

DERLEME / REVIEW

PESTİSİTLERİN SİTOTOKSİK ETKİLERİ VE BİTKİ BİYOTESTLERİ

Mustafa YILDIZ¹, Evrim Suna ARIKAN²

ÖZ

Pestisitler “pest” adı verilen zararlı organizmaları öldürmek için kullanılan maddelerdir. Pestisitlerin yararlarına ilaveten bitkiler, hayvanlar ve insanlar için son derece toksiktir. Pestisitlerin mutajenik aktiviteleri farklı bitki sistemleri ile analiz edilmektedir. Yüksek yapıli bitkiler, çevresel kirleticilerin sitotoksik, sitogenetik ve mutajenik etkilerinin belirlenmesi için önemli bir indikatördür. Bitki test sistemleri, memeli test sistemleriyle iyi bir korelasyon göstermektedir. Pestisitlerin sitotoksik etkilerini belirlemek için sıklıkla kök büyümesi inhibisyonu, mitotik indeks ve kromozom aberasyonları gibi bazı parametreler değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Pestisit, Sitotoksosite, Kök büyümesi, Mitotik indeks, Kromozom aberasyonu.

CYTOTOXIC EFFECTS OF PESTICIDES AND PLANT BIOASSAYS

ABSTRACT

Pesticides are substances which used to kill hazardous organisms. Pesticides are highly toxic to plants, animals, and human beings in addition to their benefits. Mutagenic activities of pesticides are analyzed with different plant systems. Higher plants are an important indicator for determining the cytotoxic, cytogenetic and mutagenic effects of environmental contaminants. Plant test systems show good correlation with mammalian test systems. Some parameters such as root growth inhibition, mitotic index, and chromosome aberrations are frequently being evaluated to determine the cytotoxic effects of pesticides.

Keywords: Pesticide, Cytotoxicity, Root growth, Mitotic index, Chromosome aberration.

¹ Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Afyonkarahisar.

² Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Afyonkarahisar.

1. GİRİŞ

İnsanoğlunun sürekli olarak atık ürünler oluşturması ve özellikle son yıllardaki hızlı endüstriyel gelişim çevre kirliliğindeki potansiyel tehlikeyi arttırmaktadır. Pestisitlerden dolayı biyolojik çeşitlilik ve insan sağlığı ciddi tehlike altındadır (Saxena vd., 2005). Ancak pestisitlerin kullanıldığı kimyasal savaşım, tarımsal savaşımında en fazla kullanılan yöntemdir. Bu savaş, toksin salgılayan organizmalardan ürünü koruyabilen, bilinçli ve kontrollü kullanıldığında ekonomik ve son derece etkin olan bir savaşımdır (De Waard vd., 1993; Ragsdale ve Sisler, 1994).

Pestisitler, bitkiler tarafından insanlara toksik ajan vektörleri olarak etki eden mutajenik ve karsinojenik ajanlara dönüştürülebilmektedir (Marcano vd., 2004). Birçok araştırmacı, pestisitlerin mutajenik ve karsinojenik etkilere sahip olduklarını bildirmiştir (Smaka-Kincl vd., 1996; Rank ve Nielsen 1998; Steinkellner vd., 1998; Kong ve Ma 1999; Pavlica vd., 2000; El-Shahaby vd., 2003; Evseeva vd., 2003; Chandra vd., 2005). Kullanılan 100 pestisit bileşenini kapsayan test kimyasallarının %59'unun gen mutasyonu, %83'ünün kromozomal hasar ve %71'inin DNA hasarında etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak %10'unun tüm testlerde negatif sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Bolognesi ve Morasso, 2000).

Kimyasalların sitotoksik aktiviteleri *Allium cepa* (Fiskesjö, 1985; Smaka-Kincl vd., 1996; Rank vd., 2002; Marcano vd., 2004; Fatima vd., 2005; Patra vd., 2005), *Vicia faba* (Cotelle vd., 1999), *Arabidopsis thaliana* (Menke vd., 2001) ve *Hordeum vulgare* (Nicoloff ve Kappas, 1987) gibi farklı bitki sistemleri ile analiz edilmektedir. Özellikle *Allium* testi, çeşitli kimyasalların sitotoksik ve/veya genotoksik etkilerinin belirlenmesi için sıklıkla kullanılmaktadır (Fiskesjö, 1985; Smaka-Kincl vd., 1996; Rank vd., 2002; Marcano vd., 2004; Fatima vd., 2005; Patra vd., 2005; Arıkan, 2006). Bitki test sistemlerinde çevresel kirleticilerin sitotoksitesini belirlemek için kullanılan parametreler; çimlenme oranı, ortalama kök uzunluğu, mitotik indeks, faz indeksi, anafaz köprülerinin sıklığı, kromozom fragmentlerinin sıklığı, gözlenen diğer mitotik anormallikler ve mikronükleus sıklığıdır. Ancak çevresel kirleticilerin sitotoksik etkilerini belirlemek için bu sitolojik parametrelerden bazılarının değerlendirilmesinin yeterli olabileceği bildirilmiştir (<http://biology.hamline.edu>).

Bu derlemede, pestisitlerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde kullanılan bitki biyotestleri ile ilgili çalışmaların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. PESTİSİTLER

Karbon, hidrojen ve klor içerdiklerinden dolayı "klorlu hidrokarbonlar" olarak tanımlanan pestisitler evsel atıklar, endüstriyel atıklar ve tarımsal mücadelelerde ortama karışan ve zor parçalanan maddelerdir. Bunun yanı sıra, pestisit terimi kısaca "pest" adı verilen zararlı canlıları öldürmek için kullanılan madde

anlamına da gelmektedir (Harte vd., 1991). Pestisitler zararlı gruplarına göre herbisitler, insektisitler, fungusitler, akarisitler, rodentisitler, mollusitler, nematositler, nematisitler, afisitler, avisitler, bakterisitler olmak üzere sınıflandırılmaktadır (Harte vd., 1991; Akman, 2000).

3. BİTKİ TEST SİSTEMLERİ

Pestisitlerin mutajenik aktiviteleri farklı bitki sistemleri ile analiz edilmektedir. Diğer taraftan, pestisitlerin genetik etkilerinin belirlenmesi için farklı organizmalarda farklı mutajenite testleri de uygulanmaktadır. Bunlardan bazıları, *Drosophila*'da eşeye bağlı letalite testi (Kilbey vd., 1984), *Drosophila*'da somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) (Graf vd., 1984; Isaenko vd., 2002), mayalarda *Saccharomyces cerevisiae* genotoksikite testi (Buschini vd., 2003), bakterilerde *Salmonella* mutajenite testi (Mamber vd., 1993) ve *Bacillus subtilis* tamir testi (Silva vd., 2006), hayvanlarda (sıçan, fare, hamster) kemik iliği mikronükleus testi (Ono vd., 2006), insan lenfosit hücre kültürlerinde kardeş kromatit değişimi (Çelik vd., 2005; Sivikova vd., 2005) ve hayvan hücrelerinin yanı sıra tüm bitki türlerinde DNA zararını belirlemek için uygulanan COMET veya Tek Hücre Jel Elektrofrezisi (Single Cell Gel Electrophoresis, SCGE) (Tice vd., 2000; Collins, 2002) testleridir.

Mutajenlerin belirlenmesi için bitki biyotestleri uzun yıllardan beri kullanılmakta olup; sitogenetik aberasyonlar ve gen mutasyonlarına neden olan çevresel kimyasalların izlenmesi ve denetlenmesi için çok kullanışlı sistemler olduğu bildirilmiştir (Constantin ve Owens, 1982; Grant, 1994). Çevresel kimyasalların mutajenik ve karsinojenik potansiyellerinin belirlenmesi için Kimyasal Güvenlik Üzerine Uluslararası Program (IPCS) kapsamında bitki genetik sistemleri üzerine ortaklaşa bir çalışmanın 1984 yılında tamamlandığı bildirilmiştir (Ashby vd., 1988). Bu çalışmada, mutasyon testi için *Arabidopsis thaliana* klorofil ve embriyo testleri (Redei, 1982) ile *Tradescantia clone 4430* stamen hair testi (Vant't Hof ve Schairer, 1982), sitogenetik testlerde ise *Tradescantia clone 4430* mikronükleus testi ve *Vicia faba*'da kromozom aberasyonu testi (Kihlman ve Andersson, 1984) kullanılmıştır. Çevresel kirleticilerin mutajenik etkilerinin değerlendirilmesi için sıklıkla kullanılan diğer bitki türlerinin *Allium cepa*, *Crepis capillaris*, *Glycine max*, *Hordeum vulgare*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana*, *Pisum sativum* ve *Zea mays* olduğu bildirilmiştir (Grant, 1994). Yüksek yapılı bitkiler kromozomlarının boyutlarından dolayı sitogenetik analizler için uygundur (Fiskesjö, 1985). Ortamdaki kirlilik seviyelerini belirlemek için standart bir yöntem olan *Allium* testi, çeşitli maddelerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için sıklıkla kullanılmaktadır. *Allium* testi kullanılması kolay ve ucuz bir testtir ve özellikle memeli test sistemleriyle iyi bir korelasyon göstermektedir (Fiskesjö, 1985). *Allium* köklerinin hassaslığı, büyük ihtimalle diploid tamamlayıcısının total uzunluğunun en fazla ve metasentrik kromozomlarının çok sayıda olmasından kaynaklanmaktadır (Ma vd., 1995).

3.1. Bitki Biyotestlerinin Avantajları

Yüksek yapılı bitkiler, çevresel kimyasalların sitotoksik (hücre yapısı ya da fonksiyonunda hasar oluşturan etkileri), sitogenetik (kromozomlar üzerindeki etkileri) ve mutajenik (genetik değişime neden olan etkileri) etkilerinin mükemmel bir göstergesidir. Bu bağlamda yüksek yapılı bitkiler, kimyasalların kullanımı veya çevresel kirliliğin neden olduğu muhtemel genetik hasarın belirlenmesinde birinci sırada yer alan alternatif test sistemleri olarak deneysel çalışmalarda özgül avantajlara sahiptir. Yani, bitki köklerinin meristematik mitotik hücreleri çevresel kirlleticilerin “klastojenite”sinin (kromozom kırılması ve/veya buna bağlı olarak kromozom parçalarındaki kayıp, artma ya da düzensizliklerin olması) belirlenmesi için uygun bir sitogenetik materyaldir (Ma vd., 1995).

Çevresel kimyasalların veya kirliticilerin test edilmesi ve izlenmesi için yüksek bitki genetik testlerinin kullanılmasının bazı avantajları mevcuttur. Diğer taraftan, birçok bitkinin hayat döngüsünün bakteriyel, maya ve *Drosophila*'dan daha uzun olması ve bitkiler ve hayvanlar arasında temel farmakokinetik ve biyokimyasal farklılıkların bulunması bitki sistemlerinin kullanılmasına bazı sınırlamalar getirmektedir. Hayvan ve bitki hücreleri arasındaki farklılıklar, bitki genotoksikite testlerinin genel olarak kabulünde bir eksikliğe neden olur. Bakteri, *Drosophila*, *Neurospora* ve maya gibi bazı memeli olmayan sistemlerde yapılan genotoksikite testleri kabul görmesine rağmen, bitki genotoksikite testlerinin verileri insana göre yorumlanmak istendiğinde bir yerde sınırlanmaktadır. Buna karşın, bazı kimyasalların genetik anormallikler bakımından karşılaştırmalı sonuçları bitki ve hayvan sistemlerinde belirlenmiştir (Grant vd., 1981). Örneğin, pestisitlerin sitogenetik etkilerinin incelenmesinde, bitki ve hayvan sistemlerinde hem kromozomal anormallikler hem de c-mitoz sıklığı arasında mükemmel bir korelasyonun olduğu gösterilmiştir (Grant, 1978). *Allium cepa*'da ve V79 Çin hamster fibroblast hücrelerine uygulanmış olan 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy acetic acid) sonuçları, kromozom aberasyonlarının teşvik edilmesinde bu iki testin benzer olduğunu göstermiştir (Pavlica vd., 1991). Benzer olarak, 12 adet kimyasalın insan lenfositlerinde ve *Vicia faba* kök ucu hücrelerinde kardeş kromatid değişimlerini (SCE) teşvik etmesi kıyaslandığında, *Vicia faba*'daki SCE oranının insan lenfositlerindeki kadar yüksek bulunmamasına rağmen, teşvik edilen SCE oranları hemen hemen yakın bulunmuştur. Bu sonuç, *Vicia faba* kromozomlarının aynı mutajene karşı insan lenfositleri kadar hassas olduğunu göstermektedir (Xing ve Zhang, 1990). Bitki genotoksikite testleri mutajen tarama programlarında memeli ve memeli olmayan hayvan testlerine alternatif sağlamaktadır (Grant, 1986). Bitki genetik test sonuçları, mutasyon ve kansere neden olabilen ajanlardan korunabilmek için önemli bir katkı sağlayabilir (Grant, 1994).

Pestisitlerin genotoksik etkilerinin belirlenmesi için pestisitler tarafından teşvik edilen aşağıdaki

değişiklikler göz önüne alınmaktadır (<http://www.icsuscope.org>):

Kromozom aberasyonları olarak isimlendirilen kromozom veya kromatidlerde meydana gelen yapısal değişiklikler (kırıklar, delesyonlar, gaplar, inversiyonlar, translokasyonlar, ringler) ve diğer bozukluklar (yapışıklık, kümeleşme, aşınmalar),

Mitotik veya mayotik bölünmelerde bozukluklar (iğ ipliği inaktivasyonu, c-mitoz, non-disjunction), poliploid veya anöplid hücrelerle sonuçlanan anafaz esnasında meydana gelen kromozom dağılımındaki düzensizlikler,

Somatik crossing over ve kardeş kromatid değişimi gibi rekombinasyonel olaylar,

Verimsizlik ve embriyonik ölüm,

Polen tanelerinde veya yavru döllerde ekspresyona edilemeyen mutasyonlar olarak ifade edilmektedir.

Çevresel kirliticilerin test edilmesi ve izlenmesinde yüksek yapılı bitki genetik biyotestlerinin avantajları şu şekilde sıralanmıştır (Grant, 1994):

Ökaryot canlılar olan bitkiler, insanlara benzer kromozom yapısına sahiptirler. Mitoz ve mayoz geçirirler ve mutasyona uğrarlar.

Teknisyenlere bitki testleri ile ilgili çok hızlı eğitim verilebilir. Diğer test sistemlerine göre ucuz ve kültürü kolay yapılabilir.

Bazı bitkiler (örneğin: *Arabidopsis*) vejetasyonlarını kısa zamanda tamamlamaktadır.

Testler çevresel şartlar, pH, sıcaklığın geniş aralıklarında gerçekleştirilebilir. Bitkiler, tek bir haploid ve diploid bitkiden rejenere edilebilir.

Bitki genetik testleri tek bir kimyasaldan kompleks karışımlara kadar genotoksikitenin değerlendirilmesi için kullanılabilir.

Bitki genetik testleri mutajenik kirliticilerin *in situ* denetlenmesi için kullanılabilir.

Yıllardır kullanılmakta olan bitki genetik testleri son derece güvenilirdir. Bitki genetik testleri çevresel kimyasalların test edilmesi ve denetlenmesi için mutagenizasyon çalışmalarında kullanılabilirlikleri kanıtlanmıştır.

Birçok kimyasal için genotoksikite sonuçları mevcuttur ve böylece farklı testler arasında karşılaştırmalar yapılabilir.

Çalışmalar memeli sitogenetik testleri ile pozitif bir korelasyon göstermektedir.

Bitkiler mutajenik metabolitlerin (promutajenler) belirlenmesinde mikrobiyal testlerle birleştirilebilir.

Test etmenlerinin karsinojenitelerinin belirlenmesi için bitki genetik testleri yüksek hassasiyet göstermektedir.

4. PESTİSİTLERİN SİTOTOKSİK ETKİLERİ

4.1. Pestisitler ve Kök Büyümesi İnhibisyonu Testi

Kök büyümesi inhibisyonu testi temelinde, kromozomlar ve hücre bölünmesi üzerinde çevresel kirleticilerin toksik ve genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla etkili konsantrasyonun (EC_{50} , kontrole göre kök uzunluğunun %50 azalmasına neden olan pestisit konsantrasyonu) belirlenmesi önemlidir (Fiskesjö, 1985). *Allium* genotoksisite testlerinde kullanılan en yüksek konsantrasyonların EC_{50} değerinin aşağısında olduğu ve en düşük konsantrasyonun toksik etkiye sahip olmadığı veya çok düşük toksik etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır (Rank, 1997). Birçok araştırmada, genotoksik çalışmalarda kullanılmak üzere çevresel kirleticilerin konsantrasyonlarının belirlenmesi için EC_{50} değeri saptanmıştır (Nielsen ve Rank, 1994; Rank ve Nielsen, 1998; Chauhan vd., 1999; Yüzbaşıoğlu, 2001; Ateeq vd., 2002; Saxena vd., 2005; Yıldız vd., 2006; Arıkan, 2006). Kimyasalların genotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde EC_{50} değerinin kullanılmasının yanı sıra yarısı, dörtte biri, sekizde biri, iki katı, dört katı gibi değerler de kullanılmıştır (Chauhan vd., 1999; Yüzbaşıoğlu vd., 2003; Saxena vd., 2005, Arıkan, 2006). Buna karşın, kimyasalın EC_{50} değerine bağımlı kalmaksızın farklı konsantrasyonların uygulandığı çalışmalar da mevcuttur (Pavlica vd., 2000; El-Ghamery vd., 2003; Yi ve Meng, 2003; Chandra vd., 2005). Pestisitlerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde, makroskobik (kök büyümesi inhibisyonu) ve mikroskobik (mitotik indeks, kromozom aberasyonları) sonuçlar arasında paralellik olduğu ve makroskobik sonuçların oldukça geçerli bir parametre olduğu bildirilmiştir (Fiskesjö, 1985).

4.2. Pestisitler ve Mitotik İndeks

Hücre bölünmesinin inhibisyonu kök büyümesi inhibisyonuna neden olduğundan, mitotik indeks ile kök büyüme oranı arasında bir ilişki vardır (Liu vd., 1992). Mitotik indeks, hücre bölünme frekansının tahminini sağlayan bir parametre olarak değerlendirilmektedir (Marcano vd., 2004). Sitotoksisite, mitotik indekste bir azalma olarak tanımlanmaktadır (Smackin vd., 1996). Birçok araştırmacı, pestisitlerin hücelere nüfuz olmasıyla birlikte kritik bir konsantrasyona ulaştığında aktif formda kaldığını ve birbirini takip eden hücre döngüleri sırasında lezyonlara neden olduğunu bildirmiştir (Ribas vd., 1996; Rank ve Nielsen 1997; Alvarez-Moya vd., 2001; Rank vd., 2002; Marcano vd., 2004). *Allium cepa*'da ceresan, agrosan ve civa klorür fungusitleri (Nandi, 1985), cypermethrin ve fenvalerate insektisitleri (Chauhan vd., 1999), pen-

tachlorophenol, 2,4-D, butachlor (Ateeq vd., 2002), maleic hidrazide (Marcano vd., 2004) ve quizalofop-P-ethyl (Arıkan, 2006) herbisitlerinin; *Allium sativum*'da cypermethrin insektisiti (Saxena vd., 2005) ve hidrate sülfür dioksit kimyasalının (Yi ve Meng, 2003); *Vicia faba*'da hidrate sülfür dioksit kimyasalının (Yi ve Meng, 2003), cumicidin ve curacron insektisitlerinin (AL-Shehri ve AL-Wadi, 2002); *Pisum sativum*'da radyasyonun (Zaka vd., 2002) ve *Lens* ve *Pisum* türlerinde benzen hekza klorür, lindane, aldrin, heptacolor ve endrin pestisitlerinin (Jain ve Sarbhoy, 1987) kök meristem hücrelerinin mitotik indeksini dozun artmasına bağlı olarak azalttığı bildirilmiştir. Mitotik indeks inhibisyonunun;

G_1 fazının bloke olmasıyla DNA sentezinin baskılanması (Schneiderman vd., 1971; El-Ghamery vd., 2000),

S fazının süresindeki artış (Webster ve Davidson, 1969; MacLeod, 1969),

Hücrenin mitoz girmesini engelleyen G_2 fazının bloke olması (Van't Hof, 1968; El-Ghamery vd., 2000),

Çevresel kimyasalların biyolojik sistemin DNA/protein sentezi üzerindeki etkisi (Badr ve Ibrahim, 1987; Chauhan vd., 1998),

Uzamış bir G_2 periyodu veya DNA sentezinin baskılanmasıyla mitozun interfazda bloke edilmesi (Badr ve Ibrahim, 1987),

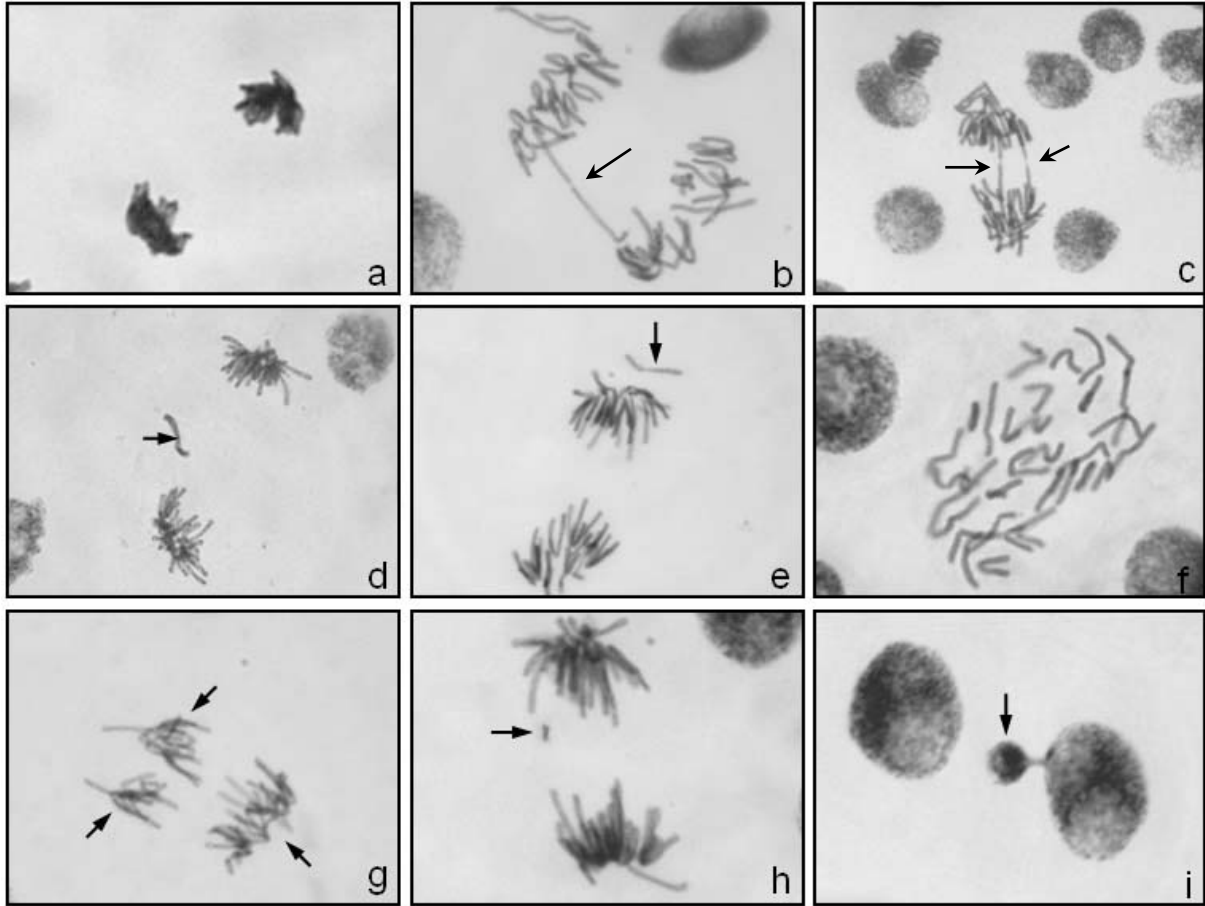
Herbisitin DNA nükleotidleri ile etkileşime geçmesi ve bu nedenle, DNA sentezinin (DNA/nükleoprotein dengesi) inhibe olması (Soliman, 2001) gibi nedenlerden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Bu olaylar, muhtemelen mitozun ilerlemesi için gerekli olan ATP miktarının düşmesine neden olan karbohidrat metabolizması ve solunum işlevlerinin aynı anda çalışmamasından da kaynaklanmaktadır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1996).

Test organizmalarında mitotik indeks kontrolün %22'sinin altına düşmesi letal etkiye neden olurken (Antonsie-wiez, 1990), genellikle %50'sinin altına düşmesi subletal etkiye (Panda ve Sahu, 1985) neden olmaktadır ve bu değer sitotoksik sınır değeri olarak adlandırılmaktadır (Sharma, 1983).

4.3. Pestisitler ve Kromozom Aberasyonları

Sitotoksisite c-mitoz, multipolar anafazlar, yapışıklık ve vagrant kromozomlu hücrelerin fraksiyonunda bir artış olarak tanımlanmaktadır (Fiskesjö, 1995). Pestisitlerin sitotoksik etkilerinin analizleri, kromozom aberasyonlarının tipleri ve sıklığı gibi sitolojik parametreler kullanılarak değerlendirilmektedir. Yapılan araştırmalarda; yapışıklık, köprüler, vagrant kromozomlar, c-mitoz, multipolarlık, fragment ve mikronukleus en sıklıkla gözlenen kromozom aberasyonlarıdır (Şekil 1).



Şekil 1. Pestisitlerin *Allium cepa* kök ucu meristemlerinde teşvik ettiği bazı kromozom aberasyonları. a) Yapışıklık, b) Anafazda tekli köprü, c) Anafazda ikili köprü, d) Vagrant kromozom (geri kalmış kromozom), e) Vagrant kromozom (ileri gitmiş kromozom), f) C-anafaz (c-mitoz), g) Multipolar anafaz, h) Fragment, i) Mikronükleus (Arıkan, 2006'dan değiştirilerek).

(Nielsen ve Rank, 1994; Ma vd., 1995; Fiskesjö, 1997; Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1996; Chauhan vd., 1999; Cotellet vd., 1999; Kong ve Ma, 1999; Soliman, 2001; Amin, 2002; El-Shahaby vd., 2003; Saxena vd., 2005; Arıkan, 2006).

Yapışıklık (Stickiness): Darlington ve Mc Leish (1951), yapışıklığın (Şekil 1a) kromozomal DNA'nın parçalanması veya depolimerizasyonundan dolayı olabileceğini ileri sürmüştür. Yapışıklığın interkromozomal kromatin fibrillerinin dolaşmasının sonucu olarak kromozomlar arasında subkromatid bağlan-tıların oluşmasıyla meydana geldiği bildirilmiştir (Mc Gill vd., 1974; Chauhan vd., 1986). Yapışık kromozomlar, kimyasalların toksik etkilerini yansıtmakta ve genellikle geri dönüşümsüz olup, muhtemelen hücrenin ölümüne neden olmaktadır (Liu vd., 1992). Pestisitlerin de dahil olduğu çeşitli çevresel kimyasalların etkilerinin araştırıldığı birçok araştırma-da en sık gözlenen kromozom aberasyonunun yapışıklık olduğu bildirilmiştir (Chauhan vd., 1999; El-Ghamery vd., 2000; Ateeq vd., 2002; Amin, 2002; Rank vd., 2002; Chandra vd., 2005; Saxena vd., 2005; Arıkan, 2006).

Köprüler (Bridges): Kromozomların kırılması ve yeniden bir araya gelmesi ile köprülerin (Şekil 1b, c) oluştuğu bildirilmiştir (Soliman, 2001). Kromozomların yapışması kromatidlerin birbirlerinden ayrılmasını engellemekte ve köprülerle birbirlerine bağlı kalmalarına neden olmaktadır (Kabarity vd., 1974; Badr vd., 1992). Yapışık köprülerin, replikasyon enzimlerinin kusurlu olması veya aktivasyonunun az olması nedeniyle kromozomların tamamlanmamış replikasyonunun (Sinha, 1979) veya telomerik heterokromatinin DNA sekanslarının geç replikasyonunun bir sonucu olabileceği bildirilmiştir (De-Faria ve Jaworska, 1972; Bennet, 1977). Eğer nukleus bölünmeye hazır olduğunda heterokromatin blokları DNA replikasyonunu tamamlamadıysa köprü oluşumları meydana gelebilir (Kaltsikes vd., 1984). İkili ve üçlü köprülerin eşit olmayan kutuplaşma veya disentrik kromozomlar sonucu ya da kromozom kırıkları veya parçalanma ile terminalizasyonda başarısızlık nedeniyle oluştuğu da bildirilmektedir (Prakash vd., 1988). Cypermethrin ve fenvalerate insektisitleri (Chauhan vd., 1999), maleic hidrazide herbisiti (Marcano vd., 2004), cerasan, agrosan GN ve fenil civa klorür fungusitlerinin (Nandi, 1985)

Allium cepa'da, benzen hekza klorür, lindane, aldrin, heptacolor ve endrin pestisitlerinin (Jain ve Sarbhoy, 1987) *Lens* ve *Pisum*'da mitoz bölünme esnasında köprülere neden olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan, fragment(leri) içermeyen ve sıklıkla gözlenen köprü oluşumlarının muhtemelen kromo-proteinlerin çapraz bağlanmasının bir sonucu olarak sadece kromozom yapışıklığına işaret edebileceğini ve bunun da gerçek bir kromozom aberasyonu olmadığı ileri sürülmüştür (Kong ve Ma, 1999). Aynı araştırmacılar, tek başına gözlenen fragmentlerin kromozom hasarının bir göstergesi olabileceğini işaret etmişlerdir.

Geri kalmış veya ileri gitmiş kromozomlar (Vagrant chromosomes): Vagrant kromozomların (Şekil 1d, e) varlığı, kardeş hücrelere farklı sayıda kromozomların ayrılmasına ve bunu takiben interfazdaki eşit olmayan boyutta veya düzensiz şekilde nükleus içeren kardeş hücrelerin oluşmasına neden olmaktadır (El-Ghamery vd., 2003). Triazine (Badr, 1983), maleic hidrazide (Rank ve Nielsen, 1997) ve quizalofop-P-ethyl (Arıkan, 2006) herbisitlerinin, kadmiyumun (Zhang ve Yang, 1994), cypermethrin ve fenvalerate insektisitlerinin (Chauhan, 1999) vagrant kromozomların sayısını önemli düzeyde arttırdığı bildirilmiştir.

C-mitoz: C-metafaz ve c-anafazı (Şekil 1f) kapsayan c-mitoz, hücrede iğ ipliklerinin inaktivasyonunu takiben yoğunlaşmış kromozomların rasgele dağılması olarak tanımlanmış kolşisin mitozudur (Levan, 1938). Pestisitlerin de dahil olduğu çeşitli çevresel kimyasalların, hücre bölünmesi esnasında iğ ipliklerinin oluşumunu engelleyerek c-mitoza neden olduğu birçok araştırmada bildirilmiştir (Liu vd., 1992; Kovalchuk vd., 1998; Chauhan vd., 1999; Amin, 2002; Rank vd., 2002; Saxena vd., 2005).

Multipolarlık: Multipolarlık (Şekil 1g), sentriolün birden daha fazla bölünmesi yüzünden ikiden daha fazla kutbun oluşmasıyla açıklanmıştır (Jain ve Sarbhoy, 1987). Multipolarlık kutupların pozisyonu ve sayısıyla belirlenmektedir (Kumar vd., 1978). Benzene hexa chloride, lindane, endrin pestisitlerinin (Jain ve Sarbhoy, 1987), toprak radyoaktivitesinin (Kovalchuk, 1998), atık suyun (Pavlica vd., 2000), cypermethrine ve fenvalerate insektisitlerinin (Saxena vd., 2005) bitki kök hücrelerinde multipolar oluşumlara neden olduğu bildirilmiştir.

Fragment: Fragmentlerin (Şekil 1h) kromozom ve kromatidlerde meydana gelen kırılmalarından meydana geldiği (Prakash vd., 1988; Yi ve Meng, 2003) ve muhtemel mutajenitenin bir sonucu olabileceği bildirilmiştir (Fiskesjö, 1997). Bavistin ve deltan fungusitlerinin (Prakash vd., 1988), sodyum bisülfid ve sodyum sülfid karışımlarının (Yi ve Meng, 2003) ve atrazine herbisitinin (Bolle vd., 2004) kullanılmasıyla hücrelerde fragment oluşumları gözlenmiştir.

Mikronükleus: Vagrant kromozomlar veya fragmentlerin sitoplazmada çözüldükleri veya yavaş yavaş kümeleştikleri, ardından nüklear membranla çevrilerik

mikronükleus şeklini aldıkları (Şekil 1i), bu yüzden interfazda birkaç tane hücrede mikronükleus gözlendiği rapor edilmiştir (El-Ghamery vd., 2003). Mikronükleusun genellikle anafazda kromozomların anormal ayrılmasına neden olan iğ ipliği hasarı veya kromozom kırıkları/fragmentler yüzünden meydana geldiği (Amer ve Mikhael, 1972; Dash vd., 1988; Grover ve Kaur, 1999), önceden oluşmuş multipolar telofazdan orijinlenebildiği (Amer ve Farah, 1974), iğ ipliği aparatında meydana gelen bir aksamanın sonucu olabileceği (Stroev, 1970) ve özellikle radyasyonlar tarafından oluşturulan anormallikler arasında en baskın bir tip olduğu (Amer ve Mikhael, 1972) bildirilmiştir. Mikronükleus gerçek bir mutasyon etkisinin göstergesi olarak düşünülmektedir (Auerbach, 1962).

5. PESTİSİTLERİN SİTOGENETİK ETKİLERİ

Pestisitlerin mitotik indeksi azalttığı ve kromozom aberasyonlarını arttırdığı yapılan birçok araştırmada değerlendirilmiştir.

Tridemorph fungusitinin *Allium cepa* meristem hücrelerinde mitozu baskıladığı ve bu etkinin konsantrasyon ve süreye bağlı olarak arttığı gözlenmiştir (Cortes vd., 1982). Bu fungusitin güçlü bir c-mitoz ajanı olduğu ve buna ilaveten, multipolar anafaz, kromozom kontraksiyonu, anormal kromozom dağılımı ve mikronükleus oluşumlarına da neden olduğu bildirilmiştir (Cortes vd., 1982).

Rank ve Nielsen (1997), *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU), maleic hidrazide (MH), sodium azide (NaN_3) ve ethyl methanesulfonate (EMS) kimyasallarının genotoksik etkilerini *Allium* anafaz-telofaz kromozom aberasyon testi ile belirlemiştir. Bütün kimyasallar, kromozom aberasyonlarını istatistikî olarak önemli düzeyde teşvik etmişlerdir. Pozitif etkiyle en düşük dozların sıralaması şu şekildedir: NaN_3 (0.3 ppm) < MH (1 ppm) < MNU (41 ppm) < EMS (100 ppm). *Allium* testinde MH, MNU, NaN_3 ve EMS için bulunan değerler aynı kimyasalların kullanıldığı diğer bitki (*Arabidopsis*, *Vicia*, *Tradescantia*) testlerinde bulunan değerlerle kıyaslanmış, MH ve MNU için sonuçlar aynı oranda bulunurken, NaN_3 ve EMS değerleri *Allium* testinde daha düşük oranda bulunmuştur. *Allium* testinde, mutajenite testinde pozitif kontrol olarak kullanılan MMS (metil metanosülfonat)'nin kromozom aberasyonlarının teşvikinde EMS'den on kat daha etkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmaya göre maleic hidrazide'in mutajenik ve klastojenik etkileri teşvik eden konsantrasyonlarda toksik olmayan yüksek reaktif alkilasyon etmeni olduğu bildirilmiştir (Rank ve Nielsen, 1997).

Alfa-siyano pyrethroid insektisitlerinden cypermethrin (CYP) ve fenvalerate (FEN) insektisitlerinin ticari formülasyonlarının sitogenetik etkileri *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde değerlendirilmiştir (Chauhan vd., 1999). *Allium* kök büyümesi testi ile EC_{50} değerleri CYP için 10 mg/L ve FEN için 14 mg/L belirlenmiş ve test konsantrasyonları olarak EC_{50} değeri, yarısı ve iki katı kullanılmıştır. Her iki bileşik,

konsantrasyona bağlı olarak mitotik indeksi önemli düzeyde inhibe etmiş ve kromozom aberasyonlarını 6 ve 24 saat uygulamalarında teşvik etmiştir. Her iki bileşikle teşvik edilen aberasyonların tipleri, CYP uygulamasında gözlenen kromozomların eşit olmayan dağılımı (non-disjunction) ve mikronükleuslu hücrelerin teşviki dışında hemen hemen benzer bulunmuştur. CYP'ye maruz bırakılan hücrelerdeki aberant hücrelerin sıklığı FEN'e maruz bırakılan hücrelerdekinden daha fazla olduğundan daha toksik bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarla uyumlu olan bu incelemeler alfasiyano pyrethroid insektisitlerin genotoksik etkilerinin birincil mekanizmasının iğ ipliği hasarı olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte, kromozom kırıklarının yüzdesi bu bileşiklerin klastojenik potansiyelini belirtmektedir (Chauhan vd., 1999).

Bir biyopestisit olarak kullanılan azadirachtin, *Meliaceae* familyasından *Azadirachta indica* A. Juss. (neem) bitkisinden elde edilmektedir (Schmutterer ve Ascher, 1987). Azadirachtin'in yaprak, tohum çekirdeği ve tohum kabuğu sulu ekstraktlarının farklı konsantrasyonları, *Allium cepa* kök meristemlerinin mitotik aktivitesini 24 ve 48 saat uygulamalarında inhibe etmiştir (Soliman, 2001). Neem bileşenlerinin DNA sentezini (DNA/nükleoprotein dengesi) etkilediği ve ardından mitotik inhibisyona neden olduğu bildirilmiştir. Neem tohum kabuğu ekstraktının hücre bölünmesini inhibe etme yeteneği en az iken, tohum çekirdeği ekstraktının daha çok etkili olduğu bulunmuştur. Faz indeks verilerinin analizi, tüm muamelelerin ortalama profaz yüzdesini azalttığı, metafaz ve anafazların yüzdelere göre arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca ekstraktlar, *Allium cepa*'nın bölünmeyen hücrelerinde interfaz safhasında gözlenen mikronükleus ve multinükleus hücreleri ile bölünen hücrelerinde gözlenen köprüler, yapışıklık, düzenlenmemiş (non-kongresyon) metafaz, vagrant, poliploidi ve düzensiz ana-telofaz gibi farklı kromozom aberasyonlarına neden olmuştur. Köprüler bölünen hücrelerde en sık görülen aberasyon tipidir. Neem'in tohum çekirdeği ekstraktının, yaprak ve tohum kabuğu ekstraktlarından daha fazla kromozom aberasyonlarına neden olduğu kanıtlanmıştır. Bundan dolayı, Neem ekstraktlarının daha dikkatli bir şekilde test edilene kadar dahili tıbbi amaçlarla da kullanılmaması gerekmektedir. İnsan sağlığı için farklı test sistemlerinde genetik toksikolojik etkilerinin çok daha ciddi değerlendirilmesi gerekmektedir (Soliman, 2001).

Chauhan vd. (2001), *Allium sativum* ile yaptıkları çalışmada kullanılan isoproturon herbisitinin test konsantrasyonlarını, herbisitinin EC₅₀ değerini belirleyerek seçmişlerdir. Kök uçları 6 ve 24 saat için farklı isoproturon konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve EC₅₀ değeri kök büyümesi için 70.8 ppm olarak belirlenmiştir. İsopturon herbisiti, kök büyümesinde gecikmeye neden olmasının yanında, köklerde sertleşme ve renk solukluğu gibi morfolojik değişikliklere de neden olmuştur. *Allium sativum* kök uçlarının, EC₅₀ değerini de içeren çeşitli isoproturon konsantrasyonlarına (35-280 ppm) maruz bırakılması konsantrasyona bağlı olarak 6 ve 24 saatlik uygulamalarda mitotik in-

deksi önemli düzeyde azaltmış, mitotik aberasyonlar ve kromozom kırıklarını da teşvik etmiştir (Chauhan vd., 2001).

Amin (2002), ürünlerin kültüre alınması için ıslah edilen alanların sulanmasında sıradan taze suyla tam bir seyreltmeden sonra yeni atık suyun kullanımına bakış açısı sağlamak amacıyla atık su örneklerinin genotoksitesini *Allium cepa* kromozom aberasyonu analiziyle incelemiştir. Fabrikadan alınan işlenmiş ve işlenmemiş atık su örnekleri ve seyreltik çözeltilerinin mitotik indeksi azalttığı ve bölünen ve bölünmeyen hücrelerin aberasyon oranını kontrole göre önemli derecede arttırdığı bildirilmiştir. Her iki atık su örneğinin de (işlenmiş ve işlenmemiş) DNA ve proteinlerle etkileşimleri aracılığıyla kromozom aberasyonlarını teşvik ederek kromozom yapışıklığına, mitotik bozukluklara ve/veya hücre hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Amin, 2002).

Pentachlorophenol (PCP), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ve 2-chloro-2,6-diethyl-N-(butoximethyl) acetanilid (butachlor)'in genotoksitesini test edilmiş ve c-mitoz, yapışıklık, kromozom kırıkları ve mitotik indeks belirlenmiştir (Ateeq vd., 2002). 2,4-D'nin yüksek konsantrasyonlarında (5-20 ppm) çengel uç, c-tümörleri ve kırılan kökler gibi 2,4-D'ye özgü morfolojik değişiklikler saptanmıştır. Bu anormallikler, PCP ve butachlor uygulanmış gruplarda belirlenmemiştir. Bununla birlikte, PCP'nin yüksek konsantrasyonlarında kök dejenere olmuştur. Mitotik indeks 2,4-D için %14.32 ve PCP için %19.53 iken butachlor için belirlenen oran (%71.6) kontrol değerine yakın bulunmuştur. Tüm kimyasallar kromozom aberasyonlarını önemli seviyede teşvik etmiştir (P<0.05). En yüksek kromozom aberasyon frekansı (%11.90) 3 ppm PCP'de gözlenmiştir. Fazla sayıdaki c-anafazları, butachlorun potansiyel iğ iplikleri inhibitörü olarak etki ettiğini gösterirken kırıklar, köprüler, yapışmalar ve vagrantlar potansiyel bir klastojen olarak gösterilen PCP'de çok sıklıkla rastlanan aberasyonlardır (Ateeq vd., 2002).

Nehir suyu ve atık suların toksisite taramasında ve çevresel denetimde standart bir metod olarak önerilen *Allium* testi, Sandup bölgesinde Shawa, Meet El Akrad, Telbana ve Bergay yerleşim yerlerinden toplanan su örneklerinin toksisitesini değerlendirmek için kullanılmıştır (El-Shahaby vd., 2003). Sitotoksitesinin *in situ* izlenmesi için meristem hücrelerindeki mitotik bölünmenin inhibisyonu ve genotoksitesiyi test etmek için mitotik hücrelerdeki kromozom aberasyonları ve interfaz hücrelerindeki mikronükleus varlığı analiz edilmiştir. Kontrole göre kanalizasyon suları, önemli düzeyde kromozom aberasyonu ve mikronükleus oluşumlarına neden olmuştur. Soğan kök ucu meristeminde aberant metafaz, anafaz ve telofaz hücreleri, atık su örneklerinin yüksek derecede mutajenik olduğunu göstermektedir (El-Shahaby vd., 2003).

Yüzbaşıoğlu vd. (2003), racer herbisitinin "Flurochloridone" farklı konsantrasyonlarına maruz

birakılan *Allium cepa*'nın kök ucu meristem hücrelerinde mitotik indeksin kontrole göre azaldığını ve bu azalmanın konsantrasyon ve maruz kalma süresinin artmasına bağlı olarak önemli düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Buna ilaveten, herbisitinin c-metafaz, vagrant kromozomlar, yapışıklık, köprüler, fragmentler, multipolarite ve poliploidi gibi anormallikleri önemli oranda teşvik ettiğini belirlemişlerdir. İnterfazda ise mikronükleus oluşumları gözlemişlerdir (Yüzbaşıoğlu vd., 2003).

Atrazine, ortamda uzun süre yıkılmadan kalan, insan sağlığı ve ekolojik riskleri nedeniyle çalışılan, uluslararası revizyon programına konu olmuş seçici bir triazine herbisitidir. Atrazine herbisitinin *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde konsantrasyonun artışına bağlı olarak somatik kromozom aberasyonlarının toplam sayısında bir artmaya neden olduğu, ancak bu artmanın sadece en yüksek test konsantrasyonunda (5 µg/L) önemli düzeyde olduğu bildirilmiştir (Bolle vd., 2004). Bu çalışmada, yapısal kromozom hasarları analizinde, öncül lezyonlar olarak kromozom kırıklarının teşvik edildiği ve kromozom kırığı içeren hücrelerin yüzdesinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı gösterilmiştir. Kromozom kırıklarında artma, 1 ve 5 µg/L test konsantrasyonlarında önemli düzeyde belirlenmiştir (Bolle vd., 2004).

Depolama sırasında sebze tomurcuklarının büyüme düzenleyicisi olan maleic hidrazide herbisitinin *Allium cepa* kök ucu meristem hücreleri üzerine etkisi araştırılmıştır (Marcano vd., 2004). Kimyasalla teşvik edilen *Allium cepa* kök uçlarında, farklı uygulama süresi (0, 4, 8, 12, 24 ve 48 sa) ve konsantrasyonlarında (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} ve 10^{-3} M) meydana gelen mitotoksik ve klastojenik etkiler belirlenmiştir. Maleic hidrazide'in konsantrasyonu ve uygulama süresinin artışıyla birlikte mitotik indekste bir inhibisyon gözlenmiştir. Tüm konsantrasyonlarda 12 saat ve üzerindeki uygulama periyotlarında yapışıklık, anafaz köprüleri, kromozom kırıkları ve mikronükleus tipi kromozom anormalliklerinin önemli derecede arttığı belirlenmiştir (Marcano vd., 2004).

Avenoxan herbisitinin *Allium cepa*'nın mayotik kromozomları ve polen verimsizliği üzerine sitogenetik etkileri çalışılmıştır (Kaymak ve Muranlı, 2005). *Allium cepa* kök ucu meristemleri avenoxan herbisitinin %0.1, %0.2, %0.4'lük konsantrasyonlarına 3, 6, 12 ve 24 saat süreyle maruz bırakıldığında, kontrole göre tüm uygulamalarda anormal hücrelerin sayısında belirgin bir şekilde artma belirlenmiştir. Herbisit ile teşvik edilen anormallikler yapışıklık, köprüler, vagrantlar, univalentler, quadrivalentler ve mikronükleustur. Avenoxan herbisitinin polen verimsizliğine de neden olduğu ve bu verimsizliğin kromozom aberasyonlarındaki artışla paralel olduğu bildirilmiştir (Kaymak ve Muranlı, 2005).

Quercetin, serbest radikallerin temizlenmesi ve antioksidan aktivitesi gibi birçok kimyasal ve biyolojik aktiviteye sahip yaygın bir bitki flavonoididir. Mastrangelo vd. (2006), atrazine ile teşvik edilen kromo-

zom kırıklarına karşı quercetin'in koruma sağlayıp sağlayamayacağını araştırmışlardır. *Allium cepa* testinde, quercetin'in 0.1-20 µg/mL konsantrasyonları toksite veya klastojenik etkiye neden olmamıştır. Daha sonra 2.5, 5.0 ve 7.5 µg/L atrazine'in klastojenitesi üzerine 0.5 ve 5 µg/mL quercetin'in etkileri değerlendirilmiştir. 0.5 µg/mL quercetin 7.5 µg/L atrazine ile teşvik edilen toplam aberasyonların sıklığını önemli düzeyde azaltırken, quercetin'in her iki konsantrasyonu da 7.5 µg/L atrazine ile teşvik edilen fragmentlerin sıklığını önemli düzeyde azaltmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, quercetin gibi bitki flavonoidlerinin atrazine'in genotoksik etkilerine karşı koruma sağlayabileceğini göstermektedir (Mastrangelo vd., 2006).

Arıkan (2006), mitotik indeks ve kromozom aberasyonları üzerine quizalofop-P-ethyl herbisitinin etkisini *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerinde incelemiş ve mitotik indeksin herbisit konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak azaldığını ve anafaz-telofaz kromozom aberasyonlarının arttığını bildirmiştir (Arıkan, 2006).

Sonuç olarak, günümüzde kullanılan sentetik pestisitlerin yararlı etkilerinin yanı sıra zararlı etkileri de bilinmektedir. Son derece toksik olduğu bilinen sentetik pestisitlerin zorunlu kullanımları durumunda hedef organizmaların ve konsantrasyonlarının çok iyi belirlenmesi gerekmektedir. Diğer taraftan, daha az zararlı olduğu bildirilen biyopestisitlerin kullanımı yaygınlaştırılmalı, fakat biyopestisitlerin olası zararlı etkilerinin de olabileceği düşünülerek bunlarla ilgili çalışmalara ağırlık verilmesi gerekmektedir. Biyopestisitler hedef olmayan faydalı organizmalara karşı düşük toksisiteli, çabuk parçalanan, mutajen olmayan, seçici görünen ve ekosistemde minimum zarara yol açan maddeler olarak bilinmektedir (Raizada vd., 2001). Raizada vd. (2001), bir biyopestisit olan "azadirachtin" biyopestisitinin önerilen dozlarda kullanıldığında memelilere karşı güvenilir olduğunu göstermiş olmasına rağmen, organizmalar üzerinde fizyolojik ve toksikolojik etkilerinin yanı sıra doğadaki kalıcılığı ile ilgili çalışmaların yapılmasının uygun olacağını bildirmiştir. Çevresel kirleticilerin son derece bilinçli, yerinde ve zamanında kullanılması ve biyolojik çeşitliliğin yanı sıra insan sağlığının tehdit edilmemesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Akman, Y. (2000). *Çevre kirliliği*. Çevre Biyolojisi, ss. 144-167, Ankara.
- AL-Shehri, A.M. ve AL-Wadi, H.M. (2002). Chromotoxic effects of cumicidin and curacron insecticides on *Vicia faba* L. *Sci. J. King Faisal Univ. (Basic and Applied Sci.)* 3(1), 53-63.
- Alvarez, M.C., Santerre, L.A., Zuniga, G.G., Torres, B.O., Padilla, C.E. ve Feria, V.A. (2001). Evaluation of genotoxic activity of maleic hydrazide, ethyl methane sulfonate, and N-nitroso diethy-

- lamine in *Tradescantia*. *Salud Publica Mex.* 43, 563-569.
- Amer, S.M. ve Mikhael, E. (1972). Cytogenetic studies on the effect of CO⁶⁰ gamma irradiation on *V. faba*. *Cytologia* 37, 169-174.
- Amer, S.M. ve Farah, O.R. (1974). Cytological effect of pesticides. VII- Mitotic effect of isopropyl-n-phenylcarbamate and duphar. *Cytologia* 40, 21-29.
- Amin, A. (2002). Cytotoxicity testing of sewage water treatment using *Allium cepa* chromosome aberrations assay. *Pakistan J. Biol. Sci.* 5, 1184-1888.
- Antonsie-wiez, D. (1990). Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of Leda krin. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 26, 79-96.
- Arıkan, E.S. (2006). Quizalofop-P-Ethyl herbisitinin *Allium cepa* kök meristem hücreleri üzerine sitogenetik etkileri, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 67s.
- Ashby, J., De Serres F.J, Shelby, M.D., Margolin, B.H., Ishidate, M. ve Becking, G.C. (1988). Evaluation of short-term tests for carcinogens. Report on the International Programme on Chemical Safety's Collaborative Study on *in vivo* assays, Vols.I/II, Cambridge University Press, Cambridge.
- Auerbach, C. (1962). Mutation: An introduction to research on mutagenesis. Part I. Methods, Oliver and Boyed, Edinburgh, pp. 49-50.
- Ateeq, B., Farah, M.A., Ali, M.N. ve Ahmad, W. (2002). Clastogenicity of pentachlorophenol, 2,4-D and butachlor evaluated by *Allium* root tip test. *Mut. Res.* 514, 105-113.
- Badr, A. (1983). Mitodepressive and chromotoxic activities of two herbicides in *Allium cepa*. *Cytologia* 48, 451-457.
- Badr, A. ve Ibrahim, A.G. (1987). Effect of herbicide glean on mitosis chromosomes and nucleic acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* root meristems. *Cytologia* 52, 293-302.
- Badr, A., Ghareeb, A. ve El-Din, H.M. (1992). Cytotoxicity of some pesticides in mitotic cells of *V. faba* roots. *Egyptian J. Appl. Sci.* 7, 457-468.
- Bennet, M.D. (1977). Heterochromatin, aberrant endosperm nuclei and grain shriveling in wheat-rye genotypes. *Heredity* 39, 411-419.
- Bolognesi, C. ve Morasso, G. (2000). Genotoxicity of pesticides: Potential risk for consumers. *Trends Food Sci. Technol.* 11, 182-187.
- Bolle, P., Mastrangelo, S., Tucci, P. ve Evandri, M.G. (2004). Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test. *Environ. Mol. Mutagen.* 43, 137-141.
- Buschini, A., Poli, P. ve Rossi, C. (2003). *Saccharomyces cerevisiae* as an eukaryotic cell model to assess cytotoxicity and genotoxicity of three anticancer anthraquinones. *Mutagenesis*.18, 25-36.
- Chandra, S., Chauhan, L.K.S., Murthy, R.C., Saxena, P.N., Pande, P.N. ve Gupta, S.K. (2005). Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium cepa*. *Sci. Total Environ.* 347, 46-52.
- Chauhan, L.K.S., Dikshith, T.S.S. ve Sundararaman, V. (1986). Effect of deltamethrin on plant cells. I. Cytological effects of deltamethrin on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Mut. Res.* 171, 25-30.
- Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N., Sundararaman, V. ve Gupta, S.K. (1998). Diuron induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa*. *Pesticide Biochem. Physiol.* 62, 152-163.
- Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N. ve Gupta, S.K. (1999). Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Environ. Exp. Bot.* 42, 181-189.
- Chauhan, S.P., Magann, E.F. ve Carroll, C.S. (2001). Mode of delivery for the morbidly obese with prior cesarean delivery: Vaginal versus repeat cesarean section. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 185, 349-354.
- Collins, A.R. (2002). The comet assay. Principles, applications, and limitations. *Methods Mol. Biol.* 203, 163-77.
- Constantine, M.J. ve Owens, E.T. (1982). Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays, A report of the US Environmental Protection Agency Genotox Program. *Mut. Res.* 99, 1-12.
- Cortes, J.L., Pham, X.Y. ve Tounsi, A. (1982). Mass effects in weak decays of heavy particles. *The Amer. Phys. Soc.* 25, 188-194.
- Cotelle, S., Masfaraud, J.F. ve Ferard, J.F. (1999). Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia*-micronucleus and the *Tradescantia*-micronucleus assays. *Mut. Res.* 426, 167-171.

- Çelik, M., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D., Ergün, M.A., Arslan, O. ve Kasap, R. (2005). In vitro effect of karathane LC (dinocap) on human lymphocytes. *Mutagenesis* 20(2), 101-104.
- Darlington, C.D. ve McLesih, L. (1951). Action of maleic hydrazide on the cell. *Nature* 167, 407-408.
- Dash, S., Panda, K.K. ve Panda, B.B. (1988). Biomonitoring of low levels of mercurial derivatives in water and soil by *Allium* micronucleus assay. *Mut. Res.* 203, 11-21.
- De Waard, M.A., Georgopoulos, S.G., Hollaman, D.W., Ishii, H., Leroux, P., Ragsdale, N.N. ve Schwinin, F.J. (1993). Chemical control of plant diseases: Problem and prospects. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31, 403-421.
- De-Faria, L. ve Jaworska, H. (1972). The relation between the chromosome size gradient and the sequence of DNA replication in rye. *Hereditas* 70, 39-58.
- El-Ghamery, A.A., El-Nahas, A.I. ve Mansour, M.M. (2000). The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia* 55, 209-215.
- El-Ghamery, A.A., El-Kholy, M.A. ve El-Yousser, A. (2003). Evaluation of cytological effects of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. *Mut. Res.* 537, 29-41.
- El-Shahaby, O.A., Abdel Migid, H.M., Soliman, M.I. ve Mashaly, I.A. (2003). Genotoxicity screening of industrial wastewater using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. *Pakistan J. Biol. Sci.* 6, 23-28.
- Evseeva, T.I., Geras'kin, S.A. ve Shuktomova, I.I. (2003). Genotoxicity and toxicity assay of water sampled from a radium production industry storage cell territory by means of *Allium*-test. *J. Environ. Radioact.* 68, 235-248.
- Fatima, R.A. ve Ahmad, M. (2005). Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. *Sci. Total Environ.* 346, 256-273.
- Fiskesjö, G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* 102, 99-112.
- Fiskesjö, G. (1995). *Allium* test. In vitro toxicity testing protocols. *Methods Mol. Biol.* 43, 119-127.
- Fiskesjö, G. (1997). *Allium* test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. *Plants for Environmental Studies*, pp.308-333, CRC Press, LLC-New York.
- Graf, U., Wurgler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juon, H., Hall, C.B. ve Kale, P.J. (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.* 153-188.
- Grant, W.F. (1978). Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. *Environ. Health Perspectives*, 27, 37-43.
- Grant, V. (1981). *Plant Speciation*. Columbia University Press, New York.
- Grant, W. F. (1986). Plants also offer an alternative to animal research. *Can. Res.* 19(2), 71.
- Grant, W.F. (1994). The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mut. Res.* 310, 175-185.
- Grover, I.S. ve Kaur, S. (1999). Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium cepa* root anaphase aberration and micronucleus assays. *Mut. Res.* 426, 183-188.
- Harte, J., Holdren, C., Schneider, C. ve Shirley, C. (1991). *Toxics A to Z, A guide to everyday pollution hazards*. University of California Press.
- Isaenko, O.A., Karr, T.L. ve Feder, M.E. (2002). Hsp70 and thermal pretreatment mitigate developmental damage caused by mitotic poisons in *Drosophila*. *Cell Stress Chaperones* 7, 297-308.
- Jain, A.K. ve Sarbhoy, R.K. (1987). Cytogenetical studies on the effect of some chlorinated pesticides I. effect on somatic chromosomes of *Lens* and *Pisum*. *Cytologia* 52, 47-53.
- Kabarity, A., El-Bayoumi, A.S. ve Habib, A.A. (1974). Effect of morphine sulphate on mitosis of *Allium cepa* root tips. *Biol. Plant.* 16, 275-282.
- Kaltsikes, P.J. (1984). Breeding vegetable varieties resistant to diseases. Proc. 3rd Meeting on Protected Vegetables and Flowers, May 9-11, Heraklion, Crete, p.60.
- Kaymak, F. ve Muranli, F.D. (2005). The cytogenetic effects of Avenoxan on *Allium cepa* and its relation with pollen sterility. *Acta Biol. Hung.* 56, 313-321.
- Kihlman, B.A. ve Andersson, H.C. (1984). Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. In: Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C. (Eds.) *Handbook of*

- Mutagenicity Test Procedures, pp.531-554, Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford.
- Kilbey, B.J., Legator, M., Nicholson, W. ve Ramel, C. (1984). Handbook of mutagenicity test procedures. 2nd edition, Elsevier, Amsterdam.
- Kong, M.S. ve Ma, T.H. (1999). Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassays. *Mut. Res.* 426, 221-228.
- Kovalchuk, O., Kovalchuk, I., Arkhipov, A., Telyuk, P., Hohn, B. ve Kovalchuk, L. (1998). The *Allium cepa* chromosome aberration test reliably measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the Ukraine contaminated by the Chernobyl accident. *Mut. Res.* 415, 47-57.
- Kumar, P., Leela, K., Laxminarayan, P. ve Nigam, J. (1978). Induction of multipolar spindle in *Allium sativum*. *Cytobios* 22, 41-45.
- Levan, A. (1938). The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. *Hereditas* 24, 471-486.
- Liu, D., Jiang, W. ve Li, M. (1992). Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. *Hereditas* 117, 23-29.
- Ma, T.H., Xu, Z.D., Xu, C., McConnell, H., Rabago, E.V., Arreola, G.A. ve Zhang, H. (1995). The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mut. Res.* 334, 185-195.
- Mamber, S.W., Kolek, B., Brookshire, K.W., Bonner, D.P. ve Fung-Tomc, J. (1993). Activity of quinolones in the Ames Salmonella TA102 mutagenicity test and other bacterial genotoxicity assays. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37, 213-217.
- Marcano, L., Carruyo, I., Del Campo, A. ve Montiel, X. (2004). Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. *Environ. Res.* 94, 221-226.
- Mastrangelo, S., Tomassetti, M., Carratu, M.R., Evandri, M.G. ve Bolle, P. (2006). Quercetin reduces chromosome aberrations induced by atrazine in the *Allium cepa* test. *Environ. Mol. Mutag.* 47, 254-259.
- McGill, M., Pathak, S. ve Hsu T.C. (1974). Effect of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: a possible material basis for chromosome stickiness. *Chromosoma* 47, 157-167.
- MacLeod, R.M. (1969). Influence of norepinephrine and catecholamine-depleting agents on the synthesis and release of prolactin and growth hormone. *Endocrinology* 85, 916-923.
- Menke, M., Chen, I., Angelis, K.J. ve Schubert, I. (2001). DNA damage and repair in *Arabidopsis thaliana* as measured by the comet assay after treatment with different classes of genotoxins. *Mut. Res.* 493, 87-93.
- Nandi, S. (1985). Studies on the cytogenetic effect of some mercuric fungicides. *Cytologia* 50, 921-926.
- Nicoloff, H. ve Kappas, A. (1987). Binomial induced mitotic disturbances in *Hordeum vulgare*. *Mut. Res.* 38, 53-70.
- Nielsen, M.H. ve Rank, J. (1994). Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the *Allium* test. *Hereditas* 121, 249-254.
- Ono, H., Tamura, H., Yamashita, Y., Tamura, K. ve Iwakura, K. (2006). In vitro chromosome aberration test and in vivo micronucleus test of Ca-type Garcinia extract. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* 47, 80-84.
- Panda, B.B. ve Sahu, U.K. (1985). Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fensulfotion. *Cytobios* 42, 147-155.
- Patra, J., Sahoo, M.K. ve Panda, B.B. (2005). Salicylic acid triggers genotoxic adaptation to methyl mercuric chloride and ethyl methane sulfonate, but not to maleic hydrazide in root meristem cells of *Allium cepa*. *Mut. Res.* 581, 173-180.
- Pavlica, P., Papes, D. ve Nagy, B. (1991). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid causes chromatin and chromosome abnormalities in plant cells and mutation in cultured mammalian cells. *Mut. Res.* 263, 77-81.
- Pavlica, P., Besendorfer, V., Rosa, J. ve Papes, D. (2000). The cytotoxic effect of wastewater from the phosphoric gypsum depot on common oak (*Quercus robur* L.) and shallot (*Allium cepa* var. *ascalonicum*). *Chemosphere* 41, 1519-1527.
- Prakash, N.S., Lakshmi, N. ve Harini, I. (1988). Cytological effects of agricultural chemicals II. Effects of fungicides "bavistin" and "deltan" on chilli (*Capsicum annum* L.). *Cytologia* 53, 709-715.
- Ragsdale, N.N. ve Sisler, H.D. (1994). Social and political implication of manning plant disease in the United States. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32, 545-557.
- Raizada, R.B., Srivastava, M.K., Kaushal, R.A. ve Singh, R.P. (2001). Azadirachtin, a neem biopesticide: Subchronic toxicity assessment in rats. *Food Chem. Toxicol.* 39: 477-483.

- Rank, J. (1997). Determination of sample concentrations for the *Allium* anaphase-telophase aberration assay. *Mut. Res.* 379, 96.
- Rank, J. and Nielsen, M.H. (1997). *Allium cepa* anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. *Mut. Res.* 390, 121-127.
- Rank, J. and Nielsen, M.H. (1998). Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Mut. Res.* 418, 113-119.
- Rank, J., Lopez, L.C., Nielsen, M.H. ve Moretton, J. (2002). Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEPH in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories. *Hereditas* 136, 13-18.
- Redei, G.P. (1982). Mutagen assay with *Arabidopsis*: A report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mut. Res.* 99, 243-255.
- Ribas, G., Surralles, J. ve Marcos, R. (1996). Maleic hydrazide in cultured human lymphocytes. *Mutagenesis* 11, 221-226.
- Saxena, P.N., Chauhan, L.K.S. ve Gupta, S.K. (2005). Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: Spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology* 216, 244-252.
- Schmutterer, H. ve Ascher, K.R.S. (1987). Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. Proc. 3rd Int. Neem Conf. (Nairobi, 1986), GTZ, Eschborn, Germany, pp.703.
- Schneiderman, N., Pearl, L., Wilson, W., Metcalf, F., Moore, J.W., Swadlow, H.A. (1971). Stimulus control in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) as a function of different intensities of intracranial stimulation. *J. Comp. Physiol.* 76(2), 175-86.
- Sharma, C.B.S.R. (1983). Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals. *Curr. Sci.* 52, 1000-1002.
- Sinha, U. (1979). Cytomorphological and macromolecular changes induced by p-fluorophenylalanine in *Allium cepa* and Triticale. *J. Cyto. Genet.* 14, 198.
- Silva, M.M., Vergani, C.E., Giampaolo, E.T., Neppelebroek, K.H., Spolidorio, D.M. ve Machado, A.L. (2006). Effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of complete dentures. *Int. J. Prosthodont.* 19, 288-293.
- Sivikova, K., Holeckova, B. ve Dianovsky, J. (2005). Chromosome damage induced by benzene after the use of conventional and FISH chromosome painting. *Neoplasma* 52, 79-84.
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M. ve Toman, M.J. (1996). The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. *Mut. Res.* 368, 171-179.
- Soliman, M.I. (2001). Genotoxicity testing of neem plant (*Azadirachta indica* A. Juss.) using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. *J. Biol. Sci.* 1, 1021-1027.
- Steinkellner, H., Kong, M.S., Helma, C., Ecker, S., Ma, T.H., Horak, O., Kundi, M. ve Knasmüller, S. (1998). Genotoxic effects of heavy metals: Comparative investigation with plant bioassays. *Environ. Mol. Mutagen.* 31, 183-191.
- Stroev, V.S. (1970). Cytogenetic activity of the herbicides atrazine, chloroisopropenyl carbamate and paraquat. *Genetica* 6, 31-37.
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.-C. ve Sasaki, Y.F. (2000). Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environ. Mol. Mutagen.* 35, 206-221.
- Topaktaş, M. ve Rencüzoğulları, E. (1996). Genotoxic effects of marshall in *Allium cepa* L. *Turkish J. Bot.* 20, 481-487.
- Van't Hof, J. (1968). The action of IAA and kinetin on the mitotic cycle of proliferative and stationary phase exised root meristems. *Exp. Cell Res.* 51, 167-176.
- Van't Hof, J. ve Schairer, L.A. (1982). *Tradescantia* assay system for gaseous mutagens report of the US Environmental Protection Agency GeneTox Program. *Mut. Res.* 99, 303-315.
- Webster, P.L. ve Davidson, D. (1969). Changes in the duration of the mitotic cycle induced by colchicine and Indol-3yl acetic acid in *Vicia faba* roots. *J. Exp. Bot.* 20, 671-685.
- Xing, W.J. ve Zhang, Z.L. (1990). A comparison of SCE test in human lymphocytes and *Vicia faba*: A hopeful technique using plants to detect mutagens and carcinogens. *Mut. Res.* 241, 109-113.
- Yi, H. ve Meng, Z. (2003). Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. *Mut. Res.* 537, 109-1124.
- Yıldız, M., Arıkan, E.S. ve Terzi, H. (2006). Farklı kimyasal maddelerin etkili konsantrasyonlarının *Allium* kök inhibisyon testi ile belirlenmesi", 18.

Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 26-30 Haziran, Kuşadası/Aydın.

Yüzbaşıoğlu, D. (2001). Illoxan ve Racer herbisitlerinin *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde mitoz bölünmeye ve kromozomlara etkileri. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 104 s., Ankara.

Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Sancak, C. ve Kasap, R. (2003). Cytological effects of the herbicide racer "flurochloridone" on *Allium cepa*. *Caryologia* 56(1), 97-105.

Zaka, R., Chenal, C. ve Misset, M.T. (2002). Study of external low irradiation dose effects on induction of chromosome aberrations in *Pisum sativum* root tip meristem. *Mut. Res.* 517, 87-99.

Zhang, Y. ve Yang, X. (1994). The toxic effects of cadmium on cell division and chromosomal morphology of *Hordeum vulgare*. *Mut. Res.* 312, 121-126.

<http://www.icsu-scope.org>, 21.05.2006.

<http://biology.hamline.edu/bio/Courses/3060cellbio06/Lab/Project%204/tox.htm>, 20.05.2006.



Mustafa YILDIZ, 1970 yılında Kırşehir'de doğdu. 1990 yılında Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. Aynı üniversitede yüksek lisansını 1994 yılında, doktorasını 2000 yılında tamamladı. Hacettepe Üniversitesi'nde araştırma görevlisi olarak görev yaptıktan sonra 2001 yılında Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi'ne Yardımcı Doçent olarak atandı. Halen aynı üniversitede görevine devam etmektedir.



Evrime Suna ARIKAN, 1980 yılında Afyon'da doğdu. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden 2003 yılında mezun oldu. Aynı üniversitede yüksek lisansını 2006 yılında tamamladı. Halen aynı üniversitede doktora yapmaktadır.