

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BENZİL BENZOAT TOKSİSİTESİNİN *İN VİVO*
KOŞULLARDA ANATOMİK, FİZYOLOJİK, SİTOGENETİK
VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERLE ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Ali ACAR

Enstitü Anabilim Dalı : Biyoloji

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Zafer TÜRKMEN

Haziran 2018

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BENZİL BENZOAT TOKSİSİTESİNİN *IN VIVO*
KOŞULLARDA ANATOMİK, FİZYOLOJİK, SİTOGENETİK
VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERLE ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Ali ACAR

Enstitü Anabilim Dalı

:

Biyoloji

Bu tez 20/06/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.



Doç. Dr.
Aykut SAĞLAM
Jüri Başkanı



Doç. Dr.
Zafer TÜRKMEN
Üye



Doç. Dr.
Göktuğ DALGIÇ
Üye



Doç. Dr.
Bahar BİLGİN SÖKMEN
Üye



Doç. Dr.
Kültiğın ÇAVUŞOĞLU
Üye

Doç. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Ali ACAR
20/06/2018

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında her zaman yanımda olan, yardımlarını ve desteklerini benden esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Zafer TÜRKMEN'e, tez çalışmamın her aşamasında bilimsel destek sağlayan değerli hocalarım Doç. Dr. Kültięin AVUŐOęLU ve Doç. Dr. Emine YALÇIN'a, ayrıca hayatımın her aşamasında beni yreklendiren, öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme teŐekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmama proje kapsamında maddi destek sağlayan Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: FEN-BAP-C-200515-14) teŐekkürü ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
TABLolar LİSTESİ	VI
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Benzil Benzoat	3
2.1.1. Benzil Benzoat Kullanım Alanları	4
2.1.1.1. Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanımı	4
2.1.1.2. Kozmetik Sektöründe Kullanımı	5
2.1.1.3. İnsektisit ve Akarisit Olarak Kullanımı	6
2.1.1.4. Sağlık Alanında Kullanımı	6
2.1.2. Benzil Benzoat Toksikokinetiği	8
2.1.3. Benzil Benzoat Toksisitesi	8
2.2. Bitki Test Sistemleri	9
2.2.1. Sitotoksisite İndikatör Testleri	9
2.2.1.1. <i>Allium cepa</i> Testi	9
2.2.1.2. Mikronükleus (MN) Testi	11
2.2.1.3. Mitotik İndeks (MI) Tayini	14
2.2.1.4. Kromozom Anormallikleri Tayini	15
2.2.2. Bitkilerde Antioksidan Sistem ve Oksidatif Hasar Testleri	17

2.2.2.1. Malondialdehit (MDA) Testi	17
2.2.2.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi Testi	18
2.2.2.3. Katalaz (CAT) Enzimi Testi	19
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Araştırma Materyali ve Uygulama Gruplarının Hazırlanması	22
3.2. Fizyolojik Parametrelerin Ölçümü	22
3.3. Kromozomal Anormallikler, Mikronükleus (MN) Testi ve Mitotik İndeks (MI) Tayini	23
3.4. Anatomik İnceleme	23
3.5. Biyokimyasal Analizler	23
3.5.1. Lipid Peroksidasyon Tayini	23
3.5.2. Antioksidan Enzim Analizi	24
3.5.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini	24
3.5.2.2. Katalaz (CAT) Tayini	25
3.6. İstatistiksel Analiz	25
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI	26
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

BN	: Binükleuslu hücre
CAT	: Katalaz
CM	: C-mitoz
FRG	: Fragment
KED	: Kromatinin eşit olmayan dağılımı
KK	: Kromozom köprüsü
MDA	: Malondialdehit
MI	: Mitotik indeks
MN	: Mikronükleus
NPB	: Nükleoplazmik köprü
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
T.A.	: Taze ağırlık
YK	: Yapışkan kromozom

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Benzil benzoat'ın a: 2 boyutlu ve b: 3 boyutlu kimyasal yapısı	4
Şekil 2.2. Ökaryotik hücrelerde polinükleer durumlar ve MN oluşumları	13
Şekil 2.3. SOD tarafından katalizlenen reaksiyon	19
Şekil 2.4. CAT tarafından katalizlenen reaksiyon	20
Şekil 4.1. Benzil benzoat tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar	30
Şekil 4.2. <i>A. cepa</i> kök ucu meristematik hücrelerinde Benzil benzoat uygulamasının neden olduğu anatomik değişimler	32
Şekil 4.3. Kontrol grubu kök ucu meristematik hücrelerinin görünümleri	33

TABLolar LİSTESİ

Tablo 4.1. Benzil benzoat'ın çimlenme üzerine etkisi	26
Tablo 4.2. Benzil benzoat'ın kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi	27
Tablo 4.3. Benzil benzoat'ın ağırlık artışı (g) üzerine etkisi	27
Tablo 4.4. Benzil benzoat'ın kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği mikronükleus (MN) sıklığı	28
Tablo 4.5. Benzil benzoat'ın sebep olduğu kromozomal hasarlar	29
Tablo 4.6. Benzil benzoat'ın Mitotik İndeks (MI) üzerine etkisi	31
Tablo 4.7. Benzil benzoat'ın kök ucu hücrelerinde Malondialdehit (MDA) [$\mu\text{mol g}^{-1}$ T.A.] düzeyleri üzerine etkisi	34
Tablo 4.8. Benzil benzoat'ın kök ucu hücrelerinde Süperoksit Dismutaz (SOD) [U/mg T.A.] düzeyleri üzerine etkisi	34
Tablo 4.9. Benzil benzoat'ın kök ucu hücrelerinde Katalaz (CAT) [$\text{OD}_{240\text{nm}}/\text{dk. g}$ T.A.] düzeyleri üzerine etkisi	35

BENZİL BENZOAT TOKSİSİTESİNİN *İN VİVO* KOŞULLARDA ANATOMİK, FİZYOLOJİK, SİTOGENETİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERLE ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada, gıda, kozmetik, tarım ve ilaç sektörlerinde geniş kullanım alanına sahip olan Benzil benzoat'ın toksik etkileri *Allium cepa* L. test materyali kullanılarak araştırılmıştır. Toksisitenin belirlenmesinde fizyolojik parametreler; kök uzunluğu, ağırlık artışı ve çimlenme yüzdesinin belirlenmesi ile, sitogenetik değişimler; kromozomal anormalliklerin oluşumu, mikronükleus (MN) sıklığı ve mitotik indeks oranının (MI)'in belirlenmesi ile, anatomik değişimler; kök ucu hücrelerinde meydana gelen anatomik değişimlerin belirlenmesi ile, biyokimyasal değişimler; lipid peroksidasyon tayini ve antioksidan enzim analizi ile tespit edilerek, elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bulblar bir (1) kontrol ve üç (3) uygulama grubu olmak üzere toplam dört (4) gruba ayrılmış, kontrol grubu bulblarına çeşme suyu, uygulama gruplarındaki bulblara ise 10.000, 25.000 ve 50.000 mg/L dozunda Benzil benzoat ile 72 saat süresince muamele edilmiştir.

Uygulama sonunda kontrol grubuyla kıyaslandığında, uygulama gruplarında doza bağlı olarak çimlenme yüzdesi, ağırlık kazanımı, kök uzunluğu ve MI'in azaldığı, kromozomal anormallikler, MN oluşumu, MDA, SOD ve CAT düzeylerinin ise arttığı tespit edilmiştir. Uygulamaya bağlı olarak kök ucu hücrelerinde fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve c-mitoz şeklinde kromozomal anormallikler meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Benzil benzoat uygulamasının kök ucu hücrelerinde anatomik değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Bu değişikliklerin nekroz, hücre deformasyonu, yassılaşmış hücre çekirdeği, korteks hücre deformasyonu, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, korteks hücre çeper kalınlaşması ve belirgin olmayan iletim doku şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Benzil benzoat'ın *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde doza bağlı toksik etki gösterdiği fizyolojik, anatomik, sitogenetik ve biyokimyasal parametreler ile tespit edilmiştir. Ayrıca, çalışmada kullanılan parametrelerin toksisitenin belirlenmesinde kullanışlı biyobelirteçler olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Benzil benzoat, *Allium cepa* L., Toksisite, Kromozomal anormallikler, Lipid peroksidasyon, Antioksidan enzimler.

INVESTIGATION OF BENZYL BENZOATE TOXICITY IN *IN VIVO* CONDITIONS WITH, ANATOMIC, PHYSIOLOGICAL, CYTOGENETIC AND BIOCHEMICAL PARAMETERS

SUMMARY

In this study, the toxic effects of benzyl benzoate, which is widely used in the food, cosmetics, agriculture and pharmaceutical sectors, have been investigated using *Allium cepa* L. test material. In the determination of toxicity, physiological parameters; with determination of root lengths, weight gains and germination percentages, cytogenetic changes; with determination of chromosomal abnormalities formation, micronucleus (MN) frequency and mitotic index ratio (MI), anatomical changes; with determination of anatomic differentiations in root tip cells, biochemical changes; with lipid peroxidation test and antioxidant enzyme analysis were determined and the obtained data were evaluated statistically. The bulbs were divided into four (4) groups consisting of one (1) control and three (3) application groups, bulbs of the control group were treated with tap water and the bulbs of the application groups were treated with Benzyl benzoate at doses of 10,000, 25,000 and 50,000 mg/L for 72 hours.

At the end of the study, it was determined that germination percentage, weight gain and root length and MI ratio decreased, chromosomal abnormalities, MN formation, MDA, SOD and CAT levels increased in the application groups when compared with the control group. Depending on the application, it has been determined that root cells have chromosomal abnormalities such as fragment, sticky chromosome, chromosome bridge, unequal distribution of chromatin and c-mitosis. Furthermore, when compared with the control group, it was determined that benzyl benzoate administration caused anatomical changes in root tip cells. It was determined that these changes were in the form of necrosis, cell deformation, flattened cell nuclei, cortex cell deformation, accumulation of certain substances in cortex cells, wall thickening in cortex cells and unclear vascular tissue.

In conclusion, it was determined by physiological, anatomical, cytogenetic and biochemical parameters that benzyl benzoate showed a dose-dependent toxic effect in *Allium cepa* L. root cells. Also, the parameters used in the study were determined to be useful biomarkers for determination of toxicity.

Keywords: Benzyl benzoate, *Allium cepa* L., Toxicity, Chromosomal abnormalities, Lipid peroxidation, Antioxidant enzymes.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Dünya nüfusundaki artışla birlikte besin, ilaç, giyim, kozmetik gibi birçok alanda tüketimde hızlı bir şekilde artmaktadır. Bu artışa bağlı olarak, insan hayatında önemli yeri olan gıda maddeleri, ilaçlar ve kozmetik ürünlerin üretim miktarları da ihtiyacı karşılamak amacıyla gün geçtikçe artmaktadır. Üretim ve tüketimde meydana gelen bu artışlar, üretici firmalar arasında rekabete neden olmakta, bu da daha fazla kazanç elde etmek isteyen ve üretim, pazarlama, depolama gibi aşamalarda meydana gelen bazı sorunlara daha hızlı çözüm bulmak isteyen firmaları çeşitli kimyasal maddelerin kullanımına teşvik etmektedir. Kullanılan kimyasal maddelerin sebep olabileceği olumsuz etkiler ise yeterince araştırılmamakta, başta insan sağlığı ve çevre olmak üzere ekosisteme verebileceği zararlar göz ardı edilmektedir (Searle, 1995).

Organizmalar yabancı birçok kimyasal maddeye maruz kalmakta ve bunlara genel olarak ksenobiyotikler adı verilmektedir. İnsanların ksenobiyotiklere maruz kalması, doğrudan insanlar tarafından tüketilen ve kullanılan maddelerde bulunan gıda katkı maddeleri, kozmetik ürünler ve ilaçlar ile birlikte, dolaylı olarak maruz kalma ise tarımsal mücadelede kullanılan pestisitler ve tarımsal ilaçlar sebebiyle olabilmektedir (Akay, 2004; Alam ve Jones, 2014). Her geçen gün artan kimyasal madde kullanımının boyutu ise toksikolojik çalışmaların önemini bir kat daha arttırmaktadır. Solunum, beslenme ya da deri yoluyla vücuda alınabilen kimyasal maddelerin toksikolojik araştırmalar ile olası etkilerinin incelenmesi, kontrol amaçlı stratejiler geliştirilebilmesini ve kullanımının yasaklanmasını sağlamaktadır (Vural, 2005).

Benzil benzoat başta gıda, kozmetik, tarım ve ilaç sektörleri olmak üzere oldukça geniş kullanım alanı olan bir kimyasal bileşiktir. Akar ve insektlerle mücadelede de yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, günlük yaşamda sıklıkla kullanılan kimyasal maddelerden biri olan Benzil benzoat'ın *Allium cepa* L. test

materyali üzerindeki fizyolojik, sitogenetik, anatomik ve biyokimyasal etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

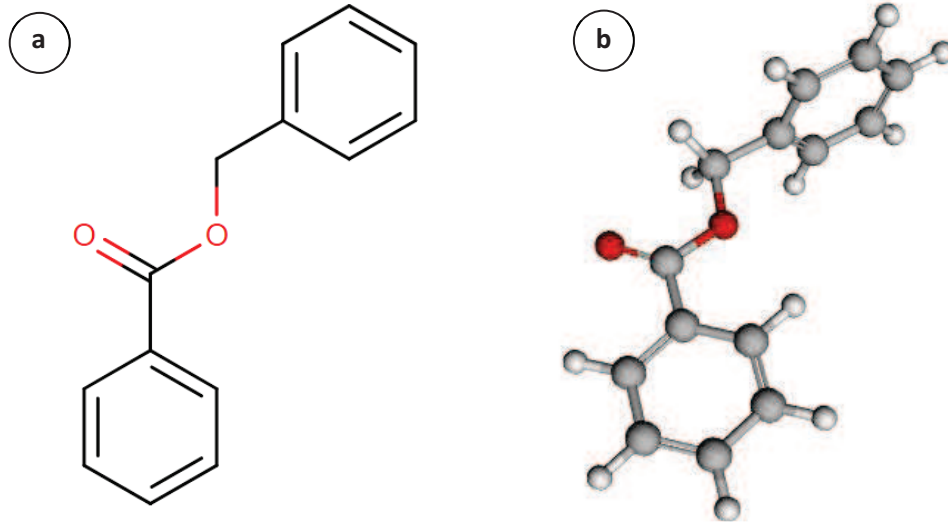


BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Benzil Benzoat

Benzil benzoat, benzil alkol ve benzoik asidin bir esteri olup, benzoik asit benzil ester, benzoik asit fenilmetil ester, benzil benzen karboksilat, benzil fenilformat, fenilmetil benzoat isimleriyle de bilinmekte, kapalı formülü $C_{14}H_{12}O_2$, açık formülü $C_6H_5COOCH_2C_6H_5$ (Şekil 2.1), molekül ağırlığı 212,25 g/mol, yoğunluğu 1,118 g/cm³, erime noktası 18-20 °C ve kaynama noktası 323 °C olan bir kimyasal bileşiktir (Hassan ve Mossa, 1981; Ash ve Ash, 2004). Keskin yakıcı bir tatta olup, renksiz, yağlı ve sıvı halde bulunmaktadır. Benzil benzoat, *in vivo* olarak hızla benzoik asit ve benzil alkole hidrolize edilmekte, benzil alkol ise daha sonra hippurik asit oluşturmak üzere glisin ile konjuge edilen benzoik aside oksitlenmektedir (Hassan ve Mossa, 1981).

Benzil benzoat, benzil alkol ve benzoik asidin kondensasyonu sonucu oluşabileceği gibi Tishchenko reaksiyonu ile benzaldehitten de oluşabilmektedir (Kamm ve Kamm, 1941). Doğal olarak Peru ve Tolu balsamları ile çeşitli uçucu yağlarda bulunmaktadır. Ayrıca gerçekleştirilen çalışmalarda *Cinnamomum sulphuratum* Nees bitkisinin yapraklarından elde edilen yağlarda %89,5 oranında ve kök kabuğu yağlarında ise %98,2 oranında Benzil benzoat bulunduğu tespit edilmiştir. (Kar, 2003; Rameshkumar ve George, 2006).



Şekil 2.1. Benzil benzoat'ın a: 2 boyutlu ve b: 3 boyutlu kimyasal yapısı (Wishart, 2017).

2.1.1. Benzil Benzoat Kullanım Alanları

Benzil benzoat çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Katı aromatikler de seyreltici ve çözücü olarak, düşük uçuculuğu nedeniyle parfüm bileşimlerinde sabitleştirici olarak, selüloz asetat ve nitroselüloz gibi maddeler için çözücü olarak, selüloit ve plastik piroksilin bileşiklerinde kafur yerine ve ayrıca şekerleme ve sakız ürünleri gibi farklı bir çok sektör ve üründe kullanılmaktadır (Kar, 2003).

2.1.1.1. Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanımı

Gıdalara, tarih öncesi zamanlardan beri özel işlevler yerine getirmek için çeşitli kimyasal maddeler eklenmektedir. Gıdalar farklı ürünlere dönüşmek için işlendiğinden, katkı maddesi kullanımı artmaktadır. Gıda işlemede meydana gelen teknolojik gelişmeler ile bu katkı maddelerinin çeşitliliği ve kullanım oranları artmıştır. Günümüzde gıda maddelerine 2500'den fazla farklı katkı maddesi ilave edilmektedir. Bu katkı maddelerinin kullanımı kabul gören bir uygulama olmasına rağmen, bu konu hala tartışılmaktadır (Branen ve ark., 2005). Gıdaların lezzet ve görünümünü daha iyi hale getirmek, bozulmalarını önleyerek gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla tüketime sunulmadan önce bilinçli ve amaçlı olarak ilave edilen maddelere gıda katkı maddeleri denilmektedir (Bağcı, 1997).

Gıda katkı maddeleri temel işlevlerine göre renklendiriciler, koruyucular, antioksidanlar, stabilizatör ve emülsifiyerler, tatlandırıcılar-koku verenler, asit-baz sağlayıcılar ve geniş amaçlı kullanılan gıda katkı maddeleri şeklinde sınıflandırılabilir (Tayfur ve Ünal, 1998).

Geniş bir kullanım alanına sahip olan Benzil benzoat, gıdalarda katkı maddesi olarak da kullanılabilir. Benzil benzoat kullanımına, AB Gıda İyileştirme Acenteleri tarafından tatlandırıcı gıda katkı maddesi olarak (European Commission, 2012), Gıda Katkıları Hakkında Ortak FAO/WHO Uzman Komitesi (JECFA, 1996) tarafından ise tatlandırıcı gıda katkı maddesi ve taşıyıcı solvent olarak onay verilmiştir. Bunun yanı sıra benzoik asit ve bileşiklerinin çikolatalar, içecekler, katı ve sıvı yağlar, soslar, süt tozları, ketçap ve mayonezler, fırın mamulleri, kuru mayalar, şekerler, sakızlar, salatalar ve çerezler gibi gıdalarda kullanıldığı da bilinmektedir (Erkmen ve Bozoğlu, 2008).

Çeşitli gıda katkı maddelerinin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin olabileceği yapılan çalışmalarda rapor edilmiş olup, bu maddelerin kullanımının insan sağlığı açısından risk oluşturduğu düşünülmektedir (Kinderlerer ve Hatton, 1990; Öztürk ve ark., 2007; Zengin ve ark., 2011). Ayrıca Yentür ve ark. (1996) tarafından gıda katkı maddelerinin önerilen kullanım dozlarından daha yüksek dozlarda kullanıldığı ve yasaklanmış olmasına rağmen bazı katkı maddelerinin kullanımına devam edildiği de bildirilmiştir.

2.1.1.2. Kozmetik Sektöründe Kullanımı

Kozmetik ürünler, görünümü güzelleştirmek, korumak, temizlemek ve koku vermek amacıyla, insan vücudunda deriye, saçlara, dişlere, müköz membranlara uygulanan, tedavi edici etkisi olmayan ürünlerdir (Pons-Guiraud ve Vigan, 2004). Benzil benzoat kozmetik sektöründe çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Köpük banyoları, göz losyonları, parfümler, kokular, saç kremleri, spreyleyler, saç boyaları, pudralar, rujlar, tırnak losyonları, kremler ve diğer birçok kişisel bakım ürününün içeriğinde bulunmaktadır (Andersen, 2003). İngiltere’de gerçekleştirilen bir

çalışmada, incelenen kozmetik ürünlerin %23'ünde Benzil benzoat bulunduğu bildirilmiştir (Buckley, 2007). Benzoik asit ve türlerinin kozmetik ürünlerde genellikle pH ayarlayıcısı ve koruyucu olarak kullanılmaktadır. (Wenninger ve ark., 2000).

2.1.1.3. İnsektisit ve Akarisit Olarak Kullanımı

Benzil benzoat, tarımsal üretimde zararlılarla mücadele ederek tarımsal verimi arttırmak amacıyla da kullanılmaktadır. Benzil benzoat'ın akarisidal (McDonald ve Tovey, 1993) ve insektisidal (Jantan ve ark., 2005) aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir. Ayrıca astım hastalığından sorumlu başlıca alerjenlerden biri olan ev tozu akarlarına karşı etki gösterdiği de bilinmektedir (Chang ve ark., 1996). İnsektisitler ve akarisitler tarımsal üretimde, zararlılarla mücadele amacıyla yaygın biçimde kullanılan kimyasal mücadele yöntemleridir. İnsektisitler, böcekler üzerinde etkili olan pestisitlerdir. Böceklerin larva ve yumurtaları üzerinde etkili olmak suretiyle larvisid ve ovisid içerikleri ile böcek larva ve yumurtalarını etkilerler (Van Emden ve Peakall, 1996; Gupta, 2014). Akarisitler ise akarları, keneleri ve örümcekleri doğrudan öldürmek amacıyla kullanılan pestisitlerdir (Zeliger, 2011).

2.1.1.4. Sağlık Alanında Kullanımı

Benzil benzoat'ın en yaygın kullanım alanlarından biri de sağlık alanıdır. Bitlerle mücadelede ve uyuz hastalığının tedavisinde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Uyuz hastalığı, gelişmekte olan ülkelerde zayıf sosyoekonomik koşullar, aşırı kalabalıklar ve yetersiz su kaynakları nedeniyle başta çocuklar olmak üzere sık görülen ciddi bir halk sağlığı sorunudur. İnsanlarda uyuz hastalığı, cildin alt stratum korneumunda *Sarcoptes scabiei var. hominis* L.'in bulunması nedeniyle ortaya çıkan ektoparazitik bir deri enfeksiyonu olup, genellikle kaşıntı ve tahriş ile belirti göstermektedir (Sterling ve ark., 1992; Olasode ve Onayemi, 1998). Bulaşma esas olarak kişiden kişiye doğrudan temas yoluyla gerçekleşmektedir (Maibach ve Gorouhi, 2011).

Sarcoptes scabiei L. karakteristik olarak oval, ventral olarak düzleşmiş, dorsal konveks benzeri gövde yapısı, dorsal kılları, çok sayıda dikenli ve enine çıkıntılı kesik çizgili çizikler ile tanınır. Erkekleri dişilerinin yaklaşık üçte ikisi kadardır. Deriye penetre olduğunda inflamatuvar ve immün reaksiyonlar gelişir. Antijene karşı mast hücrelerinde spesifik immünoglobulin E (IgE) üretilir ve mast hücre degranülasyonu ile tip 1 immün yanıt oluşur. İlk kez karşılaşmış birinde 10 ile 30 gün arası bir sürede *S. scabiei*'lerin kendisine, dışkısına, yumurtasına ve salgısına karşı hipersensitivite reaksiyonu gelişir ve kaşıntı başlar. Belirtilerin ortaya çıkması 4 ile 6 haftayı bulurken, tekrar enfeste olmuş bireylerde bu süre 1 ile 4 günü bulmaktadır (Dahl, 1983). Uyuz hastalığı insanlarda bakteriyel süper enfeksiyona yatkınlığa, streptokok deri hastalığında ise glomerülo nefrit riskine neden olmaktadır (Henderson ve Nykia, 1992). Uyuz hastalığı insanların yanı sıra hemen hemen tüm hayvan türlerinde de gözlenmekte, insanlarda olduğu gibi temas yoluyla bulaşmakta ve ciddi dermatit ile sonuçlanarak hayvanlarda önemli sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Çakmak ve Vatansever, 1997).

Benzil benzoat uyuz hastalığının tedavisinde topikal olarak uygulanmaktadır. Tedavi sürecinde saçlı deriden ayak tabanlarına kadar tüm deri yüzeylerine uygulanması gerekmekte olup, göz ile temasından ve iltihaplı ya da çatlak ciltlerde kullanımından kaçınılmalıdır. Çocuklarda kullanılması durumunda tahriş edici etki gösterebilmektedir (Stuart ve ark., 2009). Benzil benzoat uyuz hastalığının tedavisinde 1937'den beri kullanılmaktadır. %20 ile %35 arası konsantrasyonlarda emülsiyon olarak formüle edilmektedir. Uygulama sonrası şikayet olarak yoğun temas halinde yanma, tahriş ve hassasiyet durumu yer almaktadır. Özellikle genital bölgede ve yüzde tahriş edici dermatite neden olabilmektedir (Campbell ve Rew, 1986; Habif, 2016). Benzil benzoat'ın hastalık etmeni olan *S. scabiei*'e karşı etki mekanizması ise henüz bilinmemektedir (Micali ve Lacarrubba, 2016).

2.1.2. Benzil Benzoat Toksikokinetiği

Benzil benzoat oral yol ile alındığında mideden hızla emilerek hızlı bir şekilde benzoik aside ve benzol alkole hidrolize edilir. Benzoik asit, benzoil glukuronik asit vermek üzere benzoil glisin ya da hippurik asit ile, glukuronik asit vermek üzere glisin ile konjuge edilir. Benzil benzoat konjugatları ise türlere ve doza bağlı olarak, değişen oranlarla idrarda hızla bir şekilde yok edilir (Hassan ve Mossa, 1981). Topikal olarak kullanıldığında hafif toksik bir bileşiktir. Kronik etkileri pek bilinmemekle birlikte maruziyetin bitiminden sonra kaybolabilecek hafif alerjik tepkilere neden olabilmektedir. Akarisit olarak kullanıldığında, bağırsaklarda peristalsis, ishal, bağırsak kolik, enterospazm, plorospazm, spastik konstipasyon, seminal veziküllerin kasılması, hipertansiyon ve bronkospazmlara neden olabilmektedir (Wexler ve ark., 2005). Aplastik kemik iliği hastalığı nedeniyle ilik nakli gerçekleştirilen 7 yaşında bir erkek hastanın öldüğü, ölüm nedeninin kesin olarak belirlenemediği ancak tanıdan önceki ay, vücudunun her gün etil alkol, su ve polisorbitin yanı sıra %10 oranında Benzil benzoat ve %2 oranında disülfiram içeren bir skabisit olan Ascabiol ile yıkandığı, ölümün muhtemelen skabisitin kronik doz aşımından kaynaklandığı bildirilmiştir (Hayes ve Laws, 1991).

2.1.3. Benzil Benzoat Toksisitesi

Benzil benzoat'ın oral LD 50 değerlerinin ratlarda 1700 mg/kg'dan, köpeklerde 22440 mg/kg'a kadar değişiklik gösterdiği (Wexler ve ark., 2005), tek doz oral LD 50 değerlerinin ratlarda 2,80 g/kg ve tavşanlarda 1,68 g/kg olarak, kedilerde LD 50 değeri 2,24 g/kg olarak ve köpeklerde 22,44 g/kg'dan daha yüksek düzeyde (Graham ve Kuizenga, 1945) olduğu bildirilmiştir. Hayvanlarda çok sık ya da geniş bir cilt alanına uygulandığında, tükürük, piloereksiyon, kaslarda inkoordinasyon, titreme, arka ayaklarda progresyon, şiddetli konvülsiyonlar, nefes darlığı ve ölüm gibi sistemik toksisite belirtilerini tetikleyebilmektedir. Laboratuvar hayvanlarına yüksek dozlarda verildiğinde, hipereksistasyona, inkoordinasyona, ataksiye, konvülsiyonlara ve solunum felcine neden olabilmektedir (Wexler ve ark., 2005). Ayrıca Gıda Katkıları Hakkında Ortak FAO/WHO Uzman Komitesi (JECFA), Benzil benzoat'ın

bireyin vücut ağırlığı esas alınarak, tüm yaşamı boyunca bir sağlık riski olmadan tüketebileceği miktarı belirten ADI (Average Daily Intake) değerini 5 mg/kg olarak belirlemiştir (WHO, 2011). Koçkaya ve Kılıç (2014) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada oral yolla gebe dişi sıçanlara Benzil benzoat verilmesinin, biyokimyasal parametreler, plasenta ve iskelet ölçümlerinde ve endotelial büyüme faktörünün immüno-lokalizasyonunda önemli farklılıklara neden olduğu, gebelikte Benzil benzoat ve metabolitlerinin plasentaya taşınabildiği ve fetüse geçebileceği bildirilmiştir. Benzil benzoat'ın kozmetik ürünlerde kullanımının kanser üzerine etkisini araştıran bir diğer çalışmada, MCF7 meme kanseri hücre hattına Benzil benzoat uygulanmış ve Benzil benzoat'ın östrojene bağımlı MCF7 hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı ve östrojenik etkiye neden olduğu bildirilmiştir (Charles ve Darbre, 2009).

2.2. Bitki Test Sistemleri

2.2.1. Sitotoksosite İndikatör Testleri

Sitotoksosite, toksik bir ajana maruziyet sonrasında hücrelerde gözlenen anormalliklerdir. Sitotoksosite çalışmaları pek çok kimyasalın sitostatik ve sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesine olanak tanımaktadır. Sitotoksosite testleri ile hücrelerde oluşan hasar, hasarın dozu, hücre canlılığı ve hücre proliferasyonu gibi bilgiler elde edilebilmektedir. Bu çalışmada ise Benzil benzoat'ın *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde oluşturduğu sitotoksosite kromozomal anormallik tayini, MN analizi ve MI oranı kullanılarak incelenmiştir.

2.2.1.1. *Allium cepa* Testi

Allium cepa L. testi, bitki köklerinin DNA üzerine muhtemel etkisi olan maddeler ile doğrudan temas halinde büyüdüğü, kimyasal ajanların *in vivo* olarak etkisinin araştırıldığı etkili bir modeldir. Bu test, ilk kez Levan (1938) tarafından, kolşisin etkisine bağlı olarak mitotik anormallikleri gözlemlemeye yardımcı olduğu için tanıtılmıştır. Fiskesjö (1985) ise *Allium cepa* L. hücrelerinin, polisiklik

hidrokarbonatları metabolize edebilen bir oksidaz enzim sistemi içerdiğini göstererek bu testin genotoksisiteyi değerlendirmek için önemine dikkat çekmiştir. *Allium cepa* L. testi, kromozomlarının sayısının az ($2n=16$) ve yapısının büyük olması nedeniyle, mitotik döngüdeki kromozom hasarlarını ve değişikliklerini değerlendirmek için elverişli olarak kabul edilmiştir. Kromozomal değişikliklerin analizi yapısal değişikliklerin saptanmasını sağlarken, bununla birlikte kromozomlarda meydana gelen sayısal değişimleri de gözlemlemek mümkündür. Ayrıca düşük maliyeti, çok sayıda kökü olması, kısa test süresi, depolama ve kullanım kolaylığı, nükleus ve anormal olayları gözleme kolaylığı gibi birçok avantajı bulunmaktadır (Fiskesjö, 1985; Liu ve ark., 1995).

Çevre kirliliğini değerlendirmek için kullanılan yüksek bitki türleri arasında en yaygın olanları *Allium cepa* L., *Vicia faba* L., *Zea mays* L., *Tradescantia* L., *Nicotiana tabacum* L., *Crepis capillaris* (L.) Wallr. ve *Hordeum vulgare* L.'dir. *Allium cepa* L. vasküler bir bitki olduğu için çevresel kirleticilerin değerlendirilmesi, mutajenlerin farklı ortamlarda tespit edilmesi ve nokta mutasyonları gibi birçok genetik uç noktanın değerlendirilmesinde etkili bir genetik model haline gelmektedir (Grant, 1994). *Allium cepa* L. testinin kullanımı pestisitler, ağır metaller, gıda katkı maddeleri, yüzey ve yer altı suları gibi birçok farklı alanda gerçekleştirilen genotoksiste çalışmalarını kapsamaktadır (Smaka-Kincl ve ark., 1996; Fernandes ve ark., 2007; Seth ve ark., 2008; Türkoğlu, 2008).

Allium cepa L. testi, kromozomal değişikliklere neden olan sayısız maddeyi tespit etmek için yeterince hassas bir modeldir. *Allium cepa* L. testi sonucunda elde edilen veriler, etkisi araştırılan ajanın diğer canlı biyoçeşitliliğine etkileri üzerine de doğru tahminler yürütülmesini sağlamaktadır. *Allium cepa* L. gibi *in vivo* bitki test sistemlerini kullanan sitotoksiste testleri, *in vitro* hayvan testlerini müştereken gerçekleştiren çeşitli araştırmacılar tarafından onaylanmıştır ve elde edilen sonuçlar benzer olmakla birlikte insan sağlığı için de oldukça önemlidir (Vicentini ve ark., 2001; Teixeira ve ark., 2003). Kimyasal ajanların organizmalara verdiği zararlar arasında genotoksik ve mutajenik etkiler, genetik hasara neden olma kapasitesi nedeniyle, birçok sağlık problemine yol açabilmekte ve meydana gelen değişimlerin

kalıtsal olabilme ihtimali gelecek kuşakları etkileyebileceklerinden endişe verici görülmektedir (Reifferscheid ve Buchinger, 2017).

Allium cepa L. testi ile değerlendirilen 148 kimyasal maddenin %76'sının olumlu sonuç vermesi, bu testin kimyasalların neden olduğu kromozomal hasarları belirlemek için standart bir test olarak kabul edilmesini sağlamıştır (Grant, 1982). Ayrıca *Allium cepa* L. testi ve memeli hücre kültürleriyle gerçekleştirilen çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmiş olması, bu testin güvenilirliğini göstermektedir. Örneğin Rank ve ark. (1993) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, glifosatın *Allium cepa* L. testi ile genotoksik etki gösterdiği belirtilmiş, Mañas ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise glifosatın Hep-2 hücre kültüründe genotoksik hasar meydana getirdiği comet testi ile tespit edilmiştir. Her iki çalışmada da glifosatın genotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir. Rank ve Nielsen (1994) 15 ayrı kimyasal madde için *Allium cepa* L. testini Ames, microscreen ve kemirgenlerle gerçekleştirilen karsinogenite testleri ile kıyaslayarak, *Allium cepa* L. testinin duyarlılığını %82 olarak bildirmiştir.

2.2.1.2. Mikronükleus (MN) Testi

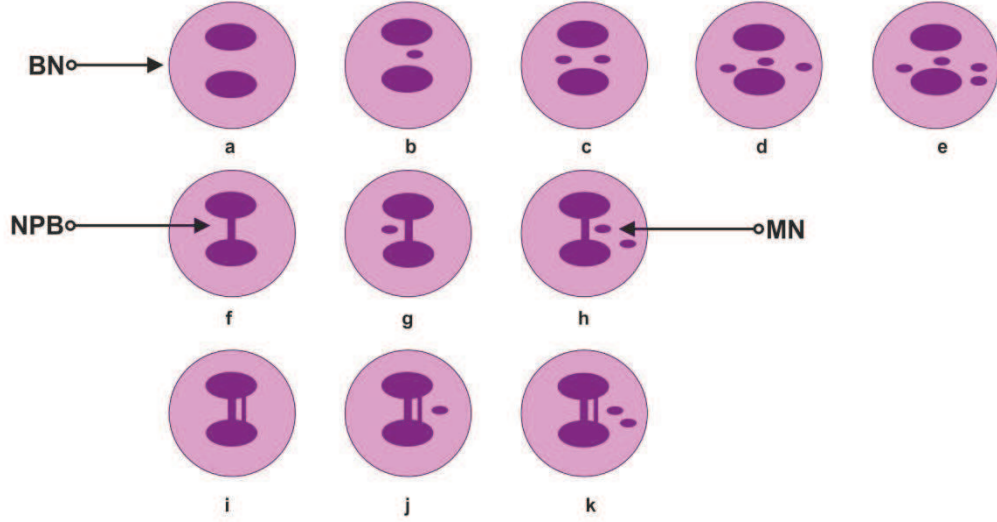
Sitotoksosite indikatörü olan mikronükleus (MN) oluşumu ilk olarak eritrosit hücrelerinde Howell ve arkadaşları tarafından tespit edilmiş olup, Jolly tarafından tanımlanması yapılmıştır. Bu nedenle MN oluşumları Howell-Jolly cisimciği olarak da adlandırılmaktadır. MN, hücre bölünmesi sırasında oluşan kromozom fragmentlerinden ve sentromer ya da iğ ipliği hasarı sonucu serbest kalan, kutuplara gidemeyen serbest kromozomlar tarafından oluşturulmaktadır. Fragment ya da serbest kromozom bir nükleoplazma ile çevrilerek nükleer materyal olarak ana nükleusa yakın bir alanda yer almaktadır (Fenech ve Crott, 2002). Hücrelerde MN varlığı DNA hasarına işaret etmektedir. Klastojenik, kanserojenik ya da mutajenik maddeler varlığında hücrede ve DNA'da hasar meydana gelmektedir. Bu hasarların özellikle hücre döngüsünü kontrol eden genlerde, mitotik iğ ipliklerinde ve kinetokorda meydana gelmesi MN oluşumunu tetiklemektedir (Vanparys ve ark., 1990; Kirsch-Volders ve ark., 1997). Anöploidik etki gösteren ajanlar, iğ ipliklerinde

anormalliklere, sentromerde bölünme ve yapısal bozulmalara yol açmaktadır. Klastojenik etki gösteren ajanlar ise kromozom kırıklarına neden olmaktadır. Her iki durum da MN oluşumuna neden olmakta ve oluşan bu yapılar büyüklük bakımından farklılık göstermektedir. Anojenler tarafından indüklenen MN, tam kromozom içeren büyük ebatlara sahipken, klastojenlerce oluşturulan MN ise kromozom kırıklarından oluştuğu için küçük ebatlara sahiptirler (Von Ledebur ve Schmid, 1973; Countryman ve Heddle, 1976). Högstedt ve Karlsson (1985), hücrelerde oluşan MN yapılarının büyüklük farkını, anöploidik etkiye sahip kimyasallar ile klastojenik etkiye sahip kimyasalları ayırt etmede kullanmışlardır. Eastmond ve Tucker (1989) ise insan lenfositlerinde kinetikor içeren MN ile içermeyen MN oluşumlarını araştırmış ve küçük ebatlı MN oluşumlarının fragment içerdiğini rapor etmişlerdir. Sonuç olarak anöploidik ajanları klastojenik ajanlardan ayırmada MN testinin etkili bir yöntem olduğunu vurgulamışlardır.

Ökaryotik bir hücre mononükleer, binükleer ya da multinükleer yapıda olabilir. Mononükleer hücreler sitoplazma içerisinde tek ve büyük nükleuslu, binükleer hücreler (BN) ise birbirine yakın büyüklükte iki nükleuslu yapıya sahiptir. Multinükleer hücreler ise farklı büyüklükte üçlü ya da daha fazla nükleus içeren yapıdadır. Birden fazla nükleus içeren hücrelerde nükleuslar ayrı ayrı olabileceği gibi nükleoplazmik köprü (NPB) ile birbirine de bağlı bulunabilir (Şekil 2.2). Mikronükleus testinde, çoklu nükleusa sahip hücrelerde MN yapılarını tanımlamak ve ayırt etmek önemli bir noktadır. Bir hücrede nükleer bir yapının MN olarak tanımlanabilmesi için bazı kriterler geliştirilmiştir (Fenech, 2000; Fenech ve ark., 2003).

1. MN yuvarlak ve oval şekilde bir yapıya sahip olmalıdır.
2. MN ana nükleustan belirgin bir şekilde ayrılmış olmalıdır.
3. MN çapı, nükleus yarıçapının 1/16 ile 1/3 arasında bir değere sahip olmalıdır.
4. MN alanı, nükleusun alanının 1/256 ile 1/9'u arasında bir değere sahip olmalıdır.
5. MN ile ana nükleus arasında nükleoplazmik köprü ya da bir bağ olmamalıdır.

6. MN nükleusla aynı renge boyanmalı ve boya alma yoğunluğu ana nükleus ile aynı olmalıdır.
7. MN'ler genellikle nükleusun yanında yer almaktadır.



Şekil 2.2. Ökaryotik hücrelerde polinükleer durumlar ve MN oluşumları (a: BN, b: Bir MN'lu BN hücre, c: İki MN'lu BN hücre, d: Üç MN'lu BN hücre, e: Dört MN'lu BN hücre, f: NPB'li BN hücre, g: Bir nükleoplazmik köprü ve bir MN'lu BN hücre, h: Bir NPB ve iki MN'lu BN hücre, i: İki nükleoplazmik köprü, j: İki nükleoplazmik köprü ve bir MN'lu BN hücre, k: İki nükleoplazmik köprü ve iki MN'lu BN hücre) (Üstüner, 2011).

MN testi *in vivo* ve *in vitro* DNA hasarının belirlenmesine olanak tanıyan ekonomik, pratik ve güvenilir bir testtir. Bu nedenle toksikoloji ve sitotoksisite başta olmak üzere ilaç endüstrisinde, kanser riski araştırmalarında ve radyoterapi aşamalarında sıkça kullanılmaktadır. MN testi ile gıda katkı maddelerinin, pestisitlerin, ksenobiyotiklerin, sigaranın, nanomateryallerin ve parazitik enfeksiyonların sitotoksik etkileri belirlenebilmektedir. Bu amaçla sitotoksisitenin belirlenmesinde periferik kan lenfositleri, yanak mukoza hücreleri, eritrositler, kemik iliği hücreleri ve pek çok bitki türü test materyali olarak kullanılmaktadır (Fenech ve Crott, 2002; Fenech, 2010).

2.2.1.3. Mitotik İndeks (MI) Tayini

Mitotik indeks (MI) analizleri genellikle kromozom çalışmalarında ve toksisite çalışmalarında kullanılmaktadır. Bir dokudaki bölünen hücrelerin bölünmeyen hücrelere oranı hesaplanarak belirlenmektedir. MI, bir bitkinin tüm yaşamı boyunca bölünebilme yeteneğinde olan meristematik dokularında incelenmektedir. Bu nedenle yaygın olarak kök ucunda, genç yapraklarda ve çiçek tomurcuklarının petal yapraklarında uygulanmaktadır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010).

Hücreler, farklılaşmaya başladıkça ya da toksisiteye maruz kaldıkça bölünme kapasitelerinde azalma meydana gelmektedir. Fakat pek çok hücre, hızlı ve sürekli bölünme özelliğine sahiptir. Bitki kök uçlarında özellikle apikal meristem hücreleri, kökleri toprağa itebilmek için hızlı bölünme özelliğine sahiptir. Kök ucundaki meristematik bölge aktif olarak büyüyen bölge olması nedeniyle MI oldukça yüksektir. MI kök ucundan uzaklaştıkça azalmakta, yani artan mesafe ile MI ters orantı göstermektedir. Kimyasal maddelerin pek çoğu MI üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Bu etki genellikle MI'de kontrol grubuna göre azalma şeklindedir. Bu durum interfaz ile mitoz safhaları arasındaki sürenin uzamasından kaynaklanmaktadır (Ünal ve ark., 2008). Toksik etki sonucunda MI'de gözlenen azalma ya da MI inhibisyonu hücrede oluşan pek çok anormallikle açıklanabilir.

MI oranında gözlenen azalmanın muhtemel nedenleri;

1. DNA'da yapısal değişim sonucu DNA sentezinin ve DNA-nükleoprotein dengesinin bozulması (Soliman, 2001),
2. Protein sentezinin inhibisyonu (Badr ve Ibrahim, 1987),
3. G1 faz inhibisyonu sonucunda DNA sentezinin baskılanması (Schneiderman ve ark., 1971; El-Ghamery ve ark., 2000),
4. Toksik etkiler sonucunda S fazı süresinin artması (Webster ve Davidson, 1969),
5. G2 fazının uzaması veya DNA sentezinin inhibisyonu sonucu mitoz geçişin bloke edilmesi (Badr ve Ibrahim, 1987),

6. Karbonhidrat metabolizmasındaki anormallikler sonucu mitozun gerçekleşmesi için gerekli olan ATP düzeyinde azalma (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1996)

şeklinde olabilmektedir.

MI testi sonucunda elde edilen değerler toksisite düzeyinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. %22 ve altında MI oranları letal etkiye işaret ederken, %50 altında MI değerleri subletal etkiyi göstermektedir. (Panda ve Sahu, 1985; Antosiewicz, 1990).

2.2.1.4. Kromozom Anormallikleri Tayini

Sitogenetik anormallik ve mutasyonlara sebep olan kimyasalların denetlenmesi ve izlenmesinde bitki test sistemleri oldukça kullanışlıdır (Constantin ve Owens, 1982; Grant, 1994). Bu tür kimyasalların sitogenetik etkilerinin belirlenmesinde *Allium cepa* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Zea mays* L., *Pisum sativum* L., *Crepis capillaris* (L.) Wallr., *Vicia faba* L., *Hordeum vulgare* L. ve *Glycine max* (L.) Merr. sıkça kullanılan bitkisel test materyalleridir (Grant, 1994). Bu tür bitkiler, sitogenetik çalışmalarda kromozomlarının boyutlarından dolayı yüksek avantaj sağlamaktadır (Fiskeşjö, 1985).

Bir kimyasalın sitogenetik etkisi, hücrede oluşturduğu kromozom anormalliklerinin tipleri ve frekansları belirlenerek araştırılabilmektedir. Bu tür çalışmalarda yapışkan kromozom, fragment, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve c-mitoz gibi çeşitli hasarlar belirlenmiştir.

Fragment: Fragment oluşumu önemli bir sitotoksosite göstergesidir ve kromozom ya da kromatidlerde oluşan kırıklardan meydana gelmektedir (Prakash ve ark., 1988; Yi ve Meng, 2003). Sitotoksosite sonucu oluşan fragmentler hücrelerde MN oluşumuna ya da inversiyona yol açarak sekonder anormalliklere de neden olabilmektedir.

Yapışkan Kromozom: Yapışkan kromozomların, kromatin ipliklerinin dolaşması ve buna bağlı olarak kromozomlar arasında subkromatid yapıda bağlantıların oluşması ile ortaya çıktığı rapor edilmektedir. Ayrıca kromozomal DNA'nın parçalanması ya da DNA depolimerizasyonunun da yapışkanlığa neden olduğu bildirilmektedir (Darlington ve McLeish, 1951; McGill ve ark., 1974; Chauhan ve ark., 1986). Yapışkan kromozomlar, hücrede sitotoksik etkiye işaret etmektedir ve geri dönüşümsüz olduğundan hücrede letal etkiye sebep olmaktadır (Liu ve ark., 1992). Sitotoksikite çalışmalarında kimyasalların farklı düzeyde ve farklı tipte kromozomal anormalliklere neden olduğu ve en sık görülen anormalliğin de yapışkan kromozom olduğu tespit edilmiştir (Chauhan ve ark., 1999; Chandra ve ark., 2005; Saxena ve ark., 2005).

Kromozom Köprüsü: Kromozom köprüleri kromozom kırıklarının yeniden birleşmesi sonucunda oluşmaktadır (Soliman, 2001). Ayrıca replikasyon enzimlerinde oluşabilecek inhibisyon, telomerik bölgelerin replikasyonunu engellemekte ve kromozom uçlarının yapışarak köprü oluşturmaya neden olabilmektedir (De-Faria ve Jaworska, 1972). Toksikiteye maruz kalan hücrelerde kromozomlarda kırıklar oluşmakta, kırık noktalardan birbirine yapışan kromozomlar köprü oluşturmakta ve kromatidlerin birbirinden ayrılmasını engellemektedir (Kabarity ve ark., 1974; Badr ve ark., 1992). Bazı toksik ajanlar hücrede ikili, üçlü ya da çoklu köprü oluşumuna neden olmaktadır. Bu durum ise disentrik kromozom oluşumu ya da eşit olmayan kutuplaşma ile ilişkilendirilmiştir (Prakash ve ark., 1988).

Kromatinin eşit olmayan dağılımı: İğ ipliği hasarı sonucunda kromozomlar daha ileride ya da daha geride kalarak vragrant kromozom oluşumuna sebep olabilmektedir. Bu durum kromozomların kardeş hücrelere eşit dağılmasını önlemekte ve hasarlara neden olmaktadır. Ayrıca multipolar mitozlar, çok sayıda iğ direkleri oluşumu ile meydana gelmekte ve kardeş kromozomlarda eşit olmayan dağılım yoluyla anöploidiye sebep olmaktadır. (El-Ghamery ve ark., 2003; Fukasawa, 2005).

C-mitoz: C-mitoz iğ iplikleri anormalliği sonucunda kutuplara çekilemeyen ve yoğunlaşan kromozomların rastgele dağılması sonucunda oluşmaktadır. Genellikle c-anafaz ve c-metafazı kapsamaktadır (Levan, 1938).

2.2.2. Bitkilerde Antioksidan Sistem ve Oksidatif Hasar Testleri

Bitkilerde çeşitli faktörler tarafından oluşturulan stres, bitkisel dokularda serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır. Serbest radikaller ise hücrelere zarar vermekte, hücre zarının bütünlüğünü bozmakta ve fotosentetik basamakları yavaşlatmaktadır. Bununla birlikte oluşan süperoksit radikalleri proteinlere, membran lipidlerine ve nükleik asitlere bağlanarak denatürasyona yol açmaktadır (Fridovich, 1986; Davies, 1987). Canlılarda oksidatif stres ve buna karşı geliştirilen antioksidan savunma sistemi canlılığın devamını sağlayan bir denge halindedir. Oksidatif stresin artması ya da antioksidan sistemin yetersiz kalması bu dengeyi bozarak hücrel toksisiteye neden olmaktadır. Bitkilerde de tüm canlılarda olduğu gibi çeşitli savunma sistemleri mevcuttur. Bu sistemler oksidatif hasara karşı dört farklı savunma yöntemi içermektedir. Bu savunma yöntemleri; önleyici mekanizmalar, tamir mekanizmaları, fiziksel savunma ve antioksidan savunma şeklinde gerçekleşmektedir (Kaminski ve ark., 2012).

2.2.2.1. Malondialdehit (MDA) Testi

Bitkilerde çeşitli stres faktörleri sonucunda oksidatif hasar meydana gelmektedir ve membran lipidleri bu hasardan yüksek oranda etkilenmektedir. Hücre membranı hücre bütünlüğünün korunmasında önemli bir role sahip olup, oksidatif stresin membrandaki doymamış yağ asitlerinde peroksidasyona sebep olması bu bütünlüğü bozmaktadır. Lipid peroksidasyonu antioksidan mekanizmalarla sonlandırılabilirken, sonlandırılmadığı durumlarda zincir reaksiyonlar tüm zar boyunca devam eder. Lipid peroksidasyonu, doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomunun çıkması ile başlayarak lipid radikali meydana getirir. Bu radikal diğer yağ asitlerini etkileyerek yeni radikaller oluşmasına neden olur (Halliwell, 1996). Membran lipidlerinin yapısının bozulması sonucu ortaya çıkan MDA, lipid peroksidasyonu ve oksidatif

stresin bir göstergesidir. Hücrede makromoleküllere ve organellere hasar vererek toksik etki göstermektedir (Ansari ve ark., 1989).

Strese maruz kalan bitkilerde MDA düzeyinin ölçümü stresin oluşturduğu oksidatif hasarı değerlendirmede oldukça kullanışlıdır. Mittova ve ark. (2004) *Lycopersicon pennellii* Cor. kök dokusunda oluşan oksidatif stres sonrasında H₂O₂ ve MDA düzeylerinin arttığını rapor etmişlerdir. Ghosh ve ark. (2010) ise titanyum dioksit nano parçacıklarının *Allium cepa* L. kök dokularında MDA düzeyinde artışa neden olduğunu bildirmiştir.

Strese maruz kalan bir bitkide tek başına MDA ölçümü sağlıklı bir sonuç vermeyebilir. Bu nedenle MDA düzeyi antioksidan enzim düzeyleri ile birlikte araştırılmalı, stres faktörünün antioksidanlar ve oksidan sistem arasındaki dengeyi ne yönde değiştirdiği ortaya konulmalıdır.

2.2.2.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzimi Testi

Bitkilerde antioksidan savunma, enzimatik ve enzimatik olmayan moleküllerle gerçekleştirilmektedir. Bu antioksidan sistemler kloroplast gibi organel içerisinde yerleşik olabileceği gibi sitoplazmada ya da diğer organellerde de bulunabilirler. Bitkilerde kloroplastlar, askorbat peroksidaz (APX), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimatik ve vitamin E, vitamin C, glutatyon ve karotenoid gibi enzimatik olmayan antioksidan sistemlere sahiptirler (Çakmak ve Marschner, 1992; Gossett ve ark., 1994; Karanlık, 2001). SOD, süperoksit radikalini hidrojen peroksite dönüştürür (Şekil 2.3) ve oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunmaktadır. Bir metalloenzim olan SOD, süperoksit radikali için yüksek duyarlılık sergilemektedir. Normal şartlarda hidrojen peroksinin parçalanması düşük hızda gerçekleşirken, SOD varlığında süperoksit radikali 10⁴ kat daha hızlı moleküler oksijen ve hidrojen peroksite dönüşmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).



Şekil 2.3. SOD tarafından katalizlenen reaksiyon

SOD kofaktör olarak Cu, Zn, Mn ve Fe metallerini içerebilmektedir. Cu ve Zn içeren SOD enzimleri genellikle sitozol ve kloroplastlarda, Mn içeren SOD enzimi ise mitokondri matriksinde bulunmaktadır. Her bir SOD enzimi bulunduğu organelde antioksidan savunma rolü üstlenmekte ve organeli süperoksit radikalının toksik etkisine karşı korumaktadır (Baum ve Scandalios, 1981; Bowler ve ark., 1992; Stroinski, 1999). Ayrıca Harris (1992) tarafından SOD içermeyen bakteri ve mantar mutantlarının serbest radikal hasarına karşı dirençsiz olduğu bildirilmiştir.

Bitkisel dokularda ve organellerde SOD varlığı süperoksit radikaline karşı direncin ana kaynağıdır. Bitkinin kök, gövde ve yaprak gibi farklı dokularında farklı miktarlarda SOD enzimi bulunmaktadır. Çeşitli faktörler tarafından oluşturulan stres varlığında SOD düzeyi bitki türüne, bulunduğu dokuya ve stres faktörüne göre cevap oluşturmaktadır. Strese maruz bırakılan *Gossypium hirsutum* L.'da SOD düzeyi artarken (Gosset ve ark., 1996), metal stresinde SOD aktivitesinin azaldığı (Somashékaraiah ve ark., 1992), yüksek dozda ağır metal stresinin ise *Allium cepa* L.'da SOD aktivitesinde artışa neden olduğu (Fatima ve Ahmad, 2005) rapor edilmiştir. NaCl stresine maruz kalan salatalık bitkisinde ise SOD aktivitesinin değişmediği rapor edilmiştir (Lechno ve ark., 1997).

2.2.2.3. Katalaz (CAT) Enzimi Testi

Katalaz (CAT), hidrojen peroksiti indirgeyen ve özellikle bitkisel dokularda yoğun bir şekilde ve peroksizomların yapısında bulunan bir enzimdir (Higashi ve ark., 1974; Halliwell ve Gutteridge, 1990). Bitkilerde CAT 54-59 kDa aralığında moleküler ağırlığa sahip dört hem grubu içeren alt birimlere sahiptir (Eising ve ark., 1990). Hücrelerde oluşan ve SOD aktivitesi sonucunda ortaya çıkan hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijene dönüşerek oksidatif hasara neden olmaktadır. Oksijen radikallerinden farklı olarak ise, hücre membranını geçerek

oluştığı bölgeden daha uzak hücrelerde de hasar oluşturmaktadır (Huang ve ark., 1983).

Ayrıca SOD, metalloproteinler, fruktoz bifosfat, fosforibulokinaz gibi Calvin döngüsü enzimleri de hidrojen peroksit varlığında inhibe olmaktadır (Puppo ve Halliwell, 1988). Bu hasarı önlemek için hidrojen peroksitin hızla etkisiz hale gelmesi gerekmektedir. CAT hidrojen peroksiti iki molekül suya ve bir oksijen molekülüne indirgeyerek oksidatif hasarı önlemektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. CAT tarafından katalizlenen reaksiyon

Bitkilerde CAT'ın çoklu izoenzimleri mevcuttur. CAT izoenzimleri saptanan bitkilerden bazıları *Nicotiana tobacco* L. (Havir ve McHale, 1987), *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. (Willekens ve ark., 1994), *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Zhong ve ark., 1994) ve *Pinus taeda* L. (Mullen ve Gifford, 1993)'dir. Bitkilerin farklı gelişimsel süreçleri ve farklı ortamlarda yetişmesi, çoklu CAT izoenzim gerekliliğini açıklamaktadır.

Bitkisel dokularda ve organellerde CAT, hidrojen peroksidin nötrleştirilmesinde ana unsurdur. Bitkilerde oksijen ile ilgili önemli metabolik yollardan olan fotosentez ve solunum, kloroplast ve mitokondrilerde yoğun oksidan moleküllerin oluşumuna neden olmakta, bu oksidan moleküllerin difüzyonla diğer organellere ve sitozole ulaşması durumunda ise oksidatif hasar kaçınılmaz olmaktadır. Difüzyon özelliği diğer radikallere göre yüksek olan hidrojen peroksitin hücre içerisine yayılması ciddi hasarlar oluşturmakta, hidrojen peroksit oluşumuna neden olan stres faktörleri CAT düzeyinde önemli değişimlere neden olmaktadır. Fakat bu değişim bitkiye, stres türüne, bitkisel dokuya ve stres konsantrasyonuna göre farklılık göstermektedir. Kadmiyum (Cd) stresine karşı bezelye bitkisi kök ve yapraklarında CAT aktivitesi artış gösterirken (Dixit ve ark., 2001), daha yüksek konsantrasyonlarda Cd stresinin CAT aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Sandalio ve ark., 2001). Cıva, kadmiyum, kurşun ve krom (VI) streslerine maruz kalan *Allium cepa* L.'da CAT aktivitesi

uygulama dozuna bağlı olarak önce artış gösterirken, sonrasında artan dozla birlikte CAT aktivitesinin azaldığı rapor edilmiştir (Fatima ve Ahmad, 2005).

Bu alışmada, Benzil benzoat'ın *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde fizyolojik, sitogenetik ve anatomik etkilerinin yanı sıra SOD, CAT enzim aktiviteleri ile MDA düzeyleri üzerine etkileri de incelenmiş ve Benzil benzoat stresinin antioksidan ve oksidan sistemler üzerine etkisi de aydınlatılmıştır.



BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Materyali ve Uygulama Gruplarının Hazırlanması

Bu çalışma, Benzil benzoat'ın 10.000 mg/L, 25.000 mg/L ve 50.000 mg/L dozları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma materyali olarak hemen hemen eşit büyüklükte ve sağlıklı *Allium cepa* L. bulbları kullanılmıştır. Bulblar bir (1) kontrol, üç (3) uygulama grubu olmak üzere toplam dört gruba ayrılmış ve 85x100 mm çapında cam beherlere yerleştirilerek, oda sıcaklığında 72 saat süresince çimlenmeye bırakılmıştır. Uygulama periyodu süresince; kontrol grubundaki bulblara çeşme suyu, uygulama grubundaki bulblara ise 10.000 mg/L, 25.000 mg/L ve 50.000 mg/L dozlarında Benzil benzoat ile muamele edilmiştir. Süre sonunda kök uçları distile su ile yıkanmış ve standart ezme preparasyon teknikleri kullanılarak sitogenetik analizler için hazır hale getirilmiştir (Qian, 2004).

3.2. Fizyolojik Parametrelerin Ölçümü

Uygulama periyodu sonunda kök uzunlukları çimlenen bulbların radikula oluşumları temel alınarak milimetrik cetvel yardımıyla, ağırlık kazanımları uygulama öncesi ve sonrasında elde edilen ağırlık farkları dikkate alınarak hassas terazi yardımıyla belirlenmiştir. Çimlenme yüzdeleri ise eşitlik 3.1 kullanılarak tespit edilmiştir (Atik ve ark., 2007).

$$\text{Çimlenme Yüzdesi} = \frac{\text{Çimlenen Bulb Sayısı}}{\text{Toplam Bulb Sayısı}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.3. Kromozomal Anormallikler, Mikronükleus (MN) Testi ve Mitotik İndeks (MI) Tayini

Yaklaşık 0,5 cm uzunluğunda kesilen kök uçları iki saat “Clarke” fiksatoründe (3:glasial asetik asit/1:distile su) fiske edilmiş, 15 dakika %96’lık etanolde yıkanmış ve +4 °C’de %70’lik etanolde saklanmıştır. Sonraki aşamada kök uçları, 60 °C’de 17 dakika 1N HCl içerisinde hidrolize edilmiş, 30 dakika %45’lik asetik asit içerisinde bekletilmiş ve 24 saat Asetokarmin ile boyanıp, %45’lik asetik asitte ezilerek binoküler araştırma mikroskobunda X500 büyütmede fotoğraflanmıştır (Qian, 2004; Staykova ve ark, 2005). MN varlığının tespitinde Fenech ve ark. (2003; 2010) tarafından belirlenen kriterler dikkate alınmıştır.

Hazırlanan preparatlar Mitotik İndeks (MI) oranını belirlemek için binoküler araştırma mikroskobunda incelenmiş ve MI yüzdesi eşitlik 3.2 kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{Mitotik İndeks (\%)} = \frac{\text{Bölünen Hücre Sayısı}}{\text{Analiz Edilen Toplam Hücre Sayısı}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.4. Anatomik İnceleme

Kök ucu meristematik hücrelerinde meydana gelen anatomik hasarları belirlemek amacıyla *Allium cepa* L. kök uçları distile su ile yıkanarak enine kesitler alınmış ve Metilen Mavisini ile boyanarak binoküler araştırma mikroskobunda X500 büyütmede fotoğraflanmıştır.

3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Lipid Peroksidasyon Tayini

Lipid peroksidasyonu, Ünyayar ve ark. (2006) tarafından belirtilen metoda göre malondialdehit (MDA) miktarı ölçülerek belirlenmiştir. Kontrol ve uygulama grubu kök uçlarından alınan yaklaşık 0,5 g doku örneği, küçük parçalar halinde kesilmiş ve %5’lik trikloroasetik asit (TCA) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Homojenatlar

yeni tüplere aktarılarak oda sıcaklığında 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilip, %20'lik TCA solüsyonunda %5'lik tiyobarbitürik asit ve süpernatant eşit hacimlerde yeni bir tüpe aktarılarak 96 °C'de 25 dakika kaynatılmıştır. Sonrasında ise tüpler buz banyosuna aktarılarak 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant'ın absorbanansı 532 nm'de ölçülmüş ve MDA içeriği 155/mM/cm ekstinksiyon (sönümleme) katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır. MDA içeriğinin değerleri üç bağımsız örnekleme ölçümlerinden alınarak ortalama \pm standart sapma (SD) μ mol/g taze ağırlık (T.A.) olarak belirtilmiştir.

3.5.2. Antioksidan Enzim Analizi

Kontrol ve uygulama grubu kök uçlarından alınan yaklaşık 0,5 g doku örneği, deiyonize su ile yıkanarak küçük parçalar halinde kesilmiş ve 5 mL soğutulmuş sodyum fosfat tamponu (50 mM, pH 7,8) ile ezilerek homojenize edilmiştir. Homojenatlar yeni tüplere aktarılarak oda sıcaklığında 10,500 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant antioksidan enzim analizleri için +4 °C'de saklanmıştır.

3.5.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini

Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesi Beauchamp ve Fridovich'in (1971) yönteminde bazı değişiklikler yapılarak tayin edilmiştir. Reaksiyon karışımı 1,5 mL 0,05 M sodyum fosfat tamponu (pH 7,8), 0,3 mL 130 mM metiyonin, 0,3 mL 750 μ M nitroblue tetrazolium klorür (NBT), 0,3 mL 0,1 mM EDTA-Na₂, 0,3 mL 20 μ M riboflavin, 0,01 mL enzim ekstresi, 0,01 mL %4 (ağırlık/hacim) çözünmeyen polivinilpirolidon ve 0,28 mL deiyonize su içermektedir. Reaksiyon, 10 dakika boyunca iki adet 15 W floresan lambanın altına tüplerin yerleştirilmesiyle başlatılmış ve tüpler karanlıkta 10 dakika tutularak sonlandırılmıştır. Absorbans 560 nm'de ölçülmüş, bir birim SOD enzim aktivitesi, uygulama koşulları altında NBT indirgememesinin %50 inhibisyonu için gerekli SOD enziminin miktarı olarak belirlenmiştir. SOD içeriğinin değerleri üç bağımsız örnekleme ölçümlerinden

alınarak ortalama \pm standart sapma (SD) U/mg taze ağırlık (T.A.) olarak belirtilmiştir.

3.5.2.2. Katalaz (CAT) Tayini

Katalaz aktivitesi (CAT), Beers ve Sizer (1952) tarafından belirlenen yöntemle tayin edilmiştir. CAT aktivitesi, 1,5 mL 200 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7,8), 1,0 mL deiyonize su ve kullanmadan hemen önce hazırlanan 0,3 mL 0,1 M H₂O₂ içeren 2,8 mL reaksiyon karışımında 25°C'de UV-VIS spektrofotometre ile belirlenmiştir. Reaksiyon, 0,2 mL enzim ekstresi eklenerek başlatılmıştır. CAT aktivitesi H₂O₂ tüketiminin bir sonucu olarak 240 nm'de absorbanstaki azalmanın izlenmesi ile ölçülmüştür. CAT aktivite birimi, 240 nm absorbansta 0,1 birim değişiklik olarak tanımlanmıştır. CAT içeriğinin değerleri üç bağımsız örnekleme ölçümlerinden alınarak ortalama \pm standart sapma (SD) OD₂₄₀ nm/dk. g taze ağırlık (T.A.) olarak belirtilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS Statistics V 23.0 (IBM Corp, USA, 2015) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama \pm SD değerleri olarak verilmiş ve P değeri 0,05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Benzil benzoat'ın çimlenme üzerine etkisi Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Kontrol grubu olan Grup I'de çimlenme %100 oranında gerçekleşirken, kontrol grubuna göre çimlenmenin Grup II'de %17, Grup III'de %37 ve Grup IV'de ise %53 oranında daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Uygulama gruplarında, en fazla çimlenme yüzdesi Benzil benzoat'ın 10.000 mg/L dozuyla muamele edilen Grup II'de, en az ise Benzil benzoat'ın 50.000 mg/L dozu ile muamele edilen Grup IV'de tespit edilmiştir. Uygulanan Benzil benzoat dozundaki artış ile birlikte çimlenme yüzdesinin azaldığı, diğer bir ifadeyle artan Benzil benzoat dozu ile çimlenme yüzdesi arasında ters bir orantı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. Benzil benzoat'ın çimlenme üzerine etkisi

Gruplar	Çimlendirilen bulb sayısı	Çimlenen bulb sayısı	Çimlenmeyen bulb sayısı	Çimlenme yüzdesi %
Grup I	30	30	0	100
Grup II	30	25	5	83
Grup III	30	19	11	63
Grup IV	30	14	16	47

*Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat.

Benzil benzoat'ın kök uzunluğu üzerine etkisi Tablo 4.2'de gösterilmiştir. 72 saatlik uygulama periyodu sonunda, kontrol grubunda (Grup I) ortalama 8,25 cm kök uzunluğu ölçülürken, kontrol grubuna göre kök uzunluklarının 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II'de ortalama 2,67 cm azaldığı, 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de ortalama 5,12 cm azaldığı ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise ortalama 6,95 cm azaldığı tespit edilmiştir. Artan Benzil benzoat dozu ile birlikte kök uzunluğunda meydana gelen artışın azaldığı, uygulanan Benzil benzoat dozu ile kök uzunluğunda meydana gelen artışın ters orantı gösterdiği belirlenmiştir. Gruplarda meydana gelen farklı kök uzunluğu artışlarının ise istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.05$) olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.2. Benzil benzoat'ın kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi

Gruplar	<i>minimum</i>	<i>maksimum</i>	<i>Ortalama</i>
Grup I	7,30	9,50	8,25±0,81 ^a
Grup II	4,50	6,50	5,58±0,75 ^b
Grup III	2,30	4,20	3,13±0,60 ^c
Grup IV	0,80	2,00	1,30±0,37 ^d

*Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat (n=10). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05).

Benzil benzoat'ın ağırlık artışı üzerine etkisi Tablo 4.3'de verilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde, uygulama periyodu sonunda kontrol grubundaki bulblarda ortalama 7,71 g ağırlık artışı meydana gelirken, kontrol grubuna göre Grup II'de ortalama 2,83 g, Grup III'de ortalama 4,75 g ve Grup IV'de 7,27 g daha az ağırlık artışı meydana geldiği belirlenmiştir. Uygulama gruplarında en fazla ağırlık artışı Grup II'de ölçülürken, en az ağırlık artışı ise Benzil benzoat'ın en yüksek dozu ile muamele edilen Grup IV'de gözlenmiştir. Uygulanan Benzil benzoat dozu ile bulb ağırlık artışının ters orantılı olduğu, ağırlık artışındaki farkların ise istatistiksel olarak anlamlı (P<0,05) olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.3. Benzil benzoat'ın ağırlık artışı (g) üzerine etkisi

Gruplar	<i>Başlangıç ağırlığı</i>	<i>Son ağırlık</i>	<i>Ağırlık artışı</i>
Grup I	6,38±0,36 ^d	14,09±0,78 ^a	+7,71
Grup II	6,29±0,48 ^d	11,17±1,66 ^b	+4,88
Grup III	6,32±0,86 ^d	9,28±1,42 ^c	+2,96
Grup IV	6,20±0,58 ^d	6,64±1,07 ^d	+0,44

*Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat (n=10). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05).

Benzil benzoat'ın *A. cepa* kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği MN varlığı ve sıklığı Şekil 4.1 ile Tablo 4.4'de gösterilmiştir. Tablodaki verilerden de anlaşıldığı üzere, kontrol grubu olan Grup I'de ortalama 0,30 oranında MN oluşumu tespit edilmiştir. Uygulama grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Grup II'de bu oranın ortalama 39,33 kat arttığı, Grup III'de ortalama 82,33 kat arttığı ve Grup IV'de ise ortalama 158,67 kat artış gösterdiği belirlenmiştir. Artan Benzil benzoat dozuyla birlikte MN oluşumunun arttığı, diğer bir ifadeyle MN oluşumundaki artış ile uygulanan Benzil benzoat dozu arasında doğru orantı olduğu gözlenmiştir. Ayrıca gruplar arasında belirlenen MN sayılarındaki farkların ise istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Tablo 4.4. Benzil benzoat'ın kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği mikronükleus (MN) sıklığı

Gruplar	Hesaplanan hücre sayısı	Minimum (MN)	Maksimum (MN)	Ortalama (MN)
Grup I	1000	0	1	0,30±0,48 ^d
Grup II	1000	7	16	11,80±2,74 ^c
Grup III	1000	19	30	24,70±3,34 ^b
Grup IV	1000	40	55	47,60±5,34 ^a

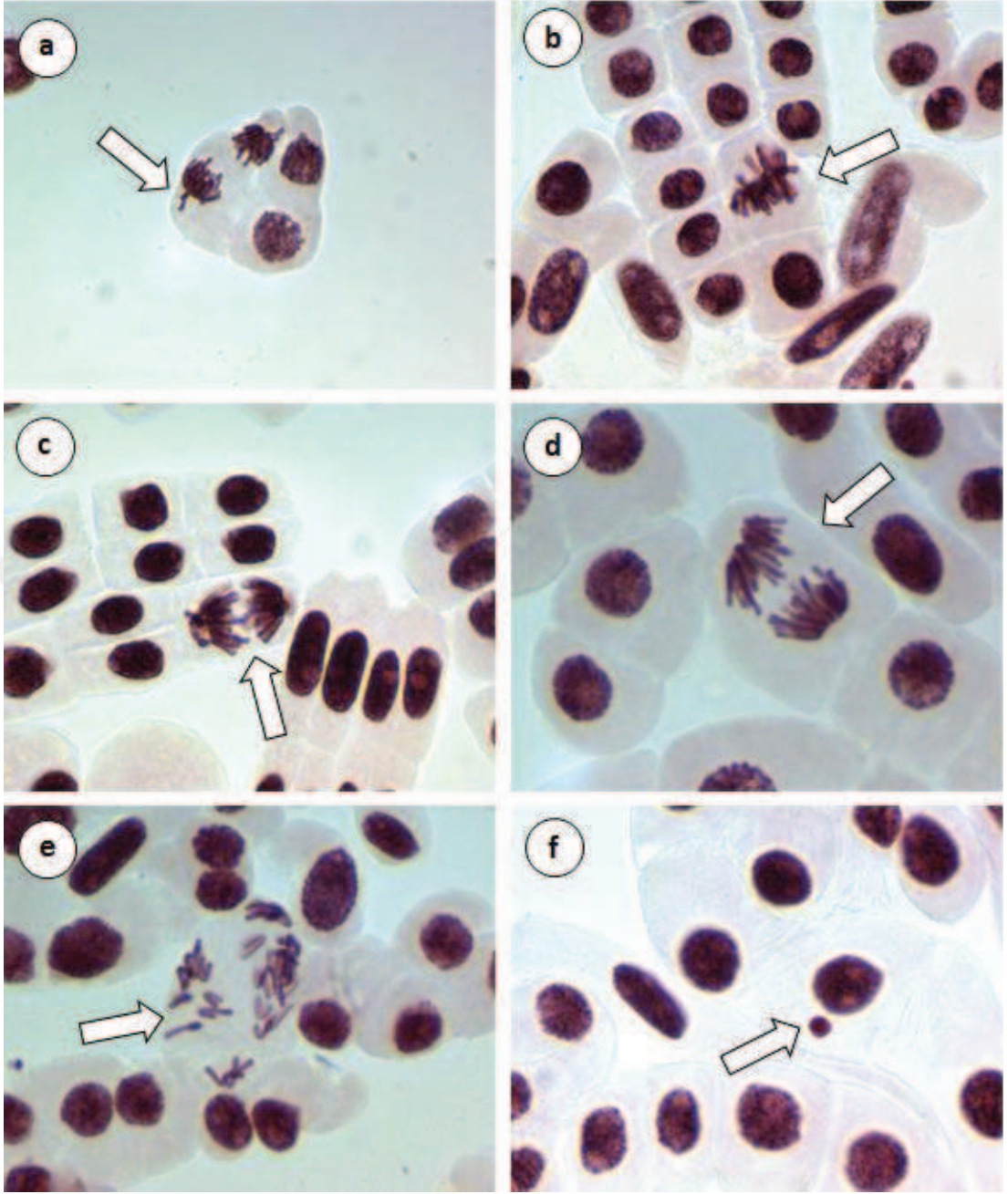
*Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0,05$).

A. cepa kök ucu hücrelerinde Benzil benzoat'ın farklı dozları tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar Tablo 4.5 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Yapılan mikroskopik inceleme sonucunda meydana gelen kromozomal hasar sıklığının sırasıyla fragment>yapışkan kromozom>kromozom köprüsü> kromatinin eşit olmayan dağılımı>c-mitoz şeklinde olduğu belirlenmiştir. Benzil benzoat'ın kromozomlar üzerinde en büyük etkisi ise fragment oluşumu şeklinde olmuştur. Kontrol grubunda bir kaç yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, c-mitoz dışında herhangi bir kromozomal hasara rastlanılmazken, uygulama gruplarında oluşan tüm kromozomal hasarlar uygulama dozuna bağlı olarak artış göstermiştir. Uygulanan Benzil benzoat dozundaki artış ile birlikte oluşan kromozomal hasar sayılarının arttığı ve bu artışların ise istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0,05$) belirlenmiştir.

Tablo 4.5. Benzil benzoat'ın sebep olduğu kromozomal hasarlar

Gruplar	Kök ucu sayısı	Mitotik hücre sayısı	FRG	YK	KK	KED	CM
Grup I	10	100	0,00±0,00 ^d	0,30±0,48 ^d	0,20±0,42 ^d	0,00±0,00 ^d	0,10±0,32 ^d
Grup II	10	100	17,10±3,81 ^c	13,40±2,91 ^c	10,80±2,53 ^c	8,20±2,20 ^c	3,60±1,07 ^c
Grup III	10	100	33,10±4,77 ^b	27,60±4,48 ^b	20,90±5,15 ^b	14,80±4,08 ^b	9,50±2,07 ^b
GrupIV	10	100	65,20±7,36 ^a	46,70±8,10 ^a	39,90±8,12 ^a	30,20±6,70 ^a	23,40±5,62 ^a

Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Kromozomal hasarlar için, her bir gruptaki her bir kök ucunda 100 hücre, toplamda ise 1000 hücre analiz edildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05). (FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, KK: kromozom köprüsü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, CM: c-mitoz).



Şekil 4.1. Benzil benzoat tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a: fragment, b: yapışkan kromozom, c: kromozom köprüsü, d: kromatinin eşit olmayan dağılımı, e: c-mitoz, f: MN).

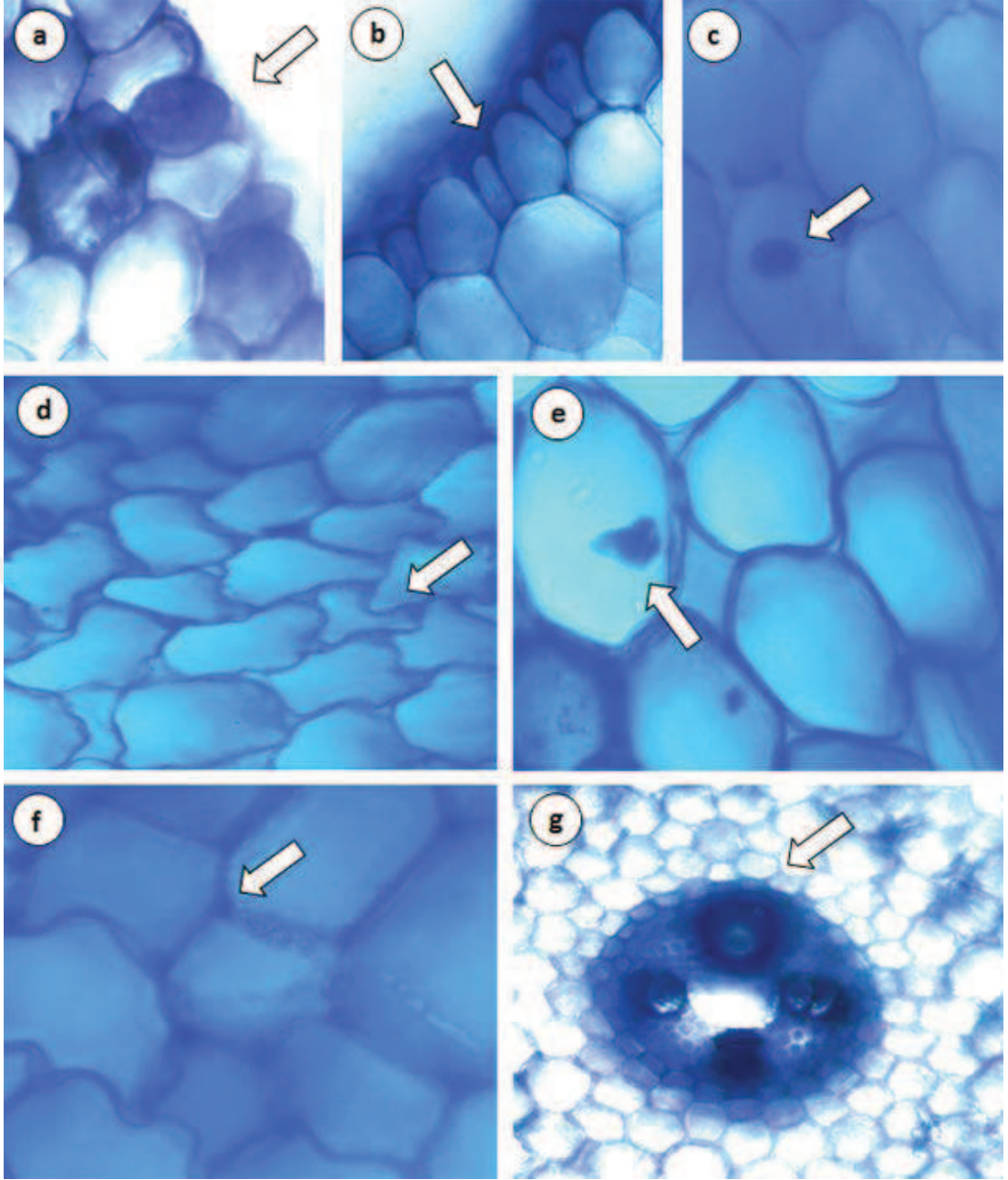
Benzil benzoat uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde Mitotik İndeks (MI) üzerine etkisi Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde en yüksek MI kontrol grubu olan Grup I'de %9,02 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre MI oranının, 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II'de %0,94, 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de %2,02 ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise %3,67 oranlarında daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular incelendiğinde artan Benzil benzoat dozuyla birlikte MI'in azaldığı, diğer bir ifadeyle MI ile Benzil benzoat uygulama dozunun ters orantı gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca gruplar arasında belirlenen MI farklarının ise istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Tablo 4.6. Benzil benzoat'ın Mitotik İndeks (MI) üzerine etkisi

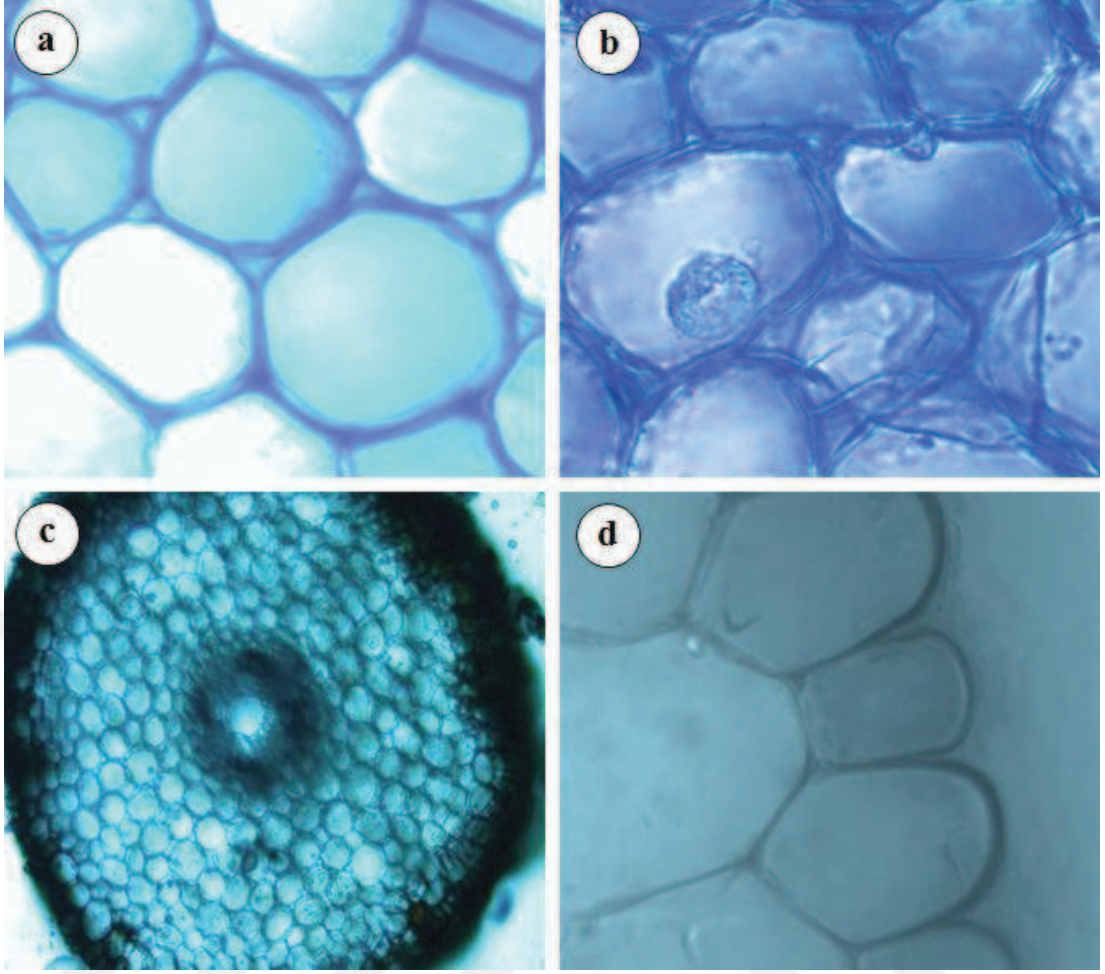
Gruplar	Kök Uçları Sayısı (n)	Mitotik İndeks (MI)	Yüzde (%)
Grup I	10	901,50±32.35 ^a	9,02
Grup II	10	808,40±30.84 ^b	8,08
Grup III	10	699,50±32.86 ^c	7,00
Grup IV	10	534,70±16.67 ^d	5,35

Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). MI hasarlar için, her bir gruptaki her bir kök ucunda 1.000 hücre, toplamda ise 10.000 hücre analiz edildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0,05$).

Mikroskopik gözlemler sonucunda Benzil benzoat uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde belirgin anatomik hasarlara neden olduğu gözlenmiştir. Bu hasarlar nekroz, hücre deformasyonu, yassılaşmış hücre çekirdeği, korteks hücre deformasyonu, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, korteks hücre çeper kalınlaşması ve belirgin olmayan iletim doku şeklindedir (Şekil 4.2). Yapılan incelemeler sonucunda kontrol grubu kök ucu hücre ve dokularında herhangi bir anatomik değişime rastlanılmazken (Şekil 4.3), uygulama gruplarında Benzil benzoat uygulama dozundaki artışa bağlı olarak oluşan anatomik hasarların oranında artış meydana geldiği belirlenmiştir.



Şekil 4.2. *A. cepa* kök ucu meristematik hücrelerinde Benzil benzoat uygulamasının neden olduğu anatomik değişimler (a: nekroz, b: hücre deformasyonu, c: yassılaştırılmış hücre çekirdeği, d: korteks hücre deformasyonu, e: korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, f: korteks hücre çeper kalınlaşması, g: belirgin olmayan iletim doku).



Şekil 4.3. Kontrol grubu kök ucu meristematik hücrelerinin görünüşleri (a: korteks hücrelerinin olağan görünüşü, b: hücre çekirdeğinin olağan şekli, c: iletim dokunun olağan görünüşü, d: epitel hücrelerinin olağan görünüşü).

Benzil benzoat uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde MDA düzeyleri üzerine etkisi Tablo 4.7’de gösterilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde en düşük MDA düzeyi kontrol grubu olan Grup I’de ortalama $10,00 \pm 1,89 \mu\text{mol/g T.A.}$ olarak ölçülmüştür. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MDA düzeyinin 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II’de 1,45 katına, 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III’de 1,83 katına ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV’de ise 2,21 katına yükseldiği tespit edilmiştir. Tabloda sunulan veriler incelendiğinde artan Benzil benzoat dozuyla birlikte MDA düzeyinin arttığı, diğer bir ifadeyle MDA düzeyi ile Benzil benzoat uygulama dozu arasında doğru orantı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca gruplar arasında belirlenen MDA düzey farklarının ise istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

Tablo 4.7. Benzil benzoat'ın kök ucu hücrelerinde Malondialdehit (MDA) [$\mu\text{mol/g T.A.}$] düzeyleri üzerine etkisi

Gruplar	Minimum MDA	Maksimum MDA	Ortalama MDA
Grup I	8	13	10,00 \pm 1,89 ^d
Grup II	12	17	14,50 \pm 1,72 ^c
Grup III	15	22	18,30 \pm 2,54 ^b
Grup IV	18	27	22,10 \pm 3,18 ^a

Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat. Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05).

Benzil benzoat uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde, SOD düzeyleri üzerine etkisi Tablo 4.8'de gösterilmiştir. SOD düzeyleri incelendiğinde, en düşük SOD düzeyi kontrol grubunda ortalama 75,00 \pm 8,20 $\mu\text{mol/g T.A.}$ olarak ölçülmüş, SOD düzeylerinin kontrol grubuna göre Grup II'de ortalama 1,25 katına, Grup III'de ortalama 2,09 katına ve Grup IV'de ise ortalama 2,41 katına yükseldiği tespit edilmiştir. Benzil benzoat dozundaki artışla birlikte SOD düzeyinin arttığı, diğer bir ifadeyle SOD düzeyi ile Benzil benzoat uygulama dozu arasında doğru bir orantı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca gruplar arasında belirlenen SOD düzeyi farklarının ise istatistiksel açıdan önemli olduğu gözlenmiştir (P<0,05).

Tablo 4.8. Benzil benzoat'ın kök ucu hücrelerinde Süperoksit Dismutaz (SOD) [U/mg T.A.] düzeyleri üzerine etkisi

Gruplar	Minimum SOD	Maksimum SOD	Ortalama SOD
Grup I	60	85	75,00 \pm 8,20 ^d
Grup II	80	110	94,00 \pm 9,47 ^c
Grup III	140	175	157,00 \pm 12,43 ^b
Grup IV	160	200	180,70 \pm 13,60 ^a

Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat. Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05).

Benzil benzoat uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde CAT düzeyleri üzerine etkisi Tablo 4.9’da gösterilmiştir. En düşük CAT düzeyi kontrol grubunda ortalama $1,17 \pm 0,25$ $\mu\text{mol/g T.A.}$ olarak ölçülürken, CAT düzeyinin kontrol grubuna göre Grup II’de ortalama 1,21 katına, Grup III’de ortalama 1,55 katına ve Grup IV’de ise ortalama 1,91 katına yükseldiği tespit edilmiştir. Artan Benzil benzoat dozuyla birlikte CAT düzeyinin arttığı, diğer bir ifadeyle CAT düzeyi ile Benzil benzoat uygulama dozu arasında doğru orantı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca gruplar arasında belirlenen CAT düzeyi farklarının ise istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

Tablo 4.9. Benzil benzoat’ın kök ucu hücrelerinde Katalaz (CAT) [$\text{OD}_{240\text{nm}}/\text{dk g T.A.}$] düzeyleri üzerine etkisi

Gruplar	Minimum CAT	Maksimum CAT	Ortalama CAT
Grup I	0,75	1,45	$1,17 \pm 0,25^d$
Grup II	1,21	1,55	$1,42 \pm 0,12^c$
Grup III	1,65	1,95	$1,81 \pm 0,11^b$
Grup IV	1,96	2,45	$2,24 \pm 0,18^a$

Grup I: Kontrol, Grup II: 10.000 mg/L Benzil benzoat, Grup III: 25.000 mg/L Benzil benzoat, Grup IV: 50.000 mg/L Benzil benzoat. Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi ($n = 10$). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0,05$).

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Benzil benzoat'ın 10.000 mg/L, 25.000 mg/L ve 50.000 mg/L dozlarının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği fizyolojik, sitogenetik, anatomik ve biyokimyasal değişimler incelenmiştir. Fizyolojik değişimler; kök uzunluğu, ağırlık artışı ve çimlenme yüzdesinin belirlenmesi ile, sitogenetik değişimler; kromozomal anormallikler, mikronükleus (MN) sıklığı ve mitotik indeks (MI)'in belirlenmesi ile, anatomik değişimler; kök ucu hücrelerinde meydana gelen anatomik değişimlerin belirlenmesi ile, biyokimyasal değişimler ise lipid peroksidasyonu tayini ve antioksidan enzim analizleri ile tespit edilmiştir. Lipid peroksidasyonu MDA düzeyinin, antioksidan enzim analizleri ise SOD ve CAT düzeylerinin ölçülmesiyle tespit edilmiştir. Benzil benzoat'ın toksik etkileri üzerine gerçekleştirilen yeterli ve kapsamlı çalışmaların bulunmaması ise gerçekleştirilen bu çalışmanın önemini bir kat daha arttırmaktadır.

A. cepa test materyaline Benzil benzoat'ın farklı dozlarıyla muamele edilmesi, çimlenmeyi inhibe edici etki göstermiştir. Kontrol grubunda %100, Grup II'de %83, Grup III'de %63 ve Grup IV'de ise %47 oranında çimlenme yüzdesi tespit edilmiştir. Uygulanan Benzil benzoat dozundaki artış ile birlikte çimlenme yüzdesinin azaldığı, diğer bir ifadeyle artan Benzil benzoat dozu ile çimlenme yüzdesinin ters orantı gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürde Benzil benzoat'ın kök uzunluğu üzerine etkilerini araştıran kapsamlı bir çalışma bulunmamakla birlikte, elde edilen sonuçları destekleyen, diğer gıda katkı maddeleri ve kimyasal maddeler ile gerçekleştirilmiş benzer çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Singh (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada gıda, ilaç ve kozmetik alanlarında renklendirici katkı maddesi olarak kullanılan tartrazin, *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek tohumlarına 0,05 ppm ve 0,1 ppm dozlarında uygulanmış, sonuç olarak 0,05 ppm tartrazin uygulanan grupta %90 oranında çimlenme meydana geldiği, 0,1 ppm tartrazin uygulanan grupta ise

çimlenme olmadığı ve uygulama dozuna bağlı olarak çimlenme yüzdesinin azaldığı rapor edilmiştir. Pereira ve ark. (2010) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise bitlenme ve uyuz hastalığı tedavisinde kullanılan bir insektisit olan ve benzen moleküllerinin klorlanması ile üretilen heksaklorosikloheksanın 300, 600, 1250, 2500, 5000, 7500, 10000 ve 12500 mg/kg dozları, *Triticum aestivum* L., *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Trifolium pratense* L., *Trifolium repens* L., *Pisum sativum* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Brassica sp.* ve *Solanum nigrum* L. bitkilerine uygulamış, sonuç olarak *Trifolium repens* L.'in çimlenmediği, *Trifolium pratense* L.'nin çimlenme oranının düşük olduğu, *Triticum aestivum* L., *Pisum sativum* L. ve *Solanum nigrum* L.'de uygulama konsantrasyonunun artmasıyla birlikte çimlenme oranlarında kademeli bir azalma meydana geldiği ve çimlenme oranının %50'nin altına düştüğü, *Triticum aestivum* L. çimlenmesinin 5000 mg/kg ve üzeri dozlarda önemli oranda etkilendiği, *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Brassica sp.* ve *Phaseolus vulgaris* L. bitkilerinde ise çimlenme oranındaki azalmaların yüksek konsantrasyonlarda meydana geldiği belirlenmiştir. Bidlan ve ark. (2004) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise farklı heksaklorosikloheksan'ın farklı dozlarının turp ve maş fasulyesinde çimlenme üzerine etkileri araştırılmış, sonuç olarak her iki tür için de çimlenme yüzdesinin uygulama dozuna bağlı olarak azaldığı bildirilmiştir.

Benzil benzoat diğer fizyolojik parametre olan kök uzunluğu üzerinde de inhibe edici etki göstermiştir. Benzil benzoat'ın uygulama dozundaki artış ile birlikte, kök uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ortalama $8,25 \pm 0,81$ cm kök uzunluğu ölçülürken, 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II'de ortalama $5,58 \pm 0,75$ cm, 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de ortalama $3,13 \pm 0,60$ cm ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise ortalama $1,30 \pm 0,37$ cm kök uzunluğu ölçülmüştür. En fazla kök uzunluğu kontrol grubunda, en düşük kök uzunluğu ise Benzil benzoat'ın 50.000 mg/L dozuyla muamele edilen Grup IV'de belirlenmiştir. Çalışmada elde ettiğimiz bulguları destekleyen, diğer araştırmacılar tarafından farklı gıda katkı maddeleri ve koruyucuları ile gerçekleştirilmiş benzer çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin Onyemaobi ve ark. (2012) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada *A. cepa* test materyaline, sodyum

metabisülfid (E-223) ve sodyum benzoat (E-211)'in 0,25M, 0,10M, 0,05M ve 0,025M dozlarıyla 3, 6, 9 ve 24 saat süresince muamele edilmiş, sonuçta yüksek konsantrasyonlara ve daha uzun muamele süresine maruz kalan *A. cepa* dokularında, her iki koruyucu katkı maddesinin de kök uzunluğu artışında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Adeyemo ve Farinmade (2013) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise gıdalarda lezzet artırıcı katkı maddesi olarak kullanılan monosodyum glutamat (MSG), *A. cepa* test materyaline 1,0 g/L, 3,0 g/L, 5,0 g/L ve 7,0 g/L dozlarında uygulanarak, beş gün süresince kök uzunluğunda meydana gelen değişimler ölçülmüş, sonuçta MSG uygulamasının tüm test konsantrasyonlarında kök büyümesini inhibe ettiği ve bunun yüksek dozlarda istatistiksel olarak daha önemli olduğu bildirilmiştir. Koç ve Pandir (2018) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise *A. cepa* test materyaline gıda maddelerinde renklendirici olarak kullanılan günbatımı sarısı (E-110) ve brilliant blue (E-133) katkı maddelerinin farklı dozlarıyla muamele edilmiş, sonuçta kök uzunluğunda meydana gelen artışın, artan uygulama dozuna bağlı olarak azalış gösterdiği tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen çalışmada Benzil benzoat uygulamasının bir diğer fizyolojik parametre olan ağırlık artışı üzerinde de inhibe edici bir etki gösterdiği belirlenmiştir. 72 Saatlik uygulama periyodu sonunda, kontrol grubunda ortalama 7,71 g, 10.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup II'de ortalama 4,88 g, 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de ortalama 2,96 g ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise ortalama 0,44 g'lık bir ağırlık artışı ölçülmüştür. Uygulanan Benzil benzoat dozu ile ağırlık artışı arasında ters bir orantı olduğu tespit edilmiştir. Literatürde Benzil benzoat'ın ağırlık artışı üzerine etkilerini araştıran kapsamlı bir çalışma bulunmamasına rağmen, bazı hastalıkların tedavisinde ve insektlerle mücadelede kullanılan kimyasal maddelerle gerçekleştirilmiş benzer çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Kumar ve Singhal (2009) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek tohumlarına 0,1 mg/mL, 1,0 mg/mL ve 2,5 mg/mL dozlarında lateks ekstresi, 0,05 mg/mL ve 0,5 mg/mL dozunda genital lezyonların tedavisi için topikal olarak kullanılan bir bitki toksini olan podofilotoksin, 1,0 mg/mL ve 10,0 mg/ mL dozunda DNA alkilleyici bir ilaç olan siklofosfamid, 0,5 mg/mL ve 1,0 mg/mL dozunda histamin ve serotonin

antagonisti olan siproheptadin, 0,5 mg/mL ve 2,0 mg/mL dozunda ise steroidal olmayan bir anti-inflamatuar ilaç olan aspirin uygulanmış ve radikula uzunlukları 1,0 ile 1,5 cm arası uzunluğa ulaştığında yapılan ağırlık ölçümleri sonucunda, siproheptadin dışındaki tüm gruplarda, uygulanan kimyasal maddelerin dozuna bağlı olarak ağırlık artışında azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir. Arslanoğlu (2011) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise *A. cepa* test materyaline 600, 1200 ve 1800 ppm dozlarında Basudin 60 EM insektisiti uygulanmış, sonuçta artan doza bağlı olarak ağırlık kazanımında azalma meydana geldiği rapor edilmiştir. Çavuşoğlu ve ark. (2012b) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise 100 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarında tiyametoksam insektisiti *A. cepa* test materyaline uygulanmış, sonuç olarak artan uygulama dozunun ağırlık kazanımında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada Benzil benzoat uygulamasının sitogenetik etkileri MN ile kromozomal hasar oluşumu ve MI oranının belirlenmesiyle araştırılmıştır. Benzil benzoat'ın *A. cepa* kök ucu hücrelerinde, uygulama dozuna bağlı olarak MN oluşumunu teşvik ettiği belirlenmiştir. Mikroskopik incelemeler sonucunda, kontrol grubunda ortalama $0,30 \pm 0,48$ oranında MN oluşumuna rastlanırken, 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II'de ortalama $11,80 \pm 2,74$ oranında, 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de ortalama $24,70 \pm 3,34$ oranında ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise ortalama $47,60 \pm 5,34$ oranında MN oluşumu tespit edilmiştir. Uygulama sonucunda Benzil benzoat dozundaki artışla doğru orantılı olarak, MN sıklığının da arttığı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bulguları destekleyen, diğer gıda katkı maddeleri ve kimyasal maddeler ile gerçekleştirilmiş benzer çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Dönbak ve ark. (2002) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılan borik asitin *A. cepa* test materyali üzerine sitogenetik etkileri araştırılmış, sonuçta borik asitin MN oluşumuna neden olduğu rapor edilmiştir. Gomes ve ark. (2013) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerine gıdalarda renklendirici katkı maddeleri olarak kullanılan günbatımı sarısı (E-110), bordeaux kırmızısı (E-123) ve tartrazin sarısı (E-102) uygulanmış, sonuçta katkı maddesi uygulamasının MN oluşumuna neden olduğu rapor edilmiştir. Soykan

ve Koca (2014) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise diklorvos insektisitinin 2 ml/L, 4 ml/L, 6 ml/L'lik dozları 12, 24 ve 48 saat süresince *A. cepa* test materyaline uygulanmış, sonuçta diklorvos uygulamasının MN oluşumunu teşvik ettiği rapor edilmiştir.

Mikroskopik gözlemler sonucunda, Benzil benzoat uygulamasının teşvik ettiği kromozomal hasar sıklığının sırasıyla fragment>yapışkan kromozom>kromozom köprüsü> kromatinin eşit olmayan dağılımı>c-mitoz şeklinde olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda bir kaç yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, c-mitoz dışında herhangi bir kromozom hasarına rastlanılmazken, uygulama gruplarında kromozomal hasarların uygulama dozuna bağlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bulgularımızı destekleyen, diğer gıda katkı maddeleri ve insektisitler ile gerçekleştirilmiş benzer çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Türkoğlu (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılan sodyum benzoat, borik asit, sitrik asit ve potasyum sitrat *A. cepa* bulbarına 20, 40, 60, 80 ve 100 ppm dozlarında uygulanmış, sonuçta anafaz köprüsü, c-mitoz, geri kalmış kromozom ve yapışkan kromozom şeklinde kromozomal hasarlar meydana geldiği, meydana gelen toplam kromozomal hasar miktarının uygulama dozuna ve süresine bağlı olarak artış gösterdiği rapor edilmiştir. Yılmaz ve ark. (2008) tarafından gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan sitrik asit (E-330) ve benzoik asit (E-210)'in *Allium sativum* L. kök ucu hücreleri üzerine sitogenetik etkileri araştırılmış, sitrik asit ve benzoik asit uygulamasının yapışkan kromozom, c-mitoz, geri kalmış kromozom, fragment ve köprü şeklinde kromozomal hasar oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir. Singh ve ark. (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise *Hordeum vulgare* L. tohumlarına %0,05, %0,1 ve %0,5 konsantrasyonlarında profenofos insektisiti ve mankozeb fungusiti ile muamele edilmiş, sonuçta uygulama dozuna bağlı olarak kromozomal anormallik oluşumunda artış meydana geldiği, oluşan kromozomal hasarların düzensiz metafaz, kromozom köprüleri, geri kalmış kromozom, kromozomal kırıklar ve diyagonal anafaz şeklinde olduğu rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, Benzil benzoat'ın *A. cepa* kök ucu hücrelerinde Mitotik İndeks (MI) üzerinde de etki gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek MI kontrol grubunda %9,02, 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II'de %8,08, 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de %7,00 ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise %5,35 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde, artan Benzil benzoat dozuyla birlikte MI'in azaldığı, diğer bir ifadeyle MI ile Benzil benzoat uygulama dozunun ters orantı gösterdiği belirlenmiştir. Diğer gıda katkı maddeleri ve insektisitler ile gerçekleştirilmiş ve bulgularımızı destekleyen benzer çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin Njagi ve Gopalan (1982) tarafından *Vicia faba* L. kök ucu hücrelerine gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılan sodyum benzoat ve sodyum sülfidin farklı dozları uygulanmış, sonuçta MI'de uygulama dozuna bağlı olarak azalma meydana geldiği bildirilmiştir. Rencüzoğulları ve ark. (2001) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise gıdalarda renklendirici katkı maddesi olarak kullanılan sodyum metabisülfidin 7,5 mg/L, 15 mg/L ve 30 mg/L dozları 10 ve 20 saat süresince *A. cepa* test materyaline uygulanmış, her iki uygulama süresince de MI'nin uygulama dozuna bağlı olarak azalma gösterdiği belirlenmiştir. Sinha ve ark. (1989) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise %0,25, %0,50, %0,75 ve %1,0 dozlarında fosolon insektisitinin *A. cepa* test materyaline uygulanması sonucunda, kök meristem hücrelerinde MI'in uygulama dozu ve süresine bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Yapılan mikroskobik gözlemler neticesinde, Benzil benzoat uygulamasının *A. cepa* kök ucu meristematik hücrelerinde ciddi hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Meydana gelen hasarlar nekroz, hücre deformasyonu, yassılaştırmış hücre çekirdeği, korteks hücre deformasyonu, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, korteks hücre çeper kalınlaşması ve belirgin olmayan iletim doku şeklindedir. Yapılan çalışma sonucunda kontrol grubu kök ucu hücrelerinde herhangi bir anatomik hasara rastlanılmazken, uygulama gruplarında Benzil benzoat dozundaki artışa bağlı olarak, oluşan anatomik hasarların oranında artış meydana geldiği gözlenmiştir. Literatürde Benzil benzoat'ın bitki kök ucu hücrelerinde sebep olduğu anatomik hasarlar ile ilgili gerçekleştirilmiş kapsamlı bir çalışma bulunmadığından, elde edilen sonuçlar diğer kimyasal ajanlarla gerçekleştirilen çalışmaların verileri ile tartışılmıştır. Örneğin

Bıçakcı ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, diazinon uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde yassılaştırmış hücre çekirdeği, belirgin olmayan iletim doku, hücre deformasyonu, korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, nekroz ve iletim dokuda bazı maddelerin birikimi şeklinde anatomik hasarlara neden olduğu, bu hasarların sıklığının ise uygulama dozundaki artışla birlikte arttığı bildirilmiştir. Kaya ve Çalı (2015) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise spiromesifen insektisitinin *Cucumis sativus* L. bitkisi üzerine anatomik etkileri araştırılmış, sonuçta bitkinin yapraklarında; anormal stoma yapısı gelişimi, toplam palizat ile sünger alanları ile toplam yaprak kalınlığı değerlerinde ve palizat ile sünger parankimalarının en ile boy değerlerinde azalma, bitki gövdesinde; epidermis ile trake en ve boy değerlerinde kontrol grubuna göre azalma ve meyve enine kesitlerinde dış tabakaya yakın parankimatik hücrelerde şekil değişiklikleri meydana geldiği tespit edilmiştir. Çavuşoğlu ve ark. (2011) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise glifosat uygulamasının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde belirgin olmayan vasküler doku, hücre deformasyonu, belirgin olmayan epidermis tabakası, binükleer hücre ve anormal hücre nükleusu şeklinde anatomik değişimlere neden olduğu gözlenmiştir.

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada, Benzil benzoat'ın *A. cepa* kök ucu hücrelerinde lipid peroksidasyonu üzerine etkileri de araştırılmıştır. Lipid peroksidasyonu, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve lipidlerin oksidatif bozulmasına, özellikle de çoklu doymamış yağ asitleri ve MDA üretiminin artmasına neden olan metabolik bir işlemdir (Odjegba ve Adeniran, 2015). MDA membran lipidlerinin oksitlenmiş bir ürünü olmakla birlikte oksidatif stres seviyesini gösteren bir biyolojik belirteçtir (Janero, 1990). ROS üretilmesi, bitkilerde normal aerobik metabolizmanın kaçınılmaz bir süreci olarak tanımlanmaktadır. Dört ana ROS türü tekli oksijen (1O_2), süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^-)'dir. ROS; DNA, RNA, protein ve lipid de dahil olmak üzere biyolojik moleküllerin peroksidasyonuna yol açarak zarar verebilmektedir (Shah ve ark., 2001; Dinakar ve ark., 2010). Serbest oksijen grupları DNA üzerinde etki göstererek nükleik asitlerin yapısal değişikliklerine ve sonuçta kromozomlarda değişiklikler ile beraber mutasyonlara da neden olabilmektedir (Yarsan, 2014). Benzil benzoat uygulaması

neticesinde en düşük MDA düzeyi kontrol grubunda ortalama $10,00 \pm 1,89$ $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak belirlenirken, 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II'de ortalama $14,50 \pm 1,72$ $\mu\text{mol/g}$ T.A., 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de ortalama $18,30 \pm 2,54$ $\mu\text{mol/g}$ T.A. ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise ortalama $22,10 \pm 3,18$ $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak tespit edilmiştir. Artan Benzil benzoat dozuyla MDA düzeyinin arttığı, diğer bir ifadeyle MDA düzeyi ile Benzil benzoat uygulama dozunun doğru orantı gösterdiği belirlenmiştir. Literatürde Benzil benzoat'ın bitki test materyallerinde lipid peroksidasyonu üzerine etkisini araştıran kapsamlı bir çalışma bulunmaması sebebiyle, bulgularımız diğer kimyasal maddelerin bitkilerde lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini inceleyen benzer çalışmaların bulguları ışığında tartışılmıştır. Örneğin Patnaik ve ark. (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada krom (VI) uygulamasının *A. cepa* kök ucu dokularında MDA düzeyinde artışa neden olduğu, Liu ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise yüksek dozda kurşun (Pb) uygulamasının *Allium sativum* L. kök ucu dokularında MDA düzeyinde artışa neden olduğu, Wang ve ark. (2008) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise bentazon herbisitinin pirinç MDA düzeyinde artışa neden olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada ayrıca Benzil benzoat'ın *A. cepa* kök ucu hücrelerinde antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkileri de araştırılmıştır. Antioksidan enzim aktivitesi SOD ve CAT düzeylerinin ölçülmesiyle tespit edilmiştir. Serbest radikallere karşı aerobik organizmalar tarafından çeşitli savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Koruyucu antioksidanlar adı verilen enzimlerden biri olan CAT hidroperoksitleri veya hidrojen peroksiti ayrıştırarak, SOD ise aktif oksijeni söndürerek ve değiştirerek serbest radikallerin ve aktif oksijenin oluşumunu azaltmaktadır (Comporti, 1993). SOD düzeyinin Benzil benzoat maruziyeti ile süperoksit radikali şeklinde ROS oluşumunun bir sonucu olarak artmış olabileceği düşünülmektedir. Süperoksit, SOD dahil antioksidan enzimlerden sorumlu genleri tetikleyen sinyal transdüksiyonunun merkezi bileşeni olarak kabul edilmektedir (Alvarez ve Lamb, 1997). Gerçekleştirilen çalışma sonucunda elde edilen SOD aktiviteleri incelendiğinde en düşük SOD düzeyi kontrol grubunda ortalama $75,00 \pm 8,20$ $\mu\text{mol g}^{-1}$ T.A. olarak ölçülürken, 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II'de ortalama

94,00±9,47 $\mu\text{mol/g}$ T.A., 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de ortalama 157,00±12,43 $\mu\text{mol/g}$ T.A. ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise ortalama 180,70±13,60 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak ölçülmüştür. CAT aktiviteleri incelendiğinde ise en düşük CAT düzeyi kontrol grubunda ortalama 1,17±0,25 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak tespit edilirken, 10.000 mg/L dozunda Benzil benzoat uygulanan Grup II'de ortalama 1,42±0,12 $\mu\text{mol/g}$ T.A., 25.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup III'de ortalama 1,81±0,11 $\mu\text{mol g}^{-1}$ T.A. ve 50.000 mg/L Benzil benzoat uygulanan Grup IV'de ise ortalama 2,24±0,18 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak tespit edilmiştir. Artan Benzil benzoat dozuyla birlikte SOD ve CAT düzeylerinin arttığı, diğer bir ifadeyle SOD ve CAT düzeyleri ile Benzil benzoat uygulama dozu arasında doğru orantı olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde pek çok çalışmada, kimyasal maddeler tarafından oluşturulan strese bağlı olarak *Allium* türlerinde antioksidan enzim aktivitelerinin yükseldiği rapor edilmiştir. Örneğin Fatma ve ark. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, farklı dozlarda klorpirifos ve mankozeb insektisitlerinin *A. cepa* yapraklarındaki CAT ve SOD düzeylerine etkisi araştırılmış, sonuçta her iki insektisit de artan dozlarının CAT ve SOD düzeylerinde artışa sebep olduğu rapor edilmiştir. Çavuşoğlu ve ark. (2012a) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise sipermetrin insektisitinin *A. cepa* kök uçlarında antioksidan enzim düzeyleri üzerine etkileri araştırılmış, sonuçta uygulama doz ve süresine bağlı olarak SOD ve CAT düzeylerinde artış meydana geldiği bildirilmiştir. Zhang ve ark. (2005) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise kadmiyum uygulamasının *Allium sativum* L. yapraklarında SOD ve CAT düzeylerini başlangıçta inhibe ettiği, ancak uygulama devam ettiğinde ise süreye bağlı olarak SOD ve CAT düzeylerinde artış meydana geldiği tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen çalışmada elde edilen tüm veriler incelendiğinde; Benzil benzoat uygulaması, *A. cepa* test materyalinde araştırılan fizyolojik parametreler üzerinde inhibe edici etki göstermiştir. Bu durumun, Benzil benzoat'ın hücre döngüsü üzerinde inhibitör bir etki göstermiş olması nedeniyle meydana gelmiş olabileceği düşünülmektedir. Fizyolojik parametrelerde meydana gelen inhibasyon, benzoat toksisitenin bir belirteci olarak değerlendirilmektedir. Benzil benzoat'ın MN sıklığı ile kromozomal hasar oluşumunda artışa, MI oranında ise azalışa sebep olmasının,

hücrel savunma mekanizmaları tarafından detoksifiye edilebilenden daha fazla ROS üretmesinden ve bununda tolere edilemeyerek DNA'da hasar meydana getirmesinden kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. MDA, SOD ve CAT düzeylerinde meydana gelen artışlar da bu durumu desteklemektedir. Ayrıca Benzil benzoat uygulamasına bağlı olarak iletim doku ve kök ucu hücrelerinde meydana gelen anatomik değişimler, bitkinin hücrel düzeyde Benzil benzoat alınımını engellemeye yönelik geliştirdiği savunma mekanizmalarının olduğu, fakat bu mekanizmalara rağmen uygulanan yüksek Benzil benzoat dozları sebebiyle kimyasal maddenin bitkiye nüfuz etmesi sonucunda meydana gelmiş olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır.

Sonuç olarak; gıda, sağlık, kozmetik ve tarımsal üretim gibi birçok farklı alanda kullanılan Benzil benzoat'ın, belirli konsantrasyonlara ulaşması halinde toksik etkiler gösterebileceği *A. cepa* test materyali kullanılarak tespit edilmiştir. Bu nedenle Benzil benzoat maruziyetinin, canlılarda sebep olacağı zararlar dikkate alınarak kullanımından vazgeçilmeli, kullanımının zaruri olduğu hastalık tedavileri gibi durumlarda ise mutlaka uygun doz aralığı belirlenmeli ve kullanım alanları sınırlandırılmalıdır.

Ayrıca *A. cepa* test materyali kullanılarak gerçekleştirilen bu çalışmada, çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı gibi fizyolojik parametrelerin toksisitenin hızlı bir şekilde tespitinde önemli ön belirteçler olduğu, kromozomal anormallikler, MN oluşumu ve MI oranı gibi sitogenetik parametrelerin ise toksisitenin biyolojik olarak izlenmesinde hassas biyobelirteçler olduğu anlaşılmıştır. Bunun yanı sıra MDA, SOD ve CAT düzeylerinin belirlenmesinin ise meydana gelen toksisitenin sebep ve etki mekanizmalarının açıklanmasına ve kök ucu meristematik hücrelerinde meydana gelen anatomik değişimlerin ise kimyasal ajanın bitki bünyesine alınması sırasında bitkinin verdiği hücrel tepkilerin anlaşılmasına katkı sağladığı belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Adeyemo, O.A., Farinmade, A.E. 2013. Genotoxic and cytotoxic effects of food flavor enhancer, monosodium glutamate (MSG) using *Allium cepa* assay. African Journal of Biotechnology, 12(13): 1459-1466.
- Akay, C. 2004. Biyomarkörlerin toksikolojide kullanımı. Gülhane Tıp Dergisi, 46(1): 73-83.
- Alam, G., Jones, B.C. 2014. Toxicogenetics: in search of host susceptibility to environmental toxicants. Frontiers in Genetics, 5: 1-5.
- Alvarez, M.E., Lamb, C. 1997. Oxidative burst mediated defense responses in plant disease resistance. İçinde: Scandalios, J.G. Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 815-840.
- Andersen, F.A. 2003. Safety assessment of salicylic acid, butyloctyl salicylate, calcium salicylate, C12-15 alkyl salicylate, capryoyl salicylic acid, hexyldodecyl salicylate, isocetyl salicylate, isodecyl salicylate, magnesium salicylate, MEAsalicylate, ethylhexyl salicylate, potassium salicylate, methyl salicylate, myristyl salicylate, sodium salicylate, TEA-salicylate, and tridecyl salicylate. International Journal of Toxicology, 22(3): 1-108.
- Ansari, K.A., Kaplan, E., Shoeman, D. 1989. Age-related changes in lipid peroxidation and protective enzymes in the central nervous system. Growth Development and Aging, 53(3): 117-121.
- Antosiewicz, D. 1990. Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of ledakrin. Folia Histochem. Cytobiology, 28(1-2): 79-95.
- Arslanoğlu, İ. 2011. Basudin 60 Em ve Cupravit Ob 21 Pestisitlerinin *Allium cepa* Bitkisi Üzerindeki Fizyolojik, Sitogenetik ve Biyokimyasal Etkileri. Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Ash, M., Ash, I. 2004. Handbook of Preservatives. Synapse Information Resources, 292-293.
- Atik, M., Karagüzel, O., Ersoy, S. 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(2): 203-210.
- Badr, A., Ghareeb, A. El-Din, H.M. 1992. Cytotoxicity of some pesticides in mitotic cells of *V. faba* roots. Egypt. J. Appl. Sci, 7: 457-468.
- Badr, A., Ibrahim, A.G. 1987. Effect of herbicide glean on mitosis chromosomes and nucleic acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* root meristems. Cytologia, 52(2): 293-302.

- Bağcı, T. 1997. Gıda katkı maddeleri ve sağlığımız üzerine etkileri. Haccettepe Tıp Dergisi, 28(1): 18-23.
- Baum, J.A., Scandalios, J.G. 1981. Isolation and characterization of cytosolic and mitochondrial superoxide dismutases of maize. Archives of Biochemistry and Biophysics, 206(2): 249-261.
- Beauchamp, C., Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44(1): 276-287.
- Beers, R.F., Sizer, I.W. 1952. Colorimetric method for estimation of catalase. Journal of Biological Chemistry, 195: 133-139.
- Bıçakcı, U., Çavuşoğlu, K., Yapar, K., Acar, A., Yalçın, E. 2017. *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde diazinon toksisitesinin araştırılması. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(3): 49-56.
- Bidlan, R., Afsar, M., Manonmani, H.K. 2004. Bioremediation of HCH-contaminated soil: elimination of inhibitory effects of the insecticide on radish and green gram seed germination. Chemosphere, 56(8): 803-811.
- Bowler, C., Van Montagu, M., Inze, D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43(1): 83-116.
- Branen, A.L., Davidson, P.M., Salminen, S., Thorngate, J. 2005. Food additives Second Edition Revised and Expanded. CRC Press, Newyork, 1-2.
- Buckley, D.A. 2007. Fragrance ingredient labelling in products on sale in the UK. British Journal of Dermatology, 157(2): 295-300.
- Campbell, W.C., Rew, R.S. 1986. Chemotherapy of Parasitic Diseases. Plenum Press, Springer, Newyork, 545.
- Chandra, S., Chauhan, L.K.S., Murthy, R.C., Saxena, P.N., Pande, P.N. Gupta, S.K. 2005. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium cepa*. Science of the Total Environment, 347(1-3): 46-52.
- Chang, J.H., Becker, A., Ferguson, A., Manfreda, J., Simons, E., Chan, H., Noertjojo, K., Chan-Yeung, M. 1996. Effect of application of benzyl benzoate on house dust mite allergen levels. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 77(3): 187-190.
- Charles, A.K., Darbre, P.D. 2009. Oestrogenic activity of benzyl salicylate benzyl benzoate and butylphenylmethylpropional (Lilial) in MCF7 human breast cancer cells *in vitro*. Journal of Applied Toxicology, 29(5): 422-434.
- Chauhan, L.K.S., Dikshith, T.S.S., Sundararaman, V. 1986. Effect of deltamethrin on plant cells. I. Cytological effects of deltamethrin on the rootmeristem cells of *Allium cepa*. Mutation Research/Genetic Toxicology, 171(1): 25-30.
- Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N. Gupta, S.K. 1999. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. Environmental and Experimental Botany, 42(3): 181-189.

- Comporti, M. 1993. Lipid peroxidation. Biopathological significance. *Molecular Aspects of Medicine*, 14(3): 199-207.
- Constantine, M.J. Owens, E.T. 1982. Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays, A report of the US Environmental Protection Agency Genotox Program. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 99(1): 1-12
- Countryman, P.I., Heddle, J.A. 1976. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 41(2): 321-331.
- Çakmak, A., Vatansever, Z. 1997. Hayvanlarda Uyuz Hastalığı, Artropod Hastalıkları ve Vektörler. *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları*, 317-337.
- Çakmak, I., Marschner, H., 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, 98(4): 1222-1226
- Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., Türkmen, Z., Yapar, K., Çavuşoğlu, K., Çiçek, F. 2011. Investigation of toxic effects of the glyphosate on *Allium cepa*. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 17: 131-142.
- Çavuşoğlu, K., Kaya, A., Yılmaz, F., Yalçın, E. 2012a. Effects of cypermethrin on *Allium cepa*. *Environmental Toxicology*, 27(10): 583-589.
- Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., Türkmen, Z., Yapar, K. Sağır, S. 2012b. Physiological, anatomical, biochemical, and cytogenetic effects of thiamethoxam treatment on *Allium cepa* (amaryllidaceae) L.. *Environmental Toxicology*, 27(11): 635-643.
- Dahl, M.V. 1983. The immunology of scabies. *Annals of Allergy*, 51(6): 560-566
- Darlington, C.D., McLeish, J. 1951. Action of maleic hydrazide on the cell. *Nature*, 167(4245); 407-408.
- Davies., K.J.A. 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General Aspects. *Journal of Biological Chemistry*, 262(20): 9895-9901.
- De-Faria, L., Jaworska, H. 1972. The relation between the chromosome size gradient and the sequence of DNA replication in rye. *Hereditas*, 70: 39-57.
- Dinakar, C., Abhaypratap, V., Yearla, S.R., Raghavendra, A.S., Padmasree, K. 2010. Importance of ROS and antioxidant system during the beneficial interactions of mitochondrial metabolism with photosynthetic carbon assimilation. *Planta*, 231(2): 461-474.
- Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R. 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). *Journal of Experimental Botany*, 52(358): 1101-1109.
- Dönbak, L., Rencüzogullari, E., Topaktas, M. 2002. The cytogenetic effects of the food additive boric acid in *Allium cepa* L.. *Cytologia*, 67(2): 153-157.
- Eastmond, D.A., Tucker, J.D. 1989. Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 13(1): 34-43.

- Eising, R., Trelease, R.N., Ni, W. 1990. Biogenesis of catalase in glyoxysomes and leaf-type peroxisomes of sunflower cotyledons. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 278(1): 258-264.
- El-Ghamery, A.A., El-Nahas, A.I. Mansour, M.M. 2000. The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia*, 65(3): 277-287.
- El-Ghamery, A.A., El-Kholy, M.A., El-Yusser, M.A. 2003. Evaluation of cytological effects of Zn^{2+} in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L.. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 537(1): 29-41.
- Erkmen, O., Bozoglu, T.F. 2008. *Food Microbiology 3: Food Preservation*. İlke Yayinevi - Gazi Üniversitesi Vakfı, Ankara.
- European Commission. 2012. Commission Implementing Regulation (EU) No 872/2012 of 1 October 2012 adopting the list of flavouring substances provided for by Regulation (EC) No 2232/96 of the European Parliament and of the Council, introducing it in Annex I to Regulation (EC) No 1334/2008 of the European Parliament and of the Council and repealing Commission Regulation (EC) No 1565/2000 and Commission Decision 1999/217/EC. *Official Journal of the European Union*, 267: 1-161.
- Fatima, R.A., Ahmad, M. 2005. Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. *Science of Total Environment*, 346(1-3): 256-273.
- Fatma, F., Verma, S., Kamal, A., Srivastava, A. 2018. Phytotoxicity of pesticides mancozeb and chlorpyrifos: correlation with the antioxidative defence system in *Allium cepa*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24(1): 115-123.
- Fenech, M. 2000. The *in vitro* micronucleus technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1): 81-95.
- Fenech, M., Chang, W.P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S., Zeiger, E. 2003. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 534(1): 65-75.
- Fenech, M., Crott, J. W. 2002. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes—evidence for breakage–fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1): 131-136.
- Fenech, M. 2010. The lymphocyte cytokinesis-block micronucleus cytome assay and its application in radiation biodosimetry. *Health Physics*, 98(2): 234-243.
- Fernandes, T.C.C., Mazzeo, D.E.C., Marin-Morales, M.A. 2007. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(3): 252-259.

- Fiskesjö, G. 1985. The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas*, 102(1): 99-112.
- Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 274(1): 1-11.
- Fukasawa, K. 2005. Centrosome amplification, chromosome instability and cancer development. *Cancer Letters*, 230(1): 6-19.
- Ghosh, M., Bandyopadhyay, M., Mukherjee, A. 2010. Genotoxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles at two trophic levels: plant and human lymphocytes. *Chemosphere*, 81(10): 1253-1262.
- Gomes, K.M.S., Oliveira, M.V.G.A., Carvalho, F.R.S., Menezes, C.C., Peron, A.P. 2013. Citotoxicity of food dyes sunset yellow (E-110), bordeaux red (E-123), and tartrazine yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. *Food Science and Technology*, 33(1): 218-223.
- Gossett, D.R., Millhollon, E.P., Lucas, M.C. 1994. Antioxidant responses to NaCl stress in salt tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Science*, 34(3): 706-714.
- Gossett, D.R., Banks, S.W., Millhollon, E.P., Lucas, M.C. 1996. Antioxidant response to NaCl stress in a control and an NaCl-tolerant cotton cell line grown in the presence of paraquat, buthionine sulfoximine, and exogenous glutathione. *Plant Physiology*, 112(2): 803-809.
- Graham, B.E., Kuizenga, M.H. 1945. Toxicity studies on benzyl benzoate and related benzyl compounds. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 84(4): 358-362.
- Grant, W.F. 1982. Chromosome aberration assays in *Allium*: A report of the US Environmental Protection Agency gene-tox program. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 99(3): 273-291.
- Grant, W.F. 1994. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 310(2): 175-185.
- Gupta, R.C. 2014. *Biomarkers in Toxicology*. Academic Press, Elsevier, San Diego, California, USA, 389-391.
- Habif, T.P. 2016. *Clinical Dermatology: a Color Guide to Diagnosis and Treatment*. Sixth Edition, Elsevier, 588.
- Halliwell, B. 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, 16(1): 33-50.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *İçinde: Packer, L., Glazer, A.N. Oxygen Radicals in Biological Systems Part B: Oxygen Radicals and Antioxidants*. Academic Press, Newyork, 1-85.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA, 543.

- Harris, E.D. 1992. Regulation of antioxidant enzymes. The FASEB Journal, 6(9): 2675-2683.
- Hassan, M.M., Mossa, J.S. 1981. Benzyl benzoate. İçinde: Analytical Profiles of Drug Substances. Academic Press, Newyork, 55-74.
- Havir, A.E., McHale, N.A. 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. Plant Physiology, 84(2): 450-455.
- Hayes, W.J., Laws, E.R. 1991. Handbook of Pesticide Toxicology. Volume 3, Classes of Pesticides, Academic Press, Newyork, USA, 1507.
- Henderson, C.A., Nykia, M. 1992. Treatment of scabies in rural East Africa-a comparative study of two regimens. Tropical Doctor, 22(4): 165-167.
- Higashi, T., Kawamata, F., Sakamoto, T. 1974. Studies on rat liver catalase: VII. double-labeling of catalase by ^{14}C -leucine and ^3H - δ -aminolevulinic acid. The Journal of Biochemistry, 76(4): 703-708.
- Högstedt, B., Karlsson, A. 1985. The size of micronuclei in human lymphocytes varies according to inducing agent used. Mutation Research/Genetic Toxicology, 156(3): 229-232.
- Huang, A.H.C., Trelease, R.N., Moore, T.S. 1983. Plant Peroxisomes. Academic Press, New York, USA, 213.
- Janero, D.R. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radical Biology and Medicine, 9(6): 515-540.
- Jantan, I.B., Yalvema, M.F., Ahmad, N.W., Jamal, J.A. 2005. Insecticidal Activities of the Leaf Oils of Eight Cinnamomum. species Against *Aedes aegypti*. and *Aedes albopictus*. Pharmaceutical Biology, 43(6): 526-532.
- JECFA Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Toxicological evaluation of certain food additives. 1996. Prepared by the 44th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives (JECFA). International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva.
- Kabarity, A., El-Bayoumi, A.S. Habib, A.A. 1974. Effect of morphine sulphate on mitosis of *Allium cepa* root tips. Biologia Plantarum, 16(4): 275-282.
- Kaminski, P., Koim-Puchowska, B., Puchowski, P., Jerzak, L., Wieloch, M., Bombolewska, K. 2012. Enzymatic antioxidant responses of plants in saline anthropogenic environments. İçinde: Dhal, N.K. Plant Science. InTechOpen.
- Kamm, O., Kamm, W.F. 1941. Benzyl benzoate. İçinde: Organic Synthesis, Cilt 1, John-Wiley & Sons Inc, New York, USA, 104.
- Kar, A. 2003. Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. New Age International, New Delhi, 880.
- Karanlık, S. 2001. Değişik Buğday Genotiplerinde Tuz Stresine Dayanıklılık ve Dayanıklılığın Fizyolojik Nedenlerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak ABD, Doktora Tezi.

- Kaya, E. Çalı, İ.Ö. 2015. Spiromesifen Etken Maddeli Bir İnsektisitinin *Cucumis sativus* L. (Hıyar) Bitkisi Üzerine Morfolojik ve Anatomik Etkileri. Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi, 36(5): 64-70.
- Kinderlerer, J.L., Hatton, P.V. 1990. Fungal metabolites of sorbic acid. Food Additives and Contaminants, 7(5): 657-669.
- Kirsch-Volders, M., Elhajouji, A., Cundari, E., Van Hummelen, P. 1997. The *in vitro* micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 392(1): 19-30.
- Koç, K., Pandir, D. 2018. All aspect of toxic effect of brilliant blue and sunset yellow in *Allium cepa* roots. Cytotechnology, 70(1):449-463.
- Koçkaya, E.A., Kılıç, A. 2014. Developmental toxicity of benzyl benzoate in rats after maternal exposure throughout pregnancy. Environmental Toxicology, 29(1): 40-53.
- Kumar, V.L., Singhal, A. 2009. Germinating seeds of the mung bean, *Vigna radiata* (Fabaceae), as a model for the preliminary evaluation of cytotoxic effects of drugs. Biocell, 33(1): 19-24.
- Lechno S., Zamski E., Telor E. 1997. Salt stress-induced responses in cucumber plants. Journal of Plant Physiology, 150(1-2): 206-211.
- Levan, A. 1938. The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. Hereditas, 24(4): 471-486.
- Liu, D., Jiang, W., Li, M. 1992. Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. Hereditas, 117(1), 23-29.
- Liu, D., Jiang, W., Wang, W., Zhai, L. 1995. Evaluation of metal ion toxicity on root tip cells by the *Allium* test. Israel Journal of Plant Sciences, 43(2): 125-133.
- Liu, D., Zou, J., Meng, Q., Zou, J., Jiang, W. 2009. Uptake and accumulation and oxidative stress in garlic (*Allium sativum* L.) under lead phytotoxicity. Ecotoxicology, 18(1): 134-143.
- Maibach, H.I., Gorouhi, F. 2011. Evidence Based Dermatology Second Edition. People's Medical Publishing House, Shelton, Connecticut, USA, 408-415.
- Mañas, F., Peralta, L., Raviolo, J., Ovando, H.G., Weyers, A., Ugnia, L., Cid, M.G., Larripa, I., Gorla, N. 2009. Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. Environmental Toxicology and Pharmacology, 28(1): 37-41.
- McDonald, L.G., Tovey, E. 1993. The effectiveness of benzyl benzoate and some essential plant oils as laundry additives for killing house dust mites. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 92(5): 771-772.
- McGill, M., Pathak, S., Hsu, T.C. 1974. Effect of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: a possible material basis for chromosome stickiness. Chromosoma, 47(2): 157-167.

- Micali, G., Lacarrubba, F. 2016. *Dermatoscopy in Clinical Practice: Beyond Pigmented Lesions*. CRC Press, Taylor and Francis Group, Florida, USA, 21-22.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M., Volokita, M. 2004. Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Journal of Experimental Botany*, 55(399): 1105-1113.
- Mullen, R.T., Gifford, D.J. 1993. Purification and characterization of catalase from loblolly pine (*Pinus taeda* L.) megagametophytes. *Plant Physiology*, 103(2): 477-483.
- Njagi, G.D.E., Gopalan, H.N.B. 1982. Cytogenetic effects of the food preservatives-sodium benzoate and sodium sulphite on *Vicia faba* root meristems. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 102(3): 213-219.
- Odjegba, V.J., Adeniran, R.A. 2015. Bentazone herbicide induces genotoxic effect and physiological disorders in non-targeted *Allium cepa* L.. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(4): 375-379.
- Olasode, O.A., Onayemi, O. 1998. Scabies: revisit in a depressed economy. *The Central African Journal of Medicine*, 44(1): 18-21.
- Onyemaobi, O.I., Williams, G.O., Adekoya, K.O. 2012. Cytogenetic Effects of Two Food Preservatives, Sodium Metabisulphite and Sodium Benzoate on the Root Tips of *Allium cepa* Linn. *Ife Journal of Science*, 14(1): 155-165.
- Öztürk, S., Erel, F., Çalışkaner, A.Z., Karaayvaz, M., Güleç, M., Kartal, Ö. 2007. Kronik idiyopatik ürtiker’de katkı maddeli gıdalar ile doğal gıdalarda bulunan vazoaktif maddelerin rolü. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(5): 351-356.
- Panda, B.B., Sahu, U.K. 1985. Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fensulfothion. *Cytobios*, 42: 147-155.
- Patnaik, A.R., Achary, V.M.M., Panda, B.B. 2013. Chromium (VI)-induced hormesis and genotoxicity are mediated through oxidative stress in root cells of *Allium cepa* L.. *Plant Growth Regulation*, 71(2): 157-170.
- Pereira, R.C., Monterroso, C., Macías, F. 2010. Phytotoxicity of hexachlorocyclohexane: Effect on germination and early growth of different plant species. *Chemosphere*, 79(3): 326-333.
- Pons-Guiraud, A., Vigan, M. 2004. *Allergies and Cosmetics*. Expansion Scientifique Française, Paris, 37-80.
- Prakash, N.S., Lakshmi, N., Harini, I. 1988. Cytological effects of agricultural chemicals II. Effects of fungicides “bavistin” and “deltan” on chilli (*Capsicum annuum* L.). *Cytologia*, 53(4): 709-715.
- Puppo, A., Halliwell, B. 1988. Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Is haemoglobin a biological Fenton reagent. *Biochemical Journal*, 249(1): 185-190.
- Qian, X.W. 2004. Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science*, 5(12): 1570–1576.

- Rameshkumar, K.B., George, V. 2006. *Cinnamomum sulphuratum* Nees—a benzyl benzoate-rich new chemotype from southern western ghats, India. *Journal of Essential Oil Research*, 18(5): 521-522.
- Rank, J., Jensen, A.G., Skov, B., Pedersen, L.H., Jensen, K. 1993. Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and *Allium* anaphase-telophase test. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 300(1): 29-36.
- Rank, J., Nielsen, M.H. 1994. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 312(1): 17-24.
- Reifferscheid, G., Buchinger, S. 2017. *In Vitro* Environmental Toxicology-Concepts, Application and Assessment. Springer, Cham, Switzerland, 61-62.
- Rencüzoğulları, E., Kayraldız, A., İla, H.B., Çakmak, T., Topaktaş, M. 2001. The cytogenetic effects of sodium metabisulfite, a food preservative in root tip cells of *Allium cepa* L.. *Turkish Journal of Biology*, 25(4):361-370.
- Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C., Del Rio, L.A. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany*, 52(364): 2115-2126.
- Saxena, P.N., Chauhan, L.K.S., Gupta, S.K. 2005. 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.
- Schneiderman, N., Pearl, L., Wilson, W., Metcalf, F., Moore, J.W., Swadlow, H.A. 1971. Stimulus control in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) as a function of different intensities of intracranial stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 76(2): 175-186.
- Searle, R. 1995. *Population Growth, Resource Consumption, and the Environment: Seeking a Common Vision for a Troubled World*. Wilfrid Laurier Univ Press, Canada, 1-132.
- Seth, C.S., Misra, V., Chauhan, L.K.S., Singh, R.R. 2008. Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and Comet assay approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(3): 711-716.
- Shah, K., Kumar, R.G., Verma, S., Dubey, R.S. 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Science*, 161(6): 1135-1144.
- Singh, P., Srivastava, A.K., Singh, A.K. 2007. Comparative sensitivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) to insecticide and fungicide on different stages of cell cycle. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89(3): 216-219.
- Singh, Z. 2017. Toxicological Assessment of Tartrazine on Seed Germination Capacity of *Vigna radiata* (L.). *International Journal of Life Sciences and Technology*, 10(8): 75-78.

- Sinha, R.K., Choudhury, R., Mallick, R. 1989. Cytological effects of Phosalone on root meristem of *Allium cepa* L.. Cytologia, 54(3): 429-435.
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M., Toman, M.J. 1996. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. Mutation Research/Genetic Toxicology, 368(3-4): 171-179.
- Soliman, M.I. 2001. Genotoxicity testing of neem plant (*Azadirachta indica* A. Juss.) using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. Journal of Biological Sciences, 1(11): 1021-1027.
- Somashekaraiah, B.V., Padmaja, K., Prasad, A.R.K. 1992. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. Physiologia Plantarum, 85(1): 85-89.
- Soykan, H.S., Koca, S. 2014. Dichlorvos'un (DDVP) *Allium cepa* L. kök ucu meristem hücrelerinde mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkileri. Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi, 35(3): 36-45.
- Staykova, T.A., Ivanova, E.N., Velcheva, I.G. 2005. Cytogenetic Effect of Heavy Metal and Cyanide in Contaminated Waters From The Region of Southwest Bulgaria. Journal of Cell and Molecular Biology, 4(1): 41-46.
- Sterling, G.B., Janniger, C.K., Kihiczak, G., Schwartz, R.A., Fox, M.D. 1992. Scabies. American Family Physician, 46(4): 1237-1241.
- Stroinski, A. 1999. Some physiological and biochemical aspects of plant resistance to cadmium effect. I. Antioxidative system. Acta Physiologiae Plantarum, 21(2): 175- 188.
- Stuart, M.C., Kouimtzi, M., Hill, S.R. 2009. WHO Model Formulary 2008. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 311-312.
- Tayfur, M., Ünalın, K. 1998. Gıda katkı maddeleri. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi, 7(1): 12-14.
- Teixeira, R.O., Camparoto, M.L., Mantovani, M.S. Vicentini, V.E.P. 2003. Assesment of two medicinal plants *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L., in *in vitro* and *in vivo* assays, Genetics and Molecular Biology, 26(4): 551-555.
- Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E. 1996. Genotoxic effects of marshall in *Allium cepa* L.. Turkish Journal of Botany, 20(6): 481-487.
- Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E. 2010. Sitogenetik. 2. Baskı. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 176.
- Türkoğlu, Ş. 2007. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 626(1): 4-14.
- Türkoğlu, Ş. 2008. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. Food and Chemical Toxicology, 46(6): 2035-2041.

- Ünal, M., Vardar, F. İsmailoğlu, I. 2008. Hücre Biyolojisi Laboratuvarı. Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 128.
- Ünyayar, S., Çelik, A., Çekiç, F.Ö., Gözel, A. 2006. Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*. *Mutagenesis*, 21(1): 77-81.
- Üstüner, D. 2011. Kromozom kırıkları ve mikronükleus-apoptoz bağlantısı. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(1): 64-69.
- Van Emden, H.F., Peakall, D.B. 1996. *Beyond Silent Spring: Integrated Pest Management and Chemical Safety*. Chapman & Hall Ltd, Springer, Netherlands, 320.
- Vanparys, P., Vermeiren, F., Sysmans, M., Temmerman, R. 1990. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. *Mutation Research Letters*, 244(2): 95-103.
- Vicentini, V.E.P., Camparoto, M.L., Teixeira, R.O. Mantovani, M.S. 2001. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. *Acta Scientiarum*, 23(2): 593-598.
- Von Ledebur, M., Schmid, W. 1973. The micronucleus test methodological aspects. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 19(1): 109-117.
- Vural, N. 2005. *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 659.
- Wang, Y., Lu, X., Sun, M., Song, F., Li, L., Gao, T., Yang, J. 2008. Physiological research on the difference of bentazone tolerance in wild type rice and sensitive lethal mutants. *Acta Agronomica Sinica*, 34(9): 1615-1622.
- Webster, P.L. Davidson, D. 1969. Changes in the duration of the mitotic cycle induced by colchicine and Indol-3yl acetic acid in *Vicia faba* roots. *Journal of Experimental Botany*, 20(3): 671-685.
- Wenninger, J.A., R.C. Canterbury, and G. N. McEwen, J. 2000. *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*. 8th ed., Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Washington D.C., 126-131.
- Wexler, P., Anderson, B., Peyster, A., Gad, S., Hakkinen, P.J., Kamrin, M., Locey, B., Pope, C., Shugart, L. 2005. *Encyclopedia of Toxicology*. Second Edition, Volume 1, Academic Press, Newyork, USA, 264-265.
- Willekens, H., Villarroel, R., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Camp, W. 1994. Molecular identification of catalases from *Nicotiana plumbaginifolia* (L.). *FEBS Letters*, 352(1): 79-83.
- Wishart, D.S., Feunang, Y.D., Guo, A.C., Lo, E.J., Marcu, A., Grant, J.R., Assempour, N. Iynkkaran, I., Liu, Y., Maciejewski, A., Gale, N., Wilson, A., Chin L., Cummings, R., Le, D., Pon, A., Knox, C., Wilson, M. 2017. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Research*, 46(D1): D1074-D1082.

- WHO. 2001. Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Benzyl Benzoate. <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=1171> Erişim Tarihi: 10.05.2018
- Yarsan, E. 2014. Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 9(1): 89-95.
- Yentür, G., Ekşi, A., Bayhan, A. 1996. Ankara piyasasından sağlanan pasta süsleri ve bazı şekerlerde sentetik boya miktarının araştırılması. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 43: 479-484
- Yılmaz, S., Ünal, F., Aksoy, H., Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M. 2008. Cytogenetic effects of citric acid and benzoic acid on *Allium* chromosomes. Fresenius Environmental Bulletin, 17(8a): 1029-1037.
- Yi, H., Meng, Z. 2003. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 537(1): 109-114.
- Zeliger, H. 2011. Human Toxicology of Chemical Mixtures. William Andrew, Elsevier, USA, 174-175.
- Zengin, N., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H. 2011. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. Food and Chemical Toxicology, 49(4): 763-769.
- Zhang, H., Jiang, Y., He, Z., Ma, M. 2005. Cadmium accumulation and oxidative burst in garlic (*Allium sativum*). Journal of Plant Physiology, 162(9): 977-984.
- Zhong, H.H., Young, J.C., Pease, E.A., Hangarter, R.P., McClung, C.R. 1994. Interactions between light and the circadian clock in the regulation of CAT2 expression in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 104(3): 889-898.

ÖZGEÇMİŞ

Ali ACAR 1987 yılında Giresun'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Giresun'da tamamladı. 2008 Yılında başladığı Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2012 yılında mezun oldu. Aynı yıl girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programını Haziran 2014'de tamamladı. 2014 yılında başladığı Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı'nı ise Haziran 2018'de tamamladı. 2015 Yılında Giresun Üniversitesi'nde Öğretim Görevlisi olarak çalışmaya başladı. Halen Öğretim Görevlisi olarak görev yapmaktadır. Yabancı dili İngilizcedir.