

T.C.
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Urginea maritima L. EKSTRAKTININ KROMOZOMLAR ÜZERİNDEKİ
ETKİSİNİN ALLIUM TEST METODU İLE ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERT METİN

HAZİRAN 2006
MUĞLA

ÖNSÖZ

Yüksek lisansım süresince ders ve tez danışmanlığımı yürüten, bilgisi ve tecrübesi ile her konuda bana destek olan hocam sayın Prof. Dr. Betül BÜRÜN'e, değerli görüş, öneri ve katkılarından dolayı sayın Prof. Dr. Güven GÖRK'e ve Doç. Dr. Hasan Sungur CİVELEK'e, olanaklarının tümünü kullanmama izin veren Muğla Üniversitesi Biyoloji Bölümüne, çalışmalarım esnasında hem maddi hem manevi desteklerini hiç esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

Mert METİN.

MUĞLA 2006

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLolar/ ÇİZELGELER LİSTESİ	VIII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
3. MATERYAL ve METOT	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Bitkilerin Toplanması ve Kurutulması	24
3.2. Metot	25
3.2.1. Ekstraktın Elde Edilmesi	25
3.2.2. Allium Test Metodu	25
3.2.3. Boyama ve Preparat Hazırlama	26
3.3. Veri Analizleri	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	28
4.1. Köklenme Durumu	28
4.2. Mitoz ve Mitotik İndeks	35
4.2.1. Mitotik İndeks	39
4.3. Kromozom Hasarları	43
4.3.1. Metafazda Yapışma	47
4.3.2. Metafazda Fragment Oluşumu	50
4.3.3. Düzensiz Metafaz	51

4.3.4. Anafazda Yanlış Kutuplaşma	52
4.3.5. Anafazda Köprü Oluşumu	55
4.3.6. Düzensiz Anafaz Oluşumu	56
4.4. Çekirdek Deformasyonları	58
4.5. Nukleus Vakuolizasyonları ve Diğer Anormallikler	63
4.6. Nukleolus (ekirdekik) sayısı	67
5. TARTIşMA ve SONUÇ	72
KAYNAKLAR	83
ZGEMIş	93

***Urginea maritima* L. EKSTRAKTININ KROMOZOMLAR ÜZERİNDEKİ
ETKİSİNİN ALLIUM TEST METODU İLE ARASTIRILMASI.**

(Yüksek Lisans Tezi)

**MERT METİN
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

2006

ÖZET

Liliaceae familyasına ait olan *Urginea maritima* L. ekstraktının genotoksik ve sitotoksik etkileri bitkisel bir test sistemi olan Allium test metodu ile araştırılmıştır. 100 ml'ye çeşme suyu ile tamamlanan 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 ve 16 ml *U. maritima* ekstraktlarını içeren çözeltilerde ve saf *U. maritima* ekstraktında, aktif maddesi oxamyl olan kimyasal bir pestisit (Vydate)'in 20 ml/l'lik çözeltisinde ve çeşme suyunda (kontrol) soğanlar köklendirilmiştir. Elde edilen kök ucu hücreleri, feulgen ile boyandıktan sonra ezme preparat tekniğine uygun olarak hazırlanmış ve mikroskop altında meristematik hücrelerde meydana gelen kromozom hasarları (kopmalar, kırılmalar, yapışmalar) tespit edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen tüm verilerin istatistiki analizleri karşılaştırmalı olarak yapılmıştır.

Sonuç olarak *U. maritima*'ya ait tüm ekstraktlarda ve Vydate çözeltisinde meydana gelen kromozom hasarları doz ve uygulama süresiyle doğru orantılı artmış ve mitotik indeksin istatistiki olarak önemli derecede düştüğü gözlenmiştir. *U. maritima* ekstraktlarının Vydate göre daha düşük seviyede genotoksik ve sitotoksik olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar sözcükler: *Urginea maritima*, Allium test, Sitogenetik, Genotoksisite, Biopestisit.

Sayfa Adedi: 103

Danışman: Prof. Dr. Betül BÜRÜN.

Investigating of the Effects of *Urginea maritima* L. Extracts on the Chromosomes by Using Allium Test Method

(M.Sc.Thesis)

MERT METİN

MUGLA UNIVERSITY

INSTITUTE of SCIENCE and TECHNOLOGY

2006

ABSTRACT

The genotoxic and cytotoxic effects of extracts of *Urginea maritima* L., that belongs to family Liliaceae was investigated with plant test method which called Allium test. The onions (*Allium cepa*) were allowed to produce roots in 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 and 16 ml of *U. maritima* extracts which was completed to 100 ml/l drinking water, in only extract of *U. maritima*, in 20 ml/l solution of Vydate which is a chemical pesticide and on drinking water (Control). The obtained root tip cells were prepared according to Feulgen squash procedure after stained with feulgene to identify the chromosomal aberrations (breaks, fragments, sticky) that occur on meristematic cells. All of the data were compared using statistical analysis.

As a result, the chromosomal aberrations were increased by the increase of dose and application time in all extracts of *U. maritima* and Vydate solution and it was observed that the mitotic index were significantly decreased. The extracts of *U. maritima* were less genotoxic and cytotoxic than Vydate. It is stated that, usage of *U. maritima* extracts will be less harmful than chemical pesticides in plant protection.

Key Words: *Urginea maritima*, Allium test, Cytogenetics, Genotoxicity, Biopesticide.

Page Number: 103

Adviser: Prof. Dr. Betül BÜRÜN.

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. <i>Urginea maritima</i> bitkisi	23
Şekil 1.2. Örneklerin alındığı arazide <i>Urginea maritima</i> bitkilerinin yayılışı	24
Şekil 1.3. <i>Urginea maritima</i> bitkisi	24
Şekil 2. <i>Allium cepa</i> 'nın metafazda görülen $2n=16$ kromozomu	25
Şekil 3. Kontrol (a,b,c), Vydate (d,e,f) ve saf <i>U. maritima</i> ekstraktında (g,h,ı) 48, 72 ve 144 saatlik uygulama süreleri sonunda soğanların köklenme durumları	29
Şekil 4.1. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerin ortalama kök sayıları (adet)	31
Şekil 4.2. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerin ortalama kök uzunlukları (mm)	32
Şekil 5. Kontrol preparatlarındaki interfaz nukleusları ve mitoz	37
Şekil 6. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulama süreli örneklerde mitoz evreleri	38
Şekil 7. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerde % mitotik indeks (MI)	41
Şekil 8. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulama sürelerinin sonunda mitozda görülen ortalama anormal toplam hücre sayıları	45
Şekil 9. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) sonraki uygulamalı örneklerde metafazda gözlenen kromozom yapışmaları ve fragment oluşumları	48
Şekil 10. % 5 <i>U. maritima</i> ekstraktının 144 saat uygulamalı örneklerinde gözlenen fragmentler	51
Şekil 11. % 8 <i>U. maritima</i> ekstraktının 144 saat uygulamalı örnek preparatında düzensiz metafaz oluşumu	52
Şekil 12. Anafazda yanlış kutuplaşma	53
Şekil 13. . Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 (c) saat sonraki anafazda gözlenen yanlış kutuplaşma ve köprü oluşumu	54

Şekil 14. % 10 <i>U. maritima</i> ekstraktının 144 saat uyg. Anafazda köprü oluşumu	55
Şekil 15. Düzensiz anafaz örnekleri (a, b, c, d)	57
Şekil 16.1. % 12 <i>U. maritima</i> ekstraktı 48 saat uygulaması örneklerinde gözlenen interfaz nukleusunda erozyon	61
Şekil 16.2. % 5 <i>U. maritima</i> ekstraktı 48 saat uygulaması örneklerinde gözlenen interfaz nukleusunda granülizasyon	61
Şekil 16.3. 72 saat vydate uygulamasında gözlenen interfaz nukleusunda Yarıлма	62
Şekil 16.4. % 6 <i>U. maritima</i> ekstraktı 72 saat uygulamada gözlenen profazda granülizasyon	62
Şekil 17. 48 saat Vydate uygulamasında gözlenen nukleus Vakuolizasyonları	63
Şekil 18. 72 saat Saf <i>U. maritima</i> ekstraktının uygulaması örneklerinde gözlenen mikronukleus oluşumu	64
Şekil 19. % 5 <i>U. maritima</i> ekstraktının 144 saat uygulama süresinde tespit edilen kromozom sayısındaki azalma	64
Şekil 20. 48 saatlik uygulama süresi sonunda karşılaştığımız poliploidi	65
Şekil 21. C-mitoz	65
Şekil 22. % 16 <i>U. maritima</i> ekstraktı 144 saat uygulamasında gözlenen binukleat hücre	66
Şekil 23. % 10 <i>U. maritima</i> ekstraktının 48 saat uygulamasında gözlenen bir, iki ve üç nukleoluslu çekirdekler	68
Şekil 24. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerde gözlenen bir, iki, üç, dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren hücre sayıları	70

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1. <i>Urginae maritima</i> L. kimyasal analiz sonuçları	12
Çizelge 2. Uygulama doz ve sürelerine göre ortalama kök sayısı (adet) ve uzunlukları (mm)	30
Çizelge 3.1. Uygulama dozlarına bağlı kök sayılarının, uygulama sürelerine göre ve tüm uygulama sürelerine ait verilerin ortalamasına göre yapılan istatistiki analiz sonucu	34
Çizelge 3.2. Uygulama dozlarına bağlı kök uzunluklarının (mm), uygulama sürelerine göre ve tüm uygulama sürelerine ait verilerin ortalamasına göre yapılan istatistiki analiz sonucu	34
Çizelge 3.3. Kök sayısı ve uzunluklarının uygulama süresine göre istatistiki analiz sonucu	35
Çizelge 4. Uygulama doz ve süresine bağlı olarak gözlenen mitoz safhalarındaki ortalama hücre sayısı ve ortalama toplam bölünen hücre sayısı ile ortalama anormal hücre sayısı	36
Çizelge 5. Doz ve uygulama sürelerine göre ortalama toplam bölünen hücre sayısı ve % mitotik indeks (MI)	40
Çizelge 6. Dozlara ve uygulama sürelerine göre (%) MI değerlerinin istatistiki analiz sonucu	42
Çizelge 7. Uygulama doz ve sürelerine göre mitozda gözlenen anormal toplam hücre sayıları (ortalama)	44
Çizelge 8.1 ve 8.2. Dozlar ve uygulama süreleri ile anormal hücre oluşumu arasındaki ilişkiyi gösteren istatistiki analiz sonucu	46
Çizelge 9.1. Uygulama dozlarına bağlı olarak mitoz evrelerinde görülen ortalama anormal hücre sayılarının istatistiki analizi	49
Çizelge 9.2. Mitoz evrelerinde görülen uygulama süresine göre ortalama anormal hücre sayılarının istatistiki analizleri	49
Çizelge 10. Uygulama doz ve sürelerine göre çekirdek deformasyonu ve nukleus vakuolizasyonu gözlenen hücre sayıları	59

Çizelge 11.1. Çekirdek deformasyonu ve çekirdek vakuolizasyonlarının uygulama dozları bakımından istatistiki analizi	60
Çizelge 11.2. Çekirdek deformasyonu ve çekirdek vakuolizasyonlarının uygulama süresi ile ilişkisini gösteren istatistiki analizi	60
Çizelge 12. Uygulama doz ve sürelerine göre bir, iki, üç, dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren ortalama hücre sayıları	69
Çizelge 13.1. Uygulama dozlarına göre bir hücre çekirdeğinde bir, iki, üç, dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren hücre sayılarının istatistiki analiz sonucu	71
Çizelge 13.2. Uygulama süresi dikkate alınarak bir hücre çekirdeğinde meydana gelen nukleolus sayısının gözleendiği hücre sayılarının istatistiki analiz sonucu	71

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
α	Alfa
B	Bor
β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad derece
CaBr_2	Kalsiyum Bromür
CaCl_2	Kalsiyum Klorür
Cd	Kadmiyum
Cl	Klor
cm	santimetre
Cu	Bakır
DNA	Deoksiribonukleik asit
EC_{50}	Büyüme engelleyici konsantrasyon
EMS	Ethyl Methane Sulfonate
EPA	Çevre Koruma Örgütü
EURO GAP	Avrupa İyi Tarım Uygulamaları
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
g	gram
HCl	Hidroklorik asit
H_2O_2	Hydrogen peroxide
IC_{50}	İnhibe edici konsantrasyon
kg	kilogram
l	litre
LD_{50}	Lethal Doz (Öldürücü doz)
μ	Mikron
MCN	Mikronukleus
μg	mikrogram
mg	miligram
MH	Maleic Hydrazide
MI	Mitotik İndeks
ml	mililitre
mm	milimetre
MMCl	Methyl Mercuric Chloride
MNU	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -nitrosourea
N	Azot
Na	Sodyum
NaN_3	Sodium Azide
Pb^{+2}	Kurşun
pH	Asitlik derecesi
ppm	Milyonda bir parça
RNA	Ribonukleik asit
SA	Salisilik asit
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
TÇSV	Türkiye Çevre Sorunları Vakfı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Zn	Çinko

1.GİRİŞ

Farklı agro-ekolojik bölgelere ve buna bağlı olarak çok zengin bir bitki çeşidine sahip olan ülkemizde, ekonomik öneme sahip 60 civarında kültür bitkisi türü yetiştirilmektedir. Bu kültür bitkilerine ekonomik düzeyde zarar yapan 400'ün üzerinde zararlı organizma bulunmaktadır. Bu organizmaların 245'i zararlı, 85'i hastalık etmeni ve 70'den fazlası da yabancı ot türüdür. Bitkisel üretimde uygun toprak işleme, yüksek verimli ve kaliteli tohum kullanılması, uygun gübreleme ve sulama gibi verimi arttıran tüm uygulamalar yapılmış olsa dahi; kaliteli ve bol ürün almak için zararlılar, hastalık etmenleri ve yabancı otlar ile de etkili bir şekilde mücadele yapılması gereklidir (Anonim, 2001; Delen, 2003).

Dünyada tarımı yapılan bitkilerde, zararlı, hastalık ve yabancı otlar nedeniyle hasattan önce ortaya çıkan ortalama ürün kaybı % 35 olarak hesaplanmıştır. Bu ürün kaybına ortalama % 14 zararlılar, % 11 hastalıklar ve % 10 yabancı otlar neden olmaktadır. Hasat sonrası da yine aynı zararlı organizmalar, ortalama % 14 gibi ek bir zarara neden olabilmektedir. Mücadele yapılmadığı zaman bazı ürünlerde bu kaybın, iki kat artabileceği de belirtilmektedir. İstatistiklere göre dünyada hastalık, zararlı ve yabancı otların sebep olduğu ürün kayıpları, yıllık 27.5-60 milyar \$ arasında değişmektedir. FAO kayıtlarına göre, sadece hububatta hastalık ve zararlılardan ileri gelen kayıp 23 milyon ton olup, bu miktar 150 milyon insanın bir yıllık yiyecek ihtiyacıdır (Anonim, 2000; Delen, 2003). Bu bakımdan, hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadele tarımda büyük önem taşımaktadır. İnsanlığın tarım zararlıları ile mücadelesi 1947-1960'lı yıllarda ABD'de ve Avrupa'da 2. jenerasyon pestisitlerin kullanılmaya başlanmasıyla en üst düzeyde başarıya ulaşmıştır. Verimde artışların sağlanmasının yanı sıra işçilik girdileri de azalmış ve daha ekonomik, daha güvenilir sonuçlar alınmıştır (De woard ve ark., 1993; Köllen, 1998; Lobeer ve ark., 2001; Anonim, 2001; Regsdale ve Sislen 1994'e göre Delen, 2003). Ancak, 1960'lardan sonra, yoğun, kontrolsüz ve sürekli artan pestisit kullanımının verimi etkilemediği ve maliyeti yükselttiği modern toplumlarda çok iyi anlaşılmıştır. Ayrıca, çevreye zararlı uygulamalara karşı daha az hoşgörülü olmaya başlayan kamuoyunda, insan sağlığıyla pestisitlerin ilişkileri konusundaki kaygılar özellikle 70'li yıllarda artış göstermiştir. Örneğin, 1962 yılına kadar kullanımları

sürekli yoğunlaşan klorlu pestisitler 1972'den itibaren ABD ve Avrupa'da hızla yasaklanma sürecine girmiştir (Cremllyn, 1991; Gullino ve Kuijpers, 1994; Ware, 1994'e göre Delen ve ark., 2005). Pestisit kullanımını azaltmak ve kimyasal savaşımın getirdiği olumsuzlukları minimuma indirebilmek için entegre (bütünleşik) savaşım önem kazanmıştır. Entegre (bütünleşik) savaşım; doğal denge, çevre direnci ve çevre sağlığının ön planda tutulması suretiyle bilinen tarımsal savaş yöntemlerinin bir arada ve dengeli olarak uygulanmasıdır (Anonim, 2001; Delen, 2003).

Tarımsal savaşım; bitkilerin hastalık, zararlı ve yabancı otların etkilerinden ekonomik ölçüler içinde korunması, ürünün ve kalitenin artırılması için kültürel, fiziksel, mekaniksel, biyolojik, biyoteknik, kimyasal ve entegre mücadele yöntemlerinin kullanılmasıdır. Bu basit tanımından da anlaşıldığı gibi, tarımsal savaşım, bir yandan ürünü ve kaliteyi arttırmak, bir yandan da ekonomik olması hedeflenmektedir. Bu amaca ulaşabilmek için, tarımsal savaşım, entegre savaşım görüşüne uygun olarak yürütülmelidir. Bu amaçla, tüm gelişmiş ülkeler pestisit kullanımını, çevreye daha az zararlı olabilecek düzeyde tutma yoluna gitmişler ve bu olguyu başarabilmek amacıyla da, diğer savaşım yöntemlerine ağırlık vererek entegre savaşım içinde kimyasal savaşımın etkinliğini sınırlandırmışlardır. Ancak çalışmalar, modern tarımsal savaşımında kimyasal savaşımın gerekli bir yöntem olma özelliğini halen koruduğunu ortaya koymuştur (Anonim, 2001; Gullino ve Kuijpers, 1994; Ragsdale 1994' e göre Delen ve ark., 2005). Bunun nedeni, kimyasal savaşımın diğer savaşım yöntemlerine oranla yüksek etkili olması, hızlı sonuç vermesi, bilinçli ve kontrollü kullanıldığında ürünü toksin salgılayan ve toksin bulaşmalarına neden olan organizmalardan gerek tarla koşullarında, gerek taşımada ve gerekse depolamada koruyabilmesi gibi önemli avantajlarıdır (De woard ve ark., 1993; Ragsdale, 1994; Madanlar 2002'e göre Delen, 2003). Bu nedenle, kimyasal savaşım modern bitki koruma uygulamalarında günümüzde de en çok tercih edilen yöntemdir. Ancak, tarım ilaçlarının kullanımı çok değişik ve karmaşık sorunlar yaratmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde her yıl 10 bin kişi tarım ilaçlarından zehirlenerek ölmekte ve 400 bin kişi de bu nedenle ciddi olarak hastalanmaktadır (Bora ve Özaktan 1998'e göre Özmen, 2002). Ayrıca, pestisitlerin yoğun kullanımı sonucu zararlı organizmalarda dayanıklılık oluşturabilme, doğal düşmanları öldürerek doğal dengeyi bozmak, gerek ürünler üzerindeki kalıntıları gerekse

toprağa, havaya ve yeraltı sularına karışmaları yoluyla çevrede meydana getirebileceği kirlilik riskleri ile bu çevrede yaşayan insanların sağlığına olan etkileri de kesinlikle göz ardı edilmemelidir (Anonim, 2001; Özmen, 2002; Madanlar, 2002; Anonim, 2004; Gullino ve Kuijpers, 1994; Ragsdale 1994' e göre Delen ve ark., 2005).

Sentetik pestisitlerin söz konusu zararları nedeniyle, son yıllarda bitkilerden elde edilen doğal pestisitlerin araştırılıp ortaya konulmasına yönelik çalışmalar büyük artış göstermiştir (Ujvary 2002'e göre Civelek, 2003). Kimyasal ilaçlara alternatif olarak geliştirilen bitkisel ekstraktların; özellikle bitkilerin içerdiği triterpen, alkaloid ve fenolik gibi bileşiklerin, zararlı bazı böceklerin gelişimi ve büyümesi üzerinde etkilerinin araştırılmasına dayanmaktadır (Schoonhoven, 1982; Freeman ve Andow 1983; Raffa 1986'a göre Ertürk ve ark. 2004). Bitkilerin içerdiği bu bileşiklerin bir çok zararlı böcek üzerinde yok edici özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (Whittaker ve Feeny 1971; Schoonhoven ve Jermy 1977'e göre Ertürk ve ark. 2004).

Ülkemizde de bitki koruma alanında son 5 yıldır yapılan alternatif madde geliştirme çalışmaları bitki ekstraktları üzerinde yoğunlaşmıştır (Özmen, 2002; Civelek, 2003).

Modern dünyada, insan sağlığı ve çevre büyük önem kazanmıştır. AB'ye girme konusunda yoğun çaba sarf eden ülkemiz de, tarım ilaçları büyük ölçüde bilinçsiz ve kontrolsüz kullanılmaktadır. İnsan sağlığını ve çevreyi koruyabilmek amacıyla, tarım ilacı kullanımı gelişmiş ülkeler standardında, bilinçli ve kontrollü olmalıdır. Bu bilinçsiz ve kontrolsüz uygulamaların en çarpıcı göstergesi ihraç edilen tarım ürünleri üzerindeki AB standartlarına uygun olmayan pestisit kalıntılarının bulunmasıdır. Bu durum ülkemizin hem ekonomik hem de itibar kaybına neden olmaktadır. Örneğin AB'nin internet ortamındaki 2002 yılı besin ve yiyecek hızlı alarm sistemi raporunda (Rapid Alert System For Food Report For The Year 2002) 93 ülke yer almaktadır. AB'ne giden besin maddelerinde uygun bulunmayanlar açısından Türkiye, 141 ürün ile Çin ve Tayland' tan sonra üçüncü sıradadır (Delen, 2003).

Yukarıda da özetlendiği gibi, pestisitlerin getirebileceği olumsuzluklar gelişmiş ülkelerde artık gayet iyi bilinmektedir. AB ülkeleri perakendecileri Tarım Ürünleri Çalışma Grubu, Avrupa İyi Tarım Uygulamaları (EURO GAP) Protokolünü 1 Ocak 2004'de yürürlüğe sokmuşlardır. Bu protokol ile AB perakendecileri, raflarına koydukları ürünlerin üzerinde sentetik pestisit kalıntısının olmadığını belgelemekte, müşterilerine zararlı olmayacağına dair bazı garanti ve güvenceleri sağlama yoluna gitmektedirler. EURO GAP sertifikası, yabancı perakendecilerin üreticilerden satın aldıkları ve tüketiciye sundukları ürünlerin sağlıklı olduğunu belgelemek için bir garantidir.

Türkiye AB uyum yasaları gereği, Avrupa İyi Tarım Uygulamaları (EURO GAP) Protokolüne 1 Ocak 2005 tarihinde imza atmıştır ve taahhütler altına girmiş bulunmaktadır.

Ülkemizde de sentetik pestisitlere alternatif bitkisel doğal maddelerin geliştirilmesi ve kullanılması ile yurt dışından ithal edilen sentetik kimyasal maddelerin kullanımı azalacak ve ülke ekonomisine son derece önemli katkı sağlanacaktır. Ülkemizin sahip olduğu iklimsel özellikleri sayesinde flora çeşitliliği açısından son derece zengin olması bu konuda yapılacak çalışmaları arttırıcı önemli bir unsurdur.

Bitkisel kökenli pestisit özelliğindeki maddelerin çoğunda, ürün üzerinde insan ve hayvan sağlığını tehdit edici kalıntı sorunlarının olmayışı, doğal denge üzerinde olumsuz etkilerinin olmaması gibi önemli özellikler bulunmaktadır. Ancak, bu özellikteki bazı bitkiler zehirli bitkiler sınıfındadır. Bunun için bu doğal ürünlerin doğada yarılanma ve parçalanma süreleri, besin döngüsündeki yerleri ve bu süreçte katılan canlılar üzerindeki etkileri, seçici olarak hangi organizmalara ne dozlarda uygulanabileceği, doğal denge ve diğer canlılar üzerindeki etkileri, toprak ve suda bulunan diğer bileşenler ile reaksiyonları, hangi kimyasallar ile sinergik yada antagonistik etki oluşturduğu, en iyi sonuç alabilmek için en doğru uygulama yöntem ve zamanı, istenmeyen durum ve kazaların oluşması halinde (yanlışlıkla içilmesi, yoğun miktarda inhale edilmesi yada cilt teması gibi) kullanılabilecek antidotlarının tespit edilmesi, zararlı böceklerin buna direnç geliştirip geliştirmeyeceği, hatalı

uygulamalarda ne gibi sonuçların çıkabileceği aydınlatılmalı ve sitolojik etkileri araştırılmalıdır.

Litaratür taraması sonucunda *Urginea maritima* bitki ekstraktının biopestisit olarak kullanılabilme kapasitesine sahip olduğu (Pascual ve Fernandez, 1999; Civelek, 2003) anlaşılmıştır. Ancak, *Urginea maritima* bitki ekstraktının çevrede ve canlılar üzerinde oluşturabileceği potansiyel etkilerine (sitolojik ve genotoksik) ilişkin çalışmalara rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın amacı, *Urginea maritima* L. ekstraktının *Allium cepa*'nın kök ucu meristem hücreleri üzerine etkisinin Allium test ile belirlenmesi olmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Geçtiğimiz yüzyılda, bilimsel gelişmelere dayalı olarak zararlılarla savaşta değişik mücadele yöntemleri geliştirilmiştir. Bunların içerisinde, kimyasal tarım ilaçları en çok kullanılan ve en iyi bilinen mücadele yöntemidir (Özmen, 2002). Ancak, kimyasal ilaçların çevrede ve diğer canlılar üzerinde yarattığı olumsuz etkiler büyük boyutlarda olup günümüzün önemli konularındandır (Öncüer, 2000'e göre Özmen, 2002).

Meyve ve sebzelerdeki pestisit kalıntılarının, kanser gibi olumsuz etkileri toplumsal kaygılara neden olmaktadır. Pestisitler, muhtemel kimyasal mutajenler olarak düşünülmektedir (Özmen, 2002). Örneğin, Patra ve ark. (1997)'na göre Maleic Hydrazide genotoksik bir ajandır (Patil ve Bhat, 1992; Kaymak, 2005). Endüstriyel faaliyetler sonucu su ve toprağa karışan bakır, besin zinciri yoluyla da organizmalara geçerek toksik etki yapmaktadır (Anonim, 1991'e göre İnceer ve ark., 2000; Anonim 2004). Bakır, çinko, kurşun ve krom *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde klastojenik etkilere sebep olmaktadır (Liu, 1992; Arambasic 1995'e göre İnceer ve ark., 2000). De Flora (1994)'e atfen İnceer ve ark. (2000)'ı civanın, fare ve sıçan embriyolarının fibroblastlarında DNA kırılmasına yol açtığını belirtmektedirler. Benzer şekilde Leonard ve ark. (1983), civalı bileşiklerin *Vicia faba* ve *Allium cepa* gibi bitkilerde hücre bölünmesi sırasında iğ ipliklerine etki ettiğini rapor etmektedir. Bunun gibi deneysel veriler çeşitli tarım kimyasallarını oluşturan bileşenlerin; gen mutasyonu, kromozomal değişme ve DNA hasarına yol açan mutajenik aktivitelere sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Bolognesi ve Morasso 2000'e atfen Özmen, 2002).

Kullanılan pestisitlerin kimyasal bileşenlerinin sayısına ve çeşidine bağlı olarak genetik etki ortaya çıkar. Kimyasal yoğun kullanıma ve sürekli yüksek derecede maruz kalınma sonucunda, besin zinciri, deri ve solunum yolu ile vücuda girebilmekte, yağ dokusunda birikerek doğrudan yada dolaylı etkiler oluşturabilmektedir. Etkileri, akut olabileceği gibi teratojenik, mutajenik, alerjik ve kanserojenik de olabilir (Anonim, 2001; Özmen, 2002; Anonim 2004'e göre Delen ve ark., 2005).

Son yıllarda yaygın olarak kullanılan 100 pestisit bileşenini kapsayan test kimyasallarının % 59'unun gen mutasyonu, % 83'ünün kromozomal hasar ve %

71'inin DNA hasarında etkili olduğu ancak, sadece % 10'unun tüm testlerde negatif sonuçlar verdiği görülmüştür (Bolognesi ve Morasso 2000'e atfen Özmen, 2002).

Pestisitler, toksik etkileri nedeniyle kullanılırlar. Seçici olarak bazı organizmalara karşı etkilidirler. Bununla beraber kesin seçiciliğin elde edilmesi zordur ve bir çok pestisit insanlara karşı zararlı olma riskini de beraberinde taşımaktadır. İnsan sağlığı, çevre ve doğal dengeyi korumaya ilginin artması doğal pestisitlerin kullanımını arttırmaktadır. Tarımsal mücadelede; çevreye en az zarar veren ve kalıcı etkileri düşük veya hiç olmayan biopestisitlerin (doğal pestisitlerin) kullanımı yaygınlaşmaktadır. Bunlar hayvanlardan, bitkilerden ve bakterilerden elde edilen doğal ürünlerdir. 1998 yılı sonunda yaklaşık 700 ürün ve 175 biopestisit etkili olan aktif bileşik kayıtlarda yer almıştır. Biopestisitler; US-EPA'nın yapmış olduğu sınıflandırmada; mikrobiyal pestisitler, bitki pestisitleri ve biyokimyasal pestisitler olmak üzere 3 büyük sınıfa ayrılırlar (Özmen, 2002).

Günümüzde 200 kadar bitki tür ve çeşidinin böcek öldürücü etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Böcek öldürücü etkiye sahip bitkilerin, ekstraktları veya kurutulup öğütülerek elde edilmiş tozları kullanılır (Öncüer, 1995).

Bugün, dünyada gelişmiş ülkelerde zararlı böceklere karşı doğal pestisitler yaygın ölçüde kullanılmaktadır (Isman 1997'e atfen Ertürk ve ark., 2004). Örneğin, Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerinde, *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vis.'den pyrethrum, *Derris* spp. ve *Lonchocarpus* spp.'den rotenone, *Nicotiana tabacum* L.'den nicotine, *Ryania speciosa* Vahl'den ryania ve *Azadirachta indica*'dan neem gibi elde edilen bitkisel pestisitler önemli ölçüde kimyasal pestisitlerin yerine kullanılmakta ve tarım ilaçları satış yerlerinde satılmaktadır (Isman 1997'e atfen Ertürk ve ark., 2004; Özmen, 2002).

Civelek 2003'in bildirdiğine göre, doğal pestisitler olarak adlandırılan bitki ekstraktlarının tarımsal ürünlerde zarar yapan organizmalara karşı sentetik kimyasal ilaçlara alternatif olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar son 20 yılda hız kazanmıştır.

Yüz yıllardır insanlar tarafından diüretik (idrar söktürücü dolayısı ile tansiyon düşürücü), ekspektoran (balgam sökücü), kardiyotonik (kalp kuvvetlendirici) olarak kullanılan *Urginea maritima* L. (Koyuncu 1978'e atfen Tanker ve ark., 1998) son zamanlarda da biopestisit özelliği açısından önem kazanmış ve tarımsal zararlılarla

mücadelede kullanılabileceği anlaşılmıştır (Civelek, 2003). Bu amaçla öncelikle bitkinin içerdiği etken maddelerinin tespitine ve bu etken maddelerin hangi zararlı böcek türlerine karşı ne derecede nasıl etki yaptığını tespit etmeye yönelik çalışmalar yürütülmüştür. Aynı zamanda *Urginea maritima*'nın içerdiği bileşiklerin izolasyonları ile kimyasal yapıları belirlenmiş, elde edilen maddelerin toksik etkileri, deney hayvanları ve diğer canlı türleri üzerinde test edilmiştir. Bununla ilgili bazı çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Pascual-Villalobos (2002)'a göre; Vega ve arkadaşları 1972 yılında *U. maritima*'nın kırmızı renkli soğanlarından anthocyaninleri izole etmeyi başarmışlardır. Hassid ve arkadaşları ise 1976 yılında *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarını *U. maritima*'nın yeşil yapraklarında geliştirmeye çalışmış ancak başarılı olamamışlardır. Larvaların gelişmesini engelleyen etken maddenin azetidine karboksilik asit (proline benzer ve protein olmayan bir aminoasit) olduğunu yaprakları ekstre ederek bulmuşlardır. Ayrıca, bu bitkinin yaprakları vicenin-2, vitexin, isovitexin, orientin, isoorientin ve sinistrin olarak bilinen fruktan polisakkaritleri içermektedir (Batanouny ve ark., 1999).

U. maritima'nın beş çeşit bufadienolid içerdiği bunların proscillaridin A, scillaren A, scillirocide, gammabufotalin ve scilloricidin olduğu belirtilmiştir. (Krenn ve ark., 1994'e atfen Pascual-Villalobos, 2002). Verbiscar ve ark. 1986 yılında yürüttükleri çalışmalarında, *U. maritima*'dan glikosidleri ve aglyconesi izole edebilmişlerdir. *U. maritima*'nın içerdiği bufadienolid'lerden en aktif ve en zehirli olan glikosid scilliroside'dir.

U. maritima soğanının kimyası karmaşık olmasına rağmen iyi bilinmektedir. Soğanların içerdiği bufadienoidler, tıbbi özellik olarak kardiyak glikosidleri içerdiğinden kardiyatonik ve raticid (sıçan öldürücü) etkiye sahiptir. Raticid etkisi içerdiği bufaneoidlerden en yüksek zehir etkisi olan scilloriside ve diğer mevcut olan scilla glikosidlere ve aglyconeslere aittir (Verbiscar ve ark. 1986'a atfen Pascual-Villalobos, 2002). *U. maritima* soğanının içerdiği bufadienoidler fareleri merkezi sinir sistemi üzerinden etkilemektedirler. Bu yüzden insanlar içinde oldukça yüksek zehirlilik etkisi olan bu türün ticari ürünleri, insanların güvenliği ve sağlığı için herhangi bir zehirlenme olaylarında kusturma amaçlı olarak kullanılabilmektedir. *U. maritima*'nın geleneksel olarak rodenticit amaçlı (kemirgen öldürücü) kullanımı

Warfarin ve diğ er antikoagulan tip rodenticitlerin ortaya çı kmaya başlamasıyla azalmıştır. Günü münde bazı fare ve sı çan türleri de bu tip ürünlere direnç geliştirmiş durumdadırlar (Pascual-Villalobos, 2002).

1940'larda California'nın yarı kurak bölgelerinde yetişen *U. maritima* türü rodenticit elde etmek için yeni keşfedilmiş bir ürün olmasına rağmen soğanların iç erdiği zehir miktarının; soğanın genetik heterojenitesine, yabani tür olup olmamasına, hasat zamanına, saklama koşullarına, ekstraksiyon yöntemine ve diğ er çevresel faktörlere bağı lı olarak değı ŝmesi var olan en önemli problem olmuştur (Gentry ve ark. 1987'a atfen Pascual-Villalobos, 2002).

Pascual-Villalobos ve Fernandez (1999), güney batı İspanya'nın 21 farklı bitki familyasına (Boraginaceae, Capparidaceae, Cistaceae, Compositae, Cruciferae, Cucurbitaceae vb.) ait 57 yabani türden ekstraktlar elde ederek bu ekstraktların anti-insektisit aktivitesini, depo ürünlerinde (tahıl, hububat, un vb.) zarara sebep olan *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvalarını kullanarak çalı ŝmıřlardır. Bu çalı ŝmada, bilim adamları *U. maritima* soğanlarından elde edilen ekstraktların aynı bitkinin yapraklarından elde edilen ekstrakta göre daha zehirli olduğ unu ve pupa evresindeki larvalarda bu ekstraktın kontak yolla etki ederek % 100 ölüm meydana getirdiğ ini bildirmişlerdir.

Pascual-Villalobos ve Fernandez (1999), *U. maritima* soğanlarından etanol ile elde ettikleri ekstraktı depo ürünleri (tahıl, hububat, un vb.) zararlılarına karşı kullanmışlar ve başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Pascual-Villalobos ve Fernandez 2002'de *U. maritima* soğanının iç erdiği bufadienolid'lerden hangisinin yada hangilerinin saf olarak bu etkiye sahip olduklarını *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvaları üzerinde tespit etmeye çalı ŝmışlar ve tüm uygulamalarda proscillaridin A, scilloriside ve scillorisidin'in aktif olduklarını belirlemişlerdir. Aynı araştırmada, en öldürücü etkinin larva başına en düşük doz uygulamasında (10 µg/larva) bile scilloriside ve scilloricidin'de olduğ unu göstermişlerdir. Scillaren A ve gammabufotalin ise doz arttırılrsa bile daha az toksik etkiye sahip bulunmuştur. Aynı araştırmada, % 2 bufadienoid iç eren diyetle beslenen *Tribolium sp.* larvalarında istatistiki açıdan önemli sayılacak miktarlarda gelişme geriliğ i gözlenmiş ve pupa evreleri uzamıştır. Aynı diyetle beslenen olgun dişi fertlerde ise, dişi başına yumurtlama miktarında net bir şekilde düşüş tespit edilmiştir. Saf olarak scillorisidin

ve proscillaridin A'nın daha aktif olduğu ve dişilerde üreme kabiliyetini tamamen yok ettiği, larvalarda pupa evresini uzattığı belirlenmiştir (Pascual-Villalobos, 2002).

Krenn ve ark., 1999 yılındaki çalışmalarında kullandıkları hexaploid *U. maritima*'nın vejetasyon dönemi boyunca içerdiği beş çeşit bufadenoid oranlarının değişebileceğini ve hasat zamanına bağlı olarak da toplam bufadenoid miktarının yaklaşık % 10-20'si olan bilinmeyen iki yeni bufadenoid içerdiğini spektroskopik metodla göstermişlerdir. Bilinmeyen bu iki yeni bufadenoid 11 α -acetylgamabufotalin 3-O-(4-O- α -D-glucosyl)- α -L-rhamnoside ve 11 α -hydroxyscilliglaucoside'dir.

Pascual-Villalobos ve Fernandez (1999), İspanyada yayılış gösteren 12 farklı yabani *U. maritima* türüne ait 3n, 4n ve 6n ploidi seviyesine sahip kırmızı ve beyaz renkli soğanlardan etanol ekstraksiyonu ile ekstraktlar elde etmişlerdir. Bu ekstraktları elde etmeden önce soğanları ploidi düzeylerine, renk durumlarına ve hasat sonrası 30 günlük bir süre için direkt güneş ışığına maruz bırakıp bırakmama durumuna göre gruplara ayırmışlardır. Gruplara ayırdıkları soğanlardan elde ettikleri ekstraktları, hasat sonrasında depo ürünlerinde (buğday, un vb.) zarar oluşturabilen *Tribolium castaneum*'un 25 günlük larvalarında, larva başına 10 μ g dozunda uygulamış ve 24 saat sonunda larvalarda % 60 ile % 100 arasında ölüm gözlemlemişlerdir. Soğanların rengi, ploidi seviyeleri ve 30 günlük kuruma sürelerini gölgede yada direkt güneş ışığı altında geçirmeleri ekstraksiyonların toksisitesi üzerinde önemli bir farklılık yaratmamıştır. Ancak, elde edilen ekstraktlarda 4n ve 6n ploidi seviyesine sahip beyaz soğanların, 3n ploidi seviyesinde, kırmızı olanlardan ve ekstraksiyon öncesi gölgede bekletilenlerin direkt güneş ışığında bekletilenlerine göre daha aktif olduklarını vurgulamışlardır.

Aynı araştırmacılar, ekstraktları yeni çıkan larvaların beslenme diyetine % 10 oranında ilave etmiş ve 14 günlük deneme sürecinin sonunda larvalarda gelişmeyi önemli oranlarda engellediğini gözlemlemişlerdir.

Civelek (2003), örtü altı domates yetiştiriciliğinde karşılaşılan zararlılardan kök-ur nematodları (Nematoda: *Meloidogyne* spp.)'na karşı sentetik pestisitler yerine *Urginea maritima* (Liliaceae) soğanlarından elde edilen ekstraktlarının kullanılması ve böylece insan ve çevre sağlığını tehdit etmeyen alternatif maddelerin geliştirilmesini amaçlamışlardır. 2001-2002 yıllarında yürütülen çalışma, domates

bitkisi üzerinde laboratuvar ve sera koşullarında gerçekleştirilmiştir. Denemelerde, *Urginea maritima* ekstraktının 1000, 2000 ve 4000 cc/100 l su dozları, karşılaştırma amacı ile kök-ur nematoduna karşı kullanılan ticari tarım ilacı vydate (Oxamyl, DuPont) kullanılmıştır. Ekstrakt, köklere sulama suyu ile uygulanmıştır. Gerek laboratuvar gerekse sera koşullarında yapılan denemelerde, bitki ekstraktının tüm dozları vydate (tarım ilacı)'e göre daha etkili olmuştur. Ancak, bitki ekstraktının 4000 cc/100 l dozunun diğer dozlara göre daha etkili olduğu anlaşılmıştır. Söz konusu bitki ekstraktının kök-ur nematodu üzerinde ümitvar etkide olduğu ilk defa bu çalışma ile ortaya konmuştur. Bu çalışmada kullanılan *U. maritima* ekstraktının kimyasal analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.

U. maritima ekstraktı biopestisit olarak kullanılabilir bir ekstrakt olarak belirtilmektedir. Ancak, bu bitki ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde diğer canlılar üzerindeki fizyolojisine ve çevre üzerindeki muhtemel genotoksik, mutajenik, klastojenik, toksikolojik, teratojenik etkilerine ve doğada kalış süresine ilişkin verilerin yeterli olmadığı görülmektedir.

Çeşitli kimyasalların, su örneklerinin ve bitki ekstraktlarının genotoksik etkileri hayvansal, bakteriyel ve bitkisel test sistemleri ile saptanabilmektedir. Bir bitkisel test sistemi olan *Allium-test* ile, soğan bitki köklerinin büyümesini engelleyen uygulamaların toksisiteleri ölçülebilmektedir. *Allium-test* sonuçları, prokaryot veya diğer ökaryotlardan oluşan test dizeleri ile uygunluk göstermektedir (Fiskesjö, 1981. a ; Fiskesjö, 1993; Mısık ve Mıcıeta, 2002).

Biopestisit özelliği bulunan bazı bitki ekstraktlarının kullanılması ile bizim çalışmamıza benzer olarak yapılmış olan ve ayrıca çeşitli kimyasal maddelerin sitotoksik, genotoksik ve mutajenik etkilerini bitkisel test metodlarını kullanarak göstermeyi amaçlayan bazı çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Çizelge 1. *Urginea maritima* L.'nin Kimyasal Analiz Sonuçları (Civelek ve ark., 2003)

Kimyasal Madde Adı	Bulunma Oranı (%)
1- Ethyl-3-isopropylbenzene	62
1,4-cyclohexadiene,3-ethenyl-1,2-	90
2-methylindanone 1 H - -Inden-1-one	53
2-Methyl-1,3- Propanediol 2tms	64
Azulene (CAS) cyclopentacyclohe	64
Benzene,1-methyl-4-(1-methylethyl)	90
Benzene,1-methyl-2-(1-methylethyl)	87
Benzene,1-ethyl-2,3-dimethyl-	50
Benzene,4-ethyl-1,2-dimethyl-	50
Benzene,1-ethyl-3,5-dimethyl-	50
Benzene , (2-methyl-1-methyleneprop.)	59
Benzene,1,4-dimetyl-2-(1-methyle)	64
Benzenedicarboxylic acid	91
Naphthalene(CAS)white tar	64
Indole,3-(2 – aminopropyl) -6-fluoro	50
Pseudoephedrine 2AC	53
Tetramethylbenzene	80
Tryptophan-M M E	50
Butanoic acid, butyl ester	86
Praponic acid	83
2,6-di (t-butyl)-4-hydroxyl-4-methyl	97
Ethanol	72
Phenol, 4-chloro-3-methyl	96
Hexatriacontane	81
Pentacosane	72
Tetradecene	97
Hexadecene	94
Butyllated hydroxytoluene	97

Özmen (2002), tez çalışmasında ülkemizde park ve bahçelerde yetiştirilen, *Meliaceae* familyasına ait olan *Melia azedarach*'tan elde edilen ve biopestisit olarak kullanılan azadirachtinin genotoksik etkilerini bir bitkisel test sistemi olan *Allium*

test metodu ile incelemiştir. 25 gr tohum/l, 50 gr tohum/l ve 75 gr tohum/l olmak üzere 3 ayrı konsantrasyondaki ekstraktların *Allium cepa* L.'nin kök ucu meristem hücrelerinde mitotik bölünme üzerine olan etkilerini belirlemiştir. Mitotik indeks, kontrol ile karşılaştırıldığında; tüm dozlarda ve doz artışı ile bir düşüş göstermiştir. Bölünen hücrelerdeki kromozom anormallikleri; fragment, kromozom yapışmaları, köprü oluşumu, yanlış kutuplaşma ve mikronukleus oluşumlarıdır. Kromozom anormalliklerinin toplam oranı yaklaşık % 4.2'dir. Elde edilen değerler kontrol ile karşılaştırıldığında, uygulanan ekstraktın tüm konsantrasyonlarda etkili olduğu görülmüştür. Ancak, tarımsal uygulamada tavsiye edilen 50 gr tohum/l'lik dozdaki hasarın minimum düzeyde olduğu belirlenmiştir. Sonuçta, azadirachtin'in zararlı etkilerinin çok düşük olduğuna ve kimyasal pestisit yerine kullanılarak geleneksel kimyasal pestisit kullanımını azaltacağını belirtmiştir.

Biopestisit kapasitesi araştırılan bitkilerle ilgili olarak yürütülen başka bir çalışmada, Wawrzyniak (2004), Geraniaceae familyasına ait bitkilerden elde edilen ekstraktların, Pieridae familyasından *Pieris brassicae* (L.) üzerindeki biyolojik aktivitelerini incelemiştir. Araştırmacı, Geraniaceae familyasına ait *Pelargonium x hortorum* Bailey, *Erodium cicutarium* L., *Geranium sanquineum* L., *Geranium palustre* L., *Geranium pratense* L., *Geranium phaeum* L., *Geranium robertianum* L. bitkilerinden alkol ve su ile ekstraktları elde etmiş ve bunları *Pieris brassicae*'ya hem arazi hem de laboratuvar koşullarında uygulamıştır. *Pieris brassicae*'nin üreme durumunu, yumurtaların hayatta kalma oranlarını ve tırtılların beslenme oranlarını dikkate almıştır. Sonuç olarak, test edilen tüm ekstraktların *Pieris brassicae*'ya karşı etkili olduğu gözlenmiştir. *Geranium pratense* ve *Geranium senquineum* diğer *Geranium* türlerine göre daha aktif etki göstermiştir. Su ile elde edilen ekstraktlar, *Pieris brassicae*'nin lahana bitkisi üzerine yumurta bırakmasını engellemiş ve uygulamaya maruz kalan yumurtaların ölmesine sebep olmuştur. Alkol ile elde edilen ekstraktların, su ile elde edilenlere göre beslenmeyi daha fazla baskıladığı görülmüştür. *G. pratense* ve *G. robertianum*'un alkol ve su ekstraktları en güçlü antifeedant (beslenme engelleyici) etki göstermiştir. Ekstraktların antifeedant özelliği, tırtıllar için kontrolle kıyaslandığında önemli bir fark tesbit edilmemiş ancak, *G. pratense*'den elde edilen alkol ve su ekstraktları ile *G. senquineum*'den

elde edilen su ekstraktı diğerlerine göre daha yüksek oranda antifeedant özellik taşımaktadır.

Aynı şekilde Ertürk ve ark. (2004) tarafından da, Lahana yaprak güvesi'nin (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera; Plutellidae) gelişmesi üzerine *Tamarix smyrnensis* Bunge, *Scorzonera mollis* Bieb, *Scorzonera tomentosa* L., *Reseda alba* L., *Linum bienne* Miller, *Artemisia santonicum* L., *Prunus laurocerasus* L. ve *Laurus nobilis* L. bitkilerinden elde edilen alkol özütlerinin, toksik etkileri ve *Plutella xylostella*'nın beslenmelerine olan etkileri incelenmiştir. En yüksek toksisitenin, % 85 'lik bir oranla *A. santonicum* bitki özütüne ait olduğunu belirlenmiştir. Diğer bitki özütlerinin toksisitelerini de sırasıyla *T. smyrnensis*, *S. mollis*, *S. tomentosa*, *R. alba*, *L. bienne*, *P. laurocerasus* ve *L. nobilis*, % 55, % 45, % 50, % 60, % 60, % 50 ve % 55 olarak tespit etmişlerdir. Besin tüketimi en yüksek 10,67 mg olarak *S. tomentosa*'nın alkol özütünde gözlenmiştir ve en düşük besin tüketimi ise 6.85 mg olarak *T. smyrnensis* bitkisi alkol özütünde bulunmuştur.

Kaymak (1994), Anadolu-83 çavdar çeşidinde mayoz da bazı mutajenler ve atık maddelerin kromozom anormalliklerine etkisini araştırmıştır. Gamma ışınının farklı dozları, Sodyum Azid (NaN_3) ve Dimetilsülfat (DMS)'ın farklı konsantrasyonları ile Meriç nehriindeki kirlenmenin etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak, sodyum azidin 5×10^{-4} M konsantrasyonu dışında kullanılan mutajenlerin bütün doz ve konsantrasyonları ile atıkların kromozomlar üzerinde bazı anormalliklere sebep olduğunu gözlemlemiştir. Meriç nehriindeki kirleticilerin, M_1 (Mutant 1) bitkilerinde mayoz bölünme geçirmekte olan hücrelerde % 5.8 oranında kromozom anormallikleri oluşturduğu belirtilmiştir. En sık rastlanan anormallik köprü oluşumu olup köprüler, mayozun 1. ve 2. evrelerinin anafaz-telofazında gözlenmiştir. Diakinezde univalent formasyonu, metafaz 1'de univalentlik, C-rod bivalent ve translokasyon, tetratta mikronukleus oluşumu ve düzensiz senkronizasyon gibi anormallikler gözlenmiştir. Gamma ışınlarının tüm dozları ise kontrolle kıyaslandığında önemli oranda anormalliklere sebep olmuştur. 10.000 rad gamma ışını; Diakinezde quadrivalent formasyonu, metafazda halka (B-Ring) quadrivalent formasyonu ve telofazın 2. evresinde laggard (geri kalmış) kromozomlara sebep olmuştur. 8000 rad gamma ışınında köprü oluşumu, laggard kromozom ve mayozun 2. evresinde köprü oluşumu ile düzensiz senkronizasyon gözlenmiştir. Farklı

dozlardaki NaN_3 uygulaması, M_1 bitkileri mayoz geçiren hücrelerinde farklı tip ve oranlarda kromozom anormalliklerine sebep olmuştur. NaN_3 'in 0.0025 M'luk konsantrasyonu % 14 toplam anormalliğe sebep olurken mayoz bölünmenin 1. ve 2. evrelerinde en sık rastlanan anormallikler mikronukleus ve kromozom köprülerinin oluşumudur. NaN_3 'in 0.0010 M'luk konsantrasyonu ise, % 7 oranında toplam anormalliğe sebep olmuş, mayoz bölünmenin 1. ve 2. evrelerinin anafaz ve telofazında laggard kromozom ve kromozom köprülerinin oluşmasına en sık rastlanmıştır. DMS'in 0.0025 M'luk konsantrasyonunda toplam % 3.4 ile en düşük seviyede kromozom anormalliği gözlenirken, 0.0010 M'luk konsantrasyonunda % 5.2 ile en üst düzeyde kromozom anormalliği gözlenmiştir. DMS uygulamasında gözlenen mayotik anormallikler; 0.0005 M'da diakinez'de halka oluşumu ve translokasyon, metafaz 1'de multivalent oluşumudur. 0.0010 M'da metafaz 1'de bivalent ve univalentlerin oluşması, anafaz 1'de köprü oluşumu, telofaz 2'de de laggard kromozomların gözlenmesi ve plazma içine mikronukleusların tetrat formunda dağılmasıdır.

Rank ve Nielsen (1996), Allium Anafaz-Telofaz test metodunu kullanarak *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU), Maleic Hydrazide (MH), Sodium Azide (NaN_3) ve Ethyl Methanesulfonate (EMS)'in genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Kullanılan tüm kimyasal ajanlar istatistiki açıdan önemli seviyelerde kromozom anormallikleri oluşumuna sebep olmuşlardır. Rank' a göre bu tip etkiye sebep olan en düşük dozlar sırasıyla; NaN_3 , (0.03 mg/l) < MH, (1 mg/l) < MNU, (41 mg/l) < EMS, (100 mg/l)'dir.

EMS ve MMS (Methyl Methanesulfonate) kimyasalları mutajenik testte pozitif kontrol amaçlı kullanılmış ve sonuçları Allium test ile kıyaslandığında MMS, EMS'ye göre 10 kat daha fazla kromozom aberasyonlarına sebep olmuştur (MMS > EMS). Rastlanan kromozom anormallikleri ise fragment, köprü ve mikronukleus oluşumudur.

İnceer ve Beyazoğlu (2000), Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) Gray kök ucu hücreleri üzerinde sitogenetik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, Fabaceae familyasından *Vicia hirsuta* tohumları 10, 25, 50, 100 mg/l'lik bakır klorür çözeltisi ile 4, 12, 24 ve 48 saat muamele edilmiştir. Bakır klorür'ün mitoz bölünmeyi önemli derecede baskıladığı, doz ve zaman artışına bağlı olarak kromozomal anormalliklere

sebebe olduğu ve mitotik indeksi azalttığı gözlenmiştir. Bakır klorür'ün hücrelerde kromozomal değişmelere neden olduğu ve bu şekilde normal hücre bölünme düzeninin değiştiği anlaşılmıştır. Görülen anormallikler ise kromozom köprüsü, laggard kromozom, eşit olmayan kromatin dağılımı ve fragment oluşumdur.

Liu (1992)'ya atfen İnceer ve ark. (2000)'nin bildirdiğine göre, krom nitrat ve potasyum dikromat gibi kromlu bileşiklerin farklı dozları, *Allium cepa* kök ucu hücrelerine uygulanmış ve neticede bu bileşiklerin mitotik indeksi azalttığı tespit edilmiştir. Ekingen (1973)'nin bildirdiğine göre, Asteracea familyasından *Haplopappus gracilis*'de insektisitler kromatid ve kromozom kırılmalarına neden olabilmektedir. Zakia ve ark. (1990)'da insektisitlerin *Vicia faba*' da geri kalmış kromozom, kromozom yapışmaları, köprü gibi kromozom anormalliklerine sebep olduğunu rapor etmektedir (İnceer ve ark., 2000).

Aybeke ve ark. (1998) yürüttükleri çalışmada, zeytinyağı fabrikası atık suyunun *Triticum aestivum* (buğday)'un kök ucu hücrelerinde sitotoksik ve mutajenik etkilerini incelemiştir. Tohumların çimlenme oranlarını, kök uçlarındaki mitotik bölünme anormalliklerini ve total protein miktarını değerlendirmişlerdir. Atık suyun farklı konsantrasyonlarında bekletilen tohumlarda çimlenme oranının düştüğü, buna karşın mitotik anormalliklerin ve mitotik indeksin yükseldiği tespit edilmiştir. Mitotik indeks, bütün konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre birkaç kat yükselmiş, çok nukleuslu yada parçalanmış nukleuslu olan hücrelerle birlikte sayısal ve yapısal kromozom mutasyonlarına da rastlanmıştır. Çalışmada kullanılan zeytinyağı fabrikası atık suyu; profazda granülizasyona, heterojen kromozom dağılmasına, metafazda yığılmaya, anafazda köprü oluşumuna, telofazda erken ve geç sitokineze, hücre plağının oluşmamasına, asimetrik kromozom dağılmasına ve kromozomlarda heterojen çözümler gibi değişik anormalliklere sebep olmuştur. Aynı zamanda protein miktarlarının da konsantrasyon ve muamele süresinin artmasına bağlı olarak düşüş göstermesi, zeytinyağı fabrikası atık suyunun doğrudan nükleer madde ve protein sentezi üzerinde toksik olduğunu göstermiştir.

Chauan ve ark. (1999), iki ticari insektisit, Cypermethrin (CYP) ve Fenvalerate (FEN)'in *Allium cepa* L.'nin kök meristem hücrelerindeki sitogenetik etkilerini araştırmışlardır. Her iki bileşik için 6 ve 24 saatlik uygulamalar doza bağlı olarak mitotik indeksi düşürmüş, kromozom anormalliklerine ve mitotik anormalliklere

sebepl olmuştur. CYP uygulaması FEN'e göre daha çok anormal hücre oluşmasına sebeb olmuş yani daha toksik bulunmuştur. Her iki bileşğin oluşturduğu anormallikler, eşit olmayan kromozom dağılması, mikronukleus oluşumu, C-metafaz, yapışma, multipolar anafaz, laggard kromozomlar ve binukleatlar olup içerik bakımından benzerlik göstermektedir.

Pluijmen ve ark., (1984)'a atfen Chauan ve ark. (1999)'nın bildirdiğine göre, genotoksik etkiye sahip olan deltamethrin, cypermethrin, fenvalerate ve permethin bileşikleri mikrobiyal test sistemi (Ames test sistemi) ile ve V79 Çin hamster ovaryum (yumurtalık) hücreleri testi ile negatif sonuçlar vermiştir. Aynı bileşikler, *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde, kromozom kırılmaları ve mitotik anormallikler meydana getirmektedir.

Rencüzoğulları ve ark. (2000), gıdalarda antimikrobiyal madde olarak kullanılan Sodyum metabisülfid (SMB)'in *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde sitogenetik etkilerini araştırmak üzere *Allium cepa* köklerini 7.5 mg/l, 15 mg/l ve 30 mg/l konsantrasyonlarındaki SMB solüsyonlarına 10 ve 20 saat süre ile maruz bırakmışlardır. Sonuç olarak, SMB, tüm konsantrasyon ve muamele sürelerinde mitotik indeksi kontrole nazaran önemli derecede düşürmüştür. SMB'in 10 saatlik muamelesinde mitotik indeks doza bağlı olarak azalırken mitotik anormallikler doza bağlı olarak arttırmıştır. Bu anormallikler; kromozom yapışması (sticky), anafazda köprü ve laggard kromozom oluşumu, mikronukleus, interfazda kromatin erozyonu ve erken kromozom yoğunlaşmasıdır.

Vidakovic'-Cifrek ve ark. (2002), yağ sanayiinde yoğun olarak kullanılan ve 1:1 oranında CaCl₂ ve CaBr₂'ün karıştırılmasıyla elde edilen çözeltinin *A. cepa* kök meristem hücrelerinde oluşturduğu sitogenetik etkiyi ve hasarları araştırmışlardır. *Allium* test için çeşme suyu ile 0.025, 0.050, 0.075 ve 0.100 mol dm⁻³ konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Tüm konsantrasyonlar, özellikle 0.075 ve 0.100 mol dm⁻³'lük konsantrasyonlar kök gelişimini önemli derecede engellemiştir. CaBr₂'de ise bu etki 0.050 mol dm⁻³'lük çözeltide gözlenmiştir. Araştırılan tüm konsantrasyonlardaki çözeltiler, kök ucu hücrelerindeki mitotik aktiviteyi düşürürken, en çok görülen mitoz anormallikleri de iğ ipliklerindeki hasarlar ve kromozom yapışmaları olmuştur.

Amat ve ark. (2002), Kuzey Doğu Arjantin’de hipertansiyona karşı geleneksel halk ilacı olarak kullanılan yedi ayrı bitkiden su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların *Allium test* kullanılarak genotoksik ve antimitotik etkilerini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada; *Solanum granuloso-leprosum* Dunal (Solanaceae), *Urera baccifera* L. (Urticaceae), *Cayoponia bonerensi* Miller (Cucurbitaceae), *Aristolochia triangularis* Cham. (Aristolochiaceae), *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), *Costus arabicus* L. (Zingiberaceae), *Cuphea calophylla* Cham. (Lythraceae), bitki ekstraktları mitotik indeksi düşürmüş ancak, antimitotik olarak istatistiki açıdan yalnızca *Aristolochia triangularis* ve *Cayoponia bonerensis* ekstraktları etkili olmuştur. *Solanum granuloso-leprosum*, *Urera baccifera* ve *Cayoponia bonerensis*’in sebep olduğu kromozom anormallikleri % oran olarak önemli bulunmuştur. Aynı bitkiler, yüksek oranda mikronukleus oluşumuna da sebep olmuşlar ancak, diğer türler mikronukleus oluşumuna sebep olmamıştır. Ayrıca fragment, köprü, düzensiz kromozom dağılımları ve yoğunlaşmaları, kromozomlarda yapışma, C-mitoz, multipolar (çok kutupluluk) ve poliploidi gibi anormallikler gözlenmiştir.

İnceer ve ark., (2003) da bakır klorürün *Helianthus annuus* L.’un kök ucu hücrelerindeki sitogenetik etkilerini araştırmışlardır. *H. annuus* tohumları, 10, 25, 50 ve 100 mg/l’lik bakır klorür çözeltisi ile 24 saat muamele edilmiştir. Bakır klorürün mitoz bölünmeyi baskıladığı, doz artışına bağlı olarak kromozomal anormalliklere sebep olduğu ve mitotik indeksi azalttığı gözlenmiştir. Bu anormallikler; fragment, kromozom yapışması, kromatin köprüleri, eşit olmayan, düzensiz kromozom dağılımları ve yoğunlaşmış kromatin oluşumudur.

Gökalp ve Kaymak (2002) tarafından Maleik hidrazid (MH)’in farklı konsantrasyon ve muamele sürelerinde insan lenfositleri üzerindeki sitogenetik etkisi periferik kan kültürü yöntemiyle araştırılmıştır. Bu amaçla MH’in distile su ile hazırlanan 75, 300, 500 ve 1000 µg/ml’lik konsantrasyonları kullanılmış, insan lenfositleri bu farklı konsantrasyonlardaki MH ile 24 ve 48 saat boyunca muamele edilmiştir. Kromatid gapı, kromatid kırılması, izokromatid gapı ve izokromatid kırılması gibi kromozom anormallikleri meydana getirdiği saptanmıştır. Sonuçlar, iki şekilde değerlendirilmiştir. Gaplar kromozom anormallikleri olarak kabul edildiğinde 75 µg/ml MH’in 48 saat muamele edilmiş grup dışındaki tüm gruplarda, MH’in,

insan lenfositlerinde, kontrole göre anlamlı kromozom anormalliklerine sebep olduğu görülmüştür. Gaplar, kromozom anormalliği olarak kabul edilmediğinde MH'in insan lenfositleri üzerine etkili olmadığı saptanmıştır. MH'in artan konsantrasyon ve muamele süresine bağlı olarak mitotik indeks azalmıştır.

Dane ve Dalgıç (2003), sistemik bir fungusit olan Benomyl (Benlate)'nin *Allium cepa* L.'nin gelişmekte olan kök uçlarında ve apikal meristemlerinde meydana gelen mitoz bölünmeye olan etkilerini araştırmışlardır. 1, 2, 5, 10 ve 20 mM benomyl solüsyonlarında köklendirdikleri soğanlarda, tüm konsantrasyonlarda ciddi ve pek çok mitoz bölünme anormalliğine rastlanmış ve doz artışına bağlı olarak mitotik indeksin düşüşü gözlenmiştir. Gözlenen kromozom anormallikleri kromatin granülizasyonları, C-mitoz, metafaz tablasında düzensiz kromozom dağılması, anafazda köprü oluşumları, sitokinez geçirmemiş telofaz ve poliploidi, interfazda kromatin ve çekirdek deformasyonu, yanlış kutuplaşma, laggard kromozomlar ve asimetric hücre bölünmelerinin oluşmasıdır. Kısaca, benomyl fungusidi soğan kök hücrelerinin bölünmesi üzerinde negatif etkilidir sonucuna varılmıştır. Aynı araştırmacılar, makalelerinde buna benzer yürütülmüş farklı çalışmalarda pek çok pestisidin benzer sonuçlar verdiği de değinmişlerdir. Örneğin, insektisit etkiye sahip endosülfanın mitotik bölünmede çok sayıda anormalliklere sebep olduğunu ve doza bağlı olarak mitotik indeksi % 75 oranında düşürebildiğinden bahsetmişlerdir (Aktaş ve ark. 1994'a atfen Dane ve Dalgıç 2003). Aynı şekilde decis insektisidinin, 24 saatlik uygulamasının soğanın kök meristematik hücrelerinde daha büyük hücre çekirdeği oluşturarak hücre çekirdeğinin şeklinde değişmelere sebep olduğu gözlenmiştir (Coşkun ve ark. 1994'a atfen Dane ve Dalgıç 2003).

Yüzbaşıoğlu (2003), afugan fungusidinin *A. cepa*'nın kök ucu meristem hücrelerindeki sitogenetik etkilerini incelemiştir. Kök gelişimini engelleyici test ile EC₅₀ değeri 40 ppm olarak tespit edilen afugan fungusidinin 10, 20, 40 ve 60 ppm'lik konsantrasyonları hazırlanmış ve *A. cepa*'ya 12, 24, 48 saat uygulanmıştır. 60 ppm'lik konsantrasyonun 48 saatlik uygulamasında, hiç bir hücre bölünmesi görülmemiş ve toksik kabul edilmiştir. Afugan fungusidi doz ve zaman artışına bağlı olarak mitotik indeksi kontrole göre önemli derecede düşürmüş ve soğanın kök ucu hücrelerindeki anormal mitoz bölünme oranının artışına sebep olmuştur. En çok görülen anormallikler, kromozom yapışmaları, C-mitoz, köprü oluşumları, laggard

kromozomlar, kromozomlarda kırılmalar yada kopmalar, çok kutupluluk ve mikronukleuslu hücrelerdir. Sonuç olarak, afugan fungusidi soğan için mitodepressive (mitoz bölünmeyi baskılayıcı), klastogenic (kromozomlarda kopma, kırılma vb. etkiler oluşturabilme yeteneği) ve turbogenic (hücrenin mitoz bölünme esnasındaki hareket mekanizmasında yani iğ ipliklerinde ve mikrotübüllerde hasar oluşturabilme yeteneği, bu hasarlar sonucunda sıklıkla C-mitoz, geri kalmış kromozom vb. anormallikler görülür) etkiye sahiptir. Ayrıca, zirai kullanımda zararsız organizmaları da yok edebilecek potansiyel bir mutajen olarak kabul edilmiştir.

Yüzbaşıoğlu ve ark. (2003), flurochloridone formül yapısındaki racer herbisidinin soğanın kök ucu meristem hücrelerindeki sitolojik etkilerini, mitotik indeksi, mitotik ve kromozomal anormallikleri ve hücresel cevapları dikkate alarak incelemişlerdir. Racer herbisidinin LD₅₀ dozu, 80 ppm olarak tespit edilmiştir. Deneyde kullanılan soğanlar LD₅₀ olan 80 ppm, LD_{50/2} olan 40 ppm ve LD_{50/4} olan 20 ppm' lik konsantrasyonlarda racer herbisidine 12, 24 ve 48 saat maruz bırakılmıştır. Sonuçlar kontrol ile kıyaslandığında, herbisit konsantrasyonunun artışına ve maruz kalma süresinin uzamasına bağlı olarak mitotik aktivite önemli derecede düşmüş ve mitotik anormallikler önemli derecede artmıştır. Uygulamalarda 7 tip mitotik anormallik tespit edilmiştir. Bunlar, C-metafaz, laggard kromozom (geri kalmış kromozom), köprü oluşumu, fragment (kopma ile parça oluşumu), multipolarity (çok kutupluluk) ve poliploidi'dir. Ayrıca, interfazda mikronukleuslu hücreler de görülmüştür. Yüzbaşıoğluna göre; bu deney sonuçları *Allium* test ve diğer bitkisel test sistemleri kullanılarak çeşitli herbisitlerin sitolojik ve genotoksik etkilerini araştırmak için yapılan deney sonuçları ile uygunluk göstermektedir.

Sencorer (Mousa, 1982; Haliem, 1990), cyanazine (Papes ve ark., 1989), gazegard (Mousa, 1982), carbetamex ve paradone plus (Badr, 1983) herbisitleri, *A. cepa*'da, gespax (Badr ve ark. 1985) herbisidi *V. faba*'da, gazegard ve igran (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1991) herbisitleri arpa'da aynı sonuçları vermiştir. Diğer bazı herbisitler de farklı bitkilerde mitotik bölünmeyi inhibe etmişlerdir. Bunlar, bazı substituted'lı üre içeren bileşikler, *Hordeum* ve *Tradescantia*'da (Tomkins ve Grand 1972), substituted'lı phenol'lü bileşikler *Nigella sativa*'da (Chand ve Roy, 1981), trifluralin (Lignowski ve Scott ,1972) ve nitralin (Badr, 1979)

A. cepa'da, carbamates (Amer ve Farah 1976), terbutryn ve atrazine (Badr, 1986) *V. faba*' da, gazegard ve igran (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1991) arpada bu tarz etki göstermiştir.

Patra ve ark. (2004) yapmış oldukları çalışmada; Salisilik asit (SA)'ın *A. cepa*'nın kök ucu meristem hücrelerinde, Methyl Mercuric Chloride (MMCl), Ethyl Methane Sulfanat (EMS) ve Maleic Hydrazide (MH)'in belli konsantrasyonlardaki çözeltilerine karşı genotoksik etkiye adaptasyon sağlayacak bitki hormonlarını aktive edip etmediğini, EMS'ye karşı genotoksik adaptasyonu uyarıcı olarak bilinen hydrogen peroxide (H_2O_2) ile kıyaslayarak araştırmışlardır. Mitoz bölünmelerdeki kromozom anormallikleri, mikronukleuslar ve iğ ipliklerinde ortaya çıkan bulgular, SA'in MMCl ve EMS'ye karşı genotoksik uyumu sağlayacak koşulları tetiklediğini ancak, MH'a karşı bu etkisinde başarılı olamadığını göstermiştir.

Kıran ve Şahin (2005), önemli çevre kirleticilerinden biri olan kurşun (Pb^{+2})'un mercimek (*Lens culinaris* Medik) tohumlarının çimlenmesi, kök büyümesi ve kök ucu hücrelerinin mitoz bölünmeleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kurşunun farklı konsantrasyonları (0.125, 0.250, 0.500 ve 1.000 mM) kullanılmış ve düşük (0.125, 0.250) Pb^{+2} konsantrasyonları ile muamele edilen tohumların çimlenmesinde kontrole göre belirgin bir farkın olmadığı ancak, yüksek konsantrasyonlarda (0.500 ve 1.000 mM) çimlenmenin azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca, uygulanan tüm konsantrasyonlarda, kök büyümesi kontrole göre engellenmiştir. Kurşunun konsantrasyon artışına paralel olarak, hücre bölünmesinin azaldığı, mikronukleus, C-mitoz, geri kalmış kromozom, çok kutuplu (multipolar) anafaz ve köprü oluşumu gibi çeşitli mitotik anormalliklerin arttığı tespit edilmiştir.

Kaymak (2005), tarımda zararlı böceklerle savaşmada kullanılan pestisit özelliğindeki Maleic hydrazide (MH)'in 10^{-2} M, 10^{-3} M, 10^{-4} M ve 10^{-5} M'lık konsantrasyonlarının *Helianthus annuus* L.'da mitoz ve mayoz geçiren hücrelerde oluşturduğu anormallikleri incelemiştir. MH'in 10^{-2} M dozu mitotik bölünmeyi tamamen baskılamıştır. Ayrıca MH'in çeşitli konsantrasyonları pek çok mayotik ve mitotik bölünme anormalliklerine sebep olmuştur. MH'in bitkilerin kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünmeye olan etkileri, doz artışına bağlı olarak mitotik indeksi düşürürken, anormal hücre oranını da arttırmıştır. Bu anormallikler, anafaz ve telofaz'da köprüler, metafazda fragment oluşumu ve düzensiz metafaz'dır.

Ayrıca *H. annuus*'un M_1 ve M_2 bitkilerinin, mayoz geçirmekte olan anter hücrelerinde MH'in etkileri incelenmiştir. M_2 jenerasyonundaki mayotik bölünme incelemeleri, MH'in sebep olduğu kromozom anormalliklerinin 2. generasyona aktarılıp aktarılmadığını belirlemek için yapılmıştır. 10^{-5} M'lık MH, M_1 jenerasyonunda toplam % 5.6 kromozom anormalliği oluştururken en sık görülen anormallik köprülerin oluşmasıdır. Aynı dozda, M_2 jenerasyonunda ise, toplam % 3.7 oranında anormallik gözlenmiş olup en çok anafazda köprü ve geri kalmış kromozom oluşumu sözkonusudur. 10^{-4} M'lık MH'in mayoz bölünmede sebep olduğu anormallikler, M_1 jenerasyonunda % 8.6 ve M_2 jenerasyonunda % 3.3'dür. Bu anormalliklerden en sık rastlanan, metafaz 1' deki bivalentlerde erken dağılımdır. 10^{-3} M'lık MH, M_1 jenerasyonunda % 10.4 oranında, M_2 jenerasyonunda ise % 3.7 oranında anormalliklere sebep olmuştur. Bu konsantrasyonlarda oluşan anormallikler ise anafaz 2'de köprü, metafazda fragment, telofaz 1 ve 2'de laggard kromozomlardır.

Akpınar ve ark. (2001), tonifruit'in *Vicia faba* L.'da mitotik bölünme, kromozomlar ve çekirdek DNA miktarına etkileri üzerine yaptıkları çalışmada tonifruit'in 300 ppm, 600 ppm ve 900 ppm'lik dozlarını 6 ve 24 saat süre ile *V. faba* köklerine uygulamışlardır. Sonuç olarak, uygulanan maddenin mitotik indeksi kontrole göre azalttığı aynı zamanda bu maddenin kromozomlar üzerinde C-metafaz, anafaz köprüsü, kırılma, yapışkanlık ve fragment gibi anormalliklere de neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, çekirdek DNA miktarı da kontrole göre artmıştır.

Bu çalışmada, gerek tıbbi olarak kullanılan gerekse tarımsal mücadelede biopestisit olarak kullanılabilme kapasitesine sahip olan *Urginea maritima* bitki ekstraktının mitotik bölünme üzerine etkisinin *Allium test* metodu ile belirlenmesi amaçlanmıştır. *Urginea maritima* ekstraktının çeşitli doz ve uygulama sürelerine göre hücre ve kromozom düzeyinde oluşturabileceği hasarların çeşidi (kırılmalar, yapışmalar vb.) ve miktarları *U. maritima* ekstraktının genotoksitesine ilişkin bilgiler verecektir.

3. MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışma materyali, Liliaceae familyasından tıbbi ve biopestisit özelliği bulunan *Urginea maritima* L. Baker bitkisinin soğanlarından elde edilen ekstraktır.

U. maritima ülkemizde Batı ve Güney Anadolu sahil kesimlerinde taşlı boş arazilerde ve orman altlarında yetişen, Muğla ve Antalya illerinde yaygın olarak bulunan yöresel adları Ada soğanı, Yaban soğanı, Yıldız sümbülü olarak bilinen iri soğanlı, zehirli bir bitkidir. Soğanları 5-15 cm çapında ve toprak yüzeyinin hemen altında bulunur. İlkbahar başlangıcında gelişen yapraklar dipte toplanmıştır ve yaz sonunda kurur. Sonbaharda, Ağustos-Ekim aylarında, yaprakları kurumuş olan soğanlardan çiçek durumu yükselir. Çiçek durumu; çok sayıda beyaz çiçekleri bulunan, sapı ile birlikte boyu 1-1.5 m'ye ulaşan bir rasemustur (Koyuncu, 1978'e atfen Tanker ve ark., 1998)(Şekil 1.1).



Şekil 1.1. *Urginea maritima* bitkisi (de.wikipedia.org)

3.1.1. Bitkilerin toplanması ve kurutulması

Çalışmamızda kullanılan ve ekstraktını elde ettiğimiz *Urginea maritima* bitkileri 2004 yılı Şubat-Mart aylarında Muğla Üniversitesi Ortaca Meslek Yüksek Okulu çevresindeki boş ve taşlık araziden toplanmıştır (Şekil 1.2 ve 1.3).



Şekil 1.2. Örneklerin alındığı arazide *Urginea maritima* bitkilerinin yayılışı



Şekil 1.3. *Urginea maritima* bitkisi

Şubat ayında toplanan bitkiler laboratuvara getirilerek gövde ve kök kısımları birbirinden ayrılmış ve soğanlar direkt güneş ışığı almayan kuru ve serin bir ortamda kurumaya bırakılmıştır. 4-5 aylık kuruma süresi sonunda *Urginea maritima* soğanları bir mikser yardımıyla küçük parçalara ayrılmış ve aynı şartlarda 1-2 ay daha kurumaya bırakılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Ekstraktın elde edilmesi

Tam olarak kurumuş olan soğan parçalarından Soxalet düzeneğinde sıcak su ekstraksiyon yöntemi ile ekstraktlar elde edilmiştir. Bunun için 100 ml distile su ile 2 g bitki örneği 4 saat yavaş yavaş kaynatılmıştır (Civelek, 2003). Elde edilen ekstraktlar + 4 °C’de buzdolabında ağzı kapalı şişelerde saklanmıştır.

3.2.2. Allium test metodu

Elde edilen ekstraktın hücre ve kromozomlar üzerine etkisi Allium test ile araştırılmıştır (Fiskesjö, 1981). Bu testte kullanılan *Allium cepa* bitkileri 16 (2n:2x:16) kromozoma sahiptir (Şekil 2).



Şekil 2. *Allium cepa*'nın metafazında görülen 2n=16 kromozom (M.B.10×40)

Allium-test için seçilen soğanlar, farklı dozlarda ekstrakt içeren beherlere (dozlar hacim/hacim (v/v) olarak hazırlanmıştır) 24.02.2005 tarihinde, köklendirilmek amacıyla yerleştirilmiş ve her doz için 4 tekerrür olacak şekilde deney düzeneği kurulmuştur. Uygulama dozları ön çalışma ile belirlenmiştir. Ön çalışmada, *Urginea maritima* ekstraktının % 1 (1 ml ekstrakt, 100 ml'ye distile su ile tamamlanmış), % 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ve 16'lık çözeltilerinde köklendirmeler yapılmıştır. Yakın dozlarda köklenmede dikkat çeken farklılıklar gözlenmediğinden çalışmada, *Urginea maritima* ekstraktının % 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16'lık dozları ve saf *Urginea maritima* ekstraktı (S) ile vydate (V)'in 20 ml/l çözeltilerinde köklendirmede kullanılmıştır. Ancak % 5 *Urginea maritima* ekstraktı içeren dozda dikkate değer bulgular gözlemlendiğinden bu doz da uygulanmıştır. Köklendirme 20 ± 2 °C oda sıcaklığında laboratuvar koşullarında yapılmıştır.

Vydate (V), genel adı Oxamyl olup (kimyasal adı =IUPAC; N,N-dimethyl-2-methylcarbamoyloxyimino-2-(methylthio) acetamide) kontak ve sistemik insektisit, akarisit ve nematosit özelliği bulunan ticari bir ilaçtır. Vydate'n pratikte kullanılma miktarı (20ml/l) dikkate alınmış ve 2 ml vydate, 100 ml'ye distile su ile tamamlanarak hazırlanmış (% 2) (v/v) ve kullanılmıştır.

Kurulan bu deney düzeneğinde 24 saatlik süre sonunda, kontrol grubu dışında diğer tüm gruplarda yeterli miktarda köklenme gerçekleşmemiş ve kökler inceleme yapacak büyüklüğe ulaşmamıştır. Köklerin yeterli büyüklüğe ulaşmaları beklenmiş ve soğanlardan 48, 72 ve 144 saat uygulama süreleri sonunda kök uçları her bir dozdan en az 10'ar adet olmak üzere Carnoy'un absöü alkol: kloroform: glasiyal asetik asit (6:3:1) içeren tesbit çözeltilerine alınmıştır.

3.2.3. Boyama ve preparat hazırlama

Köklendirilmeye alınan soğanların yaklaşık 2 cm kadar olan kök uçları kesilip ilk işlem olarak Carnoy'un absöü alkol: kloroform: glasiyal asetik asit (6:3:1) içeren tesbit çözeltilerine alınmıştır. Carnoy'un tesbit çözeltilerinden çıkartılan örnekler çeşme suyunda 2 kez 15'er dakika yıkanmış, kurutma kağıdı ile suları alınan örnekler 5 N HCl'de 5-10 dakika soğuk hidrolize tabi tutulmuştur (Elçi, 1978; İnce, 1989).

Hidroliz işlemi sonunda da yıkama ve kurulama işlemleri yukarıda anlatıldığı şekilde aynen uygulanmıştır. Kök uçları, en az 24 saat + 4 °C' de karanlık ortamda feulgen boyasında tutularak boyanmış ve ışık mikroskobunda inceleninceye kadar feulgen boyası içinde + 4 °C' de koyu renk şişelerde buzdolabında saklanmıştır.

Mikroskop altında incelenecek olan kök uçları feulgenden çıkarıldıktan sonra 15 dakika çeşme suyunda yıkanmıştır. Lam üzerine bir damla kadar % 45'lik asetik asit damlatılmış ve kök meristem dokusu ezme preparat tekniğine uygun olarak hazırlanıp mikroskopta incelenmiştir (Elçi, 1978).

Hazırlanan preparatta 10 tesadüfi bölgedeki toplam hücre, bölünen hücre sayıları ve bölünme safhaları, 15×40 büyütmede fotoğraf çekme özelliğine sahip Nikon UFX-2A tipi mikroskopta belirlenmiştir. Bölünen hücrelerdeki fragment, köprü, kromozom yapışması, yanlış kutuplaşma, çekirdek deformasyonları, sayısal kromozom değişiklikleri vb. kromozom anormallikleri tespit edilmiş, fotoğrafları çekilmiş ve oranları hesaplanmıştır. Ayrıca, her uygulama dozu için bölünen hücre sayısının toplam hücre sayısına oranı olan mitotik indeks hesaplanmıştır.

3.3. Veri analizleri

İstatistik analizleri, SPSS 11.01 software analiz programı kullanılarak yapılmıştır. Analizde One-way Anova testi ve LSD testi kullanılmıştır. Tüm analizlerde $\alpha = 0,05$ 'tir.

Yapılan çalışmada *U. maritima* ekstraktının giderek artan dozları ve kimyasal bir pestisit olan vydate'in etkisi ile soğan kök meristem hücrelerinde meydana gelen mitoz bölünme anormalliklerini belirlemek için çoklu varyans analizi kullanılmıştır. Gruplar arası farklılığın $p < 0.05$ 'e göre istatistiksel anlamda farklı çıkması halinde bu farklılıkların gruplar arasındaki önemi için LSD (en küçük önemli fark) testi kullanılmıştır. Böylece denemeye alınan faktörlerden zaman artışına bağlı olarak dozların sebep olduğu anormallikleri tesbit edebilmek için veriler zaman guruplarına göre sıralanmıştır. Dozlara göre meydana gelen anormallikleri belirlemek için de tek düzeyli varyans analizi (anova) yapılmıştır.

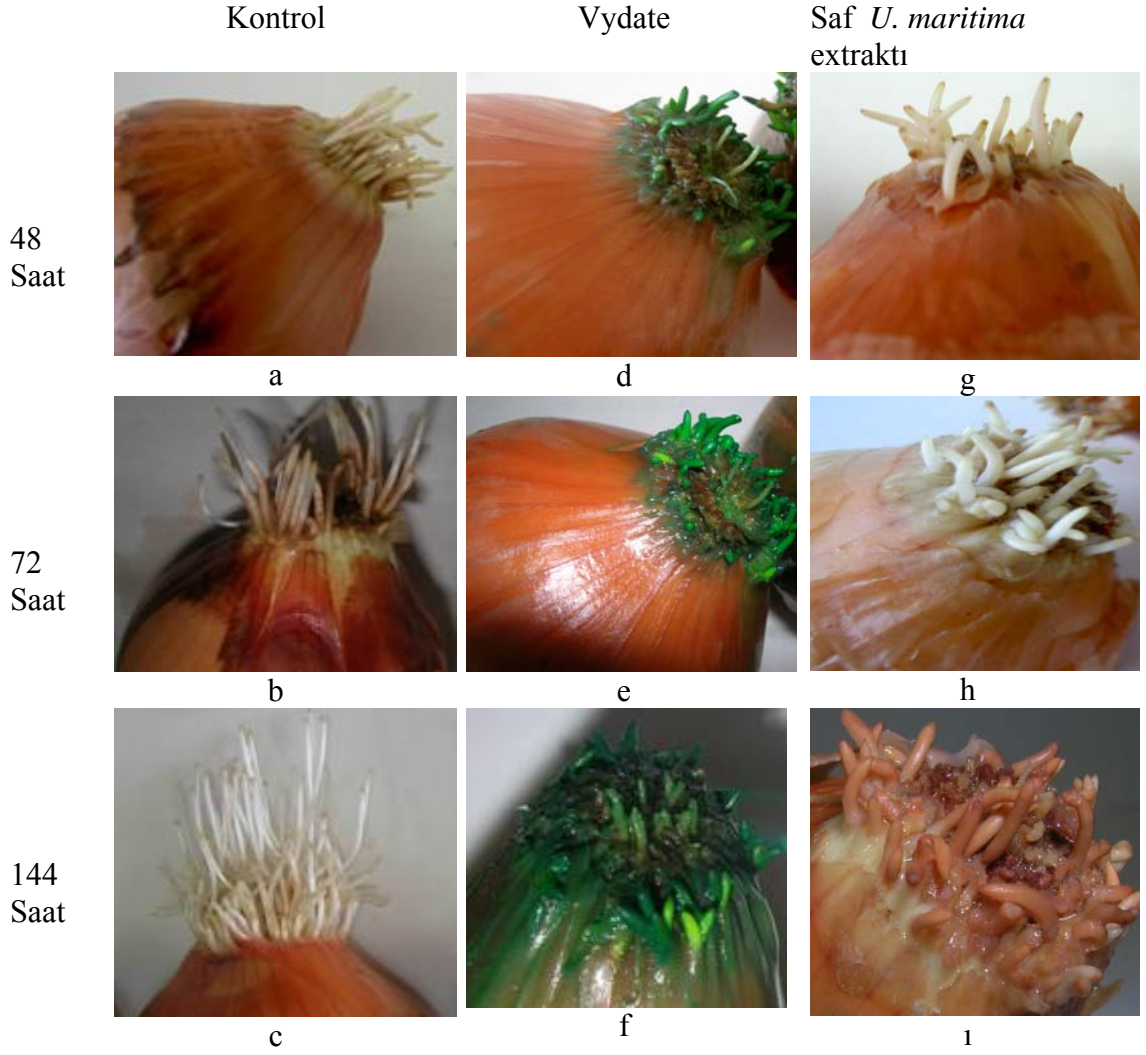
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Köklenme Durumu

U. maritima ekstraktının çeşitli dozlarını içeren çözeltilerde, % 2 vydate çözeltisinde ve kontrol amaçlı distile suda köklenmeye bırakılan *Allium cepa*'nın 48, 72 ve 144 saat sonra uygulamalara göre kök sayıları ve uzunlukları belirlenmiştir (Çizelge 2, Şekil 3).

Uygulama sürelerine göre; köklenme gözlenen soğanlardan kontrol grubundaki soğan kök uçları oldukça sağlıklı iken, kimyasal bir pestisit olan vydate çözeltisinde ve saf *U. maritima* ekstraktında aynı koşullarda ve sürelerde köklendirilmeye bırakılan soğanlardan elde edilen kök uçlarının sağlıklı oldukları gözlenmiştir. Vydate çözeltisinde ve saf *U. maritima* ekstraktında köklendirilen soğanların kök gelişiminin iyi olmadığı, ancak saf *U. maritima* ekstraktında vydate'e göre daha iyi olduğu fakat bu uygulamada belli bir süre sonra gelişimin durduğu gözlenmiştir (Şekil 3). Saf *U. maritima* ekstraktında köklendirilen soğanlarda, uygulama süresine bağlı olarak kök uçlarının kütleştiği, renk değişiminin olduğu, kök uçlarının kontrol grubuna göre daha kısa ve kalın olduğu ve uygulama sürelerinin uzaması ile yumuşak ve şeffaf renkte sümüksü bir hal aldığı ve çürüdüğü gözlenmiştir. 72 saat uygulama süresi sonunda 11 olan kök sayısı, 144 saat sonunda 2 olarak belirlenmiştir. Bunun nedeni çürümelerdir.

Distile suda köklendirilen soğanlarda, 48 saat sonra ortalama kök sayısı 22 adet, ortalama kök uzunluğu 25 mm'dir. Buna karşın saf *U. maritima* ekstraktı ve vydate uygulamalarında ortalama kök sayısı sırası ile 10 ve 15 adet, ortalama kök uzunlukları ise sırası ile 9 ve 6.5 mm'dir. 72 saat sonra kök uzunlukları, kontrolde ortalama 45 mm, saf *U. maritima*'da ortalama 11 mm ve vydate'de ortalama 7.5 mm'dir. 144 saat sonunda kontrol grubuna ait kök uzunlukları ortalama 70 mm'ye ulaşırken saf *U. maritima* ekstraktında ve vydate çözeltisinde kök uzamaları durmuş ve 72 saat sonunda belirlenen ortalama değerlerde kalmıştır (Çizelge 2, Şekil 4.1 a,b,c, Şekil 4.2 a,b,c).



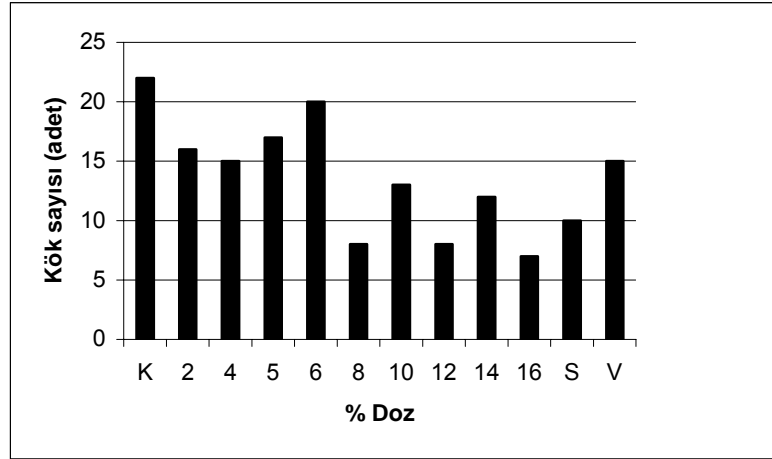
Şekil 3. Kontrol (a,b,c), vydate (d,e,f) ve saf *U. maritima* ekstraktında (g,h,i) 48, 72 ve 144 saatlik uygulama süreleri sonunda soğanların köklenme durumları.

Çizelge 2. Uygulama doz ve sürelerine göre ortalama kök sayısı (adet) ve uzunlukları (mm)

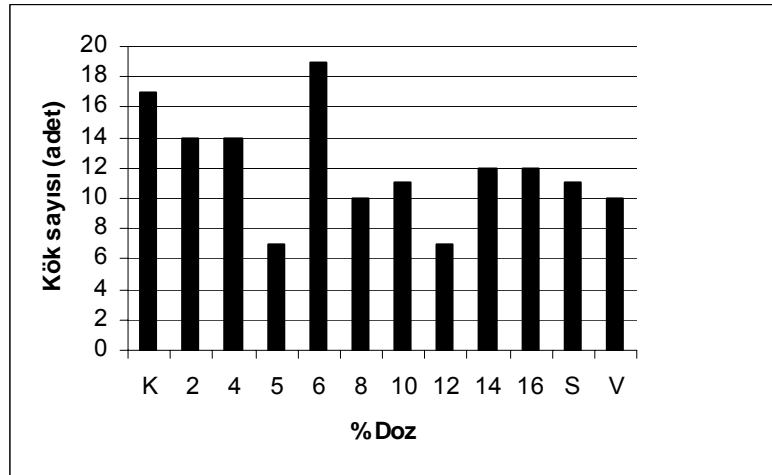
Dozlar	Uyg. Süresi (saat)	Kök sayısı (adet)	Kök uzun. (mm)	Uyg. Süresi (saat)	Kök sayısı (adet)	Kök uzun. (mm)	Uyg. Süresi (saat)	Kök sayısı (adet)	Kök uzun. (mm)
K	48	22	25	72	17	45	144	16	70
% 2	48	16	14	72	14	17	144	17	21
% 4	48	15	11.5	72	14	14	144	10	16
% 5	48	17	11	72	7	13	144	14	15
% 6	48	20	12	72	19	15	144	14	16.5
% 8	48	8	11.5	72	10	13.5	144	15	14.5
% 10	48	13	10.5	72	11	13.5	144	10	14.5
% 12	48	8	11	72	7	12.5	144	11	13.5
% 14	48	12	10.5	72	12	12.5	144	9	14.5
% 16	48	7	10.5	72	12	11.5	144	9	13.5
S	48	10	9	72	11	11	144	2	11
V	48	15	6.5	72	10	7.5	144	10	7.5

Uygulama dozlarına bağlı olarak kök sayıları, uygulama sürelerine göre ve tüm uygulama sürelerine ait verilerin ortalamasına göre istatistiki olarak değerlendirildiğinde; 48 saatlik uygulama süresi sonunda kök sayısı en yüksek kontrol ve % 6 *U. maritima* ekstraktı dozunda, en düşük kök sayısı ise % 16 *U. maritima* dozunda gözlenmiş ve dozlar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$) (Çizelge 3.1). 72 saatlik uygulama süresi sonunda, en yüksek kök sayısı % 6 *U. maritima* dozunda ve kontrolde, en düşük kök sayısı ise % 5 ve % 12 *U. maritima* dozlarında gözlenmiş olup dozlar istatistiki olarak önemlidir (* $p < 0,05$) 144 saatlik uygulama süresi sonunda, en yüksek kök sayısı % 2 *U. maritima* dozunda ve kontrolde gerçekleşirken bunu % 4, % 5 ve % 6 *U. maritima* dozları izlemiştir. En düşük kök sayısı, saf *U. maritima*'da gözlenmiş olup fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$) (Çizelge 3.1).

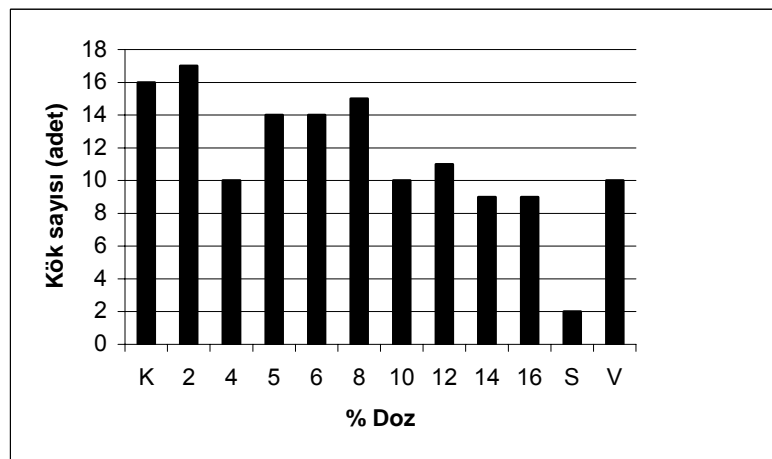
Tüm uygulama sürelerindeki kök sayılarının ortalamaları alınarak yapılan istatistiki analizde, en yüksek kök sayısı kontrol, % 6 ve % 2 *U. maritima* ekstraktı içeren dozlarda, en düşük kök sayısı ise saf *U. maritima* ekstraktında ve % 12 *U. maritima* dozunda gözlenmiştir. Dozlar arasındaki fark kök sayısı bakımından istatistiki açıdan önemlidir (* $p < 0,05$) (Çizelge 3.1).



(a)

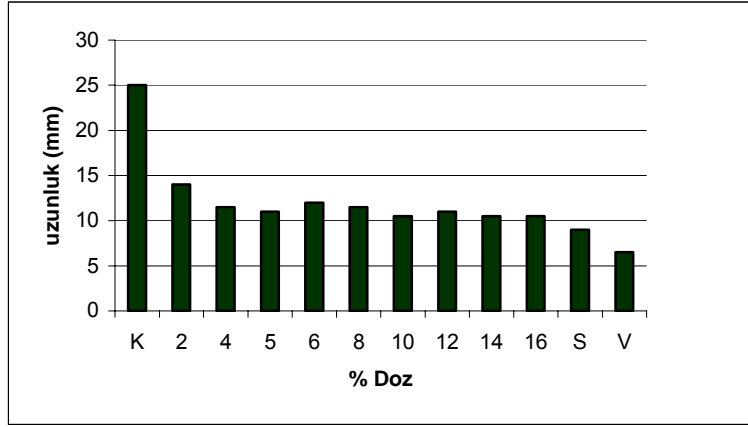


(b)

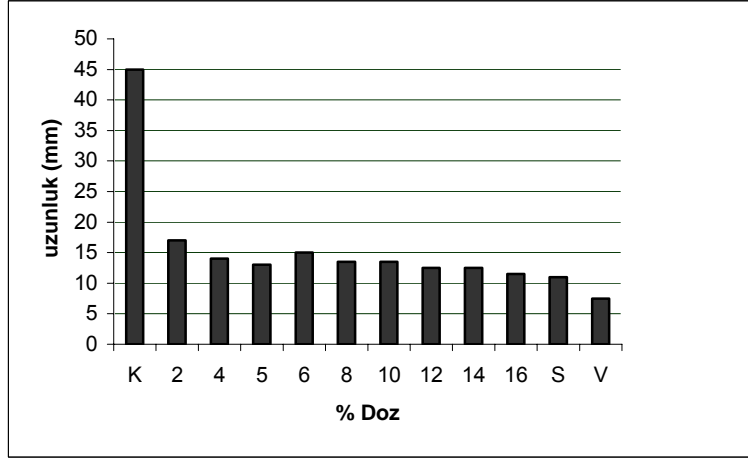


(c)

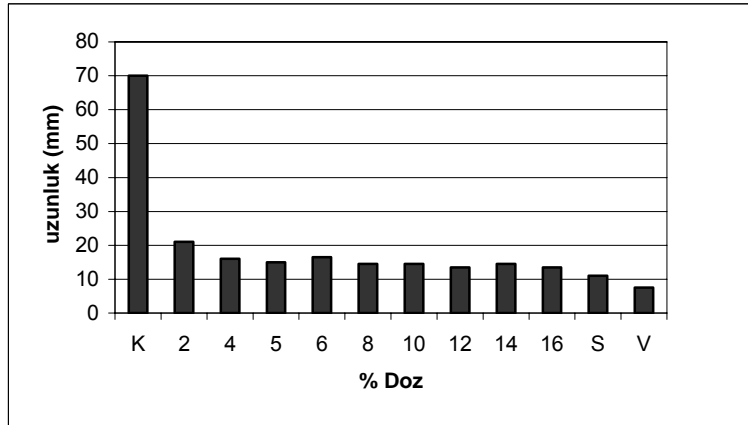
Şekil 4.1. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerin ortalama kök sayıları (adet)



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.2. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerin ortalama kök uzunlukları (mm).

Çizelge 3.2’de uygulama dozlarına bağlı olarak kök uzunluklarının ve uygulama sürelerine göre kök uzunluklarının istatistiki analiz sonuçları verilmiştir. 48 saat uygulama süresi sonunda kök uzunluğu en yüksek, kontrolde en düşük vdate ve saf *U. maritima* uygulamasında gözlenmiş olup dozlar arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($*p < 0.05$). 72 saatlik uygulama süresi sonunda kök uzunluğu en yüksek, kontrol ve % 2 *U. maritima* ekstraktı içeren dozda olup en düşük vdate ve saf *U. maritima* uygulamasında gözlenmiştir. Dozlar arasındaki fark 72 saat uygulama süresi sonunda istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($*p < 0.05$). 144 saatlik uygulama süresi sonunda kök uzunluğu en yüksek, kontrol ve % 2 *U. maritima* ekstraktı içeren dozda olup en düşük vdate ve saf *U. maritima*’da gözlenmiştir. 144 saat uygulama süresinde de dozların, kök uzunluğuna etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($*p < 0.05$). Tüm uygulama sürelerinin ortalamalarına göre kök uzunluklarının istatistiki analizi, uygulama dozlarının kök uzunluğuna etkisinin istatistiki bakımdan önemli olduğunu göstermiştir ($*p < 0.05$). En uzun kök kontrol (46.66 mm) ve % 2 *U. maritiama* (17.33 mm) ekstraktı içeren dozda olup en düşük kök uzunluğu, vdate (7.16 mm) ve saf *U. maritima* (10.36 mm)’da gözlenmiştir (Çizelge 3.2).

Kök sayısı ve kök uzunlukları uygulama süresine göre değerlendirildiğinde zaman artışına paralel olarak kök uzaması artmış ancak, köklenme (kök sayısı) azalmıştır. Uygulama süresi bu iki özellik bakımından da istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($*p < 0.05$) (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.1. Uygulama dozlarına bağlı kök sayılarının, uygulama sürelerine göre ve tüm uygulama sürelerine ait verilerin ortalamasına göre yapılan istatistiki analiz sonucu

Dozlar	48 saat	72 saat	144 saat	Ortalama
K	22 g	17 d	16 cd	18.33 f
% 2	16 f	14 c	17 d	15.66 e
% 4	15 ef	14 c	10 b	13 d
% 5	17.25 f	7 a	14 c	12.75 d
% 6	20 g	19 d	14 c	17.66 ef
% 8	8 ab	10 b	15 c	11 bcd
% 10	13 de	11 b	10 b	11.33 bcd
% 12	8 ab	7 a	11 b	8.66 ab
% 14	12 cd	12 bc	9 b	11 bcd
% 16	7 a	12 bc	9 b	9.33 abc
S	10 bc	11 b	2 a	7.66 a
V	15 ef	10,25 b	10 b	11.75 cd

Çizelge 3.2. Uygulama dozlarına bağlı olarak kök uzunluklarının (mm), sürelerine göre ve tüm uygulama sürelerine ait verilerin ortalamasına göre istatistiki analiz sonucu

Dozlar	48 saat	72 saat	144 saat	Ortalama
K	25 e	45 g	70 g	46.66 e
% 2	14 d	17 f	21 f	17.33 d
% 4	11,5 c	14 de	16 de	13.83 bc
% 5	11 c	13 cde	15 cde	13 bc
% 6	12 c	14,6 e	16,4 e	14,33 c
% 8	11,5 c	13,5 de	14,5 cd	13,16 bc
% 10	10,5 bc	13,5 de	14,5 cd	12,83 bc
% 12	11 c	12,5 bcd	13,5 c	12,33 bc
% 14	10,5 bc	12,5 bcd	14,5 cd	12,5 bc
% 16	10,5 bc	11,4 bc	13,5 c	11,80 bc
S	9 b	11 b	11 b	10,36 b
V	6,5 a	7,5 a	7,5 a	7,16 a

Çizelge 3.3. Kök sayısı ve uzunluklarının uygulama süresine göre istatistiki analiz sonucu

Uygulama süresi	mm uzunluk	Kök sayısı
48 saat	11,91 a	13.60 a
72 saat	15,45 b	12.02 ab
144 saat	18,95 c	11.41 b

4.2. Mitoz ve Mitotik İndeks

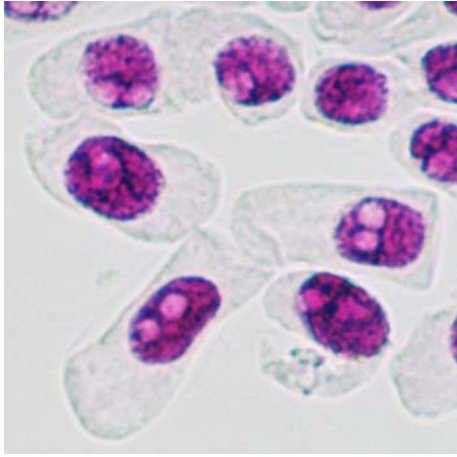
Çalışmamızda, hazırlanan preparatlardan mitozda olan toplam hücre sayısı ve mitoz bölünmenin her bir safhasındaki (profaz, metafaz, anafaz, telofaz) (Şekil 5) hücre sayıları belirlenmiştir (Çizelge 4, Şekil 6. a,b,c).

% 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16 *U. maritima* ekstraktı içeren dozlar ile saf *U. maritima* ekstraktında ve vydate çözeltilinde köklendirilen soğanların, kök meristem dokusunda bölünen hücre sayısında bir azalma gözlenmiştir. Çizelge 2’de verilen 48, 72 ve 144 saat sonundaki kök uzunlukları ile toplam bölünen hücre sayısındaki azalma (Çizelge 4) doğru orantılı bir ilişkiyi ortaya koymaktadır. Ancak, Çizelge 4, 48 saat uygulama süresine ait verilerde doz artışına bağlı olarak toplam bölünen hücre sayısında bir azalma olmadığı aksine ortalama toplam bölünen hücre sayısının en yüksek vydate çözeltilinde (ortalama 98 hücre) gerçekleştiği görülmektedir. Bunu sırası ile % 14 ve % 16 *U. maritima* dozları ve kontrol izlemiştir. Kök uzunluklarının uygulama süresi ve doz artışı ile ilişkisini gösteren Şekil 4.2 ve toplam bölünen hücre sayılarını gösteren Çizelge 4’deki 72 ve 144 saat uygulama sürelerindeki veriler örtüşmektedir.

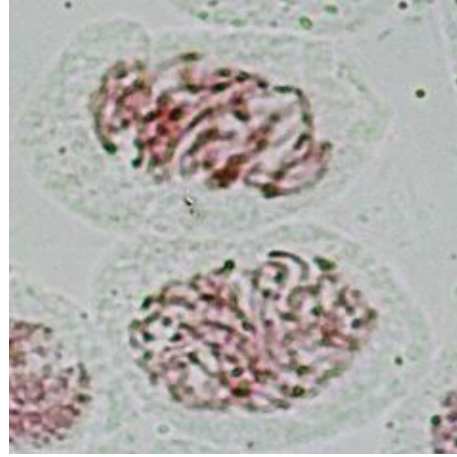
Bu değerlendirmeyi yaparken saf *U. maritima* ve vydate çözeltilerinde gelişmenin sadece 48 ve çok düşük olarak ta 72 saatlik uygulama süreleri sonunda gözlendiği unutulmamalıdır.

Çizelge 4. Uygulama doz ve süresine bağlı olarak gözlenen mitoz safhalarındaki ortalama hücre sayısı ve ortalama toplam bölünen hücre sayısı ile ortalama anormal hücre sayısı

Dozlar	Uygulama Süresi (saat)	Ortalama Profaz	Ortalama Metafaz	Ortalama Anafaz	Ortalama Telofaz	Ortalama Anormal Toplam Hücre	Ortalama Toplam Bölünen Hücre
K	48	14	8	7.6	2.2	2.6	34
% 2	48	7	1.2	1.2	1.1	3.1	14
% 4	48	7	1.5	1.2	0.6	3.5	14
% 5	48	8	1.7	2.3	1.7	21.7	35
% 6	48	6.1	4	3	1.8	5.2	20
% 8	48	4.3	1	1.1	1.2	2.8	10
% 10	48	5	0.7	1	0.6	1.5	9
% 12	48	3.2	1.4	1.3	1.1	2.8	10
% 14	48	22	4.1	3.5	2.6	17	49
% 16	48	20	9	6	3	5.8	44
S	48	9.1	2	0.4	0.5	4.2	16
V	48	41	18	4.6	3.2	31.5	98
Toplam		146.7	52.6	33.2	19.6	101.7	354
K	72	38	24	2.2	0.7	1	66
% 2	72	19	14	0.8	0.6	5.4	40
% 4	72	10	7	1.4	0.5	7.2	26
% 5	72	14	10	2.3	1.2	0	28
% 6	72	27	13	4.2	3.8	4.2	52
% 8	72	3.3	2.5	0.4	0.6	0.3	7
% 10	72	6	1	0.2	0.4	0	8
% 12	72	18	11	1.4	1.7	0	32
% 14	72	13	7	1	0.7	1.8	24
% 16	72	5.85	0	0	0	0	6
S	72	9.9	3	0.3	1	6.2	20
V	72	10.7	8	2.3	1.1	7	29
Toplam		174.75	100.5	16.5	12.3	33.1	337
K	144	125	46	14	19.1	11.6	216
% 2	144	198	64	19	25.6	35	342
% 4	144	209	74	12	8.8	24	328
% 5	144	68.5	32	4.2	2.3	3.9	111
% 6	144	60.3	33.3	5.11	4.9	0.7	104
% 8	144	66.3	36.3	8	8.7	1.1	32
% 10	144	18	10.4	1.4	1.7	0	32
% 12	144	21.2	14	4	4.6	0.2	44
% 14	144	35.2	14	2.2	1.7	0.4	54
% 16	144	14.3	10	2.2	1.2	0.7	19
S	144	10	2.2	0.5	0.5	6	19
V	144	13.3	4.5	1.8	1.3	9.1	30
Toplam		839.1	340.7	74.41	80.4	92.7	1331



İnterfaz nukleusları



Erken profaz



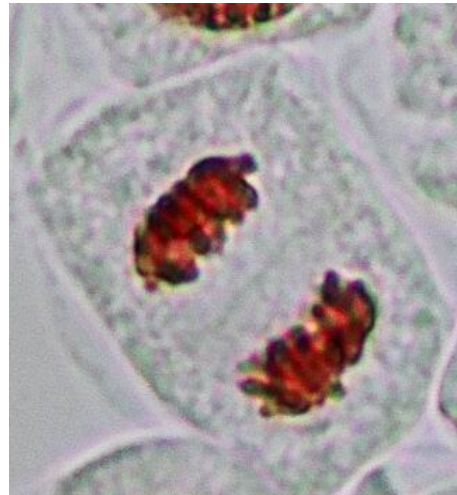
Geç profaz



Metafaz

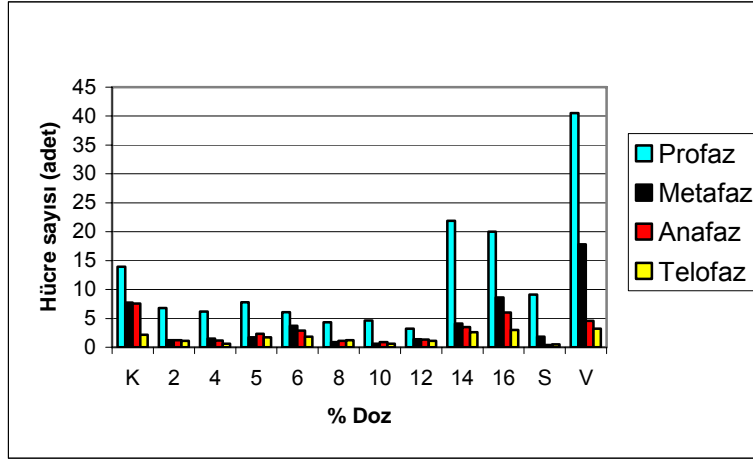


Anafaz

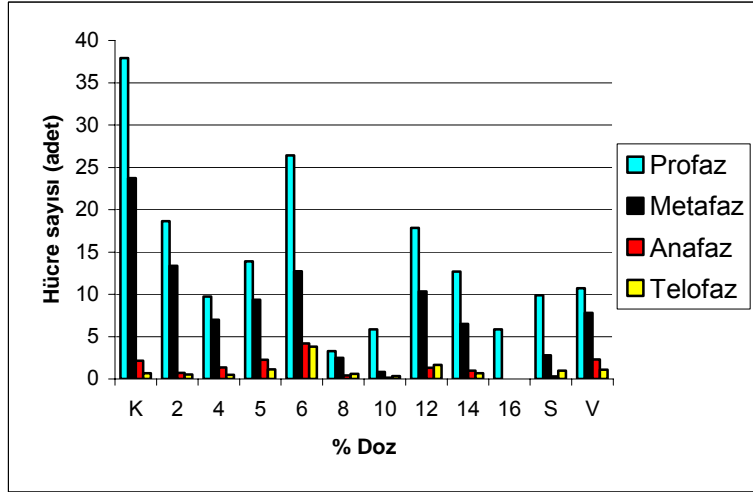


Telofaz

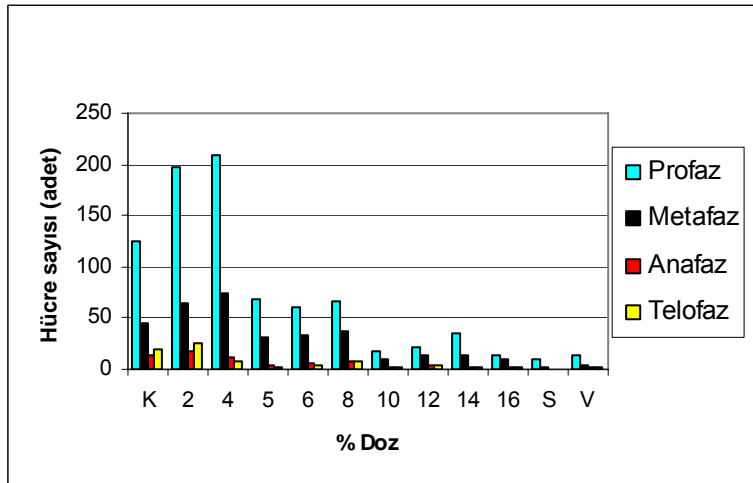
Şekil 5. Kontrol preparatlarında interfaz nukleusları ve mitoz



(a)



(b)



(c)

Şekil 6. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulama süreli örneklerde mitoz evreleri

4.2.1 Mitotik İndeks

Aynı köklendirme koşullarında, uygulama doz ve sürelerine göre mitotik indeks (MI) değişim göstermiştir.

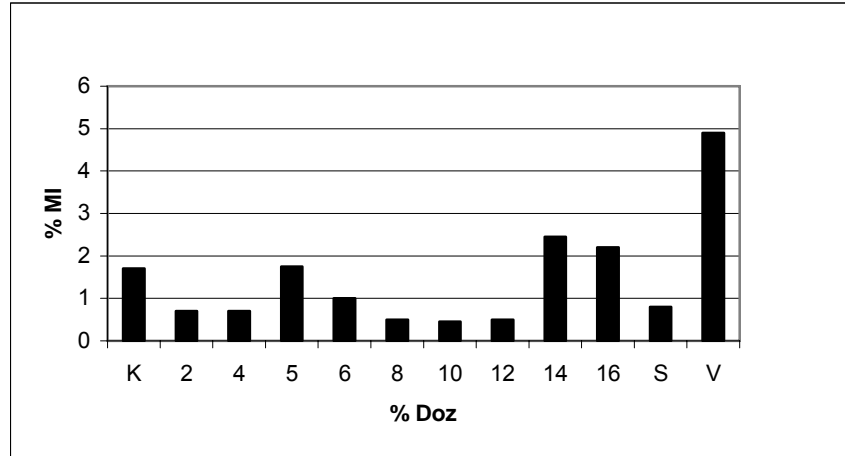
48 saat uygulamada MI, % 4.9 ile en yüksek vdate uygulamasında gözlenmiştir. Bunu % 2.45 ve % 2.2 ile sırasıyla % 14 ve % 16 *U. maritima* dozları izlemiştir. En düşük (% 0.45), % 10 *U. maritima* dozunda gerçekleşmiş olup bunu % 0.50 mitotik indeks ile % 12 *U. maritima* dozu izlemiş ve kontrolde mitotik indeks % 1.7 bulunmuştur (Çizelge 5 ve Şekil 7).

72 saat uygulamalı örneklerde ortalama toplam bölünen hücre sayısı en yüksek (66 hücre) kontrol grubunda görülmüş ve bunu % 6 *U. maritima* dozunda ortalama 52 bölünen hücre gözlenmesi izlemiştir. 72 saat uygulamada en düşük ortalama bölünen hücre sayısı *U. maritima*'nın % 8'lik dozunda 7 adet olarak belirlenmiştir. Mitotik indeks, en yüksek % 3.3 ile kontrol'de sonra sırası ile % 6 ve % 2'lik *U. maritima* ekstraktı içeren dozlarda % 2.6 ve % 2.0 olarak gözlenirken en düşük % 0.35 ile % 8'lik *U. maritima* ekstraktı dozunda gözlenmiştir (Çizelge 5 ve Şekil 7).

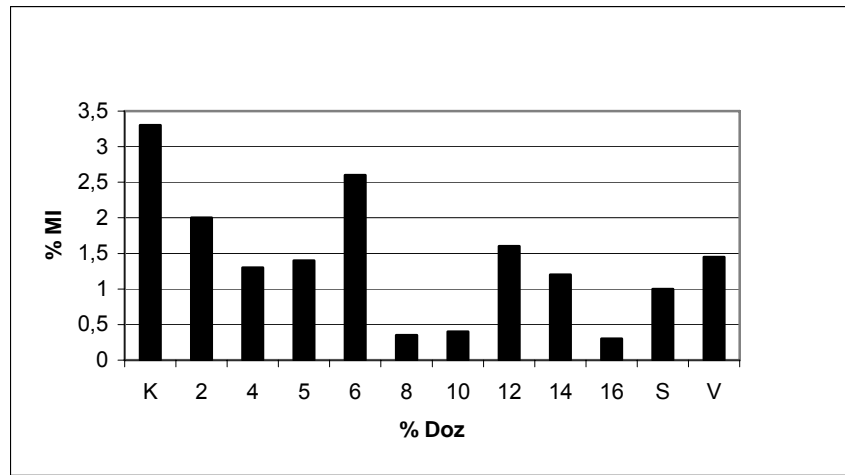
144 saat uygulama süresi sonunda kök ucu örneklerinde toplam bölünen hücre sayısı en yüksek 342 hücre ile % 2 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenirken % 4 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında 328 adet bölünen hücre ve kontrolde 216 bölünen hücre gözlenmiştir. En düşük toplam bölünen hücre sayısı saf *U. maritima* ekstraktı uygulamasında olup ortalama 19 hücrede kalmıştır. MI % 2 *U. maritima* ekstraktında % 17.01, % 4 *U. maritima* ekstraktında % 16.4 ve kontrolde % 10.8 bulunmuştur. En düşük mitotik indeks, % 0.95 ile saf *U. maritima* ekstraktında bulunmuştur (Çizelge 5 ve Şekil 7).

Çizelge 5. Doz ve uygulama sürelerine göre ortalama toplam bölünen hücre sayısı ve % mitotik indeks (MI)

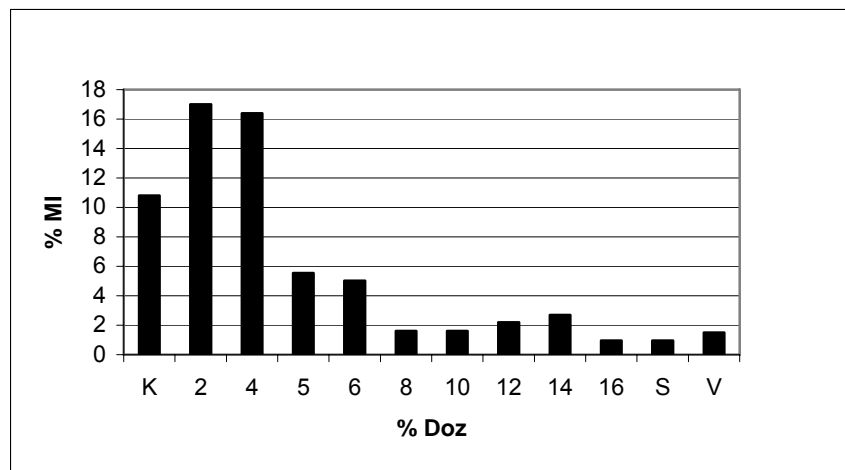
Dozlar	Uygulama Süresi (saat)	% MI
K	48	1.7
% 2	48	0.7
% 4	48	0.7
% 5	48	1.75
% 6	48	1.0
% 8	48	0.5
% 10	48	0.45
% 12	48	0.5
% 14	48	2.45
% 16	48	2.2
S	48	0.8
V	48	4.9
K	72	3.3
% 2	72	2
% 4	72	1.3
% 5	72	1.4
% 6	72	2.6
% 8	72	0.35
% 10	72	0.4
% 12	72	1.6
% 14	72	1.2
% 16	72	0.3
S	72	1
V	72	1.45
K	144	10.8
% 2	144	17.01
% 4	144	16.4
% 5	144	5.55
% 6	144	5.02
% 8	144	1.6
% 10	144	1.6
% 12	144	2.2
% 14	144	2.7
% 16	144	0.95
S	144	0.95
V	144	1.5



(a)



(b)



(c)

Şekil 7. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerde % mitotik indeks (MI)

Çizelge 6. Dozlara göre MI (%) değerlerinin istatistiki analiz sonucu

Dozlar	MI (Mitotik İndeks)
K	5.266 d
% 2	6.600 e
% 4	6.133 e
% 5	2,900 abcd
% 6	2.933 abcd
% 8	0.816 a
% 10	0.816 a
% 12	1.433 ab
% 14	2.11 abc
% 16	1.150 ab
S	0.916 a
V	2.610 abcd

En düşük MI, % 8 ve % 10'luk *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında gerçekleşmiş olup, bunu saf *U. maritima* ekstraktı, % 16 ve % 12 dozları izlemiştir. En yüksek mitotik indeks % 2 ve % 4 *U. maritima* ekstraktı dozlarında gerçekleşmiş olup bu uygulamalar istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır (*p> 0.05) (Çizelge 6). Bunları kontrol izlemiştir. Toplam bölünen hücre sayısı en düşük % 8 ve % 10 *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında gözlenmiş olup bunu saf *U. maritima* ekstraktı, % 16 ve % 12 *U. maritima* ekstraktı dozları izlemiştir. Buna karşılık en yüksek sırası ile % 2 ve % 4'lik *U. maritima* ekstraktı içeren dozlarda ve kontrolde görülmüştür. Toplam bölünen hücre sayısı bakımından dozlar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuş (*p<0.05) ve uygulamadaki yüksek dozlar (% 8, 10, 12, 14, 16'lık *U. maritima* ekstraktı dozları), saf *U. maritima* ekstraktı ve vdate uygulamaları ile düşük dozlar (% 2 ve % 4 *U. maritima* ekstraktları) ve kontrol ayrı ayrı gruplarda yer almıştır (Çizelge 6). Bu sonuçlar; Allium test metodu kullanılarak sitogenetik etkileri araştırılan *U. maritima* ekstraktının soğan köklerinde doz artışına bağlı olarak hücre bölünmesini istatistiki olarak önemli derecede baskıladığını göstermektedir.

4.3. Kromozom Hasarları:

U. maritima ekstraktının çeşitli dozlarında ve vdyate çözeltilisinde gelişen soğan kök uçlarından, uygulama doz ve sürelerine göre hazırlanan preparatlar incelendiğinde çeşitli kromozom hasarları gözlenmiştir (Çizelge 7).

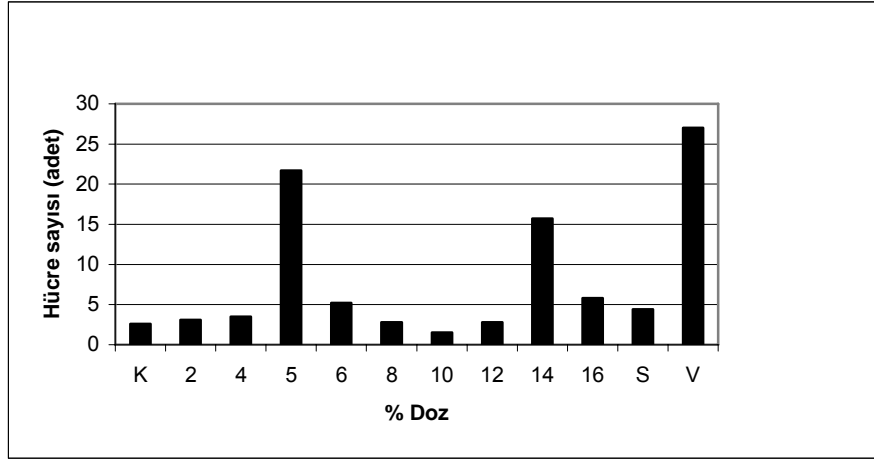
48 saat uygulama süresinde, tüm dozların ortalaması olarak toplam 102 anormal hücre sayılmıştır. Anormal hücrelerin oluşmasına en yüksek oranda 32 hücre ile vdyate uygulaması sebep olmuştur. Bunu 22 hücre ile % 5 ve 17 hücre ile de % 14 *U. maritima* ekstraktı dozları izlemiştir. En düşük anormal hücre sayısı kontrolde gözlenmiştir. 48 saat uygulamada en sık rastlanan mitoz anormallikleri, 36 hücrede metafazda yapışma, 22 hücrede düzensiz metafaz ve 15 hücrede metafazda fragment oluşumudur (Çizelge 7). Bu anormalliklere ilave olarak ortalama 10-15 hücrede anafaz düzensizlikleri de gözlenmiştir.

72 saat uygulamada, tüm dozların ortalaması olarak toplam 30 anormal hücre sayılmıştır. Anormal hücreler, en yüksek 7 hücre ile vdyate ve % 4 *U. maritima* ekstraktı dozunda gözlenmiştir. % 5, 8, 10, 12, 14 ve 16 *U. maritima* ekstraktı dozlarında anormal hücre oluşumu gözlenmezken kontrolde ortalama 1 hücrede anormallik görülmüştür. 72 saat uygulamada en sık rastlanan mitoz anormallikleri, metafazda fragment oluşumu (12 hücre), metafazda yapışma (7 hücre) ve düzensiz metafaz (3 hücre) oluşumudur (Çizelge 7). Ayrıca, ortalama 3 hücrede anafaz düzensizlikleri görülmüştür.

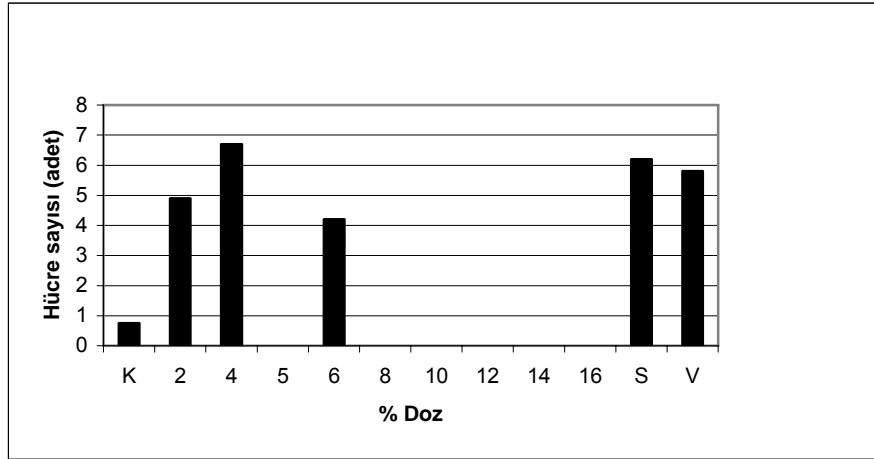
144 saat uygulama süresinde, uygulama dozlarının ortalaması olarak toplam 93 anormal hücre gözlenmiştir. Anormal hücreler, en yüksek % 2 *U. maritima* ekstraktı dozunda (35 hücre) gözlenmiş bunu % 4 *U. maritima* ekstraktı dozu (24 hücre), vdyate (9 hücre) ve saf *U. maritima* ekstraktı (6 hücre) izlemiştir. Buna karşılık % 10 ve 14 *U. maritima* ekstraktı dozlarında anormal hücre oluşumu gözlenmezken, kontrolde 11 anormal hücre tespit edilmiştir. Bu uygulama süresinde en sık rastlanan mitoz anormallikleri ise metafazda yapışma (32 hücre), metafazda fragment (31 hücre), anafazda köprü (12 hücre) ve anafazda yanlışkutuplaşma (10 hücre) olmuştur (Çizelge7).

Çizelge 7. Uygulama doz ve sürelerine göre mitozda gözlenen anormal toplam hücre sayıları (ortalama)

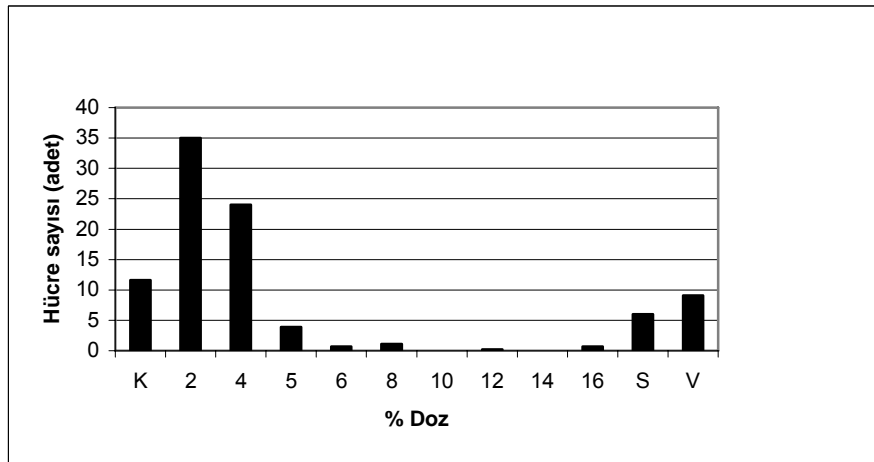
Dozlar	Uyg. süresi (saat)	Met.'da yapışma	Met.'da Fragment	Düzensiz Metafaz	Anf.'da Y. Kut	Anf.'da köprü	Düzensiz Anafaz	Anormal Toplam Hücre.	% Anormal Hücre
K	48	1	0.7	0.1	0.2	0.6	0.09	2.6	0.1
% 2	48	1.2	1	0	1	0	0.1	3.1	0.2
% 4	48	1.3	1	0.4	0.5	0.1	0.3	3.5	0.2
% 5	48	4.4	4	13	0.9	0.2	0	21.7	1.1
% 6	48	3	0.4	0	1.5	0.4	0	5.2	0.3
% 8	48	1.8	0	0	0.7	0.3	0	2.8	0.2
% 10	48	0.7	0.4	0	0.5	0	0.1	1.5	0.1
% 12	48	1.2	0.3	0	0.8	0.5	0	2.8	0.1
% 14	48	7.2	3	0.9	3.5	1.6	1.3	17	0.9
% 16	48	3.2	0.6	0	1.4	0.2	0.4	5.8	0.3
S	48	1	0.3	1.6	0.2	0.3	0.7	4.2	0.2
V	48	10.4	4	6.2	2	6.3	2.6	31.5	1.6
Toplam		36.4	15.7	22.2	13.2	10.5	5.7	101.7	5.3
K	72	0.1	0.5	0.1	0	0.3	0	1	0.05
% 2	72	0.2	4.3	0.4	0.01	0.3	0.1	5.4	0.3
% 4	72	0.9	6	0	0.3	0	0	7.2	0.4
% 5	72	0	0	0	0	0	0	0	0
% 6	72	2.6	0.4	0	0.8	0.4	0	4.2	0.2
% 8	72	0.1	0	0	0	0.2	0	0.3	0.02
% 10	72	0	0	0	0	0	0	0	0
% 12	72	0	0	0	0	0	0	0	0
% 14	72	0.2	0	0	1.2	0.4	0	1.8	0.1
% 16	72	0	0	0	0	0	0	0	0
S	72	1.6	0.1	1.6	0.7	0.2	1.8	6.2	0.3
V	72	1.5	1.1	1.5	0.8	0.5	0.9	7	0.3
Toplam		7.2	12.4	3.6	3.8	2.3	2.8	33.1	1.6
K	144	4.4	4	0	1.7	1.8	0	11.6	0.6
% 2	144	11	17	0	2.9	3.7	0.4	35	1.8
% 4	144	11.3	7	0	2.5	3	0.4	24	1.2
% 5	144	1	2	0	0.5	0.5	0	3.9	0.2
% 6	144	0.3	0	0	0.4	0.12	0	0.7	0.04
% 8	144	0	0	0	0.5	0.7	0	1.1	0.06
% 10	144	0	0	0	0	0	0	0	0
% 12	144	0	0	0	0.2	0	0	0.2	0.01
% 14	144	0	0	0	0.4	0	0	0.4	0.02
% 16	144	0	0	0	0	1	0	0.7	0.04
S	144	2	0.4	2	0.4	0.1	1.2	6	0.3
V	144	3	1	3	0.7	0.6	2	9.1	0.5
Toplam		33	31.4	5	10.2	11.5	4.	92.7	4.8



(a)



(b)



(c)

Şekil 8. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulama sürelerinin sonunda mitozda görülen ortalama anormal toplam hücre sayıları

Uygulama dozlarına göre bakıldığında toplam anormal hücre sayısı en yüksek vdate uygulamasında (13.93) görülmüştür. Anormal hücre sayısı üzerine dozların etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge 8.1).

Anormal hücre sayısı ile uygulama süreleri arasındaki ilişki ele alındığında, 72 saat uygulamalı örneklerde gözlenen anormal hücre sayısı daha az olup bu uygulama süresi 48 ve 144 saat uygulama sürelerine göre istatistiki açıdan ayrı bir grupta yer almıştır (* $p < 0,05$), (Çizelge 8.2).

Çizelge 8.1. Dozlar ile anormal hücre oluşumu arasındaki ilişkiyi gösteren istatistiki analiz sonucu

Dozlar	Toplam Anormal Hücre	% Anormal Hücre
K	4.5882 abc	0.2294 abc
% 2	11.6429 de	0.5821 de
% 4	10.1071 cde	0.5054 cde
% 5	8.7667 bcde	0.4383 cde
% 6	3.4483 ab	0.1862 abc
% 8	1.2727 a	0.0636 ab
% 10	0.6000 a	0.0210 a
% 12	1.5263 a	0.0763 ab
% 14	7.1364 abc	0.3568 bcd
% 16	1.7000 a	0.0850 ab
S	5.5333 abcd	0.2767 abcd
V	13.9333 e	0.6967 e

Çizelge 8.2. Uygulama süreleri ile anormal hücre oluşumu arasındaki ilişkiyi gösteren istatistiki analiz sonucu

Uygulama süresi	Toplam Anormal Hücre	% Anormal Hücre
48	8.0256 b	0.4032 b
72	2.7157 a	0.1358 a
144	7.4038 b	0.3702 b

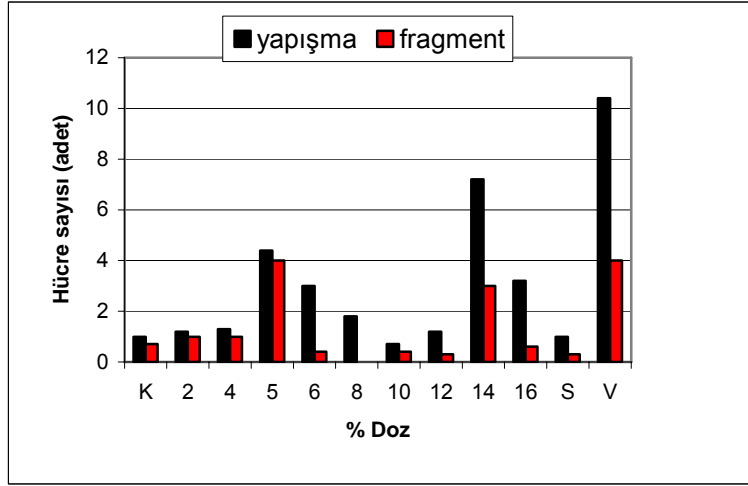
4.3.1. Metafazda yapışma

Çalışmamızda uygulama doz ve süresine göre toplamda en çok görülen anormallik türü 74 hücre ile metafazda kromozomlarda yapışma (sticky) olmuştur. 48 saat uygulamada toplam 36 hücrede, 72 saat uygulamada 7 hücrede ve 144 saat uygulamada 31 hücrede kromozom yapışmaları görülmüştür.

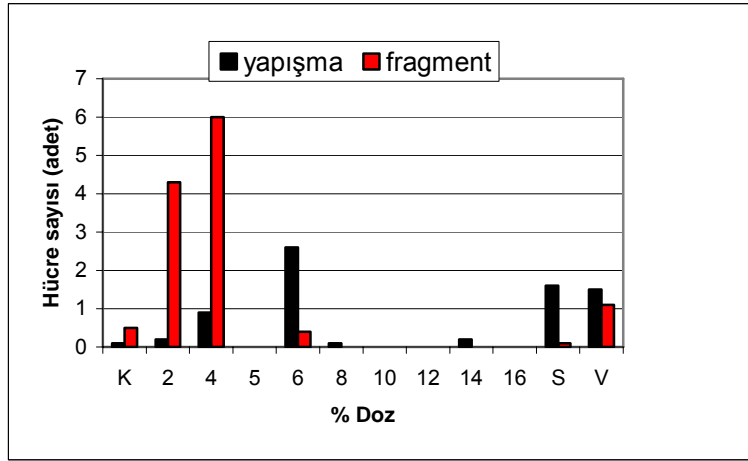
48 saat uygulamalı örneklerden hazırlanan preparatlarda gözlenen kromozom yapışmalarının 11'i vydate uygulamasındadır. % 14 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında da 7 hücrede kromozomlarda yapışma gözlenmiştir. 72 saat uygulamalı örneklerde de kromozom yapışmalarına yine en fazla vydate uygulaması sebep olurken, 144 saat uygulamalı örneklerde % 2 *U. maritima* ekstraktı uygulama dozunda 12 hücre ve % 4 uygulama dozunda da 11 hücrede olmak üzere 72 saatlik uygulama süresine göre daha fazla sayıda kromozom yapışmaları tespit edilmiştir (Şekil 9).

En yüksek miktarda yapışma vydate uygulamasında gözlenmiş bunu % 4 *U. maritima* ekstraktı dozu izlemiştir. En düşük olarak da % 8, % 10 ve % 12 *U. maritima* ekstraktı uygulama dozlarında gözlenmiştir. Uygulama dozlarına bağlı olarak görülen kromozom yapışmalarında dozlar arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge 9.1).

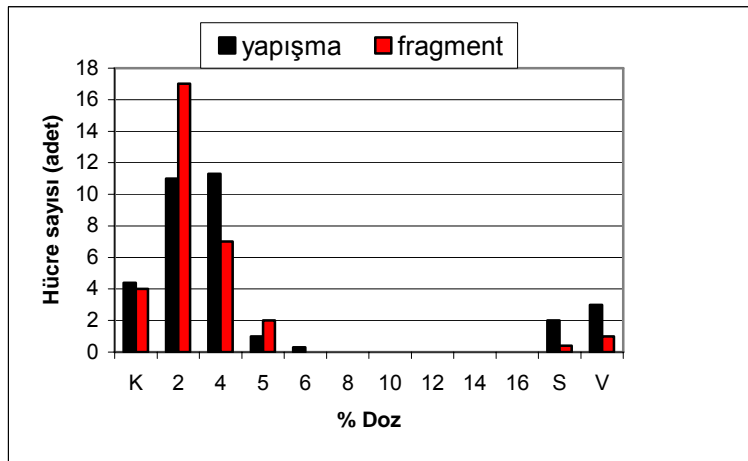
Kromozom yapışmaları uygulama süresine bağlı olarak değerlendirildiğinde 72 saatlik uygulama süresinde düşük olup diğer uygulama süreleri ile istatistiki olarak önemli bir farklılık bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge 9.2).



(a)



(b)



(c)

Şekil 9. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerde metafazda gözlenen kromozom yapışmaları ve fragment oluşumları

Çizelge 9.1. Uygulama dozlarına bağlı olarak mitoz evrelerinde görülen ortalama anormal hücre sayılarının istatistikî analizi

Dozlar	Metafazda Yapışma	Metafazda Fragment	Düzensiz Metafaz	Anafazda Yanlış Kutuplaşma	Anafazda Köprü	Düzensiz Anafaz
K	1.6765 abcd	1.5588 a	0.0588 a	0.5588 ab	0.8235 a	0.0294 a
% 2	3.2143 bcde	6.1786 c	0.1429 a	1.0714 abc	1.0357ab	0.1786 a
% 4	4.8667 de	3.8571 b	0.1429 a	0.9643 abc	0.8214 a	0.2593 ab
% 5	1.8333 abcd	2.0667 ab	4.2667 c	0.5000 ab	0.2667 a	0.0000 a
% 6	2.0000 abcd	0.2759 a	0.0000 a	0.8966 abc	0.3103 a	0.0000 a
% 8	0.5758 a	0.0000 a	0.0000 a	0.3939 ab	0.4242 a	0.0000 a
% 10	0.2500 a	0.1500 a	0.0000 a	0.2000 a	0.0000 a	0.0500 a
% 12	0.6316 a	0.1579 a	0.0000 a	0.4737 ab	0.2632 a	0.0000 a
% 14	3.3182 cde	1.2273 a	0.4091 a	1.7273 c	0.7619 a	0.5909 b
% 16	0.8000 ab	0.1500 a	0.0000 a	0.3500 ab	0.4000 a	0.1053 a
S	1.4667 abc	0.2667 a	1.6667 ab	0.4333 ab	0.1724 a	1.2333 c
V	4.8667 e	1.9000 ab	3.5667 bc	1.1667 bc	2.4667 b	1.8333 d

Çizelge 9.2. Mitoz evrelerinde görülen ortalama anormal hücre sayılarının uygulama süresine göre istatistikî analiz sonucu

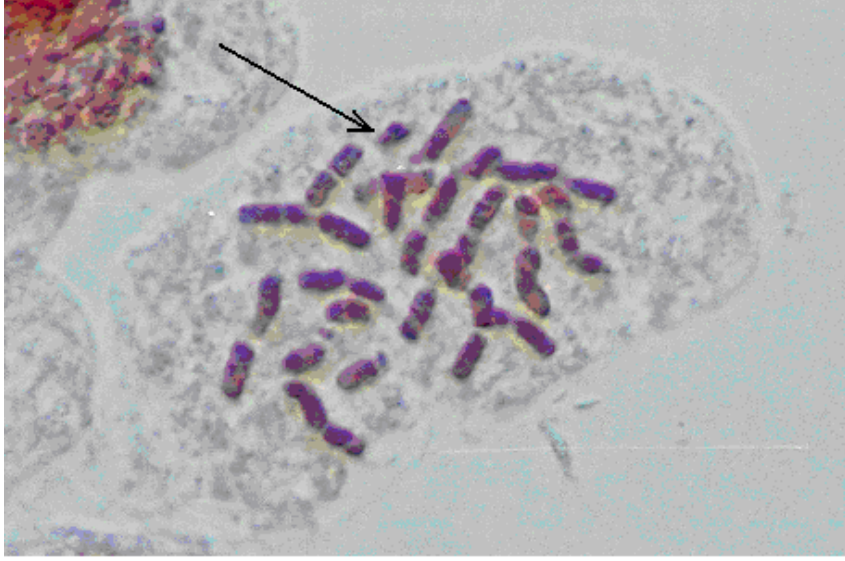
Uygulama süresi (saat)	Metafazda Yapışma	Metafazda Fragment	Düzensiz Metafaz	Anafazda Yanlış Kutuplaşma	Anafazda Köprü	Düzensiz Anafaz
48	2.99 b	1.26 a	1.89 b	1.06 b	0.89 a	0.47 a
72	0.68 a	1.11 a	0.36 a	0.27 a	0.21 a	0.28 a
144	2.58 b	2.37 b	0.47 a	0.83 b	0.93 a	0.37 a

4.3.2. Metafazda fragment oluşumu

Fiziksel ve kimyasal etkiler sonucunda kromatid ve kromozomlarda oluşan hasarlar ve yapışmalar sonucunda meydana gelen fragment oluşumları (Şekil 10) çalışmamızda ortalama 60 hücrede gözlenmiştir. En yüksek 144 saat uygulamalı örneklerde, ortalama 31 hücrede fragment oluşumu gözlenmiş ve bu uygulama süresinde en yüksek 17 hücrede % 2 *U. maritima* uygulama dozunda görülmüştür. Bunu 7 hücre ile % 4 *U. maritima* ekstraktı dozu izlemiştir. 48 saat uygulamalı örneklerde, 16 hücrede gözlenen fragment, en yüksek vdate uygulaması ve % 5 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında 4'er hücrede rastlanmıştır. 72 saat uygulamalı örneklerde ise, toplam 13 hücrede görülen fragment oluşumuna en yüksek, % 4 (6 hücre) ve % 2 *U. maritima* ekstraktı (4 hücre) dozları neden olmuştur (Çizelge 7) (Şekil 9).

Uygulama dozlarına göre fragment oluşumu en yüksek % 2 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenmiş olup bunu % 4 *U. maritima* ekstraktı uygulaması izlemiştir. Uygulama dozlarının fragment oluşturma bakımından aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge 9.1).

Çizelge 7'den görüldüğü gibi uygulama süresine göre fragment oluşumu 144 saat uygulamasında en yüksek bulunmuştur. Fragment oluşumu bakımından 48 ve 72 saat uygulamaları arasındaki fark istatistiki açıdan önemsiz bulunurken (* $p > 0,05$) 144 saat uygulaması önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge 9.2).



Şekil 10. % 5 *U. maritima* ekstraktının 144 saat uygulamalı örneklerinde gözlenen fragmentler (M.B. 10×40)

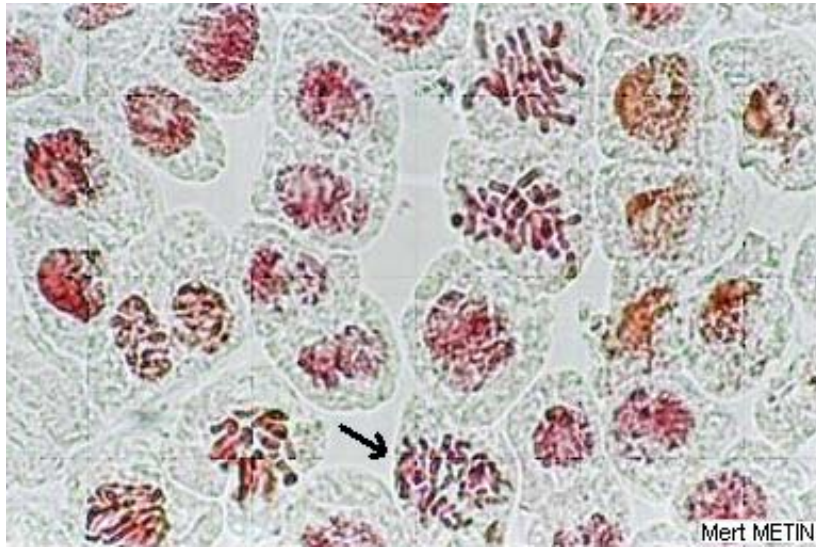
4.3.3. Düzensiz metafaz

Kromozom yapışması ve fragment gözlemleri dışında metafazda gözlenen diğer tüm anormallikler bu başlık altında toplanmıştır. Bunlar kromozomların metafaz tablasında normal olarak bulunması gereken yerde olmayıp hücre içinde düzensiz yada bir kutba daha yakın olarak dağılması, kromozomların aşırı yoğunlaşmasına bağlı olarak normal kromozom görüntüsünden uzaklaşmaları, kırılan kromozom parçalarının tekrar aynı yada başka kromozomlarla düzensiz olarak yapışması sonucunda görülen anormalliklerdir (Şekil 11). En fazla metafaz düzensizliği, 48 saat uygulamalı örneklerde 22 hücrede gözlenmiş olup uygulama dozları bakımından ise en yüksek % 5 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında 13 hücrede bulunmuştur. Bunu vydate uygulaması (6 hücre) izlemiştir. Bazı uygulama dozlarında düzensiz metafaz oluşumu gözlenmezken kontrolde, 48 saat ve 72 saat uygulamalı örneklerde ortalama 0,1 hücrede düzensiz metafaz gözlenmiştir (Çizelge 7).

Düzensiz metafaz oluşumunun uygulama süresi ile ilişkisine bakıldığında en yüksek 48 saat uygulamasında gerçekleşmiş ve uygulama

süreleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge 9.2).

Düzensiz metafaz oluşumu, uygulama dozlarına göre de istatistiksel olarak önemli bulunmuş olup en yüksek düzensiz metafaz sırasıyla % 5 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenmiş bunu vydate ve saf *U. maritima* uygulamaları izlemiş, diğer uygulamalar aynı grupta yer almıştır (* $p < 0,05$), (Çizelge 9.1).



Şekil 11. % 8 *U. maritima* ekstraktının 144 saat uygulamalı örnek preparatında düzensiz metafaz oluşumu (M.B. 10×40).

4.3.4. Anafazda yanlış kutuplaşma:

Hücre bölünmesi sırasında kromatidlerin metafaz düzlemine dik olarak karşılıklı kutuplara çekilmesi beklenirken, kromatidlerin, hücrenin yan veya çapraz kutuplarına çekilmesi sonucunda ortaya çıkan yanlış kutuplaşmalar en sık gözlenen anormalliklerden olmuştur (Şekil 12).

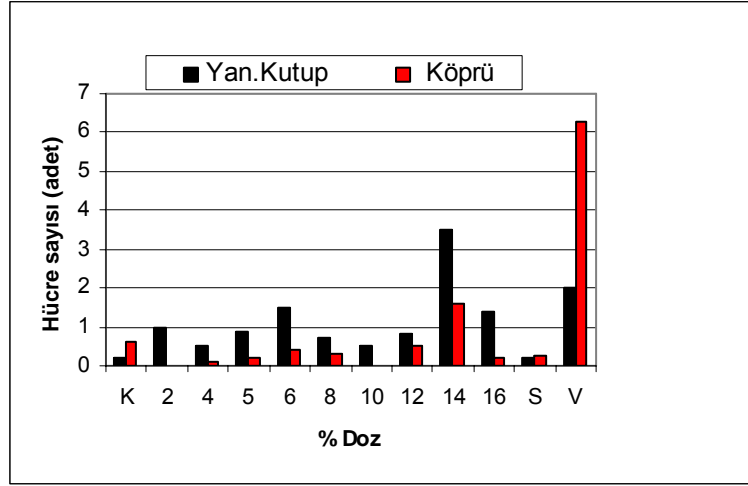
Anafazdaki yanlış kutuplaşma durumuna, uygulama dozlarına göre bakıldığında en yüksek % 14 *U. maritima* ekstraktı dozunun 48 saat uygulamasında (4 hücrede) olduğu görülmektedir. Aynı dozun 72 ve 144

saat uygulamalarında 1 hücrede yanlış kutuplaşma gözlenmiştir (Şekil 13, Çizelge 7). Dozlar dikkate alındığında anafazda yanlış kutuplaşma en yüksek sırası ile % 14 *U. maritima* uygulaması ile vdate uygulamasında gözlenmiştir. Dozlar arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge 9.1).

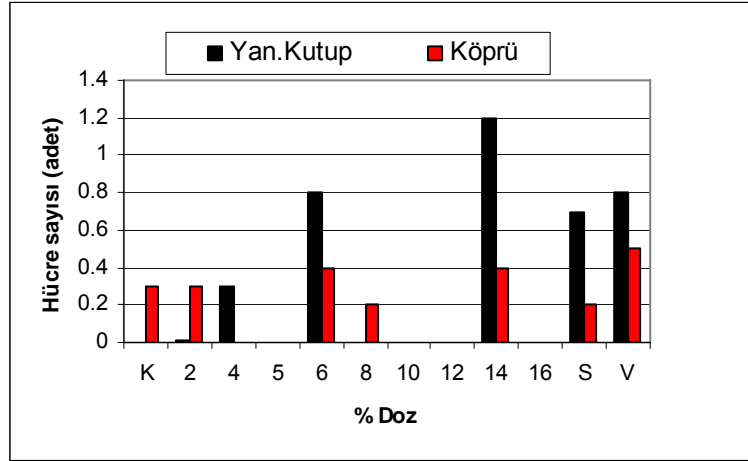
Yanlış kutuplaşma en çok 48 saat uygulamasında, 14 hücrede gözlenmiş olup, 72 saat uygulamalı örneklerde 4 hücrede, 144 saat uygulamada 11 hücrede gözlenmiştir. Anafazda yanlış kutuplaşma durumu uygulama süresine bağlı olarak istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge-9.2).



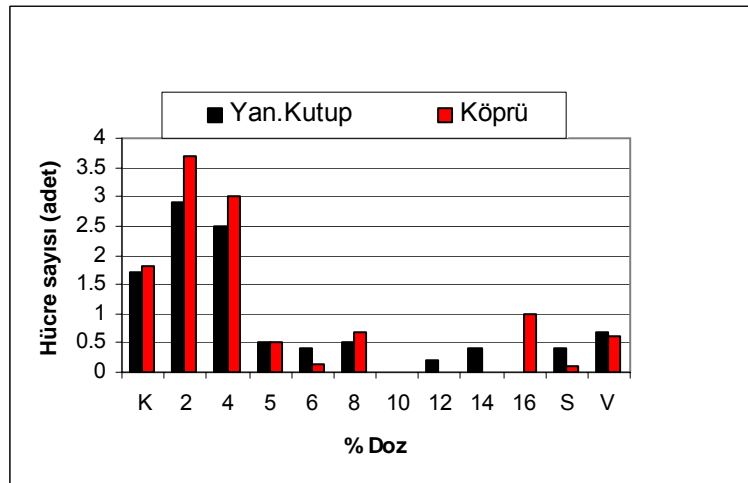
Şekil 12. Anafazda yanlış kutuplaşma, (M.B. 10×40)



(a)



(b)



(c)

Şekil 13. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 (c) saat sonraki anafazda gözlenen yanlış kutuplaşma ve köprü oluşumu.

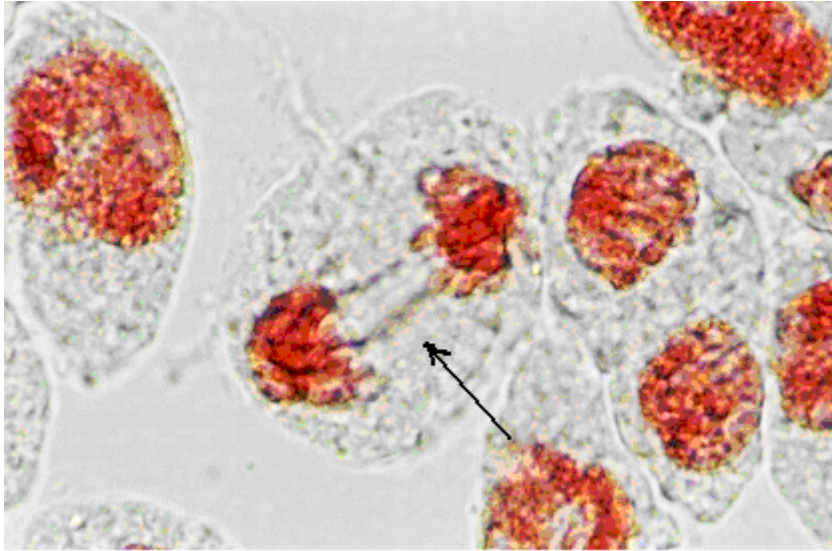
4.3.5. Anafazda köprü oluşumu:

Tüm uygulamalarda ortalama olarak toplam 26 hücrede köprü oluşumu gözlenmiştir (Şekil 14). 144 saat uygulama süresinde 12 hücrede, 48 saat uygulamada 11 hücrede ve 72 saat uygulama örneklerinde 3 hücrede köprü gözlenmiştir.

Uygulama dozları açısından bakıldığında 48 saat uygulama süresinde 7 hücre ile vydate uygulamasında en fazla köprü oluşumu gözlenmiştir. 72 saat uygulama süresinde de en yüksek vydate uygulamasında gözlenmiş olup 144 saat uygulamasında en fazla, % 2 *U. maritima* ekstraktı dozunda meydana gelmiştir (Çizelge 7).

Uygulama dozlarına göre anafazda köprü oluşumu istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Köprü en yüksek vydate uygulamasında ve % 2 *U. maritima* dozunda görülmüştür. Vydate ayrı bir grupta, % 2 *U. maritima* dozu ve diğer dozlar ayrı ayrı gruplarda yer almıştır (Çizelge 9.1).

Anafazda köprü oluşumunda uygulama süreleri istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur (* $p>0,05$), (Çizelge 9.2).



Şekil 14. % 10 *U. maritia* ekstraktı, 144 saat uygulamalı kök ucu örneğinde anafazda köprü oluşumu (M.B. 10×100).

4.3.6. Düzensiz anafaz oluşumu:

Anafazda yanlış kutuplaşma ve köprü oluşumları dışında gözlenen diğer tüm anormallikler bu başlık altında toplanmıştır. Kromozomların anafazda şekil, sayı ve yapı bakımından sapma gösterdiği, çok kutuplu hücrelerin gözlendiği bu tür anormallikler hücre polarizasyonunun yada hücre iskelet yapısının etkilenmiş olmasından veya daha önce bahsedilen anormalliklerin bir uzantısı olarak hücre döngüsünün ilerleyen zamanlarında bu etkilerin ortaya çıkmasıyla meydana geldiği tahmin edilmektedir (Şekil 16.a,b,c,d).

48 saat uygulamasında, toplam 6 hücrede düzensiz anafaz gözlenmiştir. Düzensiz anafaz oluşumuna vydate uygulaması 3 hücre ile en yüksek oranda sebep olmuştur. 72 ve 144 saat uygulamalarında da en yüksek vydate uygulamasının sebep olduğu gözlenmiştir (Çizelge 7). Düzensiz anafaz oluşumu, en yüksek vydate uygulamasında gerçekleşmiş ve bunu saf *U. Maritima* ekstraktı uygulaması izlemiştir.

Vydate, saf *U. maritima* ve % 14 *U. maritima* ekstraktı uygulamaları istatistiki olarak ayrı gruplarda yer almış olup diğer dozlar ile aralarındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($*p<0,05$), (Çizelge 9.1).

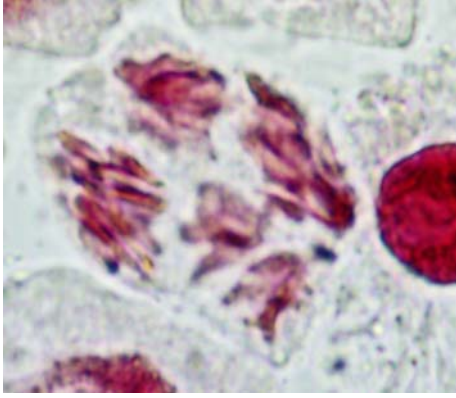
Düzensiz anafaz oluşumuna uygulama süreleri açısından bakıldığında fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($*p>0,05$), (Çizelge 9.2).



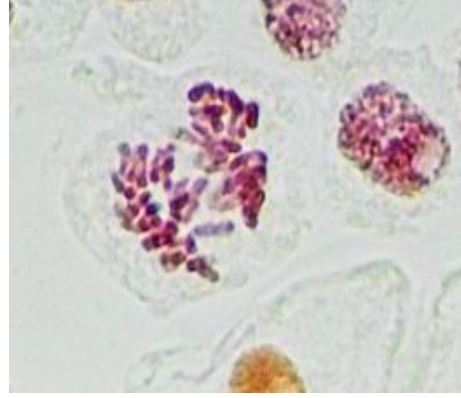
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 15. Düzensiz anafaz örnekleri (M.B. 10×40)

- (a) Saf *U. maritima* ekstraktının 48 saat uygulamalı örneklerinden
- (b) % 5 *U. maritima* ekstraktının 72 saat uygulamalı örneklerinden
- (c) Saf *U. maritima* ekstraktının 48 saat uygulamalı örneklerinden
- (d) Vydate'in 48 saat uygulamalı örneklerinden

4.4. Çekirdek Deformasyonları:

Bu başlık altında ele alınan anormallikler, interfaz nukleusunda erozyon (Şekil 16.1), interfaz nukleusunda granülizasyon (Şekil 16.2), interfaz nukleusunda yarıma (Şekil 16.3), profaz nukleusunda granülizasyon (Şekil 16.4) ve profaz nukleusunda erozyon oluşumlarıdır.

Çekirdek deformasyonları, 48 saat uygulamada 8383 hücrede ve en yüksek sırası ile % 12, % 16, % 10 *U. maritima* ekstraktı dozlarında gözlenmiştir. 72 saat uygulamada, 7580 hücrede ve en yüksek sırası ile % 4, % 16, % 14, % 12 *U. maritima* dozlarında gözlenmiştir. 144 saat uygulamasında, 6534 hücrede gözlenen çekirdek deformasyonlarına en yüksek oranda sırası ile % 12, % 14, % 16, % 10 ve % 8 *U. maritima* dozları sebep olmuştur (Çizelge 10).

Çekirdek deformasyonları ile uygulama dozları arasındaki ilişki istatistiki olarak değerlendirilirse; Çekirdek deformasyonu en yüksek % 12 *U. maritima* ekstraktı içeren dozda, en düşük kontrolde görülmüştür. Dozlar arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($*p<0,05$), (Çizelge 11.1).

Uygulama süresine göre çekirdek deformasyonları en yüksek 48 saat uygulamasında gözlenmiş olup Çizelge 11.2’de görüldüğü gibi uygulama süreleri arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($*p<0,05$).

Çizelge 10. Uygulama doz ve sürelerine göre çekirdek deformasyonu ve nukleus vakuolizasyonu gözlenen hücre sayıları

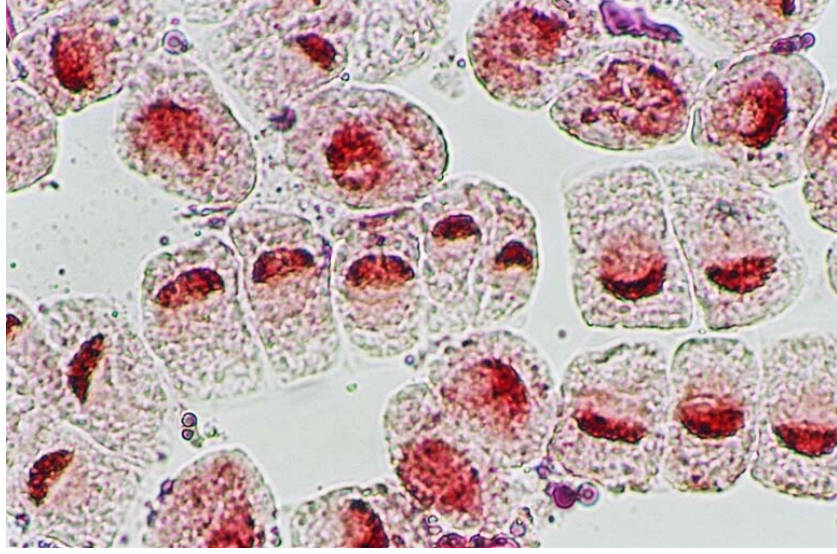
Dozlar	Uyg. Süresi (saat)	Çekirdek deformasyonu gözlenen hücre sayısı (adet)	Nukleus vakuolizasyonu gözlenen hücre sayısı (adet)
K	48	0	0
% 2	48	680	0
% 4	48	917	0
% 5	48	515	0
% 6	48	460	0
% 8	48	910	0
% 10	48	1175	0
% 12	48	1320	0
% 14	48	730	0
% 16	48	1300	0
S	48	253	23
V	48	123	39
Toplam		8383	61
K	72	3.34	0
% 2	72	718.2	0
% 4	72	1038	0
% 5	72	775	0
% 6	72	570	0
% 8	72	730	0
% 10	72	750	0
% 12	72	808.3	0
% 14	72	866.7	0
% 16	72	914.3	0
S	72	222.5	16
V	72	180.1	41
Toplam		7576	56
K	144	0	0
% 2	144	228.6	0
% 4	144	287.5	0
% 5	144	400	0
% 6	144	466.7	0
% 8	144	780.8	0
% 10	144	808.3	0
% 12	144	1190	0
% 14	144	966.7	0
% 16	144	925	0
S	144	295	15
V	144	183	28
Toplam		6349	43

Çizelge 11.1. Çekirdek deformasyonu ve çekirdek vakuolizasyonlarının uygulama dozları bakımından istatistiki analizi

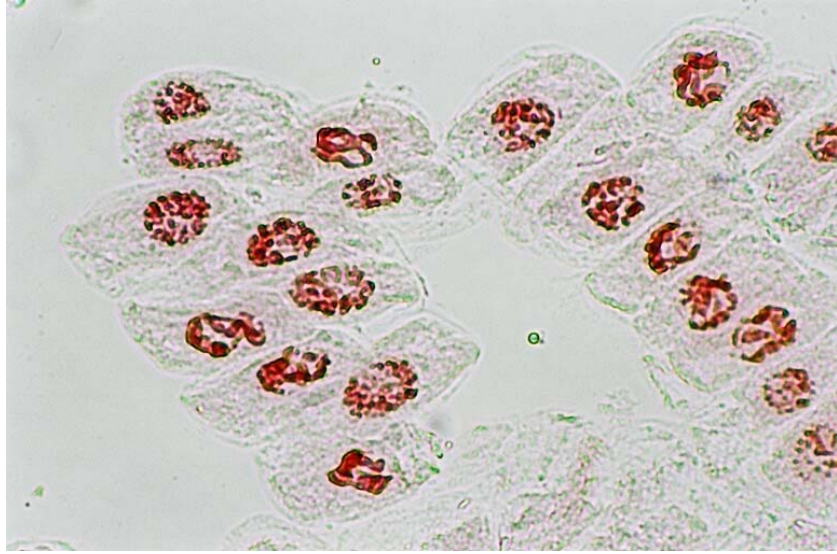
Dozlar	Çekirdek Deformasyonu	Çekirdek Vakuolizasyonu
K	1.1765 a	0.0000 a
% 2	582.1429 c	0.0000 a
% 4	771.4286 d	0.0000 a
% 5	538.3333 c	0.0000 a
% 6	500.0000 c	0.0000 a
% 8	804.5455 de	0.0000 a
% 10	937.5000 ef	0.0000 a
% 12	1223.6842 g	0.0000 a
% 14	831.8182 de	0.0000 a
% 16	1015.0000 f	0.0000 a
S	256.8333 b	17.6667 b
V	161.9667 b	35.5000 c

Çizelge 11.2. Çekirdek deformasyonu ve çekirdek vakuolizasyonlarının uygulama süresi ile ilişkisini gösteren istatistiki analizi

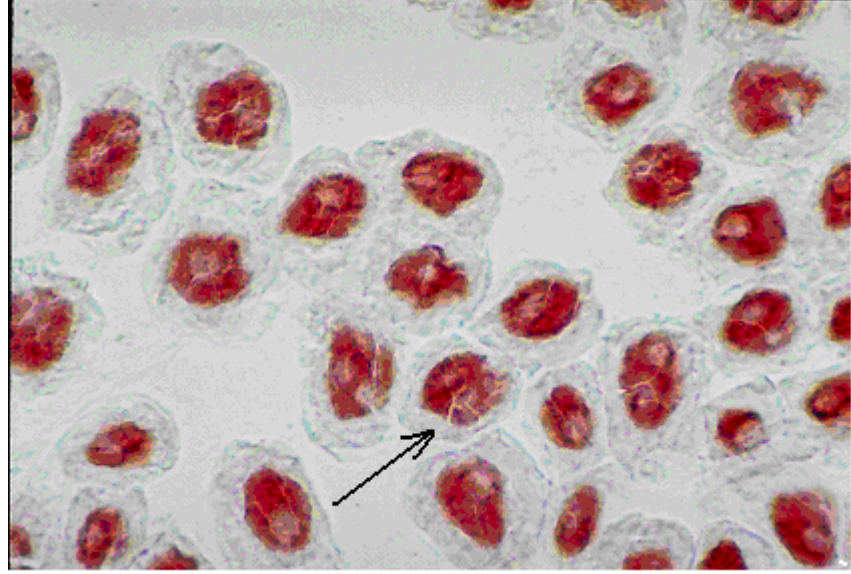
Uygulama süresi (saat)	Çekirdek deformasyonu	Çekirdek vakuolizasyonu
48	656.4957 b	5.2137 a
72	584.9608 ab	5.4902 a
144	498.3462 a	4.0865 a



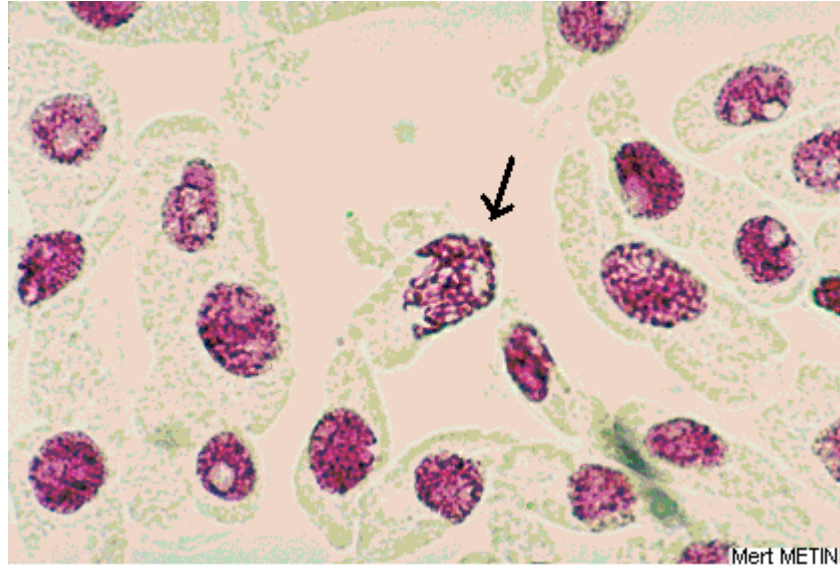
Şekil 16.1. % 12 *U. maritima* ekstraktı 48 saat uygulaması örneklerinde gözlenen interfaz nukleusunda erozyon (M.B. 10×40)



Şekil 16.2. % 5 *U. maritima* ekstraktı 48 saat uygulamasında gözlenen interfaz nukleusunda granülizasyon (M.B. 10×40)



Şekil 16.3. 72 saat vydate uygulamasında gözlenen interfaz nukleusunda yarıılma (M.B. 10×100)

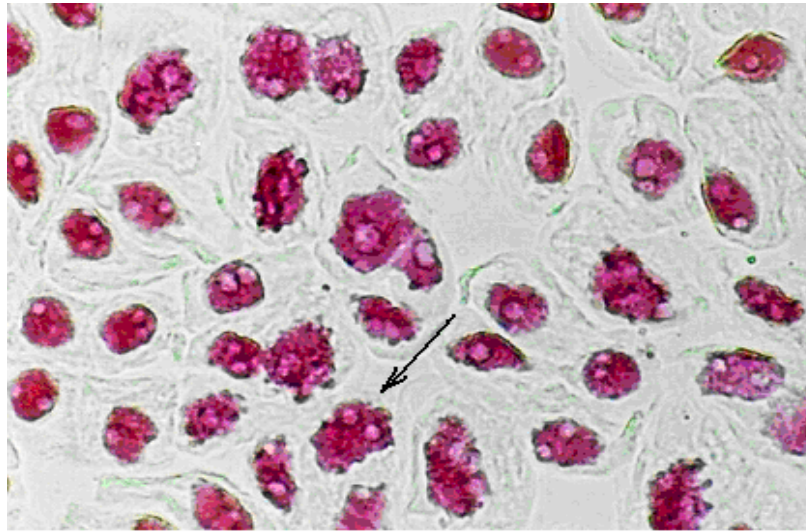


Şekil 16.4. % 6 *U. maritima* ekstraktı 72 saat uygulamada gözlenen profazda granülizasyon (M.B. 10×40)

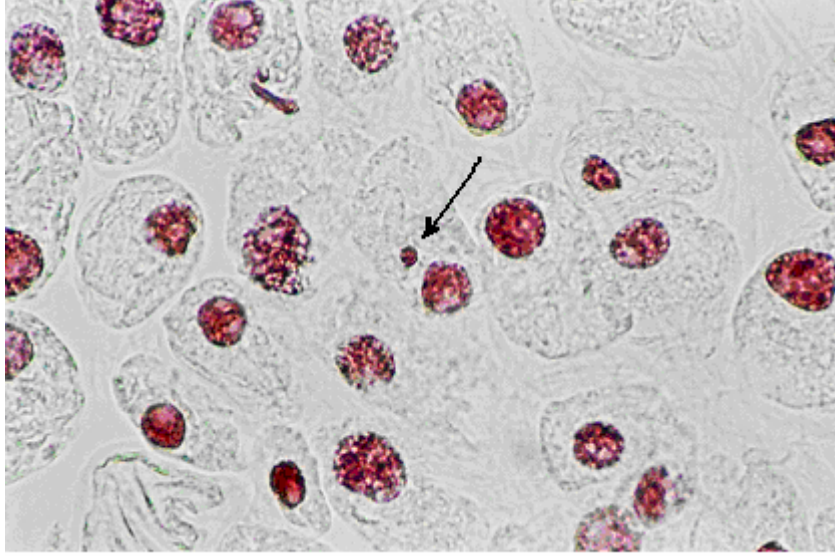
4.5. Nukleus vakuolizasyonları ve diğer anormallikler

Çalışmamızda nukleus vakuolizasyonlarına (Şekil 17), mikronukleus oluşumuna (Şekil 18), kromozom sayılarındaki değişikliklere (sayı azalması, poliploidi vb.) (Şekil 19 ve 20), C-mitoz'a (Şekil 21), binukleat hücrelere (iki çekirdekli) (Şekil 22)'de rastlanmıştır.

Nukleus vakuolizasyonları her uygulama süresinde sadece Vydate uygulamasında ve saf *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenmiş, kontrol ve diğer uygulama dozlarında gözlenmemiştir. Vydate (107 hücrede), saf *U. maritima* ekstraktına (54 hücrede) göre daha yüksek nukleus vakuolizasyonuna sebep olmuş (Çizelge 10) ve aradaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 11.1). Ekstraktların ve vydate uygulamasının nukleus vakuolizasyonuna etkisi uygulama süreleri bakımından istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur (* $p>0,05$), (Çizelge 11.2).



Şekil 17. 48 saat vydate uygulamasında gözlenen nukleus vakuolizasyonları (M.B. 10×40)



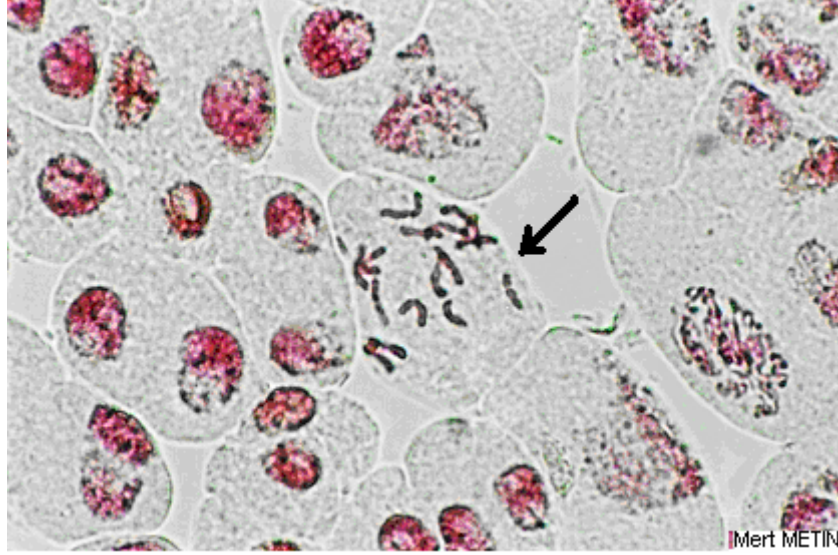
Şekil 18. 72 saat Saf *U. maritima* ekstraktının uygulaması örneklerinde gözlenen mikronukleus oluşumu (M.B. 10×40).



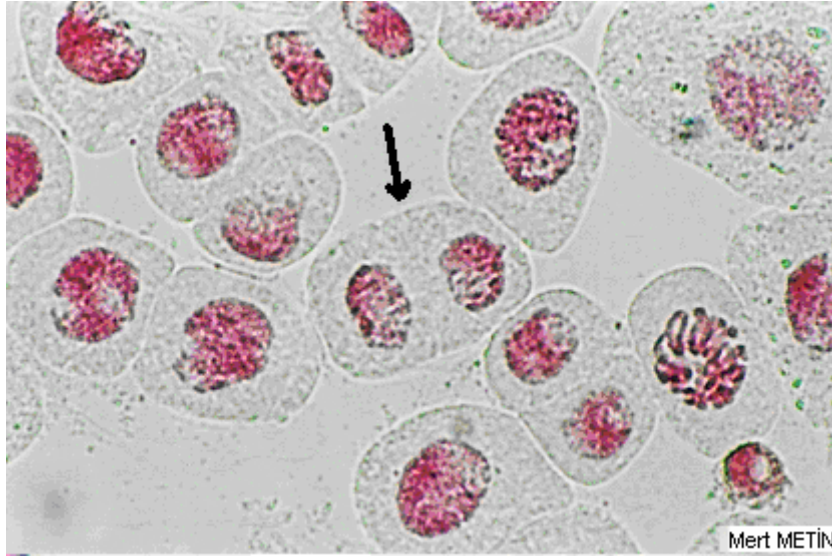
Şekil 19. % 5 *U. maritima* ekstraktının 144 saat uygulama süresinde tespit edilen kromozom sayısındaki azalma (M.B. 10×40).



Şekil 20. 48 saatlik uygulama süresi sonunda karşılaştığımız poliploidi (M.B. 10×40).



Şekil 21. C-mitoz (M.B. 10×40).



Şekil 22. % 16 *U. maritima* ekstraktı 144 saat uygulamasında gözlenen binukleat hücre (M.B. 10×40).

4.6. Nukleolus (çekirdekçik) sayısı

Çoğu hücrenin birden fazla nukleolus içerdiği gözlenmiştir. 48 saat uygulamasında toplam 10101 hücrede 2 nukleolus, 8263 hücrede 1 nukleolus, 3843 hücrede 3 nukleolus ve 1800 hücrede 4 ve üzerinde sayıda nukleolus görülmüştür. 48 saat sonraki kök ucu örneklerinden kontrolde, ortalama 750 adet bir nukleoluslu, 1000 adet iki nukleoluslu, 174 adet üç nukleoluslu, 76 adet'de dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren hücre gözlenmiştir. 48 saat uygulamasında, dört ve üzeri sayıda nukleolus oluşumuna en yüksek % 16 ve % 14 *U. maritima* ekstraktı dozları sebep olmuştur. Kontrolde, *U. maritima* ekstraktının düşük dozlarında ve vydate uygulamasında çoğu hücrelerde iki adet nukleolus gözlenmiştir. Bir adet nukleolus içeren hücrelere en yüksek sayısı ile saf *U. maritima* ekstraktı uygulamasında, % 8 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında, kontrolde, vydate uygulamasında rastlanmıştır (Çizelge 12, Şekil 23-24).

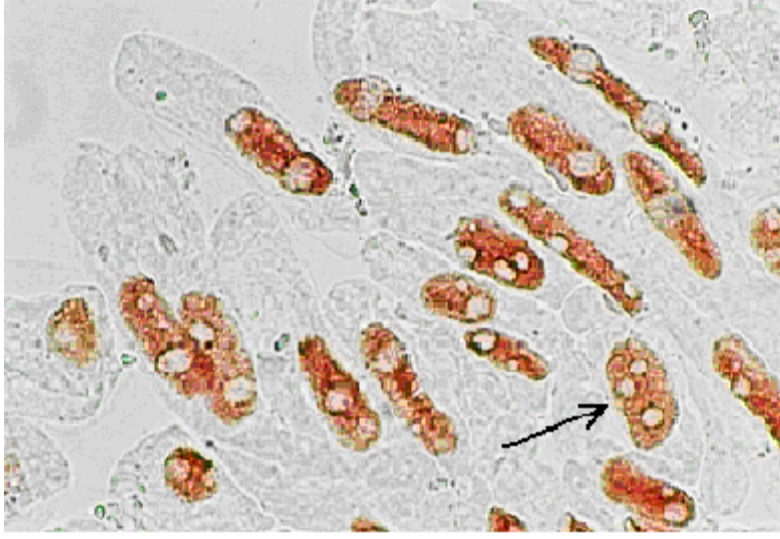
72 saat uygulamasında toplam 9720 hücrede iki nukleolus, 8678 hücrede bir nukleolus, 3487 hücrede üç nukleolus ve 2140 hücrede de dört ve üzeri

sayıda nukleolus içeren hücreler gözlenmiştir. 72 saat sonraki kontrol örneklerinde ortalama 640 adet bir nukleoluslu, 800 adet iki nukleoluslu, 350 adet üç nukleoluslu, 210 adet’de dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren hücreler gözlenmiştir. 72 saat uygulamasında, bir adet nukleolus içeren hücre sayısı en yüksek vdate ve saf *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında belirlenmiştir. İki adet nukleolus içeren hücre sayısı ise en yüksek % 2 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında bulunmuştur (Çizelge 12, Şekil 23-24).

144 saat uygulamalı örneklerde, en yüksek toplam 9739 hücrede iki nukleolus oluşumu gözlenmiş olup bunu 8573 hücrede bir nukleolus, 3486 hücrede üç nukleolus ve 2332 hücrede de dört ve üzeri sayıda nukleolus izlenmiştir. 144 saat uygulamalı kök ucu örneklerinde, kontrolde, ortalama 850 adet bir nukleoluslu, 900 adet iki nukleoluslu, 200 adet üç nukleoluslu, 150 adet’de dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren hücre tespit edilmiştir. 144 saat uygulamalı örneklerde iki nukleolus içeren hücre sayısına en yüksek % 2 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında, kontrolde, vdate ve saf *U. maritima* ekstraktı uygulaması sebep olmuştur. Bir nukleolus içeren hücre sayısı ise sırası ile vdate, saf *U. maritima* ekstraktı uygulaması ve kontrolde dozlarında gözlenmiştir (Çizelge 12, Şekil 24).

Uygulama dozları ile nukleolus sayısı arasındaki ilişki istatistiki olarak değerlendirildiğinde; bir adet nukleolus içeren hücre sayısı en yüksek saf *U. maritima* ve vdate uygulamalarında görülmüştür. Bu uygulamalar ile diğerleri istatistiki olarak ayrı gruplarda yer almıştır (* $p < 0,05$). İki, üç, dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren hücre sayıları uygulama dozlarına göre istatistiki değerlendirmede farklı gruplar meydana getirmiştir (* $p < 0,05$) (Çizelge 13.1).

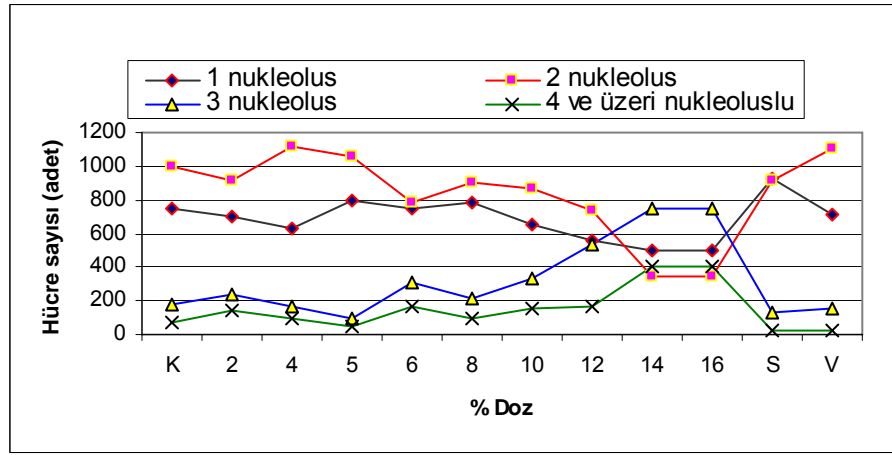
Uygulama süresi ile bir hücrede gözlenen nukleolus sayısı arasındaki ilişki istatistiki olarak değerlendirildiğinde bir önemlilik bulunmamıştır (* $p > 0,05$), (Çizelge 13.2).



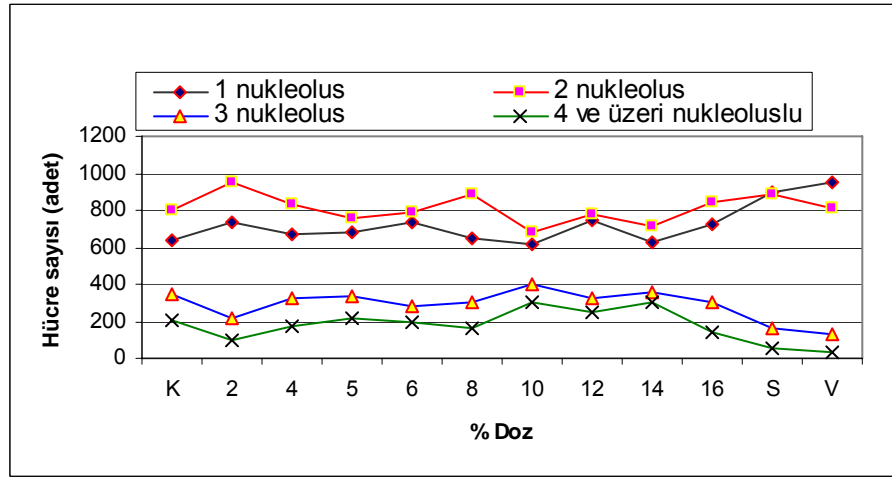
Şekil 23. % 10 *U. maritima* ekstraktının 48 saat uygulamasında gözlenen bir, iki ve üç nukleoluslu çekirdekler (M.B. 10×40)

Çizelge 12. Uygulama doz ve sürelerine göre bir, iki, üç, dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren ortalama hücre sayıları

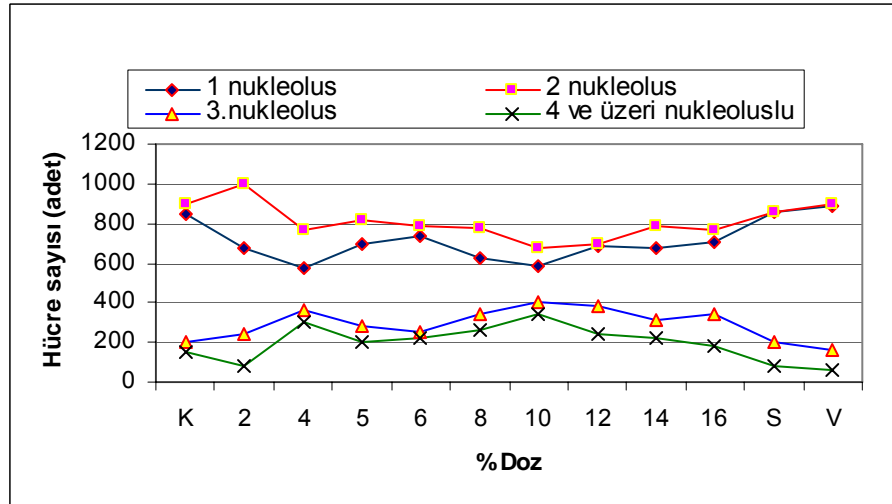
Dozlar	Uygulama süresi (saat)	1 nukleoluslu hücre sayısı	2 nukleoluslu hücre sayısı	3 nukleoluslu hücre sayısı	4 ve üzeri nukleoluslu hücre sayısı
K	48	750	1000	174	76
% 2	48	700	918	240	142
% 4	48	630	1116	164	90
% 5	48	800	1060	98	42
% 6	48	746	782	306	166
% 8	48	790	900	210	100
% 10	48	648	865	327	160
% 12	48	555	735	540	170
% 14	48	500	350	750	400
% 16	48	500	350	750	400
S	48	929	915	129	29
V	48	715	1110	155	25
Toplam	48	8263	10101	3843	1800
K	72	640	800	350	210
% 2	72	734	950	214	102
% 4	72	670	828	328	174
% 5	72	685	755	340	220
% 6	72	730	790	280	200
% 8	72	650	890	300	160
% 10	72	615	685	400	300
% 12	72	748	782	320	250
% 14	72	630	710	360	300
% 16	72	720	840	300	140
S	72	900	884	167	50
V	72	956	806	128	34
Toplam	72	8678	9720	3487	2140
K	144	850	900	200	150
% 2	144	680	1000	240	80
% 4	144	570	770	360	300
% 5	144	700	820	280	200
% 6	144	740	790	250	220
% 8	144	625	775	340	260
% 10	144	587	673	400	340
% 12	144	685	695	380	240
% 14	144	680	790	310	220
% 16	144	710	770	340	180
S	144	856	856	206	84
V	144	890	900	157	58
Toplam	144	8573	9739	3463	2332



(a)



(b)



(c)

Şekil 24. Uygulama dozlarına göre 48 saat (a), 72 saat (b) ve 144 saat (c) uygulamalı örneklerde gözlenen bir, iki, üç, dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren hücre sayıları

Çizelge 13.1 Uygulama dozlarına göre bir hücre çekirdeğinde bir, iki, üç, dört ve üzeri sayıda nukleolus içeren hücre sayılarının istatistikî analiz sonucu

Dozlar	Bir nukleoluslu hücre sayısı	İki nukleoluslu hücre sayısı	Üç nukleoluslu hücre sayısı	Dört ve üzeri nukleoluslu hücre sayısı
K	746.66 ab	900.0 bc	241.3 abc	145.3abcd
% 2	704.66 ab	956.0 c	231.3 ab	108.0 abc
% 4	728.33 ab	878.3 abc	239.3 abc	145.3abcd
% 5	738.66 ab	787.3 abc	278.6 abc	195.3bcde
% 6	688.33 a	855.0 abc	283.3 abc	173.3abcd
% 8	616.66 a	737.3 abc	413.3 bc	220.0cde
% 10	623.33 a	653.3 ab	463.3 bc	240.0cde
% 12	643.33 a	741.0 abc	284.0 abc	266.6 de
% 14	603.33 a	904.6 bc	375.6 abc	188.abcde
% 16	728.33 a	616.6 a	473.3 c	306.6 e
S	895.00 c	885.0 abc	167.3 a	54.3 ab
V	853.66 bc	938.6 c	146.6 a	39.0 a

Çizelge 13.2 Uygulama süresi dikkate alınarak bir hücre çekirdeğinde meydana gelen nukleolus sayısının gözlendiği hücre sayılarının istatistikî analiz sonucu

Uygulama süresi	Bir nukleoluslu hücre sayısı	İki nukleoluslu hücre sayısı	Üç nukleoluslu hücre sayısı	Dört ve üzeri nukleolus hücre sayısı
48	688.5 a	810.0 a	288.5 a	150.0 a
72	714.4 a	811.5 a	290.5 a	178.3 a
144	723.1 a	841.7 a	320.2 a	194.3 a

5. TARTIŞMA VE SONUÇ:

U. maritima ekstraktının mitoz üzerine etkisini araştırmak amacı ile yaptığımız çalışmada, Allium-testi için her bir uygulama doz ve sürelerini içeren soğanlardan toplam 444 adet kök ucu örneği alınmıştır. Yaklaşık 400 adet kök ucundan preparatlar hazırlanıp mikroskop altında incelenmiştir. Toplam 20721 bölünen hücre tespit edilmiştir. Bunların 18735'i normal, 1986'sı normal olmayan hücre olarak kaydedilmiştir. İstatistiki olarak değerlendirdiğimiz kromozom anomalilerinin gözleendiği toplam anormal hücre sayısı, toplam bölünen hücre sayısının yaklaşık olarak % 10'dur. İncelenen toplam bir milyon hücre içerisinde çekirdek deformasyonları, çekirdek vakuolizasyonları ve diğer anormalliklere de dozlar arasında önemli farklılıklar gösteren oranda rastlanmıştır.

% 2, % 4, % 5, % 6, % 8, % 10, % 12, % 14, % 16 *U. maritima* ekstraktı çözeltileri, % 2 vüdate çözeltisi ve saf *U. maritima* ekstraktı soğanların köklenmesini ve kök uzamasını istatistiki olarak engellemiştir.

Van't Hof 1968'e atfen Yüzbaşıoğlu (2003)'nun bildirdiğine göre; mitotik indeks'in düşmesine, DNA sentezinin baskılanması yada hücreyi mitozu girmekten alıkoymak için metabolik aktivitelerin tamamen durması sebep olmaktadır (Sudhakar ve ark., 2001'e göre Yüzbaşıoğlu, 2003). Hidalgo ve ark. 1989'e atfen Yüzbaşıoğlu (2003)'nun bildirdiğine göre, Hücre döngüsünün engellenmesi, pestisitlerin, özel proteinleri içeren bölgeleri hedef almasından kaynaklanmaktadır. Bu inhibisyona neden DNA polimeraz enziminin yokluğudur. DNA polimeraz enzimi, DNA'nın sentezlenmesi için gereklidir. DNA polimerazın eksikliği kadar, iğ ipliklerinin oluşturulmasını ve sağlıklı çalıştırılmasını sağlayan diğer enzim ve proteinlerin eksikliği de hücre döngüsünün durmasına direkt neden olmaktadır.

Ayaz ve ark. (1996)'na atfen İnceer ve ark. (2000)'nin bildirdiğine göre, çinko, kadmiyum, bakır ve civa gibi ağır metaller, tohumların çimlenmesi esnasında amilaz ve peroksidaz izoenzimlerinin sayısını arttırmış, tohumların çimlenme yüzdesini ise azaltmıştır. Civalı bileşiklerin, DNA replikasyonunu

engelleyebileceği (Kara ve ark., 1994), kromlu bileşiklerin ise, kromatid kırılmalarına yol açtığı belirtilmektedir (Klasterska ve ark., 1976). Ayrıca, civanın bir inhibitör gibi görev yaparak normal hücre bölünmesi için gerekli proteinlerin sentezini engellediği ve bu şekilde hücrelerde mitotik gecikmelere sebep olduğu da belirtilmiştir (Nandi, 1985). Benzer şekilde, bakır klorür'ün de aynı etkilere sahip olması nedeniyle mitotik indekste azalmalara ve çeşitli kromozom anormalliklerine sebep olduğu gösterilmiştir (İnceer ve ark., 2000).

Aybeke ve ark. 1998'e göre, fenolik bileşikler ve bunların türevleri gerek insan, gerek hayvan ve gerekse bitkilerde sitotoksik ve genotoksik hasarlara sebep olmaktadır (De Marco ve ark. 1986; Migliore ve ark. 1990). Fenolik bileşiklerin bu etkilerini kardeş kromatid değişiminde artışa neden olan DNA polimerazı inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir. Konu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada kurşunun, toksik etkisini, direkt DNA polimerazı inhibe ederek gösterdiği ortaya konulmuştur (De Marco ve ark. 1986).

Yüzbaşıoğlu (2003), 60 ppm'lik afugan fungusidinin 24 saat uygulanmasının *A. cepa*'nın meristematik hücrelerinde profaz ve telofaz oranlarını düşürdüğünü, 12 ve 24 saatlik uygulamaların ise metafaz oranını artırdığını belirtmiştir. Araştırmacıya göre, yüksek dozlardaki muamelelerde profaz oranının azalması, S evresinde DNA sentezinin inhibe edilmesine, metafazın artması da iğ ipliklerinin oluşumunun inhibe edilmesine bağlanmıştır.

Yüzbaşıoğlu (2003)'e göre, mitoz safhaları arasındaki değişimleri içeren bu ve benzer etkiler tridemorph fungusiti (Cortes ve ark., 1982), thirom fungusiti (Vrea Loper ve ark.,1990), marshal fungusiti (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1996) ile yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir. Yukarıdaki araştırmacıların kullanmış oldukları kimyasallar, uygulama süresine bağlı olarak mitotik bölünmede profazı önemli oranda düşürmüştür. Aynı uygulamalar kontrol ile kıyaslandığında metafaz oranı önemli derecede artarken anafaz ve telofaz oranında önemli derecede düşmüştür.

Bu çalışmada da 72 ve 144 saatlik uygulama süreleri değerlendirildiğinde *U. maritima* ekstraktının doz artışına bağlı olarak

profazda azalma gözlenmiştir. 48 saat uygulama süresinde ise, vydate ve % 16 *U. maritima* ekstraktı dozunda en yüksek profaz gözlenmiştir. Kontrolde profaz artmış, vydate ve *U. maritima*'nın yükselen dozlarında (% 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, saf *U. maritima*) profaz düşmüştür. Çalışmamızda gözlenen bu durum Yüzbaşıoğlu (2003)'nun sonuçları ve diğer literatür bilgileri ile benzerlik göstermektedir. Şöyle ki; 48 saat uygulamalı örneklerde gözlenen metafaz, aynı örneklerde gözlenen profaz ile büyük benzerlik içindedir. Ancak, 72 saat uygulamalı örneklerde profaz doza bağlı olarak düşerken metafaz en yüksek olarak sırası ile kontrol, % 2, % 6, % 12 ve % 5 *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında ve vydate uygulamasında artış göstermiştir. 144 saat uygulamada profaz doza bağlı olarak düşerken metafaz en yüksek % 4 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında olmak üzere kontrolde, % 8, % 6 ve % 5'lik *U. maritima* ekstraktı dozlarında artış göstermiştir.

Uygulama doz ve süresine bağlı olarak profaz ve metafaz görülme sıklıklarının değişim göstermesinin yanısıra, tüm uygulamalar kontrol ile karşılaştırıldığında doz artışına bağlı olarak anafaz ve telofazın da düştüğü gözlenmiştir. Bu çalışmada; vydate ile *U. maritima* ekstraktının yüksek doz uygulamalarındaki profaz azalmasını ve % mitotik indekste gözlenen düşüşü; S safhasındaki DNA sentezinin inhibe edilmesine, metafazın artmasını da iğ ipliklerinin oluşumunun inhibe edilmesine bağlayabilir ve bu durumun literatür bilgileri ile uyum içerisinde olduğunu belirtebiliriz.

48 saat uygulamalarında, kontrole göre vydate ve *U. maritima* ekstraktının yüksek dozlarında mitotik indeksin yüksek olmasını *U. maritima* ekstraktının yüksek oranda içerdiği suyun ve fenolik bileşiklerin potansiyel bölünme eğiliminde olan hücrelerde bölünmeyi tetiklediğini ve bu esnada henüz hücre çekirdeğinin ekstrakt ve vydate'den toksik derecede etkilenmeye başlamamış olmasına bağlayabiliriz.

Aybeke ve ark. (1998), hydroxytyrozol gibi bazı fenolik bileşiklerin tohum çimlenmesi üzerine etilen hormonuna benzer bir etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Dolayısıyla farklı fenolik bileşiklerin bitkilerin metabolik aktivitelerinde hızlandırıcı veya düşürücü etkileri olabilmektedir. Aybeke ve

ark. (1998) da zeytinyağı fabrikası atık suyunun, mitotik aktivite üzerinde hızlandırıcı etkisinin olduğunu saptamışlardır.

İnceer ve ark. (2000), bakır klorürün mitoz bölünmenin profazında düzensiz kromatin dağılımına neden olduğunu belirtmişlerdir. Metafazda görülen en sık anormallik kromozom yapışması ve düzensiz kromozom dağılımı olmuştur. Anafaz ve telofaz da görülen anormallikler ise kromozom köprüsü, laggard kromozom, eşit olmayan kromatin dağılımı ve kromozomlardaki kırılmalardır.

Aybeke ve ark. (1998) yürüttükleri çalışmada, zeytinyağı fabrikası atık suyunun farklı uygulama süre ve konsantrasyonlarının buğday (*Triticum aestivum* L.) kök ucu hücrelerindeki etkilerini incelemişler ve bu atık suyun öncelikle çimlenme üzerine negatif yönde etki ettiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca, kök ucu meristem hücrelerinde yapılan mikroskobik çalışmalarda bu atık suyun profazda granülasyona, heterojen kromatin dağılımına, metafazda yığılmaya, anafazda köprü oluşumuna, telofazda erken veya geç sitokineze, hücre plağının oluşmamasına, asimetrik kromozom dağılımına ve kromozomlarda heterojen çözümler gibi değişik anormalliklere neden olduğunu gözlemişlerdir. Capasso ve ark. (1992) da polifenol içeren atık sularla sulanmış tarım alanlarında yetiştirilen bitkilerde benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bu anormalliklerin, muhtemelen atık suyun mitotik sikluskadaki DNA sentezi ve tamir mekanizmasında yer alan enzimatik reaksiyonlar üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı meydana geldiği ileri sürülmektedir (De Marco, 1986). Ayrıca, mutajenik etki olarak kromozom kırılmalarına ve kromozom sayısında yüksek oranda sapmalara, nukleus parçalanmalarına ve mikronukleus oluşumlarına da rastlanmıştır.

Çoşkun ve Özörgücü (1994)'ye atfen Dane ve Dalgıç (2003)'ün bildirdiğine göre, benomyl fungusitinin ve decis insektisidinin *A. cepa* kök ucu meristematik hücrelerinde, çekirdeği parçalanmış, yapısı değişmiş yada daha büyük çekirdeğe sahip meristematik hücreler oluşmasına sebep olduğunu göstermişlerdir.

Kaymak (2005), pek çok mutajenik ajanın genetik hasara sebep olduğunu bildirmektedir. Örneğin Maleic Hydrazid (MH), RNA'nın bir

pirimidin bazı olan Urasilin yapısına bağlanmaktadır. MH'nin etkisi, büyük ihtimalle direk urasil sentezini bölmek yada RNA içinde urasil ile nukleik asitlerin sülfidril grupları arasında tekrar reaksiyon meydana getirerek birleştirmesi şeklinde olmaktadır. Bu şekilde kromozomların yapısını zayıflatmakta ve kromozomlarda kırılmalara yol açmaktadır (Patil ve Bhat 1992'a göre Kaymak, 2005). Pek çok araştırmacıya göre kullanılan farklı fungusitler bitki hücrelerinde C-mitoza neden olmaktadır (Yüzbaşıoğlu, 2003).

Bu çalışmada rastlanan anormalliklerin oluş sebeplerini, meydana gelme benzerlikleri açısından diğer kimyasal maddeler ile karşılaştırsak;

Kaymak (2005)'e göre; kromozom yapışmalarına, kromatin ipliklerinin hatalı ya da yetersiz kondensasyonu (kısalmış kalınlaşması, yoğunlaşması) sonucunda birbirlerine dolaşması, yapışması ve kırılması sebep olmakta ve bunun sonucunda mitotik iğ iplikleri ile kutuplara çekilmesi esnasında kromozom içindeki yapışıklığın birlikte hareket etmesi sonucu sekonder anormallikler (köprü ve fragment oluşumu gibi) meydana gelmektedir. Bazı klastojenik olaylar DNA'yı direkt etkileyemezken, kromozomlarda yapışmalara neden olarak indirekt etkilemektedir. Kromozomlarda yapışmalara klastojenik ajan olarak kabul edilen kimyasalların sebep olduğu kabul edilmektedir (Klusterska, 1976'a atfen Kaymak, 2005).

Yüzbaşıoğlu (2003), kromozom yapışkanlıklarının pestisitlerin fizyolojik etkileri sonucunda ortaya çıktığını belirtmektedir (Grant 1982). Kromozomlardaki yapışma, kimyasal maddenin yüksek toksisiteye sahip olduğunun ve genellikle de geri dönüşümü olmayan hasarlarla hücrenin ölümüne sebep olabileceğinin göstergesidir (Fiskeşjö, 1985). Pek çok fungusitin kromozomlarda yapışmaya sebep olduğu rapor edilmiştir (Somashekar ve ark.1984; Badr, 1988; Ahmad ve Yasmin, 1992). Çalışmamızda da yüksek oranda kromozom yapışmaları ile karşılaşmıştır. En yüksek miktarda yapışma vdate uygulamasında ve sırasıyla % 14, % 4 ve % 2'lik *U. maritima* ekstraktı dozlarında görülürken en düşük olarakta % 10, % 8, % 12 *U. maritima* ekstraktında ve kontrolde gözlenmiştir. Yapışma bakımından dozlar arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur

(* $p < 0,05$). Kromozomlarda yapışmaların vdate ve yüksek dozlardaki *U. maritima* ekstraktında oluşması yukarıdaki çalışmalarda elde edilen verilerle karşılaştırıldığında *U. maritima*'nın özellikle düşük dozlarında kimyasal bir pestisit olan vdate göre daha az sitotoksik olduğunu buna karşılık kontrolle kıyaslandığında düşük olmakla birlikte sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Yüzbaşıoğlu (2003), C-mitozun yaygın olarak kimyasalların iğ ipliklerinin oluşumunu colhicine benzer etki yaparak inhibe etmesinden kaynaklandığını (Badr, 1988) ve C-mitoza, yaygın olarak kimyasal zehirlenmeler sonucu iğ ipliklerinin etkilenmesi ve turbogenik olayların sebep olduğunu belirtmektedir (Shahin ve El-Amaadi, 1991).

Dane ve Dalgıç (2003), benomyl fungusinin hücre elementlerini kutuplara taşıma işini yürüten mikrotübüllerde polimerizasyon oluşturarak hücre bölünmesini bozduğunu ve C-mitoza sebep olduğunu, mikrotübülleri inhibe ederek sitokinezi engellediğini belirtmişlerdir. Anormal kromozom yoğunlaşmaları ise enzimlerin ve histon proteinlerinin inhibe edilmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır.

Grisolia (2004)'e göre, genellikle mitotik toksisite, iğ ipliklerinin düzensiz dağılmasına yada hiç oluşmamasına sebep olmaktadır. Bunun sonucuda C-mitoz görülür. Zayıf bir C-mitotik etki dahi iğ ipliklerinin kromozoma ulaşmamasına ve bunun sonucunda da geri kalmış kromozomların oluşmasına sebep olur. Geri kalmış kromozomların ve aneuploidinin oluşması genotoksik etkinin başlıca kanıtıdır (Babich ve ark. 1977).

Kaymak (2005), kromozom kırılmalarının, kopmalarının ve iğ iplikleri inhibisyonunun çeşitli kimyasalların iğ iplikleri için gerekli olan temel proteinleri etkilemesi sonucunda olabildiğini belirtmektedir.

Ahmad ve Yasmin (1992)'e atfen Yüzbaşıoğlu (2003)'nun bildirdiğine göre, mikronukleus oluşması, geri kalmış kromozomlar ya da asentrik kopmalar sonucunda olur. Köprü, kopma ve mikronukleus gibi mitoz anormallikleri DNA kromozomlarına klastogenik etki sonucunda

oluşmaktadır ve Yüzbaşıoğlu çalışmasında bunu gözlemlemiştir (Grant 1978'a atfen Yüzbaşıoğlu, 2003).

U. maritima ekstraktının kromozomlar üzerindeki etkisini Allium test metodu ile araştırmayı amaçladığımız çalışmamızda elde etmiş olduğumuz sonuçlar, Allium test ve diğer bitkisel test sistemleri kullanılarak çeşitli kimyasalların (pestisit, herbisit vb.) sitolojik ve genotoksik etkilerini araştırmak için yapılan deney sonuçları ve bu deneyler sonucunda gözlenen anormallikler ve oluşum mekanizmaları ile uygunluk göstermektedir.

Çalışmada gözlenen anormalliklerin miktarı ve çeşitliliği *U. maritima* ekstraktının yüksek dozlarında (% 5, % 6, % 8, % 10, % 12, % 14, % 16, saf *U. maritima* ekstraktı) ve kimyasal bir pestisit olan Vydate uygulamasında sık gözlenmiştir. Anormallikler genelde benzer doz ve doz aralıklarında meydana gelmiştir.

Metafazda fragment en çok sırasıyla % 2, % 4, % 5 *U. maritima* ekstraktları uygulamasında ve vydate uygulamasında, düzensiz metafaz vydate uygulamasında ve % 2, % 5, % 6, % 8, % 10, % 12 ve % 16 *U. maritima* ekstraktları dozlarında, anafazda yanlış kutuplaşma % 14, % 2 ve % 4 *U. maritima* ekstraktları uygulamalarında, düzensiz anafaz vydate ve saf *U. maritima* ekstraktı uygulamasında, anafazda köprü oluşumu % 14, % 2 ve % 4 *U. maritima* ekstraktı dozlarında, çekirdek deformasyonları en yüksek oranda % 12, % 16, % 10, % 14, % 8, % 4, % 5 ve % 6'lık *U. maritima* ekstraktı dozlarında, nukleus vakuolizasyonu ise sadece vydate ve saf *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenmiştir. Kromozom sayısındaki değişikliklerin % 2 ve % 5'lik *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında görülmesi ve mikronukleusların da yine % 5 *U. maritima* ekstraktı ve saf *U. maritima* uygulamasında görülmesi çalışmada kullandığımız *U. maritima* ekstraktının tüm konsantrasyonlarda ve % 2 vydate uygulamasının etkili olduğunu ortaya koymuştur.

Feulgen boyaması ile çekirdekler içinde daha açık renkte (heterokromatin) görülen ve genellikle bir adet olması beklenen nukleolus (çekirdekçik) sayısının daha fazla sayıda (4 ve üzerinde) gözlenmesi ve aynı preparatta gözlenen hücrelerde nukleolus sayısı çeşitlilik göstermesi, kontrol

örneklerinde de nukleolus sayısının bir ve üzerinde gözlenmesi nedeniyle uygulanmış olduğumuz ekstrakt ile direkt ilişkilendirilmemiştir. Ortalama 800-900 hücrede iki nukleolus, 700-800 hücrede bir nukleolus, 300-400 hücrede üç nukleolus, 200-300 hücrede de dört ve üzeri sayıda nukleolus gözlenmiştir. Bir çekirdekdeki nukleolus sayısı arttıkça oluşan nukleoluslar daha küçük, sayı azaldıkça oluşan nukleoluslar daha büyük olarak gözlenmiştir. Ayrıca, uygulama süresi ve dozuna bağlı olarak bir hücredeki nukleolus sayısı 48 saat uygulamasında % 12, % 14, % 16 *U. maritima* ekstraktı dozlarında bir birine yakın bulunmuştur (Şekil 25).

Hücre çekirdeklerinde gözlenen vakuolizasyonlar tüm uygulama sürelerinde en yüksek vydate uygulamasında ve daha düşük miktarda da saf *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenmiştir. Saf *U. maritima*'nın böyle bir etkiye sahip olması ekstraktın yüksek yoğunlukta bir çözelti olmasından, vydate uygulamasında ise daha fazla gözlenen vakuolizasyonlar kimyasal pestisitinin daha yıkıcı ve geniş kapsamlı bir mutajen olduğunu düşündürmektedir.

Saf *U. maritima* ekstraktı ve *Urginea maritima* ekstraktlarının yüksek dozları uygulanmasında meydana gelen anormallikler genellikle uzun uygulama sürelerinde (72 ve 144 saat) gözlenmiştir.

48 saatlik uygulama süresi sonunda anormal hücrelerin oluşmasına en yüksek oranda 32 hücre ile vydate sebep olmuştur. Bunu 22 hücre ile % 5 ve 17 hücre ile de % 14 *U. maritima* ekstraktları izlemiştir. En düşük anormal hücre kontrolde gözlenmiştir (Çizelge 7). 48 saat sonunda MI % 4.9 ile en yüksek vydate uygulamasında ve % 2.45 ile % 14 *U. maritima* ekstraktında, % 2.2 ile % 16 *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük MI, % 0.5 olarak % 8 ve % 12 *U. maritima* ekstraktlarında gözlenirken kontrolde % 1.7 oranında gerçekleşmiştir (Çizelge 5).

72 saat uygulama sonunda anormal hücreler, en yüksek 7 hücre ile vydate ve % 4 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında, 6'şar hücre ile saf *U. maritima* ve % 2 *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında gözlenmiştir. % 5, % 8, % 10, % 12, % 14 ve % 16 *U. maritima* ekstraktı dozlarında anormal hücre oluşumu

gözlenmezken kontrolde ortalama 1 hücrede anormallik görülmüştür (Çizelge 7). 72 saat uygulama da MI, en düşük % 0.4 olarak % 8 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenmiştir (Çizelge 5).

144 saat uygulamalarda en yüksek anormal hücre sayısı, 35 hücre ile % 2 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenmiş bunu 24 hücre ile % 4 *U. maritima* dozu, 9 hücre ile vydate ve 6 hücre ile saf *U. maritima* ekstraktı uygulaması izlemiştir. Buna karşılık % 10 ve % 14 *U. maritima* ekstraktı dozlarında anormal hücre gözlenmezken, kontrolde 11 anormal hücre tespit edilmiştir (Çizelge 7). 144 saat sonraki kök ucu örneklerinde MI, % 2 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında % 17, % 4 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında % 16.4 ve kontrolde % 10.8 olmuştur (Çizelge 5.1 ve 5.2).

Anormal hücre sayısı en yüksek vydate uygulamasında gözlenmiş ve istatistiki olarak ayrı bir grupta yer almıştır. Bunu ortalama 11.6 hücre ile % 2 ve 10.1 hücre ile % 4 *U. maritima* ekstraktı dozları izlemiştir. En düşük anormal toplam hücre % 10 *U. maritima* ekstraktı uygulamasında gözlenmiştir. Anormal hücre sayısı üzerine dozların etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (* $p < 0,05$), (Çizelge 8.1). Anormal hücrelerin yüksek oranda gözlenmesine sebep olan uygulama dozlarına, uygulama sürelerine göre bakıldığında, MI'in yüksek olduğu yani hücre bölünmesinin fazla olduğu dozlardır. Buna bağlı olarak MI grafiği (Şekil 7) ile uygulama doz ve sürelerine göre ortalama toplam anormal hücre sayıları grafikleri (Şekil 8) birbiri ile benzerlik göstermektedir.

48 saat uygulama süresinde özellikle *U. maritima* ekstraktının düşük dozlarında çok sayıda anormalliklerin görülmesini, mitoz geçirmekte olan hücrelerin *U. maritima* ekstraktının genotoksik ve sitotoksik etkilerinden henüz etkilenmemiş olmasına veya hücre koruyucu mekanizmaların (hücreyi mitozu girmekten alıkoyacak) henüz devreye girmemiş olmasına bağlayabiliriz.

72 saat uygulama süresinde çoğu uygulama dozlarında (% 8, % 10, % 12, % 16 *U. maritima* ekstraktı, saf *U. maritima* ekstraktı ve vydate uygulamalarında) bölünen hücre yok denecek kadar azdır (Şekil 7). Yani yüksek doz (% 8, % 10, % 12, % 16 ve saf *U. maritima* ekstraktı ile vydate)

uygulamaları soğan kök ucu meristem dokusu mitoz geçirmekte olan hücreleri *U. maritima* ekstraktından ve kimyasaldan toksik derecede etkilenmiş yada hücre koruyucu mekanizmaların (hücreyi mitoz girmekten alıkoyacak) devreye girmesi ile bu durum gözlenmiştir. Sonuç olarak, 72 saat uygulama süresinde % 5, % 8, % 10, % 12, % 14 ve % 16 *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında anormal hücre gözlenmemiştir. Ancak, uygulama süresinin (72 ve 144 saatlik uygulama süreleri) artışına paralel olarak çekirdek deformasyonlarının özellikle % 12, % 16, % 10, % 14 ve % 8'lik *U. maritima* dozlarında artış göstermesi (Çizelge 11.1) hücrelerin *U. maritima* ekstraktı kimyasalından genotoksik ve sitotoksik olarak etkilendiğini ve bunun sonucunda DNA sentezinin baskılandığını düşündürmektedir.

72 saat uygulama süresinde gözlenen bu durum, 144 saat uygulamada da benzer olarak gözlenmiştir. 144 saat uygulama süresinde, çekirdek deformasyonları en yüksek sırası ile % 12, % 14, % 16, % 10 ve % 8'lik *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında gözlenirken, en düşük mitotik indeks saf *U. maritima* ekstraktında ve sırası ile % 16 *U. maritima* ekstraktı, vdate, % 10, % 12 ve % 14 *U. maritima* ekstraktı uygulamalarında tespit edilmiştir. Anormal hücre sayısının en yüksek olduğu % 2 ve % 4 *U. maritima* dozlarında mitotik indeks en yüksektir. 144 saatl uygulama süresinde yüksek dozların, hücreleri toksik derecede etkilediğini belirtebiliriz. Bunun yanında düşük dozlarda (% 2, % 4 ve % 5 *U. maritima* ekstraktı uygulamaları) hücre bölünmelerinin devam ettiğini yani hücrelerde ekstraktın toksik düzeyde zarar vermediğini ve bölünmekte olan hücrelerde hücreyi mitoz girmekten alıkoyacak hücre koruma mekanizmalarının devreye girmediğini belirtebiliriz.

Civelek (2003), tarafından yapılan çalışmada kök ur nematodlarına karşı biopestisit amaçlı kullanılacak olan *U. maritima* ekstraktı pratikte sera koşullarında en iyi etkiyi % 4 dozunda göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda da şunu açıkça söyleyebiliriz, saf *U. maritima* ve yüksek dozlarda *U. maritima* ekstraktlarının uygulanmasında meydana gelen anormallikler genellikle uzun uygulama sürelerinde (72 ve 144 saat uygulamalarda) gözlenmiştir. Çalışmamızda kök-ur nematodlarına karşı kullanılan kimyasal

bir pestisit olan vydate (% 2 pratikte önerilen doz) ile *U. maritima* ekstraktı uygulama dozlarını karşılaştırdığımızda, saf *U. maritima* ekstraktında köklendirilen soğanların kök ucu hücrelerinde, kimyasal pestisitte köklendirilenler kadar kromozom anormalliği gözlenmemiştir. Kısaca, saf *U. maritima* ekstraktı kimyasal bir pestisit olan vydate'e göre daha az mutajenik görülmektedir.

Çalışmamızda kullandığımız bu bitki ekstraktının, öncelikle başka parazit gruplarında, tarla ve laboratuvar koşullarında bilimsel olarak araştırılması ve elde edilen sonuçların ekonomik zarar eşiğinin altında olması durumunda *U. maritima* ekstraktlarının düşük dozlarının güvenli olarak kullanılabilceği sonucunu belirtebiliriz. Fakat öncelikle organik bir ürün olup doğada kalma ve etki süresi, ekstraktın kullanılacağı parazitlerde tolerans geliştirip geliştirmeyeceği, nematodlara karşı kesin etki gösteren bileşimindeki içeriklerin etki mekanizması belirlenmeli ve pratikte başka hangi parazit gruplarına karşı kullanılabilceğinin yeni çalışmalarla ortaya konulması ayrıca kromozomlar üzerindeki etki mekanizmalarının daha ayrıntılı çalışmalar (moleküler araştırmalar) ile araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Anonim, 1991. Türkiye'nin Çevre Sorunları, Türkiye Çevre Sorunları Vakfı. Ankara.

Anonim, 1998. Muğla İli Arazi Varlığı, T.C. Başbakanlık Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara.

Anonim, 1999. EPA, Çevre Koruma Örgütü = www.epa.gov.

a-) A Summary of OPP Reduced-Risk Pesticides İnitavite. US EPA. Zpp.

b-) FiscalYear1999 Work Plan. US EPA.4pp.

Anonim, 2001. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı. Kimya Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Tarım İlaçları Alt Komisyonu Raporu, Nisan 2001, Ankara. <http://ekutup.dpt.gov.tr/>

Anonim, 2004. İkinci Tarım Şurası, 3. Komisyon Raporu, Ünver, S., Sade, B., Mamak, F., Özdem, A., Bitki Yetiştiriciliği Bitki Koruma ve Çevre Sağlığı.

Akpınar, N., Türkoğlu, Ş., Koca, S., 2001. An Investigation on Cytological Effects of Tonifruit on *Vicia faba* L. Journal of Qafqaz University, 8, 191-198.

Aktaç, T., Ekinci, F., Sıdal, U., Sıdal, F. E., 1994. The Effects of Endosulphan on the Root Tip Cells of Lentil (*Lens esculanta*) Tr. J. Biology 18, 27-37.

Amat, A. G., Yajia. E.M., Gonzalez, C.F., Lorca, L.G., Gonzalez, F.S., Rıglos, A.G. ve Veron, R., 2002. Evaluation of Cytological Parameters Induced by Aqueous Extracts of Seven Plants Used as Antihypertensive Agents in Argentine Folk Medicine. Acta Farm. Bonaerense 21 (1): 37-42.

Arambasic, M.B., Bjelic, S. and Subakov, G.S., 1995. Acute Toxicity of Heavy Metals (Copper, Lead, Zinc), Phenol and Sodium on *Allium cepa* L., *Lepidium*

sativum L. *Daphnia magna* St.: Comparative Investigations and the Practical Applications. *Wat. Res.*, 29, 497-503.

Aybeke, M., Olgun, G., Sıdal, U., Kolankaya, D., 2000. Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Buğday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi. *Turk J. Biol.* 24, 127-140.

Aydinoğlu, H., Dursun, H.Y., Bayraktar, L., 2002. Bitki Koruma Ürünleri. Türkiye Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yayınları, S. 94.

Baeza-Squiban, A., Marano, F., Ronot, X., Adolphe, M., Puisseux-Dao, S., 1987. Effects of Deltamethrin and its Commercial Formulation Decis on Different Cell Types in Vitro. Cytotoxicity, Cellular Binding and Intracellular Localization. *Pest. Biochem. Physiol.* 28, 103–113.

Batanouny, K. H., Tabl, S. A., Shabana, M., Soliman, F., 1999. Wild Medicinal Plants in Egypt. Academy of Scientific Research and Technology, Egypt. International Union for Conservation (IUCN). Chapter Two; Pharmacopoeial Wild Medicinal Plants in Egypt, (*Urginera maritima* (L.) Baker)

Batat, İ., Bahçeci, Z., 1998. Genetik, Gazi Üniversitesi, Kırşehir Eğitim Fakültesi Yayınları, Kırşehir. S. 51.

Baytop, T., 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniv., Ecz. Fak. Yayını Ankara, No.65, Cilt 2.

Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.

Bora, T., Özaktan, H., 1998, Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. Prizma Matbaası, İzmir.

Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N., Gupta, S.K., 1999. Cytogenetic Effects of Cypermethrin and Fenvalerate on the Root Meristem Cells of *Allium cepa* L. *Environmental and Experimental Botany*, 42, 181–189.

Civelek, H.S., Durmusoglu, E., Weintraub, P.G. , 2002. The Efficacy Of Two Different Neem [*Azadirachta Indica* A Juss (Melacaeae)] Formulations On The Larvae Of *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) and *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae). *The International Journal of Dipterological Research*, 13(2): 87-91.

Civelek, S. H., 2003. Ortaca (Muğla) Seralarında Domateslerde Zarar Yapan Kök Ur Nematotlarının (*Nematoda*) ve Galeri Sineklerinin (*Diptera: Agromyzidae*) Mücadelesinde Bazı Bitki Ekstraktlarının Kullanılması Üzerine Araştırmalar, Muğla Üniv., Bilimsel Araştırma Projeleri, Proje No:00-007 Proje Kesin Raporu.

Cortes, F., Escalza, P., Mateos, S. ve Diaz-Recasens. M., 1987. Factors Affecting the Production of SCEs by Maleic Hydrazide in Root Tip Chromosomes of *Allium cepa*. *Mutat. Res.*, 192: 125-130.

Coşkun, E., Özörgücü, B., Gönüz, A., Tort, N., 1994. The Effects of Decis (Insecticide) on Onion (*Allium cepa*) Root Tip Meristematic Cells. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Edirne, 266–269.

Dane, F., Dalgıç, Ö., 2003. The Effects of Fungicide Benomyl (BENLATE) on Growth and Mitosis in Onion (*Allium cepa* L.) Root Apical Meristem. *Acta Biologica Hungarica* 56 (1–2), 119–128.

Delen, N., Tosun, N., Toros, S., Öztürk, S., Yücel, A., Çalış, S., 1995. Tarım İlaçları Kullanımı ve Üretimi. Türkiye Ziraat Mühendisleri IV Teknik Kongresi, T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları, No: 26, 1015-1028.

Delen, N., 1999. Usage of Methyl Bromide in Turkey and Possible Toxicologic Problems. The 4. Congres of Toxicology in Developing Countries. Antalya-Turkey, Novomber 6-10.

Delen, N., 2002. Türkiye’de Tarım İlacı Kullanımı ve Sorunları. TAYEK/TYUAP Tarla Bitkileri Grubu, Ege Tarımsal Araştırma Müdürlüğü, Yayın No: 109, 233-247.

Delen, N., Yıldız, M., Koplay, C., Kınay, P., Çoşkuntuna, A., Yıldız, F., 2003. Sebze Seralarında Kurşuni Küf Hastalığına Karşı Etkili Kimyasal Savaşım Açısından *B. cineria*’nın Bazı Fungusitlere Duyarlılığı Konusunda Çalışmalar. 3. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 8-12 Eylül 2003, Antalya.

Delen, N., 2003. Türkiye de Tarım İlacı Kullanımından Kaynaklanan Sorunlar ve Çözüm Önerileri. Tarımsal Savaş Uygulamalarında Sorunlar ve Çözümler Çalıştayı. E.Ü.Z.F. Tarım Makinaları Bölümü Çalıştayları Dizisi, No:7, 75-81.

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, A., Turgut, C., Burçak, A., 2005. Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi, 629-648.

Ecevit, O., 1988. Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, Samsun.

Ekingen, H.R., 1973. Bazı Insektisitlerin Bitki “Polen Ana Hücreleri” Kromozomlarında Değişmeler Meydana Getirme Bakımından Etkileri. IV. Bilim Kongresi, 5-8 Kasım Ankara, 1-10.

Elçi, Ş., 1994. Sitogenetik Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler, 100. Yıl Üniv. Yayınları, Van, Yayın No:18, Fen Edeb. Fak. Yayın No:16, S. 52-83.

Ertürk, Ö., Kara, Ö., Sezer, E., Şan, G., 2004. Lahana Yaprak Güvesi (*Plutella xylostella*, L.)' nin (Lepidoptera; Plutellidae) Gelişmesi Üzerine Bazı Bitki Özütlelerinin Toksik Etkileri. *Ekoloji* 13,50, 18-22.

Fiskesjö, G., 1981. a-) Allium test on Copper in Drinking Water. *Vatten*, 17(3), 232-240.

Fiskesjö, G., 1981. b-) Benzo(a)pyrene and N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine in the Allium test. *Hereditas*, 95, 155-162

Fiskesjö, G., 1993. A 2-3 Day Plant Test for Toxicity Assessment by Measuring the Mean Root Growth of Onions (*Allium cepa* L.), *Environ. Toxicol. and Wat. Quality*, Vol.8, 461-470.

Gökalp, F.D., Kaymak, F., 2002. The Cytogenetic Effects of Maleic Hydrazide in Human Lymphocyte Culture. *Trakya Üniv. Bilimsel Araştırmalar Dergisi, B Serisi, Cilt 3, No 2*, 141-147.

Gözenç, S., 1964. Muğla-Gökova Arasındaki Coğrafi Müşahadeler. *İstanbul Üniv., Coğrafya Enst. Dergisi*, 14, 209-220.

Grisolia, C.K., Bilich, M.R., Formigli, M.L., 2004. A Comparative Toxicologic and Genotoxic Study of the Herbicide Arsenal, its Active Ingredient Imazapyr and the Surfactant Nonylphenol Etoxylate. *Ecotoxicology and Enviromental Safety* 59, 123-126.

Hawrelak, M., Bennett, E., Metcalfe, C., 1999. The Environmental Fate of Primary Degradation Products of Alkylphenol Ethoxylate Surfactants in Recycled Paper Sludge. *Chemosphere* 39, 745-752.

İnce, H., 1989. Bitki Preparasyon Teknikleri. *Ege Üniv., Fen Fak. Yayınları No:127, S.43-57*, İzmir.

İnceer, H., Beyazoğlu, O., 2000. Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray Kök Ucu Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri. *Turk J. Biol* 24, 553-559.

İnceer, H., Ayaz, S., Beyazoğlu, O., Şentürk, E., 2003. Cytogenetic Effects of Copper Chloride on the Root Tip Cells of *Helianthus annuus* L.. *Türk J. Biol.* 27, 43-46.

Junk, G.A., Svec, H.J., Vick, R.D., Avery, M.J., 1974. Contamination of Water by Polymer Tubes. *Environ. Sci. Technol.* 8, 1100–1106.

Kalaycıoğlu, A., Öner, C., 1994. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimutagenik Etkilerinin Ames Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması. *Tr. J. of Botany*, 18, 17-122.

Kandemir, A., Beyazoğlu, O., 2002. Köse Dağları'nın (Gümüşhane) Tıbbi ve Ekonomik Bitkileri. *Süleyman Demirel Üniv., Fen Bil. Enst. Dergisi*, 6-3,148-157.

Karol, S., Suludere, Z., 1992. Hücre Çekirdeği ve Kromozomlar. S.2-30, Ankara.

Kaya, E., 2004. Muğla Merkez (Urban) Florası. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniv., Fen Bil. Enst., Muğla.

Kaymak, F., 1994. The Effects of Some Mutagens and Pollutants on Chromosomal Abnormalities of Rye Cv. "Anatolia-83" During Meiotic Cell Division. *Tr. J. of Biology*, 18, 305-315.

Kaymak, F. 2005., Cytogenetic Effects of Maleic Hydrazide on *Helianthus annuus* L.. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(1): 104-108.

Kıran, Y., Munzuroğlu, Ö., 2004. The Effects of Lead on the Seed Germination and Seedling Growth of Lens (*Lens culinaris* Medik.). *F. Ü., Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16 (1), 1-9.

Kıran, Y., Şahin, A., 2005. The Effects of the Lead on the Seed Germination , Root Growth, and Root Tip Cell Mitotic Divisions of *Lens culinaris* Medik. G.U. Journal of Science, 18(1):17-25.

Kırbağ, S., 1999. *Hypericum perforatum* L.'un Değişik Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkileri, Journal of Qafqaz University, Vol. 2, N. 1.

Koyuncu, M., 1978. İç ve Güney Anadolu Bölgelerinde Yetişen *Allium*(soğan) Türleri Üzerinde Taksonomik Araştırmalar, Doçentlik Tezi, Ankara.

Krenn, L., Kopp, B., Deim, A., Robien, W., Kubelka, W, 1994. About the Bufadienolide Complex of 'Red Squill'. Planta Med., 60, 63–69.

Krenn, L., Jelovina, M., Kopp, B., 1999. New Bufadienolides from *Urginea maritima Sensu Strictu*. Fitoterapia, 71, 126-129.

Levent, S., Uysal, H. ve Bahçeci, Z., 1998. *Drosophila melanogaster*'in Tükrük Bezi Politen Kromozomlarında Bakır Klörür'ün Gen Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Tr. J. of Biology, 22: 7-14.

Madanlar, N., Yoldaş, Z. ve Durmuşoğlu, E., 2002. İzmir'de Sebze Seralarında Zararlılara Karşı Doğal Pestisitlerle Savaş Olanakları. *Türk Entomol Derg.*, 26(3): 181-195.

Maria, W., 1996. The Effects of Plant Extracts on the Cabbage Butterfly, *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera). Polish Journal of Ent., 65, 93-99.

Miranda, M. G. and Ilangiovan, K., 1996. Uptake of Lead by *Lemna gibba* L. Influence on Specific Growth Rate and Basic Biochemical Changes. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 56: 1000-1007.

Mısık, M. and Mıcıeta, K., 2002. *Tradescantia* Micronukleus and Chromosome Anatelophase Assays in Monitoring of Genotoxicity of Urban Soil. Department of Botany, Faculty of Natural Sciences, Comenius Universty, Bratislava, Slovakia.

Öncüer, C., 1995. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Ege Üniv., Basımevi, İzmir.

Özmen, A., 2002. Azadiractin'in *Allium cepa* L. Kök Ucu Meristem Hücrelerinde Mitotik Bölünme Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniv., Fen Bil. Enst., Aydın.

Pascual-Villalobos, M.J., and Robledo, A., 1999. Anti-insect Activity of Plant Extracts from the Wild Flora in Southeastern Spain. *Biocemical Systematics and Ecology*, 27 (1), 1-10.

Pascual-Villalobos, M.J., Fernandez, M., 1999. Insecticidal Activity of Ethanolic Extracts of *Urginea maritima* (L.) Baker Bulbs . *Industrial Crops and Products*, 10, 115–120.

Pascual-Villalobos, M.J. 2002. Anti-insect Activity of Bufadienolides from *Urginea maritima*. p.564-566. In: J. Janick and A. Whipkey(eds.), *Trends in New Crops and New Uses*. ASHS Pres, Alexandria, VA.

Pati, P.C., Bhunya, S.P., 1989. Cytogenetic Effects of Fenvalerate in Mammalians in Vivo Test System. *Mutat. Res.* 222, 149–154.

Patra, J., Sahoo, M.K., Panda, B.B., 2005. Salicylic Acid Triggers Genotoxic Adaptation to Methyl Mercuric Chloride and Ethyl Methane Sulfonate, but not to Maleic Hydrazide in Root Meristem Cells of *Allium cepa* L. *Mutation Research*, 581, 173–180.

Rank, J., Nielsen, M.H., 1997. *Allium cepa* Anaphase-Telophase Root Tip Chromosome Aberration Assay on *N*-methyl-*N*-nitro Urea, Maleic Hydrazide, Sodium Azide and Ehtylmethane Sulphonate. *Mutat. Res.*, 390, 121–127.

Rencüzoğulları, E., Karayıldız, A., İla, H.B., Çakmak, T., Topaktaş, M., 2001. The Cytogenetic Effects of Sodium Metabisülfitte, a Foot Preservative in Root Tip Cells of *Allium cepa* L.. *Turk J. Biol.*, 25, 361-370.

Sahranç, B., 2001. Muğla İl Merkezi Geofitleri Üzerinde Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniv., Fen Bil. Enst., Muğla.

Singh, M.R., 1982. Effects of IAA with Maleic Hydrazide and Colchicine on Root Tip Mitosis. *Cytologia*, 47: 419-426.

Tanker, N., Sakar, M.K., 1991. Fitokimyasal Analizler. Ankara Üniv., Ecz. Fak. Yayınları, Ders Kitapları, S. 43-46.

Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M., 1998. Farmasötik Botanik. Ankara Üniv., Ecz. Fak. Yayınları, Ders Kitapları No: 78, S. 169-170.

Verbiscar, A.J., Patel, J., Banigan, T.F., Schatz, R.A., 1986. Scilliroside and other scilla compounds in red squill. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 973–979.

Wawrzyniak, M., 2004. Studies on Biological Activities of Extracts from Plants of the *Geranium* Family on *Pieris brassicae*. Second European Allelopathy Symposium Allelopathy – from understanding to application, 2004, University of Technology and Agriculture, Department of Applied Entomology Kordeckiego 20A, 85-225 Bydgoszcz, Poland.

Yüzbaşıoğlu, D., 2003. Cytogenetic Effects of Fungucide Afugan on the Meristematic Cells of *Allium cepa* L.. *The Japan Mendel Society, Cytologia*, 68 (3) : 237-243.

Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Sancak, C., Kasap, R., 2003. Cytological Effects of the Herbicide Racer “Flurochloridone” on *Allium cepa*. *Caryologia*, Vol.56, No.1 : 97-105.

Vidakovic'-Cifrek, Z., Pavlica, M., Regula, I., Papes, D., 2002. Cytogenetic Damage in Shallot (*Allium cepa*) Root Meristems Induced by Oil Industry “High-Density Brines” *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 43, 284–291.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Muğla'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Muğla'da tamamladı. 1996 yılında sınav ile kazandığı Balıkesir Savaştepe Sağlık Meslek Lisesinden okul birincisi olarak mezun oldu. 1997 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fatih Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği programına yerleştirildi. 24.01.2001 tarihinde Sağlık Bakanlığına bağlı Rize Merkez 112 Acil Kurtarma ve Yardım İstasyonunda Toplum Sağlığı Teknisyeni olarak göreve başladı. Haziran 2001 tarihinde Biyoloji Öğretmeni ünvanı ile lisans programından mezun oldu. 2003 yılında, Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. Halen Sağlık Bakanlığı'na bağlı Muğla Devlet Hastanesi, Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi'nde görev yapmaktadır.