

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ALLIUM CEPA* L.'DA DİETİL FTALAT'IN SEBEP
OLDUĞU FİZYOLOJİK, ANATOMİK VE
SİTOGENETİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Güray DEMİRTAŞ

Enstitü Anabilim Dalı : **BİYOLOJİ**
Tez Danışmanı : **Doç.Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU**
Ortak Danışman : **Doç.Dr. Emine YALÇIN**

Haziran 2018

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALLIUM CEPA L.'DA DİETİL FTALAT'IN SEBEP
OLDUĞU FİZYOLOJİK, ANATOMİK VE
SİTOGENETİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

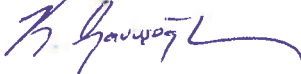
Güray DEMİRTAŞ

Enstitü Anabilim Dalı

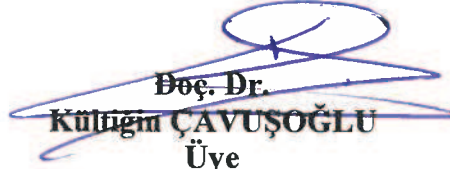
:

BİYOLOJİ

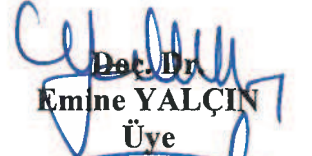
Bu tez 20/06/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.



**Prof. Dr.
Kürşat ÇAVUŞOĞLU
Jüri Başkanı**



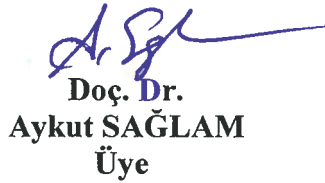
**Doç. Dr.
Kültüm ÇAVUŞOĞLU
Üye**



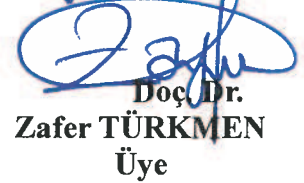
**Doç. Dr.
Emine YALÇIN
Üye**



**Doç. Dr.
Bahar BİLGİN SÖKMEN
Üye**



**Doç. Dr.
Aykut SAĞLAM
Üye**



**Doç. Dr.
Zafer TÜRKMEN
Üye**



**Doç. Dr.
Göktuğ DALGIÇ
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 bulunduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Güray DEMİRTAŞ

20/06/2018

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr. Kültiğin ÇAVUŞOĞLU'na, tez çalışmamın her aşamasında bilimsel destek sağlayan değerli hocam Doç.Dr. Emine YALÇIN'a, Ayrıca hayatımın her aşamasında beni yreklendiren, öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen canım aileme teŐekkürü bir borç bilirim.

Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: FEN-BAP-C-200515-11) teşekkür 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	2
2.1. Ftalatların Kullanım Alanları	2
2.2. Dietil Ftalat.....	4
2.2.1. Kimyasal Yapısı	4
2.2.2.Dietil Ftalat'ın Kullanım Alanları ve Çevresel Etkileri.....	5
2.2.3. Dietil Ftalat'ın Çevresel Döngüsü	7
2.2.3.1. Havada Yayılımı.....	7
2.2.3.2. Suda Yayılımı	7
2.2.3.3. Toprakta Yayılımı.....	10
2.3. Ftalatların Toksik Etkileri.....	11
2.3.1. Ftalatların Genotoksik ve Karsinojenik Etkileri.....	11
2.3.2. Ftalatların Epigenetik Etkileri.....	15
2.3.3.Ftalatların Hepatotoksik Etkileri.....	16
2.4. <i>Allium cepa</i> Testi.....	16
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM	19
3.1. Araştırma Materyali ve Uygulanan Dozlar	19
3.2. Fizyolojik Parametrelerin Ölçümü	19

3.3. Kromozomal Anormallik, Mitotik İndeks (MI) ve Mikronükleus (MN) Testi.....	20
3.3.1 Asetokarmin Çözeltilisinin Hazırlanması.....	20
3.4. Anatomik Hasarların Mikroskopik Gözlemi.....	20
3.5. Biyokimyasal Analizler.....	21
3.5.1. Lipid Peroksidasyonu Tayini.....	21
3.5.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini.....	21
3.5.3. Katalaz Aktivite Tayini (CAT)	22
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI	23
4.1. Dietil Ftalat'ın Çimlenme Üzerine Etkisi.....	23
4.2. Dietil Ftalat'ın Kök Uzunluğu Üzerine Etkisi	23
4.3. Dietil Ftalat'ın Ağırlık Artışı Üzerine Etkisi	25
4.4. Dietil Ftalat'ın Kök Ucu Hücrelerinde Teşvik Ettiği MN Sıklığı.....	25
4.5. Dietil Ftalat Tarafından Teşvik Edilen Kromozomal Hasarlar.....	27
4.6. Dietil Ftalat'ın Mitotik İndeks (MI) Üzerine Etkisi.....	28
4.7. Dietil Ftalat Tarafından Teşvik Edilen Anatomik Hasarlar.....	29
4.8. Dietil Ftalat'ın Kök Ucu Hücrelerinin Malondialdehit (MDA) Düzeyine Etkisi.....	30
4.9. Dietil Ftalat'ın Kök Ucu Hücrelerinin Süperoksit Dismutaz (SOD) Oluşumuna Etkisi.....	30
4.10. Dietil Ftalat'ın Kök Hücrelerinde Katalaz (CAT) Oluşumuna Etkisi.....	31
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	47

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Pa	: Pascal
CHO	: Çin Hamster Yumurtalık Hücresi
DEHP	: Dietil Hekzil Ftalat
LC	: Letal Konsantrasyon
LD	: Letal Doz
MEHP	: Mono-2-etilheksil ftalat
MI	: Mitotik İndeks
MN	: Mikronükleus
PVC	: Polivinil Klorür

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Bazı Ftalatların Kimyasal Yapıları.....	2
Şekil 2.2. Dietil Ftalat'ın Genel Yapısı.....	4
Şekil 2.3. Anojenik ve Klastojenik etkiler ile Mikronükleus (MN) yapısındaki değişim.....	18
Şekil 4.1. Ftalat'ın Kök Uzunluğuna Etkisi.....	24
Şekil 4.2. Dietil Ftalat'ın Anojenik Ve Klastojenik Etkileri Ile Oluşan MN Yapıları.....	26
Şekil 4.3. Dietil Ftalat Tarafından Teşvik Edilen Kromozomal Hasarlar.....	28
Şekil 4.4. Dietil Ftalat Tarafından Teşvik Edilen Anatomik Hasarlar.....	29

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Bazı Ftalatların Kullanım Alanları.....	3
Tablo 2.2. Dietil Ftalat'ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	5
Tablo 4.1. Dietil Ftalat'ın Çimlenme Üzerine Etkisi.....	23
Tablo 4.2. Dietil Ftalat'ın Kök Uzunluğu Üzerine Etkisi.....	24
Tablo 4.3. Dietil Ftalat'ın Ağırlık Artışı Üzerine Etkisi.....	25
Tablo 4.4. Dietil Ftalat'ın Kök Ucu Hücrelerinde Teşvik Ettiği MN Sıklığı.....	26
Tablo 4.5. Dietil Ftalat Tarafından Teşvik Edilen Kromozomal Hasarlar.....	27
Tablo 4.6. Dietil Ftalat'ın MI Üzerine Etkisi.....	29
Tablo 4.7. Dietil Ftalat Uygulamasının Kök Ucu Hücrelerinin MDA İçeriğine Etkisi.....	30
Tablo 4.8. Dietil Ftalat Uygulamasının Kök Ucu Hücrelerinin SOD Oluşumuna Etkisi.....	31
Tablo 4.9. Dietil Ftalat Uygulamasının Kök Ucu Hücrelerinin CAT Oluşumuna Etkisi.....	31

ALLIUM CEPA L.'DA DIETİL FTALAT'IN SEBEP OLDUĞU FİZYOLOJİK, ANATOMİK VE SİTOGENETİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu alıŐmada, Dietil ftalat'ın *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde muhtemel toksik etkileri fizyolojik, anatomik ve sitogenetik parametreler yardımıyla araştırılmış, ayrıca lipid peroksidasyonu ve antioksidant enzim düzeylerine etkileri de incelenmiştir. Çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık kazanımı, mikronukleus (MN) sıklığı, mitotik indeks (MI), kromozomal anormallikler, anatomik hasarlar, Malondialdehit (MDA), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) düzeyleri toksisitenin belirteçleri olarak kullanılmıştır. Bulblar bir (1) kontrol ve üç (3) uygulama grubu olmak üzere toplam dört (4) gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki bulblar eŐme suyu, uygulama gruplarındaki bulblar ise Dietil ftalatın 1,0, 2,2, 4,4 μ M dozlarıyla 72 saat süresince muamele edilmiŐlerdir. Sonuçta, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Dietil ftalat uygulanan gruplarda çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık kazanımının azaldığı, MN ve kromozomal hasar sayıları ile MDA, SOD ve CAT düzeylerinin ise arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu artış ve azalıŐlarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($P < 0,05$) belirlenmiştir. Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda ise Dietil ftalat uygulamasının kök ucu hücrelerinde C-mitoz, fragment, kromozom köprüsü, binukleuslu hücre, anormal kutuplaşma, yapışkan kromozom ve kromatinin eşit olmayan dağılımı Şeklindeki kromozomal hasarları teşvik ettiği gözlenmiştir. Diğer yandan, Dietil ftalat *A. cepa* kök ucu meristematik hücrelerinde belirgin olmayan iletim doku, korteks hücre deformasyonu, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, epidermis hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, yassılaŐmıŐ hücre çekirdeği, nekroz ve epidermis hücrelerinde deformasyon Şeklinde hasarlara neden olmuştur. Sonuç olarak, Dietil ftalatın belirli doz seviyelerinde toksik olduğu, *A. cepa* test materyalinin ise bu etkilerin belirlenmesinde kullanışlı bir indikatr olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Allium cepa*, toksisite, fizyoloji, anatomi, Dietil ftalat, MDA, SOD, CAT.

INVESTIGATION OF PHYSIOLOGICAL, ANATOMICAL AND CYTOGENETIC CHANGES CAUSED BY DIETHYL PHTHALAT IN *ALLIUM CEPA* L.

SUMMARY

In this study, possible toxic effects of Diethyl phthalate were investigated by means of physiological, anatomical and cytogenetic parameters in *Allium cepa* L. root cells, besides lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels were also examined. The levels of germination, root length, weight gain, micronucleus (MN), mitotic index (MI), chromosomal abnormalities, anatomical damage, and the levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were used as markers of toxicity.

The bulbs are divided into four (4) groups, one (1) control and three (3) application groups. The bulbs in the control group were treated with tap water and the bulbs in the treatment groups were treated with doses of 1,0, 2,2, 4,4 μ M of Diethyl phthalate for 72 hours. As a result, it was determined that germination percentage, root length and weight gain decreased, MN and chromosomal damage numbers, MDA, SOD and CAT levels increased in Diethyl phthalate treated groups when compared with control group. In addition, these increases and decreases were statistically significant ($P < 0,05$). As a result of the microscopic studies, it has been observed that Diethyl phthalate application promotes chromosomal damage in the root cells of C-mitosis, fragment, chromosome bridge, binuclear cell, abnormal polarization, sticky chromosome and unequal distribution of chromatin. On the other hand, Diethyl phthalate causes damage to the root tip meristematic cells of *A. cepa* as nontransmissive tissue, cortex cell deformation, thickening of the cortex cell wall, accumulation of certain substances in epidermis cells, flattened cell nuclei, necrosis and deformation in epidermis cells. As a result, it has been determined that Diethyl phthalate is toxic at certain dose levels and *A. cepa* test material is a useful indicator in determining these effects.

Key words: *Allium cepa*, toxicity, physiology, anatomy, Diethyl phthalate, MDA, SOD, CAT.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

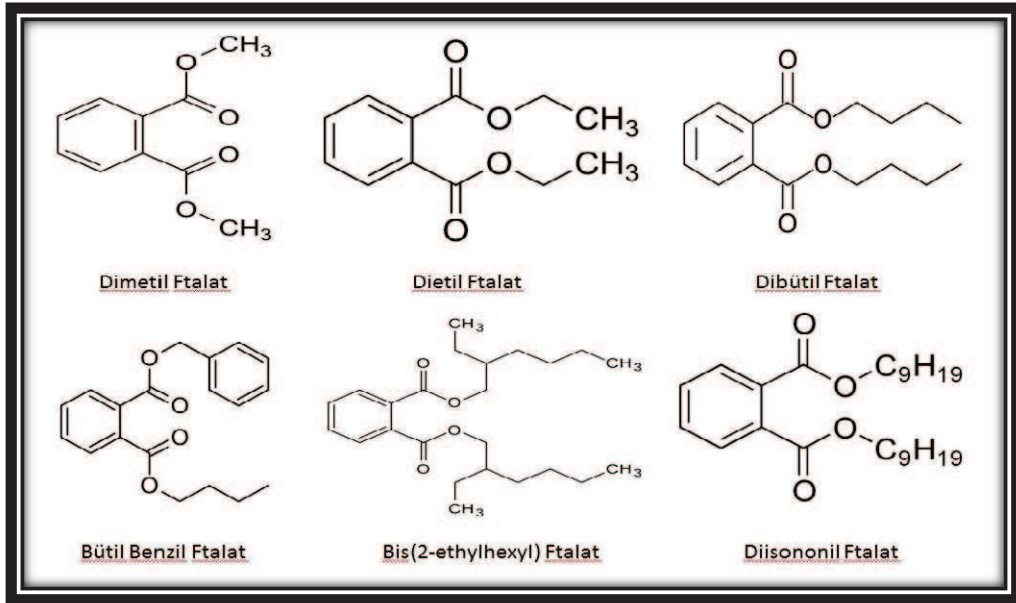
Günlük hayatımızda gelişen teknoloji, nüfusa bağlı olarak artan ihtiyaçlar ve yaşam kalitesini arttırma çabaları, birçok kimyasal madde ile doğrudan veya dolaylı olarak etkileşim halinde olmamıza neden olmuştur. Maruz kalınan kimyasallar çevre ve canlı popülasyonu üzerinde olumsuz etkilere sebep olmaktadır. En fazla maruz kalınan kimyasalların başında ise plastikler gelmektedir. Plastik kelimesi bir maddenin farklı şekillerde kalıp alması şeklinde ifade edilen, Yunancada “Plasitcos” kelimesinden gelmektedir. Plastikler oksijen, karbon, azot ve hidrojen gibi atomlardan oluşan monomerlerin polimerleşmesiyle elde edilmektedir. Plastikler ilk olarak 1968 yılında sentezlenmiştir. Kolay şekle sokulabilmeleri, elektrik yalıtkanlığı, ısı yalıtkanlığı, hafif ve esnek yapıda olmaları, aşınmaya karşı dirençli olmaları plastiklerin kullanım alanlarını oldukça genişletmektedir. Teknolojinin ilerlemesi ve nüfus oranındaki artış ise plastik kullanımında pek çok yeni uygulama alanının doğmasına sebep olmuştur. Mutfak malzemelerinde, cep telefonlarında, otomobil ve bilgisayar parçalarında, bisiklet kasklarında, elektrik endüstrisinde ve pek çok sektörde ana malzeme olarak kullanılmaktadır (Andrady ve Neal, 2009; Benjamin ve ark. 2015).

Plastiklerin hammaddesini kömür, petrol ve doğal gaz oluşturmakla birlikte, üretim aşamalarında bazı katkı maddeleriyle dayanıklılık, esneklik ve mukâvemet gibi özellikleri de arttırılabilmektedir. Ftalatlar da bu katkı maddelerinden biridir ve plastik maddeleri daha esnek hale getirmek için kullanılmaktadır. Zamanla pek çok sektörde farklı alanlarda kullanılmaya başlanmış ve yumuşaklık sağlama, çözücü, bağlayıcı ve yağ filmi oluşturma amacı ile kozmetik ve parfüm üretiminde de yaygın olarak yer almıştır. Ftalatların canlılara kontaminasyonu ile ortaya çıkan olumsuzluklar, ftalatların canlılar üzerindeki toksik etkilerinin detaylı bir şekilde araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada da dietil ftalatın *A. cepa* kök ucu hücrelerinde muhtemel toksik etkileri fizyolojik, sitogenetik, biyokimyasal ve anatomik parametreler kullanılarak incelenmiştir

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Ftalatların Kullanım Alanları

Ftalatlar, polivinil klorür (PVC) içeren maddelerden hava, su, toz, toprak ve gıdalara geçerek, insanlarda maruziyete neden olmaktadır (Waring ve Harris, 2005). Dünyanın çeşitli bölgesinde ftalat maruziyetini tespit etmek amacıyla, insan biyolojik sıvıları olan kan ve idrar üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre sanayileşmenin olduğu bölgelerde farklı dozlarda ftalat maruziyeti olduğu ortaya konulmuştur (Frederiksen ve ark., 2006; Durmaz ve ark., 2010; Serrano ve ark., 2014; Johnson ve ark., 2015). Ftalatların çalışma alanlarında tenneffüs edilmesi büyük endişe yaratmaktadır. Özellikle di (2-etilheksil) ftalat (DEHP)'ın düşük buhar basıncı nedeni ile hızla buharlaşması büyük bir tehlike oluşturmaktadır (IARC, 2012).



Şekil 2.1. Bazı Ftalatların Kimyasal Yapıları

Beslenme, genel olarak popülasyondaki ftalat maruziyetinin ana kaynağıdır. Özellikle kontamine olmuş yağlı yiyecekler (ör: balık veya yağlar) yüksek derecede ftalata maruz kalınmasına sebep olabilirler (Meek ve Chan, 1994; Wormuth ve ark., 2006) Bir diğer maruz kalma kaynağı ise kan nakli ve diyaliz işlemi yapılırken, kan saklama poşetleri ve kan nakil ekipmanlarının yapısında bulunan ftalata maruz kalınması şeklindedir (Nässberger ve ark., 1987 ; Mettang ve ark., 1999).

Tablo. 2.1. Bazı ftalatların kullanım alanları (Danish EPA-2013)

Ftalatlar	Kimyasal Adı	Kullanım Alanları
DINP	Diisononil ftalat	Kaplama malzemesi, kozmetik ürünlerin paketleri, silgiler, oyuncaklar, silikonlar, dekorasyon malzemeleri, kaydırmaz halılar
DIDP	Diisodesil ftalat	Silikonlar, oyuncaklar, kulak tıkaçları
DMP	Dimetil ftalat	Tahta oyuncaklar, florasan ürünleri
DEP	Dietil ftalat	Vücut yapıştırıcıları, esansiyel yağlar, parfümler, televizyonlar, hayvan bakım ürünleri, tütsüler, sabun paketleri, kulak tıkaçları, şampuanlar
DEHP	Dietil heksil ftalat	Banyo perdeleri, vinil tabanlar, tekstil alanı, eldivenler, kaplama malzemeleri, vinil duvar kâğıtları, çantalar, şişme yataklar, yüzme malzemeleri vb.
BBP	Bütül benzil ftalat	Kulak tıkaçları, çantalar, eldivenler, yapıştırıcılar
DBP	Dibütül ftalat	Vinil taban kaplamalar, plastik tüpler, silgiler, mobilyalar, plastik terlik ve sandaletler, yazıcı mürekkepleri
DIBP	Diisobütül ftalat	Ayakkabılar, zemin kaplamaları, mobilyalar, spor malzemeleri, çantalar, yüzme ekipmanları, endüstriyel çözücüler
DOP	Dioktil ftalat	Medikal tüpler, plastik ürünler, kan torbaları, kablolar

Ftalatlar, alkol zincirindeki karbon atomlarının sayısına, kullanım alanlarına ve toksik özelliklerine göre; yüksek molekül ağırlıklı ve düşük molekül ağırlıklı ftalatlar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Kullanımları büyük ölçüde molekül ağırlıklarına bağlıdır. DEHP gibi yüksek molekül ağırlıklı ftalatlar, inşaat malzemeleri ve giyim, gıda ve içecek ambalajı, çocuk ürünleri (oyuncaklar vb.) ve biyomedikal ekipmanlar (örneğin, kan nakli torbaları, diyaliz torbaları vb.) dahil birçok PVC ürününde kullanılmaktadır. DMP, DEP ve DBP gibi nispeten daha düşük molekül ağırlıklı

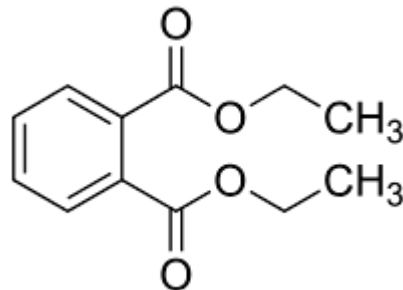
ftalatlar esas olarak koku/renk fiksatifleri veya çözücü olarak kozmetik, tekstil ve eczacılıkta kullanılmaktadırlar (Heudorf ve ark., 2007). DEHP çok çeşitli akut toksisite derecesine sahiptir ve oral öldürücü doz 50 (LD50) değerleri çeşitli türlerde 26'dan> 34 g/kg'a kadar değişmektedir.

Lawrence ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (Lawrence ve ark., 1975), DEHP'in ölümcül etkisinin, 10 hafta süresince, farelere haftada 5 kez intraperitoneal (i.p) yolla uygulanmasından sonra LD50 değerinin 1,36 g/kg olduğu rapor edilmiştir. Autian ise DEHP'nin toksik etki göstermeden önce biyotransformasyona uğradığını bildirmiştir. Sıçanlarda, solunumla alınan öldürücü konsantrasyon 1 saat maruz kalma için; 50 (LC50)> 23,670 mg/m³ (1457 ppm) 6 saat için ise LC50 değeri>600 mg/m³ (37 ppm) olarak bulunmuştur (Autian ve ark., 1982). Başka bir çalışmada ise ratlarda oral yoldan LD50 değeri 26,000 ve 34,000 mg/kg vücut ağırlığı arasında ve i.p uygulamasında LD50 değeri 30,600-49,000 mg/kg vücut ağırlığı arasında olduğu gösterilmiştir (OEHHA, 1997).

2.2. Dietil Ftalat

2.2.1. Kimyasal Yapısı

Dietil ftalat (C₁₂H₁₄O₄, bağıl molekül kütlesi 222,3; CAS No. 84-66-2), hafif aromatik kokulu renksiz bir sıvıdır. Yapısal formülü Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.2. Dietil Ftalat'ın Genel Yapısı

Temel fizikokimyasal özellikleri ise Tablo 2.2'de verilmiştir. Bu veriler International Chemical Safety Card (ICSC 0258)' dan temin edilmiştir (HSDB, 1994). Üretilen

ftalat esterlerin saflığı % 99,70 ila % 99,97 arasında, ana safsızlıkları ise izoftalik asit, tereftalik asit ve maleik anhidrittir (Peakall, 1975).

Tablo 2.2. Dietil Ftalat'ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Özellik	Değer	Kaynak
Suda Çözünürlük 25 °C	1000 mg/litre	Yalkowsky ve Dannenfelser (1992)
Organik Çözünürlüğü	Çözücüdeki Alkol, aseton, eter, benzen, ketonlar, esterler, aromatik hidrokarbonlar, alifatik çözücüler ve bitkisel yağlar içinde çözünür.	Lewis (1993)
Buhar Basıncı		
20°C'de	$4,59 \times 10^{-2}$ Pa	Grayson ve Fosbraey (1982)
25°C'de	$2,19 \times 10^{-1}$ Pa	Hinckley ve ark. (1990)

2.2.2. Dietil Ftalat'ın Kullanım Alanları ve Çevresel Etkileri

Dietil ftalat selüloz, plastik filmler ile tabaklar (fotografik, blister ambalajlama ve bant uygulamaları), kalıplanmış ve işlenmiş ürünler (diş fırçaları, otomotiv parçaları, alet tutamakları ve oyuncaklar gibi tüketici ürünleri) için plastikleştirici olarak kullanılır. Dietil ftalat içeren plastik ambalajla kaplı çok çeşitli tüketici ürünleri mevcuttur (Kamrin ve Mayor, 1991). Ayrıca Dietil ftalat, banyo ürünleri (yağlar, tabletler ve tuzlar), göz farları, parfümler ve diğer parfüm preparatları, saç spreyleri, yüzme araç-gereçleri, oje ve emaye temizleyiciler, çivi dübelleri, banyo sabunları, deterjanlar, tıraş sonrası losyonlar ve cilt bakım ürünleri gibi 67 kozmetik formülasyonun bir bileşeni olarak rapor edilmiştir (Anonymous, 1985; Kamrin ve Mayor, 1991).

Daha spesifik olarak ise Dietil ftalat, nitroselüloz ve selüloz asetat için bir çözücü; parfümlerde alkol denatüre eden bir fiksatif ve çözücü, tuvalet malzemelerinde ve tırnak cilasında ise plastikleştirici olarak kullanılmaktadır (Hawley, 1987; US EPA, 1989).

Buna ek olarak, Dietil ftalat, insektisit spreyleri ve sivrisinek kovucularında, katı roket iticilerinde plastikleştirici, ıslatma maddesi, boya uygulama maddesi olarak, aspirin kaplamalardaki bir bileşen olarak, polisülfür diş kalıbı materyalinde seyreltici olarak, gıda ve farmasötik ambalajlarda yapışkan, plastikleştirici ve yüzey yağlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Diyaliz hastaları için günümüzde de kullanılan PVC tüplerin yapısında da bulunmaktadır (Verschueren, 1983; Anonymous, 1985; Hawley, 1987; US EPA, 1989).

ABD’de Dietil ftalat üretim hacmi 1980’de yaklaşık 9,500 ton iken 1987’de 8,600 ton’a inmiş (USITC, 1981; 1988), 1988’de ise tekrar 11,800 ton’a yükselmiştir (Kamrin ve Mayor, 1991). 1999 verilerine göre Avrupa Birliği ülkelerindeki üretimi ise yaklaşık 10,000 ton civarındadır. 1999 yılında Japonya’daki üretim hacmi ise 700 ton olmuştur (Chemical Daily, 2001).

Research Institute for Fragrance Materials tarafından 1995-1996 yılları arasında koku üreticileri üzerinde yapılan bir ankette, parfüm karışımlarının hazırlanmasında yıllık yaklaşık 4,000 tonluk bir dietil ftalat kullanımı olduğu rapor edilmiştir (Api, 2001).

Çevreye yapılan salınımlar öncelikle Dietil ftalat üretiminin ve imalatının sonucu olarak ve Dietil ftalat içeren ürünlerin kullanımı ve imhası sırasında ortaya çıkmaktadır (US EPA, 1981).

Selüloz ester filmleri ile yarı sentetik malzemeler ve çeşitli tüketici ürünlerinde bir plastikleştirici olarak kullanılması sonucunda, insanların Dietil ftalata maruz kalmaları olağan bir durumdur. Depolama alanlarında meydana gelen sızıntılarda su ve toprakta artışına neden olmuştur. Ayrıca Dietil ftalat, plastiklerin yanması veya buharlaşma sonucunda atmosfere girebilmektedir.

1994 yılındaki Toksik Yayın Envanteri verilerine dayanarak (US EPA, 1995) üretim, kullanım veya atık sonucunda yaklaşık 72 ton ftalatın hava ve suya salındığını ve 364 kg dietil ftalatın ise depolama alanındaki faaliyetler sonucunda yılda bir kez çevreye salındığını rapor etmiştir.

2.2.3. Dietil Ftalat'ın Çevresel Döngüsü

2.2.3.1. Havada Yayılımı

Dietil ftalatın buharlaşması, 20°C'de $4,59 \times 10^{-2}$ 'lik düşük buhar basıncında yavaş olmaktadır (Grayson ve Fosbraey, 1982). Dietil ftalat, atmosferden ıslak veya kuru çökeltme şeklinde ayrılmaktadır (US EPA, 1989).

Dietil ftalat, havadaki hidroksil radikalleri ile fotokimyasal olarak reaksiyona girmekte ve tahmini yarılanma ömrü 22,2 saattir (HSDB, 1994). Dietil ftalat atmosferde buhar formunda bulunarak, havayla taşınan partiküllere adsorbe olmaktadır.

Dietil ftalatın havadaki gaz ve partikül fazları arasındaki dağılımı, partikül (aerosol) fazda kesirliğini 0,00039 olacak şekilde belirleyen Junge-Pankow modeliyle tahmin edilmiştir (Staples ve ark., 1997).

2.2.3.2. Suda Yayılımı

Su veya diğer sıvılarla doğrudan temas halinde olan plastik malzemelerin ftalat ester içeriğinin yaklaşık %1'inin su ortamına salınabileceği tahmin edilmiştir (Peakall, 1975).

Dietil ftalat aerobik veya anaerobik yollarla biyolojik olarak parçalanabilir. Dietil ftalat yeraltı suyuna düşük organik madde içeriğine sahip topraklardan sızabilmektedir (US EPA, 1979). Henry'nin $4,3 \times 10^{-8}$ yasası sabitine dayanarak, sudan buharlaşmanın, Dietil ftalat için önemli bir uzaklaştırma işlemi olması beklenmemiştir (US EPA, 1989).

Dört sucul sistemde, Dietil ftalatın EXAMS (Maruziyet Analizi Modelleme Sistemi) kullanılarak taşınmasının bilgisayar simülasyonu, organik karbon bölme katsayısına ($4,5 \times 10^2$) (Koc) göre, ftalatın % 90'ından fazlasının bir nehrin ötrofik ya da oligotrofik göl ekosistemindeki su kolonunda; alt sedimende ise %10'dan azı bulunmuştur. Bir havuzda, Dietil ftalatın %70'i su kolonunda, %30'luk kısmının ise tortuda bulunduğu tespit edilmiştir (US EPA, 1989).

Dietil ftalat, deniz suyundaki askıda kalan partiküllere adsorbe edilebilir. Bu da 353-698 μm 'de partiküller üzerinde meydana getirdiği maksimum adsorpsiyonu gösterir (Al-Omran ve Preston, 1987).

KOWWIN modeline göre; Log oktanol/su bölme katsayısına (log Kow 2,47) dayanarak, Dietil ftalatın orta derecede lipofilik olduğu ve sudaki organizmalarda lipitler tarafından bağlanabileceği düşünülmektedir. Suda yaşayan organizmalarda Dietil ftalat tespit edilmiş ve bu organizmalarda yavaş bir şekilde biyokonsantre olduğu bulunmuştur (Camanzo ve ark., 1983; DeVault, 1985; McFall ve ark., 1985). Bununla birlikte, Dietil ftalat bu organizmalar tarafından parçalanabilir, bu da besin zincirini biyolojik olarak teşhis etmenin mümkün olmadığını gösterir (US EPA, 1979).

21 gün sonunda, bluegill (*Lepomis macrochirus*) balığı içindeki Dietil ftalat için biyokonsantrasyon faktörünün 117 (suda ortalama dietil ftalat konsantrasyonu 9,42 $\mu\text{g/L}$) ve balık dokusunda yarı ömrünün 1 ile 2 gün arasında olduğu rapor edilmiştir

(Barrows ve ark., 1980; Veith ve ark., 1980). English sole (*Parophrys vetulus*) türü solungaçları üzerine yapılan bir çalışmada, Dietil ftalat alım veriminin, ağırlığa özgü ventilasyon hacmi ile ters orantılı olduğu ve balık ağırlığı ya da Dietil ftalat maruziyet konsantrasyonu ile ilişkili olmadığı; ortalama alımın sadece %11,3 şeklinde olduğu belirlenmiştir (Boese, 1984).

Dietil ftalat su altında kalan yüzeylere bağlı mikrobik büyüme, suda yüzen ya da flamalar olarak askıda olan sistemler için simüle edilmiş ancak sucul ekosistemde herhangi bir su yüzeyine adsorbe edilmemiştir. Fotoliz ile neredeyse hiç transforme edilmemiş (<% 1) ve 191 µg/L başlangıç dietil ftalat konsantrasyonunun sadece %5'lik bölümü 12 saatte (pH-12) hidroliz olarak kaybolmuştur (Lewis ve ark., 1984).

Dietil ftalat degradasyonu, bakteriler tarafından kolonize edilen ve çözünmüş organik karbon, nitrojen veya fosfordan etkilenmeyen yüzey alanına bağlı yaşayan bakteriyel transformasyonun bir sonucu olarak meydana gelmiştir (%95-99). Laboratuvar mikrokozmosları ve tarlada toplanan mikrobiyota kullanılarak yapılan çalışmalar, Dietil ftalatın tüm laboratuvar mikrokozmosları tarafından bozunurken, 10 tarladan toplanan mikrobiyotadan sadece 2'si tarafından bozulduğunu göstermiştir (Lewis ve ark., 1985).

Toplanan toprak ve aktif kanalizasyon çamur mikropları ile Dietil ftalatın aerobik bozunumu karbondioksit evrimi kullanılarak incelenmiştir. Dietil ftalatın birincil biyodegradasyonunun (ana ester kaybı) %99'dan fazla olduğu, 2,3 günlük bir gecikme fazı ve nihai biyobozunmasının (karbon dioksit gelişimi) %95 olduğu gözlenmiştir. Bu koşullar altında, bileşiğin yarı ömrü 2,21 gün olarak bulunmuştur (Sugatt ve ark., 1984). Bununla birlikte, Dietil ftalatın %94'ünden fazlası, yarı-kesintisiz aktif çamur uygulaması kullanılarak 1,1 gün içinde biyolojik olarak ayrıştırılmıştır (O'Grady ve ark., 1985). Dietil ftalatın aerobik biyodegradasyonu ile ilgili diğer çalışmalar, bozunmanın, karanlık ortamdaki inkübasyonun 1. haftası

içinde, statik kültür şişesi testinde 5 veya 10 mg Dietil ftalat/litre içinde mikrobiyal inokulum şeklinde çöken evsel atık suyun kullanılmasıyla tamamlandığını göstermiştir (Tabak ve ark., 1981). Çeşitli koşullar altında aerobik ve anaerobik biyodegradasyonun aerobik bozunması ile ilgili verilerin bir özeti, ilk konsantrasyonların çok düşük olduğu durumlar haricinde, bozulmanın çoğunlukla %76'dan daha büyük olduğunu göstermiştir (Staples ve ark., 1997).

2.2.3.3. Toprakta Yayılımı

1 mg/kg'lık bir başlangıç konsantrasyonunda toprağa uygulanan Dietil ftalatın parçalanmasının 24 saatte %4,48 oranında (saatte %11), 72 saatte %40 ve 120 saatte %86 oranlarında olduğu belirlenmiştir. Toprağa sızan çöplerin eklenmesi degradasyon oranını önemli ölçüde arttırmış, çalışmada kullanılan Dietil ftalatın tamamının 72 saat içinde bozunduğu rapor edilmiştir (Russell ve ark., 1985).

Dietil ftalat içeren atık suların kullanıldığı, yavaş-oranlı arazi arıtımı üzerine yapılan 2 yıllık bir çalışmada, sprey uygulaması sırasında Dietil ftalatın nispeten uçucu olmadığı bulunmuştur. Kumlu balçık ve silisli balçık topraklara 56 µg/L'lik bir oranda uygulanmıştır. Sonuç olarak, balçık toprakların en üst 5 cm'sinde 1000-6700 ng/g'lık konsantrasyonlara ve kumlu, siltli toprağın yüzeyinden tespit edilen Dietil ftalat limitleri kuru toprak için 1 ng/g ila 2200 ng/g olarak belirlenmiştir. Her bir toprak tipinde 150 cm derinliğe kadar Dietil ftalat tespit edilmiştir (Parker ve Jenkins, 1986).

Dietil ftalatın toprakta biyolojik olarak bozunmasının, bütün ftalatların parçalanmasında ortak bir dizi birbirini takip eden adım olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir. Dietil ftalatın ftalik aside karşı birincil bozulması, monoester, monoetil ftalat, daha sonra ftalik asitin üretilmesi için ftalatın iki dietil zincirinin her birinin hidrolizini kapsadığı rapor edilmiştir (Cartwright ve ark., 2000a). Dietil ftalat (0.1-

100 mg/g), toprakta 20°C sıcaklıkta 0,75 günlük bir yarı ömür ile hızla biyolojik olarak ayrıştırılmış ve ortamdaki uzaklaştırılmıştır (Cartwright ve ark., 2000b).

2.3. Ftalatların Toksik Etkileri

2.3.1. Ftalatların Genotoksik ve Karsinojenik Etkileri

Ftalatların biyolojik etkileri büyük bir endişe kaynağı olmuş, hayvanlarda ve insanlarda sitogenetik hasara neden olduğu gösterilmiştir. Ftalatlar, 1980'lerde, peroksizom proliferatif etkileri nedeniyle, epigenetik kanserojen maddeler olarak değerlendirilmişlerdir. Bununla birlikte, 1990'lar ve 21. yüzyılda, çeşitli çalışmalar genotoksik etkileri olduğunu da göstermiştir (Klensasser ve ark., 2001; Erkekoğlu ve ark., 2010a; Erkekoğlu ve ark., 2010b) Ftalatların genotoksik potansiyellerini değerlendirmek için kromozomal sapma testi, programlanmamış DNA sentezi (UDS), AMES testi, mikronükleus testi ve hipoksantin guanin fosforiboziltransferaz (HPRT) mutasyon testleri uygulanmış, buna göre DEHP'nin insan lenfositlerinde tek kromatid hasarı ve kardeş kromatid değişimini (SCE) indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca, DEHP, maruz bırakılmasından 4 saat sonra lenfotik mitotik inhibisyona neden olduğu ve insan lenfositlerinin katlanma süresinde bir artışa yol açtığı belirlenmiştir (Turner ve ark., 1974). Stenchever ve ark. (1976) DEHP'nin insan lenfositlerinde kromozomal kırılmalara neden olduğunu bildirmişler; mitotik hızın azaldığı ve DEHP tarafından insan fetal akciğer hücrelerinde poliploidi ve anöploidi oluştuğunu rapor etmişlerdir. Phillips ve ark. (1982) Çin Hamsteri Yumurtalık (CHO) hücrelerinde Mono-2-etilheksil ftalat (MEHP)'nin SCE ve HPRT mutasyon testinde kromozom hasarına neden olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Astill ve ark. (1986) DEHP uygulanması sonrası AMES, fare lenfoma aktivasyon, mikronükleus, UDS'de ve hücre transformasyon testlerinde sıçan hepatositlerinde bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. CHO hücresi ve RL4 karaciğer hücresi üzerinde yapılan bir çalışmada ise her iki hücre tipinde de MEHP'nin kromozomal sapmalara neden olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, CHO hücrelerinde MEHP tarafından oluşturulan kromozom hasarından S-9 karışımı (sitosolik ve mikrozomal ilaç metabolize eden enzimlerin ve kofaktörlerin bir karışımı) etkilenmemiştir (Phillips ve

ark., 1986). Fare hepatositleriyle yapılan bir başka çalışma ise ftalat bileşiklerinin genotoksitesini değerlendirmiş, sonuçta DNA tamir kapasitesinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiş, bununla birlikte, DEHP içeren besinler ile muamele edilen farelerden elde edilen hepatositlerin UDS'sinin, kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında belirgin şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Smith-Oliver ve Butterworth, 1987). Lindahl-Kiessling ve ark. (1989) DEHP'nin sıçan karaciğer hücreleri ile birlikte kültürü yapılan insan lenfositlerinde SCE'yi uyardığını göstermişlerdir. Müller-Tegethoff ve ark. (1995), peroksizom proliferatörlerinin (nafenopin, Wy-14,643) ve DEHP'nin sıçan hepatositlerinde mikronukleus testinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığını gözlemişlerdir. Kim ve ark. (2002), B6C3F1 farelerinin lenfositlerinde Dibütil ftalat (DBP)'in kromozomal tip sapmalara (kırılma ve değişim) neden olduğunu, bu sapmaların maruz kalma süresine bağlı olarak belirgin artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. McKee ve ark. (2000) Di (izononil) ftalatın (DINP) AMES testinde, *in vitro* sitogenetik testler ve fare mikronukleus analizinde mutajenik olmadığını bildirmişlerdir. Lee ve Lee (2007) Ames testinde *Salmonella typhimurium* suşlarında S-9 karışımının varlığında veya yokluğunda ftalik asit ve tereftalik asitin herhangi bir mutajenik yanıt üretmediğini gözlemişlerdir. Diğer yandan, ftalik asit ve tereftalik asit, kromozomal sapma testinde ve fare mikronukleus testinde CHO hücreleri üzerinde önemli bir sitogenetik etki göstermemiştir.

Son 30 yılda, Comet testi yardımıyla ftalatların genotoksitesini üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Anderson ve ark. (1999) DEHP ve onun başlıca metabolitleri olan MEHP'in insan lökositlerinde DNA hasarına neden olduğunu ve bunun Comet testinde kuyruk momentinin artışı ile kanıtlandığını göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar tarafından Comet testi kullanılarak, mukozal epitel hücrelerinde veya lenfositlerdeki DBP'ye ve İzomer di-izo-butyl-ftalat (DiBP)'ye karşı genotoksik duyarlılıklar arasındaki korelasyonda belirlenmiş, sonuçta her iki ftalatında önemli genotoksite sahip olduğu, ayrıca DiBP'nin genotoksik etkisinin DBP'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Kleinsasser ve ark., 2001). Biscardi ve ark. (2003) DEHP'nin, yaklaşık 10 aylık bir depolamadan sonra, polietilen tereftalat (PET) şişelerden zamanla sızıntı yapabileceğini, bunda *in vitro* insan lökositlerindeki

toplam kuyruk uzunluğunda ve hücre sayısında artışa neden olabileceğini göstermişlerdir.

DEHP, Bisfenol A (BPA), nonilfenol ve paraquat diklorür, genotoksisite potansiyelleri açısından HeLa hücreleri üzerinde test edilmiş, DEHP'nin kuyruk momentinde önemli artışlarla birlikte, genotoksisiteye sebep olduğu (>90 µM) gösterilmiştir (Park ve Choi, 2007). Çeşitli konsantrasyonlarda DEHP'e 24 veya 48 saat süresince maruz bırakılan HepG2 hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada, DNA hasarının doza bağımlı bir şekilde arttığı rapor edilmiştir (Choi ve ark., 2010). DEHP ve MEHP ile ilgili yapılan çalışmalarda, hem DEHP hem de MEHP'nin LNCaP hücrelerinde (insan prostat kanseri hücre dizisi) ve Leydig hücrelerinde sitotoksik ve genotoksik etkilere neden olduğu belirlenmiştir.

Ürtiker ftalat seviyeleri ile sperm DNA hasarı arasındaki korelasyon da çeşitli çalışmalarla araştırılmıştır. Duty ve ark. (2003), 141 denekten alınan sperm ve idrar örnekleri ile nötr Comet testi uygulanan beş ftalat metabolitinde ve diğer ftalat metabolitleri ile monobenzil ftalat (MBzP) ile monoetil ftalat (MEP) seviyeleri arasında korelasyon bulunmamasına rağmen, monobütil ftalat (MBP), MEHP ve monometil ftalat (MMP) seviyeleri arasında belirli bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir. Hauser ve ark. (2007) infertilite kliniğine başvuran erkeklerde (n=379) ftalat metabolitlerinin üriner konsantrasyonlarını belirlemişler, sonuçta sperm DNA hasarını MEP ve MEHP ile ilişkilendirmişlerdir. Ahbab ve ark. (2014) gebelik haftası GD6'dan GD19'a kadar olan erkek sıçan yavrularında, Comet testini kullanarak farklı konsantrasyonlarda di-n-heksil ftalat (DHP) ve disikloheksil ftalat (DCHP) esterlerinin 0 (kontrol), 20, 100 ve 500 mg/kg/gün dozlarının olası genotoksisitesini belirlemişler, sonuçta yetişkin erkek sıçanların kan lenfositleri ve testis numuneleri üzerinde gerçekleştirilen Comet testi sonuçlarına göre DHP'nin 100 ve 500 mg/kg dozlarında genotoksisiteye neden olduğu gözlenirken, DCHP'nin ise aynı etkiyi göstermediği tespit edilmiştir.

Ftalatlar, gen ve protein ekspresyonlarını değiştirebildiği için iyi bilinen peroksizom çoğaltıcılarıdır. Bu nedenle de, kemirgenlerde hepatik karsinogenin teşvik edilmesine neden olmaktadır (Huber ve ark., 1996). Literatürde, peroksizomal oksidazlar indüklenmeden önce ftalatların kemirgen karaciğerindeki oksidatif stresini arttırdığına dair veriler de bulunmaktadır. Ayrıca, Kupffer hücrelerinin DEHP uygulamasından sonra kemirgen karaciğerinde potansiyel bir oksidan kaynağı olduğu da öne sürülmektedir. Oksidatif stresin artması sonucu olabilecek moleküler olayların, kemirgen karaciğeri peroksizom proliferasyonu ile aktive edilen diğer yollarla etkileşebileceği görülmüştür (Rusyn ve ark., 2001; Rusyn ve ark., 2006). Son 10 yılda yapılan çalışmalar, DEHP'nin reaktif oksijen türlerini (ROS) üretebileceğini, *in vivo* ve *in vitro* hücreler oksidatif strese artışa neden olabileceğini göstermiştir. ROS üretiminin indüksiyonu, başta DEHP olmak üzere, ftalatların sebep olduğu bir dizi moleküler olaydan sonra ROS eksikliğinin etkili bir şekilde görülmemesine bağlı olarak önemli yollardan biridir (IARC, 2000; Rusyn ve ark., 2006; Erkekoğlu ve ark., 2010a; Erkekoğlu ve ark., 2010b) 1980'lerde DEHP'in peroksizom proliferatör etkisi nedeniyle hepatokarsinogenik etkileri çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. O yıllarda, bu maddenin güvenliği konusunda bazı endişeler yaşanmıştır. DEHP'e maruz bırakılmış insan hepatosit kültürlerinde peroksizom çoğalması görülmeyeceği gibi insan dışı primatların maruz kaldığı DEHP'yi Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) Grup III kanserojen olarak sınıflandırmıştır (IARC, 2000). Bu nedenle DEHP'nin sıçanlarda ve farelerde hepatoselüler tümör insidansını arttırdığı mekanizma, insanlar için geçerli değildir. 2013 yılında ise DEHP bazı endişeler nedeniyle Grup IIB kanserojeni olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 2013). Öte yandan, butil benzil ftalat (BBP) ise 1999 yılında Grup III kanserojeni olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 1999). Blom ve ark. (1998) farklı ftalat esterlerine maruz kalmanın, özellikle de DBP'ye karşı insan meme kanseri hücre hatlarının yüksek çoğalmasına neden olabileceğini göstermiştir ki, bu da kısmen ftalatların "*ksenoöstrojenik etki*" açısından potansiyeli olduğu şeklinde açıklanmıştır. Ancak ftalatlar genellikle "*ksenoöstrojenler*" değil "*antiandrojenler*" olarak sınıflandırılmıştır (Bloom ve ark., 1998, Fisher 2004). Ftalatların, doğrudan doğruya bir ER bağlanması ile ilişkili olduğu düşünölmekte fakat bazı ftalatlar için bu durumun geçerli olmadığı da görülmüştür (Nakai ve ark., 1999; Fisher, 2004).

2.3.2. Ftalatların Epigenetik Etkileri

Yapılan birçok çalışmanın sonuçları, endokrin bozuculara (EDC) maruziyetin gelecek kuşaklar üzerinde olumsuz etkilere neden olabilecek, epigenetik mekanizmalara sebep olabileceğini gösterilmiştir. Epigenetik oluşumlar, bir ömür boyu devam edebilen gen ekspresyonunda yukarı/aşağı yönlü değişikliklere neden olabilmektedirler. Bu kalıcı değişiklikler; sinirsel ve immün hastalıklar, infertilite ve geç başlangıçlı kompleks hastalıklar (kanserler ve diyabet vb.) gibi olumsuz sağlık sorunları ile sonuçlanabilmektedir (Sigh ve Li, 2012).

Ftalatların, peroksizom proliferatör etkileri nedeniyle epigenetik karsinojenler olduğu uzun zamandır ileri sürülmektedir. Ftalatlara (özellikle DEHP, MEHP, benz-bütül ftalat (BBP), DBP ve MBP'ye) in utero ve neonatal maruz kalmanın gen promotör bölgeleri yakınındaki sitozin fosfo guanin (CpG) adalarında DNA'da metilasyon değişikliklerine, farklı histon modifikasyonlarına (asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubikitinasyon, sumoilasyon ve ADP ribozilasyonu) ve mikro RNA'lardan (miRNA'lar dahil) kodlanmayan RNA'ların ekspresyonundaki değişikliklere neden oldukları görülmüştür (Chan Kang ve Mu Lee, 2005).

İnsan göğüs kanseri MCF-7 hücrelerinin BBP ile tedavisi, ER α yükseltici ile ilişkili CpG adalarının demetilasyonuna yol açar iken; BBP'nin değiştirilmiş ER α mRNA ekspresyonunun, bu genin promotör bölgesindeki hasarlı DNA metilasyonunu indükleyebildiğini göstermiştir. DEHP'ye embriyonik dönemde maruz kalmanın fare testisinde DNA metilasyonu ve farklı DNA metil transferaz ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir. Fetal testisin DEHP'nin ana hedefi olduğu öne sürülmüştür. DEHP, insülin benzeri hormon 3 (INSL3) ekspresyonunda ve testosteron üretiminde bir düşüşe bağlı olarak testiküler disgenезis sendromuna (TDS) neden olabileceği rapor edilmiştir (Wu ve ark., 2010). Embriyonik cinsiyet belirleme döneminde, dişi sıçanların gebe kaldıklarında bir plastik karışıma (BPA ve ftalatlar) geçici maruziyetlerinde, erken nesil ergenlik çağınının (F3 üretimi) desteklendiği ve dişi yavrulardaki yumurtalık primordial follüküllerinin havuz

boyutunu azalttığı gösterilmiştir. Erkek yavrularda ise aksine, spermatojenik hücre apoptozu transgeneratal olarak da etkilenmiştir ve F3 kuşak sperm yükseltici bölgelerinin diferansiyel DNA metilasyonu da gözlemlenmiştir (Manikkam ve ark., 2012).

2.3.4. Ftalatların Hepatoksik Etkileri

DEHP ve di- (2-etilheksil) adipat (DEHA) ve DINP gibi diğer ftalatların farelerde ve sıçanlarda, her iki cinsiyette de hepatokarsinojenik olduğu gösterilmiştir (Kluwe ve ark., 1985; Astill ve ark., 1996). Bu maddelerin hepatokarsinojenik potansiyelinin altında yatan bir takım moleküler olaylar vardır: Bunların genotoksitesisi, peroksizom proliferatif özellikleri ve epigenetik etkileri en çok incelenen mekanizmalardır. Toplu olarak, kemirgen karaciğerinde, oksidatif strese bağlı moleküler olayların peroksizom proliferasyonu ile aktive edilebilen diğer yollarla etkileşime girebileceği görülmektedir. 10 haftalık farelere 1000 ppm dozunda 10 gün süresince uygulanan DEHP'nin peroksizom çoğalması, antioksidan enzim aktivitelerinde ve karaciğer enzimler aktivitelerinde değişikliklere neden olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca, DEHP; hücrel düzensizliğe, katalaz aktivitesinde/immünreaktivitede artışlara ve lipid peroksidasyonuna neden olmuştur (Erkekoğlu ve ark., 2014).

2.4. *Allium cepa* Testi

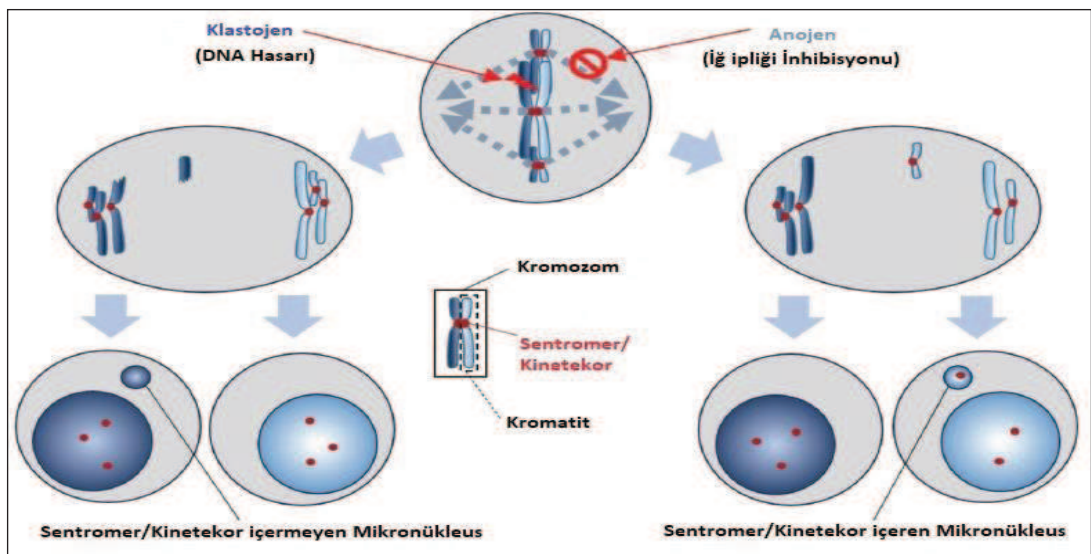
Bu çalışmada, DEP'nin genotoksik etkileri *A. cepa* testi kullanılarak incelenmiştir. *Allium cepa* testi, birçok çalışmada çevre kirliliği ile ilgili bir biyoindikatör olarak kullanılmıştır (Bagatini ve ark., 2007; Leme ve Marin-Morales, 2009). Bu testin çeşitli kimyasallar tarafından indüklenen kromozomal anormalliklerin belirlenmesinde duyarlı bir model olduğu öne sürülmektedir. *Allium cepa* testi, köklerin kimyasallarla direkt temas etmesi ile *in vivo* olarak hasarların tespitinde oldukça kolay ve sonuçları oldukça güvenilirdir. Elde edilen veriler sayesinde hayvanları ve bitkileri de içine alan ökaryotik hücrelerde de kimyasalların potansiyel zararları hakkında ön

değerlendirmeye inkan vermektedir. Bu test ile kimyasalların neden olduğu yapısal hasarlar ve sayısal kromozom mutasyonları da belirlenebilmektedir. *Allium cepa*'nın vasküler bir bitki olmasından dolayı bu test, çevresel kirleticilerinin nokta mutasyonu da dahil tüm sitogenetik etkilerinin belirlenmesinde kullanışlı bir genetik model haline gelmektedir (Solange ve Haywood, 2012).

İlk kez 1938'de "Levan" tarafından kullanılan *Allium cepa* testi sayesinde mitoz bölünmedeki anormallikler belirlenmiştir (Levan, 1938). 1985'de Fiskeşjö ise polisiklik aromatik hidrokarbonları metabolize eden bir oksidaz sistemine sahip olan *A. cepa*'nın genotoksisite çalışmalarında oldukça önemli olduğuna dikkat çekmiştir (Fiskeşjö, 1985). İlk çalışma sonrasında Fiskeşjö birbirini takip eden birçok çalışma ile *A. cepa* testinin kimyasallar tarafından indüklenen kromozomal hasarların belirlenmesinde, hücre bölünmesindeki anormalliklerin tespit edilmesinde ve kirlilik biyoindekatörü olarak da oldukça kullanışlı olduğunu kanıtlamıştır (Fiskeşjö, 1988, 1993, 1994, 1995). Genotoksisitenin belirlenmesinde diğer toksisite testleri de yüksek güvenilirliktedir. Ancak *Allium cepa* testi, sonuçları diğer testlere kıyasla daha hızlı sonuç veren, uygulaması kolay ve maliyeti düşük bir uygulama yöntemidir. Ayrıca bu test ile elde edilen sonuçlar diğer toksisite testleri ile de yüksek uyumluluk sergilemektedir. İnsan lenfosit hücreleri ve alg hücrelerine uygulanan sitotoksisite testi sonuçları ile *Allium cepa* test sonuçları karşılaştırıldığında aynı duyarlılıkta sonuçlar elde edilmiştir (Solange ve Haywood, 2012).

Rank ve Nielsen (1994) kemiricilerde uygulanan ve benzer bir test olan genotoksisite testi ile *A. cepa* test sonuçlarının %82 oranında benzerlik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Vincentini ve ark. (2001) ise kimyasalların sitotoksik ve geneotoksik etkilerinin konsantrasyon ve maruziyet süresine bağlı olarak değerlendirilmesinde *A. cepa* testinin yüksek derecede kabul edilebilirliğine dikkat çekilmiştir. Camparoto ve ark. (2002) *Maytenus ilicifolia* Mart. ve *Bauhinia candicans* Benth infüzyon etkilerinin değerlendirildiği, *Allium cepa* testi ve Wistar sıçanların kemik iliğinde yapılan toksisite test sonuçlarının aynı olduğunu rapor etmişlerdir.

A. cepa testinin sunduğu en önemli avantaj ise hazırlanan preparatlar ile tek seferde kromozom anormallikleri, mikronükleus ve mitotik indeks gibi birçok parametrenin belirlenmesine imkan tanınmasıdır. Mitotik indeks hücre proliferasyon durumunun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bunun haricinde mitotik indeks mitozdaki hücre sayısı ile toplam hücre sayısı arasındaki oranı ifade etmektedir. Bu sayede mitotik bölgenin yoğun olduğu dokuların tespit edilmesini sağlamaktadır. Mitotik indeks, kök ucunda artan mesafe ile azalmakta ve hücre bölünmesinden hücre uzamasına kadar olan bölgede ise kademeli bir düşüş anlamına gelmektedir. Kök ucundaki meristematik bölge aktif olarak büyüyen bölgedir ve bu nedenle mitotik indeksi yüksektir. *Allium cepa* testi kullanılarak her bir dokudan hazırlanacak ayrı preparatlar ile mitotik indeksteki değişimler ve kimyasalların etkisi kolaylıkla incelenebilmektedir (Darbelley ve ark., 1989; Driss-Ecole ve ark., 1994). *A. cepa* testi ile kimyasallar tarafından indüklenen mikronükleuslar da kolaylıkla belirlenmektedir (Vanparys ve ark., 1990; Kirsch-Volders ve ark., 1997). Hücrelerdeki MN büyüklüğü incelenerek, kimyasalın anojenik ya da klastojenik etkisi olup olmadığı da belirlenebilmektedir. Anojenik etki sentromer bölünme hataları ve iğ iplikçisi bozukluklarına sebep olmaktadır, klastojenik etki kromozom kırıklarına sebep olmaktadır. Küçük yapıdaki MN'ler anojenik etki ile, daha büyük ölçüdeki MN'ler ise klastojenik etki ile oluşmaktadır (Von Ledebur ve Schmid, 1973; Högstädt ve Karlsson, 1985).



Şekil 2.3. Anojenik ve Klastojenik etkiler ile Mikronükleus (MN) yapısındaki değişim (Mishima, 2017)

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Materyali ve Uygulanan Dozlar

Bu çalışma, Dietil ftalat (Sigma-Aldrich, w512206)'ın 1,0, 2,2 ve 4,4 µM dozları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma materyali olarak hemen hemen eşit büyüklükte *A. cepa* L. bulbları seçilmiş, bulblar 85X100 çapında cam beherlerde, 25 °C'de 72 saat çimlenmeye bırakılmıştır. Kontrol grubundaki bulblar çeşme suyu, uygulama grubundaki bulblar ise Dietil ftalat'ın sırasıyla 1,0, 2,2 ve 4,4 µM'lik dozlarıyla muamele edilmiştir.

3.2. Fizyolojik Parametrelerin Ölçümü

72 saatlik uygulama periyodu sonunda, çimlenen bulbların kök uzunluğu *radikula* oluşumu temel alınarak milimetrik cetvel, ağırlık artışları ise hassas terazi yardımıyla ölçülmüştür. Ağırlıktaki değişmeler, uygulama öncesi ve sonrası ölçülen bulb ağırlık farkları dikkate alınarak belirlenmiştir. Çimlenme yüzdesi ise denklem 1 kullanılarak tespit edilmiştir (Atik ve ark., 2007).

$$\text{Çimlenme yüzdesi (\%)} = \frac{\text{Çimlenen Bulb Sayısı}}{\text{Toplam Bulb Sayısı}} \times 100 \quad (1)$$

3.3. Kromozomal Anormallik, Mitotik İndeks (MI) ve Mikronukleus (MN) Testi

Kromozomal anormalliklerin tespiti için kontrol ve Dietil ftalat'ın 1,0, 2,2 ve 4,4 µM dozlarıyla muamele edilen gruplardan alınan kök uçları yaklaşık 1-2 cm uzunluğunda kesilerek, 2 saat süresince "Clarke" fiksatoründe (3:1, etanol:glasial asetik asit) bekletilmiş, 15 dk %96'lık etanol (CH₃CH₂OH)'de yıkanmış ve +4 °C'de %70'lik etanolde bekletilmiştir. Daimi preparasyon için kök uçları 60 °C'de 17 dk 1N HCl'de hidrolize edilmiş ve 30 dk %45'lik asetik asitte (CH₃COOH) bekletilmiştir. Son aşamada ise, kök uçları 24 saat Asetokarmin ile boyanmış, %45'lik asetik asitte ezilmiş ve mikroskopta X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır (Staykova ve ark., 2005). Mitotik indeks tespitinde her grup için 10,000 hücre, Mikronukleus (MN) oluşumu tespiti için ise her grup için 1,000 hücre sayılmıştır.

3.3.1. Asetokarmin Çözeltilisinin Hazırlanması

0,5 gr Karmin (C1022, Sigma-Aldrich), 100 ml %45'lik kaynayan asetik asit ile 1-2 dk muamele edilmiş ve soğumaya bırakılmıştır. Soğutma işleminden sonra filtre kâğıdından süzülerek, koyu renkli şişede +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.4. Anatomik Hasarların Mikroskopik Gözlemi

Anatomik hasarların belirlenmesi için 72 saat süresince 1,0 µM, 2,2 µM ve 4,4 µM dozlarında Dietil ftalat ile muamele edilerek çimlenmeye bırakılan *A. cepa* L. kök uçları, belirtilen süre sonunda distile su ile yıkanmış, tüm gruplardan enine kesitler alınmış, Metilen Mavisi (77515, Sigma-Aldrich) ile boyanarak Entellan yardımı ile daimi preparat haline getirilmiş ve X500 büyütmede araştırma mikroskobu (Nikon E-100) altında fotoğraflandırılmıştır (Makbul ve ark., 2008).

3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Lipid Peroksidasyonu Tayini

Lipid peroksidasyonu, Ünyayar ve ark. (2006) tarafından verilen 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 aktarılmış ve oda sıcaklığında 12,000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. %20'lik TCA solüsyonunda %5'lik tiyobarbitürik asit ve süpernatant eşit hacimlerde yeni bir tüpe aktararak, 96 °C'de 25 dakika kaynatılmıştır. Süre sonunda, tüpler buz banyosuna aktarılmış ve 10,000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant'ın absorbansı 532 nm'de ölçülmüş ve MDA içeriği $155M^{-1}cm^{-1}$ ekstinksiyon (sönümleme) katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır. MDA içeriğinin değerleri üç bağımsız örnekleme ölçümlerinden alınmış ve ortalama standart hata (SD) olarak belirtilmiştir.

3.5.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Tayini

Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesi Beauchamp ve Fridovich (1971) tarafından belirtilen yöntemle ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı 1,5 mL 0,05 M sodyum fosfat tamponu (pH 7,8), 0,3 mL 130 mM metionin, 0,3 mL 750 µM nitroblue tetrazolium klorür (NBT), 0,3 mL 0,1 mM EDTA-Na₂, 0,3 mL 20 µM riboflavin, 0,01 mL enzim ekstresi, 0,01 mL %4 (w/v) çözünmez polivinilpirolidon (PVPP) ve 0,28 mL deiyonize su içermektedir. Reaksiyon 10 dk süresince 2 adet 15 W floresan lamba altına tüplerin yerleştirilmesiyle başlatıldı ve 10 dakika süresince tüplerin karanlıkta bekletilmesiyle sonlandırıldı. Absorbans 560 nm'de kaydedildi (Zou ve ark., 2012).

3.5.3. Katalaz Aktivite Tayini (CAT)

Katalaz aktivitesi Beers ve Sizer (1952)'in metoduna göre analiz edilmiştir. CAT aktivitesi, kullanımdan hemen önce hazırlanan 0,3 mL 0,1 M H₂O₂, 1,0 mL deiyonize su ve 1,5 mL 200 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7,8) içeren 2,8 mL reaksiyon karışımında, 25°C'de UV-VIS Spektrofotometrisi (UV-2550, Shimadzu, Japonya) yardımıyla ölçülmüştür. Reaksiyon, 0,2 mL enzim ekstraktı ilave edilerek başlatılmıştır. CAT aktivitesi ise H₂O₂ tüketiminin bir sonucu olarak, 240 nm'de absorbanstaki azalma izlenerek ölçülmüştür. Aktivite, g kök taze ağırlığı başına dakika başına birim olarak ifade edilir; bir CAT aktivite birimi, 240 nm'de absorbansta 0,1 değişiklik olarak tanımlanmıştır (Beers ve Sizer, 1952).

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Dietil Ftalat'ın Çimlenme Üzerine Etkisi

Dietil ftalat'ın çimlenme üzerine etkisi Tablo 4.1'de verilmiştir. En fazla çimlenme yüzdesi %100'lük bir oran ile kontrol grubunda, en az ise yarı yarıya azalma ile Dietil ftalat'ın 4,4 µM dozuyla muamele edilen Grup IV'de belirlenmiştir. Sonuç olarak, Dietil ftalat'ın uygulama dozuna bağlı olarak çimlenme yüzdesinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. Dietil ftalat'ın çimlenme üzerine etkisi

Gruplar	Çimlendirilen bulb sayısı	Çimlenen bulb sayısı	Çimlenmeyen bulb sayısı	Çimlenme yüzdesi (%)
Grup I	50	50	0	100
Grup II	50	43	7	86
Grup III	50	35	15	70
Grup IV	50	25	25	50

*Grup I: kontrol, Grup II: 1,0 µM Dietil ftalat, Grup III: 2,2 µM Dietil ftalat, Grup IV: 4,4 µM Dietil ftalat

4.2. Dietil Ftalat'ın Kök Uzunluğu Üzerine Etkisi

Dietil ftalat'ın kök uzunluğu üzerine etkisi Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Ayrıca uygulama dozuna göre kök uzunluklarındaki değişim Şekil 4.1'de görülmektedir. Uygulama periyodu sonunda, en fazla kök uzunluğu kontrol grubunda, en az ise 4,4 µM dozunda Dietil ftalat uygulanan Grup IV'de ölçülmüştür. Kontrol grubunda ortalama 9,22 cm kök uzunluğu ölçülürken, Grup IV ise ortalama 1,71 cm kök uzunluğu ölçülmüştür. Kontrol grubu ile 1,0 µM Dietil ftalat'ın uygulandığı Grup II kıyaslandığında ortalama kök uzunluğunda %27 oranında bir azalma olduğu, Kontrol grubu ile en yüksek doz uygulanan Grup IV karşılaştırıldığında ise kök uzunluğunda %81,45 oranında bir azalma görülmüştür. Ayrıca Grup II, Grup III ve

Grup IV’de elde edilen kök uzunluklarının, kontrol gruplarına kıyasla sırasıyla 1,4, 2,2 ve 5,4 kat daha düşük olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre Dietil ftalat uygulanan gruplarda kök uzunluğundaki bu azalmaların istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olduğu da belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Dietil Ftalat'ın kök uzunluğuna etkisi (soldan sağa kontrol, 1,0 µM Dietil ftalat, 2,2 µM Dietil ftalat, 4,4 µM Dietil ftalat).

Tablo 4.2. Dietil ftalat'ın kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi

Gruplar	Minimum uzunluk	Maksimum uzunluk	Ortalama uzunluk
Grup I	8,20	10,00	9,22±0,57 ^a
Grup II	5,70	7,60	6,73±0,67 ^b
Grup III	3,60	4,80	4,26±0,42 ^c
Grup IV	1,10	2,50	1,71±0,53 ^d

*Grup I: kontrol, Grup II: 1,0 µM Dietil ftalat, Grup III: 2,2 µM Dietil ftalat, Grup IV: 4,4 µM Dietil ftalat (n=10). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel değişimler sırası ile “Duncan” testi ve “one-way” varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0,05$).

4.3. Dietil Ftalat'ın Ağırlık Artışı Üzerine Etkisi

Dietil ftalat'ın ağırlık artışı üzerine etkisi Tablo 4.3'de verilmiştir. En fazla ağırlık artışı 6,56 g ile kontrol grubunda, en az ise 0,97 g ile 4,4 µM dozunda Dietil ftalat uygulanan Grup IV'de tespit edilmiştir. Uygulanan Dietil ftalat dozundaki artışla ters orantılı olarak ağırlık artışı azalmıştır. En yüksek dozun uygulandığı Grup IV'deki ortalama ağırlık artışında, kontrol grubuna göre %85,21 oranında bir azalış olmuştur. Kontrol Grubuna göre Grup II ve Grup III de ise sırası ile yaklaşık %40 ve %63 oranında ağırlık artışında azalma olduğu görülmüştür. Kontrol grubuna göre gözlenen bu azalmaların istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olduğu da belirlenmiştir.

Tablo 4.3. Dietil ftalat'ın ağırlık artışı (g) üzerine etkisi

Gruplar	İlk ağırlık	Son ağırlık	Ağırlık artışı
Grup I	5,14±0,16 ^d	11,70±1,50 ^a	+6,56
Grup II	5,16±0,15 ^d	9,07±1,10 ^b	+3,91
Grup III	5,13±0,20 ^d	7,56±1,07 ^c	+2,43
Grup IV	5,16±0,20 ^d	6,13±0,62 ^d	+0,97

*Grup I: kontrol, Grup II: 1,0 µM Dietil ftalat, Grup III: 2,2 µM Dietil ftalat, Grup IV: 4,4 µM Dietil ftalat (n=10). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel değişimler sırası ile "Duncan" testi ve "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0,05$).

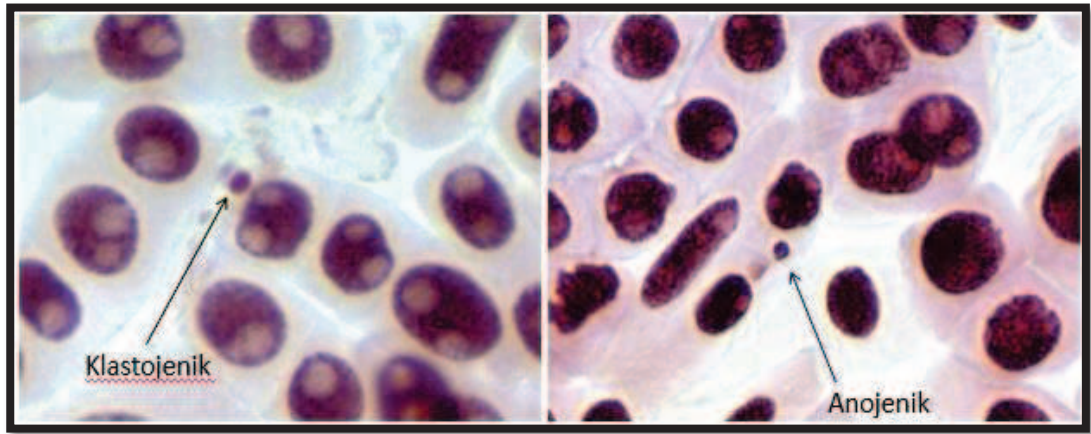
4.4. Dietil Ftalat'ın Kök Ucu Hücrelerinde Teşvik Ettiği MN Sıklığı

Dietil ftalat uygulamasının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği mikronukleus (MN) sıklığı Tablo 4.4'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda ortalama 0,20±0,42 oranında MN oluşumu gözlenirken, Ftalat uygulanan gruplarda ise sırasıyla 7,20±2,15, 22,20±5,39 ve 41,90±3,78 oranında MN varlığı tespit edilmiştir. Uygulanan Dietil ftalat doz artışına bağlı olarak MN sayısı artmış, söz konusu artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir. Ayrıca Dietil ftalat uygulamasının anojenik ve klastojenik etkiler varlığında, farklı MN şekillerini meydana getirdiği de Şekil 4.2'deki gibi gözlenmiştir.

Tablo 4.4. Dietil ftalat'ın kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı

Gruplar	Hesaplanan hücre sayısı	Minimum MN	Maksimum MN	Ortalama MN
Grup I	1000	0,00	1,00	0,20±0,42 ^d
Grup II	1000	4,00	10,00	7,20±2,15 ^c
Grup III	1000	14,00	30,00	22,20±5,39 ^b
Grup IV	1000	36,00	48,00	41,90±3,78 ^a

*Grup I: Kontrol, Grup II: 1,0 µM Dietil ftalat, Grup III: 2,2 µM Dietil ftalat, Grup IV: 4,4 µM Dietil ftalat (n=10). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel değişimler sırası ile "Duncan" testi ve "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05).



Şekil 4.2. Dietil ftalat'ın Anojenik ve Klastojenik etkileri ile oluşan MN yapıları

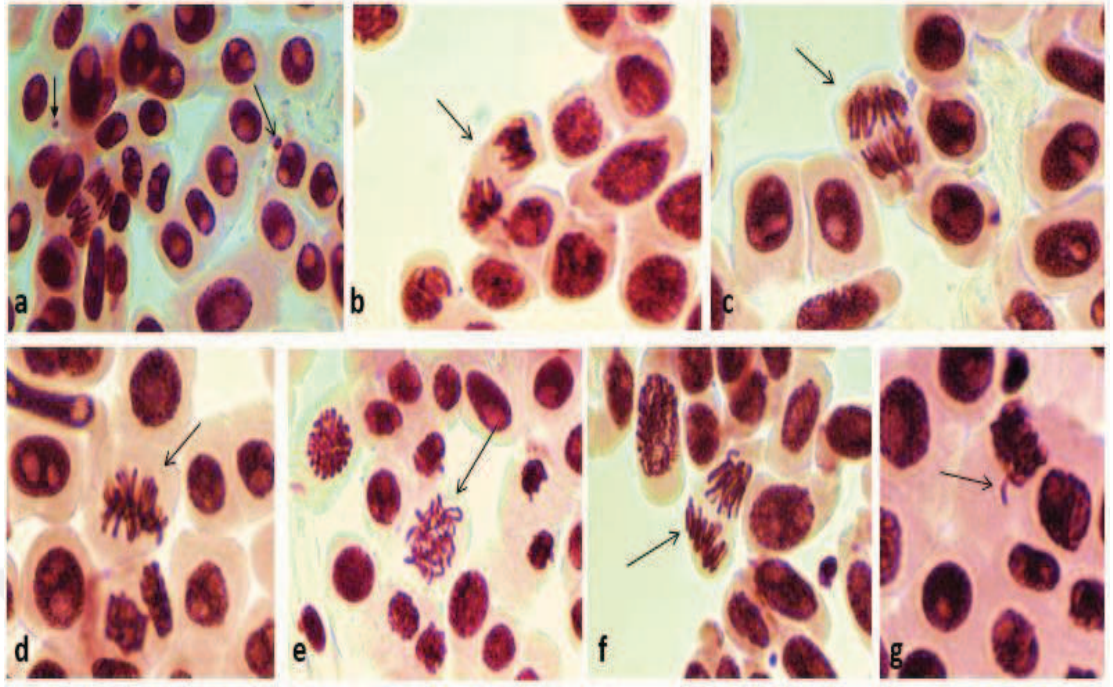
4.5. Dietil Ftalat Tarafından Teşvik Edilen Kromozomal Hasarlar

Dietil ftalat uygulaması sonucunda kök ucu hücrelerinde teşvik edilen kromozomal hasarlar ile bu hasarların sayıları Tablo 4.5’de gösterilmiştir. Tüm deney gruplarında kromozom hasarlarından fragment oluşumunun yüksek oranda olduğu, iğ ipliği anormalliğinin ise düşük düzeyde olduğu gözlenmiştir. Kök uçlarında kromozom hasarlarının oluşum oranları *fragment>yapışkan kromozom>kromozom köprüsü>kromatinin eşit olmayan dağılımı>c-mitoz>iğ ipliği anormalliği>ters kutuplaşma* şeklinde sıralanmaktadır. Kontrol grubunda (Grup I), düşük oranda kromozom hasarı oluşumu gözlemlenirken, bu hasarlardan sadece kromatin kırığı, kromatinin eşit olmayan dağılımı, C-mitoz ve iğ ipliği anormalliğinin olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte Dietil ftalat dozundaki artışa bağlı olarak tüm hasarların arttığı belirlenmiştir.

Tablo 4.5. Dietil ftalat tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar

Hasar tipi	Kök ucu Sayısı	Analiz edilen hücre sayısı	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
FRG	10	500	0,00±0,00 ^d	20,10±2,47 ^c	37,90±4,31 ^b	59,10±5,44 ^a
YK	10	500	0,00±0,00 ^d	16,00±2,67 ^c	34,80±3,39 ^b	56,10±4,09 ^a
KK	10	500	0,20±0,42 ^d	13,00±3,02 ^c	29,50±4,81 ^b	44,80±4,49 ^a
KED	10	500	0,30±0,48 ^d	10,00±2,40 ^c	22,80±3,61 ^b	32,20±4,02 ^a
CM	10	500	0,30±0,48 ^d	5,90±1,20 ^c	15,40±2,91 ^b	25,90±4,51 ^a
İİA	10	500	0,40±0,52 ^d	3,70±1,16 ^c	7,50±1,90 ^b	14,50±3,06 ^a
TK	10	500	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^b	1,80±0,79 ^a

*Grup I: Kontrol, Grup II: 1,0 µM Dietil ftalat, Grup III: 2,2 µM Dietil ftalat, Grup IV: 4,4 µM Dietil ftalat. FRG: *fragment*, YK: *yapışkan kromozom*, KK: *kromozom köprüsü*, KED: *kromatinin eşit olmayan dağılımı*, CM: *c-mitoz*, İİA: *iğ ipliği anormalliği*, TK: *ters kutuplaşma*. Kromozomal hasarlar için, her bir gruptaki her bir kök ucunda 500 hücre, toplamda ise 5000 hücre analiz edildi. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel değişimler sırası ile “Duncan” testi ve “one-way” varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05)



Şekil 4.3. Dietil ftalat tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a: MN, b: ters kutuplaşma, c: kromozom köprüsü, d: yapışkan kromozom, e: C-mitoz, f: kromozomun eşit olmayan dağılımı, g: fragment)

4.6. Dietil Ftalat'ın Mitotik İndeks (MI) Üzerine Etkisi

Dietil ftalat uygulanmasının bölünen hücrelerin sayısını ifade eden mitotik indeks (MI) üzerine etkisi Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Kontrol grubunda ortalama $912,60 \pm 23,86$ ayrıca $4,4 \mu\text{M}$ Dietil ftalat dozu ile muamele edilen Grup IV'de ise ortalama $548,50 \pm 24,54$ oranında MI sayılmış, her iki grup arasında ortalama değerlerde %39,90 oranında azalmanın olduğu görülmüştür. Grup II ve Grup III ortalamaları kıyaslandığında ise ortalama değerlerde %12,10 oranında bir azalmanın olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, Dietil ftalat uygulaması doz artışına bağlı olarak MI değerinde azalmaya sebep olmuş, bu azalışın ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0,05$) gözlenmiştir.

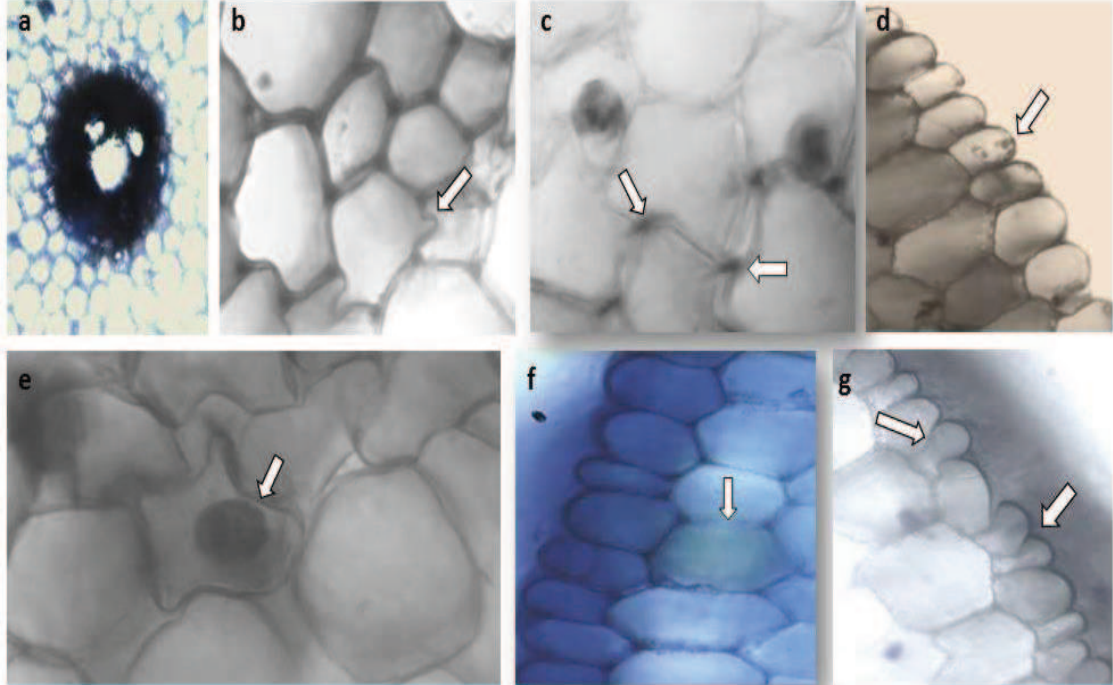
Tablo 4.6. Dietil ftalat'ın MI üzerine etkisi

Gruplar	Minimum MI	Maksimum MI	Ortalama	% Değer
Grup I	878	948	912,60±23,86 ^a	9,12
Grup II	724	884	807,00±50,10 ^b	8,07
Grup III	684	735	709,30±17,15 ^c	7,09
Grup IV	515	584	548,50±24,54 ^d	5,48

*Grup I: Kontrol, Grup II: 1,0 µM Dietil ftalat, Grup III: 2,2 µM Dietil ftalat, Grup IV: 4,4 µM Dietil ftalat (n=10). MI her bir kök ucu için 1000 hücre toplamda 10000 hücre sayılarak yüzde olarak hesaplandı. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel değişimler sırası ile "Duncan" testi ve "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,05).

4.7. Dietil Ftalat Tarafından Teşvik Edilen Anatomik Hasarlar

Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda, Dietil ftalat'ın *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde; belirgin olmayan iletim doku, korteks hücre deformasyonu, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, epidermis hücrelerinde madde birikimi, yassılaştırmış hücre çekirdeği, nekroz ve epidermis hücrelerinde deformasyon şeklinde anatomik hasarlara neden olduğu ve söz konusu hasarların Dietil ftalat uygulama dozuna bağlı olarak arttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Dietil ftalat tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar (a: belirgin olmayan iletim doku, b: korteks hücre deformasyonu, c: korteks hücre çeperinde kalınlaşma, d: epidermis hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, e: yassılaştırmış hücre çekirdeği, f: nekroz, g: epidermis hücrelerinde deformasyon)

4.8. Dietil Ftalat'ın Kök Ucu Hücrelerinin Malondialdehit (MDA) Düzeyine Etkisi

Dietil ftalat uygulamasının lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan Malondialdehit (MDA) düzeyine etkisi Tablo 4.8'de gösterilmiştir. Tablodaki sonuçlardan, Dietil ftalat uygulamasının kontrol grubuna göre MDA düzeyini istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde arttırdığı ($p<0,05$) ve bu artışta doza bağlı olduğu görülebilmektedir. Kontrol grubunda ortalama $9,20 \mu\text{mol g}^{-1}$ MDA düzeyi ölçülürken, Dietil ftalat'ın $1,0 \mu\text{M}$ dozunda $17,30 \mu\text{mol g}^{-1}$, $2,2 \mu\text{M}$ dozunda $22,20 \mu\text{mol g}^{-1}$ ve $4,4 \mu\text{M}$ dozunda ise $28,80 \mu\text{mol g}^{-1}$ MDA düzeyi ölçülmüştür. Dietil ftalat'ın $4,4 \mu\text{M}$ dozunda MDA düzeyi kontrol grubuna oranla %313'lik bir artış göstermiştir.

Tablo 4.7. Dietil ftalat uygulamasının kök ucu hücrelerinin MDA içeriğine etkisi [(MDA) ($\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)]

Uygulama süresi (Saat)	Gruplar	Minimum MDA	Maksimum MDA	Ortalama MDA
72	Grup I	7	12	$9,20 \pm 1,62^d$
72	Grup II	10	24	$17,30 \pm 3,62^c$
72	Grup III	15	26	$22,20 \pm 3,61^b$
72	Grup IV	25	35	$28,80 \pm 3,22^a$

*Her bir grup 10 bulbu içerir. Grup I: kontrol, Grup II: $1,0 \mu\text{M}$ Dietil ftalat, Grup III: $2,2 \mu\text{M}$ Dietil ftalat, Grup IV: $4,4 \mu\text{M}$ Dietil ftalat. Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel değişimler sırası ile "Duncan" testi ve "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0,05$).

4.9. Dietil Ftalat'ın Kök Ucu Hücrelerinde Süperoksit Dismutaz (SOD) Oluşumuna Etkisi

Dietil ftalat uygulamasının antioksidan özellikle enzimatik stres faktörlerinden biri olan Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeyine etkisi Tablo 4.9'da gösterilmiştir. Tablodaki sonuçlardan, Dietil ftalat uygulamasının kontrol grubuna göre SOD düzeyini istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde arttırdığı ($p<0,05$) ve bu artışta doza bağlı olduğu görülebilmektedir. Kontrol grubunda ortalama $101,00 \text{ U/mg}$ SOD düzeyi ölçülürken, Dietil ftalat'ın $1,0 \mu\text{M}$ dozunda $125,00 \text{ U/mg}^{-1}$, $2,2 \mu\text{M}$ dozunda $166,00 \text{ U/mg}^{-1}$ ve $4,4 \mu\text{M}$ dozunda ise $217,00 \text{ U/mg}^{-1}$ SOD düzeyi ölçülmüştür. Dietil

ftalat'ın 4,4 µM dozunda SOD düzeyi kontrol grubuna oranla %115'lik bir artış göstermiştir.

Tablo 4.8. Dietil ftalat uygulamasının kök ucu hücrelerinin SOD oluşumuna etkisi [(SOD) ([U/mg⁻¹ FW])]

Uygulama süresi (Saat)	Gruplar	Minimum SOD	Maksimum SOD	Ortalama SOD
72	Grup I	90	118	101,00±10,84 ^d
72	Grup II	100	140	125,00±12,13 ^c
72	Grup III	150	180	166,00±10,04 ^b
72	Grup IV	200	230	217,00±9,82 ^a

*Her bir grup 10 bulb içerir. Grup I: kontrol, Grup II: 1,0 µM Dietil ftalat, Grup III: 2,2 µM Dietil ftalat, Grup IV: 4,4 µM Dietil ftalat. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel değişimler sırası ile “Duncan” testi ve “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05).

4.10. Dietil Ftalat'ın Kök Hücrelerinde Katalaz (CAT) Oluşumuna Etkisi

Dietil ftalat uygulamasının antioksidan özellikle enzimatik stres faktörlerinden biri olan Katalaz (CAT) düzeyine etkisi Tablo 4.9'da gösterilmiştir. Tablodaki sonuçlardan, Dietil ftalat uygulamasının kontrol grubuna göre CAT düzeyini istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde arttırdığı (p<0,05) ve bu artışında doza bağlı olduğu görülebilmektedir. Kontrol grubunda ortalama 1,30 gFW CAT düzeyi ölçülürken, Dietil ftalat'ın 1,0 µM dozunda 1,68 gFW, 2,2 µM dozunda 2,52 gFW ve 4,4 µM dozunda ise 3,55 gFW CAT düzeyi ölçülmüştür. Dietil ftalat'ın 4,4 µM dozunda CAT düzeyi kontrol grubuna oranla %173'lik bir artış göstermiştir.

Tablo 4.9. Dietil ftalat uygulamasının kök ucu hücrelerinin CAT oluşumuna etkisi [(CAT)([OD240nm min.⁻¹ gFW])]

Uygulama süresi (Saat)	Gruplar	Minimum CAT	Maksimum CAT	Ortalama CAT
72	Grup I	1,15	1,45	1,30±0,11 ^d
72	Grup II	1,58	1,76	1,68±0,06 ^c
72	Grup III	2,32	2,75	2,52±0,15 ^b
72	Grup IV	3,16	3,85	3,55±0,27 ^a

*Her bir grup 10 bulb içerir. Grup I: kontrol, Grup II: 1,0 µM Dietil ftalat, Grup III: 2,2 µM Dietil ftalat, Grup IV: 4,4 µM Dietil ftalat. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel değişimler sırası ile “Duncan” testi ve “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde birbirinden farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0,05).

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *Allium cepa* L.'da Dietil Ftalat'ın 1,0, 2,2, 4,4 μM dozlarının sebep olduğu fizyolojik, anatomik ve sitogenetik değişimler araştırılmıştır. Bu bağlamda, çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı, kromozomal hasarlar, MN sıklığı, MI değeri ve anatomik hasarların tespiti yoluna gidilmiş, ayrıca kök ucu hücrelerinde stres parametreleri olan MDA, SOD ve CAT düzeyleri de ölçülmüştür.

Ftalatlar üzerine daha önce yapılmış bazı çalışmalar bulunmakla birlikte, bunların çoğunun insan dokuları, rat ve fare gibi deney hayvanlarıyla gerçekleştirilmiş çalışmalar olduğu, bitkiler üzerinde Ftalatların etkilerini araştıran çalışmaların ise oldukça yetersiz olduğu görülebilecektir. Gerçekleştirilen bu çalışmanın literatüre bu anlamda yeni bilgiler sağlaması açısından da oldukça önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Dietil ftalatın 1,0, 2,2 ve 4,4 μM dozlarında uygulaması *A. cepa* test materyalinde çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı gibi fizyolojik parametrelerde doza bağlı azalışa neden olmuştur. Literatürde Dietil Ftalat ile olmasa da, diğer kimyasal ajanların fizyolojik parametreler üzerine etkileri konusunda gerçekleştirilmiş çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin EL-Barghathi ve Asoyri (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada fenol, naftanol ve giberellik asitin *A. cepa* L.'da çimlenme yüzdesi üzerine etkilerini araştırmış, sonuçta her üç kimyasalında uygulama dozuna bağlı olarak çimlenme yüzdesini azalttığı rapor edilmiştir. Seth ve ark. (2008) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise Kadmiyumun (Cd) 10, 20 ve 40 μM dozlarının *A. cepa* L. kök uzunluğuna etkileri araştırılmış, sonuçta Cd

uygulamasının doza bağıl şekilde kök uzunluğunu azalttığı, bu azalışında Cd'nin 40 µM dozunda daha da belirgin olduğu görülmüştür. Demirtaş ve ark. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir diğ er çalışmada ise bir fungusit olan Dinikanazol'un artan dozlarının (25, 50 ve 100 ppm) *A. cepa*'da teşvik ettiği fizyolojik değışimler araştırılmış, sonuçta Dinikanazol dozundaki artışa bağıl olarak çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık kazanımı gibi fizyolojik parametrelerde önemli azalmalar olduğu tespit edilmiştir.

Dietil ftalat uygulamasının sitogenetik etkileri MN ve kromozomal hasar sayıları ile MI değıerinin belirlenmesiyle araştırılmış, sonuçta Dietil Ftalat uygulamasının MN ve kromozomal hasar oluşumunu teşvik ettiği, ayrıca MI değıerini azalttığı belirlenmiştir. Literatürlerde Dietil ftalatın mito-depresif etkiye neden olarak MI değıerini azaltmasının nedeni olarak, hücrenin normal gelişiminin engellenmesi ve hücrenin profaza girmesinin engellenerek interfaz safhasında mitozun bloklanması gösterilmiştir (Rijstenbil and Poortvliet, 1992, Duan and Wang, 1995; Borboa and De la Torre, 1996). Diğ er yandan, bilimsel araştırmalarda MN'lerin oluşum mekanizmasını açıklayan bazı bilgiler de mevcuttur. Örneğ in Sudhakar ve ark. (2001) MN'lerin asentrik fragmentlerden (*klastojenik tepki*) yâda anafazda geri kalmış kromozomlardan veya iğ ipliklerindeki anormalliklerden (*anojenik tepki*) kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Kromozom anormalliklerinin nedeni olarak ise hatalı eşleştirilen veya tamir edilemeyen DNA iplikleri ile bunlarda meydana gelen kırılmalar olduğu bildirilmiştir (Maluszynska and Juchimiuk, 2005). Bu bilgiler ışığında, literatürde farklı kimyasal ajanların sebep olduğu sitogenetik etkileri araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Örneğ in; Konuk ve ark. (2009) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Bakır sülfat ve Kobalt klorit'in *A. cepa* kök hücrelerindeki sitotoksik etkilerini araştırılmış, sonuçta her iki kimyasalında uygulama dozundaki artışa bağıl olarak MI'i azalttığı, ayrıca kromozom köprüsü, vagrant kromozom, fragment, c-anafaz ve kromozom kutuplaşması şeklinde hasarlara neden olduğu tespit edilmiştir. Rank ve arkadaşları (2002) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise Dietil hekzil ftalat'ın *A. cepa* test materyalinde, MI değıerinde kontrol grubuna göre azalmaya sebep olduğu rapor edilmiştir. Bianchi ve ark. (2016) tarafından gerçekleştirilen bir diğ er çalışmada ise

Imidacloprin insektisitinin *A. cepa*'da sitotoksik ve genotoksik etkileri araştırılmış, sonuçta MN, yapışkanlık ve köprü şeklindeki kromozomal hasar sayılarında artış, MI değerinde ise azalma rapor edilmiştir.

Dietil fitalat'ın gözlenen bir diğer etkisi ise *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinin anatomik yapısı üzerine olmuştur. Gerçekleştirilen mikroskopik incelemeler sonucunda Dietil fitalat'ın kök ucu hücrelerinde belirgin olmayan iletim doku, korteks hücre deformasyonu, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, epidermis hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, yassılaştırmış hücre çekirdeği, nekroz ve epidermis hücrelerinde deformasyon şeklinde anatomik hasarlara neden olduğu ve bu hasarların Dietil fitalat dozundaki artışa bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Literatürde çeşitli kimyasal ajanların bitki kök ucu hücrelerinde anatomik hasarları teşvik ettikleri yönünde bazı çalışmalar mevcuttur. Örneğin Bıçakçı ve ark. (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Diazinon'un 50, 250 ve 500 mg/L⁻¹ dozlarının *A. cepa* kök uçlarında meydana getirdiği anatomik hasarlar incelenmiş, sonuçta kök ucu hücrelerinde yassılaştırmış hücre çekirdeği, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, iletim dokuda bazı maddelerin birikimi ve nekroz şeklinde anatomik hasarlar belirlenmiştir. Çavuşoğlu ve ark. (2012) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise Thiamethoxam insektisitinin *A. cepa* kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği anatomik değişimler araştırılmış, sonuçta Thiamethoxam uygulamasının kök ucu hücrelerinde hücre çekirdeğinin olağan olmayan şekli, nekrotik hücre ölümü, belirgin olmayan iletim doku ve belirgin olmayan epidermis tabakası şeklindeki anatomik hasarları teşvik ettiği rapor edilmiştir. Acar ve ark. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise Paraquat herbisitinin *A. cepa* kök uçlarının anatomisine etkileri araştırılmış, sonuçta Paraquat uygulamasının kök ucu meristematik hücrelerinde yassılaştırmış hücre çekirdeği, nekroz, belirgin olmayan iletim doku ve iletim dokuda bazı maddelerin birikimi şeklinde hasarlara neden olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada, Dietil ftalat'ın *A. cepa* kök ucu hücrelerinin MDA, SOD ve CAT düzeylerine etkileri de araştırılmıştır. MDA lipid peroksidasyonunun önemli göstergelerinden biridir. SOD ise organizmaları oksidatif strese karşı korumada kritik bir rol oynamaktadır. SOD'un glikasyon ile in-aktivasyonu, oksidatif stresin neden olduğu hasarları arttırmaktadır. CAT ise stres koşullarında oluşan Hidrojen Peroksiti (H_2O_2) H_2O ve O_2 'ye dönüştürülerek, hücreleri strese karşı korumaktadır (Anwar ve Younus, 2017). 1,0 2,2 ve 4,4 μM dozlarında Dietil ftalat uygulaması *A. cepa* kök ucu hücrelerinde MDA düzeyi ile antioksidant savunma enzimleri olan SOD ve CAT düzeylerinde artışa neden olmuştur. Yakın zamanda yapılan benzer tarzdaki çalışmalarda, strese bağlı olarak *Lycopersicon esculentum* L. (Krupa ve Baszynski, 1989), *Triticum aestivum* L. (Vassilev, 2004) ve *Hordeum vulgare* L.'de (Gaur ve Grupa, 1994) MDA düzeyinin arttığını gösterilmiştir. Benzer şekilde *A. cepa* test materyali kullanılarak gerçekleştirilen bazı çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Qin ve ark. (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Al'nin 50 μM dozunun *A. cepa* kök ve yaprak dokularında sebep olduğu biyokimyasal değişimler araştırılmış, sonuçta Al uygulamasının MDA ve SOD düzeyinde artışa, CAT düzeyinde ise azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Zou ve ark. (2012) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir başka çalışmada ise Cd'nin farklı dozlarının (0, 1, 10, 100 μM) zamana bağlı olarak *A. cepa* kök ve yaprak dokularının MDA, SOD ve CAT düzeyleri üzerine etkileri araştırılmış, sonuçta Cd dozundaki artışı bağlı olarak zamanla MDA düzeyinin arttığı, SOD ve CAT düzeylerinin ise önce artış daha sonra ise azalma gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, günlük yaşamımızda sürekli kullandığımız birçok ürünün yapısında bulunan Dietil ftalat'ın belirli bir doz eşiğine ulaştığında toksik etkilere neden olduğu *A. cepa* test materyali yardımıyla belirlenmiştir. Bu nedenle, Dietil ftalat kullanımının sınırlandırılması, kullanımının elzem olduğu durumlarda ise canlılarda toksik etki oluşturmayacak doz seviyelerinin tercih edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Acar, A., Çavuşoğlu, K., Türkmen, Z., Çavuşoğlu, K., & Yalçın, E. 2015. The Investigation of Genotoxic, Physiological and Anatomical Effects of Paraquat Herbicide on *Allium cepa* L. *Cytologia*, 80(3): 343-351.
- Ahbab, M.A., Ündeğer, Ü., Barlas, N., Başaran, N. 2014. In utero exposure to dicyclohexyl and di-n-hexyl phthalate possess genotoxic effects on testicular cells of male rats after birth in the Comet and TUNEL assays *Human & Experimental Toxicology*, 33:230–239.DOI:10.1177/0960327113494903.
- Al-Omran, L.A., Preston, M.R. 1987. The interactions of phthalate esters with suspended particulate material in fresh and marine waters. *Environmental Pollution*, 46:177–186.
- Anderson, D., Yu, T.W., Hinçal, F. 1999. Effect of some phthalate esters in human cells in the Comet assay. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 19:275–280.
- Andrady, A., Neal, M. 2009. Applications and societal benefits of plastics *Philosophical Transactions Royal Society of London* 364(1526)
- Anonymous. 1985. Final report on the safety assessment of dibutylphthalate, dimethylphthalate, and diethylphthalate. *Journal of the American College of Toxicology*, 4(3):267–303.
- Anwar, S., Younus, H. 2017. Inhibitory effect of alliin from *Allium sativum* on the glycation of superoxide dismutase, *International Journal of Biological Macromolecules*, 103:182-193
- Api, A.M, 2001. Toxicological profile of diethyl phthalate: a vehicle for fragrance and cosmetic ingredients. *Food and Chemical Toxicology*. 39:97–108.
- Astill, B., Barber, E., Lington, A., Moran, E., Mulholland, A., Robinson, E., Scheider, B. 1986. Chemical industry voluntary test program for phthalate esters: health effects studies. *Environmental Health Perspectives*, 65:329–336.
- Astill, B.D., Gingell, R., Guest, D., Hellwig, J., Hodgson, J.R., Kuettler, K., Mellert, W., Murphy, S.R., Sielken, R.L. Jr., Tyler, T.R. 1996. Oncogenicity testing of 2-ethylhexanol in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 31:29–41.

- Atik, M., Karagüzel, O., Ersoy, S. 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 20 (2): 203–210.
- Autian, J. 1982. Antifertility effects and dominant lethal assays for mutagenic effects of DEHP. Environmental Health Perspectives, 45:115–118.
- Bagatini, M.D., Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B. 2007. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 17, pp.444-447, ISSN 0102695X
- Barrows, M.E., Petrocelli, S.R., Macek, K.J., Carroll, J.J. 1980. Bioconcentration and elimination of selected water pollutants by bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). In: Haque R, ed. Dynamics, exposure and hazard assessment of toxic chemicals. Ann Arbor, MI, Ann Arbor Science, pp. 379–392.
- 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., and Sizer, I.W. 1952. Colorimetric method for estimation of catalase. Journal of Biological Chemistry, 195:133–139.
- Benjamin, S., Pradeep, S., Josh, M.S., Kumar, S., Masai, E. 2015. A monograph on the remediation of hazardous phthalates. Journal of Hazardous Materials, 298:58–72. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.05.004.
- Bıçakçı, U., Çavuşoğlu, K., Yapar, K., Acar, A., & Yalçın, E. 2017. *Allium cepa* L. Kök Ucu Hücrelerinde Diazinon Toksisitesinin Araştırılması. Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(3): 49-56.
- Bianchi, J., Fernandes, T.C.C., & Marin-Morales, M. A. 2016. Induction of mitotic and chromosomal abnormalities on *Allium cepa* cells by pesticides imidacloprid and sulfentrazone and the mixture of them. Chemosphere, 144: 475-483.
- Biscardi, D., Monarca, S., De Fusco, R., Senatore, F., Poli, P., Buschini, A., Rossi, C., Zani, C. 2003. Evaluation of the migration of mutagens/carcinogens from PET bottles into mineral water by Tradescantia/micronuclei test, Comet assay on leukocytes and GC/MS. Science of the Total Environment, 302:101–118.
- Blom, A., Ekman, E., Johannisson, A., Norrgren, L., Pesonen, M. 1998. Effects of xenoestrogenic environmental pollutants on the proliferation of a human breast cancer cell line (MCF-7). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 34:306–310.
- Boese, B.L. 1984. Uptake efficiency of the gills of English sole (*Parophrys vetulus*) for four phthalate esters. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 41:1713–1718.
- Camanzo, J., Rice, C.P., Jude, D.J., Rossmann, R. 1983. Organic priority pollutants in nearshore fish from 14 Lake Michigan tributaries and embayments. Journal of Great Lakes Research, 13:296–309.
- Camparoto, M.L., Teixeira, R.O., Mantovani, M.S. & Vicentini, V.E.P. 2002. Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion

- root-tip and rat bone-marrow cells. *Genetics and Molecular Biology*, 25, pp. 85-89, ISSN 1415- 4757.
- Cartwright, C.D., Owen, S.A., Thompson, I.P., Burns, R.G. 2000a. Biodegradation of diethyl phthalate in soil by a novel pathway. *FEMS Microbiology Letters*. 186(1):27–34.
- Cartwright, C.D., Thompson, I.P., Burns, R.G. 2000b. Degradation and impact of phthalate plasticizers on soil microbial communities. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(5):1253–1261.
- Chan Kang, S., Mu Lee, B. 2005. DNA methylation of estrogen receptor α gene by phthalates. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, 68:1995–2003.
- Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N., Sundararaman, V., Gupta, S.K. 1998. Diuron induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 62, 152–163.
- Chemical Daily, 2001. 13901 chemical products. Tokyo, The Chemical Daily Co., Ltd., pp. 1070–1071.
- Choi, S., Park, S.Y., Jeong, J., Cho, E., Phark, S., Lee, M., Kwak, D., Lim, J.Y., Jung, W.W., Sul, D. 2010. Identification of toxicological biomarkers of di(2-ethylhexyl) phthalate in proteins secreted by HepG2 cells using proteomic analysis. *Proteomics*;10:1831–1846. DOI: 10.1002/pmic.200900674.
- Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., Türkmen, Z., Yapar, K., & Sağır, S. 2012. Physiological, anatomical, biochemical, and cytogenetic effects of thiamethoxam treatment on *Allium cepa* (amaryllidaceae) L. *Environmental toxicology*. 27(11):635-643.
- Darbelley, N., Driss-Ecole, D., Perbal, G. 1989. Elongation and mitotic activity of cortical cells in lentil roots grown in microgravity. *Plant Physiol Biochem* 27: 341–347
- Demirtas, G., Çavusoglu, K., and Yalçın, E. 2015. Anatomic, Physiologic and Cytogenetic Changes in *Allium cepa* L. Induced by Diniconazole. *Cytologia*. 80(1):51-57.
- DeVault D.S. 1985. Contaminants in fish from Great Lakes harbors and tributary mouths. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 14:587–594.
- Driss-Ecole, D, Schoevaert D, Noin M. and Perbal G. 1994. Densitometric analysis of nuclear DNA content in lentil roots grown in space. *The Cell*, 81:59-64.
- Duan, C.Q., Wang, H.X., 1995. Cytogenetical toxic effects of heavy metals on *Vicia faba*, and inquires into the *Vicia* micronucleus. *Acta Botanica Sinica*, 37, 14–24.
- Durmaz, E., Ozmert, E.N., Erkekoglu, P., Giray, B., Derman, O., Hincal, F., Yurdakök, K. 2010. Plasma phthalate levels in pubertal gynecomastia. *Pediatrics*. 125:e122–e129. DOI: 10.1542/peds.2009-0724.

- Duty, S.M., Singh, N.P., Silva, M.J., Barr, D.B., Brock, J.W., Ryan, L., Herrick, R.F., Christiani, D.C. 2003. Hauser R. The relationship between environmental exposures to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral Comet assay. *Environmental Health Perspectives*, 111:1164–1169.
- EL-Barghathi, M., Asoyri H. 2007. Effect of Phenol, Naphthol and Gibberellic Acid on Seed Germination of *Allium cepa* L. (Onion), Benghazi University Press *Journal of Science and Its Applications* 1(1):6-13
- Erkekoglu, P., Rachidi, W., Yuzugullu, O.G., Giray, B., Favier, A., Ozturk, M., Hincal, F.2010. Evaluation of cytotoxicity and oxidative DNA damaging effects of di(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP) and mono(2-ethylhexyl)-phthalate (MEHP) on MA-10 Leydig cells and protection by selenium. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 248:52–62. DOI: 10.1016/j.taap.2010.07.016.
- Erkekoglu, P., Zeybek, N.D., Giray, B.K., Rachidi, W., Kızılgün, M., Hininger-Favier I., Favier, A., Asan, E., Hincal, F. 2014. The effects of di(2-ethylhexyl)phthalate on rat liver in relation to selenium status. *International Journal of Experimental Pathology*. 95:64–77. DOI: 10.1111/iep.12059.
- Erkekoğlu, P., Rachidi, W., De Rosa, V., Giray, B., Favier, A., Hincal, F. 2010. Protective effect of selenium supplementation on the genotoxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate and mono(2-ethylhexyl)phthalate treatment in LNCaP cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 49:559–566. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.038.
- Fisher, J.S. 2004. Environmental anti-androgens and male reproductive health: Focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome. *Reproduction*, 127:305–315.
- Fiskesjö, G. 1985. The Allium-test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas*, 102, pp. 99-112.
- Fiskesjö, G. 1988. The Allium test-an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions. *Mutation Research*. 197, pp. 243–260, ISSN 0027-5107
- Fiskesjö, G. 1993. The Allium test in wastewater monitoring, *Environmental Toxicology and Water Quality* 8, pp. 291-298.
- Fiskesjö, G. 1994. The Allium Test II: Assesment of chemical's genotoxic potential by recording aberrations in chromosomes and cell divisions in root tips of *Allium cepa* L., *Environ Toxicol Water Qual*, 9, pp. 234-241.
- Fiskesjö, G. 1995. Allium test: In vitro toxicity testing protocols, *Methods in Molecular Biology*, 43, pp. 119-127.
- Frederiksen, H., Jensen, T.K., Jørgensen, N., Kyhl, H.B., Husby, S., Skakkebæk, N.E., Main, K.M., Juul, A., Andersson A.M. 2014. Human urinary excretion of non-persistent environmental chemicals: An overview of Danish data collected between 2006 and 2012. *Reproduction*. 147:555–565. DOI: 10.1530/REP-13-0522.
- Gaur, A., Grupa, S.K. 1994. Lipid components of mustard seeds (*Brassica juncea* L.) as influenced by cadmium levels. *Plant Foods Hum Nutr*, 46: 93-102.
- Grayson, B.T., Fosbraey, L.A. 1982. Determination of the vapor pressure of pesticides. *Pesticide Science*. 13:269–278.

- Grayson, B.T., Fosbraey, L.A. 1982. Determination of the vapor pressure of pesticides. *Pesticide Science*. 13:269–278.
- Hauser, R., Meeker, J.D., Singh, N.P., Silva, M.J., Ryan, L., Duty, S., Calafat, A.M. 2007. DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Human Reproduction*, 2:688–695. DOI: 10.1093/humrep/del428
- Hawley, G.G. 1987. *Hawley's condensed chemical dictionary*, 10th ed. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Company, Inc. p.394.
- Heudorf, U., Mersch-Sundermann, V. 2007. Angerer J. Phthalates: Toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210:623–634.
- Hinckley, D.A., Bidleman, T.F., Foreman, W.T., Tuschall, J.R. 1990. Determination of vapor pressures for nonpolar and semipolar organic compounds from gas chromatographic retention data. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 35(3):232–237.
- Hodges, D.M., DeLong, J.M., Forney, C.F., Prange, R.K. 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207: 604–11.
- Högstedt, B., Karlsson, A. 1985. The size of micronuclei in human lymphocytes varies according to inducing agent used. *Mutation Research*, 156: 229-32.
- HSDB, 1994. Hazardous Substances Data Bank. Bethesda, MD, National Library of Medicine, National Toxicology Information Program, 11 September 1994.
- Huber, W.W., Grasl-Kraupp, B., Schulte-Hermann R. 1996. Hepatocarcinogenic potential of di(2-ethylhexyl)phthalate in rodents and its implications on human risk. *Critical Reviews in Toxicology*, 26:365–481.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) Monographs. 2000. Di(2-ethylhexyl) phthalate. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 77: 41–148.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1999. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–112. Butyl benzyl phthalate (Group 3). Monograph 101, Supplement 7, 73.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 2012. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Chemicals Present in Industrial and Consumer Products. Monograph 101. World Health Organization. Lyon: France. ISBN: 978 92 832 1324 6.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 2013. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–112. Di(2-ethylhexyl)phthalate. Group 2B. Monograph 101, Supplement 7, 73. Available from: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>

- Johns, L.E., Ferguson, K.K., Soldin, O.P., Cantonwine, D.E, Rivera-González, L.O, Del Toro, L.V., Calafat, A.M., Ye, X., Alshawabkeh, A.N., Cordero, J.F., Meeker, J.D. 2015. Urinary phthalate metabolites in relation to maternal serum thyroid and sex hormone levels during pregnancy: A longitudinal analysis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13:4. DOI: 10.1186/1477-7827-13-4.
- Kamrin, M.A., Mayor, G.H. 1991. Diethyl phthalate — a perspective. *Journal of Clinical Pharmacology*, 31(5):484–489.
- Kim, M.Y., Kim, Y.C., Cho, M.H. 2002. Combined treatment with 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and dibutyl phthalate enhances ozone-induced genotoxicity in B6C3F1 mice. *Mutagenesis*, 17:331–336.
- 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*, 392: 19–30.
- Kleinsasser, N.H., Kastenbauer, E.R., Wallner, B.C., Weissacher, H., Harréus, U.A. 2001. Genotoxicity of phthalates. On the discussion of plasticizers in children's toys. *HNO*, 49:378–381.
- Kleinsasser, N.H., Wallner, B.C., Kastenbauer, E.R., Weissacher, H., Harréus, U.A. 2001. Genotoxicity of di-butyl-phthalate and di-iso-butyl-phthalate in human lymphocytes and mucosal cells. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 21:189–196.
- Kluwe, W.M., Huff, J.E., Matthews, H.B., Irwin, R., Haseman, J.K. 1986. Comparative chronic toxicities and carcinogenic potentials of 2-ethylhexyl-containing compounds in rats and mice. *Carcinogenesis*, 6:1577–1583.
- Krupa, Z., Baszynski, T. 1986. Acyl lipid composition of thylakoid membranes of cadmium-treated tomato plants. *Acta Physiol Plantarum*, 11: 111-6.
- Labow, R.S., Tocchi, M., Rock, G. 1986. Contamination of platelet storage bags by phthalate esters. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 19:591–598.
- Lawrence, W.H., Malik, M., Turner, J.E., Singh, A.R., Autian, J. 1975. A toxicological investigation of some acute, short-term, and chronic effects of administering di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and other phthalate esters. *Environmental Research*, 9:1–11.
- Lee, K.H., Lee, B.M. 2007. Study of mutagenicities of phthalic acid and terephthalic acid using in vitro and in vivo genotoxicity tests. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, 70:1329–1335.
- Leme, D.M. & Marin-Morales, M.A. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application, *Mutation Research*, 682, pp. 71–81, ISSN 0027-5107
- Levan, A. 1938. The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*, *Hereditas*, 24, pp. 471- 486, ISSN 0018-0661.

- Lewis, D.L., Holm, H.W., Kollig, H.P., Hall, T.L. 1984 Transport and fate of diethyl phthalate in aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 3:223–232.
- Lewis, D.L., Kellogg, R.B., Holm, H.W. 1985. Comparison of microbial transformation rate coefficients of xenobiotic chemicals between field-collected and laboratory microcosm microbiota. In: Boyle TO, ed. *Validation and predictability of laboratory methods for assessing the fate and effects of contaminants in aquatic ecosystems*. Philadelphia, PA, American Society for Testing and Materials, pp. 3–13 (ASTM Special Technical Publication 865).
- Lewis, R.J. Sr, ed. 1993. *Hawley's condensed chemical dictionary*, 12th ed. New York, NY, van Nostrand Reinhold Co., p. 396.
- Lindahl-Kiessling, K., Karlberg, I., Olofsson, A.M. 1989. Induction of sister-chromatid exchanges by direct and indirect mutagens in human lymphocytes, co-cultured with intact rat liver cells. Effect of enzyme induction and preservation of the liver cells by freezing in liquid nitrogen. *Mutation Research*, 211:77–87.
- Makbul, S., Kandemir, A., Turkmen, Z., Beyazoglu, O., 2008. Morphological and anatomical features of *Verbascum alyssifolium* Boiss. and *Verbascum calycosum* Hausskn. Ex Murb. (Scrophularicaae). *Herbal Journal System Botanic* 15: 125-140.
- Maluszynska, J., Juchimiuk, J., 2005. Plant genotoxicity: a molecular cytogenetic approach in plant bioassays. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 56, 177–184.
- Manikkam, M., Guerrero-Bosagna, C., Tracey, R., Haque, M.M., Skinner, M.K. 2012. Transgenerational actions of environmental compounds on reproductive disease and identification of epigenetic biomarkers of ancestral exposures. *PLoS One*, 7: e31901. DOI: 10.1371/journal.pone.0031901.
- Masayuki, Mishima. 2017. “Chromosomal aberrations, clastogens vs aneugens”, *Frontiers in Bioscience, Scholar*, 9:1-16
- McFall, J.A., Antoine, S.R., DeLeon, I.R 1985. Base-neutral extractable organic pollutants in biota and sediments from Lake Pontchartrain. *Chemosphere*, 14(10):1561–1569.
- McKee, R.H., Przygoda, R.T., Chiridon, M.A., Engelhardt, G., Stanley, M. 2000. Di(isononyl) phthalate (DINP) and di(isodecyl) phthalate (DIDP) are not mutagenic. *Journal of Applied Toxicology*, 20:491–497.
- Meek, M.E., Chan, P.K.L. 1994. Bis(2-ethylhexyl)phthalate: Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. *Environ Carcinog Rev.*, C12:179–194. DOI: 10.1080/10590509409373434.
- Mettang, T., Alscher, D.M., Pauli-Magnus, C., Dunst, R., Kuhlmann, U., Rettenmeier A.W. 1999. Phthalic acid is the main metabolite of the plasticizer di(2-ethylhexyl) phthalate in peritoneal dialysis patients. *Advances in Peritoneal Dialysis*, 15:229–233.

- Müller-Tegethoff, K., Kasper, P., Müller, L. 1995. Evaluation studies on the in vitro rat hepatocyte micronucleus assay. *Mutation Research*, 335:293–307.
- Nakai, M., Tabira, Y., Asai, D., Yakabe, Y., Shimyozu, T., Noguchi, M., Takatsuki, M., Shimohigashi, Y. 1999. Binding characteristics of dialkyl phthalates for the estrogen receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 254:311–314.
- Nässberger, L., Arbin, A., Ostelius, J. 1987. Exposure of patients to phthalates from polyvinyl chloride tubes and bags during dialysis. *Nephron*, 45:286–290.
- O’Grady, D.P., Howard, P.H., Werner, A.F. 1985. Activated sludge biodegradation of 12 commercial phthalate esters. *Applied Environmental Microbiology*, 49(2):443–445.
- Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA), 1997. Public Health Goal for Di(2-Ethylhexyl)Phthalate (DEHP) in Drinking Water. Pesticide and Environmental Toxicology Section Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency;. Available from:http://oehha.ca.gov/water/phg/pdf/DEHP_c.pdf.
- Park, S.Y., Choi, J. 2007. Cytotoxicity, genotoxicity and ecotoxicity assay using human cell and environmental species for the screening of the risk from pollutant exposure. *Environment International*, 33:817–822.
- Parker, L.V., Jenkins, T.V. 1986. Removal of trace-level organics by slow-rate land treatment. *Water Research*, 20:1417–1426.
- Peakall, D.B. 1975. Phthalate esters: Occurrence and biological effects. *Residue Reviews*, 54:1–41.
- Phillips, B.J., Anderson, D., Gangolli, S.D. 1986. Studies on the genetic effects of phthalic acid esters on cells in culture. *Environmental Health Perspectives*, 65:263–266.
- Phillips, B.J., James, T.E., Gangolli, S.D. 1982. Genotoxicity studies of di(2-ethylhexyl)phthalate and its metabolites in CHO cells. *Mutation Research*, 102:297–304.
- Qin, R., Jiao, Y., Zhang, S., Jiang, W., & Liu, D. 2010. Effects of aluminum on nucleoli in root tip cells and selected physiological and biochemical characters in *Allium cepa* var. *agrogarum* L. *BMC Plant Biology*, 10(1), 225.
- Rank, J. & Nielsen, M.H. 1994. Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater, *Mutation Research*, 312, 1, pp. 17- 24, ISSN 0027-5107
- Rank, J., Nielsen, M. H., Lopez, L. C., & Moreton, J. 2002. Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories. *Hereditas*, 136(1),13-18.DOI: 10.1034/j.1601-5223.2002.1360103.x

- Rijstenbil, J.W., Poortvliet, T.C.W., 1992. Copper and zinc in estuarine water: chemical speciation in relation to bioavailability to the marine planktonic diatom *Ditylum brightwellii*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11, 1615–1625.
- Russell, D.J, McDuffie, B., Fineberg, S. 1985. The effect of biodegradation on the determination of some chemodynamic properties of phthalate esters. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 20:927–941.
- Rusyn, I., Kadiiska, M.B., Dikalova, A., Kono, H., Yin, M., Tsuchiya, K., Mason, R.P., Peters, J.M., Gonzalez, F.J., Segal, B.H., Holland, S.M., Thurman, R.G. 2001. Phthalates rapidly increase production of reactive oxygen species in vivo: Role of Kupffer cells. *Molecular Pharmacology*, 59:744–750.
- Rusyn, I., Peters, J.M., Cunningham, M.L. 2006. Modes of action and species-specific effects of di-(2-ethylhexyl)phthalate in the liver. *Critical Reviews in Toxicology*, 36:459–479.
- Serrano, S.E., Karr, C.J., Seixas, N.S., Nguyen, R.H., Barrett, E.S., Janssen, S., Redmon, B., Swan, S.H., Sathyanarayana, S. 2014. Dietary phthalate exposure in pregnant women and the impact of consumer practices. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11:6193–6215. DOI: 10.3390/ijerph110606193.
- 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*, V. 71:3, 711-716
- Shintani, H. 1985. Determination of phthalic acid, mono-(2-ethylhexyl) phthalate and di-(2-ethylhexyl) phthalate in human plasma and in blood products. *Journal of Chromatography*, 337:279–290.
- Singh, S., Li, S.S. 2012. Epigenetic effects of environmental chemicals bisphenol A and phthalates. *International Journal of Molecular Sciences*, 13:10143–10153. DOI: 10.3390/ijms130810143.
- Smith-Oliver, T., Butterworth, B.E. 1987. Correlation of the carcinogenic potential of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) with induced hyperplasia rather than with genotoxic activity. *Mutation Research*, 188:21–28.
- Solange, B.T., Haywood, D.L. 2012. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test . *Environmental Contamination*. p.138. ISBN 978-953-51-0120-8.
- Staples, C.A., Peterson, D.R., Parkerton, T.F., Adams, W.J. 1997. The environmental fate of phthalate esters: a literature review. *Chemosphere*, 35:667–749.
- 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: 41–46.
- Stenchever, M.A., Allen, M.A., Jerominski, L., Petersen, R.V. 1976. Effects of bis(2-ethylhexyl) phthalate on chromosomes of human leukocytes and human fetal lung cells. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65:1648–1651.

- Sudhakar, R., Ninge-Gowda, K.N., Venu, G., 2001. Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*. *Cytologia*, 66: 235–239.
- Sugatt, R.H., O’Grady, D.P., Banerjee, S., Howard, P.H., Gliedhill, W.E. 1984. Shake flask biodegradation of 14 commercial phthalate esters. *Applied Environmental Microbiology*, 47:601–606.
- Tabak, H.H., Quave, S.A., Mashni, C.I., Barth, E.F. 1981. Biodegradability studies with organic priority pollutant compounds. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 53:1503–1508.
- Turner, J.H., Petricciani, J.C., Crouch, M.L., Wenger, S. 1974. An evaluation of the effects of diethylhexyl phthalate (DEHP) on mitotically capable cells in blood packs. *Transfusion*. 14:560–566.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1979. Water-related environmental fate of 129 pollutants. Volume II. Washington, DC, (EPA-440/4-79-029B).
- U.S. Environmental Protection Agency. 1981. Exposure and risk assessment for phthalate esters: Di(2-ethylhexyl) phthalate, di-n-butyl phthalate, dimethyl phthalate, diethyl phthalate, di-n-octyl phthalate, butyl benzyl phthalate. Final report. Washington, DC, (EPA- 440/4-81-020).
- U.S. Environmental Protection Agency. 1989. Health and environmental effects profile for phthalic acid esters. Cincinnati, OH, US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Environmental Criteria and Assessment Office (EPA/600/22).
- U.S. Environmental Protection Agency. 1995. Toxics Release Inventory. Washington, DC, at website:<http://www.epa.gov/TRI>.
- Unyayar, S., Celik, A., Cekic, F.O., Gozel, A. 2006. Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*. *Mutagenesis*, 21:77–81.
- US International Trade Commission (USITC) 1988. Synthetic organic chemicals: United States production and sales, 1987. Washington, DC, , pp. 11-2–11-3 (USITC Publication 2118).
- US International Trade Commission (USITC). 1981. Synthetic organic chemicals: United States production and sales, 1980. Washington, DC, pp. 187–188 (USITC Publication 1183).
- Vanparys, P., Vermeiren, F., Sysmans, M., Temmerman, R. 1990. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. *Mutation Research*, 244: 95-103.
- Vassilev, A. 2004. Cadmium-induced changes in chloroplast lipids and photosystem activities in barley plants. *Biol Plantarum*, 48:153-6.
- Veith, G.D., Macek, K.J., Petrocelli, S.R., Carroll, J. 1980. An evaluation of using partition coefficients and water solubility to estimate bioconcentration factors

- for organic chemicals in fish. In: Eaton JG, Parrish PR, Hendricks AC, eds. Aquatic toxicology. Philadelphia, PA, American Society for Testing and Materials, pp. 116–129 (ASTM Special Technical Publication 707).
- Verschueren, K. 1983. Handbook of environmental data on organic chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold, pp. 530–531.
- 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, pp.593-598, ISSN 1679- 9283.
- Von Ledebur, M.M., Schmid, W. 1973. The micronucleus test: Methodological aspects. Mutation Research, 19: 109-17.
- Waring, R.H., Harris, R.M. 2005. Endocrine disrupters: A human risk? Molecular and Cellular Endocrinology, 244:2–9. DOI: 10.1016/j.mce.2005.02.007
- Wormuth, M., Scheringer, M., Vollenweider, M., Hungerbühler, K. 2006. What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans? Risk Analysis, 26:803–824.
- Wu, S., Zhu, J., Li, Y., Lin, T., Gan, L., Yuan, X., Xu, M., Wei, G. 2010. Dynamic effect of di-2-(ethylhexyl) phthalate on testicular toxicity: Epigenetic changes and their impact on gene expression. International Journal of Toxicology, 29:193–200. DOI: 10.1177/1091581809355488.
- Yalkowsky, S.H., Dannenfelser, R.M. 1992. The AWUASOL database of aqueous solubility, 5th ed. Tucson, AZ, University of Arizona, College of Pharmacology.
- Yıldız, M., Cığerci, H.İ., Konuk, M., Fidan, F. A., Terzi, H. 2009. Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. Chemosphere V75:7, 934–938
- Zacharewski, TR., Meek, M.D., Clemons, J.H., Wu, Z.F., Fielden, M.R., Matthews, J.B. 1998. Examination of the in vitro and in vivo estrogenic activities of eight commercial phthalate esters. Toxicological Sciences, 46:282–293.
- Zou, J., Yue, J., Jiang, W., & Liu, D. 2012. Effects of cadmium stress on root tip cells and some physiological indexes in *Allium cepa* var. agrogarum L. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 54(1): 129-141.
- Zou, J., Yue, J., Jiang, W., & Liu, D. 2012. Effects of cadmium stress on root tip cells and some physiological indexes in *Allium cepa* var. agrogarum L. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 54(1): 129-141.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılı Antalya'da doğdu. İlk ve orta öğretimini Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde okudu ve lise öğrenimini Kayseri'de tamamladı. 2008 yılında kazandığı Giresun Üniversitesini Biyoloji bölümünü 2012 yılında bitirdi ve 2014 yılında aynı programın tezli yüksek lisans programını bitirerek, aynı yıl aynı programın, doktora programına başladı ve halen devam etmekte.