

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALLIUM CEPA'DA BENZOFENON'UN SEBEP OLDUĞU FİZYOLOJİK,
ANATOMİK VE SİTOGENETİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI

LÜTFİYE SELİN HOŞGÖR

AĞUSTOS

2015

Onay Sayfası

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

.../.../....

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İhsan AKYURT

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Doç.Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Doç. Dr. Emine YALÇIN

Doç. Dr. Kürşat ÇAVUŞOĞLU

ÖZET

ALLIUM CEPA'DA BENZOFENON'UN SEBEP OLDUĞU FİZYOLOJİK, ANATOMİK VE SİTOGENETİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI

HOŞGÖR, Lütfiye Selin

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Ağustos 2015, 21 sayfa

Bu çalışmada, günlük yaşamımızda sıkça kullandığımız parfüm ve kozmetik ürünlerinin yapısında bulunan Benzofenon'un *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği fizyolojik, anatomik ve sitogenetik etkiler araştırılmıştır. Test materyali olarak *Allium cepa* tohumları kullanılmıştır. Çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık kazanımı fizyolojik; kromozomal anormallikler, mikronukleus (MN) sıklığı ve mitotik indeks (MI) genotoksisite, kök uçlarından alınan kesitler ise anatomik parametreler olarak ele alınmış ve elde edilen veriler istatiksel parametreler ile ilişkilendirilmiştir. *A.cepae* tohumları kontrol ve Benzofenon uygulama grupları olarak toplam 4 (dört) gruba ayrılmış ve 72 saat süresince Benzofenon'un üç farklı dozu (100, 250 ve 500 ppm) ve çeşme suyu ile muamele edilmişlerdir. Sonuçta, Benzofenon'un tüm uygulama gruplarında doza bağlı olarak çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık kazanımı ve mitotik indeksi (MI) azalttığı, kromozomal anormallikler ve mikronukleus (MN) oranını ise arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca Benzofenon uygulaması kök ucu hücrelerinde yassılaşımış hücre çekirdeği, iletim dokusunda madde birikimi, belirgin olmayan iletim dokusu, hücre deformasyonu ve nekroz şeklinde anatomik hasarlara sebep olmuştur. Sonuç olarak, Benzofenon'un doza bağlı olarak *A.cepae* kök ucu hücrelerinde fizyolojik, anatomik ve sitogenetik değişimlere neden olduğu anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Benzofenon, genotoksisite, kromozomal hasarlar, mikronukleus, *Allium cepa* L.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PHYSIOLOGICAL, ANATOMICAL AND CYTOGENETIC EFFECT OF THE BENZOPHENONE ON *ALLIUM CEPA* L.

HOŞGÖR, Lütfiye Selin

University of Giresun

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr.Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

August 2015, 21 Pages

In this study physiological, anatomical and cytogenetic effect of the Benzophenone frequently used in our daily lives in the composition of perfume and cosmetic products in *Allium cepa* L. root tip cells were investigated. *Allium cepa* seeds were used as test material. Germination percentage, root length and weight gain were used as physiological indicators and chromosomal damage, micronucleus (MN) frequency and mitotic index (MI) genotoxicity, stem is taken as the end sections taken from anatomical parameters and these datas were correlated with statistical parameters. The seeds of *A.cepa* were divided into four groups: control, three Benzophenone treatment groups, and they were treated with drink water different three doses (100, 250 and 500 ppm) of Benzophenone during 72 hours. As a result, it was determined that Benzophenone fairly decreased the germination percentage, root length and weight gain depending on dose in seeds all the treatment groups, whereas chromosomal damage and MN rate were increased. As Benzophenone application root tip cells in the cell nucleus flattened, transmission without significant accumulation of substances in tissue, conduction tissue cells, necrosis caused anatomical deformation and damage. In conclusion, datas obtained in this study indicated that Benzophenone has cytotoxic effects a dose depending on root tip cells of *Allium cepa*.

Key Words: Benzophenone, genotoxicity, chromosomal damages, micronucleus, *Allium cepa* L.

TEŞEKKÜR

Tez alıőmamın tım aőamalarında her turlu bilimsel desteği sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Kultiğin AVUŐOęLU'na bilgi, birikim ve değerli gürüőleri ile katkı sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Emine YALÇIN'a teőekkuru bir borç bilirim.

Ayrıca tez çalıőmam sırasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşım Ayőe Gül AKTAŐ, kuzenim Ferit GÜNAYDIN ve aileme 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 ve Mikronukleus (MN) Analizi.....	4
2.4. Anatomik İncelemeler.....	4
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	5
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	14
KAYNAKLAR.....	18
ÖZGEÇMİŞ.....	21

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Benzofenon uygulamasının tohum çimlenme yüzdesi üzerine etkileri.....	5
Tablo 3.2. Benzofenon uygulamasının kök uzunluğu (cm) üzerine etkileri.....	5
Tablo 3.3. Benzofenon uygulamasının ağırlık kazanımı (gr) üzerine etkileri.....	6
Tablo 3.4. Benzofenon'un teşvik ettiği Mikronukleus (MN) sıklığı.....	7
Tablo 3.5. <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde Benzofenon'un farklı dozları tarafından teşvik edilen kromozomal anormallikleri.....	8
Tablo 3.6. Benzofenon uygulamasının Mitotik İndeks (MI) üzerine etkisi.....	12



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Benzofenon'un açık formülü.....	2
Şekil 3.1. Benzofenon uygulamasının kök uzunluğu üzerine etkileri.....	6
Şekil 3.2. Benzofenon tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar.....	10
Şekil 3.3. <i>A.cepa</i> kök ucu hücrelerinde Benzofenon tarafından sebep olunan anatomik hasarlar.....	13



KISALTMALAR

MN	Mikronukleus
MI	Mitotik İndeks
YP	Yapışkan Kromozom
KK	Kromozom Köprüsü
F	Fragment
VK	Vagrant Kromozom
C-M	C-metafaz
KED	Kromatinin eşit olmayan dağılımı
AK	Anormal Kutuplaşma
AİA	Anafazda İğ İpliği Anormalliği
AÇB	Anafazda Çapraz Bağlanma
GMKM	Genetik Materyali Kayıplı Metafaz

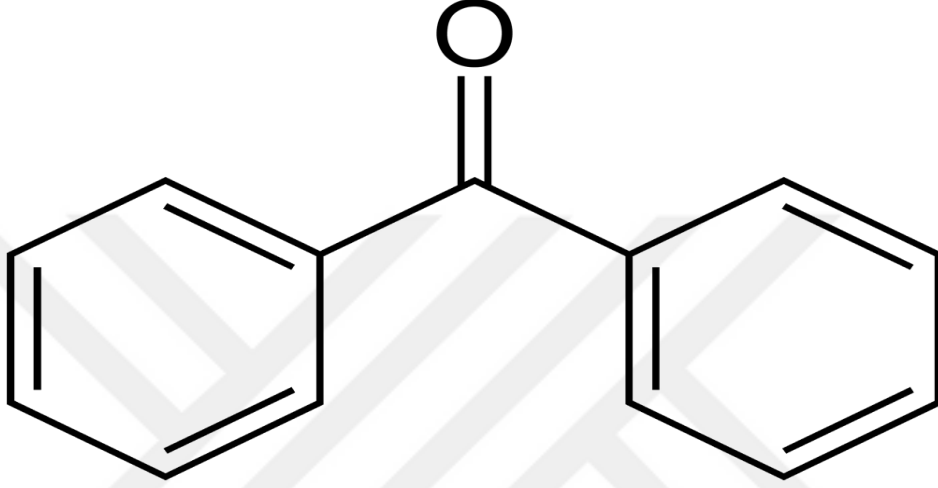
1.GİRİŞ

Günümüzde artan sanayileşmenin çevre ve insan sağlığı üzerinde oluşturduğu olumsuz etkilerinin çeşitli yönlerden değerlendirilmesi ve bu risklerin en aza indirgenmesi amacıyla yoğun çabalar harcanmaktadır. Bu çabalara rağmen, her geçen gün sanayide kullanılan kimyasal maddelerin sayı ve çeşitliliği artmaktadır. Bu artışın çevre ve insan sağlığı açısından değerlendirilebilmesi için biyolojik etkilerinin incelenmesi gerekmektedir. Böylece bu kimyasal maddelerin zararlı etkilerinden nispeten korunmuş olunacaktır. Günümüzde kimyasallar katkı maddesi ve koruyucu madde olarak, gıda sektörü başta olmak üzere, kozmetik ve medikal ürünlerin bileşiminde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Günümüzde en fazla tercih edilen kozmetik ürünlerinden birisi de parfümlerdir. Her gün severek kullandığımız parfümlerin içeriğinde pek çok kimyasal madde bulunmaktadır. Kullanımının sağladığı avantajların yanında, canlı organizmalar için yabancı olan ve ksenobiyotik olarak adlandırılan bu bileşiklerin toksik etki göstermesi önemli bir dezavantajdır. Parfümlerin bileşiminde yaygın biçimde yer alan kimyasallardan biri de Benzofenon'dur.

Benzofenon; difenylmetanon, fenil keton, difenil keton, veya benzoylbenzen isimleriyle de bilinmektedir. Kimyasal formülü $(C_6H_5)_2CO$ 'dur (1). Kozmetik sanayisinde yaygın olarak kullanılan bir kimyasaldır (2). İnsan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bilinmektedir. Özellikle bebeklik döneminde alerjik reaksiyonlara neden olmaktadır (3). Ayrıca Benzofenon türevlerinin ciltteki hücreler tarafından emilip DNA'ya zarar vermek suretiyle hormonal bozukluklara, cilt alarjisine ve cilt kanserine neden olduğu da rapor edilmiştir (4,5).

Benzofenon UVB ve UVA radyasyonlarını emici özelliği olduğu için güneş kremlerinin bileşiminde de yer almaktadır (6). Ayrıca sabun, deterjan, deodorant ve parfümlerin içeriğinde sabitleyici olarak, UV radyasyon filtrelerinde, gıda katkı maddesi olarak, stiren'in polimerizasyon inhibitörü olarak, peptit-protein etkileşimlerini tespit etmek amacıyla, foto fiziksel prob olarak ve ojelerde UV ışınına maruz kalındığında renk değişimi olmaması adına UV stabilizötörü olarak da kullanılmaktadır (2,7).

Bu çalışmanın amacı, günlük yaşamımızda yaygın olarak kullandığımız parfümler başta olmak üzere kozmetik ürünlerinin yapısında bulunan Benzofenon'un muhtemel toksik etkilerini *Allium cepa* L. test materyali kullanılarak gözler önüne sermektir.



şekil 1.1 Benzofenon'un açık formülü (1)

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kök Uçlarının Hazırlanması

Bu çalışma Benzofenon'un 100, 250 ve 500 ppm'lik dozları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma materyali olarak aşağı yukarı eşit büyüklükte ve sağlıklı *A. cepa* L. tohumları kullanılmıştır. Tohumlar bir (1) kontrol, üç (3) uygulama olmak üzere toplam dört (4) gruba ayrılmıştır. Tohumlar 85 x100 mm çapında plastik beherlere yerleştirilerek oda sıcaklığında 72 saat süresince çimlenmeye bırakılmış, uygulama periyodu süresince; kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise Benzofenon'un 100, 250 ve 500 ppm'lik dozlarıyla muamele edilmişlerdir. Süre sonunda kök uçları distile su ile yıkanmış ve standart ezme preparasyon teknikleri kullanılarak sitogenetik analizler için hazır hale getirilmiştir (8).

2.2. Kök Uzunluğu, Ağırlık Kazanımı ve Çimlenme Yüzdesinin Belirlenmesi

Uygulama periyodu sonunda, çimlenen tohumlardaki kök ucu uzunlukları radikula oluşumu temel alınarak milimetrik cetvel yardımıyla, ağırlık kazanımları hassas terazi yardımıyla ölçülmüştür. Ağırlık kazanımları uygulama öncesi ve sonrasında elde edilen tohum ağırlık farkları dikkate alınarak belirlenmiştir. Tohumların çimlenme yüzdeleri ise aşağıdaki eşitlik kullanılarak tespit edilmiştir (9).

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

2.3. Kromozomal Anormallikler ve Mikronukleus (MN) Analizi

Yaklaşık 0.5 cm uzunluğunda kesilen kök uçları iki saat “Clarke” fiksatoründe (3:glasial asetik asit / 1:distile su) fikse 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, son aşamada ise 24 saat Asetokarmin ile boyanarak %45’lik asetik asitte ezilmiş ve binoküler ışık mikroskobu altında fotoğraflanmıştır (8,10).

Mikronukleus (MN) sıklığını belirlemek için, her bir uygulama grubu için hazırlanan preparatlardan toplamda 1000 hücre sayılmış ve MN’li hücrelerin varlığı binoküler ışık mikroskobu altında tespit edilerek fotoğraflanmıştır. MN sıklığının belirlenmesinde Fenech ve ark. (11) tarafında 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 etmeyebilir de, fakat temas ettiği durumlarda bu aradaki sınırın belirgin bir şekilde ayırt edilmesi gerekmektedir,
- (iii) MN boyandığında temel çekirdeğin aldığı renge yakın bir renk almalıdır.

2.4. Anatomik İncelemeler

Kök ucu hücrelerindeki anatomik değişimleri belirlemek amacıyla, kontrol ve uygulama grubu tohumlarının kök uçlarından enine kesitler alınmış, metilen mavisi ile boyanarak binoküler ışık mikroskobunda X500 büyütmede fotoğraflanmıştır.

3.ARAŞTIRMA BULGULARI

Tablo 3.1 Benzofenon uygulamasının tohum çimlenme yüzdesi üzerine etkileri

Uygulama Süresi (Saat)	Gruplar	Çimlenen Tohumların Sayısı	Çimlenmeyen Tohumların Sayısı	Çimlenme Yüzdesi (%)
72	Grup I	50	0	100
72	Grup II	42	8	84
72	Grup III	35	15	70
72	Grup IV	27	23	54

*Her bir grup 50 tohum içerir. Grup I: Kontrol, Grup II: 100 ppm Benzofenon, Grup III: 250 ppm Benzofenon, Grup IV: 500 ppm Benzofenon

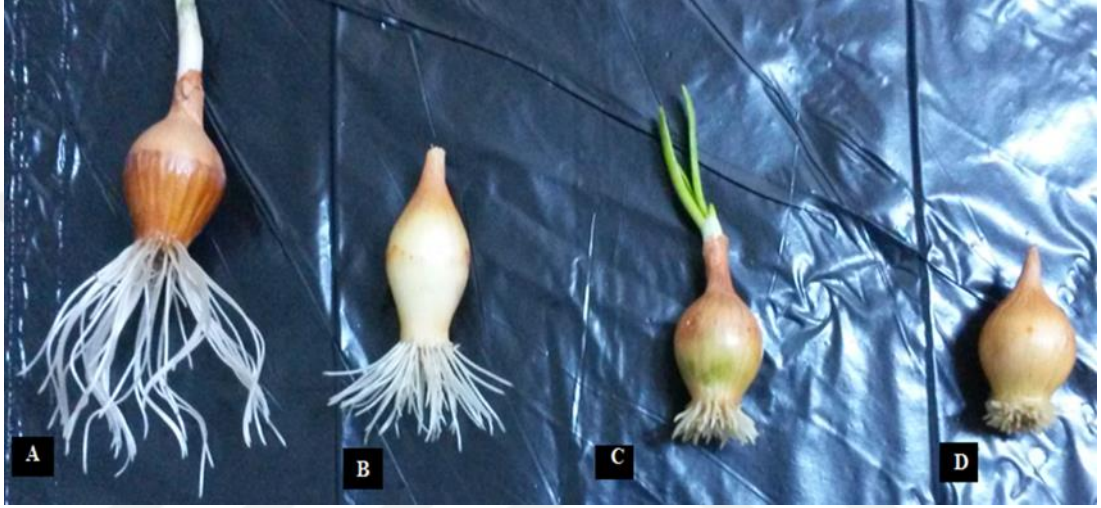
Benzofenon'un tohum çimlenmesi üzerine etkileri Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Tablo'daki sonuçlar incelendiğinde, en yüksek çimlenme yüzdesinin kontrol grubunda, en düşük ise Benzofenon'un 500 ppm dozu ile muamele edilen Grup IV'de tespit edildiği görülebilmektedir. Kontrol grubunda %100 oranında çimlenme yüzdesi belirlenirken, Grup IV'de ise bu oran %54 olarak gerçekleşmiştir. Sonuç olarak uygulanan Benzofenon dozundaki artışla ters orantılı olarak çimlenme yüzdesinin azaldığı tespit edilmiştir.

Tablo 3.2 Benzofenon uygulamasının kök uzunluğu (cm) üzerine etkileri

Uygulama Süresi (Saat)	Gruplar	Minimum	Maksimum	Ortalama \pm SD
72	Grup I	4.48	7.65	6.16 \pm 1.00 ^a
72	Grup II	3.78	5.64	4.80 \pm 0.64 ^b
72	Grup III	2.27	5.75	3.63 \pm 1.15 ^c
72	Grup IV	0.88	3.24	1.70 \pm 0.72 ^d

*Her bir grup 10 tohum içerir. Grup I: Kontrol, Grup II: 100 ppm Benzofenon, Grup III: 250 ppm Benzofenon, Grup IV: 500 ppm Benzofenon. Tüm değerler ortalama \pm standart sapma (SD) şeklinde gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "one-way ANOVA" ve "Duncan" testleri uygulanarak belirlendi. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Benzofenon uygulamasının *A. cepa* kök uzunluğuna etkileri Tablo 3.2 ve Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Tablodaki sonuçlardan da görüldüğü gibi, en fazla kök uzunluğu kontrol grubu tohumlarda, en az ise Benzofenon’un 500 ppm dozuyla muamele edilen Grup IV’de ölçülmüştür. Grup IV’deki tohumların kök uzunluklarının kontrol grubu tohumlara göre 3.62 kat azaldığı, bu azalışında istatistiksel açıdan önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. Sonuç olarak, Benzofenon dozu arttıkça kök uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 3.1 Benzofenon uygulamasının kök uzunluğu üzerine etkileri (A: Kontrol, B:100 ppm Benzofenon, C:250 ppm Benzofenon D:500 ppm Benzofenon)

Tablo 3.3 Benzofenon uygulamasının ağırlık kazanımı (gr) üzerine etkileri

Uygulama Süresi (Saat)	Gruplar	Başlangıç Tohum Ağırlığı	Final Tohum Ağırlığı	Ağırlık Kazanımı
72	Grup I	8.82±1.27 ^d	16.25±2.93 ^a	+7.40
72	Grup II	8.57±1.45 ^d	14.19±2.44 ^b	+5.60
72	Grup III	8.59±1.80 ^d	12.44±1.87 ^c	+3.90
72	Grup IV	8.61±1.68 ^d	9.22±1.39 ^d	+0.60

*Her bir grup 10 tohum içerir. Grup I: Kontrol, Grup II: 100 ppm Benzofenon, Grup III: 250 ppm Benzofenon, Grup IV: 500 ppm Benzofenon. Tüm değerler ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “one-way ANOVA” ve “Duncan” testleri uygulanarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0.05$).

Benzofenon uygulamasının *A. cepa*'da neden olduğu ağırlık kazanımı değişimleri Tablo 3.3'de gösterilmiştir. 72 saat'lik uygulama periyodu sonunda en düşük ağırlık kazanımı 500 ppm dozunda Benzofenon uygulanan Grup IV'de, en fazla ağırlık kazanımı ise kontrol grubunda ölçülmüştür. Ağırlık kazanımının Grup IV'de kontrol grubuna göre 12.33 kat daha düşük olduğu tespit edilmiş, bu azalışın ise istatistiksel açıdan önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.4 Benzofenonun teşvik ettiği Mikronukleus (MN) sıklığı

Uygulama Süresi (Saat)	Gruplar	Sayılan Hücrelerin Sayısı	Minimum MN	Maksimum MN	Ortalama \pm SD
72	Grup I	1000	0.00	1.00	0.30 \pm 0.48 ^d
72	Grup II	1000	4.00	18.00	9.70 \pm 4.72 ^c
72	Grup III	1000	10.00	25.00	17.20 \pm 4.54 ^b
72	Grup IV	1000	19.00	40.00	28.30 \pm 6.13 ^a

*Her bir grup 10 tohum içerir. Grup I: Kontrol, Grup II: 100 ppm Benzofenon, Grup III: 250 ppm Benzofenon, Grup IV: 500 ppm Benzofenon. MN sıklığını belirlemek için her bir gruptan 1000 hücre sayıldı. Tüm değerler ortalama \pm standart sapma (SD) şeklinde gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "one-way ANOVA" ve "Duncan" testleri uygulanarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0.05$).

Benzofenon'un *A. cepa* kök hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı Tablo 3.4'de gösterilmiştir. Tablo'daki veriler incelendiğinde, kontrol grubunda çok az sayıda MN oluşumu görülürken, Benzofenon uygulanan gruplarda ise uygulanan Benzofenon dozuna bağlı olarak MN sayısının arttığı belirlenmiştir. Benzofenon uygulama gruplarında sırasıyla ortalama 9.70, 17.20 ve 28.30 oranında MN sıklığına rastlanılmıştır. Gruplar arasında MN sayılarında gözlenen bu farklılıkların istatistiksel açıdan önemli ($P<0.05$) olduğunda tespit edilmiştir.

Tablo 3.5 *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde Benzofenonun farklı dozları tarafından teşvik edilen kromozomal anormallikler

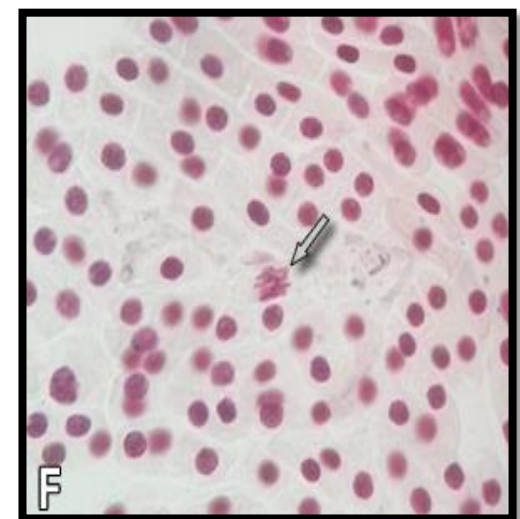
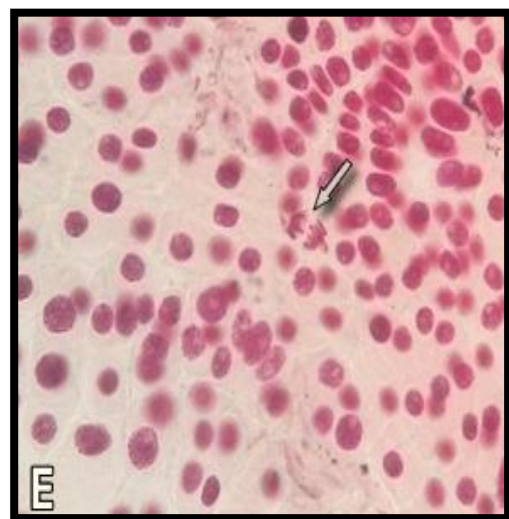
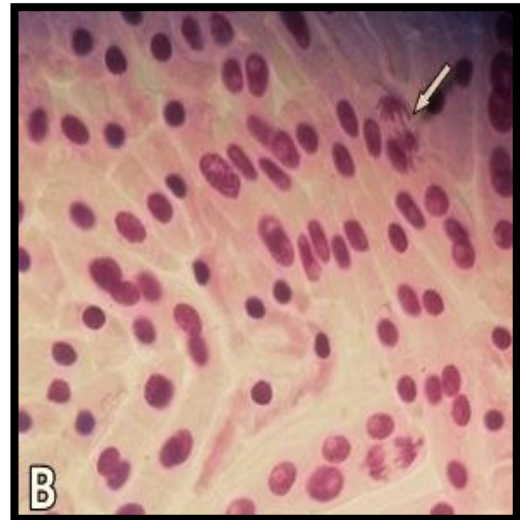
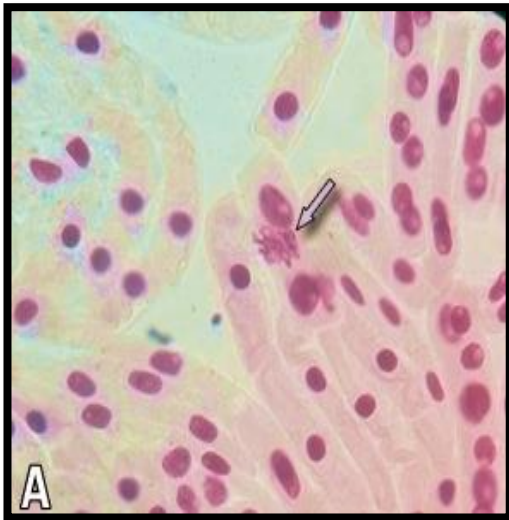
Gruplar	Kök Uçlarının Sayısı (n)	Sayılan Mitotik Hücrelerin Sayısı	YK	KK	F	VK	C-M	KED	AK	AİA	AÇB	GMKM
I	10	500	0.40±0.52 ^d	0.30±0.48 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.20±0.42 ^c	0.10±0.32 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
II	10	500	3.30±1.64 ^c	2.40±0.84 ^c	2.40±1.35 ^c	2.10±0.88 ^c	1.70±0.82 ^c	1.40±0.69 ^c	1.30±0.48 ^c	1.00±0.67 ^c	0.70±0.67 ^c	0.50±0.53 ^c
III	10	500	10.10±3.00 ^b	7.80±1.81 ^b	6.90±1.85 ^b	5.90±1.79 ^b	5.30±1.64 ^b	4.70±1.64 ^b	4.30±1.64 ^b	3.10±1.60 ^b	2.80±1.40 ^b	1.80±1.03 ^b
VI	10	500	22.20±2.53 ^a	16.40±2.71 ^a	14.60±2.22 ^a	12.50±2.12 ^a	10.90±2.69 ^a	9.90±2.88 ^a	8.40±2.27 ^a	7.30±1.95 ^a	6.40±1.84 ^a	4.10±2.18 ^a

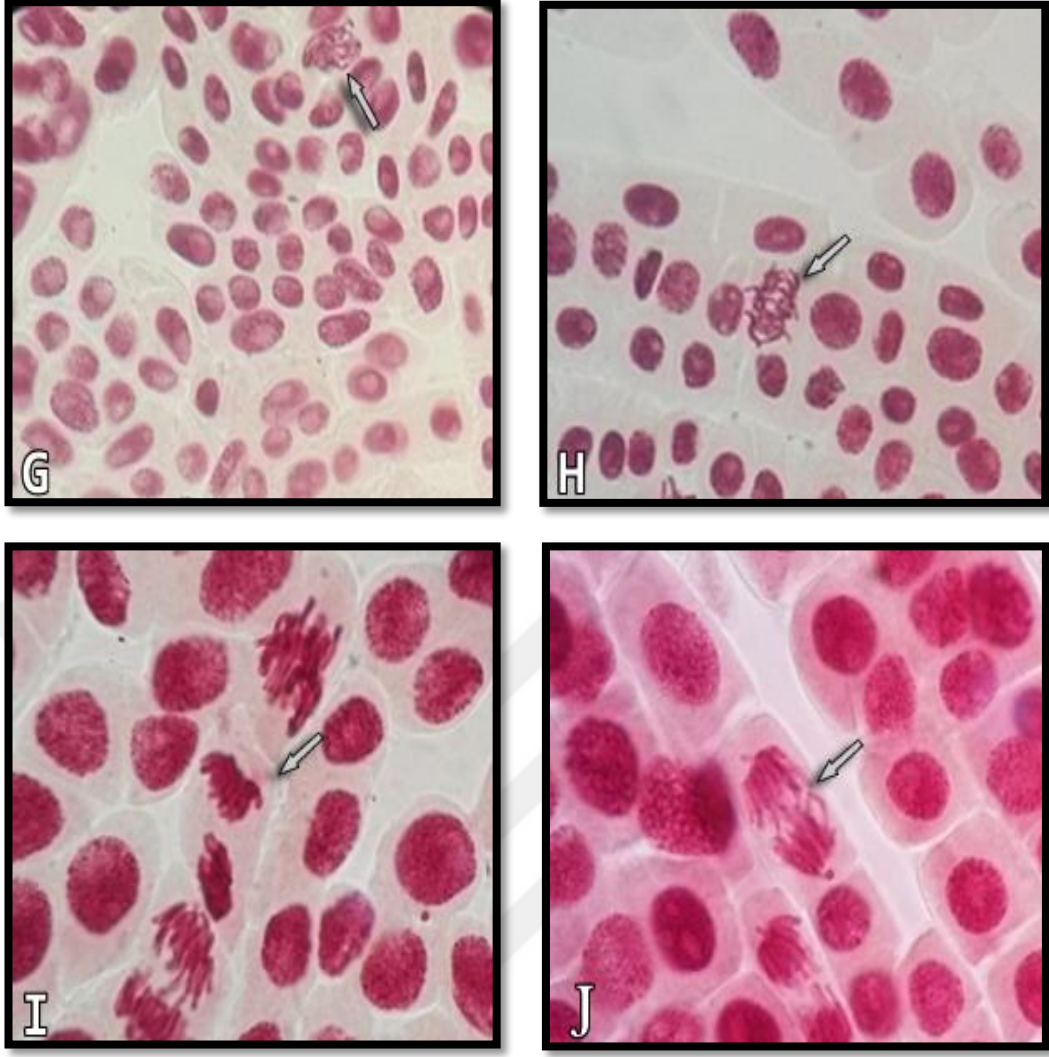
*Grup I: Kontrol, Grup II: 100 ppm Benzofenon, Grup III: 250 ppm Benzofenon, Grup IV: 500 ppm Benzofenon **YP**: yapışkan kromozom, **KK**: kromozom köprüsü, **F**: fragment, **VK**: vagrant kromozom, **C-M**: C-metafaz, **KED**: kromatinin eşit olmayan dağılımı, **AK**: anormal kutuplaşma, **AİA**: anafazda iğ ipliği anormalliği, **AÇB**: anafazda çapraz bağlanma, **GMKM**: genetik materyali kayıplı metafaz. Kromozomal anormallikleri belirlemek için her bir kök ucundan 500 hücre belirlendi (10 kök ucu/grup, toplam 5000 hücre/uygulama). Tüm değerler ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “one-way ANOVA” ve “Duncan” testleri uygulanarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Benzofenon uygulamasının *A.cepae* kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği kromozomal hasarlar Tablo 3.5 ve Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Benzofenon’un *A.cepae* kök hücrelerinde teşvik ettiği en önemli hasar yapışkan kromozom oluşumudur. Yapışkan kromozom hasarını sırasıyla; kromozom köprüsü>fragment>vagrant kromozom>C-metafaz>kromatinin eşit olmayan dağılımı>anormal kutuplaşma>anafazda iğ ipliği anormalliği>anafazda çapraz bağlanma>genetik materyali kayıplı metafaz anormallikleri takip etmektedir. Kontrol grubunda birkaç yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve anormal kutuplaşma dışında başka bir

anormallik tespit edilememiştir. Benzofenon uygulama gruplarında ise, Benzofenon dozlarındaki artışla birlikte kromozomal hasarların oranının da arttığı, bu artışın ise istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).







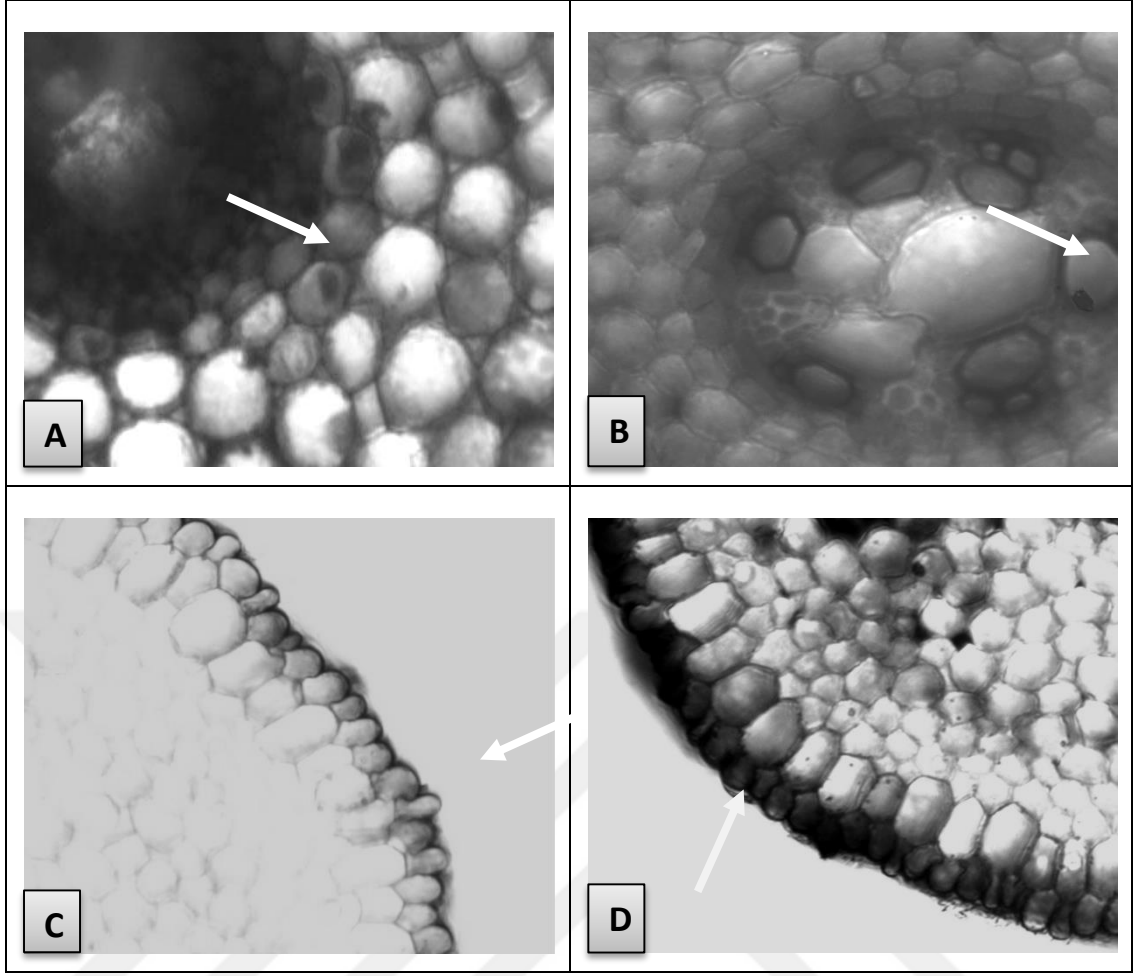
Şekil 3.2 Benzofenon tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (A: yapışkan kromozom, B: vargant kromozom, C: köprü, D: C-metafaz, E: kromatinin eşit olmayan dağılımı, F: binükleuslu hücre, G: genetik materyali kayıplı profaz, H: anafazda iğ ipliği anormalliği, I: anormal kutuplaşma, J: köprü ve fragmen

Tablo 3.6 Benzofenon uygulamasının Mitotik İndeks (MI) üzerine etkisi

Gruplar	Kök Uçlarının Sayısı (n)	MI	%
Grup I	10	830.10±67.55 ^a	8.3
Grup II	10	682.80±44.95 ^b	6.8
Grup III	10	600.00±59.60 ^c	6.0
Grup VI	10	461.90±59.32 ^d	4.6

*Grup I: Kontrol, Grup II: 100 ppm Benzofenon, Grup III: 250 ppm Benzofenon, MI her bir kök ucu için 1000 hücre sayılarak analiz edildi (toplam 10.000 hücre/uygulama) ve her bir uygulama grubu için yüzde olarak hesaplandı. Tüm değerler ortalama ± standart sapma (SD) şeklinde gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “one-way ANOVA” ve “Duncan” testleri uygulanarak analiz edildi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Benzofenon uygulamasının *A. cepa* 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. Benzofenon uygulanan gruplarda ise, uygulanan Benzofenon dozuna bağlı olarak MI yüzdesinin azaldığı belirlenmiştir. 500 ppm dozunda Benzofenon uygulanan Grup IV’de MI sayısının kontrol grubuna oranla 1.79 kat azaldığı, bu azalışın ise istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05).



Şekil 3.3 *A. cepa* kök ucu hücrelerinde Benzofenon tarafından sebep olunan anatomik hasarlar (a: yassılaşımiş hücre çekirdeği, b: iletim dokusunda madde birikimi ve belirgin olmayan iletim doku, c: hücre deformasyonu, d: nekroz)

Mikroskobik gözlemler sonucunda Benzofenon uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde bazı anatomik değişimlere neden olduğu tespit edilmiştir. Gözlenen bu değişimler, yassılaşımiş hücre çekirdeği, iletim dokusunda madde birikimi, belirgin olmayan iletim dokusu, hücre deformasyonu ve nekroz şeklindedir. Kontrol grubu kök ucu hücrelerinde herhangi bir anatomik değişim gözlenmezken, Benzofenon uygulama gruplarında Benzofenon dozuna bağlı olarak söz konusu anatomik hasarların sayılarının arttığı belirlenmiştir.

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Benzofenon'un *A.cepae* L.'deki fizyolojik, anatomik ve sitogenetik etkileri araştırılmıştır. Deneysel çalışmalar sonucunda, Benzofenon'un fizyolojik parametreler olan; çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık kazanımında kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli değişimlere neden olduğu belirlenmiştir. Artan Benzofenon dozlarıyla birlikte çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık kazanımının azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçları doğrulayan tarzda, literatürde doğrudan Benzofenon ile yapılmış herhangi bir çalışma olmaması nedeniyle, elde ettiğimiz bulgular farklı kimyasal maddeler ve ağır metal iyonlarının kullanıldığı diğer çalışmaların sonuçları ile tartışılmıştır. Örneğin; Aybeke ve arkadaşları (12) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, zeytinyağı fabrikası atık suyunun buğday (*Triticum aestivum* L.) kök ucu hücrelerindeki toksik etkileri araştırılmış, sonuçta farklı dozlarda kullanılan atık suyun, buğday tohumlarının çimlenme yüzdesini azalttığı tespit edilmiştir. Elkoca ve arkadaşları (13) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, farklı NaCl konsantrasyonlarının *Phaseolus vulgaris* L. tohumlarının çimlenme ve fide gelişimine etkileri araştırılmış, sonuçta farklı dozdaki tuz konsantrasyonlarının tohumların çimlenmesini negatif yönde etkilediği belirlenmiştir. Chaudhari ve arkadaşları (14) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, *A.cepae* L. tohumlarında Metil Paration'un toksik etkileri araştırılmış, sonuçta metil paration'un büyümeyi geciktirerek tohum çimlenmesi üzerinde olumsuz etkiler yaptığı rapor edilmiştir. Çavuşoğlu ve arkadaşları (15) *A.cepae* tohumlarının kök uzunluğu üzerine Glifosat'ın etkilerini araştırmış, sonuçta artan Glifosat dozuyla birlikte kök uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir. Marlı (16) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir çalışmada ise Triadimenol fungusininin *A.cepae* L. kök ucu hücrelerindeki sitogenetik etkileri araştırılmış, sonuçta fungusit konsantrasyonunun artmasıyla kök uzunluğunun kontrol grubuna oranla iki kat azaldığı görülmüştür. Diğer bir çalışmada ise, bazı mısır çeşitlerinde Kadmiyum (Kd) ve Kurşun (Pb) elementi birikimine bağlı olarak kök uzunluğunun önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (17). Çavuşoğlu ve ark. (18) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Çinko (Zn) ve Kadmiyum (Kd) iyonlarının *Phaseolus vulgaris* L. tohumlarında ağırlık kazanımını azalttığı tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada ise, *Phaseolus vulgaris* L. çeliklerinde

Asetilsalisilik Asit ve tuz (NaCl) uygulamasının karşılıklı etkileri araştırılmış, sonuçta tuz stresine sokulmuş bitkilerde yaş ağırlığın azaldığı belirlenmiştir (19). Çavuşoğlu ve ark. (20) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, *Vicia Faba* L. kök ucu hücreleri üzerine Fenol'ün farklı konsantrasyonlarının sitotoksik etkileri araştırılmış, sonuçta uygulama periyodunca maruz kalınan Fenol dozlarına bağlı olarak ağırlık kazanımının azaldığı rapor edilmiştir.

Bu çalışmada Benzofenon'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı da araştırılmıştır. Sonuçta, Benzofenon dozlarındaki artışa bağlı olarak MN sıklığının arttığı tespit edilmiştir. Literatürde Benzofenon'un bitkilerde MN oluşumunu teşvik ettiğine dair daha önce gerçekleştirilmiş kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmadığından, elde ettiğimiz bulgular diğer ajanlarla gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Örneğin; Topçu ve ark. (21) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *A. cepa* kök ucu hücrelerinde Dursban 4'ün genotoksik etkileri araştırılmış, sonuçta Dursban 4 konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak MN sıklığının arttığı belirlenmiştir. Çavuşoğlu ve ark. (22) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir çalışmada ise, Paraquat pestisitinin *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde doza bağlı olarak MN oluşumunu arttırdığı belirlenmiştir. Gul ve ark. (23) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, *Allium cepa* L. ve *Allium sativum* L. tohumlarına uygulanan Avenoxan herbisitinin tüm konsantrasyonlarda MN oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, Benzofenon tarafından sebep olunan kromozomal anormalliklerde incelenmiş, sonuçta Benzofenon uygulamasının yapışkan kromozom, kromatinin eşit olmayan dağılımı, kromozom köprüsü, fragment, vagrant kromozom, C-metafaz, anormal kutuplaşma, anafazda iğ ipliği anormalliği, anafazda çapraz bağlanma ve genetik materyali kayıplı metafaz oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Benzofenon'un artan dozu ile birlikte söz konusu kromozomal hasarların sayılarında artış olduğu da tespit edilmiştir. Literatürde bitkilerde Benzofenon'un teşvik ettiği kromozomal anormalliklerle ilgili gerçekleştirilmiş bir çalışmaya rastlanılmamasına rağmen, diğer kimyasallarla gerçekleştirilmiş pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin; Fındıklı ve ark. (24) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Glyphos ve DDVP'nin *A. cepa* L. kök hücre hücrelerinde mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkileri araştırılmış, sonuçta her iki kimyasalın farklı

dozlarda anafaz köprüsü, yapışkan kromozom, kromozom kırığı ve kalgın kromozom oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir. Arslan ve Ertuğrul (25) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir çalışmada ise, Fibrinolin'in *A. cepa* kök ucu hücrelerinde sebep olduğu sitogenetik değişimler araştırılmış, sonuçta Fibrinolin'in düzensiz kromatin kümelenmesi, anafaz anormallikleri, kromozom köprüsü, kromozom kırığı ve çok nükleuslu interfaz gibi kromozomal hasarlara neden olduğu tespit edilmiştir. Sivas ve Gökbayrak (26) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, Piridin'in *A. cepa* kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği kromozomal anormallikler araştırılmış, sonuçta söz konusu kimyasalın C-mitoz, fragment, yapışkan kromozom ve kromozom köprüsü oluşumuna yol açtığı rapor edilmiştir.

Bu çalışmada Benzofenon'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin mitotik aktivitesi üzerindeki etkileride araştırılmış, sonuçta Benzofenon'un dozuna bağlı olarak mitotik indeksin (MI) azaldığı tespit edilmiştir. Literatürde Benzofenon'un bitkilerde MI üzerine etkilerini araştırılan detaylı bir çalışma bulunmamasına rağmen, diğer kimyasalların etkilerini araştırılan benzer tarzda pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Öztürk (27) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, İmazethapyr herbisitinin *A. cepa* kök ucu hücrelerinde sebep olduğu sitogenetik etkiler araştırılmış, sonuçta İmazethapyr herbisitinin mitotik indeks yüzdesini kontrol grubuna kıyasla önemli oranda azalttığı rapor edilmiştir. İnceer ve Beyazoğlu (28) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir başka çalışmada ise, Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) kök ucu hücreleri üzerine sitogenetik etkileri araştırılmış, sonuçta doz artışıyla birlikte MI'nın azaldığı belirlenmiştir. Soykan ve ark. (29) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, DDVP'nin doza bağlı olarak MI yüzdesini azalttığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada Benzofenon'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde neden olduğu anatomik değişimlerde araştırılmış, sonuçta Benzofenon uygulamasının kök ucu hücrelerinde yassılaştırmış hücre çekirdeği, iletim dokusunda madde birikimi, belirgin olmayan iletim dokusu, hücre deformasyonu ve nekroz şeklinde hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Literatürde Benzofenon'un sebep olduğu anatomik değişimler ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmadığından, elde ettiğimiz bulguların değerlendirilmesi diğer kimyasallarla gerçekleştirilen çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Örneğin, Çavuşoğlu ve ark (15), tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *A. cepa* L.

tohumlarına 72 saat süreyle Glyphosate uygulanmış, sonuçta kök ucu hücrelerinden alınan kesitlerde hücre deformasyonu, belirgin olmayan epidermis tabakası, belirgin olmayan vasküler doku, binukleer hücre ve anormal hücre nükleusu şeklinde hasarlara rastlanılmıştır. Öztürk ve ark (30). tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir başka çalışma ise, Metalaxyl uygulanan domates kök ucu hücrelerinden alınan kesitlerde, uygulama dozuna bağlı olarak parankima dokusunda kalınlaşma tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, günlük yaşantımızda sıkça kullandığımız başta kişisel bakım ürünleri olmak üzere, pek çok ürünün bileşiminde bulunan Benzofenon'un yüksek konsantrasyonlarda toksik etki gösterdiği *A.cepa* test materyali kullanılarak gözler önüne serilmeye çalışılmıştır. Bu nedenle söz konusu kimyasalın ya hiç kullanılmaması ya da sanayi sektöründeki üretim aşamasında kullanılması zaruri ise, mutlaka uygun doz ayarlaması yapıldıktan sonra kullanılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Benzofenon> Web adresinden 17 Ocak 2015 tarihinde edinilmiştir.
2. <http://www.birpabirlik.com/urunler.asp?b=tumu&KokID=2> Web adresinden 06 Şubat 2014 tarihinde edinilmiştir.
3. <http://dogalanneyim.blogspot.com.tr> Web adresinden 03 Şubat 2014 tarihinde edinilmiştir.
4. www.sonsuzsifa.com Web adresinden 06 Şubat 2014 tarihinde edinilmiştir.
5. <http://www.zehirsizev.com/tag/oksibenzon/> Web adresinden 06 Şubat 2014 tarihinde edinilmiştir.
6. <http://www.saglikekibi.com/can/cilt-hastaliklari/oksibenzon-iceren-kremler-guvenlimi.html> Web adresinden 06 Şubat 2014 tarihinde edinilmiştir.
7. <http://turkish.alibaba.com/goods/Benzophenone-3.html> Web adresinden 10 Ocak 2015 tarihinde edinilmiştir.
8. Wei, Q. X. 2004. Mutagenic Effects of Chromium Trioxide on Root Tip Cells of *Vicia faba*, *Journal of Zhejiang University Science*, 5 : 1570–1576.
9. Atik M, Karagüzel O, Ersoy S. 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* Tohumlarının Çimlenme Özelliklerine Etkisi, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (2): 203–210.
10. 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.
11. Fenech M, Chang W.P, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, 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.
12. Aybeke M, Olgun G, Sıdal U, Kolankaya D. 2000. Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Buğday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi. *Turk J. Biol.* 24:127-140.
13. Elkoca E, Kantar F, Güvenç İ. 2003. Değişik NaCl Konsantrasyonlarının Kuru Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Çimlenme ve Fide Gelişimine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*.34(1) 1-8.

14. Chaudhari, S.V. and Priyanka. S. Chaudhari., 2013. Effect Of Pesticides And Fertilizers On Development Of Root Of Onion *Allium Cepa* (Linn.)". *www.ijird.com*, 2(5), 1075-1081. ISSN: 2278 – 0211 (Online)
15. Çavuşoğlu K, Yalçın E, Türkmen Z, Yapar K, Çavuşoğlu K, Çiçek F. 2010. Investigation of toxic effects of the glyphosate on *Allium cepa*. *J Agric Sci.* 17:131–142.
16. Marlı H.A. 2004. Triadimenol Fungusinin *Allium cepa* L. Kök Ucu Hücrelerinde Sitogenetik Etkileri. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
17. Ayhan B., Ekmekçi Y., Tanyolaç D. 2007. Erken Fide Evresindeki Bazı Mısır Çeşitlerinin Ağır Metal (Kadmiyum ve Kurşun) Stresine Karşı Dayanıklılığının Araştırılması. *Anadolu University Journal Of Science and Technology.* 8(2):411-422.
18. Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., Ergene, A. 2009. The Cytotoxic Effects of Zinc and Cadmium Metal Ions On Root tip Cells of *Phaseolus vulgaris* L. (*Fabaceae*). *Süleyman Demirel Üniversitesi Journal Of Science (e-journal)*, 4 (1): 1-11.
19. Çanakçı S. ve Munzuroğlu Ö. 2004. Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeliklerinde Ağırlık Değişimleri, Pigment ve Protein Miktarları Üzerine Asetilsalisilik Asit ve Tuz (NaCl) Uygulamasının Karşılıklı Etkileri. *Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi.* 24(1):23-40.
20. Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., Dönmez, S. 2008. *Vicia faba* L. (*Fabaceae*) Kök Ucu Hücrelerinde Fenol Tarafından Teşvik Edilen Sitotoksitenin Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi (E-Dergi)*,3(2): 139-148.
21. Topçu S., Yılmaz F., Ergene A., Tan S. 2013. Genotoxic Effects of Durshan 4'in *Allium cepa*. *Hacettepe Journal Biol. and Chem.* 41(1), 21-27.
22. Özen, E., Çiçek, F., Gür, B., Aydın, N., Akıncı B., Topal, M., Keser, G., Çavuşoğlu, K., 2011. Paraquat'ın *Allium cepa*'da Bazı Sitotoksik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri., *Fırat Univ. Journal of Science* 23 (2), 117-124.

23. Gul, T., Kaymak, F. ve Muranli, F. D. G. 2006. Genotoxic effects of avenoxan on *Allium cepa* L. and *Allium sativum* L. *Caryologia* 59 (3): 241-247.
24. Fındıklı, Z. and Türkoğlu, Ş. 2010. Glyphos ve DDVP' nin *Allium cepa* L.' da Mitoz Bölünme ve Kromozomlar Üzerine Etkisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31 (2): 49-62.
25. Arslan E. ve Ertuğrul K. 2004. Fipronilin Soğan (*Allium cepa* L.) Kök Ucu Hücrelerine Sitogenetik Etkileri. *Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*. 24:69-75.
26. Sivas H. ve Gökbayrak S. 2011. Investigation of Cytotoxic Effects of Pyridine in Root Meristem Cells of Onion (*Allium cepa*). *Biological Diversity and Conservation*. 4(2):92-98.
27. Öztürk N.S. 2013. İmazethapyr Herbisitinin *Allium cepa* L. Kök Meristem Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyon.
28. İnceer H. ve Beyazoğlu O. 2000. Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray Kök Ucu Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri. *Turk Journal Biol.* 24:553-559.
29. Soykan (Sarı) H. ve Koca S. 2014. Dichlorvos'un (DDVP) *Allium cepa* L. Kök Ucu Meristem Hücrelerinde Mitoz Bölünme ve Kromozomlar Üzerine Etkileri. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi, Fen Bilimleri Dergisi (CFD)*. 35(3).
30. Öztürk, İ., Tort, N. and Tosun, N., 2006. Metalaxyl uygulamasının domates (*Lycopersicum esculentum* Mill.)'in anatomik yapısı üzerindeki etkisi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi* 12: 14–22 (in Turkish).

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Yalova'da doğdu. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Türkiye'nin farklı illerinde tamamladı. 2009 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Biyoloji Bölümü Lisans Programından 2013 yılında başarıyla mezun oldu. Aynı yıl girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programını Ağustos 2015 yılında tamamladı.

