak sınıflandırılmaktadır.

Selektif herbisitler: Bu herbisitler, tarım alanında geli mesi istenen kültür bitkilerine zarar vermeden, orada bulunan yabancı otları öldürürler veya geli imlerini önemli ölçüde engellerler (84- 87).

### **1.1.6.3. Fungisitler**

Koruyucu fungisitler; bakırlılar, kalaylılar, kükürtlüler, ditiyokarbamat, fitalimidler, nitro bile ikleri ve di erleri (19).

Sistemik fungisitler; anilidler, benzimidazoller, morfolinler, piperazinler, pirimidler, triazoller ve di erleridir (19).

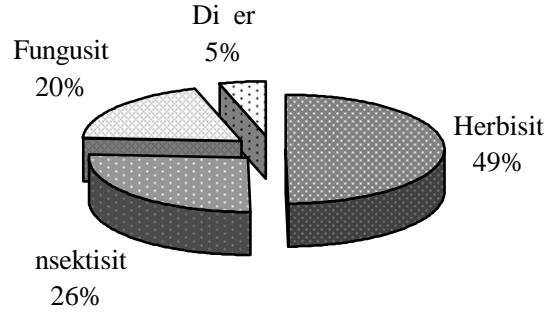
Tarım ürünleri ve bazı depo ürünlerinin mantar hastalıklarına kar ı korunması amacı ile kullanılan fungisitlerin günümüzdeki tüketimi di er herbisit ve insektisitlerden daha azdır. Bu nedenle, çevre kirlenmesinde herbisit ve insektisitlere

oranla daha az etkiye sahiptirler. Özellikle meyve ve sebzelerin çürümeye karşı korunmasında, orman ürünlerinin muhafazasında bazıları ile kullanılan bileşiklerdir. Fungisitler, fenol ve krezol bileşikleri, arsenik tuzları ve bakırlı bileşikler hariç, genellikle çok zehirli değildirler (20).

#### **1.1.7. Günümüzde Pestisit Kullanımı**

Günümüzde pestisit kullanımı, tüm dünyada sıkı denetim ve kontrol altında yapılmaktadır. Ülkemizde de bu konuda önemli adımlar atılmakta, tarım teklifleri alınması gereken önlemler ile ilgili olarak kullanıcıyı bilinçlendirmeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Daha önceden kullanılan fakat çok zehirli olduğu için kullanımı tamamen yasaklanan ilaçların bir kısmı halen ülkemizde ruhsatlı olarak satılmaktadır. 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 değerlendirilmeler sonunda bazı pestisitlerin çeşitli ülkelerde yasaklandığı, kısıtlandığı ya da kontrollü kullanıldığı bilinmektedir (20).

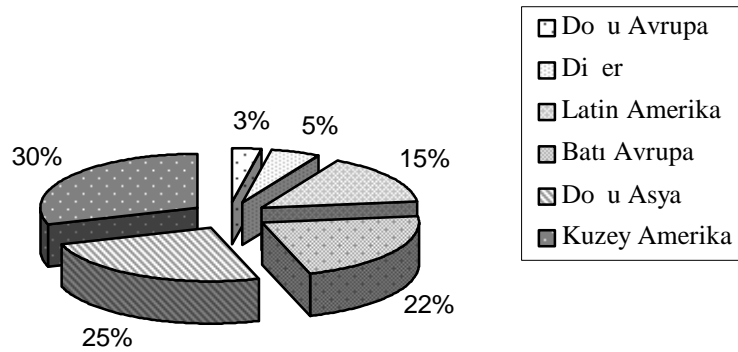
Avrupa ve Amerika'da tarım ilacı üreten tesisler bile çevresel baskılar nedeniyle kapatılmış, burada üretilen ilaçların birçoğu Avrupa ve Amerika'da kullanılmamakta ve gelişmekte olan ülkelere satılmaktadır. Yılda 2,5 milyon tondan fazla olan küresel çapta pestisit kullanım oranları hektar başına 1,5' de görülmektedir (19, 20).



**ekil 1.5.** Dünyada pestisit kullanımının gruplara göre dağılımı (30)

Dünyada de i ik kimyasal formülasyonda, her yıl 1,5- 2,6 milyon ton civarında pestisit üretilmekte ve bu 31 milyar dolar civarında bir ticari hacim olu turmaktadır (88- 90).

Dünyada pestisit kullanım yüzdesi ekil 1.6' da görölmektedir.

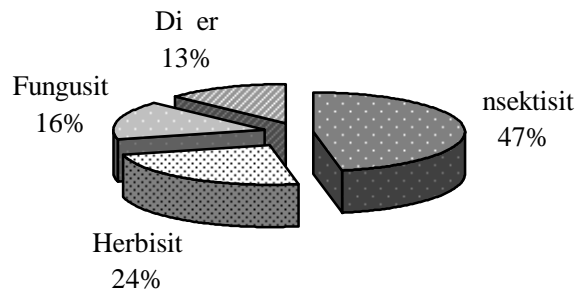


**ekil 1.6.** Dünya pestisit pazar payları (30 milyar €civarında) (30)

Türkiye’ de formülasyon olarak pestisit kullanımı 49.000 ton civarındadır ve pestisit pazarı yıllık 250 milyon doları bulmaktadır (91, 92). Türkiye’de pestisit kullanımı Avrupa ülkelerine oranla daha düşük olup, yıllık tüketim miktarı 1 hektarlık alanda 400- 700 gramdır (30).

Ülkemizde, tarım ilacı kullanımı 20. yüzyılın ortalarında başlamış ve aynı yüzyılın ikinci yarısında hızla artmıştır. Özellikle Çukurova bölgesinde dünyanın en çok pestisit kullanılan tarım bölgelerinden biri haline gelmiştir. Türkiye’ de genel olarak tarım ilacı kullanımı az olmakla birlikte, kalabalık ve turistik potansiyeli yüksek yörelerimiz olan Akdeniz ve Ege bölgelerindeki kullanım Türkiye tüketiminin 2/ 3’ ünden fazlasını oluşturmaktadır. Entansif tarım (modern yöntemlerle yapılan verimi yüksek tarım) yapılan bu yörelerdeki pestisit tüketimi birçok gelişmiş ülke ile aynı düzeydedir (20, 35).

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’ de de en çok kullanılan pestisit grupları, insektisitler, herbisitler ve fungusitlerdir. Tablo 1.7’ de pestisit gruplarına göre pestisit kullanım oranları görülmektedir (30).



**ekil 1.7.** Türkiye’ de pestisit kullanım oranları (30)

Ülkemiz ekonomisinde tarımın yeri çok büyüktür, kimi tarım ürünleri ise endüstri hammaddesi oldu undan ayrı bir öneme sahiptir (24). Pestisitlerin en büyük alıcıları ba ta AB ülkeleri ile ABD ve di er geli mi ya da geli mekte olan ülkelerdir. Tarım ürünü dı satımımızı sürdürebilmemiz için pestisit kullanımının çok kontrollü ve bilinçli programlar içerisinde yapılması gerekmektedir. Pestisitler, en az riskle en çok fayda prensibine göre kullanılmalı, bunun için ruhsatlı ve amaca uygun pestisitler do ru zamanda, do ru dozda ve kullanım ko ullarına uygun olarak bu konuda e itim almı ziraat mühendislerinin denetiminde uygulanmalıdır (35).

Türkiye’ de pestisit ruhsatlandırılmalarına temel te kil eden “Zirai Mücadelede Kullanılan Pestisit ve Benzeri Maddelerin Ruhsatlandırılması” hakkındaki yönetmelik, 17 ubat 1999 tarihli Resmi Gazete’ de yayınlanarak yürürlü e girmi tir (24).

## 1.2. Çalı manın Amacı

Bu alı mada, ülkemiz ekonomisinde önemli bir yere sahip olan *Allium cepa* bitkisi üzerine tarımsal sava ımda kullanılan Antracol WP 70 (fungisit), Challenge SC 600 (herbisit) ve Dursban 4 (insektisit) pestisitlerinin sitotoksik, fizyolojik ve biyokimyasal etkileri kar ıla tırmalı olarak ara tırılmı tır. Pestisitlerin denenen tüm konsantrasyonlarında (600, 1200 ve 1800 ppm) imlendirilen *Allium cepa* rneklerinde, doz artı na ba lı olarak, kök uzunlu u ve a ırlık 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 gözlenmi tir. Yine *Allium cepa* (tüm pestisit konsantrasyonlarında yeti tirilen) kök ucu meristem hücrelerinde mitoz bölünmede anormallikler, mitoz hücre sıklı ında azalmaya ba lı mitotik indeks oranında dmeler, mikronükleus olu umu, iki çekirdekli hücreler, parça olu umu, kromozom kırıkları, anafaz ve telofazda kromozom köprüsü, geciken ve da mık kromozomlar, telofazda yanlı kutupla ma, kutup kayması ve çok kutupluluk, düzensiz kromozomlar, orantısız kromozom da ılımları, yapı ık kromozomlar ve c-mitoz gibi mitoz bölünmede anormalliklerde artmalar gözlenmi tir. Çalı mamızda, pestisitler farklı konsantrasyonlarda uygulanarak doz-toksik etki ili kisi de erlendirilmi , doz artı ıyla orantılı olarak toksik etkilerin arttı ı görülmü tür. Ayrıca kullanılan farklı pestisit gruplarının *Allium cepa* zerindeki toksisiteleri hem biyokimyasal olarak hem de fizyolojik ve sitolojik açıdan tümüyle ele alınmı tır. Bu bakımdan çalı mamız sonucu elde edilen sonuçların literatüre önemli katkılarda bulunaca ı d ünülmektedir.

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

### 2.1. Materyal

Çevresel etkilerin belirlenmesinde kullanılan temel ara tırmalarda bitki materyallerinin kullanılması yerinde ve faydalı oldu undan, çalı mada bitki materyali olarak *Allium cepa* (ıska so anı) kullanılmı tır (93). Çok iyi çimlenmesi, elde edilmesinin kolay ve ucuz olması, kromozom sayısının azlı 1, kromozomlarının büyüklü ü ve bütün bir yıl boyunca köklenerek bolca mitotik hücre elde edilebilmesinden dolayı *Allium cepa*, birçok mutajenite deneylerinde oldu u gibi bu çalı mada da tercih edilmi tir (94- 98).

#### 2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalı mada kullanılan pestisitlere ait özellikler Çizelge 2.1' de verilmi tir.

**Çizelge 2.1.** Çalı mada kullanılan pestisitler



<b>Pestisit Adı</b>	Antracol WP 70	Challenge SC 600	Dursban 4
<b>Ürün kodu</b>	00780456	05922585 (UVP)	070101
<b>Ürün grubu</b>	Fungisit	Herbisit	nsektisit (organofosforlu)
<b>Üretici Firma</b>	Bayer	Bayer	Dow Agro Sciences
<b>Etken madde</b>	% 70 Propineb	% 49,6 Aclonifen	Klorpirifos-Etil

Çalı mada kullanılan di er kimyasallar ise unlardır:

Etanol (% 96), metanol (% 100), aseton (% 99), albümin fraction V, EDTA, glasiyal asetik asit (% 100), hidroklorik asit (% 37), sodyum klorid, hidrojen peroksit (% 35), nitroblue tetrazolium klorit, monosoyumfosfat dihidrat, disodyumfosfat heptahidrat, potasyum hidroksit, potasyum dihidrojen fosfat, orsein, gibberellik asit, indol-3-asetik asit, glutasyon ve BSA (Merck) firmasından, biüret ayırıcı (Fluka) firmasından, absisik asit (Sigma) firmasından, asetik asit (% 100) (Riedel-de-Haën) firmasından, 4-Metoksi fenol (% 99) (Aldrich) firmasından temin edilmi tir.

### 2.1.2. Kullanılan Cihazlar

Hassas Terazı (AND GR- 200), UV/ Vis Spektrofotometre (Camspec M508), Mini Santrifüj (Mini Spin Plus- Eppendorf), UV Spektrofotometre (Optic Ivymen System), Çalkalamalı nkübatör (Heidolph Inkubator 1000- Unimax 1010), Manyetik Çoklu Karı tırıcı (Wise Stir, Feedback Control), Vorteks (VELP Scientifica 2x<sup>3</sup>) Deep freze (Beko No- Frost Buzdolabı), Distile Su Cihazı ( im ek Laborteknik SS200), Foto Mikroskop (ZEISS, AXIO Scope-A1), I ık Mikroskobu (Olympus CH20), pH metre (Hanna, pH 211).

### **2.1.3. Materyalin Temini ve Yeti tirilmesi**

Çalı mamızda bitkisel materyal olarak, a a 1 yukarı e it büyüklükteki, sa lıklı *Allium cepa* (Familia: Liliaceae, 2n=16) tohumları kullanıldı. *Allium cepa* tohumları Ankara Halinden “Ürgüp ıskası” olarak temin edildi. Deney için ilk olarak so anlar tartıldı. Uygulama grubundaki so anların yeti tirilme ortamlarına, çe itli firmaların üretti i pestisitler uygun konsantrasyonlarda hazırlanarak eklendi. Kontrol grubundaki tohumlar çe me suyunda, uygulama grubundaki tohumlar ise çe me suyu kullanılarak hazırlanan 600, 1200 ve 1800 ppm (1 litre çözeltilerdeki çözünen maddenin miligram cinsinden miktarıdır) pestisit çözeltileri içerisinde 1 hafta boyunca oda sıcaklı ında çimlenmeye bırakıldı. 1 hafta sonunda so anlar tekrar tartıldı, kök uzunlukları ölçüldü (en uzun ve en kısa kök uzunlu u dikkate alındı), so anların boylarında herhangi bir de i iklik olmadı ndan bu husus dikkate alınmadı.

## **2.2. Pestisitlerin Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi**

### **2.2.1. Fidelerde Kök Uzunlu u ve A ırlık Kazanımının Tespiti**

So anların kök uzunlukları milimetrik bir cetvel yardımıyla ölçüldü. Tohumların a ırlık kazanımları ise, uygulama öncesi ve sonrasında hassas terazi ile ölçüm yapılarak belirlendi.

## 2.2.2. Pigment Analizi

### 2.2.2.1. Klorofil a ve Klorofil b Tayini

Klorofil pigment ekstraksiyonu, Arnon (1949) tarafından uygulanan yöntemine göre yapıldı. Ekstraksiyon için, so an genç yapraklarından alınan 0,1 g örnek 10 ml % 80' lik asetonunda ezilerek ekstre edildi (99).

Klorofil miktar tayini, Witham vd. (1971) tarafından uygulanan spektrofotometrik yöntemine göre yapıldı. Bu yöntemine 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 i leminden sonra süpernatant alınarak, her grup bitki örneğine ait ekstraktların UV spektrofotometrede 435 ve 663 nm dalga boylarındaki klorofil pigmentinin maksimum absorpsiyon değerleri % 80' lik asetonu karşı ölçüldü. Spektrofotometrede çeşitli dalga boylarında ölçüm yapılarak en yüksek sonucu veren 2 absorbans değeri seçildi (100).

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 yarırlı (0,1 g)

### 2.2.2.2. Karotenoid Tayini

Toplam karoten tayini spektrofotometrik yönteme göre yapıldı. Soğan genç yapraklarından alınan örnekler, 60 °C' da 1 hafta boyunca inkübatörde kurutuldu. Kurutulmuş 5 mg yaprak örneği, 1 gece çalkalamalı inkübatörde 5 ml % 100' lük metanolle 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, 10 dk kaynatıldı ve altıda 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 (101).

$$C_{\text{Karoten}} (\text{mg g}^{-1}) = 4,5 A_{475} \text{ (Zou ve Richmond, 2000) (102)} \quad (2.3)$$

$A_{475}$ : 475 nm' de ölçülen absorbans değeri,

$$C_{\text{Klorofil-a}} (\text{mg g}^{-1}) = 13,9 A_{663} \text{ (Sanchez vd., 2005) (103)} \quad (2.4)$$

$A_{663}$ : 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 saptanabilmesi için Biüret metoduna göre spektrofotometrik olarak ölçüldü (104). Örneklerimizdeki protein miktarları, standart grafikten yararlanılarak hesaplandı.

Total protein miktarının tespiti için kontrol ve uygulama grubuna ait

so anlardan kesilen 0,3 cm. uzunlu undaki kök uçları -17 °C' de bir gece bekletildi. Dondurulan kökler +4 °C' de, 2 ml so uk 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. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi**

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) önemli enzimatik antioksidanlardandır (67).

#### **2.3.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini**

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, Friderich (1969) (65) tarafından ve Worthinton Manual' de (1973) (105) önerilen yöntem modifiye edilerek p-nitrobluetetrazoliumun indirgenme inhibisyonu belirlenerek ölçüldü. SOD ölçümü için, farklı konsantrasyondaki pestisit çözeltileri içinde çimlenen, -20 °C' de saklanan 0,5 g taze yaprak örne i, 2 ml fosfat tampon çözeltisi ile homojenize edildi. Homojenizat 20 dk 14500 rpm' de santrifüj edildi ve süpernatant alındı (106, 107). Elde edilen süpernatant, daha sonra ölçümlerde enzim kayna ı 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 kayna ı ve 0,2 ml EDTA (0,1mM) eklendi. Tüpler 5-6 dakika oda sıcaklı nda sabit ı ıkta bekletildi. 0.dk' daki ve NBT' nin inhibisyonunun gerçekleşti i 12. dk' daki absorbans de erleri 560 nm' de spektrofotometrik olarak ölçüldü (105).

Buna göre 1 ünit enzim aktivitesi, 1 dk' da NBT' nin indirgenmesinin % 50 inhibasyonuna neden olan miktar olarak tanımlandı. SOD ünit aktivitesi, NBT için hazırlanan standart regresyon e risine ait formülden hesaplanarak bulundu (105).

#### **2.3.2.2. Katalaz (CAT) tayini**

Katalaz aktivitesi, Beer ve Sizer (1952) tarafından önerilen metod modifiye edilerek ölçüldü (108). Metoda göre katalaz aktivitesi 1 mol hidrojen peroksidin birim zamanda 310 nm dalga boyunda ölçülen absorbansdaki azalma izlenerek bulundu. Katalaz aktivitesini ölçmek için 0,5 g taze yaprak örne i 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 kayna ı olarak kullanıldı (109).

Katalaz aktivitesi için, içinde 1,9 ml potasyum fosfat tamponu ve 1,5 ml enzim kayna ı bulunan tüpler 1-2 dk oda sıcaklı ında bekletildi. Bu tüplere 0,5 ml 0,06 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit) eklendi ve 0., 1., 2. dakikada spektrofotometrede 310 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı (110).

1 ünit katalaz aktivesi, 25 °C' de 1 µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' i yıkan enzim miktarı olarak tanımlandı. Katalaz miktarı hazırlanan standart e riden yararlanılarak hesaplandı (105).

#### **2.3.2.3. Glutatyon Peroksidaz Tayini**

Glutatyon peroksidaz enzim ekstraksiyonu, Loggini (1999)' ye göre yapıldı (111). Bu yöntemde göre -20 °C' de bekletilen 0,5 g taze yaprak örne i 2,5 ml fosfat tamponu (50 mM, pH: 7.6) ile homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar +4

°C' de 20 dk 12000 rpm' de santrifüj edildi ve süpernatantlar enzim kayna ı olarak kullanıldı.

Glutasyon peroksidaz aktivitesi, Chaoui vd. (1997) tarafından uygulanan yöntemeye göre yapıldı (112). Bu yöntemeye göre, son hacim 3 ml olacak ekilde, 100 µl ekstrakt, 50 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (% 0.003) ve 2,85 ml fosfat tamponu- 2-metoksi fenol (% 99) (1:1) karı mından (pH: 7.2) eklenerek homojenize edildi, 470 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapıldı.

Glutasyon peroksidaz aktivitesi, 1 dk' da 1 µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' i yikan enzim miktarı olarak tanımlandı. Glutasyon peroksidaz enzim miktarı standart e riden yararlanılarak hesaplandı.

## **2.4. Pestisitlerin Sitolojik Parametreler Üzerine Etkisi**

### **2.4.1. Mikronükleus Testi, Mitotik ndeks, Mitoz ve Kromozom Anormallikleri**

Çalı mada MN (mikronükleus) Fenech vd. (2003) tarafından belirlenen ölçütler dikkate alınarak tespit edilmi tir (113). Buna göre;

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

MN testi, kimyasal ajanlar tarafından te vik edilen sitotoksik etkilerin de erlendirilmesi için kullanılan oldukça güvenilir bir tekniktir. Bu çalı mada MN

testi kök ucu uzunlu u ve a ırlık artı ı gibi parametreler ile birlikte bir indikatör gibi kullanılarak, *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde farklı pestisitler tarafından uyarılan sitotoksosite belirlenmeye çalı ılmı tır. Kimyasal toksisitenin en önemli belirtilerinden biri ise, kök büyümesi ve tohum a ırlı ının engellenmesidir. Bu çalı mada, 600, 1200 ve 1800 ppm konsantrasyonlardaki pestisit çözeltilerinin, kök büyümesini büyük ölçüde engelledi i belirlenmi tir.

Hücre bölünmesinin ara tırılması için pestisit uygulanarak çimlenen so anların kök uçları meristematik bölgeden itibaren 1,5- 2 mm kesilerek clarke fiksatorü (3: glasiyal asetik asit/ 1: distile su) ile 10 dk fikse edilmi tir. 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 sıcaklı ında 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 ık mikroskobu ile farklı büyütmelemlerde incelenerek foto rafları çekildi. Bu yöntem ile hem kromozomal sapmalar tespit edildi, hem de mikronükleusa sahip hücrelerin foto rafları çekildi.

Mitotik indeks hücre bölünme frekansını yansıtır ve kök geli im oranını belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılır (114).

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



belirlendi. Mitotik indeks a a ındaki e itlikle hesaplandı.

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

### 3. ARA TIRMA BULGULARI

#### 3.1. Pestisitlerin Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi

##### 3.1.1. Çimlenen *Allium cepa*' da Kök Uzunlu u ve A ırlık Kazanımı Tespiti

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

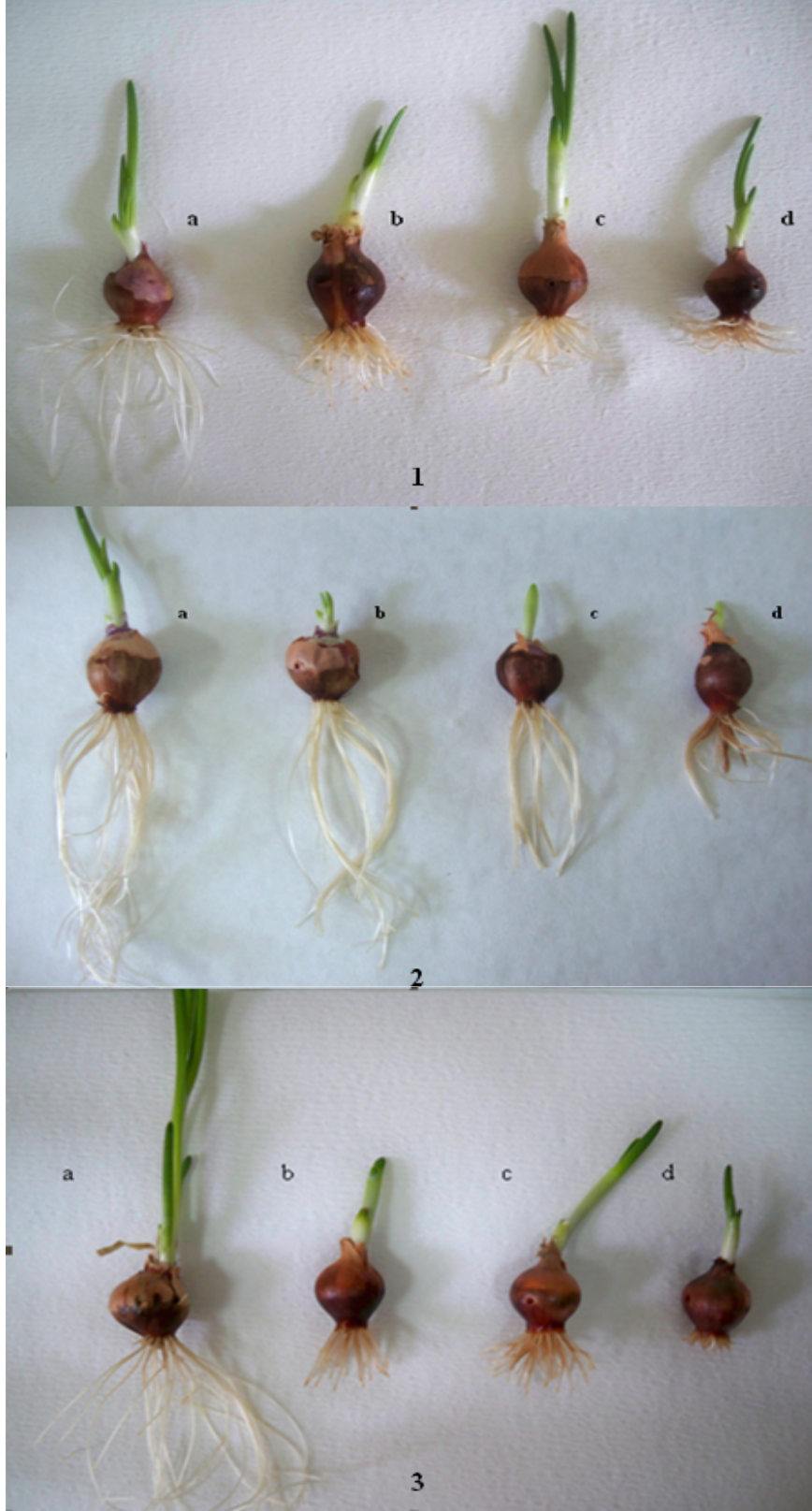
Bölüm 2.2.1' de belirtildi i gibi Antracol, Challenge ve Dursban pestisit çözeltilerinin belirlenen konsantrasyonlarında çimlendirilen *Allium cepa* örneklerine ait kök uzunlu u ve a ırlık kazanımına ait sonuçlar Çizelge 3.1' de ve foto raflar ekil 3.1' de verilmi tir. Antracol, Challenge ve Dursban' ın 600, 1200 ve 1800 ppm konsantrasyonlarındaki çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa* kök uzunluklarının, kontrol *Allium cepa* kök uzunluklarına oranla daha kısa oldu u görülmü tür ( ekil 3.1).

Kontrol grubu *Allium cepa*' da maksimum kök uzunlu u 10 cm, maksimum a ırlık (ya ) kazanımı 11.8 g olarak bulunmu tur. Uygulama grubu örneklerde en fazla kök uzunlu u 7.0 cm olarak 600 ppm Antracol çözeltilisinde, minimum kök uzunlu u ise 0.4 cm olarak 1800 Dursban çözeltilisinde, maksimum a ırlık kazanımı 10.9 g olarak 600 ppm Antracol çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa* örneklerinde elde edilmi tir (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Çimlenen *Allium cepa*' da kök uzunlu u üzerine pestisitlerin etkileri (7 günlük inkübasyon sonunda)

(Kontrol: K, 600 ppm Antracol, Challenge ve Dursban: A1, C1, D1, 1200 ppm Antracol, Challenge ve Dursban: A2, C2, D2, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban: A3, C3, D3)

Uygulanan pestisit	Minimum kök uzunlu u (cm)	Maksimum kök uzunlu u (cm)	Ortalama±SD
K	9.7	10*	9.85± 0.15
A1	6.75	7.0*	6.875± 0.125
A2	2.0	2.2	2.1± 0.1
A3	1.4	1.6	1.5± 0.1
C1	3.3	3.5	3.4± 0.1
C2	2.0	2.3	2.15± 0.15
C3	1.3	1.4	1.35± 0.05
D1	2.0	2.2	2.1± 0.1
D2	1.7	1.8	1.75 ± 0.05
D3	0.4*	0.5	0.45± 0.05

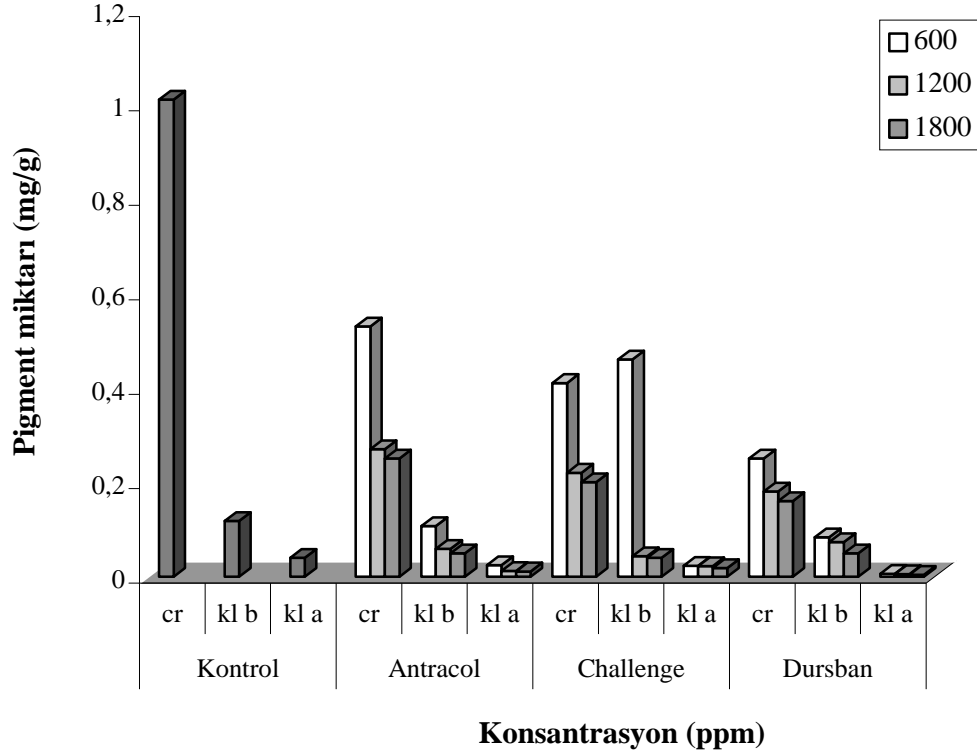


**ekil 3.1.** Kontrol (a), Antracol (1), Challenge (2) ve Dursban (3) çözeltilerinde [600 (b), 1200 (c) ve 1800 (d) ppm] çimlendirilen *Allium cepa* örnekleri

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

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

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 Antracol çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,53 mg/g cr, 0,107 mg/g kl b ve 0,024 mg/g kl a, 1200 ppm Antracol çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,27 mg/g cr, 0,059 mg/g kl b ve 0,012 mg/g kl a, 1800 ppm Antracol çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,25 mg/g cr, 0,049 mg/g kl b ve 0,011 mg/g kl a olarak hesaplanmıştır. 600 ppm Challenge çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,41 mg/g cr, 0,46 mg/g kl b ve 0,023 mg/g kl a, 1200 ppm Challenge çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,22 mg/g cr, 0,043 mg/g kl b ve 0,022 mg/g kl a, 1800 ppm Challenge çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,20 mg/g cr, 0,040 mg/g kl b ve 0,018 mg/g kl a olarak hesaplanmıştır. 600 ppm Dursban çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,25 mg/g cr, 0,083 mg/g kl b ve 0,006 mg/g kl a, 1200 ppm Dursban çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,18 mg/g cr, 0,073 mg/g kl b ve 0,005 mg/g kl a, 1800 ppm Dursban çözeltilisinde çimlenen *Allium cepa*' da 0,16 mg/g cr, 0,049 mg/g kl b ve 0,004 mg/g kl a olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.2). Elde edilen sonuçlardan anlaşılacağı üzere, kontrol soğan örneklerindeki pigment miktarı, farklı pestisit konsantrasyonlarına maruz bırakılan uygulama grubu soğan örneklerindeki pigment miktarlarından fazladır.



**ekil 3.2.** Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve karotenoid miktarları

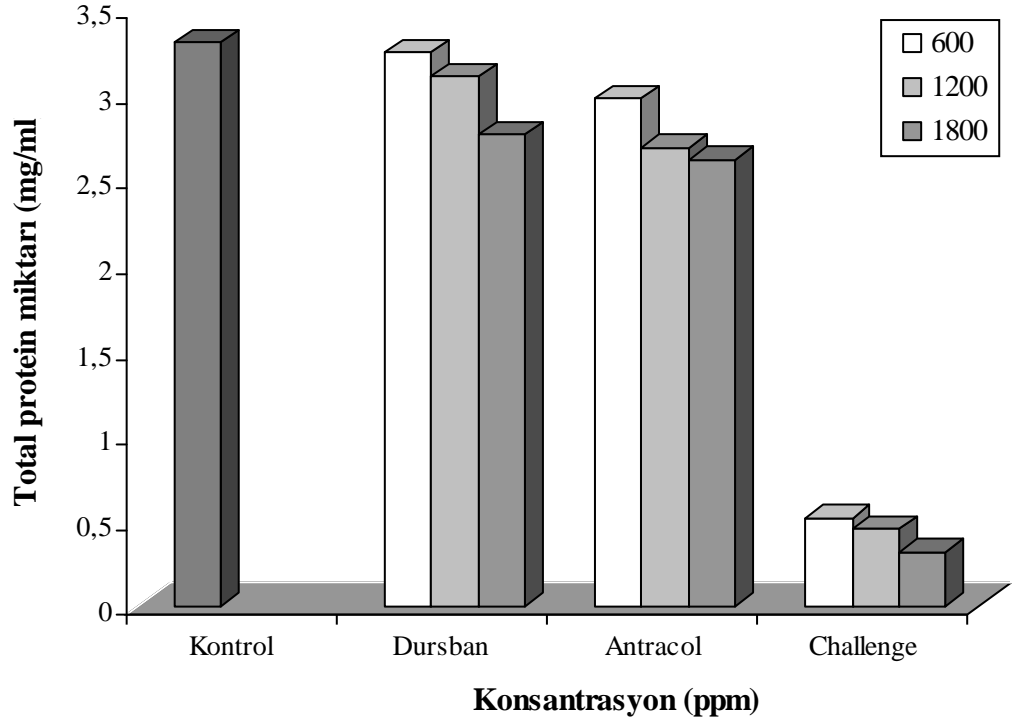
### 3.2. Pestisitlerin Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

#### 3.2.1. Total Protein Tayini

Bölüm 2.3.1' de belirtildi i gibi Antracol, Challenge ve Dursban pestisit çözeltilerinin belirlenen konsantrasyonlarında çimlendirilen *Allium cepa* örneklerine ait total protein miktarlarına ait sonuçlar ekil 3.3' te verilmi tir.

Kontrol grubu *Allium cepa*' da total protein miktarı, 3,3 mg/ ml iken, Antracol çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa* örneklerinde total protein miktarları sırasıyla; 600 ppm' de 2,97 mg/ ml, 1200 ppm' de 2,68 mg/ ml ve 1800 ppm' de 2,60

mg/ ml olarak hesaplanmı tır. Challenge çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa* örneklerinde total protein miktarlarının sırasıyla; 600 ppm' de 0,51 mg/ ml, 1200 ppm' de 0,45 mg/ ml ve 1800 ppm' de 0,31 mg/ ml oldu u görölmektedir. Dursban çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa* örneklerinde total protein miktarları; 600 ppm'de 3,24 mg/ ml, 1200 ppm' de 3,1 mg/ ml, 1800 ppm'de 2,76 mg/ ml olarak hesaplanmı tır ( ekil 3.3).



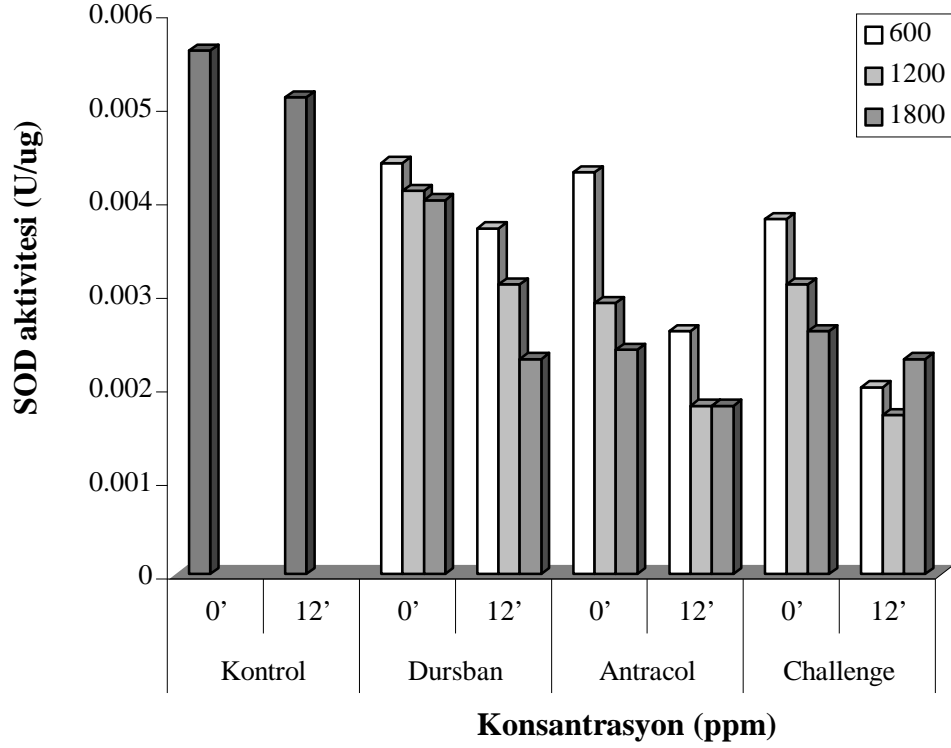
**ekil 3.3.** Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltileriyle muamele edilen *Allium cepa* kök uçlarında ölçülen total protein miktarları

### 3.2.2. Farklı Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Bölüm 2.3.2' de belirtildi i gibi Antracol, Challenge ve Dursban pestisit çözeltilerinin belirlenen konsantrasyonlarında çimlendirilen *Allium cepa* örneklerindeki enzim aktivitelerine (SOD, CAT, GSH-Px) ait sonuçlar ekil 3.4, ekil 3.5 ve ekil 3.6' da verilmi tir.

Kontrol grubu *Allium cepa*' da SOD aktivitesi 0.dk' da 0,0056 U/g, 12.dk' da 0,0051 U/ug iken, Antracolün farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde SOD aktivitesi sırasıyla, 600 ppm' de 0,0043 (0'), 0,0026 (12') U/ug, 1200 ppm' de 0,0029 (0'), 0,0018 (12') U/ug ve 1800 ppm' de 0,0024(0'), 0,0018 (12') U/ug' dir. Challenge çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa* örneklerinde SOD aktivitesi sırasıyla, 600 ppm için 0,0038 (0'), 0,0020 (12') U/ug, 1200 ppm için 0,0031 (0'), 0,0017 (12') U/ug, 1800 ppm için 0,0026 (0'), 0,0023 (12') U/ug' dir. Dursbanın farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde SOD aktivitesi sırasıyla, 600 ppm' de 0,0044 (0'), 0,0037 (12') U/ug, 1200 ppm' de 0,0041 (0'), 0,0031 (12') U/ug ve 1800 ppm Dursbanda 0,0040(0'), 0,0023 (12') U/ug' dir ( ekil 3.4).

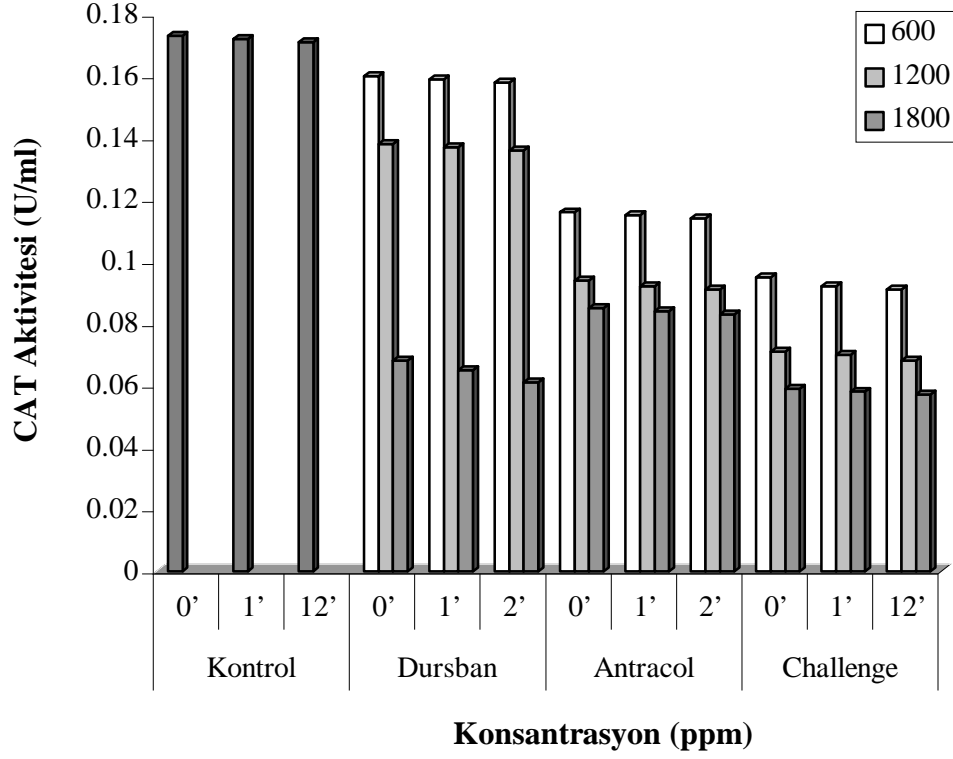




**ekil 3.4.** Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* yapraklarındaki SOD aktivitesi

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, Antracolün farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde CAT aktivitesi sırasıyla, 600 ppm' de 0,116 (0'), 0,115 (1'), 0,114 (2') U/ml, 1200 ppm' de 0,094 (0'), 0,092 (1'), 0,091 (2') U/ml ve 1800 ppm' de 0,085 (0'), 0,084 (1'), 0,083 (2') U/ml, Challenge' ın farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde CAT aktivitesi sırasıyla, 600 ppm için, 0,095 (0'), 0,092 (1'), 0,091 (2') U/ml, 1200 ppm için, 0,071 (0'), 0,070 (1'), 0,068 (2') U/ml, 1800 ppm için, 0,059 (0'), 0,058 (1'), 0,057 (2') U/ml olarak hesaplanmıştır. Dursbanın farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde CAT aktivitesi sırasıyla, 600 ppm için, 0,160 (0'), 0,159 (1'), 0,158 (2')

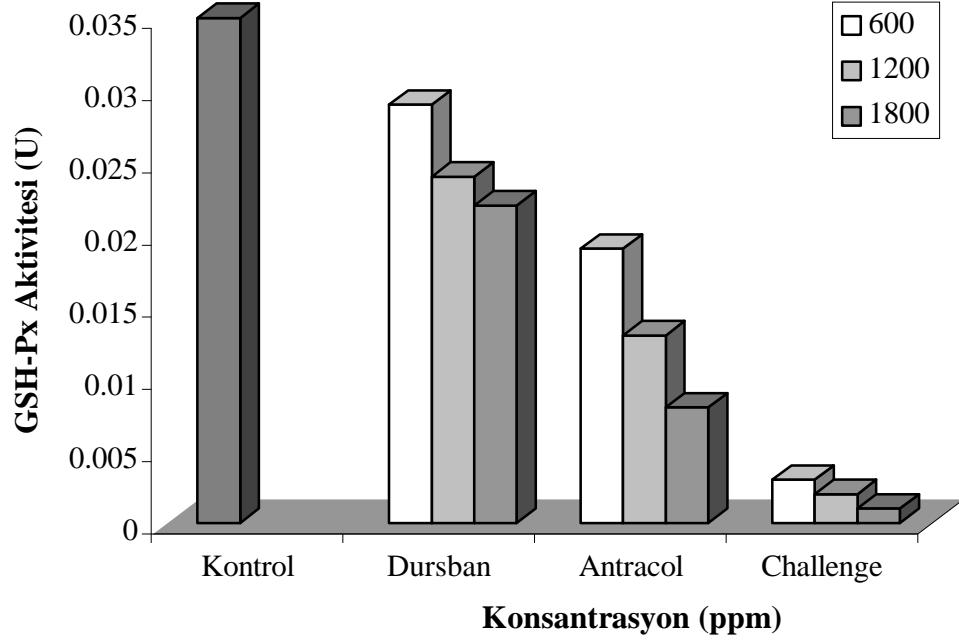
U/ml, 1200 ppm için, 0,138 (0'), 0,137 (1'), 0,136 (2') U/ml ve 1800 ppm için, 0,068 (0'), 0,065 (1'), 0,061 (2') U/ml olarak hesaplanmıştır ( ekil 3.5).



**ekil 3.5.** Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* yapraklarındaki CAT aktivitesi

GSH-Px aktivitesine ait sonuçlar ekil 3.6' da verilmiştir. Kontrol grubu *Allium cepa*' da GSH-Px aktivitesi, 0,035 ünit (U) iken, Antracolün farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde GSH-Px aktivitesi sırasıyla; 600 ppm' de 0,019 U, 1200 ppm' de 0,013 U, 1800 ppm' de 0,008 U olarak, Challenge farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde GSH-Px aktivitesi sırasıyla; 600 ppm için 0,003 U, 1200 ppm için 0,002 U ve 1800 ppm için

0,001 U olarak, Dursbanın farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerinde GSH-Px aktivitesi ise sırasıyla; 600 ppm Dursbanda 0,029 U, 1200 ppm Dursbanda 0,024 U ve 1800 ppm Dursbanda 0,022 U olarak belirtilmiştir ( ekil 3.6).



**ekil 3.6.** Kontrol, 600, 1200, 1800 ppm Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* yapraklarındaki GSH-Px aktivitesi

### 3.3. Pestisitlerin Sitolojik Parametreler Üzerine Etkisi

#### 3.3.1. Mitotik İndeks, Mitoz ve Kromozom Anormallikleri

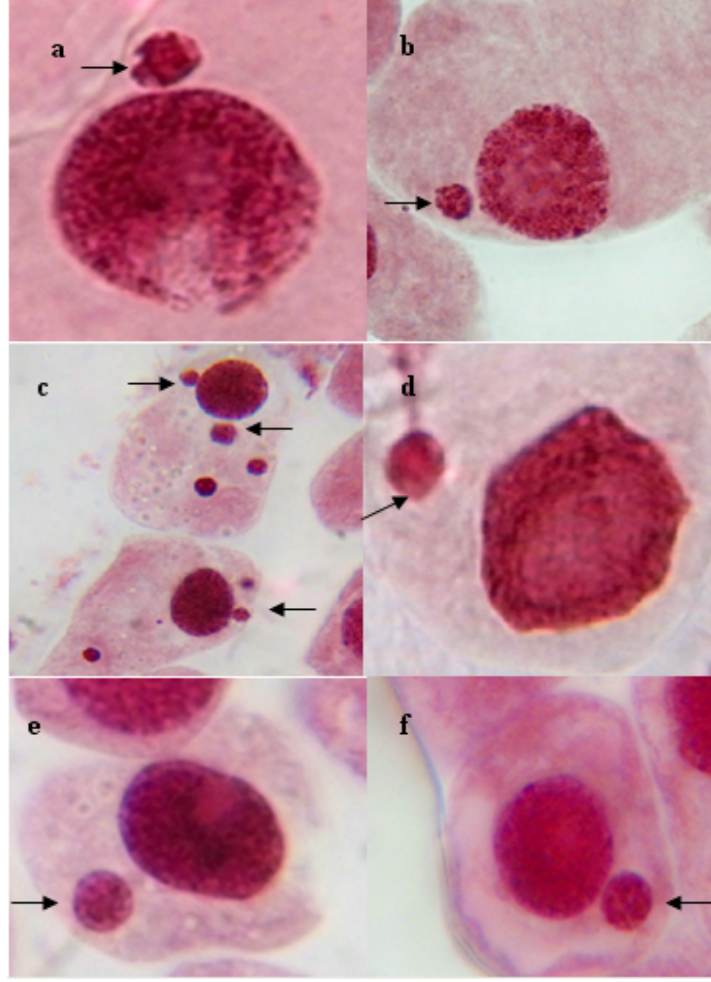
Bölüm 2.3.3' de belirtildiği gibi Antracol, Challenge ve Dursban çözeltilerinin farklı konsantrasyonlarında çimlenen *Allium cepa* örneklerine ait mitotik indeks sonuçları Çizelge 3.2' de, mikronükleus foto rafları ekil 3.7, ekil 3.8 ve ekil 3.9' da, kontrol grubuna ait mitoz bölünme safhaları ekil 3.10' da ve

kromozom anormalliklerine ait foto raflar da ekil 3.11, ekil 3.12, ekil 3.13, ekil 3.14.a, ekil 3.14.b, ekil 3.15, ekil 3.16, ekil 3.17, ekil 3.18 ve ekil 3.19' da verilmi tir.

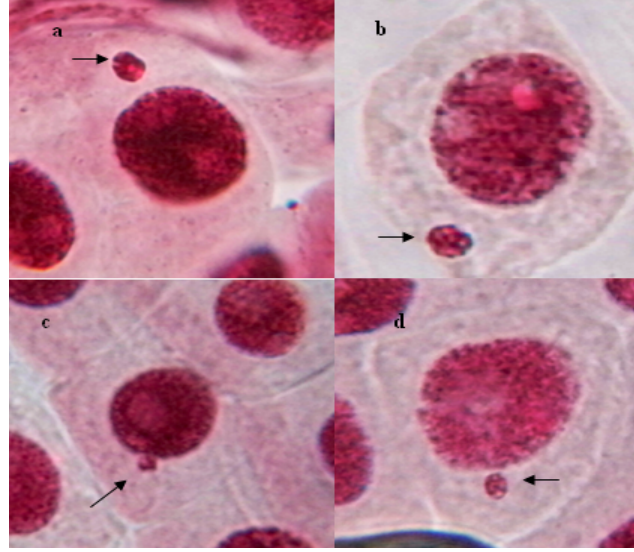
**Çizelge 3.2.** Farklı pestisit çözeltilerinde çimlenen *Allium cepa*' da MI sonuçları

<b>MI</b>	<b>Antracol</b>	<b>Challenge</b>	<b>Dursban</b>
600 ppm	3,2	3,4	3,7*
1200 ppm	3,0	3,2	3,1
1800 ppm	2,8	2,3*	2,9

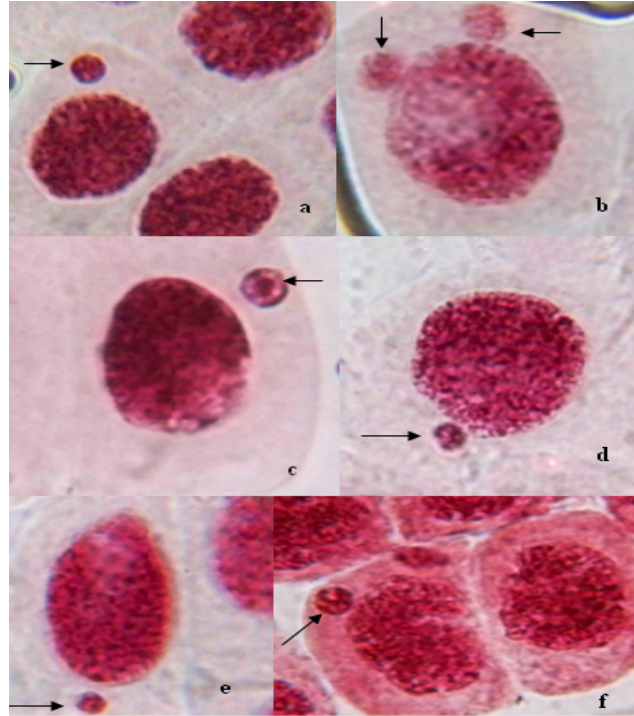
MI (Kontrol) 4.9 olarak hesaplanmı tır.



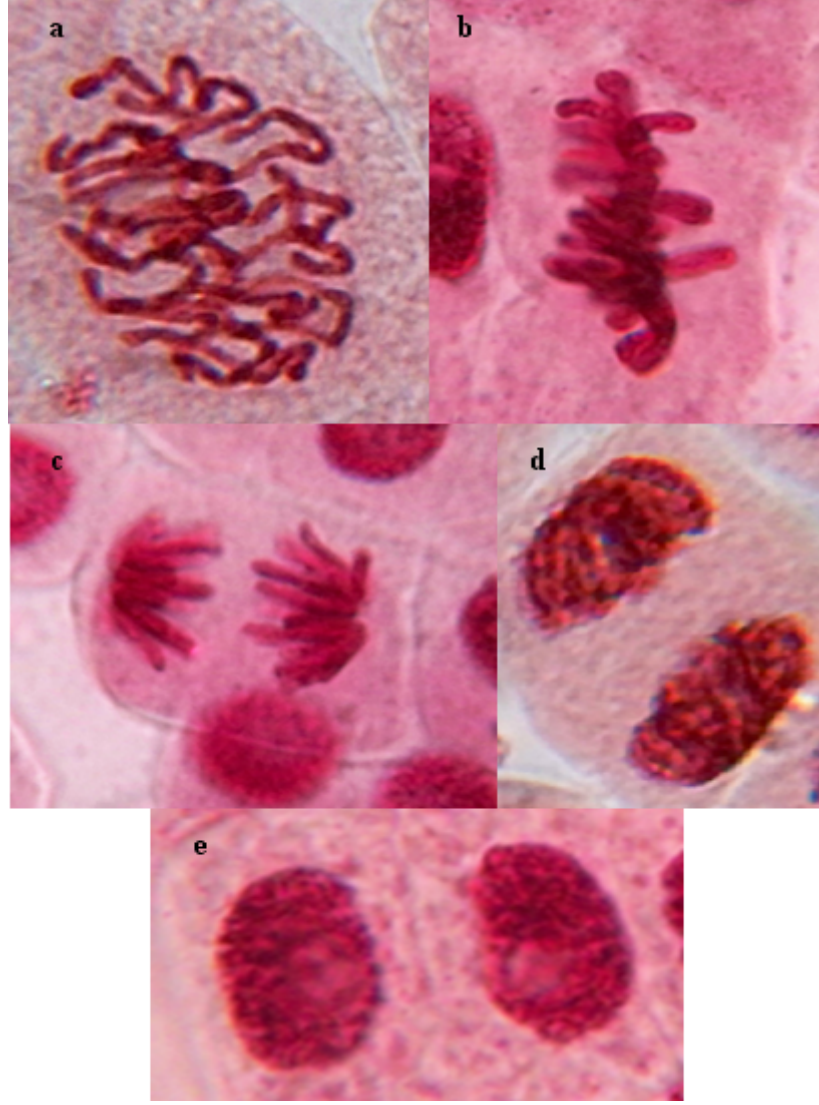
**ekil 3.7.** 600 ppm (a, b), 1200 ppm (c, d) ve 1800 ppm (e, f) Antracol çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde MN olu umları (oklarla gösterilmi tir)



**ekil 3.8.** 600 ppm (a, b), 1200 ppm (c) ve 1800 ppm (d) Challenge çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde MN olu umları (oklarla gösterilmi tir)

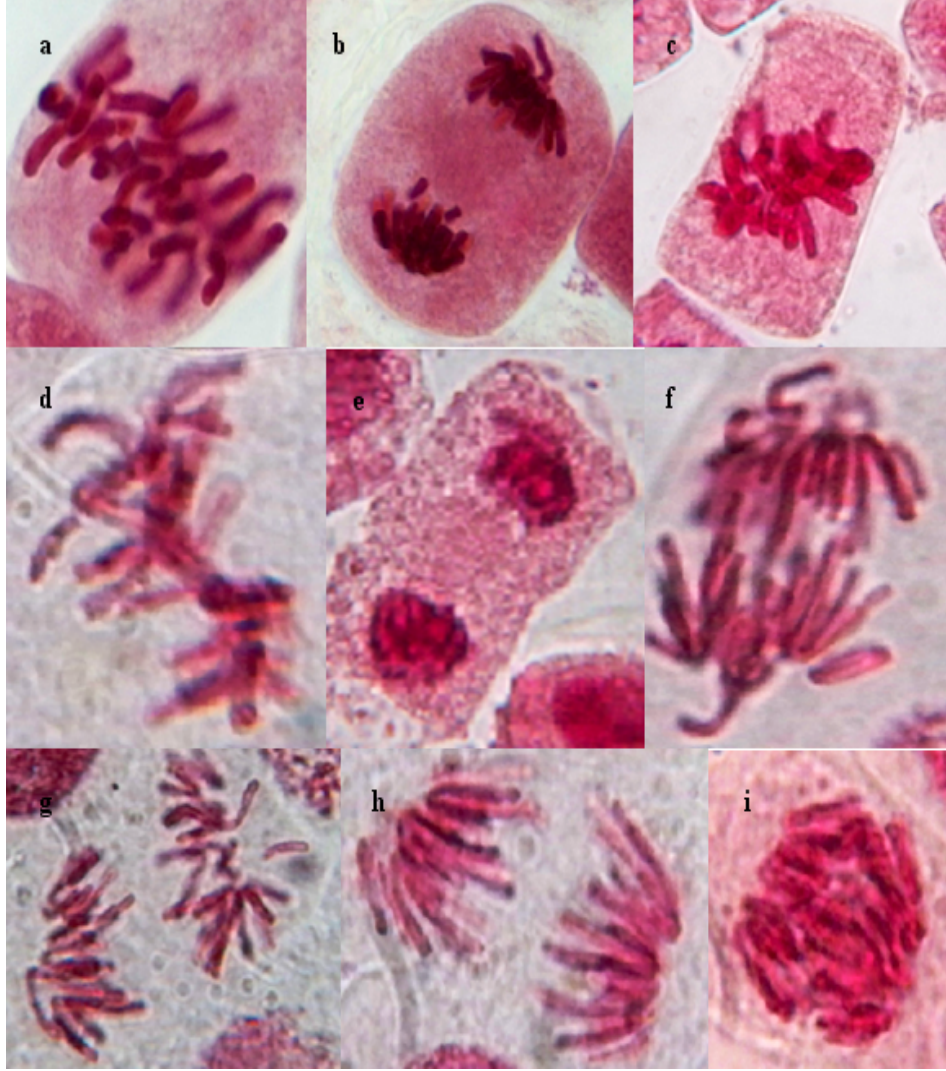


**ekil 3.9.** 600 ppm (a, b, c), 1200 ppm (d, e) ve 1800 ppm (f) Dursban çözeltilerinde çimlendirilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde MN olu umları (oklarla gösterilmi tir)



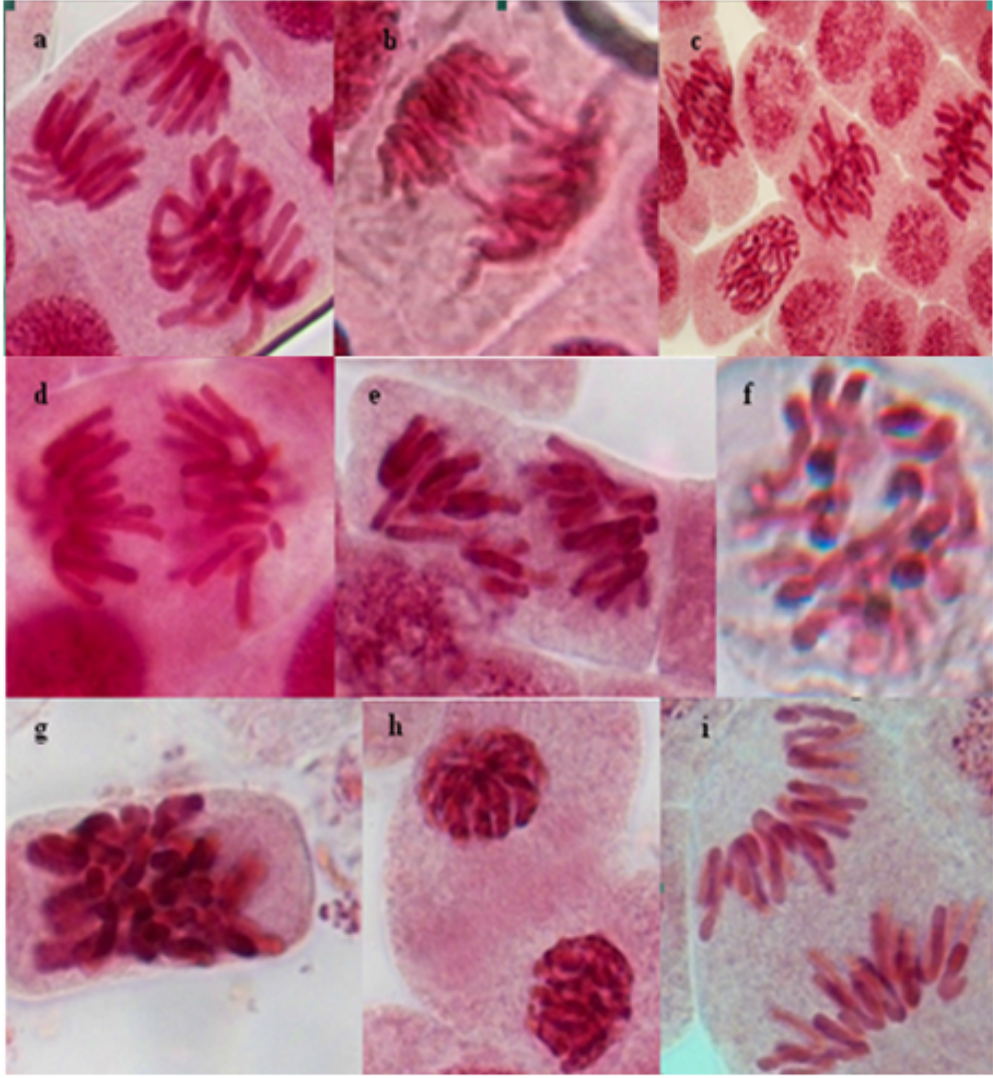
**ekil 3.10.** *Allium cepa* kök hücrelerinde mitotik profaz (a), metafaz (b), anafaz (c) ve telofaz (d ve e) safhaları (Kontrol grubu)



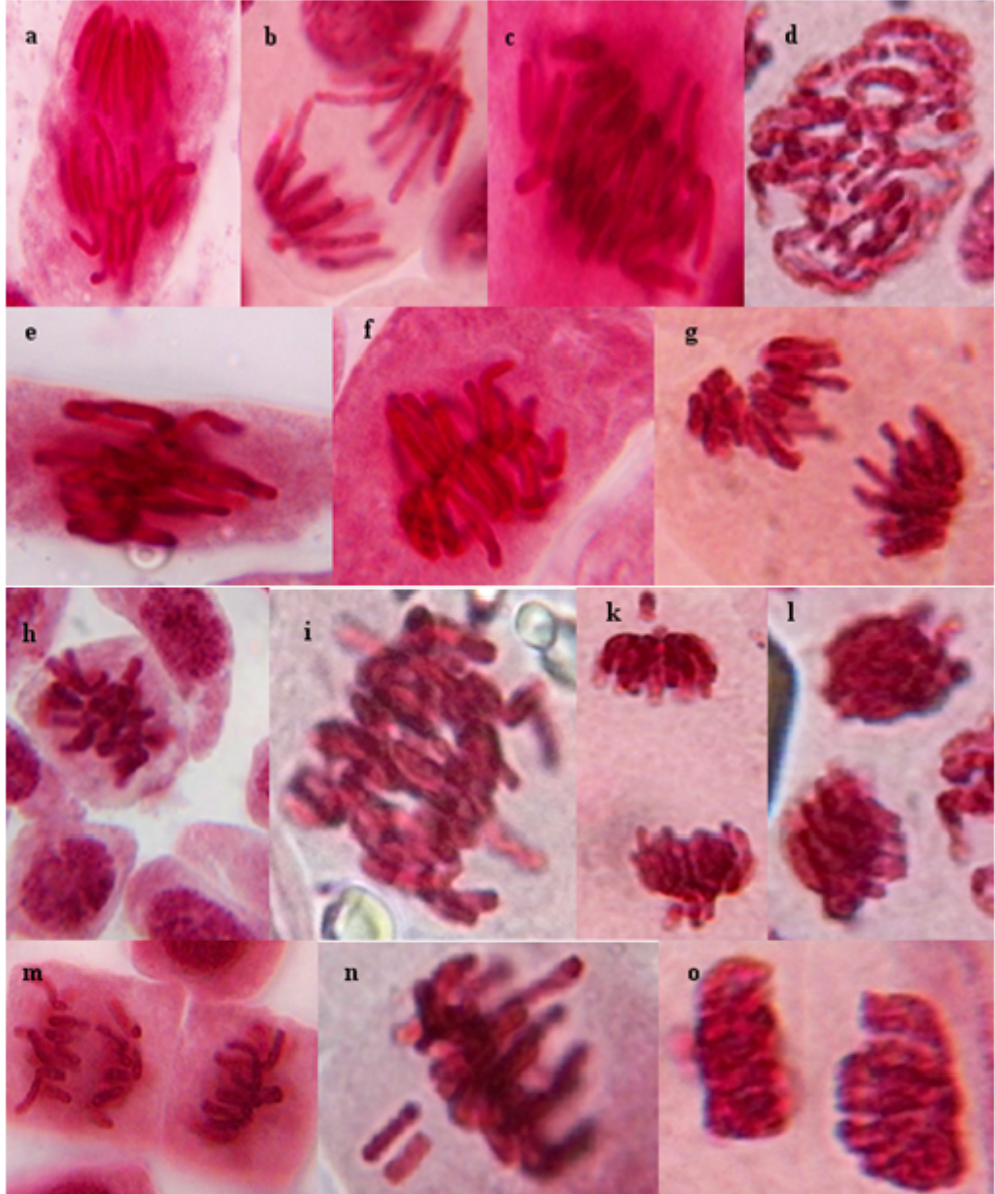


**ekil 3.11.** 600 ppm Antracol' de çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Parçalanma, **b)** Büyük ve küçük parça, **c, i)** Yapı ık kromozomlar, **d)** Düzensiz metafaz, **e)** Telofazda yanlı kutuplaşma, **f)** Anafaz köprüsü ve geciken kromozom (laggard), **g)** Multipolar anafaz ve kalgın kromozom, **h)** E it olmayan kromatin dağılımı

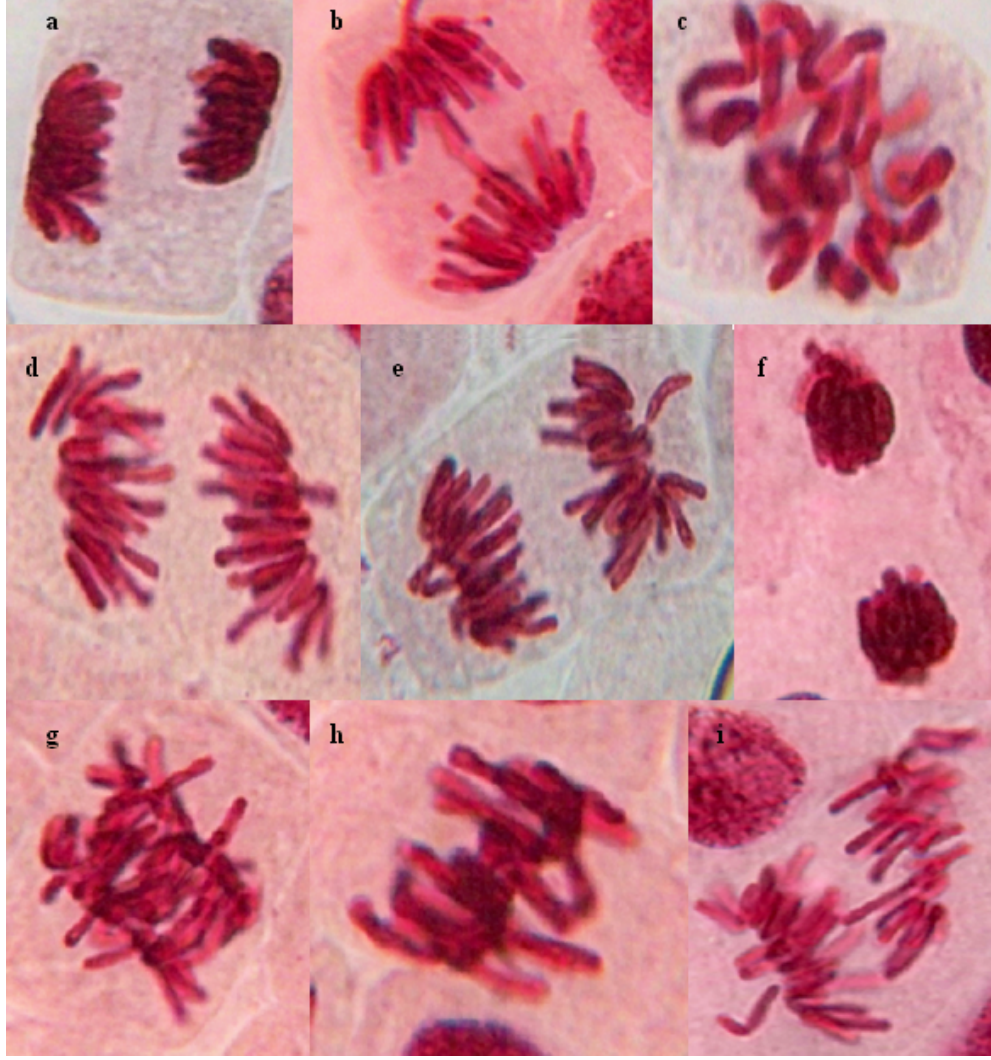




**ekil 3.12.** 1200 ppm Antracol' de çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Kromozom ilme i, **b)** Çift köprü olumu, **c)** leri derecede fragmentasyon, **d)** Anafazda e it olmayan da ılım, **e)** Çok kutuplu anafaz, **f)** i mi (swollen) kromozom, **g)** c-mitoz, **h)** Telofazda yanlı kutuplaşma, **i)** Ekvatorial düzlemde yanlı yönelim ve e it olmayan kromozom da ılımı

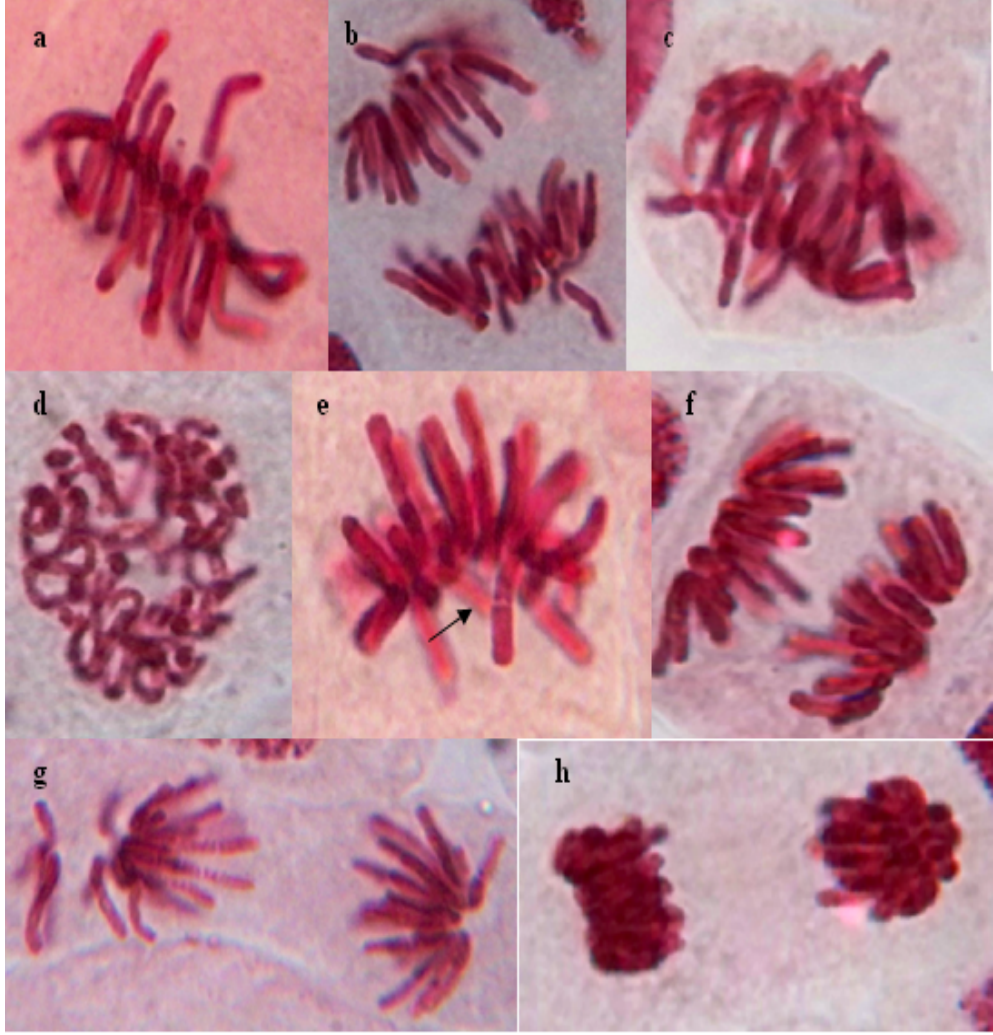


**ekil 3.13.** 1800 ppm Antracol' de çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Anafazda bütünlü ü bozulmu kromozom, **b)** Köprü, **c)** Çaprazlama anafaz, **d)** Parçalanma, **e, i)** Yapı ık (sticky) kromozomlar, **f)** Düzensiz metafaz, **g)** E it olmayan kromatin da ılımı, **h)** c-mitoz, **k)** Geciken kromozom, **l)** Yanlı kutupla ma, **m)** Da ınık kromozomlar ve düzensiz metafaz, **n)** Kalgın kromozom (vagrant), **o)** Kutup kayması

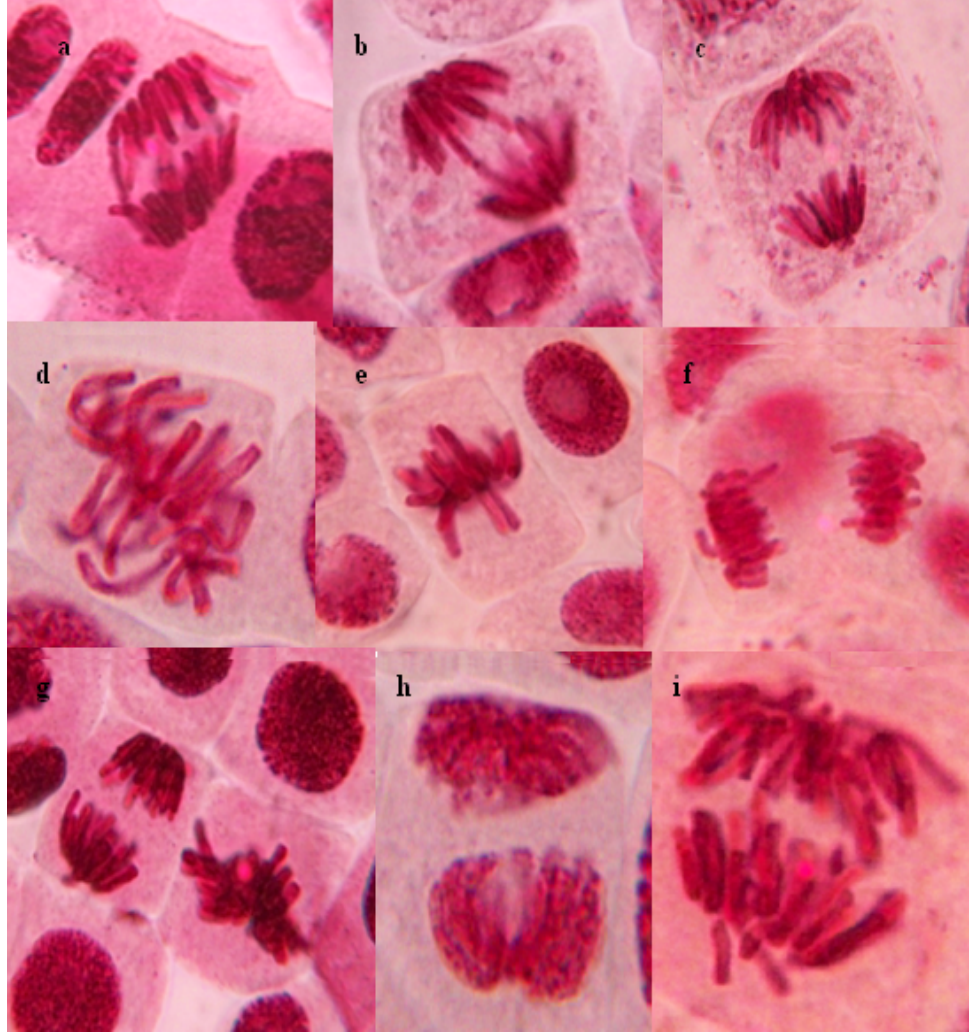


**ekil 3.14.a.** 600 ppm Challenge' da çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Telofazda anormal kromozom dağılımı, **b)** Köprü ve parça oluşumu, **c)** c-mitoz, **d)** Kutup kayması, **e)** Kromozom gecikmesi, **f)** Yanlı kutuplaşma, **g)** Yapıksız kromozomlar, **h)** Dengesiz metafaz, **i)** Çok kutuplu anafaz, geciken kromozom

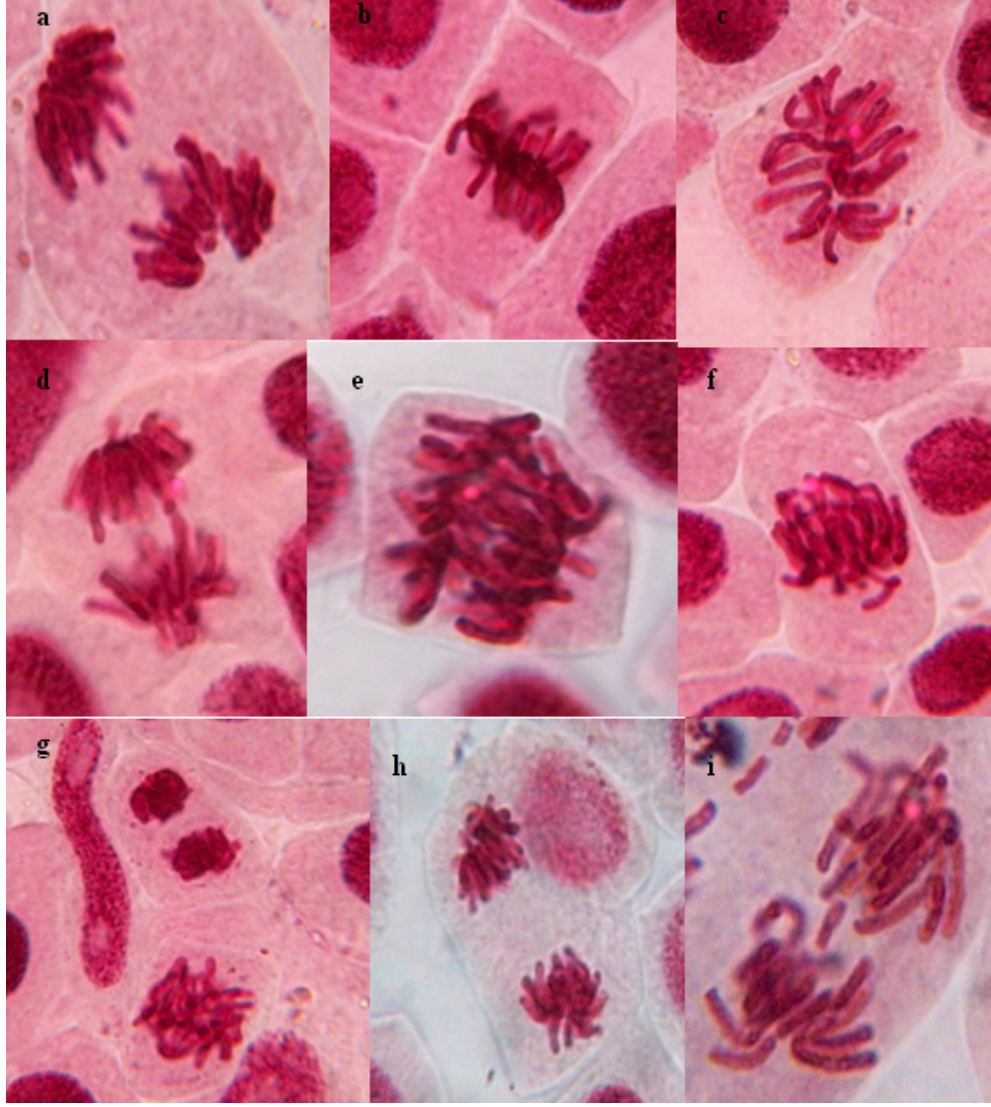




**ekil 3.14.b.** 600 ppm Challenge' da çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Kromozom ilme i ve kırılı, **b)** Geciken kromozom, **c)** Çaprazlama anafaz, **d)** i mi kromozomlar, **e)** Kırık (break), **f)** Anafazda e it olmayan da ılım, **g)** Kalgın kromozom, **h)** Yo unla mı kromatin

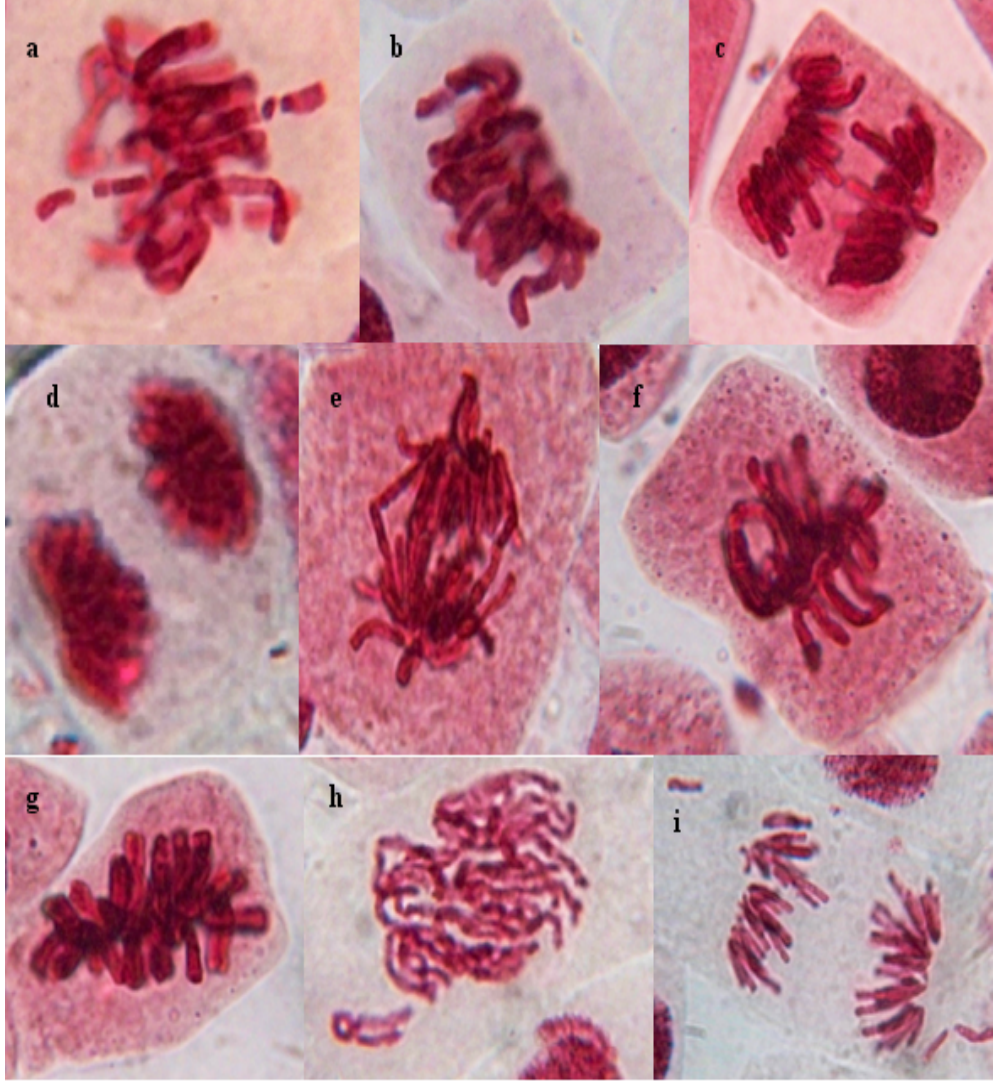


**ekil 3.15.** 1200 ppm Challenge' da çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Kutup kayması ve köprü, **b)** Çift köprü oluşumu, **c)** Orantısız kromatin dağılımı, **d)** Düzensiz kromozomlar, **e)** Düzensiz metafaz, **f)** Kromatin yoğunlaşması, **g)** Yapı kırık kromozom, **h)** Telofazda orantısız kromatin dağılımı, **i)** Kromozom parçası

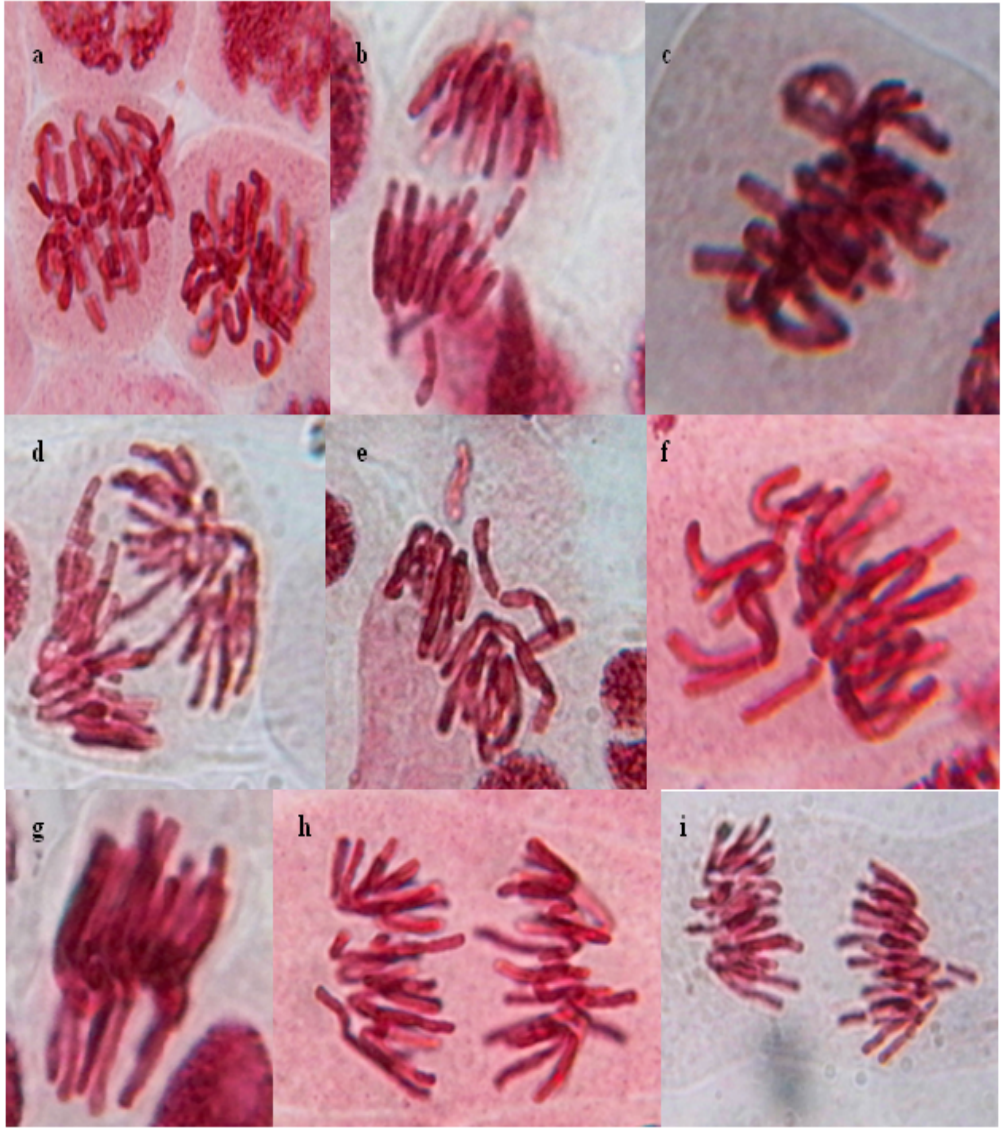


**ekil 3.16.** 1800 ppm Challenge' da çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Anafazda e it olmayan da ılım, **b)** Kromozom kümele mesi, **c)** Düzensiz metafaz, **d)** Anafaz köprüsü, **e)** Bimetafaz, **f)** Geciken kromozom, **g)** Kromatin yo unla ması ve yapı ık kromozomlar, **h)** Telofazda yanlı kutupla ma, **i)** Kromozom parçası, da ınık kromozomlar



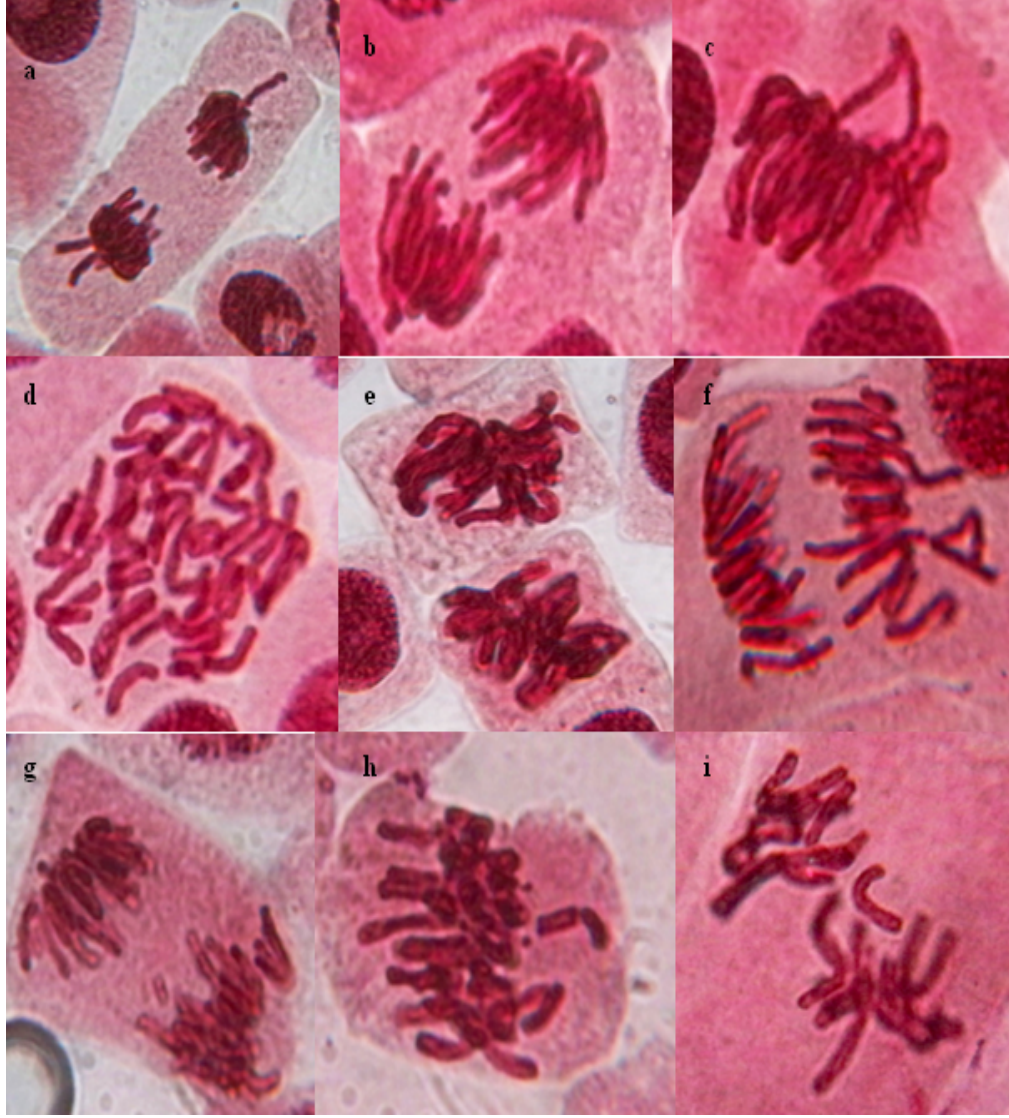


**ekil 3.17.** 600 ppm Dursban' da çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Parça, **b, g)** Yapı ık kromozom, **c)** Anafazda orantsız da ılım, **d)** Kromatin yo unlaşması, **e)** Köprü, **f)** Kromozom ilme i, **h, i)** Kalgın kromozomlar



**ekil 3.18.** 1200 ppm Dursban' da çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Fragmentasyon, **b)** Kromozom gecikmesi, **c)** Kromozom ilme i, **d)** Çift köprü olu umu, **e)** Kromozom kırılı ı, **f)** Kalgın kromozom, **g)** Yapılı kromozom, **h)** Çok kutuplu anafaz, **i)** Kutup kayması ve kromozom parçası





**ekil 3.19.** 1800 ppm Dursban' da çimlenen *Allium cepa* kök hücrelerinde kromozom hasarları: **a)** Geciken kromozom, **b)** Kromozom ilme i, **c)** Düzensiz metafaz, **d)** Kromozom yoğunlaşması, **e)** Yapısal kromozom, **f)** Dâinik kromozom, **g)** Çok kutuplu telofaz, **h)** Parçalanma, **i)** Dâinik kromozomlar

#### 4. SONUÇLAR ve TARTI MA

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 (1- 4). Tarım alanında yoğun olarak kullanılan pestisitler, tarımsal savaşta hedef organizmaları yok ederek ürün artırımını sağlamakla birlikte özellikle canlılar üzerinde gelişmeyi durdurucu, hastalık yapıcı, mutajen, kanserojen ve öldürücü etkilere sahiptirler (6, 7).

Ülkemizde tarımın hızlı artmasına 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 (1- 4).

Bitkiler üzerinde sitotoksik etkileri olan pestisitlerin hücrelerde neden olduğu kromozomal sapmalar, genetik hasarın göstergesi olarak kabul edilebilir (49). Bu nedenle kullanılan bu pestisitlerin neden olduğu çeşitli toksik etkileri direkt olarak gösteren *Allium cepa* bitkisi testi, toksisite ölçümlerinde sıklıkla tercih edilmektedir (8). Bitki kök ucu sistemlerinin incelenmesi, çevresel etkilerin belirlenmesinde hızlı ve hassas bir methodur. Çünkü kök uçları, doğada toprağa ve suya karışan kimyasallara maruz kalan ilk yapılardır. Pestisitler toprak ve suyun kalitesini bozan etmenlerden biridir ve dolayısıyla çalımızda kullanılan *Allium cepa*'nın veriminin artırılması, toprak ve suyun kalitesine bağlıdır (8).

Bütün dünyada oldu u gibi ülkemizde de yaygın olarak tüketilen *Allium cepa*'nın geni alanlarda tarımı yapılmaktadır. Kimyasalların neden oldu u biyolojik etkilerin ara tırılmasında, Levan (1938)' dan beri kullanılan *Allium cepa* kök uçları, uygulanan kimyasalın çe itli toksik ve genotoksik etkilerini direkt olarak göstermektedir. *Allium* kök meristemi, mitoz bölünme geçiren hücrelerin yüksek bir oranını içermektedir, ayrıca kromozom sayısının dü ük ( $2n=16$ ) ve kromozomların çok kalın olması do ru ve tam sayım yapma olana ı sa lamaktadır. Kromozom büyüklü ünün ölçülmesinde de kullanılan *Allium* kök uçlarının, karde kromatid de i imlerinin frekansı üzerine kimyasal maddelerin etkilerinin çalı lması için uygun bir materyal oldu u bulunmu tur (115).

Günümüzde çok çe it ve sayıdaki pestisitlerin büyük bir kısmının sitotoksik, biyokimyasal ve fizyolojik etkileri detaylı olarak incelenmemi tir. Bu nedenle çalı mamızda tarım alanında yaygın bir ekilde kullanılan Antracol WP 70 (fungisit), Dursban 4 (insektisit), Challenge SC 600 (herbisit) pestisitlerinin *Allium cepa* bitkisi üzerine sitotoksik, biyokimyasal ve fizyolojik etkileri ara tırılmı , ayrıca herbisit, insektisit ve fungisit pestisitlerinin zararlı etkileri kontrolleriyle mukayeseli olarak çalı ılmı tır. Her bir gruba ait pestisitlerin sitotoksik etkileri mitoz anormallikleri, mitotik indeks, kromozomal hasarlar ve mikronükleus olu umu uygulanan testler ile belirlenmi tir.

Bir bitki tohumunun fide haline dönü ebilmesi için biyokimyasal ve fizyolojik reaksiyonlar oldukça önemlidir. Bu nedenle bu çalı ma kapsamında pestisitlerin sitotoksik etkilerinin yanında, biyokimyasal ve fizyolojik etkileri kök uzunlu u, a ırlık kazanımı, enzim ve protein miktarları, pigment düzeyleri kar ıla tırılmalı olarak incelenmi tir.

Çalı mamızda Antracol, Challenge ve Dursban pestisitlerinin denenen 600, 1200 ve 1800 ppm konsantrasyonları ile muamele edilen *Allium cepa* örneklerinde kök uzunlu u ve a ırlık kazanımındaki de i imler, total protein, enzim ve pigment miktarındaki azalmalar, mitoz ve kromozomal anormallikler, mikronükleus oluşumu, mitozda hücre bölünme sıklı ında (MI: mitotik indeks oranı) azalma gözlenmiştir.

A ırlık kazanımı ve kök uzunlu u ile ilgili Çizelge 3.1' deki sonuçlardan pestisit uygulamasının *Allium cepa* a ırlık kazanımı ve kök uzunluklarını önemli oranda engelledi i ve fotosentetik pigmentlerin miktarlarında azalmaya sebep oldu u görülmektedir. Uygulanan pestisit dozları ile kök uzunlu u ve a ırlık kazanımları arasında ters bir orantının oldu u tespit edilmiştir. En yüksek kök uzunlu u ve a ırlık kazanımı kontrol grubu *Allium cepa*' da, en dü ük kök uzunlu u ve a ırlık kazanımı ile ilgili sonuçlar 1800 ppm pestisit konsantrasyonunda çimlendirilen *Allium cepa*' da elde edilmiştir.

I ıl vd. (2004) tarafından yapılan çalı mada, pestisitlerin bu dayda tohum çimlenmesi, kök uzaması, mitotik indeks ve kromozom davranı ları üzerine Spermidin, Spermin, Sikloheksilamin' in etkileri incelenerek kök uzamasını engelledi i, kromozomlarda anormallikler yarattı ı saptanmıştır (116).

Saladin vd. (2003) tarafından yapılan çalı mada, Fludioxonil' in yüksek dozlarının *in vitro* ko ullarda *Vitis vinifera* L.' nin fotosentetik pigment maddelerini olumsuz yönde etkileyerek fotosentezi bozdu u belirtilmiştir (117). Özörgücü (1990) vd. tarafından yapılan çalı mada da Antracol WP 70 (Propineb)' in doz artı na paralel olarak tütün yapraklarındaki klorofil içeri inde azalmaya neden oldu u rapor edilmiştir (118). Tort vd. (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 arttı, ancak doz artı na paralel olarak fotosentetik pigmentlerin miktarının azaldı bildirilmiştir (119). Tort vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada, Nemesis DS (%1 Diniconazole) fungusitine maruz bırakılmış arpa bitkisinin (*Hordeum vulgare* L.) Efes 98 ve kaya kültür formlarında, pestisit konsantrasyon artı na paralel olarak, klorofil a ve toplam klorofil miktarlarında azalma tespit edilmiştir (120). Yürekli ve Güven (1989)' in yaptıkları çalışmada, Penoksalin' in mısır ve pamukta klorofil a ve b miktarlarının kontrol bitkilerine oranla azalttı belirtilmiştir (17).

Çalı mamızda, uygulama gurubu *Allium cepa* kök örneklerinde, total protein miktar tayini yapılmı, pestisit konsantrasyon artı na ba lı olarak (600, 1200 ve 1800 ppm), kontrol gurubuna göre pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan örneklerde protein miktarında bir dü ü meydana gelmiştir.

Aktaç vd. (1994), Endosülfan' ın mercimek bitkisine uygulanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada, uygulanan pestisit hücrelerdeki total protein miktarını doz artı na ba lı olarak azalttı bulunmuştur (121). 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 incelenmiştir (122), uygulanan fungusitin domates bitkisinde fizyolojik strese neden olduğu görülmüştür. Pinheiro vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada da yüksek dozlardaki fungusit uygulamalarının total serbest amino asitler ile protein konsantrasyonlarını azalttı bildirilmiştir (123).

Çalı mamızda kullanılan pestisitlerin biyokimyasal etkilerinden birinde 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, Çömelekoğlu vd. (1999) tarafından yapılan çalışmada, pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarımsal ürünlerinde eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz aktiviteleri incelenmiş, tarım işçilerinde eritrosit SOD düzeyi kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunurken CAT aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (124).

Çalışmamızda pestisitlerin *Allium cepa* kök hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri 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 konsantrasyonlarında pestisit çözeltilerine maruz bırakılan *Allium cepa* kök örneklerinde mitozda anormalliklere, kromozomal hasarlara ve mikronükleus oluşumlarına rastlanmıştır, 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, olu turdukları mitotik anormallikler ve kromozom de i imleri incelenmi , mitotik aktivitenin engellenmesi, uygulanan doza ve uygulama süresine ba lı bulunmu tur. Uygulamada kullanılan pestisitlerin, mitotik evrelerin da ılı nda da de i imlere sebep oldu u, metafazların oranının arttı ı, yani hücrenin bölünmeye gidemedi i, buna paralel olarak anafaz ve telofazların oranının azaldı ı tespit edilmi tir (125). Çelik vd. (2003) tarafından yapılan çalı mada, Dinocap fungusitinin so an kök hücreleri üzerine sitogenetik etkileri ara tırılmı , MI oranının tüm uygulama zamanlarında ve artan konsantrasyonlarda dü me gösterdi i, bu fungusitin yapı ık kromozomlara, c-mitoza, köprü olu umuna, multipolariteye, poliploidiye, karde kromatit de i imlerine, parça olu umuna, geciken kromozomlara, mikronükleus ve 2 çekirdekli hücre olu umuna, mitotik faz sıklı nda azalmaya neden oldu u ve Dinocap' ın tüm uygulama zamanlarında toksik etkisi oldu u tespit edilmi tir (126). Yüzba ıo lu vd. (2009) tarafından yapılan çalı mada, *Allium cepa* bitkisi üzerinde lloksan herbisitinin (diklofop-methyl) genotoksik etkileri incelenmi , herbisitinin farklı konsantrasyonlarıyla tüm uygulama zamanlarında *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde kromozomal anormalliklere neden oldu u, doz artı na ba lı olarak, mitotik indeksi (MI) kontrole göre önemli derecede dü ürdü ü, fakat lloksan' ın mitotik safhaların frekansını etkilemedi i bulunmu tur (127). Pandey (2007) tarafından, Endosülfan, Dieldrin ve Aldrin pestisitlerinin *Vicia faba* somatik hücreleri üzerine sitotoksik etkileri üzerine yapılan çalı mada ise, pestisitlerin bakla bitkisi kromozom morfolojisi ve hücre kısımları üzerindeki etkileri ara tırılmı , çalı ma sonucunda pestisitlerin yüksek konsantrasyonlarda mitodepresif (mitozu baskılayan), dü ük konsantrasyonlarda ise mitopromotor (mitozu tetikleyen) oldukları ve c-mitoz, dengesiz metafaz, kromatid bölünmeleri, parçalar, geciken ve yapı kan

kromozomlar, geç bölünmeler ve erken hareketlilik gibi kromozom anormalliklerinin meydana geldi i bulunmu ve mitotik indeksin kontrollere göre daha az arttı ı görülmü tür (128). Aydemir vd. (2008) tarafından, tarımsal bir pestisit olan 4,6-Dinitro-o-cresol (DNOC)'n *Allium cepa* kök ucu hücreleri üzerine genotoksik etkileri incelenmi , tüm uygulama zamanlarında bütün konsantrasyonların mitotik indeks (MI) ve kromozomal anormalliklerine (kırıklar, köprüler vb.) neden oldu u bulunmu , test edilen bütün konsantrasyonlarda ve zamanlarda ( $p < 0.001$ ), DNOC' nin güçlü bir klastogen (kromozomlarda genotoksik etkiye sahip materyal) oldu u tespit edilmi tir (129). Bolle vd. (2004) tarafından yapılan çalı mada, so an kök hücreleri zerine Atrazinin (herbisit) genotoksik etkileri ara tırılmı , so an örneklerinde, yapısal kromozom hasarları atrazinin tüm konsantrasyonlarında elde edilmi tir. Atrazinin artan konsantrasyonlarının, total somatik kromozom aberasyonlarının sayısını arttırdı ı, yapısal kromozom hasarlarının artan baskın lezyon artı ı ile kromozom kırıklarına neden oldu u ve bu kromozom kırıklarının o aldı ı, kök uçlarında morfolojik anormalliklerin görüldü ; mitoz bölünmedeki gerilemenin en yüksek konsantrasyonda artı gösterdi i, konsantrasyon artı ı ile beraber Atrazinin genetik etkilerinin de arttı ı tespit edilmi tir (130). Koca vd. (2008) tarafından, bitki büyüme düzenleyicisi Shaffer A' nın *Vicia faba* kök ucu hücrelerindeki sitogenetik etkileri üzerine yaptıkları çalı mada, Shaffer A' nın mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkisini ara tırmı lar, Shaffer A' nın farklı konsantrasyonlarıyla muamele edilen *Vicia faba* kök örneklerinde, Shaffer A' nın a rı dozda ve uzun süre uygulanmasının kontrol grubuna göre mitotik indeksi önemli derecede azalttı ı; ayrıca anafaz köprüsü, parça, kalgın kromozom, yapı ık kromozomlar ve mikronükleus olu umu gibi kromozomal anormallikler gözlenmi tir (131). Türko lu (1996) tarafından *Vicia faba* bitkisi kullanılarak yapılan çalı mada,



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, yapı kanlık, kalgın kromozom, kırılma ve fragment oluşumu gibi mitozda meydana gelen anomalilere rastlanmıştır (132). Kara vd. (1994) tarafından yapılan çalışmada, insektisit olarak kullanılan ve bir sentetik piretroit olan Cypermethrin'in sitogenetik etkileri, *Allium cepa* kök meristemi üzerinde çalışılmış, Cypermethrin'in mitozu önemli derecede baskıladığı ve konsantrasyon artışıyla birlikte, kromozomal ve mitotik anormalliklerde bir artış olduğu gözlemlenmiştir (133). Kıvrımlı (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, ara tırma bitkilerinde normal mitoz bölünmelerin yanı sıra farklı uygulamalara bağlı olarak çeşitli mitotik anomaliler de gözlenmiştir (134). Metin (2006) tarafından yapılan çalışmada, prokloraz fungusiti ile tralkoksidimin herbisitinin arpa (*Hordeum vulgare*)'da kök uzaması, mitotik indeks, kromozom davranışları üzerine etkileri çalışılmış, pestisit uygulanmış köklerde bazı morfolojik bozuklukların meydana geldiği saptanmıştır, köklerden hazırlanan ezme preparatlarda doz arttıkça mitotik indekste azalma, kromozom köprüleri, metafaz plandaki kromozomlarda yapı bozukluğu gibi mitotik sapmaların de i ik tipleri de gözlenmiştir. Herbisit ve fungusit uygulamasının, arpa kök morfolojisinde, kök uzamasında, mitotik bölünme sıklığında ve kromozom davranışlarında olumsuz etki yarattığı görülmüştür (135). Gill ve Shaukat (2000) tarafından Captan fungusitinin *Allium*

*cepa'* da mutajenik etkisi üzerine yapılan çalı mada, farklı fungusit konsantrasyonlarına maruz bırakılan kök ucu bölünen hücrelerde, bütün fungusit uygulamalarının mitozu hemen durdurucu etki yaptı ı, Captan fungusitinin kromozomlar üzerinde genotoksik bir etkiye sahip oldu u, mitozda bölünmede; profaz ve metafazda kromozom yapı malarının, anafazda köprü olu umlarının, 2 ve 3 çekirdekli hücre olu umları gibi aberasyonların meydana geldi i görülmü tür (136). Tartar vd. (2006) tarafından yapılan çalı mada, Avenoxan herbisitinin *Allium cepa* L. ve *Allium sativum* L. üzerine genotoksik etkileri incelenmi , Avenoxan' ın tüm konsantrasyonlarının, kontrole göre, c-mitoz, kromozom yapı maları, köprüler, geciken kromozom, çok kutuplu hücre olu umları gibi anormalliklere neden oldu u, ayrıca Avenoksa herbisitinin, mitotik indeksi önemli ölçüde azalttı ı ve MI azalmasının doza ve muamele zamanına ba lı oldu u sonucu elde edilmi tir (137). Yıldız ve Arıkan (2008) tarafından quizalofop-P-ethyl herbisiti kullanılarak yapılan çalı mada, genotoksik olarak *Allium cepa'* da anafaz-telofaz kromozom aberasyonları ara tırılmı , her uygulama zamanında herbisit konsantrasyon artı ı ile birlikte MI azalmı , anafaz-telofaz hücrelerinde yapı ık kromozomlar, köprü olu umları, kalgın kromozomlar, c-anafaz, multipolarite ve parça olu um oranları, kromozom aberasyon sayısı artımı , ayrıca doz artı ına paralel olarak interfazda mikronükleusa sahip hücreler elde edilmi tir (138). Ba ka bir ara tırmada, Özörgücü vd. (1994), bir insektisit olan Decis' in *Allium cepa* L. kökü meristematik bölgelerinde olu turabilece i de i ikliklerin bulgularından elde edilen sonuçlara göre bizim ara tırmamızda da rastladı ımız gibi kök ucu hücrelerinde nükleus ekillerinde bozulmalar, kromozomlarda konsantrasyon artı ına paralel olarak kromozomda kopmalar, düzensizlikler, ileri derecede fragmentasyon, kromozom yapı ması, hücrelerde mikronükleus ve iki çekirdekli hücre olu umu gibi anormaliler tespit

edilmi tir (139).

Tüm bu sonuçları destekler nitelikte, Soyöz ve Özçelik tarafından yapılan çalı mada, zirai mücadelede kullanılan pestisitlerin sitogenetik etkileri ara tırılmı , kullanımlarının artmasıyla çevre ve insan sa lı ı üzerine zararlı etkileri de beraberinde getirdi i, özellikle mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sahip oldu u, pestisite maruz kalan insanlarda, yapısal ve sayısal kromozom aberasyonları ile karde kromatid de i iminin yüksek oranlarda tekrarlandı ı bulunmu tur. Ditiyokarbamatlar (ziram, zineb, thiram) ile çalı an ve üreten insanlarda, benzer ekilde organik fosfatlar (trichlorphon, phosmet, diazinon) ve karbamatlarla (pirimicarb) yapılan çalı malarda, bu maddelerin kromozom anomalilerine ve karde kromatid de i imlerine neden oldukları bildirilmi tir (140).

Kromozomal anormallikler, bölünme safhalarına ba lı olarak birbirinden farklılıklar göstermi tir. Bu anormallikler profaz evresinde düzensiz kromatin da ılımı ve granülle me, metafaz evresinde ise kromatin kümele mesi, geciken kromozomlar ve kromatid kırılmaları seklinde gerçekte mi tir. Anafaz evresinde de ço unlukla karde kromatidler arasında düzensiz da ılımlara ve köprü olu umlarına rastlanmı tır (141).

Bütün bu sonuçlar pestisitlerin, *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde çe itli sitotoksik etkilere neden olduklarını, kök uzunlu u ve MN sıklı ı gibi parametrelerin ise bu etkilerin izlenmesi için uygun indikatörler olarak kullanılabilece ini göstermektedir.

Ara tırmamızda, *Allium cepa* kullanarak yaptı ımız denemeler sonucunda üç farklı konsantrasyonda (600, 1200 ve 1800 ppm) uygulanan fungusit, insektisit ve herbisit çözeltilerinin so an bitkisinin kök ucu meristem hücrelerinde, konsantrasyon

artı na ba lı olarak anafazda kutup kayması, kalgın kromozom, fragment olu umu, düzensiz kromozom da ılımları gibi çe itli kromozom anomalileri gözlenmi tir. Çalı mamızdan elde etti imiz sonuçlar, pestisitlerin bitkiler üzerinde yarattı ı etkilerin ara tırıldı ı birçok çalı manın sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Çalı mamızda, mitozda tespit edilen anormalliklerden biri de mikronükleus olu umudur. MN testi, kimyasal ajanlar tarafından te vik edilen sitotoksik etkilerin de erlendirilmesi için kullanılan oldukça güvenilir bir teknik olup, bu çalı mada MN testi bir indikatör gibi kullanılarak *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde farklı pestisitler tarafından uyarılan sitotoksosite belirlenmeye çalı ılmı tır. Kimyasal toksisitenin en önemli belirtilerinden biri ise kök büyümesi ve tohum a ırlı ının engellenmesidir. Bu çalı mada, 600, 1200 ve 1800 ppm pestisit konsantrasyonlarının kök büyümesini büyük ölçüde engelledi i belirlenmi tir.

Kontrol grubu *Allium cepa* örneklerinin kök ucu meristem hücrelerinde, mikroskopik ara tırmalar sonucunda herhangi bir MN (mikronükleus) olu umuna rastlanmamı tır. Ancak farklı pestisit çözeltileriyle muamele edilen ıska so an örneklerinin tümünde de i ik sayıda MN olu umları gözlenmi tir. Uygulama grubu *Allium cepa* örneklerine ait kök hücrelerinde MN sayısı, kontrole göre pestisit konsantrasyon artı na paralel olarak artmı tır. Çalı mamızda kullanılan pestisitlerin denenen tüm konsantrasyonlarının i iplikleri ve kromozomlar üzerinde etkili oldu u, MN olu umunu tetikledi i görülmü tür. Yani pestisitlerin direk nükleik asitler ya da onların yapısında yer alan ba lar veya pürin ve pirimidin gibi bazlar ile etkile ime girerek veya protein yapısındaki i ipliklerinin konformasyonunu de i tirerek (denatürasyon), kromozomların mitozda gecikmelerine neden oldukları ve MN olu umunu tetikledikleri dü ünülebilir. MN olu umu 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 deneyler sonucunda kontrol gruplarına göre uygulama gruplarının kök sayısının süreye bağlı olarak azalma gösterdiği görülmüştür. Ayrıca DDVP' nin *Allium cepa* bitkisinin köklerinde mitotik indeksini azalttığı saptanmıştır, *Allium cepa* köklerinde ise kromozomlarda hasarlar; yapı kanlılık, yanlış kutuplaşma, fragment, anafaz köprüsü ve mikronükleus oluşumlarının meydana geldiği görülmüştür (142). Pestisitlerin toksik etkileriyle ilgili yapılan başka bir çalışmada Konuk vd. (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 parçaları oluşumlarını tespit etmişlerdir (143). Yüzbaşıoğlu vd. (2003) tarafından, bir herbisit olan Flurochloridone' un *Allium cepa* üzerindeki etkileri araştırılmış ve bu herbisit mitotik indeksini kontrole göre azalttığı belirtilmiştir (144). Soheir ve Odette (1983), bir insektisit olan Dursban' ı *Vicia faba* kök ve tohumlarına uyguladıklarında, farklı doz ve sürelerde insektisit konsantrasyonlarının mitotik indeksi etkilemediğini bulunmuştur. Organofosforlu bir insektisit olan Malathion' un *Vicia faba* köklerine (1990) (145) ve Basudin (20 EM)' in arpa tohumlarına uygulanması (1996) sonucu mitotik indeksini arttırdığını belirlenmiştir (146). Leptophos (1979) ve Dipterex (1983) insektisitleri *Vicia faba* bitkisine uygulanmış ve her iki pestisit de mitotik indeksini kontrole göre azalttığı tespit edilmiştir (147, 148). Badr ve brahim (1987) tarafından, Glean herbisiti farklı doz ve

sürelerde *Vicia faba* köklerine uygulanmış ve bu maddenin mitotik indeksi kontrole göre azalttı 1 saptanmıştır (78).

Tüm bu veriler de incelendiğinde, çalınmamızda *Allium cepa* üzerinde üç farklı konsantrasyonda uygulanan fungusit, insektisit ve herbisit çözeltilerinin konsantrasyon artışıyla birlikte, çeşitli mitoz ve kromozom anormalliklerine neden olduğu saptanmıştır. Bu anormallikler genel olarak, anafazda kutup kayması ve çok kutupluluk, kromatin yoğunlaşmaları, kalgın ve geciken kromozom, parçalanması, düzensiz kromozom dağılımları olarak tespit edilmiştir. Bilalolu (1982) (125), Türko lu (1996) (132) tarafından yapılan araştırmalarda bu tür kromozom anormalliklerine rastlandığı rapor edilmiştir.

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

Türkiye’de gıda ürünlerindeki pestisit kalıntıları üzerinde bugüne kadar yaklaşık 90 çalınma yayınlanmıştır görülmektedir. Bu çalınmalardan 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 çalınma yapılmıştır. Kalıntı analiz çalınmalarının 45 yıl önce başladığı düşünüldüğünde bu sayıların oldukça az olduğunu anlaşılmaktadır.

Son yıllarda, dünya kamuoyunda pestisitlerin çevreye etkileri üzerine

yapılan çalı malar oldukça artmı tır. Pestisitlerin tarımsal mücadelede ba arı sa lamaları elbette sevindiricidir; ancak bu kimyasalların bilimsel denetimden yoksun, geli i güzel ve a ırı dozda kullanılmaları sonunda, insan ve hayvanlarda zehirlenmeler, hedef alınmayan yaban hayatı ve yararlı canlı gruplarının öldürülmesiyle do al dengenin bozulması, çevrede ve gıda maddelerinde ilaç kalıntıları, daha önce zararlı olmayan bazı canlıların zararlı duruma geçmesi, zararlıların ba ı klık kazanması gibi birçok olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır (22, 41, 42, 149).

Günümüzde modern tarımda kimyasal mücadeleden tamamen vazgeçmek mümkün de ildir. Ancak, tarımda kullanılan pestisitleri zamanında ve bilinçli olarak uygulamak suretiyle olumsuz etkilerini minimuma indirmek mümkün olabilmektedir (3). Bu anlamda çalı mamızın yeni çalı maların planlanmasına ı k tutaca ı ve literatüre önemli katkılar sa layaca ı d ünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- (1) Badr, A., Cytologia, Effects of the S-Triazine herbicide Turbutryn on mitosis, chromosomes and nucleic acids in root of *Vicia faba*. 51, 571- 577, 1986.
- (2) Kumar, M., Prasad, M., Kumar, H., Maize Genetics Cooperation Newsletter. (69): 25, 1995.
- (3) Ashour, S. A., Abdou, R. F., Effect of weed control treatments on weeds, seed yield, yield components and nodulation in winter lentil *Fabis* Newsllter. 26, 10-14, 1990.
- (4) Kligerman, A.D., Doerr, C.L., Tennant, A.H., Peng, B., Genotoxicity studies of three triazine herbicides: *in vivo* studies using the alkaline single cell gel (SCG) assay. Mutation Research. (471): 107, 2000.
- (5) I. Çukurova'da Sanayile me ve Çevre Sempozyumu Bildiriler Kitabı, ISBN: 978-9944-89-420-3, Ankara, Kasım 2007.
- (6) Ewen, Mc. F.L., Stephenson, G.L., The use and signficiance of pesticides in the environment, John Wiley & Sons Pub. 538, New York, 1979.
- (7) Amdur, M.O., Doull, J., Klassen C.D., Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons, Pergamon Pres. 1033, 565-623, New York, 1991.
- (8) Yüzba 10 lu, D., Iloxan ve Racer Herbisitlerinin *Allium cepa* L. Kök Ucu Hücrelerinde Mitoz Bölünmeye ve Kromozomlara Etkileri. Doktora Tezi. G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2001.
- (9) Bolognesi C, Parrini M, Bonassi S, Ianello G, Salanitto A., Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. Mutation Research. 285,239-249, 1993.



- (10) 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.
- (11) Izushi, F., Ogata, M., Hepatic and muscle injuries in mice treated with heptachlor *Toxicol. Lett.* 54 (1): 47-54, 1990.
- (12) De Ferrari M, Artuso M, Bonassi S, Bonatti S. Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and SCE analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutation Res.* 260, 105-113, 1991.
- (13) Guest, J.A., Copley, M.P., Homernic, K.L., Carcinogenic effects of pesticides. *Pathol., Pharmacol.* 71(3): 387- 390, 1991.
- (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) Sharples, C.R., Hull, M.R., Cobb, A.H., 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.
- (17) Yürekli, A.K., Güven, A., 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.
- (18) Iersel, M. Van, Bugbee, B., effects of benzimidazole fungicides on bedding plants, *J. Am. Soc. Hortic. Science.* 121, 1095-1102, 1996.
- (19) 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.

- (20) Öncüer, C., Tarımsal zararlılarla sava yöntemleri ve ilaçları. 259, 117-125. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova- zmir, 1995.
- (21) Treshow, M., environment and plant response, New York: Mc Graw-Hill Book Company. p. 380-381, 1970.
- (22) Tort, N., Öztürk, ., Tosun, N., metalaxyl uygulamasının domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.)' in anatomik yapısı üzerine etkisi. Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Dergisi. 41 (2): 111-122, 2004.
- (23) Haktanır, K., Arcak, S., Çevre Kirlili i Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. (457): 1503, 1998.
- (24) Ataman, R, Petek., Tarımsal laç Kullanımının Gıda Güvenli i Açısından Önemi ve Gıda Sanayine Etkileri. I. Çukurova' da Sanayile me ve Çevre Sempozyumu. ISBN: 978-9944-89-420-3, Kasım 2007.
- (25) Harte, J., Holdren, C., Schneider, C. and Shirley, C., Toxics A to Z, A guide to everyday pollution hazards, University of California Pres, 1991.
- (26) Vural, N., Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73, 1996.
- (27) Munzuro lu, Ö., Sigara dumanının fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fide geli imi üzerinde bazı biyokimyasal ve morfolojik etkilerinin ara tırılması, F.Ü. Fen ve Müh. Bilimleri Dergisi. 11 (1): 67-75, 1999.
- (28) 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.
- (29) Baker G.H., The ecology, management and benefits of earthworms in agricultural soils, with particular reference to southern Australia. In Earthworm Ecology, 1998.

- (30) evken, S., Halk Sa lı ı Amaçlı Kullanılan Pestisitlerin (Biyosidal) Güvenilirlik Standartlarının Kar ıla tırılması. Y.Y.U. Veteriner Fakültesi Dergisi. 20 (1): 11-18, ISSN: 1017-8422; e-ISSN: 1308-3651, 2009.
- (31) Tarım İlaçları (Pestisit) Kullanımı ve Sorunları. [http://www.frmtr.com/muhendislik-mimarlik-peyzaj-mimarligi/777523\\_tarim-ilaclari-pestisid-kullanimi-ve-sorunlari.html](http://www.frmtr.com/muhendislik-mimarlik-peyzaj-mimarligi/777523_tarim-ilaclari-pestisid-kullanimi-ve-sorunlari.html) - 88k (Eri şim tarihi: 24 Ocak 2009)
- (32) Anonymous, 1996. Türkiye’ de tarım ilaçları tüketim miktarları. <http://images.google.com.tr/imgres?imgurl> (Eri şim tarihi: 26.07.2008)
- (33) Denizeri, D.N., Yuvacık Barajını Besleyen Derelerdeki Pestisitler, GC-MS Analizleri İleri Arıtım Prosesleri. Yüksek Lisans Tezi. Osmangazi Üniversitesi, Eski şehir, 2001.
- (34) Yücel, Ü., Pestisitlerin insan ve çevre üzerine etkileri. Ankara Nükleer Ara tırma ve E itim Merkezi. <http://www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc>. (Eri şim tarihi: 04.07.2008).
- (35) Delen, N., Durmu o lu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A., Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalı ı Sorunları. TMMOB, Ziraat Mühendisleri Odası, Türkiye Ziraat Mühendisli i VI. Teknik Kongresi. Cilt-2, s: 629-648, Ocak, 2005.
- (36) Cord, JM. Mc., Friderich, I., I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). Journal of Biological Chemistry. 244, 6049-6055, 1969.
- (37) Anonim, [http://www.agri.ankara.edu.tr/soil\\_sciences/1250\\_Karaca-Arcak-Cevre-Bolum-7.pdf](http://www.agri.ankara.edu.tr/soil_sciences/1250_Karaca-Arcak-Cevre-Bolum-7.pdf)-50k.(Eri şim tarihi: 01.06.2005)
- (38) Curley, F.D., Toxicity and persistence of low-level PCB in adult wistar rats, fetuses, and young, Arch. Environm. Contam. Toxicology, 1977.

- (39) Pope, C.N., Charracborti, T.K., Dose-related inhibition of brain and plasma cholinesterase in neonatal and adult rats following sublethal organophosphate exposures. *Toxicology*, 73, 35-42, 1992.
- (40) Ö üt, S., Seçilmi , H., Tarım laçlarının (Pestisitler) Olası Çevre Etkileri. Süleyman Demirel University, Faculty of Engineering Architecture Department of Food Engineering, Turkey, 2003.
- (41) Witham, F. H., Blaydes, D.F., Deulin, R.M., *Experiments in Plant Physiology*, Van Nostrand Reinhold Company. 245 p, Newyork, 1971.
- (42) Lowry, O.H., Rosgrough, N.J., Farr, A.L., Rosgrough, R.J., Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275, 1951.
- (43) Berkes, F. ve Kı lalıo lu, M., *Ekoloji ve Çevre Bilimleri*, stanbul, s: 171, 1990.
- (44) Akı, C., ve Karabay N., *Genetik Laboratuvar Uygulama Kitabı*, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Rektörlük Basımevi, Yayın No: 38, 2004.
- (45) Stern, K.R., Bidlack, J.E., ve Jansky., S. H., *Biology of Plants and the Study of Botany (BOT 1103), Lecture Notes; Set No:1, Introductory Plant Biology*, Mc Graw-Hill. 616 p.reading assignments are in the syllabus. <http://www.clt.asetate.edu/mhuss/mitosis1.jpg>., 2008.
- (46) Grover, I. S. ve Tyagi, P.S., Chromosomal aberrations induced by pesticides in meiotic cells of barley, *Caryologia*. 33, 251-259, 1980.
- (47) Njagi, C. D. E. ve Gopalan, H. N. B., Mutagenicity testing of herbicides, fungicides and insecticides 1. Chromosomal aberrations in *Vicia faba*, *Cytologia*. 46, 169-172, 1981.

- (48) El-Khodary, Habib, S.A., ve Haliem, A., Cytological effect of the herbicide garlon-4 on root mitosis of *Allium cepa*, *Cytologia*. 54, 465-472, 1989.
- (49) Reddi T.V.V.S. ve Reddi, V.R., Cytological effects of chemical mutagens in rice. *Cytologia*. 50, 499-405, 1985.
- (50) Nasta, A., Gunther, E., Mitoseanomalion Bei *Allium cepa* and *Hordeum vulgare* Nach Einwirkung Eines Carbamat Herbizids. *Biol. Zbl.* 92, 27-36, 1973.
- (51) 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.
- (52) Fenech, M. ve 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.
- (53) Surralles, 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.
- (54) Topakta , M., ve Speit, G., Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. *Ç. Ü. Sa lık Bil. Der.*, 5 (1, 2, 3), 73-84. ve Rencüzo ulları, E. 1995. Sitogenetik. Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü. s: 68, 1990.

- (55) Kirsch-Volders, M., Elhajouji, A., Cundari, E. ve 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.
- (56) A. Plazek, Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. *Acta Physiologica Plantarum*. 25 (3): 37, 2003.
- (57) Cook, N.C., Saman, S., Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *Nutr. Biochem.* 7, 66-76, 1996.
- (58) Sohal, R.S., Toy, P.L., Allen, R.G., Relationship between life expectancy endogenous antioxidants and products of oxygen free radical reactions in housefly *Musca domestica*. *Mechanism of ageing and development*. 36, 71-76, 1986.
- (59) Veris, Vitamin Research and information service., Veris Lagrange, 1989.
- (60) Sohal, R.S., Farmer, K.J., Allen, R.G., Cohen, N.R., Effect of Age oxygen consumption 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.
- (61) Halliwell, B., Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*. 344, 721-724, 1994.
- (62) Heinle, H., Betz, E., Effects of dietary garlic supplementation in rat model of atherosclerosis. *Arznei-For.* 44(1): 614-617, 1994.
- (63) Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Cross, C.E., Free radicals antioxidant, and human disease: Where are we now? *J La Clin Med.* 119(6): 598-620, 1992.

- (64) Yamamoto, K., Zhang, P., Banno, Y., Fuji, 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.
- (65) Cord, Mc. JM., ve Friderich, I., Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem*, vol. 244, 6049-6055, 1969.
- (66) Desideri A, Falconi M, Prokaryotic Cu, Zn superoxidies dismutases. *Biochem Soc Trans*, 31, 1322–1325, 2003.
- (67) Mates JM, Perez-Gomez C, De Castro IN, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clin Biochem.* 32, 595–603, 1999.
- (68) Agar NS, Sadrzadeh SM, Hallaway PE, Eaton JW: Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense? *J Clin Invest.* 77(1): 319-21, 1986.
- (69) Huang, A.H.C., Trelease, R.N., Moore, T.S., *Plant Peroxisomes*, Academic Press, New York, 1983.
- (70) Meister, A., *The Chemistry of Glutathione*, *Journal of Biological Chemistry.* 263, 33, 1988.
- (71) Öztürk, S., *Tarım laçları*, Hasat Yayıncılık, İstanbul, 552s., 1990.
- (72) Fidan, A., *Bazı Pestisidlerin Turunçgillerin Fizyolojik ve Anatomik Özellikleri Üzerine Etkisi*. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Adana, 2007.
- (73) Goodwin, T.W. (ed.), *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. London and New York: Academic Press., 1965.
- (74) Gross, J., *Pigments in Fruits*. London: Academic Press., 1987.
- (75) Gross, J., *Pigments in Vegetables. Chlorophylls and Carotenoids*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991.

- (76) 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.
- (77) Mortensen A, Skibsted LH, Truscott TG, The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch Biochem Biophys*. 385, 13-19, 2001.
- (78) El-Agamey A, Lowe GM, Mc Garvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG, Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, *Arch Biochem Biophys*. 430, 37–48, 2004.
- (79) Ziegler, R.G., Colavito, E.A., Hartge, P., Mc Adams, 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.
- (80) Tankut, Y., Pestisitlerin mikrobiyal parçalanması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü. Bitirme Ödevi. Isparta, 1997.
- (81) Marrs, T.C., Dewhurst, I. Toxicology of pesticides. General and Applied Toxicology (Ed.B. Ballantyne, T. Marrs, T. Syversen) 3. Cilt, 2.Baskı, s.1993-2012, Macmillian Reference Ltd., New York, 2000.
- (82) Klaassen, C.D., 'Casarett and Doull's Toxicology', McGraw-Hill, New York, 2001.
- (83) Anonymous, Regulation pesticides in food. The Delaney Paradox National Academy Pres., Washington DC, 272 p., 1987.
- (84) Karpuzcu M., Çevre Kirlenmesi ve Kontrolü Gebze İleri Teknoloji Enstitüsü Çevre Mühendisliği Bölümü Mayıs, 1996.
- (85) Altınmeşe Ü., Çengel M., Uysal H., Okur B., Kurucu Y., Delibacak S., Toprak Bilimi Ege Üni. Ziraat Fak. Toprak Böl. İzmir, 2004.



- (86) Akman Y., Keteno lu O., Kurt L., Evren H., Düzenli S., Çevre Kirlili i Ankara, 2000.
- (87) Tunçbilek A., Ayvaz A., Saatçi E., Pestisitlerin Çevreye Etkisi ve Yayılma Yolları Kayseri, 1998.
- (88) Willoughby, OH., Farm chemicals handbook '99. Meister RT ed. USA. Meister Publishing Company, 1999.
- (89) Kenzie, Mc. W., Agrochemical service: the world market in 2000. In: Annual review of the Crop Protection Association. Peterborough: Crop Protection Association, 2001.
- (90) 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](http://www.panna.org/legacy/panups/panup_19990723.dv.htm).(Eri m tarihi: 04.08.2008).
- (91) Nükleer ve Kromatografik Tekniklerle Pestisit Kalıntılarının Analiz Edilmesi. Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Ankara Nükleer Tarım ve Hayvancılık Ara tırma Merkezi, Nükleer Tarım Bölümü. Ankara, 2005. [http://kutuphane.taek.gov.tr/internet\\_tarama/dosyalar/cd/4115/pdf/135.pdf](http://kutuphane.taek.gov.tr/internet_tarama/dosyalar/cd/4115/pdf/135.pdf). (Eri m tarihi: 04.08.2008).
- (92) Tarım ve Köyi leri Bakanı Mehmet Mehdi Eker'in TBMM Genel Kurulu'nda Rusya ile Ya anan Ya Meyve Sebze Sorunu ile ilgili Yaptı ı Konu ma Tarım ve Köyi leri Bakanlı ı, Ankara, 2008. <http://www.tarim.gov.tr/arayuz/10/haberayrintisi.asp?ay=6&yil=2008&ID=1505>. [Eri m tarihi: 04.08.2008].
- (93) De Serres, F.J., Introduction: Utilization of higher plant systems as monitors of environmental mutagens, Environ. Health Perspect. 27, 3-6, 1978.

- (94) Badr, A. ve A.G. brahim. Effect of herbicide Glean on mitosis, chromosomes and nucleic acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* root meristems. *Cytologia*. 52, 293-302, 1987.
- (95) Badr, A., Cytogenetic activities of some fungicides. *Cytologia (Tokyo)*. 53, 635-640, 1988.
- (96) 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.
- (97) 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.
- (98) Topakta , M., Rencüzo ulları, E. Sitogenetik. Ç.Ü. Fen Fakültesi, 182 s. Adana, 1996.
- (99) Arnon, D. I., Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24, 1-10, 1949.
- (100) Witham, F. H. ,D. R. Blaydes and R. M. Devlin. *Experiments in Plant Physiology*. Van Nostrand Reinhold, New York. 1-11, 1971.
- (101) Durmaz, Y., Gökpınar, ., Duyar, H.A., Ö retmen, Y.Ö., Bandarra, N., *Ulva* spp. (Sinop, Karadeniz) Türünün Ya Asitleri, -Tokoferol ve Toplam Pigment Miktarının Ara tırılması. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Bornova- zmir, Türkiye. Instituto de Investigacao das Pescas e do Mar, IPIMAR, Av. Brasília 1449-006 Lisboa, Portugal 2(3): 350-356, DOI: 10.3153/jfscm.mug.200723 *Journal of FisheriesSciences*, 2008.
- (102) Zou, N., Richmond, A., Light-path length and population density in photoacclimation of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae), *Journal of Applied Phycology*. 12, 349–354, 2000.

- (103) 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.
- (104) Peters. T. ve 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.
- (105) Worthington Enzyme Manual, Superoxide Dismutase, p. 192-193, 1973.
- (106) Kelley, R. L. ve Reddy, C. A., Purification and characterization of glucose oxidase from lignolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*: *J. of Bacteriol.*, vol. 166, 269-274, 1986b.
- (107) Ericson, E. K., Petterson, B., Volc, J., Formation and partial characterization of glucose-2-oxidase, a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producing enzyme in *Phanerochaete chrysosporium*: *Appl. and Environ. Microb.*, vol. 23, 257-262, 1986.
- (108) Beer, R.F. ve Sizer, I. W., A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase, *Journal of Biol. Chem.*, vol. 195, 133-140, 1952.
- (109) Kelley, R.L. ve 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, 248-253, 1986a.
- (110) Aebi, H., Catalase *in vitro*: *Methods in Enzymology*, vol. 105, 121-126, 1984.
- (111) Loggini F (1999) in Youbi M., Effets de deux fongicides Artea et Punch nouvellement introduits en Algérie sur la physiologie et le métabolisme respiratoire du ble dur (*Triticum durum Desf*). These de Magister de l'Université Badji Mokhtar de Annaba., 2005.

- (112) 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.
- (113) 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.
- (114) Jiang, W., Liu, D., Effects of  $Pb^{2+}$  on root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays* L., *Bull. Environ. Contam. Toxicology*. 65, 786-793, 2000.
- (115) Levan, A., The effects of colchicine on root mitosis in *Allium*, *Hereditas*. 24, 471-486, 1938.
- (116) I il, ., 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.
- (117) Saladin, G., Magne, C., Clement, C., *Pest Manag. Sci.*. 59, 125-137, 2003.
- (118) Özörgücü, B.N., Tort, H. Demiray, Effects of Antrocole on Tobacco, X. *National Biyology Congress*. 2, 43-53 (Turkish), 1990.
- (119) Tort, N., Dereboylu, A.E. *Anadolu, J. of AARI*, 13 (1): 142-157, 2003.
- (120) Tort N., Türkyılmaz, B., Dereboylu, A.E., Tosun, N., Ege Üniversitesi, Ziraat Fak. Dergisi. 41(1): 169-179, 2004.
- (121) Aktaç, T., Ekinci, F., Sıdal, V., Sıdal, F. E.. Endosülfanın mercimek kök ucu hücreleri üzerindeki etkileri, *Türk Biyoloji Derg.* 18, 27-37, 1994.

- (122) Öztürk, ., 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.
- (123) Pinheiro, C., Chaves, M.M., Ricardo, C.P., J.Exp. Bot. 52, 1063-1070, 2001.
- (124) Çömeleko lu, Ü., Mazmancı, B., Pestisidlerin kronik etkisine maruz kalan tarım i çilerinde eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz aktiviteleri, Mersin Üniversitesi, Fen Ed. Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mersin-Türkiye, Abdullah Arpacı., Turk J Biol, TÜB TAK. 24, 483–488, 2000.
- (125) Bilalo lu, R., Bazı Pestisitlerin *Allium cepa* L. Kök Ucu Meristem Hücrelerinde Olu turdukları Sitolojik Sapmalar Üzerine Bir Ara tırma. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, zmir, 1982.
- (126) Çelik, M. Dinocap fungusitinin *Allium cepa* L. kök ucu hücreleri ve insan periferel lenfositlerinde sitogenetik etkileri. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. Ph.D. Thesis., 2003.
- (127) Yüzba 10 lu, D., Ünal, F., Sancak, C., Genotoxic effects of herbicide Illoxan (Diclofop-Methyl) on *Allium cepa* L., Turk J Biol, TÜB TAK doi:10.3906/biy-0807-23 (33): 2009.
- (128) 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, 373–377., ISSN 0095-4527, 2008.
- (129) Aydemir, N., Çelikler, S., Sumak, ., 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.

- (130) 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.
- (131) 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.
- (132) Türko lu, S., Paraquat'ın *Vicia faba* L.' da Mitoz Bölünme, Kromozomlar ve DNA Miktarı Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi, Ege Üniversitesi, zmir, 1996.
- (133) Kara, G., Kirli Suların Bazı Sebze Bitkileri Üzerindeki Etkilerinin Ara tırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, zmir, 1998.
- (134) Kırımlı, R., Bazı Fungisit ve nsektisitlerin *Vicia faba* L. ve *Capsicum annum* L. Türlerinin Kök Ucu Mitozu Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale, A ustos 2007.
- (135) Metin, N.S., Bazı Pestisitlerin Tahıllarda Sitotoksik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, stanbul, 2006.
- (136) Gill, S.A., Shaukat, S.S., Genotoxic effects of Captan fungicide on root meristems of *Allium cepa* L. *in vivo* Rufus., 2000.
- (137) 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 (3): 241-247, 2006.

- (138) Yıldız, M., and Arıkan, 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.
- (139) Özörgücü, B., Türkan, O uz, G., Gönüz, A., Acar, O., 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 i leri \_ l Müdürlü ü, 1995.
- (140) Soyöz, M., Özçelik, N., Zirai mücadelede kullanılan pestisitlerin sitogenetik etkileri, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Isparta, 1999.
- (141) Agar, G. ve Uysal, H., The effects of mercury chloride on root tips cells of *Allium cepa*, *Tr.J.of Biology*. 21, 39-47, TÜB TAK, 1997.
- (142) Soykan, H.S., 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.
- (143) Konuk, M., Liman, R., ve Ci erci, . 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.
- (144) Yüzba ıo lu, 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.

- (145) Zakia, M. A., Fawzia, A. E., Abo-El-Kheir, A., ve 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 nsecticides., *Cytologia*, (55): 349-355, 1990.
- (146) Çelik, T. A., Sümer, ., Basudin (20 EM)' in arpa mitotik kromozomları üzerine etkileri. *Türk Biyoloji Dergisi*. 20 (1): 21-28, 1996.
- (147) Soheir, M. A. and Odette, R.F. Cytological Effects of Pesticides IX. Effects of the Phosphonathionate nsecticide Leptophos on *Vicia faba*. *Cytologia*. 44, 907-913, 1979.
- (148) Soheir, M. A., Enaam, M. A. Cytological Effects of Pesticides V. Effects of some herbicides on *Vicia faba*. *Cytologia*. 39, 633-643, 1983.
- (149) Yurekli, A. K., Turkan I., Porgali Z.B., Topcuoglu F, Indoleacetic acid, giberellic acid, zeatin and abscisic acid levels in NaCl-treated tomato species differing i,n salt tolerance. *Israel Journal of Plant Science*. 49 (4): 269-277, 2001.