

**T.C.  
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**TİTANYUM DİOKSİT (TiO<sub>2</sub>) VE ÇİNKO OKSİT (ZnO)  
NANOPARTİKÜLLERİNİN *ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEM  
HÜCRELERİ ÜZERİNE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN  
RAPD-PCR İLE BELİRLENMESİ**

**FATİH OĞUZ BEKDEMİR**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Dilek PANDIR**

**Yozgat 2018**



**T.C.  
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**TİTANYUM DİOKSİT (TiO<sub>2</sub>) VE ÇİNKO OKSİT (ZnO)  
NANOPARTİKÜLLERİNİN *ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEM  
HÜCRELERİ ÜZERİNE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN  
RAPD-PCR İLE BELİRLENMESİ**

**FATİH OĞUZ BEKDEMİR**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Dilek PANDIR**

**Bu çalışma, Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından 6601-FBE/18-180 kodu ile desteklenmiştir.**

**Yozgat 2018**

T.C.  
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAYI

Enstitümüzün Biyoloji Ana Bilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı 70110316001 numaralı öğrencisi Fatih Oğuz BEKDEMİR'in hazırladığı "Titanium dioksit (TiO<sub>2</sub>) ve Çinko oksit (ZnO) nanopartiküllerinin *Allium cepa* L. kök meristem hücreleri üzerine genotoksik etkilerinin RAPD-PCR ile belirlenmesi" başlıklı tezi ile ilgili tez savunma sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri gereğince 24/05/2018 günü saat 13.30'da yapılmış, tezin onayına oy birliği ile karar verilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Sedat PER



Üye : Prof. Dr. Dilek PANDIR (Danışman)



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet CEYLAN



ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...7.../...6.../2018 tarih ve 29... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

11.../06/2018



Prof. Dr. Fuat KOKSAL  
Müdür

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Nanopartiküller ve Nanoteknoloji.....	1
1.2. <i>Allium cepa</i> ile yapılan genotoksite çalışmaları.....	4
1.3. RAPD-PCR yöntemi ve yapılan çalışmalar .....	5
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>9</b>
2.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	9
2.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler .....	10
2.3. Nanopartiküllerin Çözündürülmesi.....	11
2.4. Bitki Köklerinin Elde Edilmesi .....	11
2.5. DNA İzolasyonu.....	12
2.6. RAPD-PCR ve Koşulları.....	12
2.7. Elektroforez Tamponu ve Jel Hazırlanışı.....	13
2.8. RAPD-PCR Ürünlerinin Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi.....	13
2.9. Elde Edilen RAPD Profillerinin Değerlendirilmesi.....	13
<b>3. BULGULAR</b> .....	<b>144</b>
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>21</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>25</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>31</b>

**TİTANYUM DİOKSİT (TiO<sub>2</sub>) VE ÇİNKO OKSİT (ZnO)  
NANOPARTİKÜLLERİNİN *ALLIUM CEPA* L. KÖK MERİSTEM  
HÜCRELERİ ÜZERİNE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN RAPD-PCR İLE  
BELİRLENMESİ**

**FATİH OĞUZ BEKDEMİR**

**Yozgat Bozok Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Ana Bilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi  
2018; Sayfa: 33**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek PANDIR**

## **ÖZET**

Nanoteknoloji çok hızlı bir şekilde gelişmekte olan araştırma alanlarının başında gelmektedir fakat nanopartiküllerin çevreye olan zararları tam olarak belirlenememiştir. Bu çalışmada, TiO<sub>2</sub> ve ZnO nanopartiküllerinin *Allium cepa* L'nin kök meristematik hücreleri üzerine toksik etkisi araştırılmıştır. Çalışmada *A. cepa*'ya artan dozlarda (10, 100, 1000 µg/ml) nanopartiküller verildi ve 72 saat sonunda kontrol grubu ile kıyaslama yapılmıştır. DNA izolasyonu ile genomik DNA elde edilmiş ve 4 primer kullanılarak RAPD-PCR uygulanmıştır. RAPD-PCR profiline göre 4 primerden toplam 135 bant elde edilmiştir. 4 primerle uygulanan TiO<sub>2</sub> ve ZnO nanopartiküllerin her bir uygulama konsantrasyonlarında farklı polimorfik bantlar elde edilmiştir. Bu polimorfizm, kontrole göre bantların yoğunluklarının artması, azalması, bantların yok olması ya da yeni bantların oluşması şeklinde elde edilmiştir. Yeni bantların oluşumu en çok TiO<sub>2</sub> ve ZnO nanopartiküllerin yüksek konsantrasyonlarında görülmüştür. Uygulama sonuçlarına göre, TiO<sub>2</sub> ve ZnO nanopartiküllerinin *A. cepa* kök hücreleri üzerindeki genotoksik etkileri 72 saat sonunda artan dozlar ile doğru orantılı olarak artış göstermiştir. Sonuç olarak, RAPD analizi ile tespit edilen DNA polimorfizmleri, çevre toksikolojisi için bir araştırma aracı olarak kullanılabilceğini ve daha ileri toksikolojik değerlendirmeler için alt yapı oluşturabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Nanopartikül, TiO<sub>2</sub>, RAPD-PCR, ZnO, *Allium cepa*.

**DETERMINATION OF GENOTOXIC EFFECTS OF TITANIUM DIOXIDE (TiO<sub>2</sub>) AND ZINC OXIDE (ZnO) NANOPARTICLES ON *ALLIUM CEPA* L. MERISTEM CELLS OF ROOT WITH RAPD-PCR**

**FATİH OĞUZ BEKDEMİR**

**Yozgat Bozok University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology  
Master of Science Thesis**

**2018; Page: 33**

**Thesis Supervisor: Prof. Dr. Dilek PANDIR**

**ABSTRACT**

Nanotechnology is at the foreground of rapidly developing research fields but the damage to the environment of the nanoparticles has not been fully determined. In this study, the toxic effect of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on root meristematic cells of *Allium cepa* L. was investigated. In study, *A. cepa* was given nanoparticles at increasing doses (10, 100, 1000 µg/ml) and compared to the control group after 72 hours. Genomic DNA was obtained by DNA isolation and RAPD-PCR was performed with 4 primers. According to the RAPD-PCR profiles, a total of 135 bands were obtained from 4 primers. Different polymorphic bands were obtained at each treatment concentration of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles applied to 4 primers. This polymorphism has been shown to increase or decrease the density of the bands occurred, the disappearance of the bands, or the formation of new bands when compared to the control group. The formation of new bands was mostly obtained from high concentrations of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles. According to application results, the genotoxic effects of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on *A. cepa* root cells increased in directly proportion with increasing doses at 72 hours. As a result, DNA polymorphisms detected by RAPD analysis can be used as a research tool for environmental toxicology and may constitute a source for further toxicological evaluations.

**Key words:** Nanoparticles, TiO<sub>2</sub>, RAPD-PCR, ZnO, *Allium cepa*.

## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam boyunca bana yol gösteren hocam Sayın Prof. Dr. Dilek PANDIR'a, çalıőmalarımnda bana yardımcı olan Arő. Gör. Ali DEMİRBAĞ'a, arkadaşlarım Biyolog Kemal KOÇ ve Biyolog Zehra İLÇE'ye; tüm çalıőmam boyunca maddi ve manevi yönden desteklerini esirgemeyen aileme teőekkürlerimi borç bilirim.

Bu tez alıőması Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: **6601-FBE/18-180**). Maddi desteklerinden dolayı Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1.</b> RAPD-PCR’da kullanılan tüm primerlerin; primer dizilimleri, primer bağlanma sıcaklıkları ve G+C yüzdeleri .....	11
<b>Tablo 2.2.</b> RAPD-PCR koşullarını gösteren değerler .....	12
<b>Tablo 3.1.</b> TiO <sub>2</sub> ve ZnO’ya maruz bırakılan <i>A. cepa</i> köklerinin RAPD-PCR primerleri ile amplifikasyonu sonucu elde edilen ortalama band sayısı. 20	
<b>Tablo 3.2.</b> TiO <sub>2</sub> ve ZnO’ya maruz bırakılan <i>A. cepa</i> köklerinden elde edilen DNA ile uygulanan RAPD-PCR sonucu saptanan polimorfik bantlardan yararlanarak hesaplanan genomik kalıp stabilitesi (GKS) yüzde değerleri .....	20

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa

- Şekil 3.1.** OpA 9 primeri kullanılarak elde edilen RAPD-PCR profilleri. (1) TiO<sub>2</sub> 10 µg/ml, (2) TiO<sub>2</sub> 100 µg/ml, (3) TiO<sub>2</sub> 1000 µg/ml, (4) ZnO 10 µg/ml, (5) ZnO 100 µg/ml, (6) ZnO 1000 µg/ml, (M) Marker, (C) Kontrol Grubu, (N) Negatif Kontrol ..... 16
- Şekil 3.2.** OpA 17 primeri kullanılarak elde edilen RAPD-PCR profilleri. (1) TiO<sub>2</sub> 10 µg/ml, (2) TiO<sub>2</sub> 100 µg/ml, (3) TiO<sub>2</sub> 1000 µg/ml, (4) ZnO 10 µg/ml, (5) ZnO 100 µg/ml, (6) ZnO 1000 µg/ml, (M) Marker, (C) Kontrol Grubu, (N) Negatif Kontrol. .... 17
- Şekil 3.3.** OpB 7 primeri kullanılarak elde edilen RAPD-PCR profilleri. (1) TiO<sub>2</sub> 10 µg/ml, (2) TiO<sub>2</sub> 100 µg/ml, (3) TiO<sub>2</sub> 1000 µg/ml, (4) ZnO 10 µg/ml, (5) ZnO 100 µg/ml, (6) ZnO 1000 µg/ml, (M) Marker, (C) Kontrol Grubu, (N) Negatif Kontrol.....18
- Şekil 3.4.** OpC 20 primeri kullanılarak elde edilen RAPD-PCR profilleri. (1) TiO<sub>2</sub> 10 µg/ml, (2) TiO<sub>2</sub> 100 µg/ml, (3) TiO<sub>2</sub> 1000 µg/ml, (4) ZnO 10 µg/ml, (5) ZnO 100 µg/ml, (6) ZnO 1000 µg/ml, (M), Marker, (C) Kontrol Grubu, (N) Negatif Kontrol.....19

## **KISALTMALAR**

<b>NP</b>	: Nanopartikül
<b>TiO<sub>2</sub></b>	: Titanyumdioksit
<b>ZnO</b>	: Çinko Oksit
<b>RAPD</b>	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>FDA</b>	: Gıda ve İlaç İdaresi
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>BA</b>	: Benziladenin
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi
<b>GKS</b>	: Genomik Kalıp Stabilitesi
<b>MgO</b>	: Magnezyum Oksit
<b>MNI</b>	: Mikronükleus İndeksi
<b>CSI</b>	: Kromozomal Sapma İndeksi

# 1. GİRİŞ

## 1.1.Nanopartiküller ve Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, hızlı bir şekilde gelişmekte olan araştırma alanlarından biri haline gelmektedir. Nanoteknoloji, mevcut teknolojilerin küçültülerek daha ileri düzeyde duyarlı sistemlerin oluşmasına imkân vermektedir. Bundan dolayı, çok daha uzun süreler dayanan, temiz, güvenli ve akıllı ürünleri evde, iletişimde, ulaşımda, tarımda, tıpta, kimyada, fizikte, biyoteknoloji ve endüstrinin her alanında kullanmak mümkün olmuştur. Nanomalzemelerin yükselişi disiplinler arası çalışmaların sonucunda olmuştur. Özellikle tıp ve biyoteknoloji alanlarında kullanılmak üzere çeşitli nanoboyutlarda nanomalzemeler sentezlenmeye başlanmıştır. Nanoboyutlu malzemelere nanokristaller, nanopartiküller (NP), nanotüpler, nanoteller ve nanoçubuklar örnek olarak verilebilir [1].

Nano kelimesi, Yunanca ‘nanos’ sözcüğünden türemiştir. NP’ler; boyut olarak 100 nm’den küçük ama boyutlarına göre oldukça geniş yüzey alanlarına sahip partiküllerdir. Hücresel elemanların da nano ölçeklerde olduğu bilinmektedir. Örneğin, hücreleri saran fosfolipit tabaka yaklaşık olarak 5 nm [2], aktin filamentler ve mikrotübüller, sırasıyla, 8 ve 25 nm [3], mitokondriler 500 nm [4] ve ribozomlar 20 nm boyuttadırlar [5].

NP’ler, metal oksit molekülleridir yani atomik yapılar ile kütleli metaryaller arasındaki ara partiküllerdir. NP’ler temel kimyasallar ile kıyaslandıklarında ise multifonksiyonel partiküller olarak üretilmektedirler [6]. Kütleli materyallerin sabit fiziksel özelliklerine karşın NP’ler; oldukça değişken elektriksel, manyetik ve optik özelliklere sahiptirler.

NP’lerin başka bir özellikleri ise yüzey alanı/hacim oranının mikropartiküllere göre çok yüksek olması ve hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda çok fazla tercih edilmesidir. NP’ler, kanser hastalığının teşhis ve tedavisinde, hedefli ilaç salınımında, biyosensörler gibi tıp ve biyoteknoloji alanlarında kullanılmaktadırlar [1, 3].

Yapılan araştırmalarda NP'lerin birçok bakteri türü ve diğer organizmaların hücre yapıları üzerine antimikrobiyal özellik gösterdiği saptanmıştır. NP'ler lenf nodllerindeki ve kemiklerdeki hücrelerde yayılarak metastazların belirlenebilmesi için duyarlılığı arttırmaları. NP'lerin bu özelliklerinden dolayı, hastalıkların tanı ve tedavisi konusunda dikkatleri üzerinde toplanmasını sağlamıştır [7].

Ching ve ark. [21], nanomalzemelerin fiziko-kimyasal özelliklerini ve UV altında bakteriler üzerindeki toksik etkiyi ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada kullanılan NP'lerin dşukte olsa toksik etkisi gözlemlenmiştir.

Anand ve ark. [22], fito ile sentezlenen altın ve gümüş NP'lerinin antikanser, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde çalışmışlardır.

NP'lerin toksisitesi, remediasyonu ya da sentezi ile ilgili çalışmalarda özellikle Platin (Pt), inko (Zn), Gümüş (Ag), Altın (Au) ve Titanyum (Ti) tercih edilen NP'lerdendir. Bu NP'lerden titanyum oksitin değişik sitokiyometrilere ait bileşikleri bulunmaktadır. Bunlar; TiO, Ti<sub>2</sub>O, TiO<sub>2</sub>, Ti<sub>3</sub>O, Ti<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ve Ti<sub>3</sub>O<sub>5</sub> bileşikleridir. En kararlı yapıya sahip olan bileşik ise TiO<sub>2</sub>'dir [8].

Titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>)'in toksik özelliği ve maliyeti düşüktür. Sahip olduğu bu özellikleri sebebiyle kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Boya, kağıt ve plastik endüstrileri olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Zararı tam saptanamamakla beraber kozmetik, deri, gıda, eczacılık ve bilimsel birçok alanda da tercih edilmektedir [9].

Araştırmacılar, TiO<sub>2</sub> fotokatalistinin hem detoksifiye edici hemde antibakteriyel ajan olmasından dolayı, deneysel çalışmalarda etkili ve kullanılabilir olduğu kanısına varmışlardır [10, 11]. Jukapli ve ark. [12], fotokatalitik yolla, kanser hücresinin dezenfeksiyonu ve öldürülmesi üzerine titanyum NP'lerinin (TiO<sub>2</sub>) temel ve ileri uygulamaları üzerine araştırmalar yapmışlardır.

Başka bir çalışmada, TiO<sub>2</sub> NP'nin belirli konsantrasyonlarının retinal hastalıkların tedavisinde kullanılması amaçlanmıştır. Bu nedenle TiO<sub>2</sub> nanopartikülünün göze lokal olarak verilmesiyle gözde toksik olup olmadığı araştırılmıştır [13].

Thurn ve ark. [23], TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının prostat kanseri PC-3M hücrelerine

alınmasında rol oynayan kinetik ve endositik yolların kantitatif analizi üzerinde çalışmışlardır.

Metal Oksit NP'leri, spesifik yüzey alana sahip olup küçük ebatlara sahiptirler. Bu özellikler metal oksit NP'lerine intrinsik toksisiteye sebep olma ve daha yüksek kimyasal reaksiyona girme özelliği kazandırmaktadır. Metal oksitler; gıdaların paketlenmesinde, ilaç yapımında, eczacılıkta, ilaç üretiminde ve veterinerlikte kullanılmakla beraber, bazı tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde de tercih edilmektedir [14].

ZnO formülüne sahip olan Çinko Oksit önemli bir kimyasal metal oksit bileşimidir [15]. Hayvan ve insan organları içinde çinko önemli elementlerden biridir ve yaşlanmada apoptotik etkilerde, oksidatif stres ve bağışıklık yanıt gibi olaylarda önemli rol üstlenmektedir [16].

ZnO nano yapılı partiküllerin kullanımında konsantrasyonları, parçacık şekli, boyutu, yüzey alanı ve fiziko-kimyasal özellikleri oldukça etkilidir. Bunların yanı sıra antimikrobiyal aktivitesine bağlı olarak ZnO NP'leri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylı ve antifungal bir madde olarak kullanılmaktadır [17].

Birçok metal oksit arasında ZnO nanoyapılarının antibakteriyel aktivitesi ve biyoyumluluk özelliği, fiziko-kimyasal özelliklerine dayanmaktadır. Ancak ZnO'nun son zamanlarda araştırmalara konu olan toksik etkileri birçok çalışma ile kanıtlanmış olup, bu kimyasal ile yapılan genotoksik çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır [18].

ZnO NP'leri tekstil alanında, endüstriyel kaplama alanında ve ayrıca organizmalara karşı toksisitesi nedeniyle dünya çapında özel ilgi görmüştür. ZnO'nun memeli hücre hatları için toksik etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [19, 20].

NP'lerin sentezi fiziksel veya kimyasal özelliklerine bağlı olarak son yıllarda büyük ölçüde artış göstermiştir. Buna bağlı olarak bu kimyasalların çevresel toksisitesi ile ilgili bilgiler oldukça azdır. Sellami ve ark. [24], oluklu halı kabuğunun (*Ruditapes decussatus*) 14 gün süre ile ZnO ve Au NP'lerine maruz bırakmışlar ve sonuç olarak *R. decussatus*'da solungaç ve sindirim bezlerinin zarar gördüğünü tespit etmişlerdir.

ZnO çevresel riskleri ile ilgili endişeler, bu NP'nin farklı alanlarda kullanımının çoğalmasıyla artmıştır. ZnO NP'leri üretim, nakliye, kullanım ve elden çıkarım aşamasında kaçınılmaz olarak çevreye yayılmaktadır. Bu sorunla ilgili Hou ve ark. [25], ZnO NP'lerinin çevre ve organizma üzerindeki etkilerini belirleyebilmek için bir çalışma yapmışlardır. Omurgalı ve omurgasız hayvanlar üzerinde yapılan deneyler sonucunda, ZnO'nun toksik etkilerine rastlamışlardır.

### **1.2. *Allium cepa* ile yapılan genotoksite çalışmaları**

İnsanoğlu, varoluşundan bu yana tarıma ilgi duymuş ve tarım ile uğraşmıştır. Buna bağlı olarak; bitkilerde meydana gelmiş veya gelebilecek hasar ve hastalıklarla da ilgilenmişlerdir [26]. İlk çağlarda zararlı otlar ve parazit hayvanlar ile başlayan bu hasarlar, çağımızda yerini insektisitler, herbisitler ve nanopartüküller gibi birçok bitkilere zarar verecek ziraai ilaçlara bırakmıştır. Bitkilerin ve diğer canlıların DNA'larında meydana gelen bu etkiye genotoksik etki denilmektedir. Çalışmalarda, sitogenetik hasarlar ve DNA hasarının belirlenmesi için kullanılan parametreler 30 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır [27, 28].

Genotoksik testlerde farklı kimyasal ve ziraai maddelerin etkisinin belirlenmesinde birçok test sistemi kullanılmakla beraber en çok tercih edilen test *Allium Testi*'dir. Bu test ilk kez Levan tarafından 1938'de kolşisinin etkisini saptamak amacıyla kullanılmıştır. İlerleyen yıllarda bilimdeki gelişmelere bağlı olarak bu test bazı modifikasyonlara uğrayıp geliştirilmiştir [29].

*Allium testi*, uygulanması bakımından kolay, hızlı ve hassas olup net sonuçlar elde edilen ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından onaylanmış bir testtir [30].

*A. cepa*'nın deneysel olarak kullanımının birçok avantajı bulunmaktadır [30, 31]. Bunlardan bazıları;

- Az sayıda büyük kromozomlarının olması ( $2n=16$ ),
- Kök ucu hücrelerinde; C-mitoz,  $EC_{50}$ , büyüme, kromozom kırıkları ve yapışıklık gibi parametrelerin kolayca belirlenebilmesi,
- Ökaryot bitki olarak DNA hasarının kolayca görülebilmesi,
- Saklama ve kullanımının kolay olması,
- Temininin kolay ve düşük maliyetli olması,
- Çimlenmesinin kolay ve hızlı olması.

El-Ghamery ve Mousa [32], bir fito regülatör ve bitki hormonu olan benziladenin (BA)'in ve Çörek Otu tohumunun *A. cepa*'nın sitolojisi ve büyümesi üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve sonuç olarak BA'nın Çörek Otu ve *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde toksik etkiye neden olduğunu ve bu toksisitenin farklı gen ve kromozom varyanslarına sebep olduğunu kanıtlamışlardır.

Çevresel kirlenici olan maddelerin etkilerini saptamak için yapılan toksikoloji çalışmaları son derece önemlidir. Bu amaçla kullanılan *A. cepa* ve *Lactuca sativa* L. yaygın olarak kullanılan bitkilerdir. Silveria ve ark. [33], bu iki bitkiyi ağır metal olan kadmiyum, sanayi atığı olan Potliner (SPL), DNA-alkilleyici olan Metansülfonat'a maruz bırakmışlar ve sonuç olarak her iki bitkinin de kullanılan bu kirlenicilerden ağır toksik hasarlar aldığını kanıtlamışlardır.

### **1.3. RAPD-PCR yöntemi ve yapılan çalışmalar**

Mendel ile başlayan genetik çalışmalar 1930'lardan sonra büyük gelişmeler göstermiş ve bu alan tümüyle bir bilim dalına dönüşmüştür. İlk kullanılan basit tekniklerin yerini moleküler metotlar almıştır. Bu metotlardan en çok ilgi görenleri ise moleküler belirteçlerdir. Bu belirteçler, özgül bir genom bölgesini tanımlamada kullanılırlar ve genom içerisindeki gen bölgesi veya bu bölge içerisindeki DNA parçaları olarak adlandırılırlar [34]. Bu belirteçler [35-37]:



- Morfolojik belirteçler
- Protein belirteçleri
- DNA temelli belirteçler olarak 3 grupta toplanır.

Bunlardan morfolojik belirteçler, Mendel'in temel çalışma prensiplerine dayanılarak yapılan bitki ve hayvan kalıtım deneylerinde kullanılan belirteçlerdir [38].

Protein belirteçleri de doku ve kan çalışmalarında kullanılırlar fakat sürekli taze örnek gerekliliği ve polimorfizm niteliğinin yetersizliğinden dolayı kullanımı azdır [39].

Son belirteç grubu olan DNA temelli belirteçler ise çağımızda en fazla tercih edilen belirteç olup, aynı türe ait farklı bireylerde dizi polimorfizminin gözlemlendiği DNA bölgeleri veya o bölge içerisindeki DNA parçacıklarıdır [40].

Kullanılan belirteçlerin sağladığı avantajlardan en önemlileri; fazla sayıda olmaları ve çevre koşullarına toleranslarının yüksek olmasıdır. Ayrıca diğer birçok yöntemle bakıldığında moleküler belirteçlerin maliyet bakımından daha düşük olması da bir diğer avantajdır [41].

Son yıllarda biyoloji alanında kullanılan bazı moleküler teknikler ise şunlardır;

- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) [42].
- Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) [43].
- Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD-PCR) [44].

Bilim adamları polimorfizmin belli bir nükleotid dizisine bağlı kalmadan tek bir primer kullanılarak ortaya konulacağını keşfetmişler ve bu yöntemle 'Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD-PCR)' ismini vermişlerdir [45].

RAPD-PCR tekniği, rastgele seçilmiş bir primer kullanılarak, çalışılacak gen dizisi hakkında daha önceden kazanılmış herhangi bir bilgiye ihtiyaç duyulmadan, bitki ve hayvan üzerindeki çalışmalarda kullanılmaktadır. Yöntemin yaygın kullanımının sebeplerinden bazıları [46];

- Nispeten uygulamasının kolay olması,
- Az miktarda ve orta kalitede DNA yeterliliği,
- Rastgele bir primer ile çalışması,
- Herhangi bir genomik bilgiye ihtiyaç duyulmaması,
- Otomasyona uyumlu olması,
- Düşük maliyetli olması.

RAPD-PCR'da kullanılan primer, genellikle 10 baz çifti (bç) uzunluğunda olup dekamer veya oligonükleotid olarak adlandırılmaktadır. Bu primerler, hem birincil (ön) hemde ikincil (ters) rolü üstlenmektedir. PCR yönteminde, bantlar belirli bir baz çifti aralığında olurken; RAPD-PCR'da ise belirsiz şekilde uzayabilir [47].

RAPD-PCR kullanım alanları [48];

- Tür teşhislerinde
- Zirai tohum genotiplerinin belirlenmesinde
- Evrimsel çalışmalarda
- Adli tıp vakalarında
- Kalıtsal ve yapısal birçok hastalığın teşhisinde
- Arkeoloji biliminde kullanılmaktadırlar.

Yapılan başka bir çalışmada, *A. cepa* kökü meristem hücrelerinde, Sunset Yellow (SY) ve Brilliant Blue (BB) gıda katkı maddelerinin toksisitesini değerlendirmek için RAPD-PCR kullanılmış ve çalışmanın sonucunda test edilen SY ve BB'nin sitotoksik ve mutajenik potansiyelde olup SY'nin, *A. cepa* kök hücrelerine BB'den daha zararlı olduğu RAPD-PCR ile tespit edilmiştir [13].

Mahaye ve ark. [8], NP'nin neden olduğu genotoksitenin mekanizmasını ortaya çıkarmak ve genotoksik etkiye sebep olan NP'leri belirlemek için komet testi ve PCR çalışmaları yapmışlardır. DNA veya/ve kromozom parçalanması veya DNA iplikçik

kırılmasının fiziko-kimyasal özelliklere (ebat, kaplama, yüzey kimyası gibi) ve kirleticilerin varlığına bağlı olduğunu göstermişlerdir.

Bununla birlikte, TiO<sub>2</sub> ve ZnO'nun *A. cepa* üzerindeki genotoksik etkileri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Bu çalışmada, TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerinin farklı konsantrasyonlardaki genotoksik etkileri farklı primerler üzerinde RAPD-PCR yöntemi kullanılarak ilk kez belirlenmiştir. Bu çalışmada *A. cepa* kök hücrelerinde NP'lerin neden olduğu genotoksik etkilerin araştırılması amaçlanmıştır.



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma, Yozgat Bozok Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

### 2.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Çalışmada Kullanılan Cihazın İsmi	Çalışmada Kullanılan Cihazın Markası
Vorteks	DragonLab
Etüv	Termal
Santrifüj	Eppendorf
Vibratör Parçalayıcı	Kontes
Otoklav	Nüve
Thermal Cycler	Infinigen
Thermal Shaker	Biosan
Elektroforez Tankı ve Güç Kaynağı	Thermo
Jel Görüntüleme Cihazı	Syngene
Nanodrop	ActGene

## 2.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeler

Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemelerin İsimleri	Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemelerin Markaları
Mikropipetler	Nichipet
Bitki İzolasyon Kiti	Qiagen Plant Kit
Eppendorf Tüpleri	Isolab
Mikropipet Uçları	Isolab
Cam Şişe	Isolab
Agaroz	Sigma Aldrich
Etidyum Bromür	Merck
50x TAE Tamponu	Thermo
6x DNA Yükleme Boyası	Thermo
Marker	Thermo (GeneRuler 10 bp Plus)
KCI	Thermo
MgCl <sub>2</sub>	Thermo
dNTP	Thermo
DMSO	Thermo
dH <sub>2</sub> O	Eau Bi-Distillee
Primerler	Macrogen
Taq Polimeraz	Thermo

Bu çalışmada 13 primer kullanılmış olup bu primerlerin dizilimi Tablo 2.1’de verilmiştir.

**Tablo 2.1.** RAPD-PCR’da kullanılan tüm primerlerin; primer dizilimleri, primer bağlanma sıcaklıkları ve G+C yüzdeleri.

Primer İsmi	Primer Dizilimi (5' → 3')	G+C Yüzdesi (%)	Primer Bağlanma Sıcaklığı (°C)
OpA 5	AGGGGTCTTG	60	32
<b>OpA 9</b>	<b>GGGTAACGCC</b>	<b>70</b>	<b>34</b>
<b>OpA 17</b>	<b>GACCGCTTGT</b>	<b>60</b>	<b>32</b>
OpA 20	GTTGCGATCC	60	32
OpB 2	TGATCCCTGG	60	32
<b>OpB 7</b>	<b>GGTGACGCAG</b>	<b>70</b>	<b>34</b>
OpB 9	TGGGGGACTC	70	34
OpB 14	TCCGCTCTGG	70	34
OpB 18	CCACAGCAGT	60	32
OpC 2	GTGAGGCGTC	70	34
OpC 4	CCGCATCTAC	60	32
OpC 5	GATGACCGCC	70	34
<b>OpC 20</b>	<b>ACTTCGCCAC</b>	<b>60</b>	<b>32</b>

### 2.3. Nanopartiküllerin Çözündürülmesi

Daha önce yapılan çalışmalara göre kullanılan NP’lerin dozları 10, 100 ve 1000 µg/ml olarak belirlenmiştir. Hazırlanan çözeltiler cam şişe içerisinde 25 °C’ye ayarlanmış ultrasonik cihazına yerleştirilmiştir. 20 kHz’de 16 dk ultrasonik cihazda tutulan çözeltiler oda sıcaklığında karakterize olması için 18 saat karanlık ortama bırakılmıştır [49].

### 2.4. Bitki Köklerinin Elde Edilmesi

Organik bir pazardan alınan soğanlar, laboratuvar ortamında optimize edilmiş şartlarda çimlendirilmiştir. 24 saat sonra soğanlar oda sıcaklığında (25 °C, 1 atm) farklı konsantrasyonlarda TiO<sub>2</sub> ve ZnO bulunan test tüplerinde 72 saat çimlenmeye

bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kontrol ve uygulama gruplarından deneysel çalışmalar için kökler elde edilmiştir.

## 2.5. DNA İzolasyonu

Kontrol ve uygulama gruplarından 72 saat sonunda elde edilen köklerden 0.1 gr örnekler alınmıştır. Kök uçları havan yardımıyla parçalanmıştır. DNA izolasyonu Qiagen Plant Kit prosedürüne göre yapılmıştır. Sonuç olarak 200 µl saf izolat elde edilmiş ve elde edilen izolat Nanodrop'ta ölçülmüştür. Ekstratlardaki DNA yoğunluğuna göre TAE tamponu kullanılarak DNA yoğunlukları 50 ng/µL'ye seyreltilmiştir [50].

## 2.6. RAPD-PCR ve Koşulları

DNA'nın rastgele seçilmiş herhangi bir bölgesini çoğaltmak için RAPD-PCR yöntemi kullanılmıştır. Bunun için önce RAPD-PCR karışımı hazırlanmış ve mini santrifüj tüplerine aynı miktarlarda aktarılmıştır. Üzerine DNA izolatları ilave edilmiş ve çoğaltma işlemine geçilmiştir [51].

RAPD-PCR karışımında; PCR tamponu (KCI) 2.5 µl, MgCl<sub>2</sub> 3 µl, dNTP 2 µl, DMSO 2 µl, Rastgele seçilmiş primerler (OpA 9, OpA 17, OpB 7, OpC 20) 1 µl, Taq Pol. 0.5 µl, İzolat (Template) 1 µl ve ddH<sub>2</sub>O 13.5 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. RAPD-PCR koşulları Tablo 2.2. de verilmiştir.

**Tablo 2.2.** RAPD-PCR koşullarını gösteren değerler

No	Aşamalar	Derece (°C)	Süre (dk-sn)	Döngü
1	Başlangıç Denatürasyonu	94	1 dk	1
2	Denatürasyon	94	30 sn	45
3	Primer Bağlanma Sıcaklığı	36	1 dk	45
4	Uzama	72	1 dk	45
5	Son Uzama	72	5 dk	1

**Denatürasyon:** DNA sarmalının birbirinden ayrılması için gerekli olan aşamadır.

**Primer Bağlanma Sıcaklığı:** Primerin tek zincirli DNA'ya bağlanması için gerekli olan aşamadır.

**Uzama:** DNA polimeraz enziminin tamamlayıcı DNA zincirini uzatması için gerekli olan aşamadır.

### **2.7. Elektroforez Tamponu ve Jel Hazırlanışı**

Elektroforez tankında jelde yürütme işlemi için, 50x TAE tamponu çözeltisinden 50 ml alınır, üzerine 2450 ml dH<sub>2</sub>O eklenip 1x'e seyreltilir ve pH 8'e ayarlanır. Oluşan karışım elektroforez tankına aktarılır.

Jel için, 1x TAE tamponundan 60 ml alınır ve üzerine 0.9 gr Agarose eklenir. Karışım mikrodalgada 360 W'da 1 dk ısıtılır. Kaynayıp homojen hale gelen jel içerisine 16 µl Etidiyum Bromür eklenir. Jel tablaya dökülür, kuyucuk oluşması için tarak takılır ve polimerleşmesi beklenir [51].

### **2.8. RAPD-PCR Ürünlerinin Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi**

Daha önceden hazırlanıp polimerleşen agaroz, jel tankı içerisine alınır. Parafilm veya steril bir lam üzerine yüklenecek örnek sayısı kadar 5'er µl DNA yükleme boyası eklenir. Yükleme işlemi için ilk kuyucuğa Marker yüklenir. Ardından PCR ürünlerinden 5'er µl alınıp boya ile karıştırılır ve kuyucuklara yüklenir. Yükleme bittikten sonra 100 W'da 60 dk yürütme işlemine geçilir. Yürütme sonucunda jel, Syngene Elektroforez jel görüntüleme cihazına yerleştirilir. UV ışık altında görüntüler elde edilir. Kaydedilen görüntülerin ışık ayarları ve bant analizleri için aynı cihazın Genetools programı kullanılır.

### **2.9. Elde Edilen RAPD Profillerinin Değerlendirilmesi**

Uygulama grupları ve kontrol grubu RAPD profilleri bantlarda kayıp olup olmamasına yeni bantların oluşumuna göre karşılaştırılarak puanlama yapılmıştır. Puanlama yapılırken RAPD profilindeki gözlenen farklılık (yeni oluşum bant ve bant kaybı) her bir bant için; varsa '1' yoksa '0' olarak değerlendirilmiştir. Genotoksik tesir, ayrıca genomik kalıp stabilite (GKS) yüzdeliği (%GTS: Genomic Template Stability) 100 – 100. (a/n) formülüne göre hesaplanarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubunun GKS yüzdesi 100 olarak kabul edilmiştir. 'n' değeri kontroldeki toplam bant sayısını, 'a' değeri ise muamele edilen her bir numunedeki belirlenmiş polimorfik bant sayısını ifade etmektedir [52].



### 3. BULGULAR

Bu çalışmada, TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerin farklı dozlarının, çimlendirilen soğan köklerinin meristematik hücre DNA'sına toksik etkilerini belirlemek için 13 adet 10 baz çiftlik oligonükleodit (primer) seçilmiş fakat bunlardan 4 tanesi için uygun sonuçlar elde edilmiştir. RAPD-PCR profiline göre bu 4 primerden toplam 140 bant elde edilmiştir. RAPD profilindeki tüm polimorfik bantların görünümü ise Şekil 3.1-3.4'te gösterilmiştir.

Kontrol grubunun, 4 ayrı primer için incelendiğinde moleküler ağırlığı 249 bç ile 2440 bç arasında değişen bantlara sahip olduğu görülmüştür. ZnO NP'ü uygulanan gruplarda bant ağırlıkları dört primerde de 300-1700 bç arasında değişiklik gösterirken; TiO<sub>2</sub> NP'ü uygulanan gruplarda bant ağırlıkları 200-2500 bç arasında değişiklik göstermiştir (Şekil 3.1-3.4).

Farklı primerlere göre elde edilen Genomik Kalıp Stabilite (GKS) değerleri açısından elde edilen sonuçlar incelendiğinde;

OpA 9 primerinde, kontrol grubuyla, 10 mg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grup kıyaslandığında GKS bakımından % 25; 100 µg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grupla kıyaslandığında % 37.5; 1000 µg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grupla kıyaslandığında % 50; 10 µg/ml ZnO uygulanan grup kıyaslandığında % 37.5; 100 µg/ml ZnO uygulanan grupla kıyaslandığında % 50; 1000 µg/ml ZnO uygulanan grupla kıyaslandığında % 62.5 oranında değişim olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.1).

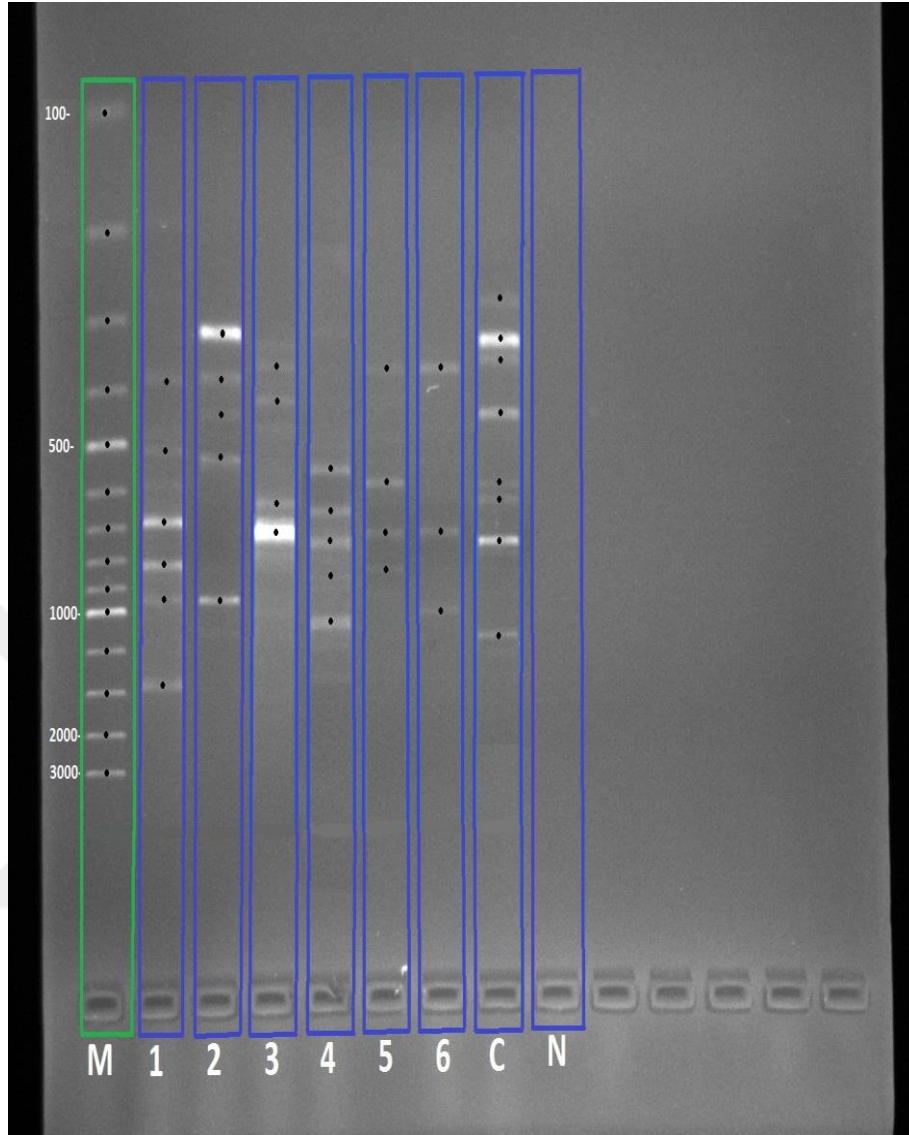
OpA 17 primerinde kontrol grubuyla 10 mg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grup kıyaslandığında GKS bakımından % 11.11; 100 µg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grupla kıyaslandığında % 33.33; 1000 µg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grupla kıyaslandığında % 55.55; 10 µg/ml ZnO uygulanan grup kıyaslandığında % 22.22; 100 µg/ml ZnO uygulanan grupla kıyaslandığında % 44.44; 1000 µg/ml ZnO uygulanan grupla kıyaslandığında % 66.66 oranında değişim olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.1).

OpB 7 primerinde kontrol grubuyla, 10 mg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grup kıyaslandığında GKS bakımından % 22.22; 100 µg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grupla kıyaslandığında %

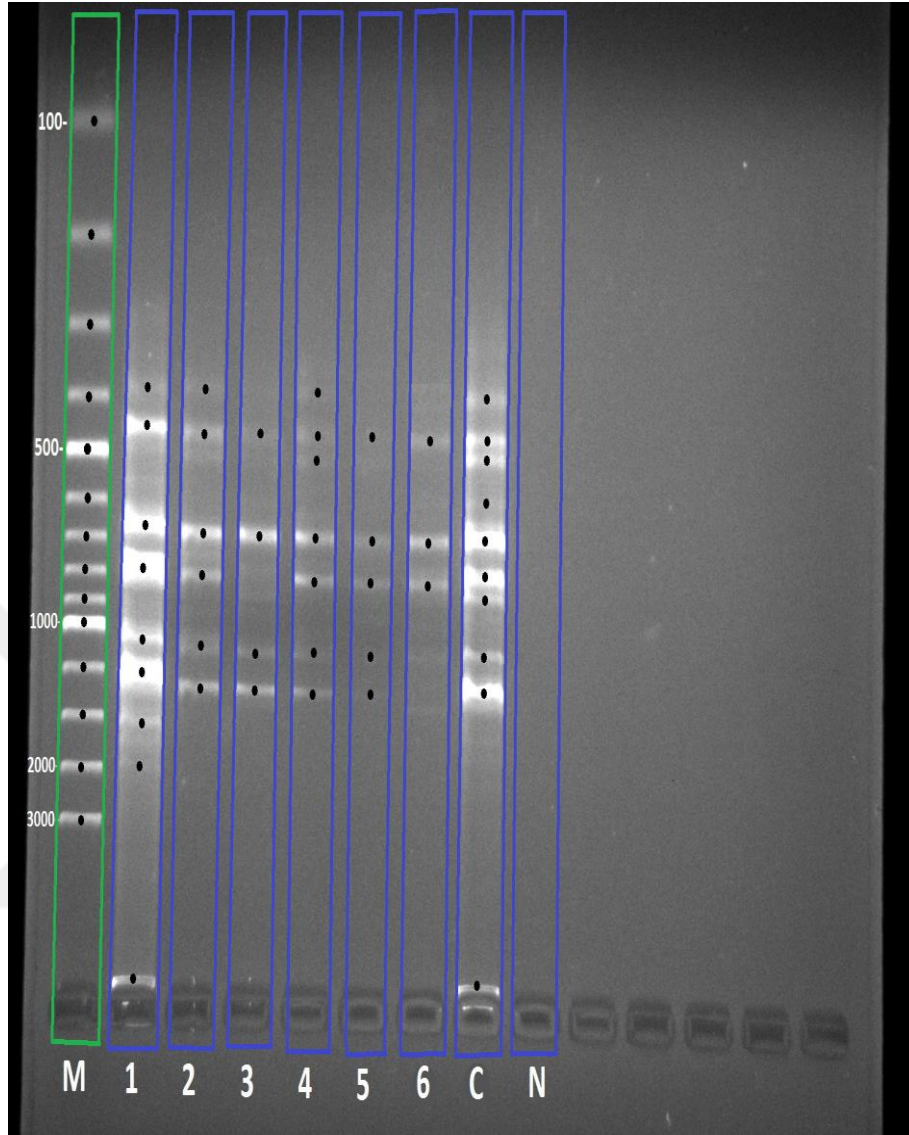
33.33; 1000 µg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grupla kıyaslandığında % 66.66; 10 µg/ml ZnO uygulanan grup kıyaslandığında % 33.33; 100 µg/ml ZnO uygulanan grupla kıyaslandığında % 33.33; 1000 µg/ml ZnO uygulanan grupla kıyaslandığında % 66.66 oranında değişim olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.1).

OpC 20 primerinde kontrol grubuyla 10 mg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grup kıyaslandığında GKS bakımından % 28.57; 100 µg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grupla kıyaslandığında % 42.85; 1000 µg/ml TiO<sub>2</sub> uygulanan grupla kıyaslandığında % 57.14; 10 µg/ml ZnO uygulanan grup kıyaslandığında % 42.85; 100 µg/ml ZnO uygulanan grupla kıyaslandığında % 57.14; 1000 µg/ml ZnO uygulanan grupla kıyaslandığında % 71.42 oranında değişim olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.1).

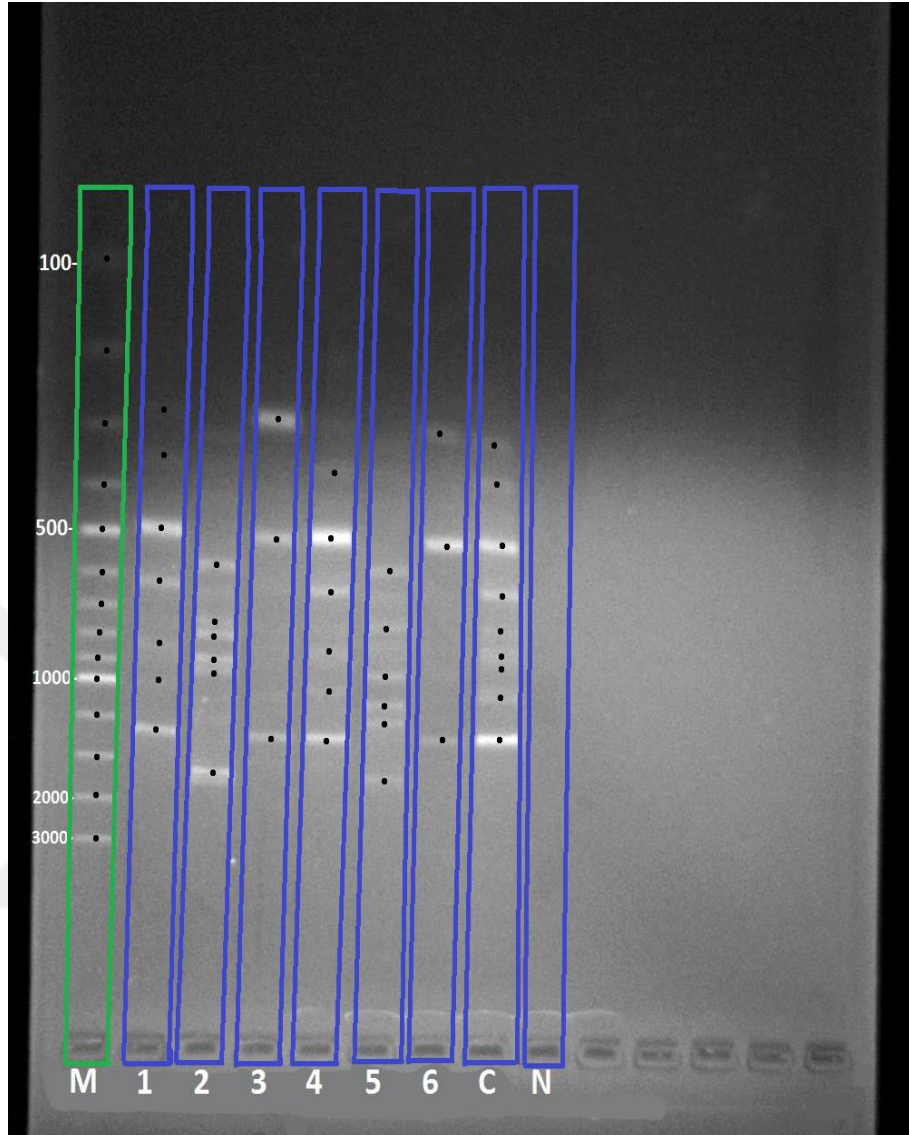
4 primerle uygulanan TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerin herbir uygulama konsantrasyonlarında farklı sayıda polimorfik bantlar elde edilmiştir. Bu polimorfizm kontrole göre çoğalan bantların yoğunluklarının artması, azalması, bantların yok olması ya da yeni bantların oluşması şeklinde olup Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Yeni bantların oluşumu en çok TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerin yüksek konsantrasyonlarından elde edilmiştir.



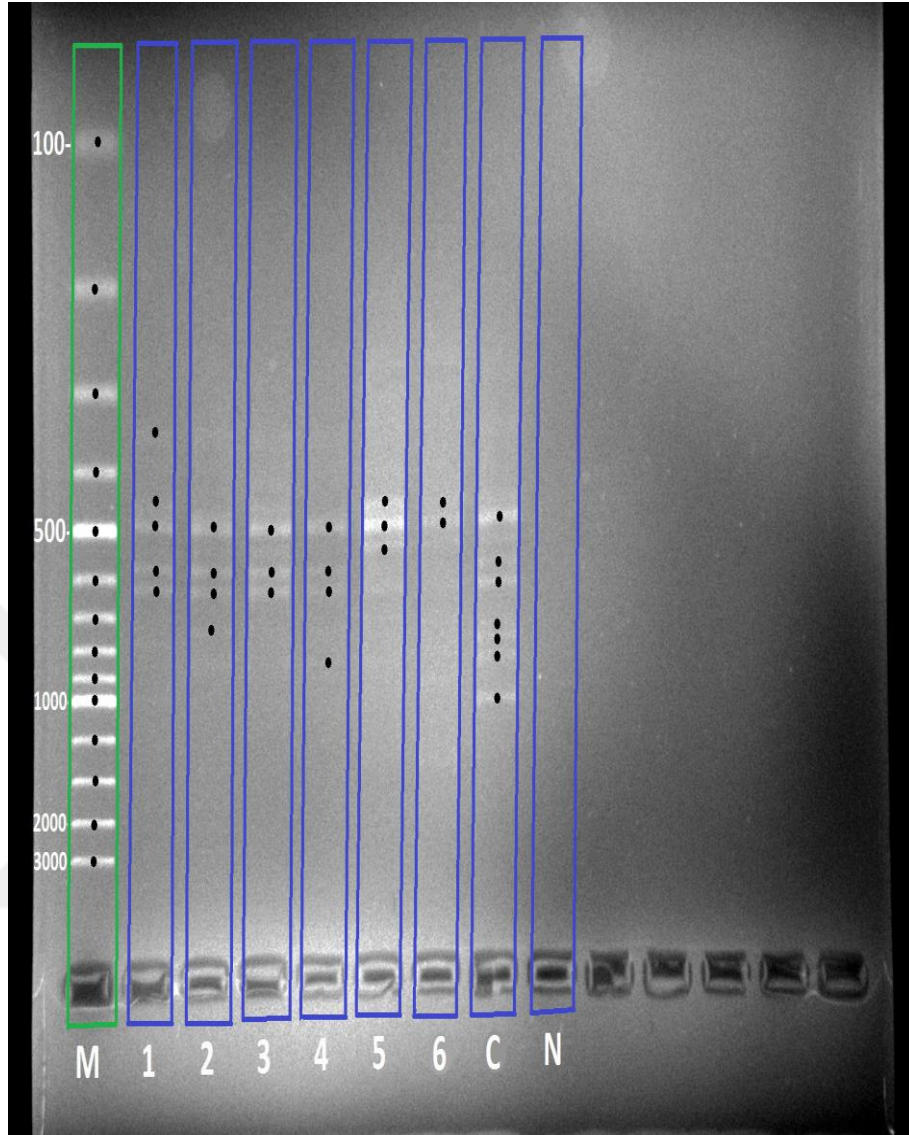
**Şekil 3.1.** OpA 9 primeri kullanılarak elde edilen RAPD-PCR profilleri. (1) TiO<sub>2</sub> 10 µg/ml, (2) TiO<sub>2</sub> 100 µg/ml, (3) TiO<sub>2</sub> 1000 µg/ml, (4) ZnO 10 µg/ml, (5) ZnO 100 µg/ml, (6) ZnO 1000 µg/ml, (M) Marker, (C) Kontrol Grubu, (N) Negatif Kontrol.



**Şekil 3.2.** OpA 17 primeri kullanılarak elde edilen RAPD-PCR profilleri. (1)  $\text{TiO}_2$  10  $\mu\text{g/ml}$ , (2)  $\text{TiO}_2$  100  $\mu\text{g/ml}$ , (3)  $\text{TiO}_2$  1000  $\mu\text{g/ml}$ , (4)  $\text{ZnO}$  10  $\mu\text{g/ml}$ , (5)  $\text{ZnO}$  100  $\mu\text{g/ml}$ , (6)  $\text{ZnO}$  1000  $\mu\text{g/ml}$ , (M) Marker, (C) Kontrol Grubu, (N) Negatif Kontrol.



**Şekil 3.3.** OpB 7 primeri kullanılarak elde edilen RAPD-PCR profilleri. (1) TiO<sub>2</sub> 10 µg/ml, (2) TiO<sub>2</sub> 100 µg/ml, (3) TiO<sub>2</sub> 1000 µg/ml, (4) ZnO 10 µg/ml, (5) ZnO 100 µg/ml, (6) ZnO 1000 µg/ml, (M) Marker, (C) Kontrol Grubu, (N) Negatif Kontrol.



**Şekil 3.4** OpC 20 primeri kullanılarak elde edilen RAPD-PCR profilleri. (1) TiO<sub>2</sub> 10 µg/ml, (2) TiO<sub>2</sub> 100 µg/ml, (3) TiO<sub>2</sub> 1000 µg/ml, (4) ZnO 10 µg/ml, (5) ZnO 100 µg/ml, (6) ZnO 1000 µg/ml, (M), Marker, (C) Kontrol Grubu, (N) Negatif Kontrol.

**Tablo 3.1** TiO<sub>2</sub> ve ZnO'ya maruz bırakılan *A. cepa* köklerinden elde edilen DNA ile uygulanan RAPD-PCR sonucu saptanan polimorfik bamlardan yararlanarak hesaplanan genomik kalıp stabilitesi (GKS) yüzde değeri

Primerler	Kontrol (%)	Kontrolden farklı olarak gözlenen polimorfik band yüzdeleri					
		TiO <sub>2</sub>			ZnO		
		10 µg/ml	100 µg/ml	1000 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml	1000 µg/ml
OpA 9	100	25	37.5	50	37.5	50	62.5
OPA 17	100	11.11	33.33	55.55	22.22	44.44	66.66
OpB 7	100	22.22	33.33	66.66	33.33	33.33	66.66
OpC 20	100	28.57	42.85	57.14	42.85	57.14	71.42

**Tablo 3.2.** TiO<sub>2</sub> ve ZnO'ya maruz bırakılan *A. cepa* köklerinden elde edilen DNA'nın her bir primere ait RAPD profillerinin kontroldeki band sayıları ve uygulama gruplarının kontrolle kıyaslanması sonucunda elde edilen polimorfik band sayıları

Primerler	Kontrol grubundaki toplam band sayıları	Kontrolden farklı olarak gözlenen polimorfik band sayısı					
		TiO <sub>2</sub>			ZnO		
		10 µg/ml	100 µg/ml	1000 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml	1000 µg/ml
OpA 9	8	2	3	4	3	4	5
OPA 17	9	1	3	5	2	4	6
OpB 7	9	2	4	6	3	3	6
OpC 20	7	2	3	4	3	4	5

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Nanoteknolojinin artan kullanımı, NP'lerin çevreye salınmalarını arttırmıştır. NP'lerin memeli ve insan hücre dizileri üzerindeki sitotoksitesi üzerine çalışmalar olmasına rağmen, bitki hücrelerindeki NP'lerin genotoksik ve sitotoksik etkileri üzerine çalışmalar oldukça azdır. Tüketici ürünlerinde TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerin artan kullanımı, çevreye yayılmasını da arttırmaktadır. TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerin çevresel etkileri de hızla genişleyen bir araştırma alanını oluşturmaktadır.

Kumari ve ark. [53], *A. cepa*'nın kök ucu hücrelerinde gümüş NP'lerin sitotoksik ve genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Gümüş NP'lerin bitki sistemine nüfuz edebileceğini ve kromatin köprüsüne, kromozom yapışkanlığına, metafaz rahatsızlığına, çoklu kromozomal kırılmalarına sebep olabileceğini göstermişlerdir. Mangalampalli ve ark. [54], *A. cepa*'yı MgO nano- ve mikroparçacıklarının artan konsantrasyonlarını (12.5, 25, 50 ve 100 µg/mL) toksikolojik etkisini değerlendirmek için kullanmışlardır. Toksikite, *A. cepa* kök ucu hücrelerinde komet testi ve oksidatif stres analizi yapılarak belirlenmiştir. Başka bir çalışmada, *A. cepa* kök hücreleri üzerinde krom (III) oksit (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparçacıklarının sitogenetik etkileri değerlendirilmiştir. *A. cepa* kök uçlarının çeşitli konsantrasyonlardaki Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'ye maruz kalması sonucunda genotoksik etki saptanmıştır [55]. Bu çalışmalar, NP'lerin çevresel riski değerlendirme çalışmaları için *A. cepa*'nın başarılı bir şekilde kullanılabilceğini göstermiştir.

Ağır metalle kirlenmiş toprakta yaşayan bitkilerin DNA'ya bağlı genotoksikite hasarını tespit etmek için, RAPD tekniği birçok çalışma için kullanılmıştır. Bir çalışmada, topraktaki kadmiyum'a (Cd) maruz kalan arpa fidanlarında moleküler açıdan ve populasyon düzeylerinde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır. RAPD analizlerinde, % 60-70 GC içeriğine sahip dokuz adet 10-bç RAPD primeri kullanılarak polimorfik bant desenleri oluşturduğu ve 144–2639'luk bç toplam 129 RAPD fragmanı ürettiği ve eksik bantların oluştuğu tespit edilmiştir. RAPD tarafından saptanan DNA polimorfizmleri, bitkilerde Cd stresinin genotoksik etkilerinin saptanması için uygun bir biyolojik belirteç olarak uygulanabileceği ortaya konulmuştur [56]. Başka bir çalışmada Cenkeci ve ark. [57], iki herbisidin [2,4-



diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) ve 3,6-dikloro-2-metoksibenzoik asit] fasulye köklerinde genotoksik potansiyelini değerlendirmişlerdir. 96 saatlik büyüme süresinin sonunda, kök büyümesi, toplam çözünebilir protein içeriği, hücrelerde DNA hasarı ve RAPD kullanılmıştır. Komet değerleri ve DNA fragmantasyonu doza bağımlı olarak artmıştır. Görünen ve/veya kaybolan RAPD bantlarının, doza bağımlı olarak DNA polimorfizmini oluşturduğu tespit edilmiştir.

Ghodake ve ark. [58], yaptıkları bir çalışmada, *A. cepa* köklerinde kobalt ve ZnO NP'lerinin fitotoksitesini araştırmışlardır. Kobalt ve ZnO NP'lerinin *A. cepa*'nın hidroponik (suya koyup çimlendirme) kültüründe, bitkinin kök uzaması, kök ve hücre morfolojisi üzerindeki etkileri ve bu partiküllerin adsorpsiyon potansiyeli belirlenmiştir. ZnO NP'lerin hem hücresel hem de kromozomal yapılarda ciddi birikimi yüzünden hasarlara neden olduğu gösterilmiştir [58]. Başka bir çalışmada ise *A. cepa*'nın kök hücreleri üzerindeki ZnO NP'lerin mitotik indeks (MI), mikronükleus indeksi (MNI), kromozomal sapma indeksi (CSI) ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri ortaya konulmuştur. Sonuç olarak, ZnO NP'lerinin genotoksik ve sitotoksik ajan olabileceği gösterilmiştir [59]. Bu çalışmada, *A. cepa* kök hücrelerinin DNA'sı üzerine artan dozlarda TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'leri kullanılmış, belirlenen dozlar DNA bant profillerinde önemli değişimlere neden olmuştur. En fazla etkinin olduğu doz 1000 µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada, bitkilerde ve insan lenfositlerinde TiO<sub>2</sub> NP'lerine maruz kalmanın etkileri araştırılmıştır. TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının genotoksitesini, komet analizi ve DNA Laddering (izolasyon) tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. *A. cepa* ve *Nicotiana tabacum*'daki TiO<sub>2</sub> NP'lerinin bitki DNA'sına zarar verici potansiyeli, komet analizinde ve DNA laddering deneylerinde doğrulanmıştır. Yapılan çalışmada, hem bitkilerde hem de insan lenfositlerinde TiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının genotoksik olduğu gösterilmiştir [60]. Bu çalışmada, TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerine maruz kalmış kök hücrelerinin kontrol ve uygulama grupları arasındaki genetik farklılıklar RAPD-PCR ile tespit edilmiş olup bantların moleküler ağırlıkları ve bant sayıları açısından farklılıkları ortaya konulmuştur.

Liu et al. [56], DNA'da meydana gelen değişiklikleri tespit edebilmek için RAPD tekniğinin klasik genotoksik testlerden daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında arpa (*Hordeum*) bitkisini, 10 gün boyunca, 10, 20, 40 mg/L dozlarında kadmiyum klorür'e (CdCl<sub>2</sub>) maruz bırakmışlardır. Benzer şekilde Cenkci ve ark. [57], dicamba ve fasülye üzerindeki 2,4-D'nin genotoksik etkilerini değerlendirmek için 15 dekamer primeri kullanmış ve primer başına ortalama 8.46 bant elde etmiş ve Al-Qurainy [61], ağır metallerin genotoksik etkilerini incelemek için 16 dekamer primeri kullanmıştır. *Eruca sativa*'da primer başına ortalama 4 bant elde etmiştir. Sonuçlarımız, daha önceki çalışmalarla benzer olup ekotoksikolojik araştırmalar için yaygın olarak kullanılan RAPD-PCR yöntemi, güvenilirliği, hassasiyeti ve tekrarlanabilirliği ve mutasyonlardan kaynaklanan DNA değişikliklerini tanımlama potansiyeline sahip olmasından dolayı bu çalışma için kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerin uygulama dozlarının kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, DNA üzerinde hasarlar ürettiği, RAPD profillerindeki belirgin değişiklikler, normal bantların kaybolması ve yeni bantların ortaya çıkmasıyla ortaya konulmuştur.

Bu çalışmadan elde edilen DNA profillerindeki farklılıklar, oligonükleotid sentez bölgelerindeki değişikliklerden, farklı kromozomal düzenlemelerden, nokta mutasyonlarından, DNA tek ve çift iplik kopmalarından, primer bağlanma bölgelerindeki DNA-protein yanlış çapraz bağlarından, modifiye edilmiş bazlardan veya büyük delesyonlardan dolayı oluşabilmektedir [62-64]. Daha önceki çalışmalara göre, bu çalışmada da TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerin moleküler etki mekanizması, özellikle DNA tek ve çift iplikçik kırılmalarına ve kromozomal anomalilerine, bunun sonucunda dokuda apoptoz veya nekroz oluşumuna, oksijen radikallerinin artışına veya ara reaktif maddelerinin oluşumuna ve bunların sonucunda DNA yapısında genotoksik hasara neden olabilmektedir.

Bu çalışmada kullanılan TiO<sub>2</sub> ve ZnO NP'lerin *A. cepa* kök uçlarında RAPD-PCR profillerinde meydana gelen değişiklikler, kontrol grubuna kıyasla bant yoğunluğunda varyasyon, normal bantların kaybı ve yeni bantların ortaya çıkmasını içermektedir. Buna ek olarak, değişikliklerin etkisinin kullanılan NP'lere ve doza bağlı olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, genomik şablon yapısı (RAPD

profillerindeki değişiklikleri yansıtan niteliksel bir ölçümü), en yüksek doza sahip NP'lerden önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir. Bu nedenle, RAPD analizi ile tespit edilen DNA polimorfizmleri, çevre toksikolojisi için bir araştırma aracı olarak ve bitkiler üzerindeki NP'lerin genotoksik etkilerinin saptanması için yararlı bir biyolojik belirteç olarak kullanılabilceğini göstermektedir.



## KAYNAKLAR

1. Buzea, C., et al., Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity, *Biointerphases*, 2 (4), 17-71, 2007.4
2. Chruszczyk, A., et al., The Intrinsic Structural Asymmetry of Highly Curved Phospholipid Bilayer Membranes, *Biochimica et Biophysica Acta*, 470 (2), 161-169, 1977.
3. Beese, L., et al., Microtubule Structure at 18Å Resolution, *Journal of Molecular Biology*, 194, 257-262, 1987.
4. Claude, A., Fullam, E.F., An Electron Microscope Study of Isolated Mitochondria, *Journal of Experimental Medicine*, 81(1), 51-62, 1945.
5. Moore, P.B., The Ribosome at Atomic Resolution, *Biochemistry*, 40, 3243–3250, 2001.
6. Chaudhry, Q., et al., Applications and implications of nanotechnologies for the food sector, *Food Additives and Contaminants*, 25, 241–258, 2008.
7. Suri, S.S., et al., Nanotechnology-based drug delivery systems, *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 2, 16, 2007.
8. Arruda, S.C.C., et al., Nanoparticles applied to plant science: A review, *Talanta*, 131, 693-705, 2015.
9. Natura, N.C., et al., *Thin Solid Films*, 322, 6, 1998.
10. Jacoby, W.A., et al., Mineralization of Bacterial Cell Mass on a Photocatalytic Surface in Air, *Environmental Science Technology*, 32, 2650-2653, 1998.
11. Xuanyong, L., et al., Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications, *Materials Science and Engineering*, 47, 49–121, 2004.

12. Jukapli, N.M., Bagheri, S., Recent developments on titania nanoparticle as photocatalytic cancer cells treatment, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 163, 421-430, 2016.
13. Jo, D.H., et al., Anti-angiogenic effect of bare titanium dioxide nanoparticles on pathologic neovascularization without unbearable toxicity, *Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine*, 10 (5), 1109-1117, 2014.
14. Chaudhry, Q., et al., Applications and implications of nanotechnologies for the food sector, *Food Additives and Contaminants*, 25, 241–258, 2008.
15. Zhu, B.L., et al., Investigation of gas sensitivity of Sb-doped ZnO nanoparticles, *Materials Chemistry and Physics* 89 (1), 148–153, 2005.
16. Stefanidou, M., et al., Zinc: C. A multipurpose trace element, *Archives of Toxicology*, 80, 1–9, 2006.
17. Suarez, D.F., et al, Efficient antibacterial anosponges based on ZnO nanoparticles and doxycycline, *Journal of photochemistry and photobiology*, 177, 85-94, 2017.
18. Das, S., et al., A new insight into the interaction of ZnO with calf thymus DNA through surface defects, *Journal of photochemistry and photobiology*, 178, 339-347, 2018.
19. Hsiao, I.L., Huang, Y.J., Effects of various physicochemical characteristics on the toxicities of ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles toward human lung epithelial cells, *Science of the Total Environment*, 409 (7), 1219-1228, 2011.
20. Li, M., et al., Effects of water chemistry on the dissolution of ZnO nanoparticles and their toxicity to *Escherichia coli*, *Environmental Pollution*, 173, 97-102, 2013.
21. Ching, A.M., et al., Metal oxide nanoparticles with low toxicity, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 151, 17-24, 2015.
22. Anand, K., et al., Phytonanotherapy for management of diabetes using green synthesis nanoparticles, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 173, 626-639, 2017.

23. Thurn, K.T., et al., Endocytosis of titanium dioxide nanoparticles in prostate cancer PC-3M cells, *Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine*, 7 (2), 123-130, 2011.
24. Sellami, B., et al., Toxicity assessment of ZnO-decorated Au nanoparticles in the Mediterranean clam *Ruditapes decussatus*, *Aquatic Toxicology*, 188, 10-19, 2017.
25. Hou, J., et al., Toxic effects of different types of zinc oxide nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms, *Chemosphere*, 193, 852-860, 2018.
26. Öncüer, C., Tarımsal zararlılarla savaş yöntemi ve ilaçları, Adnan menderes üniversitesi Yayınları, 13, Aydın.
27. da Rocha, C.A.M., et al., Studies of Micronuclei and other Nuclear Abnormalities in Red Blood Cells of *Colossoma Macropomum* Exposed to Methylmercury, *Genetics and Molecular Biology*, 34 (4), 694–697, 2011.
28. Salama, S., et al., Biomonitoring Using Accessible Human Cells for Exposure and Health Risk Assessment, *Mutation Research*, 436, 99–112, 1999.
29. Fiskeşjö, G., The *Allium* test as standart in enviromental monitoring, *Hereditas*, 102, 99-112, 1985.
30. Saxena, P.N., et al., Cytogenetic Effects of Commercial Formulation of Cypermethrin in Root Meristem Cells of *Allium sativum*: Spectroscopic Basis of Chromosome Damage, *Toxicology*, 216 (2–3), 244–252, 2005.
31. Nantes, C.I., et al., Evaluation of the Antimutagenic Activity and Mode of Action of Carrageenan Fiber in Cultured Meristematic Cells of *Allium cepa* Culture, *Genetics and Molecular Research*, 13 (4), 4808–4819, 2014.
32. El-Ghamery, A.A., Mousa, M.A., Investigation on the effect of benzyladenine on the germination, radicle growth and meristematic cells of *Nigella sativa* L. and *Allium cepa* L., *Annals of Agricultural Sciences*, 62, 11-21, 2017.
33. Silveira, G.L., et al., Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L., *Chemosphere*, 2178, 359-367, 2017.

34. Tepe, S., et al., Obtaining poliploid mint (*Mentha longifolia* L.) plants with in vitro colchicine treatment, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15 (2), 63-69, 2002.
35. Charnley, B., Radick, G., Intellectual property, plant breeding and the making of Mendelian genetics, *Studies in History and Philosophy of Science Part A*, 44 (2), 222-233, 2013.
36. Lee, J., et al., Brief History and Perspectives on Plant Breeding. In *Current Technologies in Plant Molecular Breeding* (pp. 1-14), Springer Netherlands, 2015.
37. Martinez-Gomez, P., Comparison of the use of morphological, protein and DNA markers in the genetic characterization of Iranian wild *Prunus* species, *Scientia Horticulturae*, 116 (1), 80-88, 2008.
38. Ge, Y., et al., Genetic linkage map of *Cucurbita maxima* with molecular and morphological markers, *Genetics and Molecular Research*, 14 (2), 5480-5484, 2015.
39. Kurar, E., Comparative physical and linkage mapping of bovine chromosome 24 with human chromosome 18. *Doktora Tezi (PhD Thesis)*. University of WisconsinMadison, Wisconsin, 2001.
40. Joshi, S.P., et al., Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus, *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 1311-1320, 2000.
41. Foolad, M.R., Sharma, A., Molecular markers as selection tools in tomato breeding. *ACTA Scientiarum Polonorum Horticulture* ,12 (1), 3-11, 2013.
42. Saiki, RK., et al., Primer-directed enzymatic amplication of DNA with a thermostable DNA polymerase, *Science*, 239, 487-491, 1988.
43. Tanksley, S.D., et al., RFLP mapping in Plant breeding new tools for and old science, *Biotechnoloo*, 7, 257-264, 1989.
44. Welsh, J., Mc Clelland, M., Fingerprinting genomes using PCR with arbitrarily primers, *Nucleic Acids Research*. 18, 7213-7218, 1990.

45. Williams, J.G.K., et al., DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful genetic markers, *Nucl. Acids. Res*, 18, 6531-6535, 1990.
46. Taskın, B.G., et al., Seasonal dynamics of insecticide resistance, multiple resistance, and morphometric variation in field populations of *Culex pipiens*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 129, 14-27, 2016.
47. Filiz, E., Ko., İ., Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markerler. GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi, 28 (2), 207-214, 2011.
48. Temizkan, G., Arda, N., Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Nobel Tıp Kitabevi, 3. Baskı, 2008.
49. Demir, E., et al., Genotoxic effects of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles on root meristem cells of *Allium cepa* by comet assay, *Turkish Journal of Biology*, 38, 31-39, 2014.
50. Rehman, A., et al., Proteomic analysis of the promotive effect of plant-derived smoke on plant growth of chickpea, *Journal of Proteomics*, 176, 56-70, 2018.
51. Manna, I., Bandyopadhyay, M., Engineered nickel oxide nanoparticles affect genome stability in *Allium cepa* (L.), *Plant Physiology and Biochemistry*, 121, 206-125, 2017.
52. Atienzar, F.A., et al., Qualitative assesment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: Comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo[a]pyrene, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (10), 2275–2282, 1999.
53. Kumari, M., et al., Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*, *Science of The Total Environment*, 407 (19), 5243-5246, 2009.
54. Magalampalli, B., et al., *Allium cepa* root tip assay in assessment of toxicity of magnesium oxide nanoparticles and microparticles, *Journal of Environmental Sciences*, 66, 125-137, 2017.



55. Kumar, D., et al., Cytogenetic studies of chromium (III) oxide nanoparticles on *Allium cepa* root tip cells, *Journal of Environmental Sciences*, 38, 150-157, 2015.
56. Liu, W, et al., Risk assessment of cadmium-contaminated soil on plant DNA damage using RAPD and physiological indices, *Journal of Hazardous Materials*, 161, 878-883, 2009.
57. Cenkci, S., et al., Evaluation of 2,4-D and Dicamba genotoxicity in bean seedlings using comet and RAPD assays, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73 (7), 1558-1564, 2010a.
58. Ghodake, G., et al., Hazardous phytotoxic nature of cobalt and zinc oxide nanoparticles assessed using *Allium cepa*, *Journal of Hazardous Materials*, 186 (1), 952-955, 2011.
59. Kumari, M., et al., Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*, *Journal of Hazardous Materials*, 190, 613-621, 2011.
60. Ghosh, M, et al., Genotoxicity of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles at two trophic levels: Plant and human lymphocytes, *Chemosphere*, 81 (10), 1253-1262, 2010.
61. Al-Qurainy, F., Application of inter simple sequence repeat (ISSR marker) to detect genotoxic effect of heavy metals on *Eruca sativa* (L.), *African Journal of Biotechnology*, 9, 4, 2010.
62. Liu, W, et al., DNA changes in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings induced by cadmium pollution using RAPD analysis, *Chemosphere*, 61 (2), 158-167, 2001.
63. Cenkci, S., et al., Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L., *Environmental and Experimental Botany*, 67 (3), 467-473, 2010b.
64. Gupta, M., et al., Differential response of arsenic stress in two varieties of *Brassica juncea* L., *Chemosphere*, 74 (9), 1201-1208, 2009.

## ÖZGEÇMİŞ

1. **Adı Soyadı:** Fatih Oğuz BEKDEMİR
2. **Doğum Tarihi:** 28 Ağustos 1993
3. **Ünvanı:** Biyolog
4. **Öğrenim Durumu:**

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Bozok Üniversitesi	2016
Y. Lisans	Biyoloji	Yozgat Bozok Üniversitesi	

### 5. Yayınlar

#### 5.1. Uluslararası diğer hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

1. Pandır D. **Bekdemir F.O**, Doğanığit Z, Per S. 2017. Protective effects of Sodium Selenite and Vitamin E on LPS induced endotoxemia of rats. ARC Journal of Nutrition and Growth (AJNG). 3(2), 19-25, 2017.
2. Pandır D. **Bekdemir FO**, Demirbağ A. 2018. Protective role of sodium selenite on the toxic effect of lead nitrate on human erythrocytes. ARC Journal of Nutrition and Growth (AJNG). 4(1), 23-28.

#### 5.2. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

1. **Bekdemir FO**, Demirbağ A, Per S, Pandır D. Determination of benzoic acid-induced molecular toxicity with PCR-RAPD technique. International DNA Day and Genome Congress (IDDGC). 24-28 April 2017, Kırşehir.
2. **Bekdemir FO**, Demirbağ A, Per S, Pandır D. Mercury chloride-induced DNA damage in blood cells evaluated by the single-cell electrophoresis (SCGE) assay. International DNA Day and Genome Congress (IDDGC). 24-28 April 2017, Kırşehir.
3. **Bekdemir FO**, Pandır D. Usage random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprint in ecotoxicologic study on *Allium cepa*. International Symposium Ecology. 11-13 May 2017, Kayseri.

4. **Bekdemir FO**, Pandır D. Effect of carcinogen food contaminant with comet assay in rats' blood. International Symposium Ecology. 11-13 May 2017, Kayseri.
5. Per S, **Bekdemir FO**, Hilooğlu M, Pandır D. Toxicity effect of furan on the morphology of human erythrocytes. International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2017). 05-08 July 2017, Belarus.
6. Demirbağ A, Doğanyığıt Z, **Bekdemir FO**, İlçe Z, Koç K, İlçe F, Pandır D, Per S. Usage random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprint in liver tissue on male rats. 1<sup>st</sup> International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018). 26-27 April 2018 Ankara.
7. Demirbağ A, Doğanyığıt Z, **Bekdemir FO**, İlçe Z, Koç K, İlçe F, Pandır D, Per S. Endotoxemia Induced DNA Damage in Rat Lung. 1<sup>st</sup> International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018). 26-27 April 2018 Ankara.
8. Demirbağ A, Koç K, İlçe F, **Bekdemir FO**, İlçe Z, Pandır D. Evaluate the toxicity of mercury chloride on human erythrocytes form *in vitro*. 1<sup>st</sup> International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018). 26-27 April 2018 Ankara.
9. **Bekdemir FO**, Pandır D. Determination toxicity of Titanium diokside with FRAP and TEAC in A. Ceba. 1<sup>st</sup> International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018). 26-27 April 2018 Ankara.
10. **Bekdemir FO**, Pandır D. Assesment of Zinc oxide nanoparticles on DNA damage. 1<sup>st</sup> International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018). 26-27 April 2018 Ankara.
11. Demirbağ A, **Bekdemir FO**, İlçe Z, Koç K, İlçe F, Pandır D. Determination of effect of Ultraviolet (UV) radiation using spectrophotometer in human blood. 9<sup>th</sup> Ecology Symposiums 2018, 19-23 June, 2018 Kastamonu.
12. Demirbağ A, Per S, **Bekdemir FO**, İlçe Z, Koç K, İlçe F, Pandır D, Doğanyığıt Z. Effect of lipopolysaccharide on antioxidant capacity of rat brain. 9<sup>th</sup> Ecology Symposiums 2018, 19-23 June, 2018 Kastamonu.

13. Demirbağ A, İlçe Z, **Bekdemir FO**, Koç K, İlçe F, Per S, Pandır D, Doğanyığıt Z. Determination toxicity of lipopolysaccharide with antioxidant capacity in rat pancreas. 9<sup>th</sup> Ecology Symposiums 2018, 19-23 June, 2018 Kastamonu.

14. Demirbağ A, **Bekdemir FO**, İlçe F, Koç K, İlçe Z, Pandır D. Determination toxicity of lead nitrate with antioxidant capacity in *A. cepa*. 9<sup>th</sup> Ecology Symposiums, 19-23 June, 2018 Kastamonu.

15. Demirbağ A, **Bekdemir FO**, İlçe F, Koç K, İlçe Z, Pandır D. Protective effect of sodium selenite against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in *A. cepa*. 9<sup>th</sup> Ecology Symposiums, 19-23 June, 2018 Kastamonu.

## 6. Projeler

1. Ratlarda LPS'nin sebep olduğu endotoksemi üzerine sodyum selenit ve Vitamin E'nin koruyucu rolü. Bozok Üniversitesi BAP Projesi, 6602b-FEF/17-69, Proje Araştırmacısı (14.911,75 TL).

2. Kurşun nitrat'ın insan eritositleri üzerine toksik etkisine sodyum selenit'in koruyucu rolünün istatistiksel olarak incelenmesi. Bozok Üniversitesi BAP Projesi, 6602b-FEF/17-73, Proje Araştırmacısı (14.993,00 TL)

3. Titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) ve Çinko oksit (ZnO) Nanopartiküllerinin *Allium cepa* L. Kök Ucu Meristem Hücreleri Üzerine Toksik Etkileri. Bozok Üniversitesi BAP Projesi (Yüksek Lisans Projesi), 6602b-FEF/18-180, Proje Araştırmacısı (7.995,00 TL)