

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

*ALLIUM CEPA* L. KÖK UCU HÜCRELERİNDE DITHANE FUNGUSİNİN

TEŞVİK ETTİĞİ TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÜNAL ÜSTÜNDAĞ

OCAK

2016

## ÖZET

### *ALLIUM CEPA* L. KÖK UCU HÜCRELERİNDE DITHANE FUNGUSİTİNİN TEŞVİK ETTİĞİ TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÜSTÜNDAĞ, Ünal

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Ortak Danışman: Prof. Dr. Kürşad YAPAR

OCAK 2016, 18 Sayfa

Bu çalışmanın amacı, Dithane fungusitinin farklı dozlarının *Allium cepa* L. kök ucu hücreletindeki toksik etkilerini araştırmaktır. Bu nedenle çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık kazanımı, mikronukleus sıklığı (MN) ve kromozomal hasarlar toksisitenin indikatörü olarak kullanılmıştır. Tohumlar bir (1) kontrol ve üç (3) Dithane uygulama grubu olarak dört (4) gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise 72 saat süresince 125, 250 ve 500 ppm dozunda Dithane ile muamele edilmişlerdir. Sonuçta, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Dithane uygulanan gruplarda doza bağlı olarak çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık kazanımının azaldığı, kromozomal anormallikler ve mikronukleus (MN) sıklığının ise arttığı tespit edilmiştir. Yapılan mikroskobik incelemeler sonucunda kök ucu hücrelerinde fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı, iğ ipliği anormalliği, ters kutuplaşma, c-mitoz ve binukleuslu hücre şeklindeki kromozomal hasarlar belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Allium cepa* L., Dithane, Fizyoloji, Kromozomal anormallikler, Mikronukleus.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF TOXIC EFFECTS ENCOURAGED BY DITHANE FUNGICIDE ON *ALLIUM CEPA* L. ROOT TIP CELLS

ÜSTÜNDAĞ, Ünal

Giresun University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Co-Supervisor: Prof. Dr. Kürşad YAPAR

JANUARY 2016, 18 Pages

The aim of this study was to investigate the toxic effects of different doses of Dithane on *Allium cepa* L. root tips. Germination percentage, root length, weight gain, micronucleus (MN) frequency and chromosomal aberrations (CAs) were used as indicators of toxicity. The seeds were divided into four (4) groups; one (1) as control and three (3) as Dithane treatment groups. Seeds in control group were treated with tap water and seeds in treatment groups were treated with 125, 250 and 500 ppm doses of Dithane during 72 hours. As a result, germination percentage, root length and weight gain decreased, micronucleus (MN) frequency and chromosomal aberrations (CAs) were increased depending on the treatment dose in the seeds exposed to Dithane when compared with the controls. The results of microscopic examinations, Dithane fungicide encouraged chromosomal damages as fragment, sticky chromosome, chromosome bridge, unequal distribution of chromatin, spindle abnormality, reverse polarity, c-mitosis and binucleated cell on root tip cells.

**Keywords:** *Allium cepa* L., Chromosomal abnormalities, Dithane, Micronucleus, Physiology.

## TEŞEKKÜR

Öncelikle çalıőmalarım esnasında desteklerini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Kültięin AVUŐOęLU'na, tez çalıőmamın her aşamasında bilimsel destek sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Kürşad YAPAR, Doç. Dr. Emine YALÇIN ve Öęr. Gör. Ali ACAR'a teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalıőmam sırasında manevi desteklerini her zaman hissettiğim ailem ve eőime de teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
TABLOLAR DİZİNİ .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ .....	1
2. MATERYAL VE METOT .....	3
2.1. Kök Uçlarının Hazırlanması.....	3
2.2. Kök Uzunluğu, Ağırlık Kazanımı ve Çimlenme Yüzdesinin Belirlenmesi .....	3
2.3. Kromozomal Anormallikler, Mikronukleus (MN) Testi ve Mitotik İndeks (MI).....	4
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	5
4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	12
KAYNAKLAR .....	15
ÖZGEÇMİŞ .....	18

## TABLÖLAR DİZİNİ

### TABLO

3.1. Dithane uygulamasının tohum çimlenmesi üzerine etkisi .....	6
3.2. Dithane uygulamasının kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi.....	7
3.3. Dithane uygulamasının tohum ağırlık artışı (g) üzerine etkisi.....	8
3.4. Dithane tarafından teşvik edilen mikronukleus (MN) sıklığı .....	8
3.5. Dithane uygulaması tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar .....	10
3.6. Dithane uygulamasının Mitotik İndeks (MI) üzerine etkisi.....	11

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

3.1. Dithane tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar..... 5



## KISALTMALAR

BN	Binukleuslu hücre
CM	C-mitoz
FRG	Fragment
İİA	İğ ipliği anormalliği
KED	Kromatinin eşit olmayan dağılımı
KK	Kromozom köprüsü
MN	Mikronukleus
TK	Ters kutuplaşma
YK	Yapışkan kromozom



## 1. GİRİŞ

Dünya nüfusuna paralel olarak artan besin ihtiyacının karşılanması amacıyla, birim alandan daha yüksek verim ve daha kaliteli ürün alabilmek adına çeşitli yöntemlere başvurulmaktadır. Bu yöntemlerin başında ise kimyasal ilaç ve kimyasal gübre kullanımı gelmektedir (1). Üretim aşamasında yoğun ve bilinçsiz şekilde kullanılan bu kimyasallar karsinojen, mutajen ve teratojen etki göstererek insan sağlığını etkileyebilmekte, ayrıca bitki ve hayvan türlerinin yok olmasına ya da hedef olmayan diğer organizmaların etkilenmesine sebep olabilmektedir (2). Buna bağlı olarak da, her geçen gün söz konusu bu maddelerin doğaya yayılımı artmakta ve doğanın tahrip edilme süreci ise hızlanmaktadır (3).

Çevresel problemlerin en önemli nedenlerinden biri de tarımsal üretimi ve verimi arttırmada yoğun bir biçimde kullanılan pestisitlerdir. Pestisitler; bitkiler üzerinde veya çevresinde yaşayarak, üretim, depolama ve tüketim sırasında ürünün besin değerini düşüren ya da zarara uğratan böcek, kemirici, yabancı ot, mantar gibi canlı formlarının etkilerini azaltmak için kullanılan kimyasal maddelerdir (4). Bu maddelerden bazıları zararlı organizmanın vücuduna temas halinde bile öldürücü olabilmektedir. Hedef organizmanın üzerinde son derece toksik etki yapan bu kimyasal maddeler, solunum ve beslenme yoluyla hedef olmayan organizmaların bünyelerine alındıklarında da çeşitli hasarlara neden olabilmektedir (5). Pestisitlerin birçoğu yüksek düzeyde kalıcılık özelliğine sahiptir ve ekosistemde parçalanmadan uzun süre etkilerini korumaktadırlar. Besin zinciri yolu ile organizmalara geçerek dokularında birikmekte ve zararlı etkilere sebep olmaktadır (6). Pestisitler işlevlerine göre; insektisitler, herbisitler, rodentisitler, fumigantlar ve fungusitler şeklinde sınıflandırılmaktadır (7).

Pestisitlerin yaygın bir biçimde kullanılan gruplarından biri de fungusitlerdir. Fungusitler; bitkiler ve hayvanlar üzerine yerleşen mantarları önlemede kullanılan pestisitlerdir. Ayrıca bitkisel ürünlerin depolanması sırasında zararlılara karşı koruma amacıyla da kullanılmaktadır (8). Fungusitler, metabolik inhibitörler olup ve elektron taşıma zincirini ve enzimlerini, nükleik asit metabolizmasını, protein ve sterol sentezlerini inhibe etmek suretiyle etki göstermektedir (9).

En yaygın kullanılan fungusitlerden biri ise Dithane'dir. Dithane; etken maddesi Mancozeb olan ve tarımsal mücadelede yaygın bir biçimde kullanılan ditiokarbamat türevi bir fungusittir. Mancozeb ayrıca birçok ticari fungusitin etken maddesi olarakta kullanılmaktadır. Mancozeb;  $(C_4H_6MnN_2S_4) \times (C_4H_6N_2S_4Zn)$  kimyasal formüllü, molekül ağırlığı 266.31 g/mol, sarı renkli ve suda çözünebilen bir kimyasaldır (10). Patates yanıklığı, yaprak lekesi, kara leke ve pas dahil olmak üzere, bir çok fungal hastalığa karşı korumada kullanılmaktadır (11). Etki mekanizması ise funguslara karşı hücre içinde tiol bileşikleri ile tepkimeye girerek siyanür oluşturmak şeklinde gerçekleşmektedir (12).

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde tarımsal üretimde funguslarla mücadelede yaygın bir biçimde kullanılan Dithane fungusitinin muhtemel toksik etkilerini farklı biyolojik indikatörlerle *Allium cepa* L. test materyalinde gözler önüne sermektir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Kök Uçlarının Hazırlanması

Bu çalışma Dithane'ın 125, 250 ve 500 ppm'lik dozları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma materyali olarak aşağı yukarı eşit büyüklükte ve sağlıklı *Allium cepa* L. tohumları kullanılmıştır. Tohumlar bir (1) kontrol, üç (3) uygulama grubu olmak üzere toplam dört gruba ayrılmış ve 85x100 mm çapında plastik beherlere yerleştirilerek oda sıcaklığında 72 saat süresince çimlenmeye bırakılmıştır. Uygulama periyodu süresince; kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise 125, 250 ve 500 ppm'lik Dithane dozlarıyla muamele edilmiştir. Süre sonunda kök uçları distile su ile yıkanmış ve standart ezme preparasyon teknikleri kullanılarak sitogenetik analizler için hazır hale getirilmiştir (13).

### 2.2. Kök Uzunluğu, Ağırlık Kazanımı ve Çimlenme Yüzdesinin Belirlenmesi

Uygulama periyodu sonunda çimlenen tohumlardaki kök uzunlukları radikula oluşumu temel alınarak milimetrik ölçekli cetvel yardımıyla, ağırlık kazanımları ise hassas terazi yardımıyla, uygulama öncesi ve sonrasında elde edilen tohum ağırlık farkları dikkate alınarak belirlenmiştir. Tohumların çimlenme yüzdeleri ise aşağıdaki eşitlik kullanılarak tespit edilmiştir (14).

$$\text{Çimlenme Yüzdesi (\%)} = \frac{\text{Çimlenen Tohum Sayısı}}{\text{Toplam Tohum Sayısı}} \times 100$$

### 2.3. Kromozomal Anormallikler, Mikronukleus (MN) Testi ve Mitotik İndeks (MI)

Yaklaşık 0.5 cm uzunluğunda kesilen kök uçları iki saat “Clarke” fiksatoründe (3:glasial asetik asit / 1:distile su) fiske edilmiş, 15 dakika %96’lık etanolde yıkanmış ve +4 °C ’de %70’lik etanolde saklanmıştır. Sonraki aşamada, kök uçları 60 °C’de 17 dakika 1N HCl içerisinde hidrolize edilmiş, 30 dakika %45’lik asetik asit içerisinde bekletilmiş, son aşamada ise 24 saat Asetokarmin ile boyanarak %45’lik asetik asitte ezilmiş ve binoküler araştırma mikroskobunda X500 büyütmede fotoğraflanmıştır (13,15).

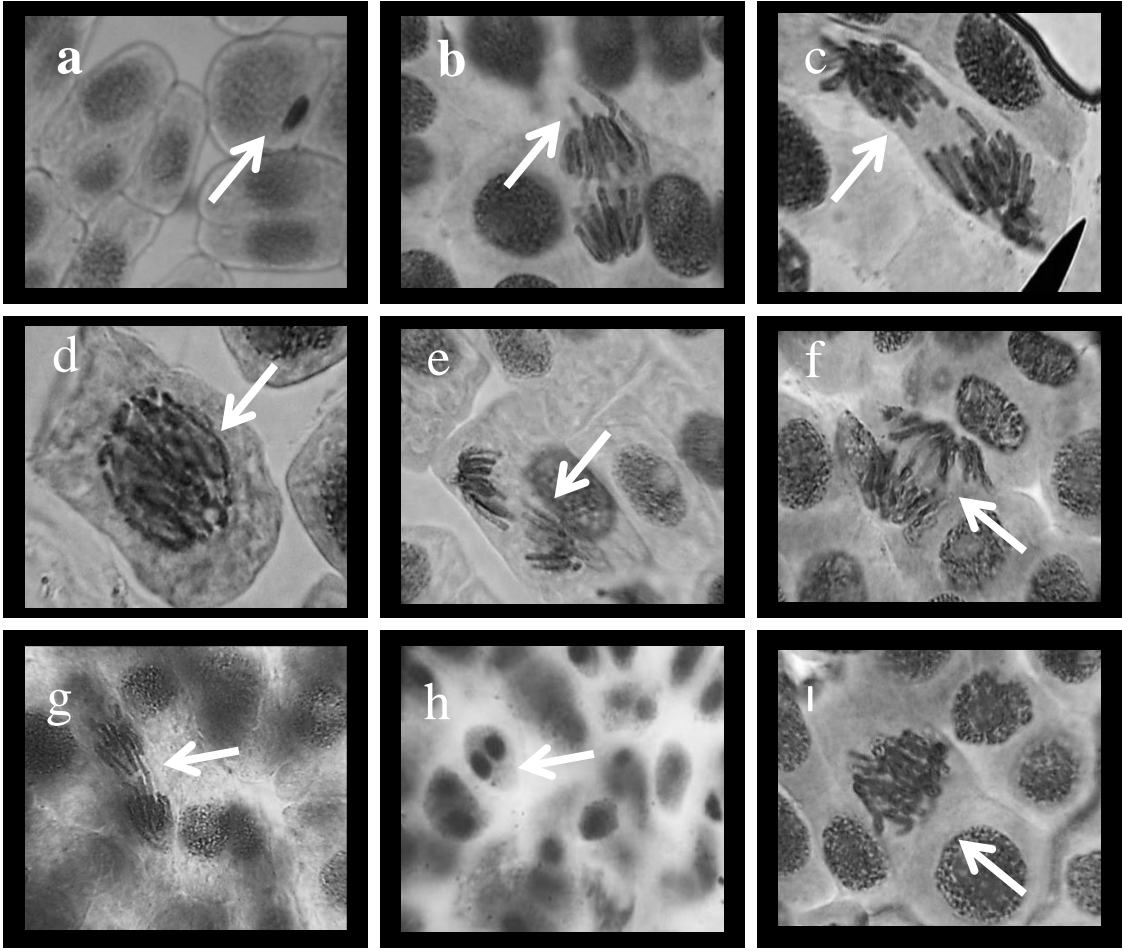
MN varlığının tespitinde Fenech ve ark. (16) tarafından belirlenen kriterler dikkate alınmıştır. Bu kriterlere göre:

- (i) MN çapı ana nukleusun 1/3 olmalı,
- (ii) MN ile hücrenin temel çekirdeğinin kenarları birbirlerine temas edebileceği gibi etmeyebilirde, fakat temas ettiği durumlarda bu aradaki sınırın belirgin bir şekilde ayırt edilmesi gerekmektedir,
- (iii) MN boyandığında temel çekirdeğin aldığı renge yakın bir renk almalıdır.

Hazırlanan preparatlar Mitotik İndeks (MI) sayısını belirlemek için binoküler araştırma mikroskobunda incelendi. MI yüzdesi ise aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir.

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

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI



**Şekil 3.1.** Dithane tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a:MN, b:fragment, c:c-mitoz, d:iğ ipliği anormalliği, e:ters kutuplaşma, f:kromatinin eşit olmayan dağılımı, g:köprü, h:binukleuslu hücre, i:yapışkan kromozom)

**Tablo 3.1.** Dithane uygulamasının tohum çimlenmesi üzerine etkisi

Gruplar	Çimlendirilen tohum sayısı	Çimlenen tohum sayısı	Çimlenmeyen tohum sayısı	Çimlenme yüzdesi %
Grup I	50	50	0	100
Grup II	50	42	8	84
Grup III	50	36	14	72
Grup IV	50	25	25	50

Grup I: Kontrol, Grup II: 125 ppm Dithane, Grup III: 250 ppm Dithane, Grup IV: 500 ppm Dithane.

Dithane uygulamasının tohum çimlenmesi üzerine etkileri Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde, en yüksek çimlenme yüzdesi kontrol grubunda, en düşük ise Dithane’in 500 ppm dozuyla muamele edilen Grup IV’de tespit edildiği görülebilmektedir. Kontrol grubunda %100 oranında çimlenme yüzdesi belirlenirken, Grup IV’de ise %50 oranında çimlenme yüzdesi belirlenmiştir. Sonuçta, uygulanan Dithane dozuna bağlı olarak, tohum çimlenme yüzdesinde azalma meydana geldiği, diğer bir ifadeyle artan Dithane dozu ile ters orantılı olarak çimlenme yüzdesinin azaldığı tespit edilmiştir.

**Tablo 3.2.** Dithane uygulamasının kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi

Gruplar	Minimum	Maksimum	Ortalama
Grup I	6.88	8.48	7.81±0.61 <sup>a</sup>
Grup II	6.28	7.82	6.88±0.58 <sup>b</sup>
Grup III	5.12	6.42	5.78±0.42 <sup>c</sup>
Grup IV	2.98	4.62	3.84±0.48 <sup>d</sup>

Grup I: Kontrol, Grup II: 125 ppm Dithane, Grup III: 250 ppm Dithane, Grup IV: 500 ppm Dithane. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Dithane uygulamasının *Allium cepa* L. kök büyümesi üzerine etkisi Tablo 3.2’de verilmiştir. En fazla kök uzaması kontrol grubunda, en az ise Dithane’in 500 ppm dozu ile muamele edilen Grup IV’de tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ortalama 7.81 cm kök uzunluğu belirlenirken, Grup II’de ortalama 6.88 cm, Grup III’de ortalama 5.78 cm ve Grup IV’de ise ortalama 3.84 cm kök uzunluğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, Dithane dozundaki artış ile birlikte kök uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca gruplar arasında belirlenen kök ucu uzunlukları arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu da belirlenmiştir (P<0.05).

**Tablo 3.3.** Dithane uygulamasının tohum ağırlık artışı (g) üzerine etkisi

Gruplar	Başlangıç	Son	Ağırlık Artışı
Grup I	3.76±0.33 <sup>d</sup>	8.58±0.27 <sup>a</sup>	+4.82
Grup II	3.75±0.29 <sup>d</sup>	6.80±0.42 <sup>b</sup>	+3.05
Grup III	3.72±0.35 <sup>d</sup>	5.00±0.35 <sup>c</sup>	+1.28
Grup IV	3.71±0.39 <sup>d</sup>	3.95±0.33 <sup>d</sup>	+0.24

Grup I: Kontrol, Grup II: 125 ppm Dithane, Grup III: 250 ppm Dithane, Grup IV: 500 ppm Dithane. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Dithane uygulamasının tohum ağırlık artışı üzerine etkisi Tablo 3.3’de gösterilmiştir. 72 saatlik uygulama periyodu sonunda en fazla ağırlık artışı kontrol grubunda, en az ise 500 ppm dozunda Dithane ile muamele edilen Grup IV’de tespit edilmiştir. Dithane dozundaki artışa bağlı olarak ağırlık kazanımının azaldığı ve bu azalışın ise istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05).

**Tablo 3.4.** Dithane tarafından teşvik edilen mikronukleus (MN) sıklığı

Gruplar	Hesaplanan hücre sayısı	Minimum (MN)	Maksimum (MN)	Ortalama (MN)
Grup I	1000	1	4	2.30±0.95 <sup>d</sup>
Grup II	1000	8	16	11.60±2.59 <sup>c</sup>
Grup III	1000	15	32	21.90±5.36 <sup>b</sup>
Grup IV	1000	40	62	50.80±6.92 <sup>a</sup>

Grup I: Kontrol, Grup II: 125 ppm Dithane, Grup III: 250 ppm Dithane, Grup IV: 500 ppm Dithane. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).



Dithane'ın *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği MN varlığı ve sıklığı Şekil 3.1 ile Tablo 3.4'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda çok az sayıda MN oluşumuna rastlanırken, 500 ppm dozunda Dithane ile muamele edilen Grup IV'de ise en fazla MN oluşumuna rastlanılmıştır. Dithane uygulama gruplarında ise artan Dithane dozuna bağlı olarak MN oluşumunun da arttığı, diğer bir ifadeyle artan Dithane dozu ile MN oluşumunun doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ortalama 2.30 oranında MN oluşumu tespit edilirken, Dithane uygulama gruplarında sırasıyla 11.60, 21.90 ve 50.80 oranında MN oluşumu tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki bu MN sayılarındaki farkların ise istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).



**Tablo 3.5.** Dithane uygulaması tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar

Gruplar	Kök ucu sayısı	Mitotik hücre sayısı	FRG	YK	KK	KED	İİA	TK	CM	BN
Grup I	10	100	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.50±0.71 <sup>d</sup>	0.20±0.42 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.20±0.42 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
Grup II	10	100	7.30±2.06 <sup>c</sup>	4.80±1.81 <sup>c</sup>	3.60±1.43 <sup>c</sup>	3.30±1.34 <sup>c</sup>	2.90±1.10 <sup>c</sup>	1.50±1.08 <sup>c</sup>	1.40±0.52 <sup>c</sup>	1.20±0.42 <sup>c</sup>
Grup III	10	100	19.70±5.23 <sup>b</sup>	19.20±3.26 <sup>b</sup>	7.10±1.79 <sup>b</sup>	7.00±2.16 <sup>b</sup>	5.80±1.55 <sup>b</sup>	4.90±1.73 <sup>b</sup>	3.30±1.16 <sup>b</sup>	3.30±1.16 <sup>b</sup>
Grup IV	10	100	40.00±4.32 <sup>a</sup>	28.20±4.32 <sup>a</sup>	18.00±2.36 <sup>a</sup>	15.80±3.01 <sup>a</sup>	10.40±2.76 <sup>a</sup>	7.10±2.47 <sup>a</sup>	5.60±1.90 <sup>a</sup>	5.50±2.07 <sup>a</sup>

Grup I: Kontrol, Grup II: 125 ppm Dithane, Grup III: 250 ppm Dithane, Grup IV: 500 ppm Dithane. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Kromozomal hasarlar için, her bir gruptaki her bir kök ucunda 100 hücre, toplamda ise 1000 hücre analiz edildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05). (FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, KK: kromozom köprüsü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, İİA: iğ ipliği anormalliği, TK: ters kutuplaşma, CM: c-mitoz, BN: binukleuslu hücre)

Dithane tarafından *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik edilen kromozomal hasarlar ile ilgili veriler Şekil 3.1 ile Tablo 3.5’de gösterilmiştir. Yapılan mikroskopik inceleme sonucunda sırasıyla fragment>yapışkan kromozom>kromozom köprüsü>kromatinin eşit olmayan dağılımı>iğ ipliği anormalliği>ters kutuplaşma>c-mitoz>binukleuslu hücre hasarları belirlenmiştir. Dithane uygulamasının

kromozomlar üzerinde en büyük etkisi fragment oluşumu şeklinde olmuştur. Kontrol grubunda birkaç yapışkan kromozom, kromozom köprüsü ve iç ipliği anormallığı dışında herhangi bir kromozom hasarına rastlanılmazken, Dithane ile muamele edilen gruplarda artan Dithane dozuna bağlı olarak Tablo 3.5’de gösterilen kromozomal hasarların tümünde artış meydana gelmiştir. Uygulanan Dithane dozundaki artış ile kromozomal hasar sayıları arasında doğru bir orantının olduğu, diğer bir ifadeyle Dithane dozlarındaki artış ile kromozomal hasar sayısının arttığı ve bu artışların ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05).

**Tablo 3.6.** Dithane uygulamasının Mitotik İndeks (MI) üzerine etkisi

Gruplar	Kök Uçları Sayısı (n)	Mitotik İndeks (MI)	Yüzde (%)
Grup I	10	918.20±49.33 <sup>a</sup>	9.18
Grup II	10	784.70±47.70 <sup>b</sup>	7.84
Grup III	10	656.40±54.08 <sup>c</sup>	6.56
Grup IV	10	476.20±30.90 <sup>d</sup>	4.76

Grup I: Kontrol, Grup II: 125 ppm Dithane, Grup III: 250 ppm Dithane, Grup IV: 500 ppm Dithane. MI her bir kök ucu için 1000 hücre sayılarak analiz edildi (toplam 10.000 hücre/uygulama grubu) ve her bir uygulama grubu için yüzde olarak hesaplandı. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Dithane uygulamasının *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde Mitotik İndeks (MI) üzerine etkisi Tablo 3.6’da gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde en yüksek MI yüzdesi kontrol grubunda tespit edilmiştir. Dithane uygulama gruplarında ise en yüksek MI yüzdesi 125 ppm dozuyla muamele edilen Grup II’de, en düşük ise 500 ppm dozuyla muamele edilen Grup IV’de tespit edilmiştir. Sonuç olarak uygulanan Dithane dozuna bağlı olarak Mitotik İndeks (MI) yüzdesinin azaldığı rapor edilmiştir.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Dithane fungusitinin *Allium cepa* L.'deki fizyolojik ve sitogenetik etkileri araştırılmıştır. Deneysel çalışmalar sonucunda, Dithane uygulamasının fizyolojik parametreler olan; çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık kazanımında doza bağlı olarak önemli bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçları destekleyen tarzda diğer araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin; Dorna ve ark. (17) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Allium cepa* L. tohumlarına 5 g/kg dozunda etken maddesi Mancozeb olan Penncozeb ve 1 g/kg dozunda Apron 35 SD fungusitleri birlikte uygulanmış, sonuçta kontrol grubuna göre çimlenme yüzdesinde azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Buts ve ark. (18) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise *Vigna radiata* L. Wilczek tohumlarına %0.25, %0.50, %0.75 ve %1.00 dozlarında Bavistin fungusiti uygulanmış, sonuçta %1.00 dozunda Bavistin uygulanan grupta kontrol grubuna göre çimlenme yüzdesinde azalma meydana geldiği rapor edilmiştir. Gange ve ark. (19) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, otsu bitkiler olan; *Conyza canadensis* L. Cronq, *Sonchus oleraceus* L., *Spergula arvensis* L., *Stellaria media* L. Vill., *Veronica persica* Poir., ve *Vicia sativa* L. tohumlarına 400 g/lt dozunda Dimethoate uygulanmış, sonuçta çimlenme yüzdesinde azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Kök uzunluğu ile ilgili olarak Marlı (20) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Triadimenol fungusitinin *Allium cepa* L. kök uzamasına etkileri araştırılmış, sonuçta doza bağlı olarak kök uzunluğunun azaldığı rapor edilmiştir. Soykan ve Koca (21) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, Dichlorvos insektisitinin 2ml/L, 4 ml/L ve 6 ml/L'lik dozları *Allium cepa* L. tohumlarına 12, 24 ve 48 saat süresince uygulanmış, sonuçta uygulanan doz ve süreye bağlı olarak kök uzunluklarında bariz bir azalmanın meydana geldiği bildirilmiştir. Tort ve ark. (22) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir başka çalışmada ise, *Hordeum vulgare* L. tohumlarına farklı dozlarda Nemesis DS fungusiti uygulanmış, sonuçta tohumların kök uzunluklarında uygulama dozuna bağlı olarak önemli bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Ağırlık kazanımı ile ilgili olarak ise Çavuşoğlu ve ark. (23) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Allium cepa* L. tohumlarına 100 mg/kg, 250 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarında Thiamethoxam uygulanmış, sonuçta Thiamethoxam dozundaki artışa bağlı olarak

tohum ağırlık kazanımında azalma meydana geldiği rapor edilmiştir. Acar ve ark. (24) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, *Allium cepa* L. tohumlarına 10, 50 ve 100 ppm dozlarında Paraquat herbisiti uygulanmış, sonuçta artan Paraquat dozuyla birlikte tohum ağırlık kazanımında bariz bir azalmanın meydana geldiği bildirilmiştir.

Ayrıca bizim bu çalışmamızda, Dithane fungusinin doza bağlı olarak *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde MN ve kromozomal hasarlar oluşumlarını teşvik ettiği, Mitotik İndeks (MI) sayısında ise azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Literatürde, elde ettiğimiz sonuçları doğrulayan tarzda bazı çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin Asita ve Makhalemele (25) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Allium cepa* L. tohumlarına farklı dozlarda Malathion ve Dithane pestisitleri uygulanmış, uygulama sonucunda her iki pestisit artan dozlarına bağlı olarak Mitotik İndeks (MI)'de azalma, kromozomal hasar oluşumunda ise artış tespit edilmiştir. Teşvik edilen kromozom hasarların ise multipolar anafaz, multipolar telofaz, c-metafaz, çubuk kromozom, geri kalmış kromozom, asentrik kromozom parçaları, mikronukleus (MN) ve binukleuslu hücre şeklinde olduğu rapor edilmiştir. Singh ve ark. (26) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, *Hordeum vulgare* L. tohumları %0.05, %0.1 ve %0.5 dozlarında Mancozeb fungusiti ve Profenophos insektisidi ile muamele edilmiş, sonuçta uygulama dozlarındaki artışa bağlı olarak MI'de azalma ve kromozomal anormallik oluşumunda ise artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Maity (27) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, *Vigna mungo* L. Hepper tohumlarına %0.1, %0.2, %0.3 ve %0.4 dozlarında Dithane M-45 fungusiti uygulanmış, sonuçta MI'in doz artışına bağlı olarak azaldığı, kromozomal hasar sayılarının ise arttığı belirlenmiştir. Teşvik edilen kromozomal hasarların ise yapışkan kromozom, fragment ve köprü şeklinde olduğu bildirilmiştir. Pandey ve ark. (28) tarafından gerçekleştirilen farklı bir çalışmada ise *Allium cepa* L. tohumlarına farklı dozlarda Dithane M-45, Aldrex-30 ve Metacid-50 pestisitleri uygulanmış, sonuçta her üç pestisit için doz artışına bağlı olarak, mitotik aktivitenin azaldığı, kromozomal anormallik ve MN sayılarının ise arttığı rapor edilmiştir.

Sonuç olarak, tarım zararlılarıyla mücadelede yaygın bir biçimde kullanılan Dithane fungusinin, yüksek konsantrasyonlarda toksik etki gösterebildiği *Allium cepa* L. test materyali kullanılarak gözler önüne serilmiştir. Bu nedenle tarımsal

mücadelede öncelikle biyolojik mücadele yöntemlerinin uygulanması, fakat illa ki pestisit adını verdiğimiz tarım ilaçları kullanılmak isteniyorsa, hedef olmayan organizmalar için toksik olmayan doz ayarlamalarının mutlaka yapılması gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

1. Farooq, M., Balachandar, R., Wolf, T. 2001. Assessment of an agricultural spray in a non-uniform cross-flow. *Transactions of the ASAE*, 44(6): 1455-1460.
2. Topuz, E. 2005. *Tarımsal Zararlılarla Mücadelede Kimyasal Pestisitlere Alternatif Bazı Yöntemler*. Derim, 22(2): 53-59.
3. Hatcher, R. L. 1996. *The Pre-Brundland Commission Era. Sustainable Development*, (Ed. B.,Nath, L. Hens ve D. Devuyts), Vubpress.
4. Meister, R.T. 1999. *Farm Chemicals Handbook '99*. Willoughby, OH, USA: Meister Publishing Company.
5. Preston C., Telfer M.G., Roy D.B., Carey P.D., Hill M.O., Meek W.R., Rothery P., Smart S.M., Smith G.M., Walker K.J., Pearman D.A. , 2003. *The changing distribution of the flora of the United Kingdom*, CEH, Huntingdon.
6. Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., *Pestisitler*. Çevre Sağlığı Kaynak Dizisi No:52 T.C. Sağlık Bakanlığı, İlköz Matbaası, Ankara, 13 s, 1997.
7. Dikshith, T.S.S. 1990. *Toxicological Study of Pesticides in Animals*. CRC Press.
8. Gupta, P.K. and Aggarwal, M., 2007. *Toxicity of fungicides*. In: *Veterinary Toxicology*, Gupta,R. C. (Ed.), 1st ed., 587-601, Elsevier
9. Dane, F., & Dalgıç, Ö. 2005. The effects of fungicide benomyl (benlate) on growth and mitosis in onion (*Allium cepa* L.) root apical meristem. *Acta Biologica Hungarica*, 56(1-2), 119-128.
10. WHO. 1996. *Data sheet on pesticides. Dithiocarbamates* No: 94.
11. Kamrin, M. A. 1997. *Pesticide Profiles: Toxicity, Environmental Impact, And Fate*. CRC press. New York.
12. Tomlin, C. D. S. 2003. *The Pesticide Manual: A World Compendium of Pesticides*. British Crop Protection Council, UK.
13. Qian, X.W. 2004. Mutagenic Effects of Chromium Trioxide on Root Tip Cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science*, 5: 1570–1576.
14. Atik, M., Karagüzel, O. ve Ersoy, S. 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* Tohumlarının Çimlenme Özelliklerine Etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat*

*Fakültesi Dergisi* 20 (2): 203–210.

15. Staykova, T.A., Ivanova, E.N. ve 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.
16. Fenech, M., Chang. W. P., Kirsch-Volders ,M., Holland, N., Bonassi, S. ve Zeiger, E., 2003. Human Micronucleus Project. HUMN Project: Detailed Description of The Scoring Criteria For The Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Using Isolated Human Lymphocyte Cultures. *Mutation Research*, 534 (1-2): 65-75.
17. Dorna, H., Tytkowska, K., Yahong, W., & Marcinek, R. 2005. Germination and health of onion (*Allium cepa*) seeds after priming combined with chemical or biological treatments. *Phytopathol. Pol*, 37: 69-81.
18. Buts, A. K., Singh, D., Chaudhary, V. L., Singh, M. 2013. Effect of Bavistin on Seed Germination, Morphological Features And Yield of *Vigna radiata*. *Indian J Life Sci*, 3(1): 15-20.
19. Gange, A. C., Brown, V. K., Farmer, L. M. 1992. Effects of pesticides on the germination of weed seeds: implications for manipulative experiments. *Journal of Applied Ecology*, 29(2): 303-310.
20. Marlı H.A. 2004. *Triadimenol Fungisitinin Allium cepa L. Kök Ucu Hücrelerinde Sitogenetik Etkileri*. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
21. Soykan, S.H., Koca, S. 2014. Dichlorvos' un (DDVP) *Allium cepa* L. kök ucu meristem hücrelerinde mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkileri. *Cumhuriyet Science Journal* 35(3): 36-45
22. Tort, N., Türkyılmaz, B., Dereboylu, A. E., Tosun, N. 2004. Diniconazole Etken Maddeli Bir Fungisitinin Bazı Arpa Kültür Formları Üzerine Morfolojik ve Fizyolojik Etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 41(1): 169-179.
23. Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., Türkmen, Z., Yapar, K. ve Sağır, S. 2012. Physiological, anatomical, biochemical, and cytogenetic effects of thiamethoxam treatment on *Allium cepa* (amaryllidaceae) L. *Environmental Toxicology* 27 (11): 635-643.
24. 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.
25. Asita, O. A., Makhalemele, R. 2009. Genotoxic effects of dithane, malathion and garden ripcord on onion root tip cells. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 9(5): 1191-1209
26. Singh, P., Srivastava, A. K., Singh, A. K. 2007. Comparative sensitivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) to insecticide and fungicide on different stages of cell cycle. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89(3), 216-219.
27. Maity, S. K. 2014. Effects of dithane M-45 (a fungicide) on root meristem of *Vigna mungo* (L.) Hepper. *International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences*, 3(4): 1-6.
28. Pandey, R. K., Shukla, R., Datta, S. K. 1994. Chromotoxic Effects of One Fungicide (Dithane M-45) and Two Insecticides (Aldrex-30 and Metacid-50). *Cytologia*, 59(4): 419-422.

## ÖZGEÇMİŞ

1987 Yılında Giresun'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Giresun'da tamamladı. 2005 Yılında girdiği İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2009 yılında mezun oldu. 2010 Yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programını Ocak 2016'da tamamladı.

