

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

131520

AFLATOKSİN B<sub>1</sub> VE AFLATOKSİN G<sub>1</sub>'İN *Zea mays* ve *Vicia faba* da  
SEBEP OLDUĞU SİTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL  
DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE Se<sup>4+</sup>'UN ANTAGONİSTİK ETKİSİ

Lokman ALPSOY

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

131520

ERZURUM  
2003

Her hakkı saklıdır. **YÜKSEKÖĞRETİM KURULU**  
**DOĞUMANTASYON MERKEZİ**

Yrd. Doç. Dr. Güleray... AGAR danışmanlığında Lokman ALPSOY tarafından hazırlana bu çalışma, 5.19.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR imza:.....

Üye : Doç. Dr. Hasan ÖZDEMİR imza :.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Güleray... AGAR imza :.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım

(İmza)

Ümit Demir.....

Prof. Dr. Ümit DEMİR  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### AFLATOKSİN B<sub>1</sub> VE AFLATOKSİN G<sub>1</sub>'İN *Zea mays* ve *Vicia faba* da SEBEP OLDUĞU SİTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE Se<sup>4+</sup>'UN ANTAGONİSTİK ETKİSİ

Lokman ALPSOY

Atatürk Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Güleray AĞAR

Bu çalışmada AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub>'in farklı konsantrasyonlarının *Vicia faba* ve *Zea mays* da kromozomal anormallikler, total protein ve klorofil miktarı üzerine olan etkileri ve bu etkilerinin Se<sup>4+</sup> ile giderilip giderilemeyeceği araştırılmıştır.

AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub>'in konsantrasyonları arttıkça toksik ve mutajenik etkilerinin arttığı gözlenmiş ve Se<sup>4+</sup>'un bu olumsuz etkiler üzerine koruyucu rolünün olduğu tespit edilmiştir. Özellikle Se<sup>4+</sup>'un 8 ppm lik dozunun hayvansal organizmalarda olduğu gibi bitkisel organizmalarda da en etkili doz olduğu bulunmuştur.

2003, 48 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** AFB<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>, Se<sup>4+</sup>, *Zea mays*, Kromozom anormallikleri

## ABSTRACT

Master Thesis

THE ANTAGONISTIC EFFECT OF  $Se^{4+}$  ON THE CYTOLOGIC AND BIOCHEMICAL CHANGES CAUSED BY AFLATOXIN B<sub>1</sub> AND AFLATOXSIN G<sub>1</sub> ON *Zea mays* AND *Vicia faba*

Lokman ALPSOY

Atatürk University

Science Institue

Main Branch Of Molecular Biology

Consultant: Asist. Prof. Dr. Güleray AĞAR

In this study the effects of different concentration of AFB<sub>1</sub> and AFG<sub>1</sub> on the chromosomal structure, the contents of total protein and chlorophyll of *Vicia faba* and *Zea mays* were investigated. On the other hand we also investigated whether this adverse effects of AFB<sub>1</sub> and AFG<sub>1</sub> can be diminish by application of selenium.

As a result, it was found that the mutagenic and toxic effects of AFB<sub>1</sub> and AFG<sub>1</sub> were increased by increasing of their doses and selenium has a protective effect against these negative effects.

Especially, it was seen that the dosage of 8 ppm of  $Se^{4+}$  is most effective on plant organism as well as on animal organisms.

2003, 48 page

**Keywords:** AFB<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>,  $Se^{4+}$ , *Zea mays*, Chromosomal abnormality.

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu alışma Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümünde yapılmıştır.

Çalışmalarımnda her türlü desteği sağlayan çok değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Güleray AĞAR'a (Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü) en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sürecinde deney materyallerimin temininde yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Medine GÜLLÜCE'ye (Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü), araştırma sonuçlarının istatistiki analizlerini yapan Sayın Murat OLGUN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında eşimden görmüş olduğum destek ve teşvikten dolayı kendisine teşekkür ederim.

Lokman ALPSOY

Ağustos 2003

## SİMGELER DİZİNİ

AC	: Aberrant Cell
AFB <sub>1</sub>	: Aflatoksin B <sub>1</sub>
AFG <sub>1</sub>	: Aflatoksin G <sub>1</sub>
G	: Guanin nükleotid
MI	: Mitotik İndeks
SD	:Standart Değer
T	:Timidin nükleotidi



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Aflatoksin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> , M <sub>1</sub> , M <sub>2</sub> , B <sub>2A</sub> , G <sub>2A</sub> , P <sub>1</sub> ve Q <sub>1</sub> 'in yapısı...	4
Şekil 1.2.	Aflatoksinlerin sentez basamakları.....	6
Şekil 1.3.	Okside AFB <sub>1</sub> in ve benz(a) pyrene oksidenin guanine bağlanmaları .....	7
Şekil 1.4.	Normal DNA ile aflatoksin bağlanmış DNA arasındaki yapısal değişiklikler.....	8
Şekil 3.1.	Protein tayini için kullanılan standart grafik.....	22
Şekil 4.1.1.	<i>Vicia faba</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFB <sub>1</sub> ile beraber mitotik indeks üzerine olan etkileri .....	26
Şekil 4.1.2.	<i>Vicia faba</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber mitotik indeks üzerine olan etkileri .....	26
Şekil 4.1.3.	<i>Zea mays</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFB <sub>1</sub> ile beraber mitotik indeks üzerine olan etkileri .....	27
Şekil 4.1.4.	<i>Zea mays</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber mitotik indeks üzerine olan etkileri .....	27
Şekil 4.2.1.	<i>Vicia faba</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFB <sub>1</sub> ile beraber kromozomal anormallikler üzerine olan etkileri .....	29
Şekil 4.2.2.	<i>Vicia faba</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber kromozomal anormallikler üzerine olan etkileri.....	30
Şekil 4.2.3.	<i>Zea mays</i> da da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFB <sub>1</sub> ile beraber kromozomal anormallikler üzerine olan etkileri .....	30
Şekil 4.2.4.	<i>Zea mays</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber kromozomal anormallikler üzerine olan etkileri.....	31
Şekil 4.3.1.	<i>Vicia faba</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber protein miktarı değişimi üzerine olan etkileri.....	33
Şekil 4.3.2	<i>Vicia faba</i> da Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber protein miktarı değişimi üzerine olan etkileri .....	33
Şekil 4.3.3.	<i>Zea mays</i> da Se <sup>4+</sup> 'un farklı konsantrasyonlarının AFB <sub>1</sub> ile beraber protein miktarı değişimi üzerine olan etkileri.....	34

Şekil 4.3.4. <i>Zea mays</i> da $Se^{4+}$ un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber protein miktarı değişimi üzerine olan etkileri.....	34
Şekil 4.4.1. <i>Vicia faba</i> da $Se^{4+}$ un farklı konsantrasyonlarının AFB <sub>1</sub> ile beraber klorofil miktarı değişimi üzerine olan etkileri .....	36
Şekil 4.4.2. <i>Vicia faba</i> da $Se^{4+}$ un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber klorofil miktarı değişimi üzerine olan etkileri.....	37
Şekil 4.4.3. <i>Zea mays</i> da $Se^{4+}$ un farklı konsantrasyonlarının AFB <sub>1</sub> ile beraber klorofil miktarı değişimi üzerine olan etkileri.....	37
Şekil 4.4.4. <i>Zea mays</i> da $Se^{4+}$ un farklı konsantrasyonlarının AFG <sub>1</sub> ile beraber klorofil miktarı değişimi üzerine olan etkileri.....	38





## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Aflatoksinlerin formül ve özelliklerini gösteren tablo.....	5
Çizelge 3.1.	Mısır ve bakla tohumlarına uygulanan aflatoksin ve selenyum dozları.....	18
Çizelge 4.1.1.	<i>Vicia faba</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in farklı konsantrasyonlarının, Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte mitotik indeks üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması ....	24
Çizelge 4.1.2.	<i>Zea mays</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in farklı konsantrasyonlarının, Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte mitotik indeks üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması . ....	24
Çizelge 4.2.1.	<i>Vicia faba</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in farklı konsantrasyonlarının, Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte kromozomal anormallikler üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması.....	27
Çizelge 4.2.2.	<i>Zea mays</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in farklı konsantrasyonlarının, Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte kromozomal anormallikler üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması.....	28
Çizelge 4.3.1.	<i>Vicia faba</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in farklı konsantrasyonlarının, Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte protein miktarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması.....	31
Çizelge 4.3.2.	<i>Zea mays</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in farklı konsantrasyonlarının, Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte protein miktarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması.....	31
Çizelge 4.4.1.	<i>Vicia faba</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in farklı konsantrasyonlarının, Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte klorofil miktarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması.....	34
Çizelge 4.4.2.	<i>Zea mays</i> da da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in farklı konsantrasyonlarının, Se <sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte klorofil miktarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması.....	35

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
SİMGELER DİZİNİ .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Aflatoksinlerin Yapısı ve Özellikleri .....	2
1.2. Aflatoksinlerin Canlılar Üzerine Etkileri .....	7
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	12
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	17
3.1. Materyal .....	17
3.1.1. Tohumların çimlendirilmesi.....	17
3.2. Yöntem .....	19
3.2.1. Kromozomların incelenmesi için preparat hazırlanması .....	19
3.2.2. Klorofil miktarının tayini .....	20
3.2.3. Kantitatif protein tayininin yapılması.....	20
3.2.4. Verilerin istatistiksel analizi .....	23
<b>3. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	24
3.1. <i>Zea mays</i> ve <i>Vicia faba</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in Mitotik İndeks Üzerine Olan Etkileri ve Bu Etkilerin Se <sup>4+</sup> ile Giderilmesi.....	24
3.2. <i>Zea mays</i> ve <i>Vicia faba</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in Sebep Olduğu Kromozomal Anormallikler ve Bu Anormallikler Üzerine Se <sup>4+</sup> un Antagonistik Etkisi.....	28
3.3. <i>Zea mays</i> ve <i>Vicia faba</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in Protein Miktarı Üzerine Olan Olumsuz Etkileri ve Bu Etkilerin Se <sup>4+</sup> ile Giderilmesi .....	31
3.4. <i>Zea mays</i> ve <i>Vicia faba</i> da AFB <sub>1</sub> ve AFG <sub>1</sub> 'in Protein Miktarı Üzerine Olan Olumsuz Etkileri ve Bu Etkilerin Se <sup>4+</sup> ile Giderilmesi. ....	35

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	39
KAYNAKLAR.....	43
EKLER .....	46
EK 1 .....	46
EK 2 .....	47



## 1. GİRİŞ

Mantarların dünyada hava, su, toprak gibi birçok ortamda yayılış gösterebilen 1000 civarında türü vardır. Doğada parazit, saprofit ve simbiyotik olmak üzere farklı şekillerde yaşarlar (Sharby 1977).

İnsanlar için yararlı ve zararlı mantar türleri vardır. Mantarlar besin olarak tüketildiği gibi aynı zamanda alkol (mayalardan), antibiyotik (örneğin Penicilin antibiyotiği *Penicillium chrysogenum* türünden), yağ (*Penicillium* türlerinden), vitamin (mayalardan), enzim, ilaç ve peynir üretiminde de çok sık kullanılmaktadırlar (Algur 1992).

Mantarların bu faydaları yanında zararları da vardır. Mantarlar, özellikle de küfler, deri, ağaç, kumaşların küflenmesine, tarımda ürün kaybına yol açmaktadır. İnsanlar dahil çeşitli canlılar üzerinde yaşadıklarında onların hastalanmalarına, hatta ölümlerine neden olmaktadır. Tarımsal ürünler ve gıdalarda yaygın olarak zararlara yol açan küf cinslerinin *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Stachybotrys*, *Pithomyces*, *Phoma*, *Myrothecium*, *Phomopsis* ve *Diplodia* olduğu bilinmektedir (Sharby 1977).

Hayvansal dokularda ve insanlarda funguslarla oluşturulan yara ve lezyonlara *mikoza*, mantarların doğrudan tüketilmesi yolu ile oluşan zehirlenmelere *miketismus*, mantar toksinlerinin yenilmesiyle oluşan zehirlenmelere ise *mikotoksikozis* adı verilir (Algur 1992).

Mantarların oluşturduğu toksinlere mitotoksin adı verilir. Mitotoksinler, küflerin insan ve hayvanlarda hastalık oluşturabilen ve antijenik özellik göstermeyen sekonder metabolitleridir. Karatinoidler, alkaloidler, siklopeptitler ve kumarinler olarak sınıflandırılan mitotoksinler, kimyasal yapı bakımından birbirlerinden farklılık gösterirler. Mitotoksinlerin en toksik olanı aflatoksinlerdir (Wyllie ve Morehouse 1977).

## 1. GİRİŞ

Mantarların dünyada hava, su, toprak gibi birçok ortamda yayılış gösterebilen 1000 civarında türü vardır. Doğada parazit, saprofit ve simbiyotik olmak üzere farklı şekillerde yaşarlar (Sharby 1977).

İnsanlar için yararlı ve zararlı mantar türleri vardır. Mantarlar besin olarak tüketildiği gibi aynı zamanda alkol (mayalardan), antibiyotik (örneğin Penicilin antibiyotiği *Penicillium chrysogenum* türünden), yağ (*Penicillium* türlerinden), vitamin (mayalardan), enzim, ilaç ve peynir üretiminde de çok sık kullanılmaktadırlar (Algur 1992).

Mantarların bu faydaları yanında zararları da vardır. Mantarlar, özellikle de küfler, deri, ağaç, kumaşların küflenmesine, tarımda ürün kaybına yol açmaktadır. İnsanlar dahil çeşitli canlılar üzerinde yaşadıklarında onların hastalanmalarına, hatta ölümlerine neden olmaktadır. Tarımsal ürünler ve gıdalarda yaygın olarak zararlara yol açan küf cinslerinin *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Stachybotrys*, *Pithomyces*, *Phoma*, *Myrothecium*, *Phomopsis* ve *Diplodia* olduğu bilinmektedir (Sharby 1977).

Hayvansal dokularda ve insanlarda funguslarla oluşturulan yara ve lezyonlara *mikoza*, mantarların doğrudan tüketilmesi yolu ile oluşan zehirlenmelere *miketismus*, mantar toksinlerinin yenilmesiyle oluşan zehirlenmelere ise *mikotoksikozis* adı verilir (Algur 1992).

Mantarların oluşturduğu toksinlere mitotoksin adı verilir. Mitotoksinler, küflerin insan ve hayvanlarda hastalık oluşturabilen ve antijenik özellik göstermeyen sekonder metabolitleridir. Karatinoidler, alkaloidler, siklopeptitler ve kumarinler olarak sınıflandırılan mitotoksinler, kimyasal yapı bakımından birbirlerinden farklılık gösterirler. Mitotoksinlerin en toksik olanı aflatoksinlerdir (Wyllie ve Morehouse 1977).

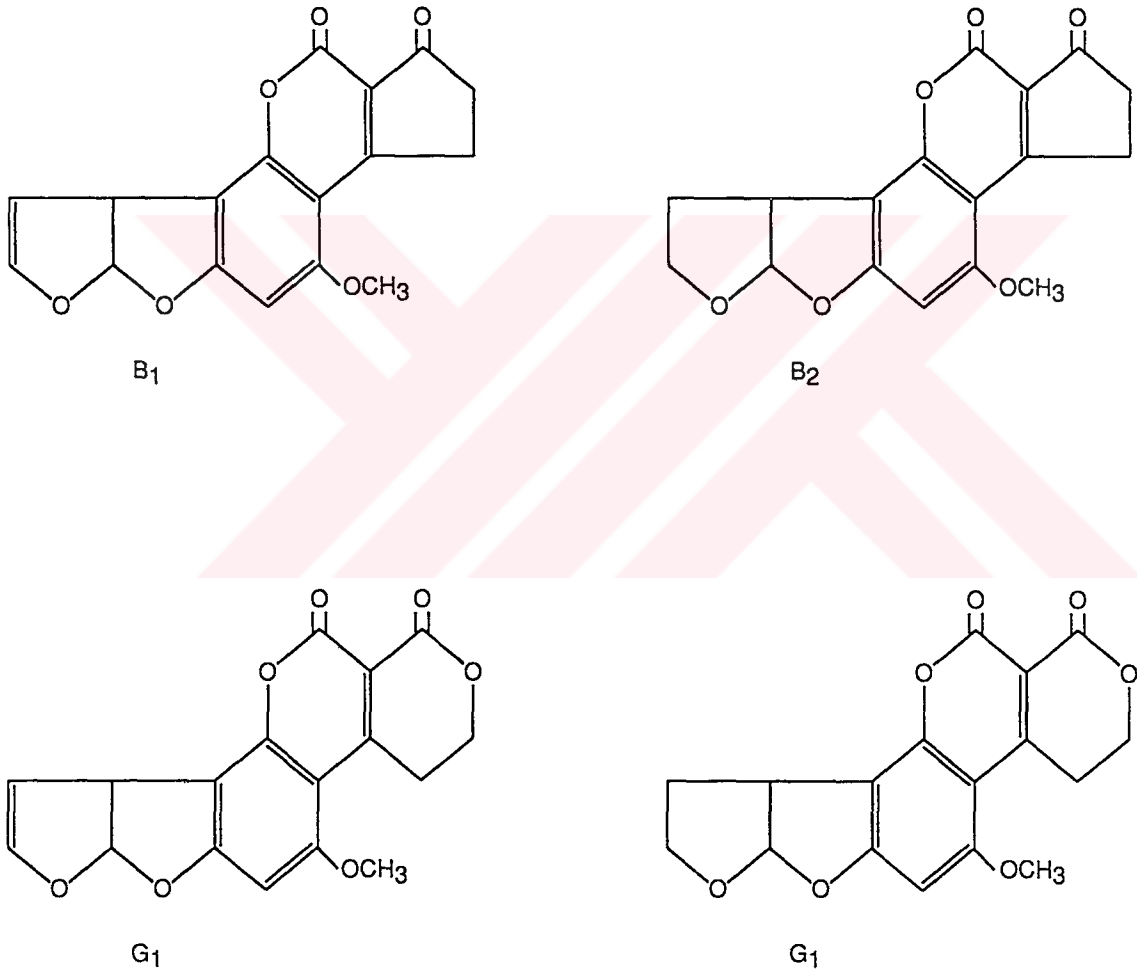
## 1. 1. Aflatoksinlerin Yapısı ve Özellikleri

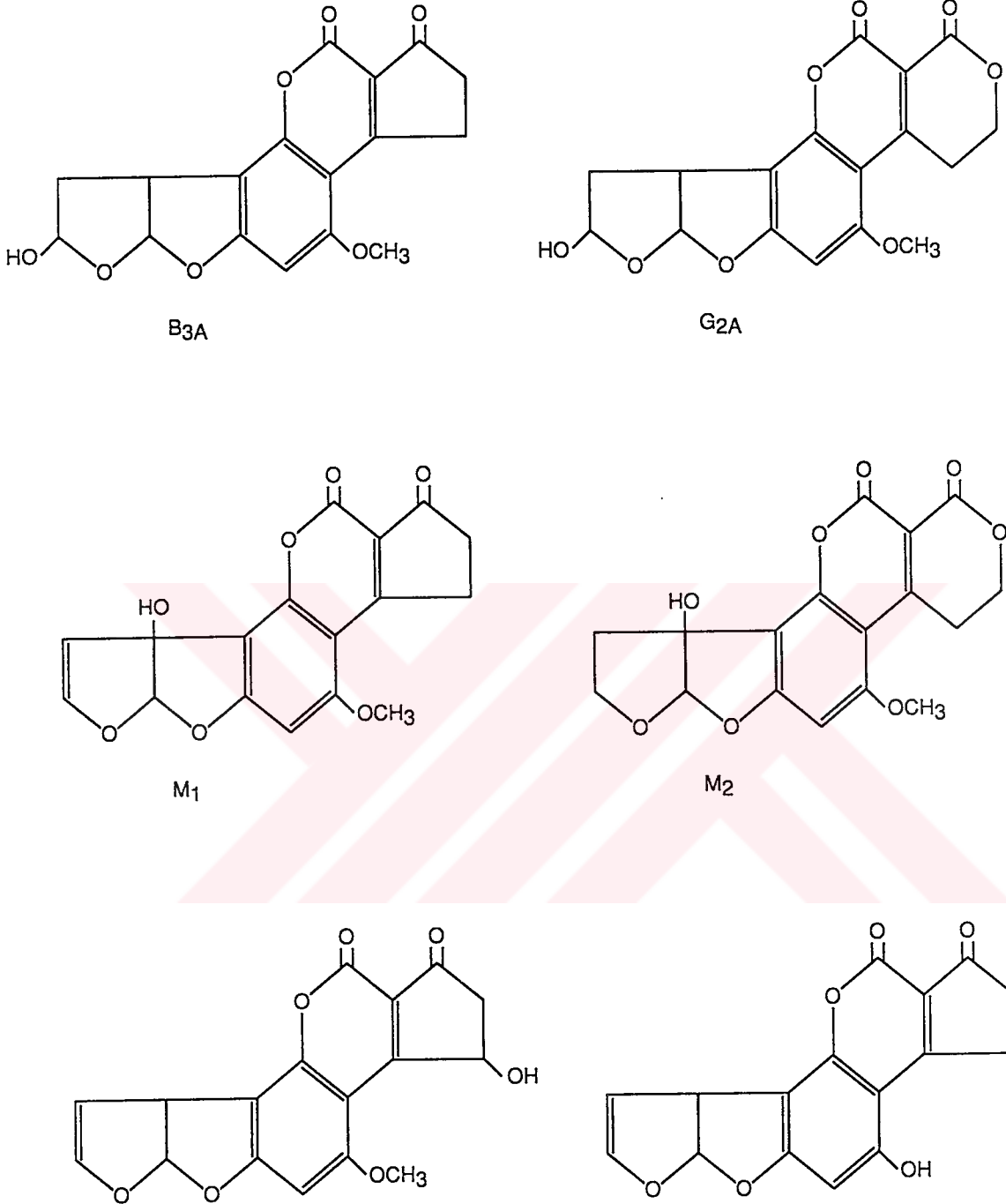
Aflatoksinler *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türleri tarafından üretilirler (Uysal 2002). Aflatoksinlere bu isim *Aspergillus* cinsinin “A”sı *flavus*’un “fla”sı alınarak sonuna “toksin” eklenmesiyle oluşturulmuştur. Aflatoksinler ciddi problemlere yol açan kimyasal kanserojenlerdir. Aflatoksinler, biyoteknolojik proseslerde kullanılan substratlar ve yiyeceklerde sıkça çoğalan küflerin ürettiği kumarin gurubu metabolitlerdendir. Aflatoksinler ilk defa 30 yıl önce İngiltere de bir çiftlikte, hindilere Brezilyadan getirilmiş ve *Aspergillus flavus* küflerini içeren yiyeceklerin yedirilmesi ile aniden ölmeleri sonucunda bulunmuştur. Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>; *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küfleri tarafından oluşturulur. Aflatoksinler içerisinde en yüksek aktiviteye ve en yüksek kanserojen potansiyele sahip olanı aflatoksin B<sub>1</sub> dir (Wogan 1973). Aflatoksinlerin ne kadar toksik oldukları hakkında LD<sub>50</sub> dozu bilgi verebilir. (LD<sub>50</sub>: Aflatoksinin hayvanlara verildiğinde %50 oranında ölüme neden olan dozdur). Örneğin Beyaz Pekin ördeklerinde AFB<sub>1</sub> için LD<sub>50</sub> 28µg, aflatoksin B<sub>2</sub> için 85µg, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> için ise 60-90µg dır. Bundan da anlaşılacağı gibi en toksik olan aflatoksin B<sub>1</sub> dir (Pavao *et al.* 1994).

Aflatoksinlerin en iyi üretildikleri sıcaklık 25-30°C ve %70 nisbi nemdir. Nem oranının %13’ün altına düşmesi ile aflatoksin üretimi durur. Aflatoksinler yüksek ısıya dayanıklıdırlar. Yapılan araştırmada 150°C ye kadar dayanıklı oldukları görülmüştür. Aflatoksinler sıcaklığa, kaynatmaya dayanıklı olduğundan besin maddelerinin ısıtılması aflatoksinlere karşı en az etkili olan yöntemdir. Bu uygulamalar küflerin üremesini engeller ancak aflatoksin miktarını azaltmaz (Sharby 1977).

Aflatoksinler metanol, kloroform ve asetonda erirler, buna karşın su, petrol ve eterde erimezler. Işıktan etkilenirler. C<sub>14</sub> izotopla yapılan araştırmalarda, hayvanlara aflatoksin verildiğinde bunun %25-30’unun CO<sub>2</sub> ye çevrildiği, %25’inin gaita ile çıkarıldığı ve %6-9’unun karaciğerde depolandığı tespit edilmiştir. Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, *A. flavus* ve *A. parasiticus* türleri tarafından tarlada ve depolanma esnasında oluşturulur. Eğer taneler, böcek, kuş, sıcaklık, kuraklık, fırtına ve diğer istenmeyen şartlardan dolayı

hasar görürse enfeksiyon yaygınlaşır. Aflatoksin  $M_1$  ve  $M_2$ , aflatoksinli yiyeceklerle beslenen hayvanların sütlerinde bulunur. Bunun dışında  $AFP_1$ ,  $AFQ_1$ ,  $B_{2A}$ ,  $G_{2A}$  çeşitleri de vardır. Aflatoksinlerin en yaygın olanlarının şekilleri şekil 1.1. de, yapısal, kimyasal ve fiziksel farklılıkları da çizelge 1.1. de gösterilmiştir. Şekil 1.2. de görüldüğü gibi aflatoksinlerin sentezinde öncül madde olarak asetat kullanılır (Wyllie ve Morehouse 1977).



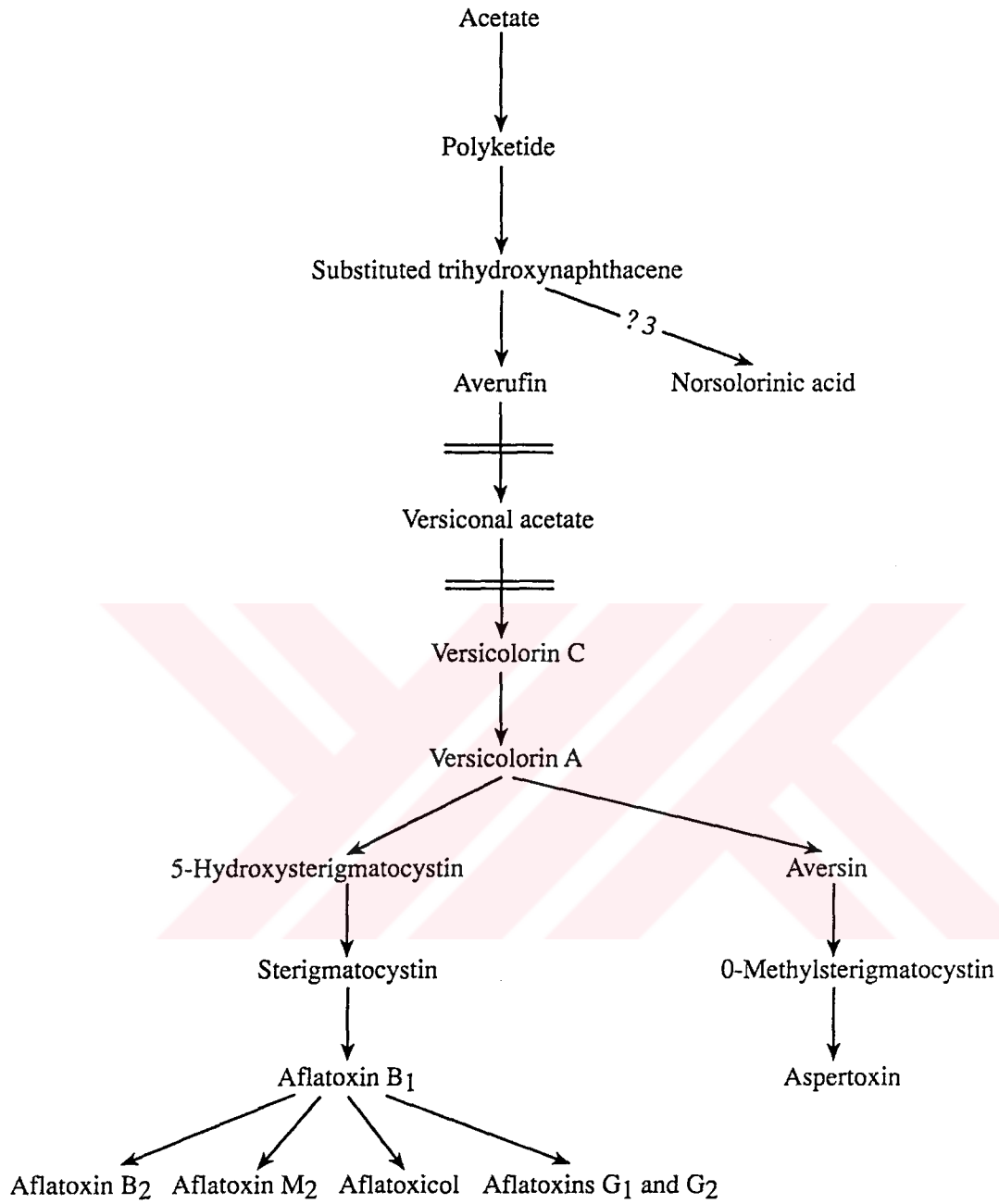


Şekil 1.1. Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, B<sub>2A</sub>, G<sub>2A</sub>, P<sub>1</sub> ve Q<sub>1</sub> in yapısı (Wyllie ve Morehouse 1977)



**Çizelge 1. 1.** Aflatoksinlerin formül ve özelliklerini gösteren çizelge (Wyllie ve Morehouse 1977)

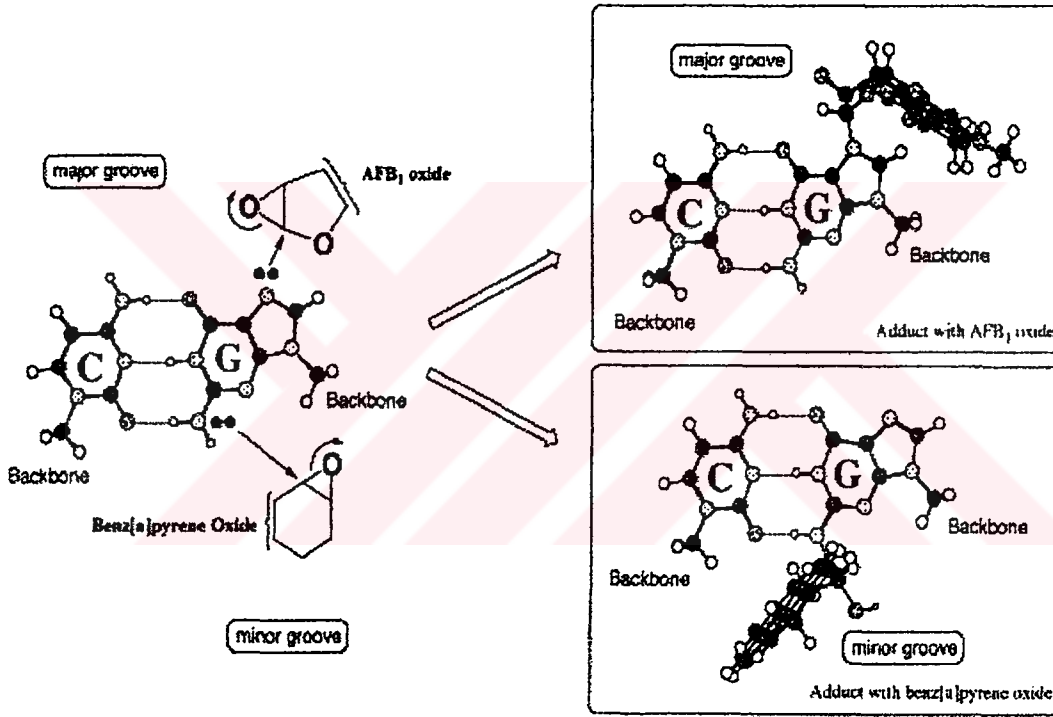
<i>Aflatoksin</i>	<i>Molekül Formülü</i>	<i>Molekül Ağırlığı</i>	<i>Erime Noktası</i>	<i>Ultraviyole Emilimi</i>	<i>Floresans Emisyonu</i>
B1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	268-269	21.800	425
B2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289	23.400	425
G1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	244-246	16.100	450
G2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240	21.000	450
M1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299	19.000(357 nm)	425
M2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293	—	—
B2A	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	240	20.400	—
G2A	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	346	190	18.000	—
R0	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	314	230-234	14.100	425
B3	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	302	233-234	9.700	—
GM1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub>	344	276	12.000(358 nm)	—
P1	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	298	>320	14.900(342 nm)	—



Şekil 1.2. Aflatoxinlerin sentez basamaklarını gösteren şekil (Wyllie ve Morehouse 1977)

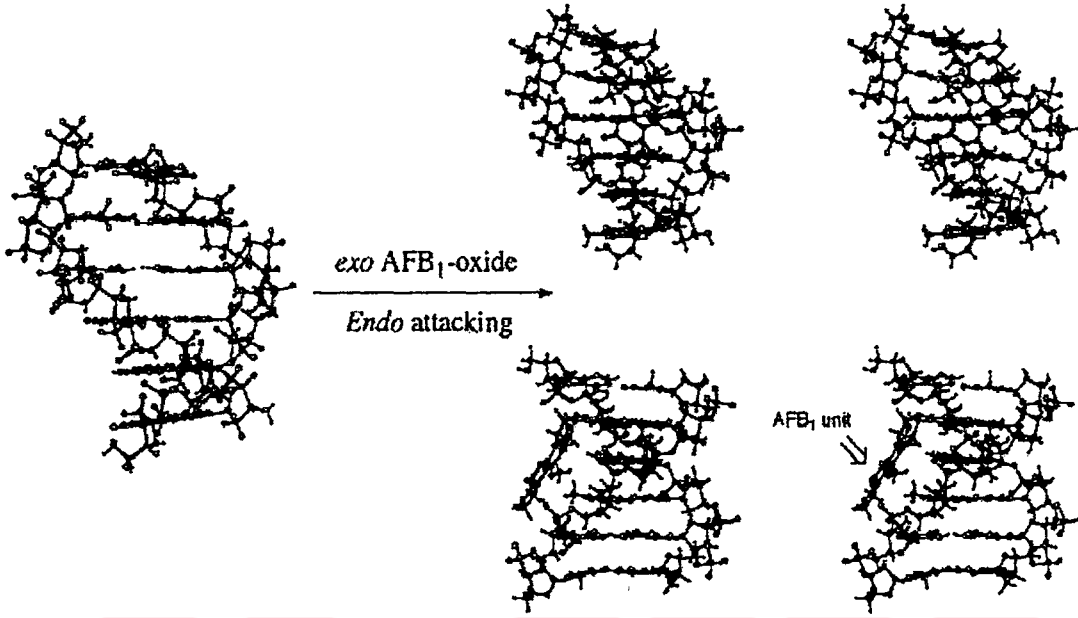
## 1. 2. Aflatoksinlerin Canlılar Üzerine Etkileri

Aflatoksinler canlılarda mutasyonlara neden olurlar. Aflatoksinlerin bu mutajenik özellikleri şekil 1. 3. de görüldüğü gibi aflatoksinlerin DNA'nın yapısındaki guanin bazının N<sup>7</sup> bölgesine bağlanmalarından kaynaklanır. Bu bağlanma sonucunda şekil 1. 4. de görüldüğü gibi DNA'nın üç boyutlu yapısında değişiklikler meydana getirirler (el-Zawahri 1977, Francis 1988, Abdou 1989).



Şekil 1. 3. Okside AFB<sub>1</sub> in ve benz(a) pyrene oksidenin guanine bağlanmaları

*E.coli* bakterisinde aflatoksin muamelesine bağlı olarak %4 sıklıkla mutasyonlar meydana gelmiştir. Özellikle aflatoksinler G---T şeklinde transversiyona neden olurlar (Bailey 1996).



Şekil 1. 4. Normal DNA ile aflatoksin bağlanmış DNA arasındaki yapısal değişiklikleri gösteren şekil

Aflatoksinler yukarıdaki şekillerde de görüldüğü gibi okside-AFB olarak DNA ya bağlanırlar. DNA'nın üç boyutlu yapısında değişiklikler meydana getirirler. Buna bağlı olarak mutasyonlara neden olurlar. Bu mutasyonlar sonucunda bitki ve hayvanlarda biyokimyasal, morfolojik ve fizyolojik değişiklikler meydana gelir.

Bütün hayvan türleri değişik seviyede olsa da aflatoksine karşı duyarlıdır. Kuşlar, balıklar, köpekler, domuzlar aflatoksine sığırlardan daha duyarlıdır. Kümes hayvanlarında karaciğer yağlanması ve böbrek bozukluklarının yanı sıra kemik problemlerine de yol açarlar. Aflatoksinler hayvanların hastalıklara karşı olan bağışıklığını azaltır, *Salmonella* gibi bakterilere ve çeşitli virüslere karşı duyarlılığı ve kanamaları artırır. Büyüme sınırlı hale getirir, üretimde azalma, yumurtalarda küçülme ve düşmeye sebep olur (Wyllie ve Morehouse 1977).

Memelilerde klinik belirtileri dermansızlık, durgunluk, ishal salivasyonu, kaslarda kramp ve felç, denge bozukluğu, kanın pıhtılaşma sürecinde azalma ve bağışıklık sisteminin zayıflaması olarak tespit edilmiştir. Atlarda mide sancısı, (geviş getirmedikleri için ineklere göre daha duyarlıdır) sinirsel bozukluklar, felç, yüksek hassasiyet, organ bozuklukları, kısırılık, büyümede azalma ve ölüm gibi sonuçlara neden olur. Etlik sığırlarda az yeme ve buna bağlı olarak kilo kaybına neden olur. Karaciğer ve böbrek hasarları, karın boşluğunda ödem oluşması gibi rahatsızlıklar oluşturur. 59 gün boyunca alınan 1000 ppm lik aflatoksinin etlik sığırlarda ölümlere yol açtığı, sütlik sığırlarda ise süt kalitesi ve veriminde, büyüme ve gelişmede azalmalara yol açtığı görülmüştür. Aflatoksinlerin sütte bulunması insan sağlığını da tehdit eder (Wyllie ve Morehouse 1977).

Balıklar içerisinde alabalıklar aflatoksinlere en duyarlı olanlarıdır. Aflatoksinlerin sebep olduğu asıl bozukluklar karaciğerde görülür.

Bitkilerde ise aflatoksinler tohumların çimlenme oranlarını düşürürler. Yaprakta klorofil oluşumunu önler, bitkilerin büyümesini yavaşlatır, amino asit alınımını, total karbonhidrat, protein ve lipit miktarını, protein DNA ve RNA sentezini etkiler (El-Naghy 1999).

Tere tohumlarında 25µg/ml ve daha yüksek aflatoksin konsantrasyonları çimlenme oranını önemli ölçüde azalttığı, 100µg/ml aflatoksinin ise çimlenmeyi tamamen durdurduğu ve aynı bitkide klorofil sentezini inhibe ederek yaprak kenarlarında karakteristik bir beyazlanmaya yol açtığı görülmüştür (Schoental ve White 1965).

Marul fidelerinde ise 5, 10, 15 ve 20µg/ml aflatoxin konsantrasyonlarının önemli bir etkisinin olmadığı, daha yüksek konsantrasyonlarının hipokotil uzamasını azalttığı gözlenmiştir. Aynı konuda turpgillerin 11 türüne ait 19 bitki üzerinde yapılan çalışmada 100µg/ml aflatoksin konsantrasyonunun hipokotil ve kök uzamasını %29-93 oranında inhibe ettiği, en fazla etkilenen bitkinin tere tohumu olduğu tespit edilmiştir. Yine hem

100 hem de 300 ppm lik aflatoksin konsantrasyonlarının *Caralumma frere* de büyümeyi durdurduğu gözlenmiştir (Crisan 1973).

Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda aflatoksinle muamele edilen tere kök ucu hücrelerinde hayvan hücrelerindeki gibi sitolojik değişiklikler gözlenmiştir. Nukleusun halka şeklinde görüldüğü, lipit miktarının arttığı, mitokondri zarlarının ve granülsüz endoplazmik retikulum zarlarının genişlediği, çekirdeğin düzensiz olduğu gözlenmiştir (Reis 1971).

Aflatoksinin bitki dokuları üzerindeki toksik etkisi de incelenmiş ve özellikle hücre zarının onarımı ve permeabilite üzerine olumsuz etkisi bulunmuştur (Dashek 1997).

Pamuk tohumlarında aflatoksinin  $\alpha$ -amilaz enzimini ve protein sentezini inhibe ettiği görülmüştür (Black and Altschul 1965). Aflatoksin B<sub>1</sub> in İsveç patatesi kök ucu hücrelerinde metabolik aktiviteleri incelenmiş aflatoksinin mitokondrilerin kendini eşlemesini inhibe ettiği ancak peroksidaz, sitokrom oksidaz ve süksinat dehidrogenaz enzimlerinin sentezini inhibe etmediği görülmüştür. Mitokondride DNA'nın replüksiyonunu engellediği, ama protein sentezini engellemediği tespit edilmiştir (Asahi *et al.* 1969, Uritani *et al.* 1970).

Aflatoksinler bitkilerde biyokimyasal, sitolojik ve morfolojik anormalliklerin yanında kromozomal anormalliklere de neden olurlar. *Vicia faba* kök ucu hücreleri üzerinde yapılan çalışmalarda, aflatoksinlerin kromozom bozukluklarına sebep olduğu ve mitozu inhibe ettiği görülmüştür (Lilly 1965). Aynı çalışma soğan kök ucu hücrelerinde yapılmış ve AFB<sub>1</sub> in kromozomal anormalliklere neden olduğu tespit edilmiştir (Reis 1971).

Soğan kök ucu hücrelerinde fungal metabolitlerle (aflatoksinler) yapılan diğer bir çalışmada ise sitolojik değişikliklerin yanında aflatoksinlerin kromozom köprüleri, kromatit kırılmaları, geri kalmış kromozom, poliploid hücreler, mikronukleus, anafaz ve

telofazda çoklu kutuplaşma, yüzük kromozom oluşumu şeklindeki anormalliklere sebep olduğu tespit edilmiştir (Abdou 1988).

Son yıllarda aflatoksinlerin toksik, mutajenik ve kanserojenik etkilerinin giderilmesi konusunda hayvanlarda çok sayıda çalışma yapıldığı bilinmektedir. Özellikle bazı iz elementlerin, vitaminlerin, yağ asitlerinin, flavonoit ve fenolik asitlerin aflatoksinlerin bu etkilerini giderebileceği tespit edilmiştir. İz elementlerden  $Se^{4+}$  un konsantrasyonlarına bağlı olarak antimutajenik ve antikanserojenik etkileri ve bu etkilerinin mekanizmaları; hindilerde, ratlarda, farelerde, insanlarda ve bazı bakteri türlerinde tartışılmıştır (Francis 1988, Luo 1991, Gregory ve Edds 1994, Han-Ming-Sen 1994, Verma ve Nair 2001). Ancak aflatoksinlerin bitkilerde meydana getirdiği mutajenik ve biyokimyasal etkiler bilinmesine rağmen  $Se^{4+}$  ile aflatoksin arasındaki bu antagonist etki çalışılmamıştır. Bu araştırmada;

1. İki farklı bitki türünde (*Zea mays*, *Vicia faba*)  $AFB_1$  ve  $AFG_1$  in farklı konsantrasyonlarının kromozomal anormallikler, total protein ve klorofil miktarı üzerine olan olumsuz etkilerinin belirlenmesi,
2. Bu etkiler üzerine  $Se^{4+}$  un farklı konsantrasyonlarının koruyucu rolünün olup olmadığının tesbiti amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitkilerde ürün kaybına, hayvanlarda ve insanlarda ise toksik ve mutajenik etkiye sahip olan aflatoksinler hakkında ve bu etkilerinin giderilmesi konusunda son yıllarda oldukça çok sayıda çalışma yapılmıştır. Aşağıda bu çalışmalardan bazılarının özetleri verilmiştir.

Reis(1971), *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde AFB<sub>1</sub> in kromozomal anormallikleri üzerine etkisini araştırmış ve AFB<sub>1</sub> kullanımına bağlı olarak mutasyonların arttığını tespit etmiştir.

el-Zawahri (1977), aflatoksinlerin kardeş kromatitlerde kırılmalara ve değişmelere neden olduğunu, kromozomların aflatoksinlere dirençlerinin farklı olduğunu bildirmiştir.

Gregory (1983), değişik hayvansal organizmalarda fibriler özelliğe sahip olan yiyeceklerin, bazı iz elementlerin ve vitaminlerin; aflatoksinlerin kronik ve toksik etkisini giderdiğine dair çalışmalar yapmıştır. (Frape, Wayman ve Tuck 1981, 1982). İlk kez Newberne ve Conner (1974), ratlarda aflatoksinin etkisinin 1.0 ppm lik Se<sup>4+</sup> ile götürülebileceğini göstermiştir. Daha sonra Se<sup>4+</sup> un bu koruyucu etkisi hindilerde ve domuzlarda da gösterilmiştir (Burguera ve Edds 1983, Davila vd 1983). Se<sup>4+</sup> un ve E vitamininin aflatoksinlerin kanserojen etkilerini giderdiğini bulunmuştur (Griffin 1979).

Vernie (1984), Se<sup>4+</sup> un oksijen radikallerini ortadan kaldıran glutatyon peroksidaz enzimini aktive ederek hem antioksidant hem de antikanserojen etkiye sahip olduğunu kaydetmiştir. Se<sup>4+</sup> un; 1930 larda yüksek toksik etkiye sahip olduğu, 1943 lerde kanserojen olduğu, 1957 lerde essansiyel iz element olduğu ve 1966 lar da ise antikanserojen olduğu bulunmuştur. Aslında Se<sup>4+</sup> için bunların hepsi doğrudur. Farklı dozlara bağlı olarak, yukarıda belirtilen dört etkiyi de gösterebilmektedir.



Francis (1987), *Salmonella typhimurium* üzerinde yaptığı çalışmalarda, aflatoksinlerin sahip oldukları toksik ve mutajenik etkilerin, bazı diyet faktörleri, vitamin A ve E, iz elementler ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{SeO}_3$  ve  $\text{Zn}^{2+}$ ), yağ asitleri, flavonoidler, fenolik asitler gibi maddelerle giderildiğini gözlemiş, ayrıca iz elementlerden  $\text{Se}^{4+}$  un aflatoksinlere karşı antimutajenik etkisinin antioksidant özelliğinden kaynaklandığını kaydetmiştir (Bhattacharya 1987).

Abdou (1988), *Allium cepa* kök ucu hücrelerini 46 saat  $100\mu\text{g/ml}$   $\text{AFB}_1$  ile muamele ederek  $\text{AFB}_1$  sitolojik etkilerini araştırmış, kromozomal anormalliklerden kromozom köprüleri, kromatit kırılmaları, geri kalmış kromozom, poliploid hücreler, mikronukleus, anafaz ve telofazda çoklu kutuplaşma, yüzük kromozom oluşumu şeklindeki anormallikleri tespit etmiştir.

Yoshiaki (1988), Ratlar üzerinde yaptığı çalışmalar sonucunda, aflatoksinlerin akut, toksik ve hepato-karsinogenik aktiviteye sahip olduğunu ve bu etkinin yeşil çay ile giderilebileceğini belirlemiştir.

el-Zawahri (1990), aflatoksinlerin mutajenik etkilerini karşılaştırarak  $\text{AFB}_1$  in  $\text{AFG}_1$  e göre,  $G_1$  in  $G_2$  ye göre,  $G_2$  n in  $B_2$  ye göre daha mutajenik olduğunu,  $\text{AFB}_1$  in insan hücrelerinde kardeş kromatit kırılmalarına sebep olduğunu gözlemiştir. Ayrıca kromozomların aflatoksinlere karşı duyarlılıklarının farklı olduğunu tespit etmiştir. Örneğin büyük kromozomların (1, 2, 3, 4, 5) küçüklere göre bütün aflatoksin çeşitlerine karşı daha duyarlı olduğu, insan kromozomlarından 2., 11., 19. ve 20. kromozomlarında  $\text{AFB}_1$  in, 1., 2., 3., 4. ve 5. kromozomlarda ise  $\text{AFG}_1$  in daha mutajenik etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Luo (1991), Çin de üretilen organik selenyum olan seleno-malt'ın aflatoksine karşı antimutajenik ve antikanserojenik olduğunu kaydetmiştir.

Hasan (1993), aflatoksinlerin mantarlar tarafından üretilen sekonder metabolitler olduğunu ve tohumların çimlenmesini inhibe ettiğini tespit etmiştir (Jones 1980).

Han-Ming-Sen (1994), aflatoksin ve lipit peroksidazın sebep olduğu anormallikler üzerinde durarak bu anormalliklerin  $Se^{4+}$ , A vitamini,  $\beta$  karoten gibi besinlerle giderilebileceğini,  $AFB_1$  in en yaygın aflatoksin çeşidi olduğunu ve  $AFB_1$  in  $AFB_1$ - 8, 9 epokside halinde DNA ve proteinlere bağlanarak mutasyonlara neden olduğunu ve bu mutasyonların da kanser başlangıcı olduğunu ileri sürmektedir. Yapılan çalışmalarda oksidatif tehlikelerin daha çok hücre zarı elamanları, nükleik asitler, zarlar ve proteinleri etkiledikleri ve bunlarında daha çok süperoksit ( $O_2^-$ ), serbest hidroksil radikalleri (OH), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) olduğu bulunmuştur (Farber 1990). Bu oksidatif tehlikeler insan akyuvarlarında kromozomal anormalliklere sebep olur. Aflatoksinlerin neden olduğu bu etkiyi lipit peroksidazın da yaptığı ve bu olumsuz etkilerin  $Se^{4+}$  diyeti ile giderildiği tespit edilmiştir.  $AFB_1$  in genelde kromozom anormalliklerine neden olan serbest oksijen radikallerini sitümüle ettiği ve bununda  $AFB_1$  in sitotoksik etkisinde rolü olduğu, B karoten,  $Se^{4+}$ , A vitamini gibi maddelerin  $AFB_1$  in genotoksik ve sitotoksik etkisini gidermesinin ya DNA' ya bağlanmasını azaltarak yaptığı veya aflatoksinin detoksifikasyon özelliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir.  $AFB_1$  e karşı  $Se^{4+}$  ve vitamin E nin antimutajenik özelliğinin ise serbest oksijen radikallerini artıran ve mutasyona sebep olan lipit peroksidazın inaktive edilmesiyle açıklanmaktadır.

Shen vd (1994), ratların karaciğerinde yaptığı çalışmalarda  $AFB_1$  in hepatotoksik ve hepatokarsinogenik olduğunu, lipit peroksidazı indükleyerek oksidatif tehlikelerin artmasına neden olduğunu, E vitamini ve  $Se^{4+}$  un antioksidant olmasından dolayı bu oksidatif tehlikeleri azalttığını bulmuştur.

Shi vd (1994), ratlar da DNA daki  $N^7$  guanin bölgesine bağlanarak mutasyonlara neden olan  $AFB_1$  in etkisinin, 8 hafta boyunca sodyum selenitli su içirilmesiyle azaldığını ve bu mutajenik etkinin  $Se^{4+}$  ile azalmasının sebebinin  $Se^{4+}$  nun glutatyon peroksidaz enziminin komponenti olmasından kaynaklandığını belirtmiştir.

McLean vd (1995),  $AFB_1$  in invitro da bitki sistemleri üzerine etkilerini incelemiş,  $AFB_1$  in tohum çimlenmesini, kök uzamasını ve hipokotil uzamasını engellediğini,

aflatoksin konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak kloroplast morfolojisinin bozulduğunu tespit etmiştir.

Bailey (1996), *E. coli* bakterisinde aflatoksin muamelesine bağlı olarak %4 sıklıkla mutasyonların meydana geldiğini, özellikle AFB<sub>1</sub> in G-T şeklinde transversiyona neden olduğunu tespit etmiştir.

Biswas vd (1996), essansiyel ve iz element olarak Se<sup>4+</sup> un 4 farklı dozunun insanlarda kromozomal anormallikler üzerine olan etkisini incelemişler, yüksek dozlarının mitotik indeks ve kromozomal anormallikler üzerine olumlu etkisinin fazla olmadığını ifade etmişlerdir.

Zhang ve Xiao (1998), Se<sup>4+</sup> un (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) Cd<sup>2+</sup> un neden olduğu mutasyonları engellemesinin, glutasyon peroksidaz enziminin kofaktörü olmasından kaynaklandığını vurgulamıştır. Yüksek Se<sup>4+</sup> konsantrasyonlarının ise micronkleus ve kromozomal anormalliklere neden olduğu belirtilmiştir (Zhao 1989).

Schrauzer (2000), Se<sup>4+</sup> un antikanserojenik etkisini araştırmış, Selenyumun antikanserojenik etkisinin temelinde hücreleri serbest oksijen radikallerinden, bazı hücresel bileşiklerden koruyan glutasyon peroksidaz enziminin komponenti olmasından kaynaklandığını tespit etmiştir. Se<sup>4+</sup> un hücrelerin bulunduğu ortama ilave edilmesiyle hem hücre dışında hem de hücre içinde oksijen radikallerinin sayısında azalma olduğu bulunmuştur.

Bronzetti (2001), oksidatif tehlikelerin kromozomal anormalliklere neden olduğunu ve diyetle vitamin A, E ve Se<sup>4+</sup> verildiğinde bu anormalliklerin azaldığını tespit etmiştir. Bunlardan zellikle, Se<sup>4+</sup> un düşük konsantrasyonlarının antimutajenik ve antikanserojenik, yüksek konsantrasyonlarının ise mutajenik ve kanserojenik olduğu belirtilmiştir. Dolayısı ile diyetlerde Se<sup>4+</sup> konsantrasyonunun çok iyi ayarlanması gerektiğis vurgulanmıştır.

Verma ve Nair (2001), aflatoxinlerin fare testislerinde biyokimyasal değişikliklere sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Bu biyokimyasal değişikliklerden DNA, RNA ve protein miktarındaki azalmanın sebebini aflatoxinlerin DNA ya bağlanarak mutasyona sebep olmalarına bağlamışlardır. Vitamin E nin aflatoxinlerin bu olumsuz etkilerini antioksidant özelliğinden dolayı azaltabileceğini açıklamışlardır.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3. 1. Materyal

Araştırmada ülkemizde ekonomik değeri olan mısır (*Zea mays* 2n=20) ve bakla (*Vicia faba* 2n=14) kullanılmıştır. Materyalimizi mısır ve bakla tohumlarından elde edilen kök uçları ve fideler oluşturmaktadır. Tohumlar Samsun Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Elde edilen tohumlar kromozom analizleri, protein tayini ve klorofil tayini için çimlendirilmiştir.

##### 3 . 1. 1. Tohumların çimlendirilmesi

Mısır ve bakla tohumlarına %10 luk çamaşır suyu ile yüzey sterilizasyonu uygulandı. Dezenfekte edilen tohumlar, bol su ile yıkandıktan sonra kurutma kağıdının arasında bir gün kurumaya bırakıldı.

İçleri kurutma kağıtları ile kaplanmış steril 15 cm çapındaki petrilere 15'er adet olmak üzere mısır ve bakla tohumları ekildi. Kontrolle birlikte AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonları ve bu konsantrasyonları ile birlikte Se<sup>4+</sup> un (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) sfarklı konsantrasyonları (çizelge 3. 1.) her bir petriye ilave edilerek tohumlar 22-24°C de çimlendirildi. Çimlenen tohumlardan bazılarının 48 saat sonra çıkan köklerinden 0,5-1 cm olanlar jilette kesilerek  $\alpha$ -brom naftalin (ön muamele çözeltisi) içerisine alındı. Bu çözeltide 2 saat bekletildikten sonra kök uçları glacial asetik asitle 30 dakika fikse edildi. Glacial asetik asitten çıkarılan kök uçları %70 lik alkol içerisine alındı. Kromozomal anormalliklerin incelenmesi için -4°C de buzdolabında depolandı.

Protein ve klorofil tayini için ise yukarıda bahsedilen şartlarda çimlendirilmiş tohumlardan 4.günün sonunda oluşan filizler petrilere alınarak alüminyum folyoya sarıldı , -4°C de buzdolabında depolandı.

Çizelge 3. 1. Mısır ve bakla tohumlarına uygulanan aflatoksin ve Se<sup>4+</sup> dozları

Guruplar ve Dozlar	Mısır ( <i>Zea mays</i> )	Bakla ( <i>Vicia faba</i> )
1 – Kontrol	+	+
2- 0.1 ppm AFB <sub>1</sub>	+	+
3- 0.1 ppm AFB <sub>1</sub> +800 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
4- 0.1 ppm AFB <sub>1</sub> +8 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
5- 0.1 ppm AFB <sub>1</sub> +0.08 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
6- 0.2 ppm AFB <sub>1</sub>	+	+
7- 0.2 ppm AFB <sub>1</sub> +800 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
8-0.2 ppm AFB <sub>1</sub> +8 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
9- 0.2 ppm AFB <sub>1</sub> +0.08 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
10- 0.4 ppm AFB <sub>1</sub>	+	+
11- 0.4 ppm AFB <sub>1</sub> +800 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
12- 0.4 ppm AFB <sub>1</sub> +8 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
13- 0.4 ppm AFB <sub>1</sub> +0.08 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
14- 0.1 ppm AFG <sub>1</sub>	+	+
15- 0.1 ppm AFG <sub>1</sub> + 800 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
16- 0.1 ppm AFG <sub>1</sub> + 8 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
17- 0.1 ppm AFG <sub>1</sub> +0.08 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
18- 0.2 ppm AFG <sub>1</sub>	+	+
19- 0.2 ppm AFG <sub>1</sub> + 800 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
20- 0.2 ppm AFG <sub>1</sub> + 8 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
21- 0.2 ppm AFG <sub>1</sub> +0.08 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
22- 0.4 ppm AFG <sub>1</sub>	+	+
23- 0.4 ppm AFG <sub>1</sub> + 800 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
24-0.4 ppm AFG <sub>1</sub> + 8 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+
25- 0.4 ppm AFG <sub>1</sub> +0.08 ppm Se <sup>4+</sup>	+	+

### 3. 2. Yöntem

#### 3. 2.1. Kromozomların incelenmesi için preparat hazırlanması

Alkolde depolanmış kök uçları birkaç kez saf su ile yıkandıktan sonra 1 N HCl ile 60°C de 15 dakika hidroliz edildi (Hem mısır hem de bakla da hidroliz sırasında selüloz ve pektinaz gibi enzimler kullanılmamıştır). Hidroliz edilen kök uçları HCl'in giderilmesi için tekrar su ile yıkandı ve Feulgen boyası (EK 1) ile 1.5-2 saat boyunca boyama yapıldı. Boyama işleminden sonra kök uçları musluk suyunda 10 dakika bekletildi. Bu işlemin boyamayı artırdığı görüldü (Ağar 1990).

Kök uçlarının 1-2 mm lik koyu menekşe rengine boyanan kısımları kesilerek lam üzerine konuldu. %45 lik glacial asetik asit içerisinde iyice jilette küçük parçalara ayrıldı. Sonra lamel kapatıldı ve kurutma kağıdı ile glacial asetik asit'in fazlası alındı. Kurutma kağıdının arasına alınan preparata bir elin baş parmağı ile kuvvetlice bastırıldı. Kurşun kalemin arkası ile hafifce vuruldu. Daha sonra hava kabarcığının giderilmesi için lamelin kenarına bir damla %45 lik glacial asetik asit damlatıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopun'da incelemeye alındı. Mitoz bölünmede interfaz, profaz, metafaz, anafaz ve telofaz anormallikleri tespit edildi.

Hem kontrol hem de her deney gurubu için 1000'er hücre sayıldı.

Her gurup için Mitotik İndeks (MI) ve Kromozom anormallikleri ihtiva eden hücreler (AC) hesaplandı (Abdou 1988).

$$\% \text{MI} = \frac{\text{Bölünen hücre sayısı}}{\text{Toplam hücre sayısı}} \times 100$$

$$\% \text{AC} = \frac{\text{Toplam anormal hücre sayısı}}{\text{Toplam bölünen hücre sayısı}} \times 100$$

### 3. 2. 2. Klorofil miktarının tayini

Bitki yapraklarındaki klorofil tayini Arnon'a (1949) göre belirlenmiştir. 0.5 gr yaprak %80 aseton içerisinde havanda homojenize edildikten sonra masa santrifüjünde 15 dakika süreyle 3500xg de santrifüjlenmiştir. Daha sonra süpernatant %80 aseton ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

Bu örneğin spektrofotometrede (jenway) 645-663 nm'deki absorbans değeri okunmuştur. Elde edilen değerler aşağıdaki denklemde yerine konularak klorofil miktarı mg klorofil/g taze yaprak olarak hesaplanmıştır. Her bir ölçüm için üç tekrür yapılmıştır.

$$\text{Toplam Klorofil (mg/l)} = 20.2XA_{645} + 8.02XA_{663}$$

### 3. 2. 3. Kantitatif protein tayininin yapılması

Çözünebilir protein miktarı, spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (Bradford 1976). Bu yöntem, proteine coomassie-brillant blue G-250'nin bağlanması esasına dayanır. Oluşan kompleks 595 nm'de maksimum absorbans gösterir.

Bitki dokuları, ağırlıklarınının 10 misli 0.05 M fosfat tampon çözeltisinde (pH=6.5) soğuk bir havanda ezilerek homojenize edilmiştir. Homojenat 4 katlı bir tülbent bezden süzildükten sonra süzüntü 4500xg dönüş hızında 20 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Tüplerden süpernatant alınarak, protein tayininde kullanılmıştır. Kantitatif belirleme için gerekli standart grafik aşağıdaki gibi hazırlanmıştır. 1 ml'sinde 1 mg protein içeren standart sığır albumin çözeltisinden tüplere 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100µg protein içerecek şekilde pipetlenip, saf su ile toplam hacimleri 0.1 ml'ye tamamlanmıştır. Bu tüplere, 5 ml coomassie reaktifi (EK 2) ilave edilip bir vortex yardımı ile iyice karıştırılmıştır. Kör olarak, 0.1 ml tampon ve 5 ml coomassie reaktifinin karışımı kullanılmıştır. Her bir numunenin spektrofotometre de (jenway) 595

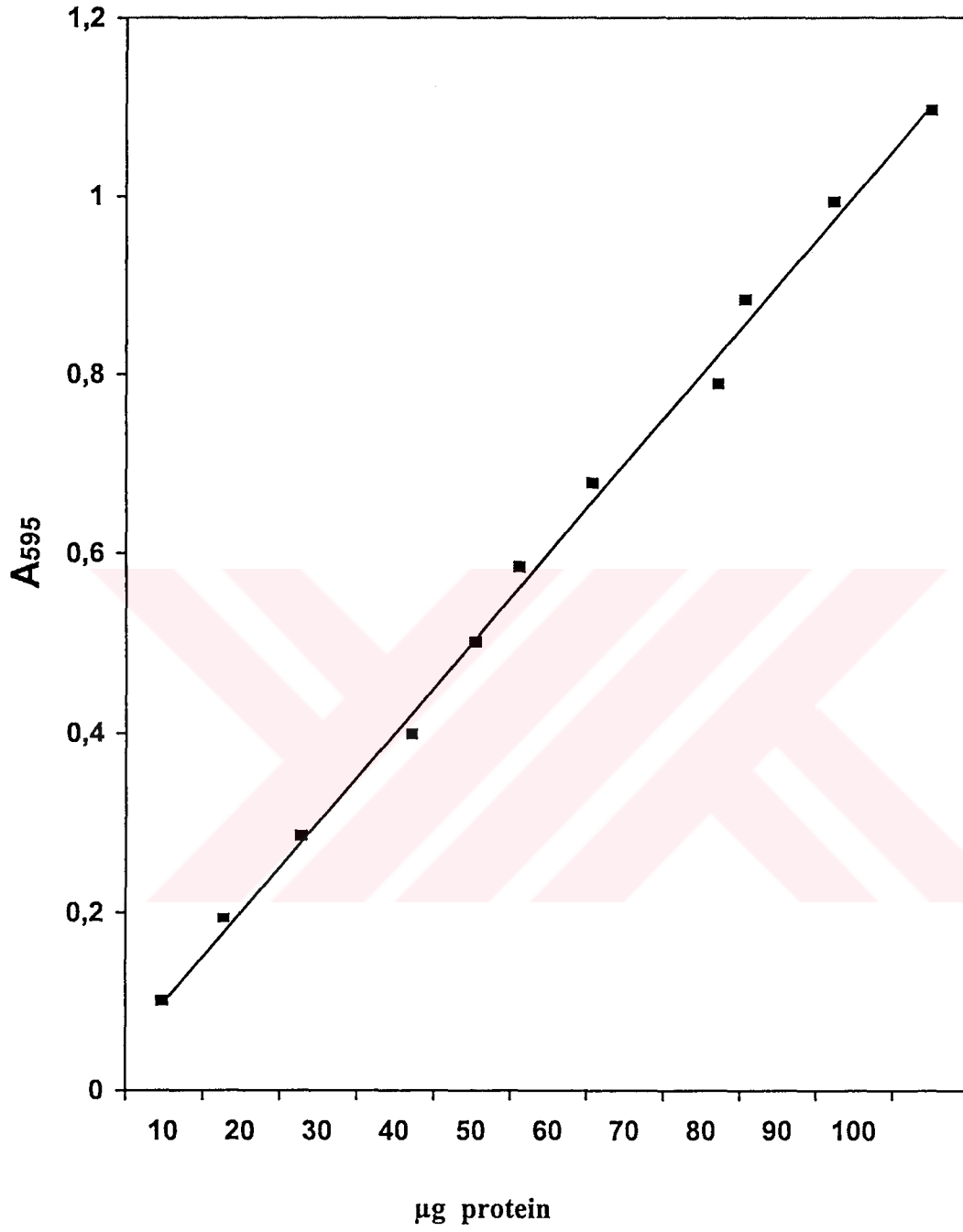


nm'de absorbans değerleri okunarak Şekil 3. 1. deki  $\mu\text{g}$  protein miktarını belirleyen standart grafik çizilmiŐtir.

Bitki dokularından alınan örnekler santrifüjlendikten sonra elde edilen süpernatantlar benzer Şekilde coomassie reaktifi ile muamele edildikten sonra 595 nm'de absorbansı ölçölüp, Şekil 3.1.deki standart grafik üzerinden protein miktarları mg protein/gr taze yaprak olarak verilmiştir.

Protein tayini üç kez tekrarlanmış olup üç tekerrürün ortalamaları tablo ve grafiklerde gösterilmiştir.





Şekil 3. 1. Protein tayini için kullanılan standart grafik

#### **3. 2. 4. Verilerin istatistiksel analizi**

Hem kromozom anormallikleri, hemde kantitatif protein ve klorofil miktarlarının kontrol ve uygulamalar arasındaki farkın önemli olup olmadığı Duncan testi ile belirlenmiştir (Zhang 1998).



#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonları, AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> ile birlikte Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının *Zea mays* ve *Vicia faba* da mitotik indeks, kromozom anormallikleri, protein miktarı, klorofil miktarları tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda gösterilmiştir.

##### 4. 1. *Zea mays* ve *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in Mitotik İndeks Üzerine Olan Etkileri ve Bu Etkilerin Se<sup>4+</sup> ile Giderilmesi

AFG<sub>1</sub> in mitotik indeks üzerine inhibe edici etkisi görülmüştür AFG<sub>1</sub> in konsantrasyonları arttıkça mitotik indeks azalmıştır. AFB<sub>1</sub> de, her iki türde konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak mitotik indeksi azalttığı gözlenmiştir. AFB<sub>1</sub> in AFG<sub>1</sub> e göre toksik etkisinin daha fazla olduğu, *Zea mays* in AFG<sub>1</sub> ve AFB<sub>1</sub> e *Vicia faba* dan daha duyarlı olduğu görülmüştür (çizelge 4. 1. 1., 4.1. 2.). (şekil 4.1.1., 4.1.2., 4.1.3., 4.1.4.)

Aflatoksinlerin mitotik indeks üzerine olan bu inhibe edici etkisinin Se<sup>4+</sup> un farklı dozları ile giderilebileceği gözlenmiş ve Se<sup>4+</sup> un en etkili dozunun 8 ppm lik doz olduğu, 800 ppm lik dozun çimlenme oranını düşürdüğü, 0.08 ppm lik dozun ise çok fazla etkili olmadığı belirlenmiştir (çizelge 4. 1. 1., 4.1. 2.). (şekil 4.1.1., 4.1.2., 4.1.3., 4.1.4.)

**Çizelge 4. 1. 1.** *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonlarının, Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte mitotik indeks üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması

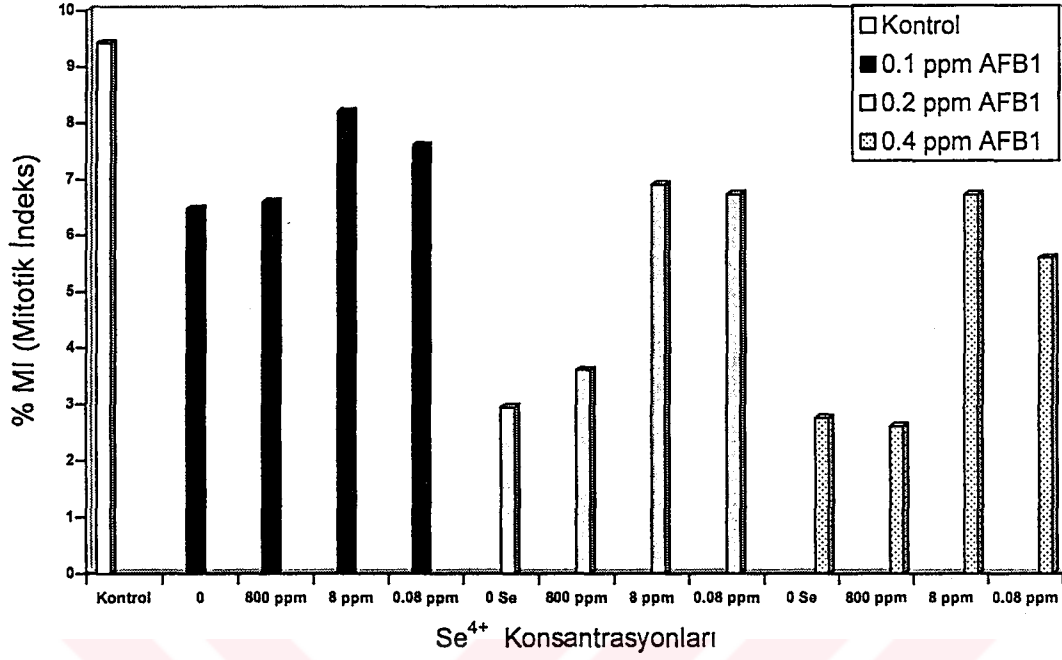
	0.1ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.2ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.4ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )
AFB1	6,48±3,12*	2,94±0,87*	2,75±1,78*
AFB1+ 800 ppm	6,60±0,54**	3,60±1,67**	2,60±2,10**
AFB1 + 8 ppm	8,20±1,86**	6,90±1,79**	6,73±0,92**
AFB1 +0.08 ppm	7,60±6,47**	6,73±0,43**	5,60±1,82**
AFG1	6,83±1,05*	5,90±1,34*	5,50±2,35*
AFG1 + 800 ppm	7,57±1,90**	5,32±1,02**	5,53±3,31**
AFG1 + 8 ppm	8,93±4,64**	8,40±2,19**	8,90±1,23**
AFG1 +0.08 ppm	7,13±1,92**	7,13±1,59**	6,80±2,55**

Kontrol 9.42 \* P<0,05 düzeyinde önemli. \*\* P<0,01 düzeyinde önemli

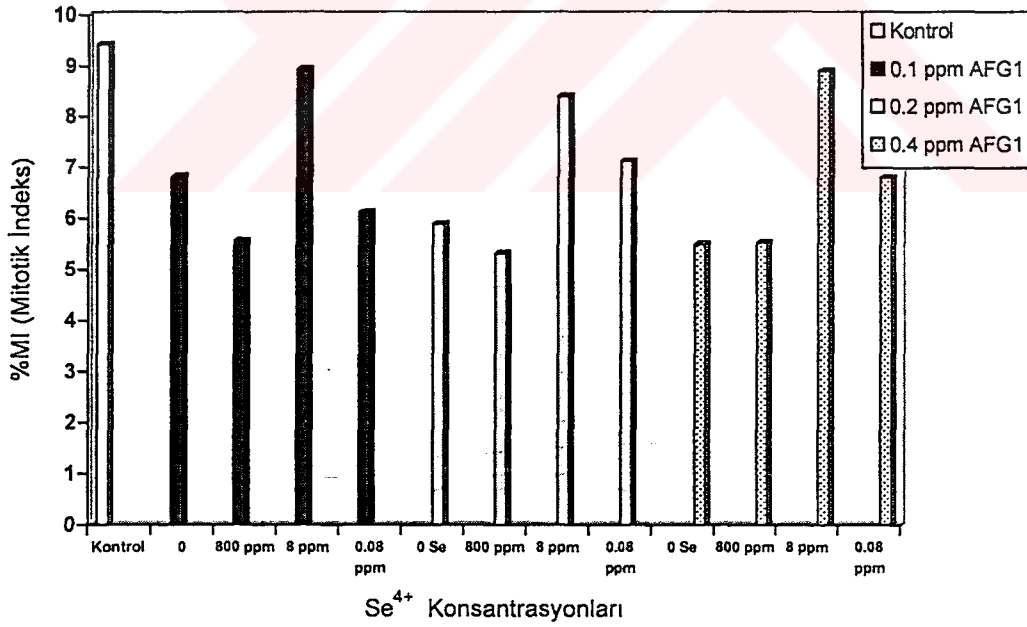
**Çizelge 4. 1. 2.** *Zea mays* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonlarının, Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte mitotik indeks üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması

	0.1ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.2ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.4ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )
AFB1	8,27±1,90**	7,18 ±3,47**	6,18±3,47**
AFB1+ 800 ppm	7,30±7,79**	5,49±0,50**	7,03±3,05**
AFB1 + 8 ppm	11,40±5,72**	10,87±3,99**	7,94±5,02**
AFB1 +0.08 ppm	9,73±1,95**	9,80 ±7,25**	7,55±1,46**
AFG1	9,00±4,24**	7,70±1,92**	6,77±3,06**
AFG1 + 800 ppm	8,33±1,25**	6,67±2,01**	7,83±4,76**
AFG1 + 8 ppm	11,43±1,43**	11,80±0,84**	10,27±0,83**
AFG1 +0.08 ppm	9,27±1,23**	9,30±2,6**	9,70±1,34**

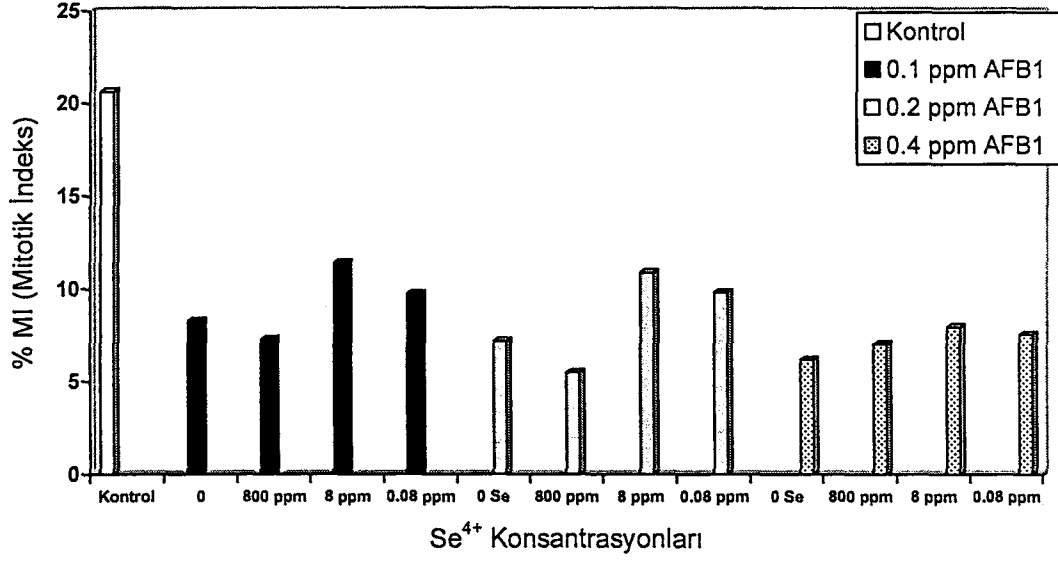
Kontrol 20.64 \* P<0,05 düzeyinde önemli \*\* P<0,01 düzeyinde önemli



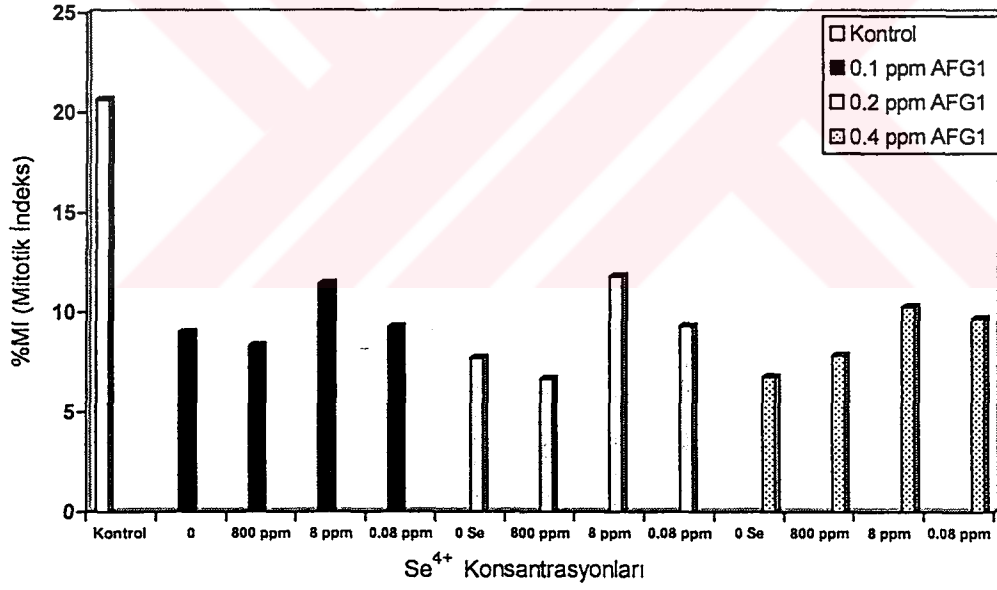
Şekil 4. 1. 1. *Vicia faba* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFB<sub>1</sub> ile beraber mitotik indeks üzerine olan etkileri



Şekil 4. 1. 2. *Vicia faba* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber mitotik indeks üzerine olan etkileri



Şekil 4. 1. 3. *Zea mays* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFB<sub>1</sub> ile beraber mitotik indeks üzerine olan etkileri



Şekil 4. 1. 4. *Zea mays* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber mitotik indeks üzerine olan etkileri

#### 4. 2. *Zea mays* ve *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in Sebep Olduğu Kromozomal Anormallikler ve Bu Anormallikler Üzerine Se<sup>4+</sup> un Antagonistik Etkisi

AFB<sub>1</sub> in ve AFG<sub>1</sub> in *Vicia faba* ve *Zea mays* ta farklı tipte kromozomal anormalliklere sebep olduğu gözlenmiştir. Bunlar kromozom köprüleri, kromatit kırılmaları, geri kalmış kromozom, poliploid hücreler, mikronukleus, anafaz ve telofazda çoklu kutuplaşma, yüzük kromozom oluşumu şeklindeki anormalliklerdir. Bu anormalliklerin AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in konsantrasyonlarının artmasına bağlı olarak arttığı, AFB<sub>1</sub> in AFG<sub>1</sub> e göre kromozom anormallikleri üzerine olan etkisinin daha fazla olduğu, *Zea mays* in her iki aflatoksin çeşidi ve konsantrasyonlarına karşı daha duyarlı olduğu gözlenmiştir ( çizelge 4. 2. 1., 4. 2. 2.). (şekil 4.2.1., 4.2.2., 4.2.3., 4.2.4.).

Se<sup>4+</sup> un farklı dozları uygulandıktan sonra AFB<sub>1</sub> in ve AFG<sub>1</sub> in kromozomal anormallikler üzerine olan bu etkileri azalmıştır. Mitotik indekste de belirtildiği gibi Se<sup>4+</sup> un 8 ppm lik dozunun daha etkili olduğu tespit edilmiştir ( çizelge 4. 2. 1., 4. 2. 2.). (şekil 4.2.1., 4.2.2., 4.2.3., 4.2.4.).

**Çizelge 4. 2. 1.** *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonlarının, Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte kromozomal anormallikler üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması

	0.1ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.2ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.4ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )
AFB <sub>1</sub>	56,43±6,92*	61,40±2,07*	65,14±9,83*
AFB <sub>1</sub> + 800 ppm	56,20±0,84**	59,73±7,87**	64,50±12,27**
AFB <sub>1</sub> + 8 ppm	22,72±10,01**	30,49±9,33**	35,43±8,74**
AFB <sub>1</sub> +0.08 ppm	31,05±2,28**	40,69±2,11**	44,75±17,64**
AFG <sub>1</sub>	41,05±13,36*	50,55±12,79 *	60,00±20,92*
AFG <sub>1</sub> + 800 ppm	39,79±20,97**	47,53±14,73**	58,63±23,97**
AFG <sub>1</sub> + 8 ppm	18,58±9,65**	19,00±5,42**	19,26±10,44**
AFG <sub>1</sub> +0.08 ppm	28,82±10,65**	30,48±4,86**	30,67±6,43**

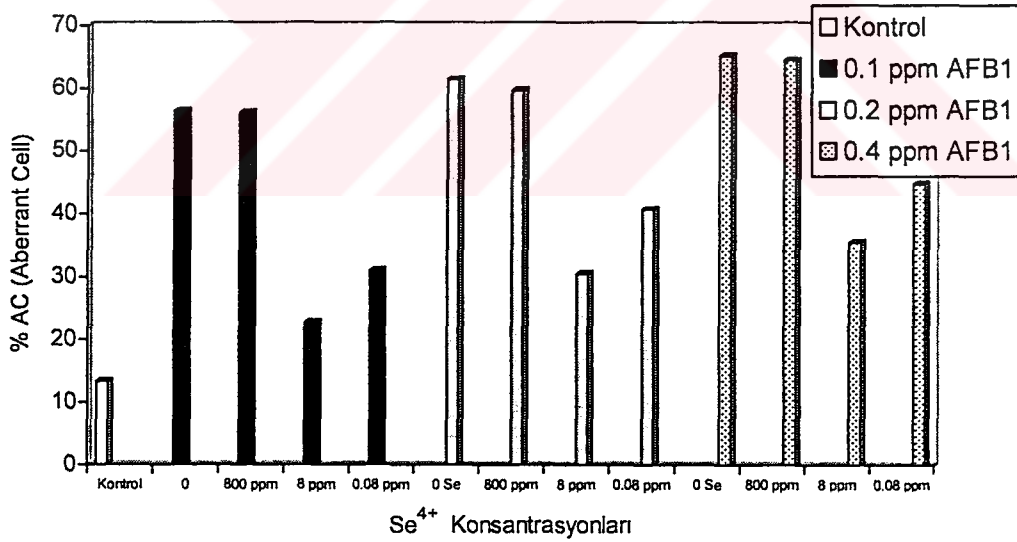
Kontrol: 13.29 \* P<0,05 düzeyinde önemli \*\* P<0,01 düzeyinde önemli



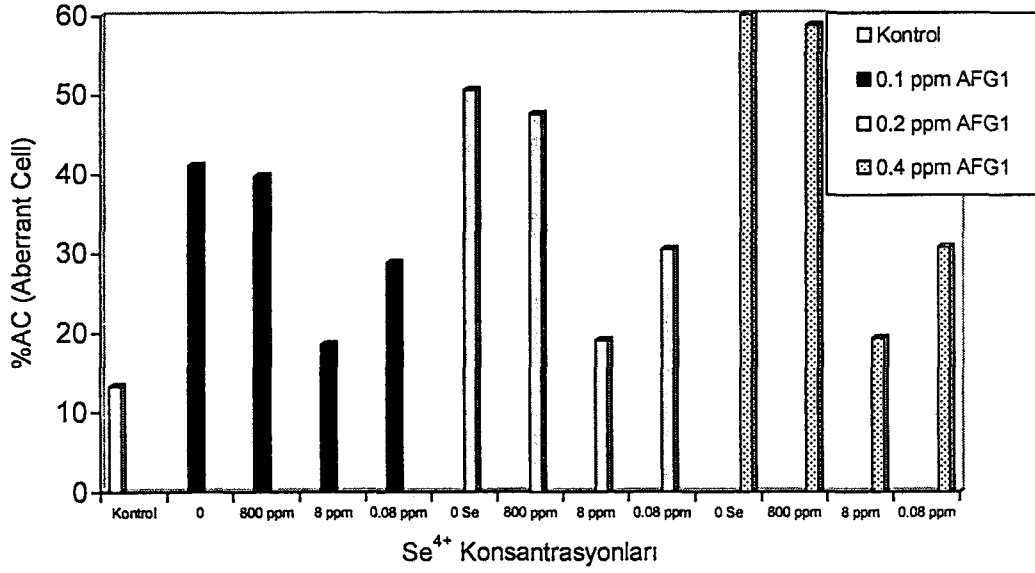
**Çizelge 4. 2. 2.** *Zea mays* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonlarının, Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte kromozomal anormallikler üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması

	0.1ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.2ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.4ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )
AFB <sub>1</sub>	47,76±26,35**	53,09±9,98**	63,38±18,37**
AFB <sub>1</sub> + 800 ppm	40,19±22,07**	49,70±2,00**	57,76±24,36**
AFB <sub>1</sub> + 8 ppm	24,26±18,25**	31,40±21,98**	32,63±14,23**
AFB <sub>1</sub> +0.08 ppm	29,96±10,70**	38,00±20,53**	43,60±13,86**
AFG <sub>1</sub>	44,92±3,94**	49,92±16,77**	55,12±10,20**
AFG <sub>1</sub> + 800 ppm	45,42±5,72**	43,90±13,72**	49,09±16,13**
AFG <sub>1</sub> + 8 ppm	30,45±9,95**	30,89±10,42**	31,32±15,35**
AFG <sub>1</sub> +0.08 ppm	34,24±8,65**	36,68±6,24**	42,45±21,13**

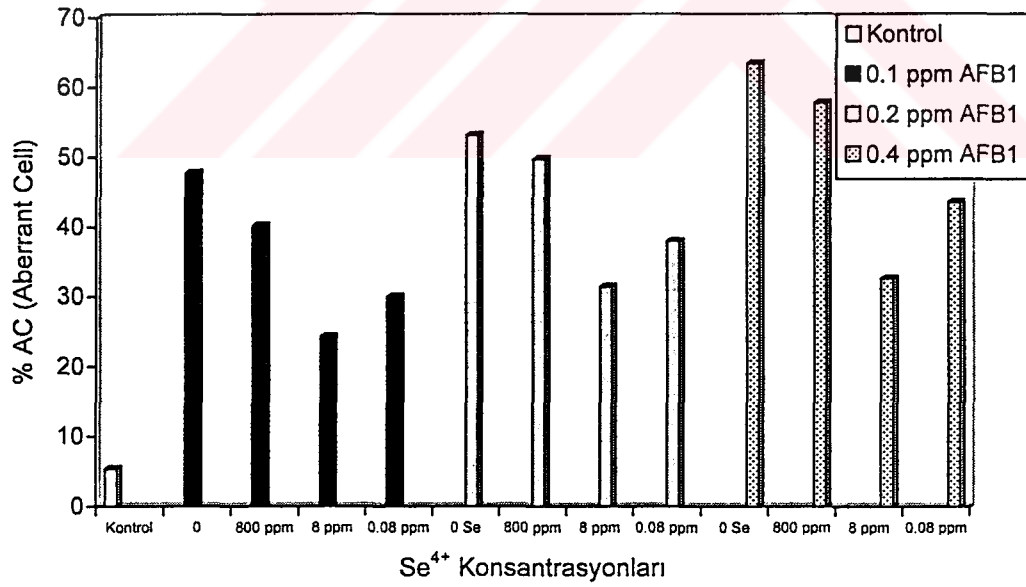
Kontrol 5,37 \* P<0,05 düzeyinde önemli \*\* P<0,01 düzeyinde önemli



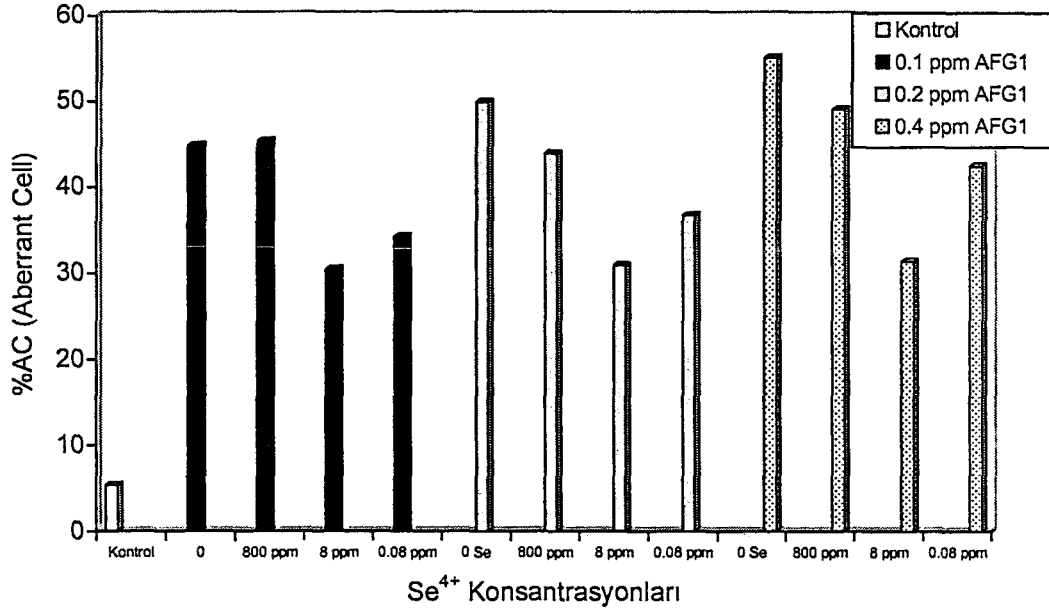
**Şekil 4. 2. 1.** *Vicia faba* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFB<sub>1</sub> ile beraber kromozomal anormallikler üzerine olan etkileri



Şekil 4. 2 .2. *Vicia faba* da  $Se^{4+}$  un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber kromozomal anormallikler üzerine olan etkileri



Şekil 4. 2. 3. *Zea mays* da da  $Se^{4+}$  un farklı konsantrasyonlarının AFB<sub>1</sub> ile beraber kromozomal anormallikler üzerine olan etkileri



Şekil 4. 2. 4. *Zea mays* da  $Se^{4+}$  un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber kromozomal anormallikler üzerine olan etkileri

#### 4. 3. *Zea mays* ve *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in Protein Miktarı Üzerine Olan Olumsuz Etkileri ve Bu Etkilerin $Se^{4+}$ ile Giderilmesi

AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in artan konsantrasyonlarına bağlı olarak her iki türde de kantitatif protein miktarı azalmıştır. Mitotik indeks ve kromozom anormalliklerinde olduğu gibi AFB<sub>1</sub> in AFG<sub>1</sub> e göre inhibe edici etkisinin daha fazla olduğu ve *Zea mays* in *Vicia faba* ya göre her iki aflatoksin çeşidine de daha duyarlı olduğu görülmüştür (çizelge 4. 3. 1., 4. 3. 2.). (şekil 4.3.1., 4.3.2., 4.3.3., 4.3.4.).

Aflatoksinlerin protein miktarları üzerine olan bu etkileri  $Se^{4+}$  uygulandıktan sonra azalmıştır.  $Se^{4+}$  un 8 ppm lik dozunun diğer dozlardan daha etkili olduğu gözlenmiştir (çizelge 4. 3. 1., 4. 3. 2.). (şekil 4.3.1., 4.3.2., 4.3.3., 4.3.4.).

**Çizelge 4. 3. 1.** *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonlarının, Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte protein miktarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması

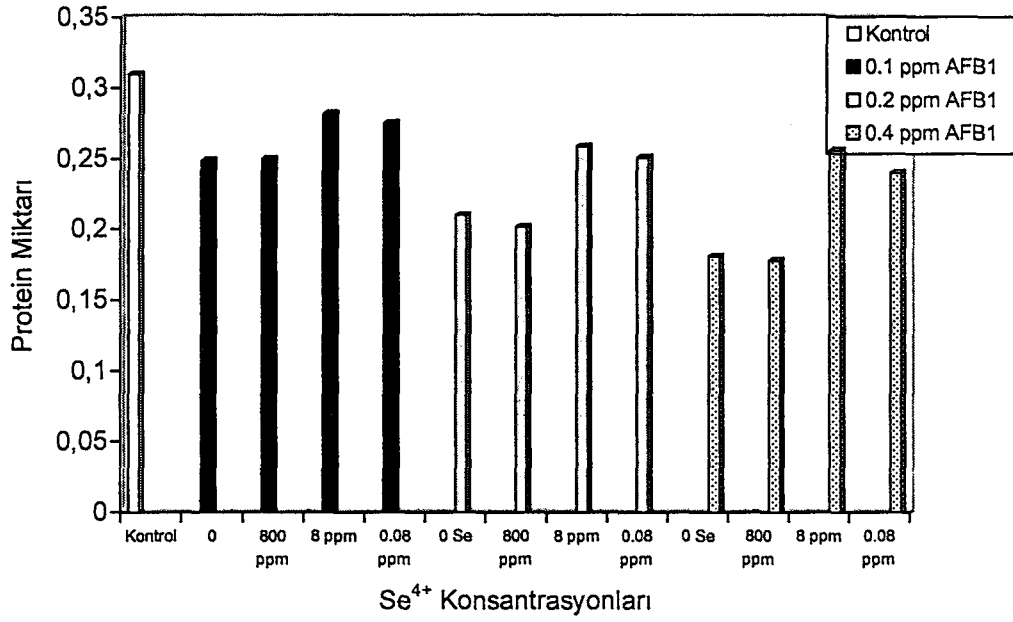
	0.1ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.2ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.4ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )
AFB1	0,249±0,02**	0,210±0,01**	0,181±0,01**
AFB1+ 800 ppm	0,250±0,01**	0,202±0,01**	0,178±0,00**
AFB1 + 8 ppm	0,282±0,01**	0,259±0,01**	0,256±0,01**
AFB1 +0.08 ppm	0,275±0,01**	0,251±0,00**	0,240±0,01**
AFG1	0,251±0,01**	0,220±0,01**	0,185±0,01*
AFG1 + 800 ppm	0,243±0,01**	0,212±0,01**	0,179±0,01*
AFG1 + 8 ppm	0,278±0,01**	0,230±0,01**	0,192±0,00*
AFG1 +0.08 ppm	0,264±0,00**	0,220±0,00**	0,183±0,00*

Kontrol: 0.31 µg/ml \* P<0,05 düzeyinde önemli \*\* P<0,01 düzeyinde önemli

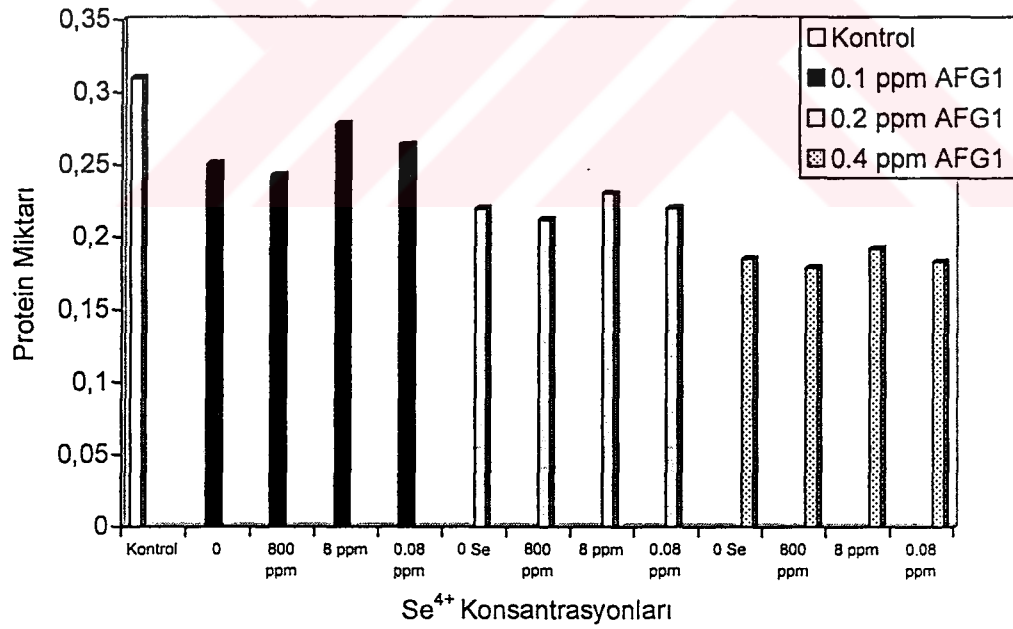
**Çizelge 4. 3. 2.** *Zea mays* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonlarının, Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte protein miktarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması

	0.1ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.2ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.4ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )
AFB1	0,253±0,00*	0,217±0,01**	0,131±0,01**
AFB1+ 800 ppm	0,254±0,00*	0,208±0,01**	0,145±0,01**
AFB1 + 8 ppm	0,266±0,02*	0,257±0,00**	0,248±0,00**
AFB1 +0.08 ppm	0,261±0,01*	0,252±0,00**	0,229±0,00**
AFG1	0,256±0,01*	0,230±0,01**	0,162±0,01**
AFG1 + 800 ppm	0,248±0,00*	0,238±0,01**	0,166±0,00**
AFG1 + 8 ppm	0,269±0,00*	0,260±0,01**	0,197±0,01**
AFG1 +0.08 ppm	0,260±0,01*	0,252±0,00**	0,172±0,01**

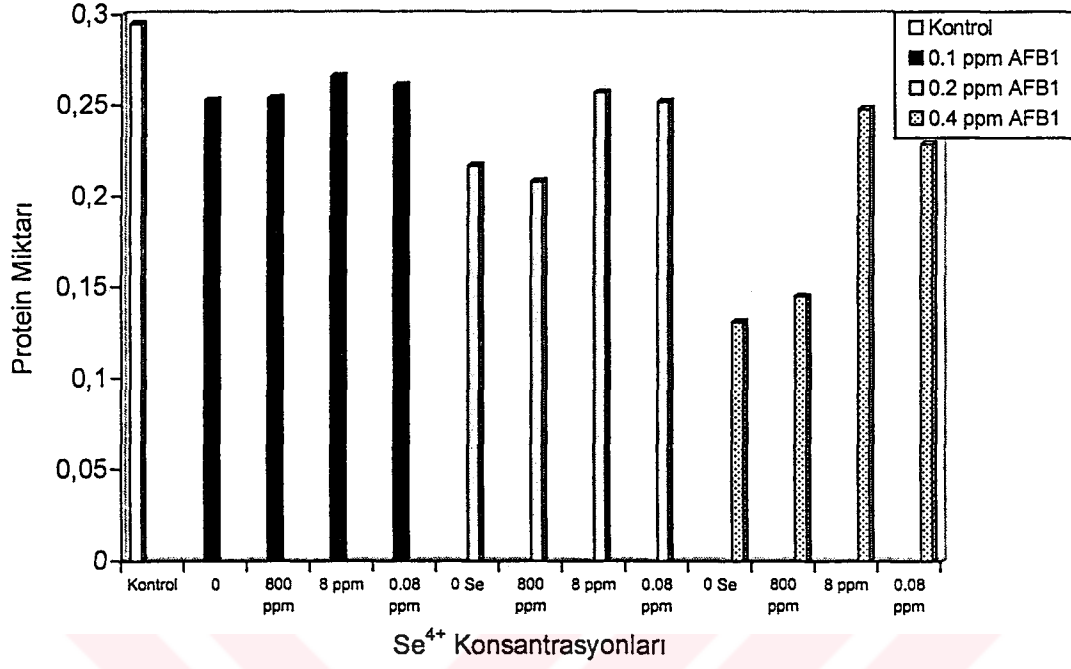
Kontrol: 0.295 lt/mg \* P<0,05 düzeyinde önemli \*\* P<0,01 düzeyinde önemli



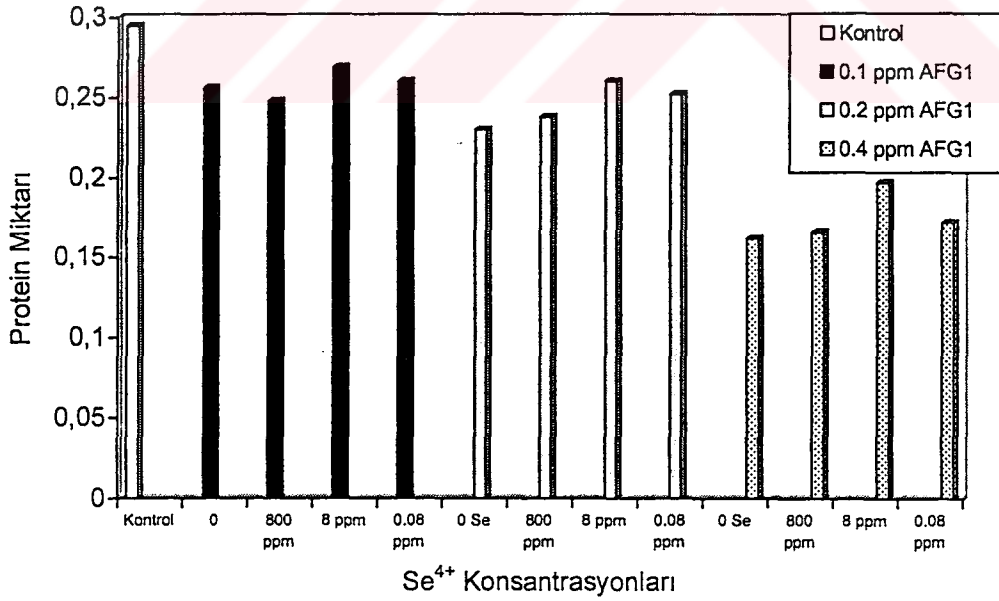
Şekil 4. 3. 1. *Vicia faba* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber protein miktarı değişimi üzerine olan etkileri



Şekil 4. 3. 2 *Vicia faba* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber protein miktarı değişimi üzerine olan etkileri



Şekil 4. 3. 3. *Zea mays* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFB<sub>1</sub> ile beraber protein miktarı değişimi üzerine olan etkileri



Şekil 4. 3. 4. *Zea mays* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber protein miktarı değişimi üzerine olan etkileri

#### 4. 4. *Zea mays* ve *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in Protein Miktarı Üzerine Olan Olumsuz Etkileri ve Bu Etkilerin Se<sup>4+</sup> ile Giderilmesi

AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in artan konsantrasyonlarına bağlı olarak her iki türde de kantitatif klorofil miktarı azalmıştır. Mitotik indeks ve kromozom anormalliklerinde olduğu gibi AFB<sub>1</sub> in AFG<sub>1</sub> e göre inhibe edici etkisinin daha fazla olduğu ve *Zea mays* in *Vicia faba* ya göre her iki aflatoksin çeşidine de daha duyarlı olduğu görülmüştür (çizelge 4. 4. 1., 4. 4. 2. ). (şekil 4.4.1., 4.4.2., 4.4.3., 4.4.4.).

Aflatoksinlerin protein miktarları üzerine olan bu etkileri Se<sup>4+</sup> uygulandıktan sonra azalmıştır. Se<sup>4+</sup> un 8 ppm lik dozunun diğer dozlardan daha etkili olduğu gözlenmiştir (çizelge 4. 4. 1., 4. 4. 2. ). (şekil 4.4.1., 4.4.2., 4.4.3., 4.4.4.).

**Çizelge 4. 4. 1.** *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonlarının, Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte klorofil miktarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması

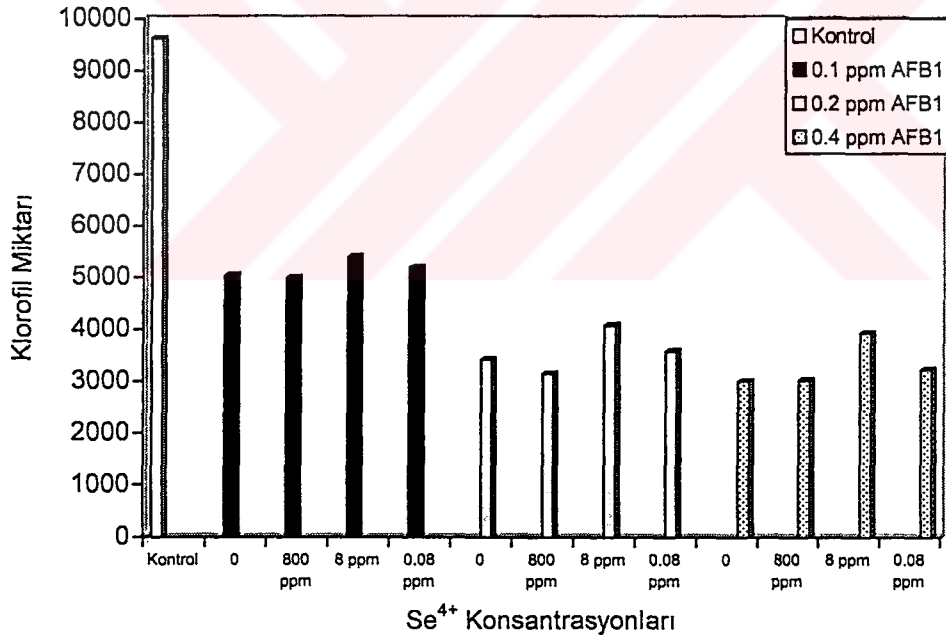
	0.1ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.2ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.4ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )
AFB <sub>1</sub>	5041**	3425**	3001**
AFB <sub>1</sub> + 800 ppm	5000**	3154**	3017**
AFB <sub>1</sub> + 8 ppm	5409**	4085**	3928**
AFB <sub>1</sub> +0.08 ppm	5201**	3583**	3226**
AFG <sub>1</sub>	7825**	4771**	3226**
AFG <sub>1</sub> + 800 ppm	7550**	4663**	3111**
AFG <sub>1</sub> + 8 ppm	8360**	5224**	4983**
AFG <sub>1</sub> +0.08 ppm	8068**	5107**	4887**

Kontrol 9623 lt/mg \* P<0,05 düzeyinde önemli \*\* P<0,01 düzeyinde önemli

**Çizelge 4. 4. 2.** *Zea mays* da da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in farklı konsantrasyonlarının, Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonları ile birlikte klorofil miktarı üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması

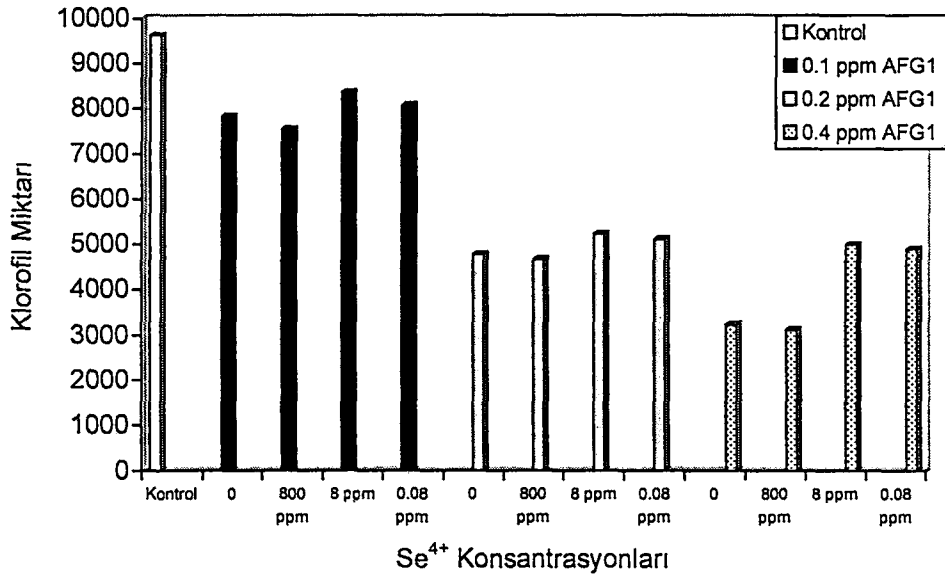
	0.1ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.2ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )	0.4ppm ( $\bar{x} \pm SD$ )
AFB1	4838**	3033**	2799**
AFB1+ 800 ppm	4598**	3145**	2813**
AFB1+ 8 ppm	7643**	4470**	3669**
AFB1+0.08 ppm	7368**	4026**	3316**
AFG1	6125**	3610**	3213**
AFG1+ 800 ppm	6141**	3047**	3599**
AFG1+ 8 ppm	7160**	4938**	4743**
AFG1+0.08 ppm	6637**	4685**	4035**

Kontrol: 8236 lt/mg \* P<0,05 düzeyinde önemli \*\* P<0,01 düzeyinde önemli

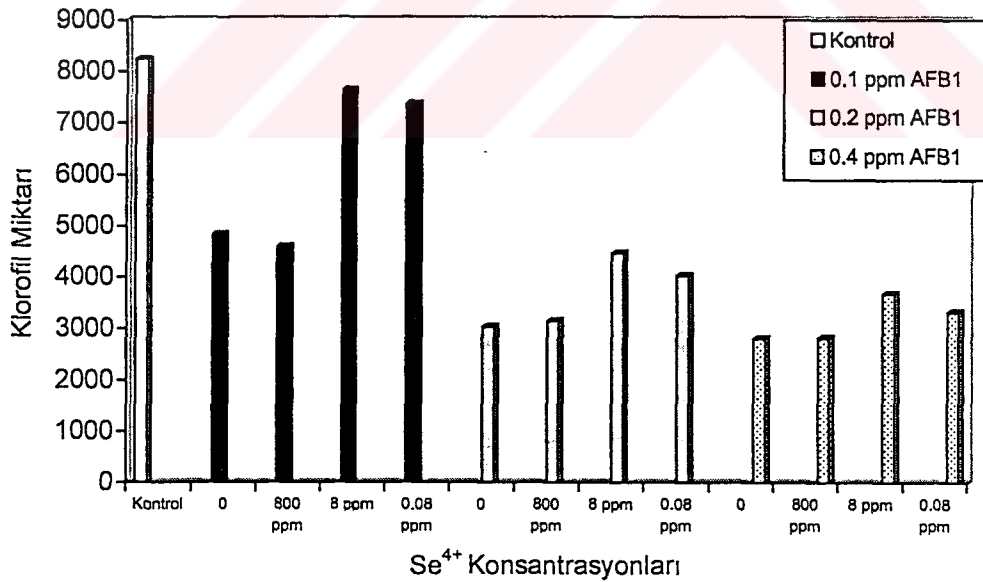


**Şekil 4. 4. 1.** *Vicia faba* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFB<sub>1</sub> ile beraber klorofil miktarı değişimi üzerine olan etkileri

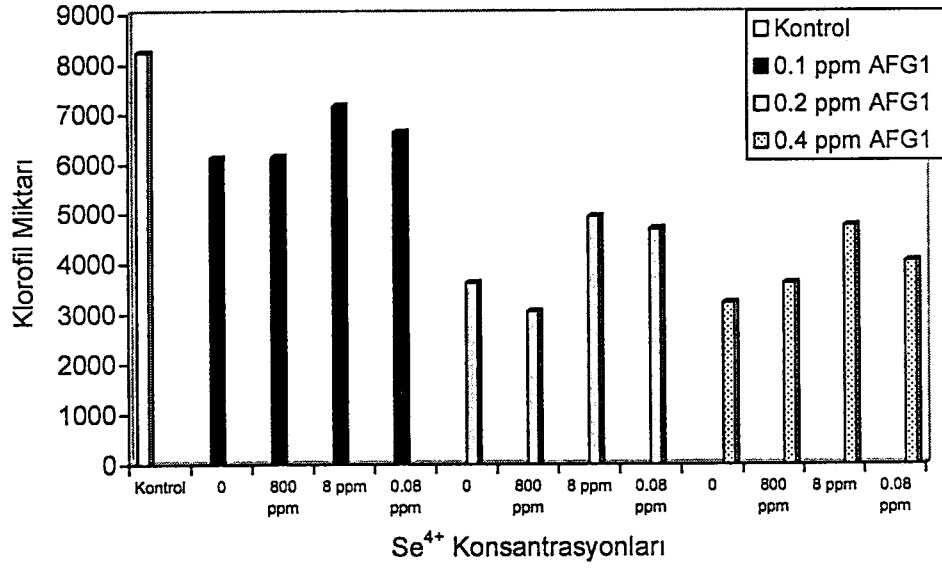




Şekil 4. 4. 2. *Vicia faba* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber klorofil miktarı değişimi üzerine olan etkileri



Şekil 4. 4. 3. *Zea mays* da Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının AFB<sub>1</sub> ile beraber klorofil miktarı değişimi üzerine olan etkileri



Şekil 4. 4. 4. *Zea mays* da  $Se^{4+}$  un farklı konsantrasyonlarının AFG<sub>1</sub> ile beraber klorofil miktarı değişimi üzerine olan etkileri

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> farklı konsantrasyonlarının *Vicia faba* ve *Zea mays* kök ucu hücrelerinde çeşitli tipte kromozomal anormallikler, kantitatif protein miktarı, total klorofil miktarına etkileri ve bu etkiler üzerine Se<sup>4+</sup> un farklı konsantrasyonlarının iyileştirici rolünün olup olmadığı araştırılmıştır.

AFB<sub>1</sub> in üç farklı konsantrasyonu kromozomal anormalliklere sebep olmuş, AFB<sub>1</sub> in konsantrasyonu arttıkça bu anormalliklerin oranı da artmıştır. Daha önce AFB<sub>1</sub> in kromozomal anormalliklere sebep olduğu *Allium cepa* da, *Vicia faba* da ve çeşitli hayvansal organizmalarda da tespit edilmiştir (Abdou *et al.* 1989, Yoshiaki *et al.* 1989, El-Zawahri *et al.* 1990).

AFG<sub>1</sub> de AFB<sub>1</sub> gibi her iki türde de konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak kromozomal anormalliklere sebep olmuş, fakat AFB<sub>1</sub> in AFG<sub>1</sub> e göre daha mutajenik olduğu gözlenmiştir. Daha önce insanlarda, *Zea mays* ve *Vicia faba* da AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in mutajenik etkileri karşılaştırılmış, AFB<sub>1</sub> in AFG<sub>1</sub> e göre daha mutajenik olduğu tespit edilmiştir (Abdou *et al.* 1984, El-Zawahri *et al.* 1990). AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> e karşı çalıştığımız iki farklı bitki türünden *Zea mays* daha duyarlı davranmıştır. Yapılan çalışmalar da bazı bitki türlerinin duyarlılığından bahsedilmiştir (Crisan 1973, El-Naghy *et al.* 1999).

Kromozomal anormallikler dışında her iki türde de AFB<sub>1</sub> konsantrasyonuna bağlı olarak total protein miktarı da azalmıştır. *Zea mays* tohumlarında yapılan çalışmalarda AFB<sub>1</sub> in DNA, RNA ve protein sentezini azalttığı ifade edilmiş, bu azalışın sebebi AFB<sub>1</sub> in DNA ya bağlanmasıyla açıklanmıştır ( Mısra *et al.* 1980, El-Naghy *et al.* 1999).

AFG<sub>1</sub> de AFB<sub>1</sub> gibi total protein miktarında azalmaya sebep olmuş ve konsantrasyon arttıkça bu azalış daha belirgin hale gelmiştir. Daha önce *Vicia faba* ve *Zea mays* da yapılan çalışmalarda AFG<sub>1</sub> in karbonhidrat, yağ, protein miktarında azalmaya sebep

olduğu bildirilmiş ve bu azalışın sebebi hücrede protein sentezi için gerekli mRNA nın bulunmayışına bağlanmıştır (El-Naghy *et al.* 1999). Protein miktarı değişiminde de *Zea mays* in her iki aflatoksin çeşidine karşı daha duyarlı olduğu tesbit edilmiştir (El-Naghy *et al.* 1999).

AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in her iki türde de klorofil miktarında azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir. Konsantrasyon arttıka bu azalış daha belirgin hale gelmiştir. AFB<sub>1</sub> in AFG<sub>1</sub> e göre etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Daha önce AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in bir çok bitkide klorofil sentezini inhibe ettiği *Zea mays* bitkisinin granalarının formasyonu üzerinde etkisinin olduğu bildirilmiştir (Sinha *et al.* 1990, Fadh-Allah *et al.* 1987, El-Naghy *et al.* 1999).

AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in kromozomal anormallikler, protein miktarı ve klorofil miktarı üzerine olan olumsuz etkilerinin oranı deđiřik Se<sup>4+</sup> konsantrasyonları ile dūřürülmüřtür. Özellikle Se<sup>4+</sup> un 8ppm lik konsantrasyonu tüm parametrelerde daha olumlu sonuçlar vermiřtir.

Hayvansal organizmalar da yapılan bir çok çalışma da aflatoksinlerin sebep olduğu karsinogenik, mutajenik, hepatokarsinogenik, akut toksik etkileri üzerinde Se<sup>4+</sup> un değişik dozlarının antagonistik etkisi olduğu gösterilmiş ve Se<sup>4+</sup> antikarsinogenik, antimutagenik essansiyel bir element olarak tanımlanmıştır. Se<sup>4+</sup> un koruyucu rolünün lipit peroksidaz, glutasyon peroksidaz ve antioksidant mekanizması ile alakalı olabileceği bildirilmiştir (Chen *et al.* 1982, Bhattacharya and Frozi 1987, Han-Ming-Sen *et al.* 1994, Bronzetti *et al.* 2001).

Ratlarda AFB<sub>1</sub> in DNA ya bağlanarak sebep olduğu karsinogenik ve hepatokarsinogenik etkisinin Se<sup>4+</sup> un 8 ppm lik dozu ile giderilebileceği gösterilmiş ve sebebi glutasyon mekanizması ile açıklanmıştır (Shi *et al.* 1994).

Yine ratlar da AFB<sub>1</sub> in karsinogenik, genotoksik ve sitotoksik etkisi üzerine 6 ppm lik Se<sup>4+</sup> diyetinin koruyucu rolü olduğu gösterilmiş, Se<sup>4+</sup> un koruyucu rolü lipit peroksidaz mekanizmasıyla ve Se<sup>4+</sup> un antioksidant özelliği ile alakalı olabileceği bildirilmiştir (Shen *et al.* 1994).

Hindilerde AFB<sub>1</sub> in sebep olduğu akut toksik etkiye karşı Se<sup>4+</sup> un 8 ppm lik dozunun koruyucu rolü gözlenmiş ve etki mekanizması glutatyon peroksidaz enzimleri ile açıklanmıştır (Gregory and Edds 1984).

*Salmonella typhimurium* strain TAI de AFB<sub>1</sub> in neden olduğu toksik ve mutajenik etkinin Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, SeO<sup>-3</sup> gibi bazı bazı iz elementler ile azaltılabileceği gösterilmiştir. Se<sup>4+</sup> un etki mekanizmasının temeli bazı mikrozomal enzim sistemleriyle interaksiyonuna, Se<sup>4+</sup> un AFB<sub>1</sub> in DNA ya bağlanmasını inhibe etmesiyle açıklanmıştır (Bhattacharya and Frozi 1987).

Ratlar da AFB<sub>1</sub> DNA ya bağlanarak sebep olduğu kanserojenik ve hepatokanserojenik etkiyi Se<sup>4+</sup> un giderdiği gözlenmiş ve bu glutatyon peroksidaz seviyesiyle açıklanmıştır (Chen *et al.* 1982). Çünkü oksidatif tehlikeler AFB<sub>1</sub> in hücreleri inciten ve DNA ya zarar veren mekanizmalarından biri olabilir. AFB<sub>1</sub> kromozomlara zarar veren serbest oksijen radikallerini stimüle eder (Kodama *et al.* 1980). Nakae (1981), farelerde yaptığı deneylerde serbest oksijen radikallerinin AFB<sub>1</sub> in sitotoksik rolünde önemini olabileceğini bildirmiştir. Aynı sonuçlar tavuklarda da çalışılmış ve Se<sup>4+</sup> un koruyucu mekanizması açıklanmamıştır (Chen *et al.* 1982).

Bitkilerde AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in sebep olduğu toksik, mutajenik etki üzerine Se<sup>4+</sup> un koruyucu rolünün olup olmadığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak ağır metallerin bitkilerde sebep olduğu kromozomal anormallikler ve mutajenik etkiler üzerine Se<sup>4+</sup> un koruyucu rolünün olabileceği gözlenmiş, bu koruyucu rolünün etki mekanizması glutatyon peroksidaz seviyesiyle açıklanmıştır (Zhang and Xiao 1998, Ağar *et al.* 2003).

Özellikle bitkisel organizmalarda ağır metallerin neden olduğu toksik ve mutajenik etkiler üzerine bazı iz elementlerin antagonistik etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bu iz elementlerden  $Se^{4+}$  un 8 ppm lik dozunun en etkili doz olduğu bildirilmiş ve etki mekanizmasının glutasyon peroksidaz enzimi ile alakalı olduğu gösterilmiştir.  $Se^{4+}$  insanı da içine alan bir çok tür için essansiyel bir elementtir. Glutasyon peroksidaz enziminin kofaktörü olduğu için antioksidant özelliğe sahiptir. Glutasyon peroksidaz enzimi hücreye ve DNA ya zarar veren serbest oksijen radikallerini azaltan veya nötralize eden bir enzimdir. Dolayısıyla  $Se^{4+}$  arttıkça glutasyon peroksidaz aktivitesi artacağı için  $AFB_1$  ve  $AFG_1$  in mutajenik etkileri azalacaktır. Fakat  $Se^{4+}$  un konsantrasyonunun artmasına paralel olarak her zaman  $AFB_1$  ve  $AFG_1$  in toksik etkileri azalmayacaktır. Çünkü  $Se^{4+}$  un düşük konsantrasyonlarının antimutajenik ve antikanserojenik olduğu, yüksek konsantrasyonlarının ise mutajenik ve karsinogenik olduğu bilinmektedir (Oldfield 1987, Biwas 1997, Bronzetti *et al.* 2001).

Çalıştığımız bitkilerde 8 ppm lik  $Se^{4+}$  konsantrasyonunun  $AFB_1$  ve  $AFG_1$  in kromozomal anormallikler, protein miktarı ve klorofil miktarı üzerine olan zararlı etkilerini azalttığı gözlenmiş, fakat 800 ppm lik dozunun ise çimlenme oranını düşürdüğü tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bitkisel organizmalarda da  $AFB_1$  ve  $AFG_1$  in konsantrasyonu arttıkça kromozomal anormallikler, klorofil miktarı ve protein miktarı üzerine olan olumsuz etkileri artmış,  $AFB_1$  in  $AFG_1$  e göre daha toksik olduğu gözlenmiştir.  $AFB_1$  ve  $AFG_1$  in bu etkileri üzerine hayvansal organizmalarda olduğu gibi bitkisel organizmalarda da  $Se^{4+}$  un koruyucu rolünün olduğu ve bunun  $Se^{4+}$  un konsantrasyonları ile alakalı olduğu tespit edilmiştir.

Aflatoksinlerle kontamine olmuş bitki tohumlarında aflatoksin seviyesini azaltmak için amonyaklama, ısıtma, sodyumhidrat, kalsiyum alimnosiklat ve kil kullanılır. Bu yöntemler aflatoksinlerin konsantrasyonunu azaltır, fakat toksik etkilerini gidermez. Ülkemiz için tarımsal açıdan önemli olan ve aflatoksinlerle sıkça kontaminasyona maruz kalan bu bitki türlerinin ekimi sırasında uygun dozda toprağa  $Se^{4+}$  verilirse aflatoksinlerin bitkilerdeki toksik etkilerini azaltabilir.

## KAYNAKLAR

- Abdou, R. F., Megalla, S. E., Moharram, A. M., Abdal, K. M., Sherif, T. H. I., El-Syed-Mahmood, A.L., Lottfy, A. E., 1989. Cytological effects of fungal metabolites produced by fungi isolated from Egyptian poultry feedstuffs. *J. basis. Microbial*, 29, 131-139.
- Abdou R. F., Megalla S. E. and Azab S. G. 1984. Mutagenic effect of aflatoxin B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> on the Egyptian cotton leaf-worm, *Spodoptera littoralis*. *Mycopathology*, 88, 23-26
- Ağar, G. and Taşpınar, M.S., 2003. Effects of Calcium, Selenium and Zinc on Cadmium induced chromosomal aberration in root of *Secale cereale* F.E.B. 12 In Press.
- Ağar, G.,1990. *Vicia canescens* de karyotip analizi. Atatürk Üniver. Erzurum.
- Algur Ö.F., 1992. Temel Biyoteknoloji Ders Notları. Atatürk Üniversitesi, 185, Erzurum.
- Amon, D. L., 1949. Copper enzymes in isolated Chloroplasts PPO in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 24, 1-15.
- Asahi, T., Mori, Z., Majima, R. and Uritani, I., 1969. The effects of aflatoxins on metabolic changes in plant tissue in response to injury. *J. Stored Prod. Res.*, 5, 219.
- Bailey E. A., Iyer, R. S., Stone, M. P., Haris, T. M., Essigmann, J. M., 1996. Mutational properties of the primary aflatoxin B<sub>1</sub>-DNA adduct. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 93, 1535-1539.
- Bhattacharya R.K.,Frozi P.F., 1987.Effect of plant flavonoids on microsome catalysed reactions of aflatoxin B<sub>1</sub> leading to activation and DNA adduct formation. *Cancer Lett*.
- Biswas, S., Talukder, G., Sharma, A., 1996. Selenium salts and chromosome damage. *Mutation Research*. 307, 201-205
- Black, H. S., Altschul, A. M., 1965. Gibberellic acid-induced lipase and alpa- amylase formation and their inhibition by aflatoxin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 19, 661.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the prenciple of protein-dye binding. *Analytical Biochem.*, 72, 248-254.
- Bronzetti, G., Cini, M., Andreoli, E., Caltavuturo, L., Panunzio, M., Croce, C. D., 2001. Protective effects of vitamins and selenium compounds in yeast. *Mutation Research*, 496, 105-115.
- Chen J .1982, Effects of dietary and selenium and vitamin E on hepatic mixed-function oxidase activities and in vivo covalent binding of aflatoxin B<sub>1</sub> in rats. *J.Nutr.*112,324
- Chen, J.,Goetchius,M.P., Combs,G.F.and Campbell,T.C..Effects of dietary selenium and vitamin E on covalent binding of aflatoxin to chick liver cell macromolecules.*J.Nutr.*112, (1982),350-357.
- Crisian, E.V.,1973. Effects of aflatoxin on germination and growth of lettuce. *Appl. Microbiol*, 25, 342.
- Dashek, W.V.and Llewellyn G.C., 1983. Mode of action of the hepatocarcinogens and aflatoxins in plant systems :a review. *Mycopathologia*, 81, 83-94.

- Dashek, W.V. and Llewellyn G.C., 1983. Mode of action of the hepatocarcinogens and aflatoxins in plant systems: a review. *Mycopathologia*, 81, 83-94.
- El-Naghy, M. A., Fadi-Allah, E. M., Samhan, M., 1999. Effect of aflatoxin G<sub>1</sub> on germination growth and metabolic activities of some crop plants. *Cytobios*, 97, 87-93.
- El-Zawahri, M., Morad M., Khishin, A.F., 1990. Mutagenic effect of aflatoxin G<sub>1</sub> in comparison with B<sub>1</sub>. *J. Environ Pathol. Toxicol. Oncol.* 10, 45-51.
- El-Zawahri, M., Moubasher, A., Morad, M., el-Kady, I., 1977. Mutagenic effect of aflatoxin B<sub>1</sub>. *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation*, 31, 859-866
- Francis, A.R., Shetty, T.K. and Bhattacharya, R. K. 1988. Modifying role of dietary factors on mutagenicity of aflatoxin B<sub>1</sub>: In vitro effect of trace elements. *Mutation Research*, 199, 85-93.
- Gregory, J. F. and Edds, G. T. 1984. Effect of dietary selenium on the metabolism of aflatoxin B<sub>1</sub> in turkeys. *Food Chem. Toxic.*, 22, 637-642.
- Griffin, A. C., 1979. Role of selenium in the chemoprevention of cancer. *Adv. Cancer Res.*, 29, 419
- Hasan, H. A. H., 1994. Action of carbamate biocides on sterols, gibberellin and aflatoxin formation. *J. Basic. Microbiol.*, 4, 225-230.
- Itô, Y., Ohnishi, S., Fujie, K., 1989. Chromosome aberrations induced by aflatoxin B<sub>1</sub> in rat bone marrow cells in vivo and their suppression by green tea. *Mutation Research* ., 222, 253-261
- Jones, H.C., Chancey, J.C., Morton, W.A., Dashek, W.V., Llewellyn, G.C., 1980. Toxic responses of germinating pollen and soybeans to aflatoxins. *Mycopathology*, 72, 67-73
- Kodama, M., Inoue, F., and Akao, M. 1990. Enzymatic and non enzymatic formation of free radicals from aflatoxin B<sub>1</sub>. *Free Rad. Res. Comm.*, 10, 137-142 .
- Lei, D. N., Wang, L. Q., Ruebner, B. H., Hsieh, D. P., Wu, B. F., Zhu, C. R. and Du, M. J. 1990. Effect of selenium on aflatoxin hepatocarcinogenesis in the rat. *Biomed. Environ. Sci.*, 3, 65-80.
- Lilly, L. J., 1965. Induction of chromosome aberrations by aflatoxin. *Nature (London)*, 207.
- Luo, H. Z., 1991. A preliminary study on the anti-mutagenic effect of seleno-malt. *Chinese Journal of Oncology*, 13, 162-164.
- McLean, M., Watt, M. P., 1995. Aflatoxin B<sub>1</sub>-its effects on an in vitro plant system. *Food. Add. And Contaminants*. 12, 435-443.
- Misra, R. S., and Tripathi R. K., 1980. Effect of aflatoxin B<sub>1</sub> in germination, respiration and amylase in maize. *Arch. Pflanzenschutz*, 87, 155-160.
- Nakae, D., Konishi, Y., and Farbert J. L., 1987. A role for oxygen radicals in the hepatotoxicity of aflatoxin B<sub>1</sub> and dimethylnitrosoamine. *Proc. Jpn. Cancer. Assoc.* 38.
- Newberne, P. M., and Conner, M. W., 1974. Effect of selenium on a cut response to aflatoxin B<sub>1</sub>. In *Trace Substances in Environmental Health*, 323
- Oldfield, J. E., 1987. The two faces of selenium. *U. Nutr.*, 117, 2002-2008
- Osuna, O., Edds, G. T., 1987. Toxicology of aflatoxin B<sub>1</sub> warfarin and cadmium in young pigs: Performance and hematology. *Am. J. vet. Res.*, 43.
- Pavao, A. C., Soares Neto, L.A., Ferreira Neto, J., Leao, M. B. C., 1994. Structures of aflatoxins B and G<sub>1</sub>. *Elsevier*, 337, 57-60.



- Reiss, J., 1971. Chromosomen aberrationen in den wurzelspitzen von *Allium cepa* durch Aflatoxin B<sub>1</sub>. *Experientia*, 27, 971-1002
- Schoental, R., White, A. F., 1965. Aflotoxins and albinism in plants. *Nature*, 205, 57.
- Schrauzer, G. N., 2000. Anticarcinogenic effects of selenium. *CMLS*. 57, 1864-1873.
- Sharby, T. F., 1977. Küfler ve Mikotoksinler. Çev:İstanbuluoğlu, E. Veteriner Hek. Der.
- Shen, H.M., Shi, C. Y., Lee, H. P. and Ong, C. N., 1994. Aflatoxin B<sub>1</sub> induced lipid peroxidation in rat liver. *Toxicology and applied pharmacology*, 127, 145-150.
- Shi, C. Y., Chua, S. C., Lee, H. P., Ong, C. N., 1994. Inhibition of aflatoxin B<sub>1</sub>-DNA binding and adduct formation by selenium in rat. *Cancer Letter*, 82, 203-208.
- Shi, C. Y., Hew, Y.C., 1995. İnhibition of aflatoxin B<sub>1</sub>-induced cell injury by selenium; an in vitro study. *Human & Experimental Tox.*, 14, 55-60.
- Sinha, K. K. and Kumari, P., 1990. Some physiological abnormalities induced by aflatoxin B<sub>1</sub> in mung seeds *Vigna radiata*. *Mycopathologia*, 110, 77-90.
- Taylor, J. H., 1962. Effect of by fluorodeoxyuridine on DNA replication, chromosome breakage and reunion. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 48, 190-198.
- Uritani, I., Asahi, T., Majima, R., and Mori, Z., 1970. The biochemical effects of aflatoxins and other toxic compounds related to parasitic fungi on the metabolism of plant tissue. In M. Herzberg (ed.). *Proceedings of the first U.S.-Japan Conference on toxic Micro-organizm*. U. S. Dept. Of the interior. 107-113.
- Verma, R. J. and Nair, A., 2001. Vitamin E ameliorates aflatoxin-induced biochemical changes in the testis of mice. *Asian J. Androl.*, 3, 305-309.
- Vernie, L. N., 1984. Selenium incarcinogenesis. *Biochimica et Biophysica*, 738, 203-217
- Wogan, G.N., 1973. Aflatoxin carcinogenesis. *Methots in Cancer Research*, 8, 309-344
- Wyllie, T. ve Morehouse, L., 1977 *Mycotoxic Fungi*.
- Zhang, Y., Xiao, H., 1998. Antagonistic effect of calcium, zinc and selenium against cadmium induced chromosomal aberrations and micronuclei in root cells of *Hordeum vulgare*. *Mutation Research*, 420, 1-6.

**EKLER****EK 1****Feulgenin Hazırlanması**

- 1- Bir gram kristal halde bazik fuksin alındı,
- 2- Küçük bir havanda veya 8-10 cm çapında bir saat camı içerisinde ezildi.
- 3- 500 cm<sup>3</sup> lük bir erlenmayerin dip kısmına kabın etrafına bulaştırmadan ezilmiş bazik fuksin konur.
- 4- Bir başka erlenmayerde 200 cm<sup>3</sup> lük damıtık su kaynatılır.
- 5- Toz halindeki bazik fuksin üzerine bu kaynatılmış damıtık su yavaş yavaş dökülür.
- 6- Bir taraftan da cam çubuk ile boya devamlı olarak karıştırılır.
- 7- Boya 50°C'ye soğuyuncaya kadar karıştırma işlemi devam eder.
- 8- 20 cm<sup>3</sup> 1 N HCl ilave edilir.
- 9- Süzülür.
- 10- 2 gr potasyum metabisülfid ( $K_2S_2O_5$ ) ilave edilir.
- 11- Boya ağzı iyice kapatılmış bir şişeye konur. Karanlık bir yerde dolapta 24 saat kadar en az bir gece bekletilir. Böylece vişne çürüğü rengindeki boya açık çay rengini alır.
- 12- Hazırlanan boya -4°C de buz dolabında muhafaza edilir.

**EK 2**

**Coomassie Brilliant Blue' nun Hazırlanması:** 10 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 maddesi 5 ml etanolde çözülür. Buna 10 ml %85 lik fosforik asit ilave edilir. Saf su ile üzeri 100 ml'ye tamamlanır.



## ÖZGEÇMİŞ

Narman'da 1974 yılında doğdu. İlk öğrenimini Tortum'da, orta öğrenimini Erzurum'da, lise öğrenimini Bursa 'da tamamladı. 1992 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 1996 yılında mezun oldu. Ekim1996-Ağustos 2003 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı.

Milli Eğitim Müdürlüğüne bağlı özel bir kurumda Biyoloji öğretmeni olarak çalışmaktadır.

