

**İM AZETHAPYR HERBİSİTİNİN**  
**Allium cepa L. KÖK MERİSTEM HÜCRELERİ**  
**ÜZERİNE SİTOGENETİK ETKİLERİ**  
Nur Serap ÖZTÜRK

DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Recep LİMAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
Temmuz 2013

Bu tez çalışması **2013/MF002** numaralı proje ile Uşak Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İMAZETHAPYR HERBİSİTİNİN *Allium cepa* L. KÖK MERİSTEM  
HÜCRELERİ ÜZERİNE SİTOGENETİK ETKİLERİ**

**Nur Serap ÖZTÜRK**

**Danışman**  
**Yrd. Doç. Dr. Recep LİMAN**

**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**Temmuz 2013**

## TEZ ONAY SAYFASI

**Nur Serap ÖZTÜRK** tarafından hazırlanan “**İmazethapyr Herbisitinin *Allium cepa* L. Kök Meristem Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri**” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca **04/07/2013** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji **Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Recep Liman  
Uşak Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi

Başkan : Doç. Dr. Elif Korcan  
Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Doç. Dr. İbrahim Hakkı Cığerci  
Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Recep Liman  
Uşak Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun  
...../...../..... tarih ve  
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.  
.....  
Enstitü Müdürü  
Prof. Dr. Mevlüt DOĞAN

## **BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI**

**Afyon Kocatepe Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım  
bu tez çalışmada;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
  - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
  - Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

**03/07/2013**

**Nur Serap ÖZTÜRK**

**ÖZET**  
Yüksek Lisans Tezi

İMAZETHAPYR HERBİSİTİNİN *Allium cepa* L. KÖK MERİSTEM  
HÜCRELERİ ÜZERİNE SİTOGENETİK ETKİLERİ

Nur Serap ÖZTÜRK

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman** : Yrd. Doç. Dr. Recep Liman

Bu çalışmada, imazethapyr herbisitinin *Allium cepa* kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine olan etkileri incelendi. *Allium* kök büyüme inhibisyon testinde EC<sub>50</sub> değeri 20 ppm olarak belirlendi ve İmazethapyr herbisitinin 0,5xEC<sub>50</sub>, EC<sub>50</sub> and 2xEC<sub>50</sub> konsantrasyonları soğan kök hücrelerine uygulandı. Distile su ve metil metan sülfanat (MMS, 10 ppm) sırasıyla negatif ve pozitif kontrol grubu olarak kullanıldı. *A. cepa*'nın hücre döngüsü 24 saat olduğu için uygulama süresi 24, 48, 72 ve 96 saat olarak belirlendi. Mitotik indeks ve mitotik faz frekansları her bir doz ve süre için ayrı ayrı hesaplandı. Mitotik indeksteki değişiklikler tüm doz ve uygulamalarda kontrol grubuna göre azalmış olup bu azalışlar istatistiksel açıdan anlamlı bulundu. Anafaz telofaz hücrelerinde kalgın kromozom, bozulmuş anafaz telofaz, yapışıklık ve anafaz köprüsü gözlemlenirken diğer hücrelerde prometafaz, c-metafaz, poliploidi ve binükleer hücreler gözlemlendi. Sonuçlar aynı zamanda istatistiksel olarak SPSS for Windows paket programında Duncan çoklu değişim testi ile değerlendirildi. Bu sonuçlar imazethapyr herbisitinin *A. cepa* kök meristematik hücrelerinde sitotoksik etki gösterdiğini ve 10 ppm'lik doz hariç genotoksik aktivite göstermediğini ortaya koymuştur.

**2013, viii + 68 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** İmazethapyr, *Allium cepa*, mitotik indeks, mitotik anormallikler

**ABSTRACT**  
M.Sc Thesis

CYTOGENETIC EFFECTS OF IMAZETHAPYR HERBICIDE  
ON THE ROOT MERISTEM CELLS OF *Allium cepa* L.

Nur Serap ÖZTÜRK

AFYON KOCATEPE UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

Department of Biology

**Supervisor** : Assoc. Prof. Dr. Recep LİMAN

In this study, the mitotic division and chromosomal effects of İmazethapyr herbicide on *Allium cepa* root meristematic cells were investigated. In *Allium* root growth inhibition test, EC<sub>50</sub> value was determined as 20 ppm and 0.5xEC<sub>50</sub>, EC<sub>50</sub> and 2xEC<sub>50</sub> concentrations of Imazethapyr herbicide were introduced to onion tuber roots and distilled water and methyl methane sulfonate (MMS, 10 mg/L) used as a negative and positive control, respectively. Since *A. cepa* cell cycle is 24 hours, application process was carried out 24, 48, 72 and 96 hours. Mitotic index and mitotic phase frequencies were calculated separately for each dose introduced. All the doses applied showed the decreased mitotic indexes as to control group and these declines were found to be statistically meaningful. While chromosome laggards, disturbed anaphase-telophase, stickiness and anaphase bridges were observed in anaphase-telophase cells, pro-metaphase, c-metaphase, polyploidy and binuclear cells were observed in other cells. The results were also analyzed statistically by using SPSS for Windows, and Duncan's multiple range tests were performed. These results indicate that imazethapyr herbicide exhibits cytotoxic activity but not genotoxic activity (except 10 ppm) in *A. cepa* root meristematic cells.

**2013, viii + 68 pages**

**Key Words:** İmazethapyr, *Allium cepa*, mitotic index, mitotic anomalies

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca benden yardım ve katkılarını esirgemeyen ve bu tezin hazırlanmasında tüm laboratuvar desteğini sağlayan saygı değer hocamız Prof. Dr. Muhsin KONUK'a,

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca ilminden faydalandığım insani ve ahlaki değerleri ile de örnek aldığım, yanında çalıőmaktan onur duyduğum, emeğini ve hakkını ödeyemeyeceğim değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Recep LİMAN'a,

Laboratuvar çalıőmalarımda katkıları bulunan değerli arkadaşlarım; Alperen DEDEOğLU, Mehmet AKINCI'ya,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan ve hiçbir destekten kaçınmayan sevgili aileme,

Sonsuz teşekkür ederim.

Nur Serap ÖZTÜRK  
AFYONKARAHİSAR, 2013

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI .....	3
2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması .....	3
2.1.1 İnsektisitler .....	4
2.1.2 Fungusitler .....	5
2.1.3 Herbisitler .....	6
2.2 İmazethapyr .....	7
3. GENEL BİLGİLER.....	12
3.1 Kromozom Yapısı .....	12
3.2 Mutasyon .....	13
3.2.1 Kromozom Mutasyonları.....	13
3.2.1.1 Kromozom Sayısı Değişimleri.....	14
3.2.1.2 Kromozom Yapı Değişimleri .....	15
3.2.2 Gen Mutasyonları.....	16
3.3 Mutajenler.....	19
3.3.1 Fiziksel Mutajenler .....	19
3.3.2 Biyolojik Mutajenler .....	19
3.3.3 Kimyasal Mutajenler .....	20
3.3.3.1 Baz Analogları .....	20
3.3.3.2 DNA 'da Baz Değiştiren Maddeler .....	20
3.3.3.3 DNA'dan Çıkaran Maddeler .....	20
3.3.3.4 Akridin Boyalar .....	21
3.3.3.5 SOS Bağımlı Mutajenler .....	21
3.4 Mutajenik Çalışmalarda Bitki Test Sistemlerinin Kullanılması.....	21



4.MATERYAL ve METOT .....	24
4.1 Materyal .....	24
4.1.1 Allium Test.....	24
4.1.2 Test Materyali .....	24
4.2 Metot .....	24
4.2.1 Büyüme Engelleme Testi .....	24
4.2.2 Feulgen Boyanın Hazırlanışı .....	26
4.2.3 Feulgen Boyası İle Preparatların Hazırlanışı .....	26
5. BULGULAR.....	28
5.1 Büyüme Engelleme Testi .....	28
5.2 Mitotik İndeks ve Mitotik Faz Frekansları .....	30
5.3 İmazethapyr Herbisitinin Neden Olduğu Anormalliklerin Tipleri ve Oranları .....	32
6.TARTIŞMA ve SONUÇ.....	37
KAYNAKLAR .....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	54

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

---

$\mu\text{g}$	Mikrogram
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
cm	Santimetre
$\text{cm}^3$	Santimtereküp
$\text{EC}_{50}$	% 50 etkili konsantrasyon (EC = Effective Concentration)
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
ppm	Parts Per Million

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 2.2</b> ALS inhibe edici herbisitlerin yapısı .....	8
<b>Şekil 2.3</b> Bazı imidazolinon herbisitlerinin kimyasal yapıları .....	9
<b>Şekil 3.1</b> Kromozom yapısı.....	12
<b>Şekil 5.1</b> İmazethapyr herbisitinin büyümeyi engelleme testi.....	28
<b>Şekil 5.2</b> İmazethapyr herbisitinin <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde konsantrasyonuna bağlı olarak ortalama kök uzunlukları.....	29
<b>Şekil 5.3</b> İmazethapyr herbisiti ile muamele edilen <i>A. cepa</i> kök hücrelerinde görülen anormallikler.....	36

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Çizelge 2.2</b> İmazethapyr herbisitinin genel özellikleri .....	10
<b>Çizelge 5.1</b> İmazethapyr herbisitinin <i>A. cepa</i> kök hücrelerinde kon- santrasyonuna bağlı olarak ortalama kök uzunlukları .....	29
<b>Çizelge 5.2</b> İmazethapyr herbisitinin <i>A. cepa</i> kök hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik fazlara olan etkisi.....	31
<b>Çizelge 5.3</b> İmazethapyr herbisitinin neden olduğu anormalliklerin tipleri ve oranları.....	34

## 1.GİRİŞ

Günümüzde artan nüfusa paralel olarak beslenme sorunu da hızla artmaktadır. Artan nüfusu dengeli bir biçimde besleme görevi ise ekonominin temeli olan ziraat bilimine düşmektedir. Artan nüfus karşısında yeni tarım alanlarının açılmaması, hatta erozyon, sanayi bölgeleri ve yeni yolların açılması gibi nedenlerle halen tarım arazisi olarak kullanılan alanlar daraltılmaktadır. Tarımsal alanlarımızın sınırına gelmiş üstelik daha da daralıyor olması nedeniyle elde mevcut olan tarım alanlarından en yüksek verimin alınması gerektiği ortaya çıkmıştır.

Tarımsal ürünlerin verim ve kalitesini artırmak için modern tarım tekniklerinin ve girdilerinin kullanılması gerekmektedir. Bitki koruma ürünleri içerisinde yer alan pestisit kullanımı da bu girdilerden biridir ve modern tarımın tamamlayıcı bir bileşenidir. Pestisit kullanımı, tarımsal ürünü hastalık, zararlı ve yabancı otların zararından koruyabilmek, kaliteli üretimi güvence altına alabilmek için kullanılan bir tarımsal mücadele şekli olup 1940' lı yıllardan beri üretimi artıran önemli bir bileşendir. Kısa sürede etki göstermesi ve kullanımının kolay olması nedeniyle, pestisit kullanımı en çok tercih edilen yöntemdir. Pestisit arzu edilmeyen hayvansal, bitkisel veya mikrobiyal organizmaların yok edilmesinde kullanılan her türlü anorganik, doğal veya sentetik organik kimyasal bileşiklere verilen genel isimdir. Pestisitlerin ideal olarak seçici özellikte olması, yani hedef organizmaya etkili, diğer organizmalara ise etkisiz olması istenir. Ancak günümüzde kullanılan pestisitlerin çok az bir kısmı bu özelliği taşımakta ve uygulama alanındaki organizmalarla birlikte, çevredeki flora ve faunayı da önemli ölçüde etkilemektedir. Pestisitler; yabancı ot öldürücü (herbisit), böcek öldürücü (insektisit), küf öldürücü (fungusit), rat ve fare öldürücü (rodentisit), kene öldürücü (akarisit), bakteri öldürücü (bakterisit), kuş öldürücü (avisit), yuvarlak kurt öldürücü (nematosit) olarak ta kullanılmaktadır (Harte *et al.*1991).

Hastalık, zararlı ve yabancı otlara karşı kullanılan zirai yöntemlerden en fazla kullanılanı kimyasal mücadeledir. Ancak, pestisitlerin kullanımı insan sağlığı ve çevreye olumsuz etkileri gibi birçok sorunu da beraberinde getirmektedir. Yoğun ve

bilinçsiz kullanımı sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada pestisitlerin kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir.

Tarım alanlarında bulunan ve yarardan çok zarar veren bütün bitkiler yabancı ot olarak tanımlanır. Yabancı ot mücadelesinde kullanılan başlıca yöntemler; mekanik, fiziksel, biyolojik ve kimyasal yöntemlerdir. Yabancı otlarla mücadelede en fazla kullanılan etkinliği ve ekonomik olması nedeniyle kimyasal yöntemdir ve herbisitlerle gerçekleştirilir. Herbisit Latince bitki (Herb-) kelimesinden türetilmiş bitki büyümesi, kontrolü veya öldürülmesi için kullanılan kimyasallara verilen genel isimdir. Herbisitler bitkileri öldüren veya gelişimlerini engelleyen kimyasal maddelerdir. Yabancı otlarla zamanında gerekli mücadele yapılmazsa yüksek oranda kalite ve verim kaybı ortaya çıkmaktadır.

Pestisitlerin etkilerini araştırmak için test bitkisi olarak *Allium cepa*, *Crepis capillaris*, *Hordeum vulgare*, *Pisum sativum*, *Tradescantia sp.*, *Vicia faba*, *Zea mays*, *Lycopersicon esculentum* ve *Arabidopsis thaliana* gibi çeşitli bitkiler kullanılmaktadır. Bunlar arasında sitotoksik etkinin belirlenmesinde en yaygın olarak kullanılan *Allium* test sistemidir.

*Allium* test kimyasalların sitotoksik etkilerin belirlenmesinde oldukça sık kullanılan bir kontrol testidir. *Allium* test birçok avantaja sahiptir, kolay uygulanabilir olması, ucuza mal olması ve yöntemin basitliği bu avantajlardan bazılarıdır. Ayrıca prokaryotik veya ökaryotik canlılarla yapılan diğer, alternatif kısa dönem toksisite test sistemleriyle iyi bir korelasyon göstermektedir (Fiskesjö 1985). Bu nedenle bu çalışmada test materyali olarak *A. cepa* kullanılmıştır.

Bu çalışmada İmazethapyr herbisitinin *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki sitogenetik etkileri *Allium* testi ile araştırılmıştır.

## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

### 2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisit terimi kısaca “ pest ” adı verilen zararlı canlıları öldürmek için kullanılan madde anlamına gelmektedir (Harte *et al.* 1991). Pestisitler, üretim, tüketim ve depolanmaları sırasında tarımsal ürünlere zarar veren veya ürünlerle rekabet ederek ekonomik kayıplara neden olan zararlıları yok etmek, ortamdaki uzaklaştırmak, etkisini hafifletmek ve kontrol altında tutmak için kullanılan madde ve bileşiklerdir (Vural 1984). Ekonomik bir şekilde üretilmeleri ve kullanım kolaylığı nedeniyle ürünü olumsuz etkilerden koruyarak tarımsal üretimde çok önemli bir yer tutmalarına rağmen, yoğun ve bilinçsiz kullanıldıklarında çevre kirliliğinin etkilerinden biri olmaktadır.

Pestisitlerin çevresel etkileri; uygulama zamanlarına ve uygulama şekillerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Pestisitlerin kimyasal yapılarında aktif madde yanında birçok yardımcı madde de yer almaktadır. Bu yardımcı maddeler; eritkenler, sıvı ve katı taşıyıcılar, güvenlik arttırıcılar ve beklenen etkinin arttırılmasına yardımcı olan maddelerdir. Pestisitler genellikle sıvı ya da katı halde pazarlanmaktadır. Sulu konsantreler, emulsiye olabilen konsantreler, süspansiyon konsantreler, ıslanabilir tozlar, suda eriyen tozlar, granüller ve tozlar en yaygın kullanılan bileşiklerdir (Öncüler 2004).

Pestisitler, etkiledikleri canlı gruplarına, etkilediği canlının biyolojik dönemine, zararlılara etki yollarına, toksik özelliklerine, kullanma tekniğine ve etkili madde gruplarına göre olmak üzere çeşitli kategorilerde sınıflandırılırlar. Bunlardan en yaygın kullanılan sınıflandırma şekli etkiledikleri canlı gruplarına yönelik yapılan sınıflandırmadır.

Buna göre pestisitler:

- İnsektisitler (Böcekleri öldürenler)
- Herbisitler (Bitkileri öldürenler)
- Bakterisitler (Bakterileri öldürenler)
- Fungusitler (Mantarları öldürenler)
- Akarisit (Akarları öldürenler)
- Nematisitler (Nematodları öldürenler)
- Mollusitler (Yumuşakçaları öldürenler)
- Rodentisitler (Kemirgenleri öldürenler)
- Avisitler (Kuşları öldürenler)
- Afisitler ( Yaprak bitlerini öldürenler) şeklinde sınıflandırılabilir

(Öncüer,2004).

Bunlardan en yaygın olarak kullanılanlar; insektisitler, fungusitler ve herbisitlerdir.

### 2.1.1 İnsektisitler

Bilinçsiz ve sürekli kullanım, pestisitlerin letal ve subletal dozlarının üzerinde değişik etkilere ve bu etkilerin farklı şekillerde ortaya çıkmasına sebep olur. Pestisitlerin subletal etkileri böcek davranışlarını örneğin, beslenme alışkanlığının değişmesi, seksüel davranış dağılımı, konukçu teşhisinde eksiklik şeklinde ifade edilebilir (Elzen 1989).

Böceklerle mücadelede 4 temel insektisit grubu yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunları, Organoklorinler, Pyrethroidler, Organofosfatlar ve Karbamatlar olarak gruplandırabiliriz. İnsektisitlerin çoğunun böcek türlerine yönelik seçkin insektisidal etkileri, başlıca hedefleri konumundaki sinir sistemine yönelik toksisitelerinden kaynaklanır. Gelişmiş canlılarda sinir sistemi en duyarlı sistemlerin başında gelir. Organoklorin grubu insektisitlerin birinci derecede etki yerlerinin böceklerin sinir



sistemi olduğuna dair yeterli kanıtlar mevcuttur. Bu insektisitler Ca-Mg ATPaz ları da inhibe edebilirler. DDT, dieldrin, aldrin, lindan gibi insektisitler bu gruba dahil edilebilir. Pyretroid grubu insektisitler, Tip-I (permetrin, tetrametrin, piretrinler vb.) ve Tip II (sipermetrin, deltametrin vb.) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Tip I piretroidler tipik olarak sinirsel boşalımlarda kendini gösteren ve yere serici etkinliği ısıyla ters ilişkili olan sinirsel eksitasyonlara yol açarlar. Tip I piretroidler DDT'ye benzer biçimde insektisidal etki oluştururlar. Tip II piretroidler ısı ile orantılı olarak öldürücü ve sinirsel iletimi engelleyici yönde etki yaparlar. Tip I piretroidler Ca-ATP'azı Tip II piretroidlerden daha etkin bir şekilde inhibe ederler. Organofosfatlı insektisitlerin en dikkat çekici özelliği, hedef enzim niteliğindeki kolinesteraz enzimi ile yapısal bütünleşme konumunda olmalarıdır. Aslında organik fosforlu insektisitler kolinesteraz enziminin doğal substratı konumundaki asetil kolini taklit ederler. Malathion, parathion, diklorvas, diazinon organofosfatlı insektisidlerdendir. Karbamat grubu insektisitler organofosfatlara benzerler ancak onlardan iki yönüyle farklılık gösterirler. Birinci farkı kolin esteraz enziminin anyonik yanı ile kompleks oluşturabilen kuaterner veya bazik nitelikli bir azot grubuna sahip olmasıdır. Oysa organofosfatlı insektisitler hiçbir şekilde bazik pH' lı olamazlar bu durumda iyonize olabilecekleri için böceklerin kütikulasına ve sinirlerin kılıfına geçiş yetenekleri önemli derecede azalır. Karbamat grubu insektisitler ve organofosfatlı bileşikler arasındaki ikinci önemli fark ise karbamat insektisitlerin kolinesteraz inhibisyonu esasına dayanan etkilerinin belirgin derecede dönüşümlü olmasıdır. Karbamat grubu insektisidlere karbaryl ve karbafuran örnek verilebilir (Yavuz ve Şanlı 1999).

### 2.1.2 Fungusitler

Bu kimyasal maddeler insektisit ve herbisitlere oranla daha az miktarda kullanılmaktadır. Bu nedenle çevre kirlenmesine diğer iki grubun etkili olduğu kadar etkiye sahip değildirler. Bu grup içerisinde insan sağlığı yönünden en zararlı olan kimyasal madde organik ve civa bileşikleridir (Topbaş *et al.* 1998).

En yaygın olarak kullanılan fungusitler arasında bakır oksiklorür, bakır sülfat ve tebuconazole yer almaktadır. Bu fungusitler meyve, sebze, turunçgiller ile buğday ve arpa tarlalarında *Coryneum beijerinckii*, *Phyophthora infentans*, *Mycosphaerella sp.*,

*Alternaria solani*, *Erysiphe graminis*, *Tilletia sp.* ve *Ustilago muda* gibi zararlılara karşı kullanılmaktadır (Topbaş vd., 1998; TC Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, 1999).

### 2.1.3 Herbisitler

Herbisitler, tarımda verim kaybına yol açan yabancı ot mücadelesinde kullanılan kimyasal maddelerdir. 1986 yılında, Bordo bulamacının omcalarda küllenme hastalığını önlemek için kullanılması sırasında tesadüfen bir çok yabancı otların üzerine sıçraması sonucunda otları öldürdüğü görülmüştür. Bu tarihten itibaren yabancı otların öldürülmesi üzerinde çalışmalar başlamıştır.

Yabancı ot olarak adlandırılan istenmeyen bitki türleri, kültürü yapılan bitkileri ile besin, ışık ve su kullanımı bakımından rekabet ederler ve neredeyse böceklerin zarara uğrattığı oranda ürünü yok ederler, bu da yaklaşık % 10-15 gibi bir orana karşılık gelmektedir. Herbisit üretimi ve kullanımı son 25 yılda hızla artmış ve insektisit kullanımını geçmiştir. Mısır, ayçiçeği, soya fasulyesi, pamuk ve pirinç ekimi yapılan hemen hemen bütün alanlarda en az bir herbisit kullanılmaktadır. Fakat herbisit kullanımı sadece çiftçilikle sınırlı kalmayıp halka açık alanlarda, demir yollarının bulunduğu alanlarda, yol kenarlarında, sulama alanlarında, golf sahalarında, elektrik hatlarında ve evlerin bahçelerinde yabancı otları temizlemek için kullanılmaktadır.

Herbisitler kimyasal yapılarına göre şu şekilde sınıflandırılmaktadır: (Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı 1999)

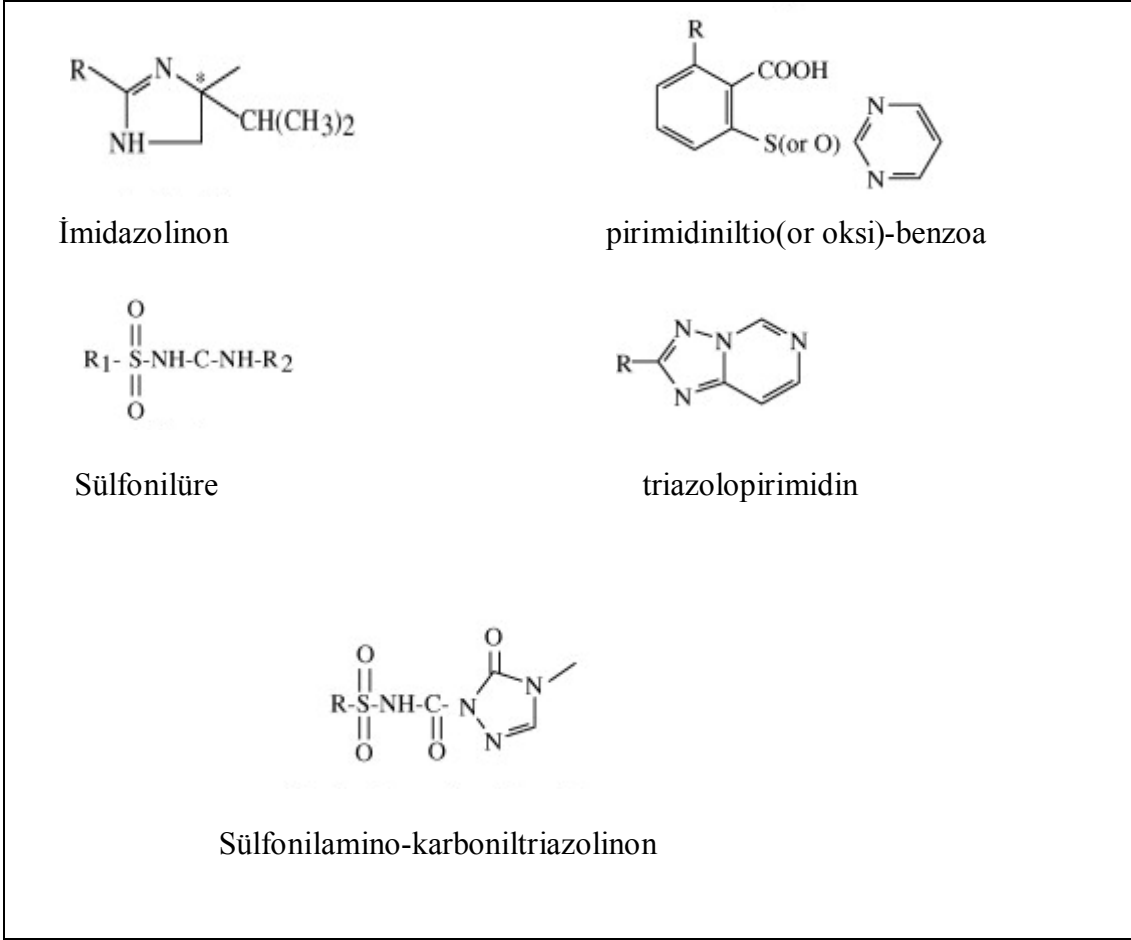
- 1) Fenoksi bileşikleri
- 2) Karbomatlar
- 3) Üre bileşikleri
- 4) Sülfonil üreler
- 5) Anilinler
- 6) Amid ve anilidler
- 7) Benzoik asitler

- 8) Picolinic asitler
- 9) Diazinler
- 10) Triazinler
- 11) Benzonitriller
- 12) Siklohekzonlar
- 13) İmidazolinonlar
- 14) Triazoller
- 15) Oxadiazoller
- 16) Aminofosfanotlar
- 17) Diğerleri

## 2.2 İmazethapyr

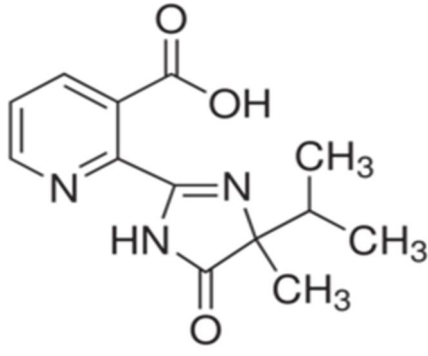
**(C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>, 5-etil-2-(4-izopropil-4-metil-5-okso-2-imidazolin-2-yl)nikotonik asit)**

Modern ve birbiriyle ilişkili olmayan sülfonilüre (Ray 1984), imidazolinonlar (Shaner *et al.* 1984), triazolopirimidinler (Gerwick *et al.* 1990), pirimidiniloksi-benzeoatlar (Takahashi *et al.* 1991), ve sülfonilamino-karbonil-triazolin (Vencill 2002) sınıfı farklı kimyasal yapıdaki herbisitlerin hedefinin asetolaktat sentaz (ALS) enzimi olduğu bilinmektedir (Şekil 2.2). Bu nedenle, bu tip herbisitler ”ALS-inhibitörü herbisit” olarak da adlandırılmaktadır. Bu herbisitler bitkilerde hem ksilem hemde floemde yeni gelişme noktalarına taşınmakta ve ayrıca yaprak, sap ve köklerden de alınmaktadır. Bu herbisitlerle toprağa veya yaprağa ilaçlama yapılarak, tek yıllık ve çok yıllık, dar ve geniş yapraklı yabancı otlar kontrol altına alınabilmektedir. Az miktarda kullanılmaları, memelilere karşı toksisitelerinin az olması, zararlı bitkilere karşı etkili ve uzun süreli kullanılabilimleri ve ürünlere karşı hasarlarının az olmasından dolayı populeritelerini gün geçtikçe artırmaktadırlar (Mazur and Falco 1989, Trucco *et al.* 2006).

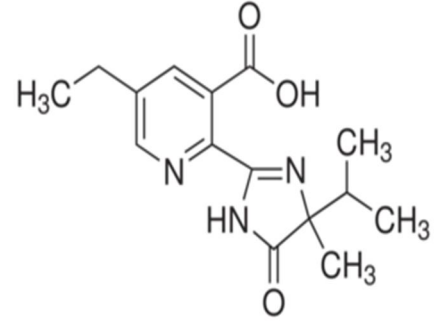


**Şekil 2.2** ALS inhibe edici herbisitlerin yapısı (Zhou *et al.* 2007).

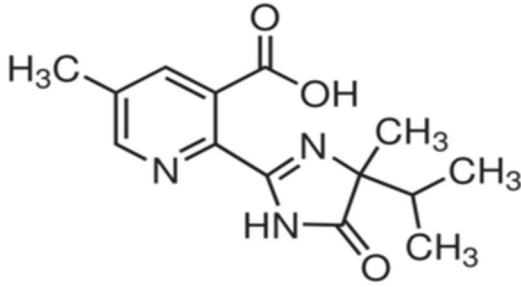
İmidazolinon (IMI) herbisitleri önceden ya da sonradan uygulanarak ürünlerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Battaglin *et al.* 2000). Hayvanlara karşı toksik olmadığı ve oldukça seçici olduğu için popüleritesini gün geçtikçe artırmaktadır (Qian *et al.* 2009). Bu herbisitler asetohidroksi asit sentaz (EC 2.2.1.6) olarak da bilinen, asetolaktak sentaz enzim (EC 4.1.3.18) biyosentezini inhibe ederek bitki büyümesini ve DNA sentezini durdurur hatta ölümlere bile neden olabilmektedir (Stidham 1991, Senseman 2007, Duggleby ve Pang 2000, McCourt *et al.* 2006, Gaston *et al.* 2002). Ticari olarak üretilen 6 çeşit İmidazolinon herbisiti (İmazapyr, İmazapic, İmazethapyr, İmazamox, İmazaquin ve İmazamethabenz-methyl) bulunmaktadır (Şekil 2.3) ve Amerika, Afrika, Avrupa ve Asya'da 200'den fazla ülkede yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Lao and Gan 2006 ve Fragiorge *et al.* 2008).



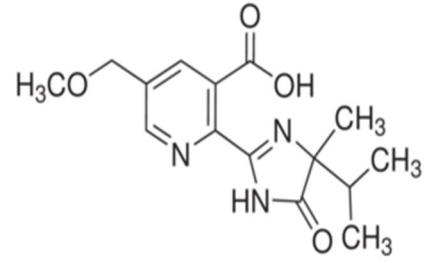
İmazethapyr



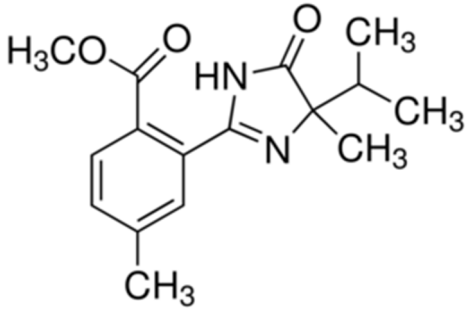
İmazapyr



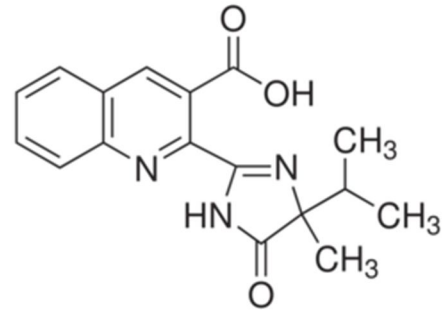
İmazapic



İmazamox



İmazamethabenz-methyl



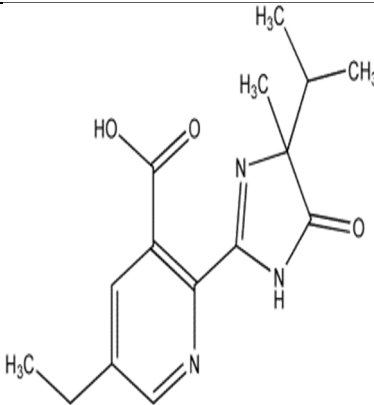
İmazaquin

Şekil 2.3 Bazı imidazolinon herbisitlerinin kimyasal yapıları (İnt. Kay.1).

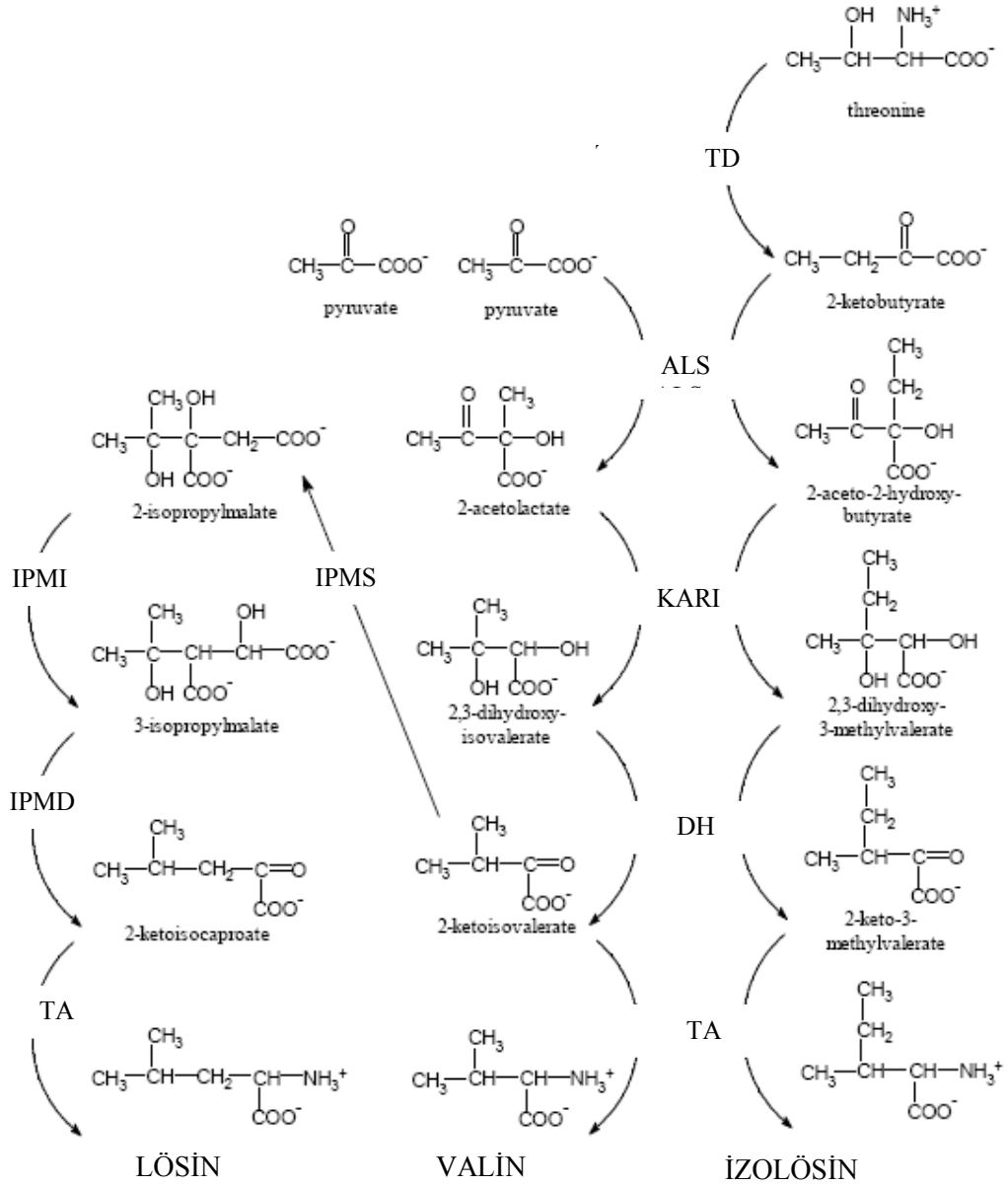
IMI herbisiti olan imazethapyr'de {5-ethyl-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-4,5 dihydroimidazol-1H-2-yl)nicotinic acid} asetolaktat sentaz enzimini inhibe ederek izolösin, lösin ve valin amino asitlerinin sentezini engellemektedir (Grichar and Sestak, 2000; Hidayat and Presto, 2001, Tan vd. 2005, Zabalza *et al.* 2007). İmazethapyr herbisitinin genel özellikleri Çizelge 2.2'de verilmiştir. *Setaria spp* (tilki kuyruğu),

*Echinochloa crus-galli* L. Beauv.(ak diken), *Panicum capillare* L.(ayrık otu), *Polygonum convolvulus* L. (siyah sarmaşık), *Polygonum persicaria* L. (kaz arpası), *C. Album* (sirken), *Arvensis* (yabani hardal), *Solanum spp.*(patates), *Amaranthus retroflexus* (tilki kuyruğu), *A. artemisiifolia* (yıllık ot) ve *A. theophrasti* gibi tek yıllık otsu bitkilerin ve geniş yapraklı yabani otlara karşı, soya fasulyesi, yer fıstığı ve diğer baklagillerin üretiminde imazethapyr yaygın olarak kullanılmaktadır (Grichar 1994; Richburg *et al.* 1993, Perucci and Scarponi 1994, Vencill 2002, Senseman 2007; Omafra 2008). Örnek olarak Çin’de her yıl 150-300 ton imazethapyr soya fasulye alanlarını kontrol etmek için kullanılmaktadır (Li *et al.* 2008).

**Çizelge 2.2** İmazethapyr herbisitinin genel özellikleri

Yaygın adı	Kimyasal adı	Kimyasal yapısı	Fiziksel hali	Kullanım alanı
İmazethapyr	5-etil-2-(4-izopropil-4-metil-5-okso-2-imidazolin-2-yl)nikotonik asit		Renksiz Kristal	Herbisit

İmazethapyr ALS enzimini inhibe ederek valin, lösin ve izolösin amino asitlerinin üretilmesini engellemektedir (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4** Lösin, valin ve izolösin amino asitlerinin biyosentez yolu. (Duggleby ve Pang, 2000). Kullanılan kısaltmalar: ALS, asetolaktat sentaz; TD, treonin deaminaz ; KARI, ketol asit redüktoizomeraz; DH, dihidroksi asit dehidrataz; TA, transaminaz; IPMS, 2-izopropilmalat sentaz; IPMI, izopropilmalat izomeraz; IPMD, 3-izopropilmalat dehidrojenaz.

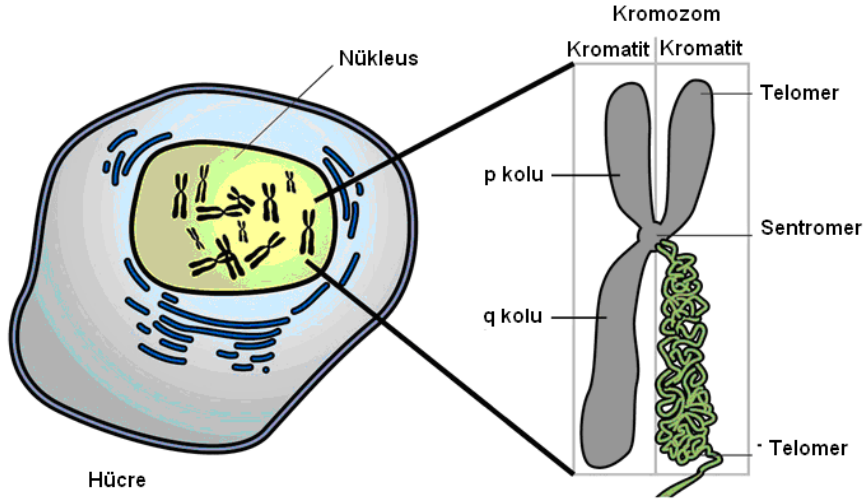
### 3. GENEL BİLGİLER

#### 3.1 Kromozom Yapısı

*chromos* = renk ve *soma* = vücut kelimelerinin birleşmesinden oluşmakta olup Yunanca kökenlidir. Her canlı gibi insan da trilyonlarca hücreden meydana gelir. Hücre, bitkisel ya da hayvansal her türlü yaşam biçiminin en küçük birimidir. Çekirdeğin içinde ise kromozom adı verilen iplikçi parçalar bulunur. İnterfaz evresinde kromatin ağı şeklinde bulunan DNA, mitoz bölünmenin profaz evresinde kısalıp kalınlaşmaya başlar ve metafaz evresinde en kısa duruma gelir. Yaklaşık 10.000 kat kısalmış haliyle ışık mikroskobunda 100'lük objektifte incelenebilir. Kromozomlar, İ, V, J harfleri gibi biçimlerde görünür ve boyutları mikronla ölçülür. Kromozomların sayısı canlı türlerde değişiklik gösterir. Örneğin sirke sineğinde 8, kurbağada 26, farede 42, köpekte 78 kromozom vardır. İnsanın kromozom sayısı ise 46'dır.

Kromozomlar, molekül yapıları çok iyi bilinen DNA zinciri ile histon denilen protein zincirinden oluşur. DNA zincirleri de özgül proteinleri sentezlemekle görevli gen adı verilen birimlerden oluşur. Kromozomlar aralarında açığı bulunan iki koldan oluşur. Kollar primer boğumla birbirinden ayrılmıştır, bu boğuma sentromer adı verilir. Sentromerler kromozomların iğ ipliğine takılmasını sağlarlar. Sentromeri olmayan bir kromozom bölünmeye katılamaz. Kromozom üzerinde primer boğumlardan başka, sekonder boğumlarda bulunabilir. Bazen kromozomun uç kısmını da uydu "satellit" denilen yuvarlak ya da uzunca bir yapı bulunur, kromozomların uçlarına telomer adı verilir. Şekil 3.1'de görüldüğü gibi özel boyama teknikleriyle bir kromozom üzerinde açık ve koyu bantlar şeklinde görülen kromatin kısımları saptanır. Açık bantlar az yoğunlaşmış bölgelerdir ve eukromatik bölgeler adını alır. Koyu bantlar ise çok yoğunlaşmış bölgelerdir ve heterokromatik bölgeler olarak adlandırılır (Klug and Cummings 2002).





Şekil 3.1 Kromozomun yapısı

### 3.2 Mutasyon

Canlılarda genetik materyalin miktar, organizasyon veya içeriğindeki ani ve rasgele ortaya çıkan kalıtsal değişimlere mutasyon denir. Mutasyonlar doğada kendiliğinden (spontan) meydana gelebildiği gibi mutajen adı verilen fiziksel ve kimyasal etmenler tarafından sentetik olarak meydana getirilebilirler. Mutasyon kısaca mutajene neden olan etmendir. Mutajenler fiziksel ve kimyasal kaynaklı olabilir ve genelde doğal (spontan) olanlara göre daha yüksek mutasyon frekansına neden olurlar. Mutasyon sonucu meydana gelen ürüne mutant denir. Mutasyon, genomda kalıtsal bir değişime neden olur. Çok hücreli ve eşeyli üreyen organizmalarda mutasyonun kalıtsal olması için germ hücrelerinde olması gerekir. Somatik dokulardaki mutasyonlar bireyin fenopinde gözlenebilir fakat döle geçemediği için o bireyden sonra ortadan kalkar.

#### 3.2.1 Kromozom Mutasyonları

Kromozomun büyük parçalarını ilgilendiren mutasyonlara kromozom mutasyonları denir. Kromozom mutasyonları, kromozom sayısı değişimleri ve kromozom yapısı değişimleri olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

### 3.2.1.1. Kromozom Sayı Değişimleri

Organizmaların hem doğal hem de laboratuvar populasyonlarında kendiliğinden meydana gelen kromozom sayısındaki değişimlerdir. Organizmaların kromozom sayıları cinsten cinse hatta türden türe değişkenlik gösterir fakat her tür için sabittir. Kromozomlar bazen mitoz ve mayoz sırasında düzenli olarak ayrılmayabilir ve farklı kromozom sayısına sahip hücreler oluşabilir. Bu şekilde birçok genin oranı değişeceğinden dolayı kalıtsal açıdan birçok sorun oluşur. Bu olayda kromozomun bir parçası değil tümü yok olur yada sayıca artar. Öploidi ve anöploidi olarak 2 şekli vardır.

#### Öploidi

Kromozom sayısı takımındaki değişmelerdir. Bir takımdaki kromozomların hepsinin birden sayısının tam katlar halinde yükselmesi veya organizmada sadece tek takım kromozom bulunması biçiminde olabilir. Monoploidi ve poliploidi olarak iki kısımda incelenir.

Temel kromozom sayısı kadar kromozom içeren bireyler monoploid ( $n$ ), üç katı içeren bireyler triploid ( $3n$ ), dört katı içeren bireyler tetraploid ( $4n$ ) olarak adlandırılır. Öploide temel kusur, hücrede çekirdek bölünmesi olduğu halde sitoplazma bölünmesinin olmamasıdır (endomitoz). Endomitoz durumunda kromozomlar katı kadar çoğalır fakat mitoz bölünmenin ilk iki evresi (profaz ve metafaz) gerçekleştiği halde anafaz ve telofaz safhası olmaz hücre ve sitoplazma bölünmesi (sitokinez) olmaz. Bunun sonucunda kromozom sayıları her bölünmede katı kadar artmış olur (Başaran *et al.* 1995).

#### Anöploidi

Bir takımda ki kromozomlardan birinin veya birkaçının sayısının değişmesine anöploidi denir. Bu olay mitoz ve mayozdaki anormallikler sonucu ortaya çıkar (nondisjunction). Çeşitli tipleri vardır.

Monosomi, diploid bir bireyde tek bir kromozomun eksik olma durumudur. (Turner sendromu).

Nullisomi, bir organizmada bir kromozomun homologu ile birlikte eksik olması durumudur. Bu bireyler aynı çeşit kromozomu kaybetmiş iki anöploid ( $n - 1$ ) gametin birleşmesiyle meydana gelir. Bir takımdaki kromozomlardan birinin veya birkaçının sayısının artması olayıdır. Kromozom sayısına göre; trisomi (Down ve Patau sendromları), tetrasomi gibi isimler alır.

### **3.2.1.2 Kromozom Yapı Değişimleri**

Genetik materyalin kaybı ya da yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkan bir ya da daha fazla kromozom kırıklarından kaynaklanır. Kromozomlar kendiliğinden kırılabilir, ancak bir kromozom kırılmasını, kromozom segmentlerinin tekrar birleşmesi işlemi izleyebileceği gibi bu şekilde tekrar birleşme olayı meydana gelmeyebilir. Kimyasallara ya da radyasyona maruz kalan hücrelerde kromozomların kırılma oranı daha yüksektir.

#### **Delesyon**

Kromozomların, parça kaybetmesi olayına delesyon adı verilir. Delesyon meydana gelirken oluşan kromozom parçası ve onun meydana getirdiği delesyon halkası sentromerli ise hücrede varlığını devam ettirir, fakat sentromersiz kısım kaybolur. Delesyon sentromerli bölgede meydana gelirse halka kromozom oluşur. İnsanda kromozom delesyonu sonucu oluşmuş sendromlara örnek olarak Philadelphia kromozomunu ve “Cri du Chat” sendromunu verebiliriz

#### **Duplikasyon**

Duplikasyon, bir kromozomun bir parçasının o kromozom üzerinde iki veya daha fazla sayıda tekrarlar görülmesi sonucu oluşan kromozom anomalisidir. Yani kromozomun bir kısmının kendi kendini eşlemesi olarak da tanımlanabilir.

Duplikasyonlu bir parça sentromerli serbest bir parça veya tamamlayıcı bir kromozom parçası olabilir. Eğer sentromere sahip yani sentrik bir kromozom parçası ise bu parça küçük, ekstra bir kromozom olarak kabul edilir.

Bir kromozom parça değişimi sırasında karşısındakine belirli genleri vermez, sadece alırsa o gen bakımından diploid olur. Bu çoğunlukla düzenli işlemeyen bir krossingoverde meydana gelir. Normal olarak mayozun ilk evrelerinde eş genler sinapsis yapar. Ayrılırken normal bir bölünme olmazsa kromatidlerden biri o gen bakımından diploid olur diğeri ise o genlerden yoksun kalır.

Duplikasyonun değişik özelliği bulunur. Birincisi, duplikasyon geninin birden fazla kopyasının bulunmasını sağlayabilir. İkincisi, delesyonlarda olduğu gibi, duplikasyon sonucu fenotipik çeşitlilik oluşabilir (Öner 2003).

### **İnversiyon**

Bir kromozomun içinden çıkan bir parçanın dönerek koştığı yere ters yönde yeniden yapışmasına inversiyon denir. Bunun sonucunda kromozomdaki genlerin diziliş sırasında değişme olur. Koştığı yere ters dönerek yapışan kromozom parçası sentromer içeriyorsa perisentrik, içermiyorsa parasentrik inversiyon denir

### **Translokasyon**

Bir kromozomun kaybolan parçasının ya da kopan bir parçasının başka bir kromozoma yapışması şeklinde görülen kromozom anomalisine translokasyon denir.

Gen sayısının ve niteliğinin değiştiği, çoğunlukla anomalilere neden olan translokasyonlara "Dengesiz translokasyon"lar denir. Gen sayısının ve niteliğinin aynı kaldığı translokasyonlara "dengeli translokasyon"lar denir.

### **3.2.2 Gen Mutasyonları**

Genetik materyalin DNA replikasyon sürecinin mükemmel işleyişinden dolayı hücreden hücreye ve nesilden nesile değişmeden aktarıldığını biliyoruz. Bu genellemeye

rağmen genetik materyal bazı yollarla değişebilmektedir. Bu yollardan ön önemlileri kendi kendine değişme, replikasyon hataları, bazı kimyasallar ve radyasyondur. Geniş anlamda iki tip genetik materyal değişimi mümkündür: Bütün bir kromozomla ilgili değişimler ve bir veya birkaç baz çiftinin değişmesi. Bütün organizmalar baz çifti değişikliklerini tamir eden mekanizmalara sahiptirler. Fakat bütün baz çifti değişimleri her zaman tamir edilemeyebilmektedir. Tamir edilemeyen değişiklikler baz çifti mutasyonları olarak adlandırılır. Baz çifti mutasyonları bir organizmanın genomunun herhangi bir yerinde meydana gelebilir. Organizmaların genomlarının bütün bölgeleri genlere taşımadığından genlerde veya kontrol bölgelerinde meydana gelmedikçe baz çifti mutasyonları belli bir fenotipik değişikliğe neden olmaz. Dolayısıyla genetikçiler için önemli olan mutasyon, genler: Etkileyen mutasyonlardır ve gen mutasyonları olarak adlandırılır. Bununda ötesinde hücresel fonksiyon, proteinlerin bir sonucu olduğu için protein kodlayan genlerin ekspresyonunu etkileyen mutasyonlara daha fazla ilgi duyulmuştur.

Mutasyonların tanımlanması; mutasyon DNA baz çifti değişimi veya kromozomal değişimlerdir. Baz dizisi değişimleri baz çifti eklenmesi, silinmesi, baz çifti değişimi, bir baz çifti veya belli bir grup baz çiftinin ters dönüşü veya yeni bir pozisyona transferini içerebilir. Çok hücreli organizmalarda mutasyon eğer somatik hücrelerde meydana geldiyse sadece ilgili bireyin ilgili hücrelerini ve dokusunu etkiler yani yeni nesillere aktarılmaz. Bu tip mutasyonlar somatik mutasyonlar olarak adlandırılır. Eğer mutasyon eşeyli üreyen organizmaların eşey hücrelerinde meydana geldiyse gametler aracılığıyla yeni nesillere aktarılır. Bu tip mutasyonlar eşey hücresi mutasyonları olarak adlandırılır. Somatik mutasyonlar, mutasyonun meydana geldiği bireyi etkiliyorken eşey hücresi mutasyonları gelecek nesilleri etkiler. Eşeysiz üreyen çok hücreli organizmalarda somatik mutasyonlar yeni hücrelere aktarılabilir. Prokaryotlarda ise vücut hücresi-eşey hücresi gibi bir ayırım olmadığından bütün mutasyonlar yeni hücrelere yani nesillere aktarılır. Bir kromozomun organizasyonundaki bir değişiklik kromozom mutasyonu veya kromozom kusuru olarak adlandırılır. Bir gen dizisi içindeki mutasyon ise gen mutasyonu olarak adlandırılır. Gen mutasyonlarına baz çifti değişimi bir veya daha fazla baz çiftinin eklenmesi veya silinmesi gibi DNA dizisindeki değişiklikler neden olur. Mutasyonlar doğal olarak

kendiliğinden meydana gelebilir. Mutajenler uygulanarak mutasyonların uyarılması da mümkündür. Bir mutajen kendiliğinden oluşan mutasyon oranının üzerinde bir mutasyon sıklığını oluşturan fiziksel ve kimyasal ajanlardır. Mutajenlerin uygulanmasıyla oluşan mutasyonlara uyarılmış mutasyon denir. Doğal olarak oluşan mutasyonlarda kendiliğinden mutasyonlar olarak adlandırılır. Uyarılmış ve kendiliğinden mutasyonlar arasında kesin bir sınır oluşturmak mümkün değildir. Bir polipeptitin dördüncü yapısı birincil amino asit dizisi tarafından belirlenir. Bir mutant suş tarafından sentezlenen bir polipeptit yabancı tip polipeptitten yapısal olarak farklı olabilir. Eğer farklı ise mutant polipeptit kısmen-fonksiyonel olabilir, fonksiyonsuz olabilir veya hiç üretilmez .

Kromozom mutasyonlarında birden fazla gen söz konusu iken, gen mutasyonlarında değişiklik bir gen ile sınırlıdır. Genetik materyale etkilerine göre gen mutasyonları çeşitli alt sınıflara ayrılır (Ateş 2002).

### **Transisyon (Geçiş)**

Bu tip değişiklikte, gen yapısındaki bir pürin yerine diğer bir pürinin ( A yerine G yada G yerine A) veya bir pirimidin yerine diğer bir pirimidinin ( T yerine C veya C yerine T) girmesi söz konusu olabilir. Nokta mutasyonlarının bu tipine ‘geçiş’ (transisyon) denir.

### **Transversiyon**

DNA yapısında bir pürin yerine bir pirimidin ( A veya G yerine T veya C’nin geçmesi yada bunun tersi ) geçmesi de mümkündür. Bu tip mutasyonlara da ‘çapraz geçiş’ ( transversiyon) denir.

### **Çerçeve Kayması (Frameshift) Mutasyonları**

Bir başka baz çifti mutasyonları da ‘çerçeve kayması mutasyonları’ (frameshift mutation) dir. Burada bir ya da birden çok nükleotit çiftleri DNA’dan kopar (delesyon)

ya da DNA'ya eklenir (insersiyon). Bu durum ise okunan çerçevenin translasyonunu değiştirir. Bynce translasyon sırasında tRNA'ların tanıdığı l baz dizileri değişir. Örneğin, bir genin ortasına bir bir nükleotit çiftinin girmesi, bu bölgeden aşağıda (down stream) birçok aminoasitte değişikliğe yol açar. ereve kayması mutasyonlarında hemen hemen her zaman uzun mesafede yanlış anlamlı ve inaktif protein üretilir yada en sonunda bir anlamsız kodonun translasyonu sonlandırması ile protein sentezi durdurulabilir.

### **3.3 Mutajenler**

Mutasyona neden olan ajanlara mutajen denir. Bunlar DNA'da değişimlere yol açarlar. Temel olarak mutasyon oluşturabilen faktörler üç ayrı grupta; fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere sınıflandırılabilir.

#### **3.3.1 Fiziksel Mutajenler**

Sıcaklık, manyetik alan, elektriksel alan, UV, X, proton ve nötron ışınları gibi etmenlerdir. Bunlar genellikle bir baz çiftinin yerini bir başka baz çiftinin almasına yol açarlar. Fiziksel mutajenler etki şiddetine ve sürecine göre geçici veya kalıcı değişimlere yol açarlar.

#### **3.3.2 Biyolojik Mutajenler**

Biyolojik mutajenler olarak virüsler ve transpozıbl elementler bilinmektedir. Virüs genomu konak hücrenin DNA sına girdiğinde kendi DNA' sında da bazı genleri konak DNA' sının genetik yapısını değiştirildiğinden dolayı bir mutasyon olarak kabul edilir. Transpozıbl elementler ise genom içinde bir pozisyondan diğerine hareket ederler ve kromozom kopması gibi genetiksel değişikliklere neden olurlar.

### 3.3.3 Kimyasal Mutajenler

Kimyasal ajanlar DNA yapısında deaminasyon, depurinizasyon, substitüsyon, insersiyon ve delesyon şeklinde çeşitli tipte nokta mutasyonları oluştururlar. Etki biçimlerine göre 5 alt grupta incelenir.

#### 3.3.3.1 Baz Analogları

Bazların yerine geçen, bazlarla aynı fonksiyonu yapan, ancak kimyasal yapısı farklı olan ajanlardır. Bu moleküllerin, moleküler yapıları nükleik asitlerin pürin ve pirimidin bazlarına çok benzediğinden mutenejik etkileri replikasyon sırasında yeni sentezlenen DNA zincirinin yapısına normal bazların yerine baz analogları girebilir. Bunun sonucunda da DNA yapısında bulunan H atomlarında pozisyon değişikliği sebebiyle çok sayıda yanlış eşlenmiş baz oluşur. Baz analogları bakteri kültürüne ilave edildiğinde sentezlenen DNA'nın yapısına girerler ve ilk replikasyonda çift yönlü transisyona neden olurlar. Baz analoglarının kullanılmasıyla geri mutasyon meydana getirilebilir.

#### 3.3.3.2 DNA'da Baz Değiştiren Maddeler

Bu moleküller dinlenme halindeki DNA'nın yapısına girerek bazlarını değiştirirler. En önemlisi nitroz asidi ( $\text{HNO}_2$ ) dir. Doğrudan doğruya DNA bazlarında amino gruplarını çıkarırlar veya baz sırasını değiştirirler. Örneğin böyle bir etki adenini hipoksantine çevirip sitozinle bağlanmasını sağlar. DNA bazları çok farklı bir yapı kazanabilirler. Bu yeni yapıyla baz, orijinal bazdan çok farklı bir baz çifti yapmaktadır böylece genetik kod da değişir.

#### 3.3.3.3 DNA'dan Baz Çıkaran Maddeler

Alkilleyici ajanlar, pürin bazlarını özellikle de guaninin 7. atomuna alkil grubu ekleyerek depurinizasyona neden olurlar. Depurinizasyon; pürin bazlarının DNA'dan koparak ayrılmasına denir. Alkillenmiş olan guaninin 1. azotu iyonlaşır ve 7-alkil-



guanin DNA zincirinden tamamen kopabilir. Böylece depürinize olmuş iplikçikteki boş kalan yere, replikasyon sırasında herhangi bir baz gelebilir. Başlangıçtaki baz çifti, C-G ise buraya G-C, T-A ve A-T baz çifti gelebilir.

#### **3.3.3.4 Akridin Boyalar**

Bu maddeler genellikle C-G...A-T veya A-T...T-A şeklinde transversiyonlara yol açar. Akridin mutasyonları diğer transversiyon mutasyonlarından farklı olarak daima gen fonksiyonlarının tümüyle kaybolmasına yol açar. Birden fazla baz çifti içeren DNA segmenti gen yapısından çıkar (delesyon) yada uzun DNA segmentleri gen yapısına girer (insersiyon). Akridin boyalarının mutasyona yol açtıkları noktalar DNA üzerinde gelişi güzel dağıtılmıştır ve bu noktalara 'hot spots' (sıcak noktalar) denir.

#### **3.3.3.5 S.O.S. Bağımlı Mutajenler**

Bazı mutajen olan kimyasallar etkilerini S.O.S onarım sistemini kullanarak gösterirler. Bu maddelere 'S.O.S bağımlı mutajenler' denir. Bunlara 4-nitrokulnolin, benzo (a) piren, aflotoksin, UV ışığı örnek verilebilir. Mutajenler birden fazla bazı etkilediğinde yanlış eşleşen bazların miktarı artacağı için replikasyon engellenecektir. Bunu engellemek için S.O.S yolunun uyarılması gerekir.

### **3.4 Mutajenik Çalışmalarda Bitki Test Sistemlerinin Kullanılması**

Bitkiler kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin belirlenmesinde çok uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Modern genetiğin birçok temel kavramı yüksek yapılı bitkilerle yapılan çalışmalar sonucu elde edilmiştir.

Mutajenite çalışmalarında bitkilerin kullanımı ilk defa Levan (1938) tarafından kolşisinin *A. cepa* kök hücrelerinde iğ ipliklerinin dağılmasına ve poliploidiye yol açtığını göstermesiyle başlamıştır. Bu test sistemine ek olarak kimyasalların kromozomlar üzerindeki etkisi araştırmak için *Vicia faba* (Amer and Ali 1983), *Tradescantia paludosa* (Dryanosvka 1987), *Hordeum vulgare* (Kluge and Podlesak

1985), *Pisum sativum* (Amer vd. 1999), *Crepis capillaris* (Dimitrov 1994), *Triticum aestivum* I.(Aybeke vd. 2000), *Lycopersicon esculentum* (Öztürk vd. 2004) gibi pek çok bitki türü yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bakteriler, düşük yapılı bitkiler, böcekler ve memeli hücrelerinde yapılan mutajenite çalışmalarının artmasıyla birlikte kimyasalların muhtemel mutajenik etkilerinin çalışılmasında yüksek yapılı bitki test sistemlerinin kullanılmasına olan ilgi de azalmaya başlamakla birlikte günümüzde halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü yüksek yapılı bitkilerde; kromozomlar kolay gözlemlenir. Kromozom analizleri basittir. Maliyetleri oldukça ucuzdur. Çok fazla kök ucu oluşur ve bu kök uçları test maddeleri ile direkt etkileşim halinde bulunmaktadır (Fiskesjö 1985, Grant 1992).

Yabancı bileşiklerin moleküler düzeyde metabolizma üzerindeki etkilerinin henüz tam bilinmemesinden dolayı elde edilen sonuçların memeli test sistemleriyle değerlendirilmesi zordur. Bununla birlikte, bitki test sistemlerinin kullanımında aşılması gereken bazı zorluklar da vardır. Bilindiği gibi bitki ve hayvan hücreleri arasında temel yapısal farklılıklar vardır. Bitkilerdeki sıkı hücre duvarı belirli kimyasalların hücre içerisine girmesini etkilemekte ve bunun sonucunda memeli ve bitki hücreleri arasında etkiler bakımından farklılıklar olabilmektedir. Bunlara rağmen bitki ve hayvan hücrelerinde DNA yapısal ve fonksiyonel olarak benzerlik göstermektedir ve protein sentezi de aynıdır.

Kimyasal maddelerin mutajenitesinin çalışılmasında çok sayıda yüksek yapılı bitki türü kullanılmaktadır. Mitotik kromozom değişimleri arpa, fasulye ve soğan gibi bitkilerin kök uçlarındaki somatik hücrelerde ve polen tüplerinde kolaylıkla gözlenebilmektedir. Birçok türde bulunan polen ana hücresi gibi mayotik hücreler kimyasal olarak indüklenen kromozom aberasyonlarını belirlemek için uygundur. Spesifik lokuslarda meydana gelen gen mutasyonları mısır ve soya fasulyesinde, multilokus mutasyonları ise arpa ve mısırdaki incelenmektedir. Kromozom sistemleri kromozom hasar yapısının, kromozom ayrılmalarının ve genel mitoz olaylarının incelenmesine imkan vermektedir. Bitki kromozomları morfolojik olarak memeli ve

diğer ökaryotlarla benzerlik göstermekte ve mutajenlere karşı cevapları da benzemektedir.

Constantin ve Owens (1982) US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program bünyesinde yapmış oldukları çalışmada, çeşitli kimyasal sınıftaki 350 bileşiğin bitkilerdeki mutajenik aktivitesini araştırmışlar ve diğer test sistemleriyle karşılaştırmışlardır. Bitki ve memeli kültür hücrelerinde yapılan deneyler sonucunda elde edilen verilerin bakteri ve Drosophila ile yapılan deneylerle elde edilen sonuçlarla korelasyon gösterdiklerini iddia etmişlerdir. Bitki kök uçlarındaki pestisitlerin deney sonuçları ile memeli hücrelerindeki kromozom aberasyonları büyük bir oranda benzerlik göstermiştir. Buna rağmen bazı pestisitlerin neden olduğu kromozom hasarları memeli hücreleriyle yapılan deneylerle elde edilen sonuçlarla uyuşmadığını belirtmişlerdir.

Toksisitenin izlenmesi için uygun test sistemleri arasında, Allium testi çok iyi bilinen ve birçok laboratuarda yaygın olarak kullanılan testtir. Çünkü, soğanların saklanması ve kullanılması oldukça kolaydır ve kök ucu hücreleri makroskobik (büyüme, EC<sub>50</sub>) ve mikroskobik parametreler (c-mitoz, yapışıklık, kromozom kırıkları) için uygun bir sistem oluştururlar. Ayrıca Allium testinin sonuçları ökaryotik ve prokaryotik diğer test sonuçları ile yukarıda da değinildiği gibi iyi bir korelasyon göstermektedir. (Fiskesjö 1985).

## 4. MATERYAL ve METOT

### 4.1 Materyal

#### 4.1.1 Allium Test

Bu çalışmada büyük, kolay gözlenebilen ve az sayıda kromozomlarının olması, çimlenme ve elde edilmesinin ucuz olmasından dolayı materyal olarak *A. cepa* ( $2n=16$ ) kullanılmıştır.

#### 4.1.2 Test Materyali

Araştırmada materyal olarak İmazethapyr (CAS No:138261-41-3) ve glasiyel asetik asit (CAS No: 64-19-7) Sigma'dan, potasyum metabisülfid (CAS No: 24634-61-5) ve HCl (CAS No: 7647-01-0) Fluka'dan, absöüt alkol (CAS No: 64-17-5) Carlo Erba'dan temin edilmiştir. Negatif kontrol grubu olarak ise saf su kullanılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesi SPSS 15,0 for Windows paket programında Duncan testi ile kullanılarak yapılmıştır.

## 4.2 METOT

### 4.2.1 Büyüme Engelleme Testi

İmazethapyr herbisitinin sitogenetik etkilerinin incelenmesinde kullanılacak dozları belirlemek amacıyla önce büyüme engelleme testi yapılmıştır. Bunun için önce  $EC_{50}$  değeri belirlenmiştir.  $EC_{50}$  değerini belirlemek için aynı büyüklükteki soğanlar (3-4 cm çapında) alınarak dış kabukları çıkarılmış ve kök primordialarına zarar vermeyecek şekilde çimlenmiş olan köklerinden temizlenmiştir. İmazethapyr herbisitinin 5, 10, 20, 40, 60 ve 80 ppm'lik konsantrasyonları hazırlanmıştır. Negatif kontrol grubu olarak ise saf su kullanılmıştır. Her bir konsantrasyon ve kontrol grubunda beşer adet soğan kullanılmıştır. Oda sıcaklığında ( $\sim 21^{\circ}C \pm 4^{\circ}C$ ) karanlık ortamda dört gün çimlendirilen soğanlardan her bir konsantrasyon ve kontrol grubu için

aynı soğan yumrusundan en iyi filizlenmiş onar adet kök alınarak ortalama kök uzunlukları bulunmuştur. Bu süre zarfında çimlenen soğanların bulunduğu ortamdaki çözeltiler azaldıkça gerekli ilaveler yapılmıştır.

EC<sub>50</sub> değerini belirlemek için kök uçlarının büyümesini negatif kontrol grubuna göre % 50 azaltan doz esas alınmıştır. Uygulama dozlarının belirlenmesinde 2xEC<sub>50</sub>, EC<sub>50</sub>, 1/2xEC<sub>50</sub> değerleri kullanılmıştır. Buna bağlı olarak imazethapyr herbisitinin 40, 20 ve 10 ppm'lik dozları kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak saf su, pozitif kontrol grubu için 10 ppm MMS kullanılmıştır. *A. cepa*'nın hücre döngüsü 24 saat olduğu için uygulama süresi 24, 48, 72 ve 96 saat olarak belirlenmiştir.

*A. cepa* kök uçlarına imazethapyr herbisitinin yukarıda verilen konsantrasyonlarını belirlenen sürelerde uygulamak için, her bir konsantrasyon için beşer soğan 1 gün boyunca saf suda çimlenmeye bırakılmıştır. En iyi köklenen 5 tane soğan her bir konsantrasyon için kullanılıp ve hergün verilecek konsantrasyonlar değiştirilmiştir. Bütün kök uçları aynı gün sabah saat 9<sup>00</sup>'da alınmıştır.

Bütün uygulamalardan sonra alınan kök uçları ayrı ayrı tüplere alınarak absöüt alkol: glacial asetik asit (3:1) fiksatif i içerisinde buzdolabında +4 °C'de 1 gece bekletilerek tespit edilmiştir. Daha sonra kök uçları % 70'lik alkol içerisine alınarak +4 °C'de buzdolabında depolanmıştır. Mitotik indeks ve mitoz bölünmedeki anormalliklerin belirlenmesinde bu kök uçları kullanılmıştır.

Mitotik anormalliklerin, mitotik indeks (mitotik hücre sayısı/sayılan toplam hücre sayısı X 100) ve faz frekanslarının belirlenmesi için her dozun uygulama süreleri için farklı soğanlardan beşer kök ucu alınarak ezme preparatlar hazırlanmıştır. Mitotik anormalliklerin belirlenmesinde her bir konsantrasyon için mümkünse 100 anafaz-telofaz hücresi, mitotik indeks ve faz frekanslarının hesaplanmasında 5000-6000 hücre sayılarak ve sonuçların değerlendirilmesi SPSS 15,0 for Windows paket programında Duncan testi ile kullanılarak yapılmıştır.

#### 4.2.2 Feulgen Boyasının Hazırlanışı

Preparatların hazırlanmasında feulgen boyası kullanılmıştır. Feulgen çok fazla kullanma yeri olan bir boyadır. Kromozom morfolojisi ve sayımı için kök uçlarında, embriyonik yaprak ve tomurcuklardaki bitki dokularında elverişli bir şekilde kullanılır.

Feulgen boyası aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

1. 1 g kristal haldeki fuksin bazik alınarak 8 cm çapında bir saat camı içerisinde ezilmiştir.
2. 500 cm<sup>3</sup>'lük bir erlenmayere, ezilerek toz haline getirilmiş fuksin bazik kabın etrafına bulaştırılmadan konulmuştur.
3. Başka bir erlenmayerde 200 cm<sup>3</sup> distile su kaynatılmıştır.
4. Toz halindeki fuksin bazik üzerine kaynatılmış distile su yavaş yavaş dökülerek bir cam çubuk yardımı ile sürekli karıştırılmıştır.
5. Boya 50 °C'ye düşürülünceye kadar karıştırılmaya devam edilmiştir.
6. Boyaya 20 cm<sup>3</sup> HCl ilave edilerek filtre kağıdı yardımı ile süzölmüştür.
7. Süzölen boyaya 2 g potasyum metabisülfid ( $K_2S_2O_3$ ) eklenerek 2 dakika süresince karıştırılmaya devam edilmiş ve boya kapaklı bir şişeye konularak 24 saat buzdolabında bekletilmiştir. Açık çay rengini alan boya kullanılır duruma gelmiştir. Sonraki kullanımlar için boya +4 °C de buzdolabında karanlık ortamda depolanmıştır.

#### 4.2.3 Feulgen Boyası İle Preparatların Hazırlanışı

% 70'lik alkolden çıkarılan kök uçları bir tüpü içerisinde alınıp üzerine 1-2 mL 1 N HCl çözeltisi ilave edilerek 60 °C'deki su banyosunda 8-10 dakika bekletilmiştir. Daha sonra her 5 dakikada bir distile su ile HCl'nin etkisi seyreltilmiştir. Bu işlem üç kez uygulanmıştır. Kök uçları Feulgen boyası içerisinde alınarak oda sıcaklığında 25-30 dakika boyanmaya bırakılmıştır. Kök uçlarının koyu boyanan kısımları 1-2 mm uzunluğunda kesilerek bir lamın üzerine 1 damla % 45'lik asetik asit konularak jiletle

parçalanmıştır. Daha sonra üstleri lamelle kapatılarak ezme preparatları hazırlanmıştır. Lamellerin etrafı tırnak cilası ile kapatılarak preparatlar yarı daimi hale getirilmiştir.

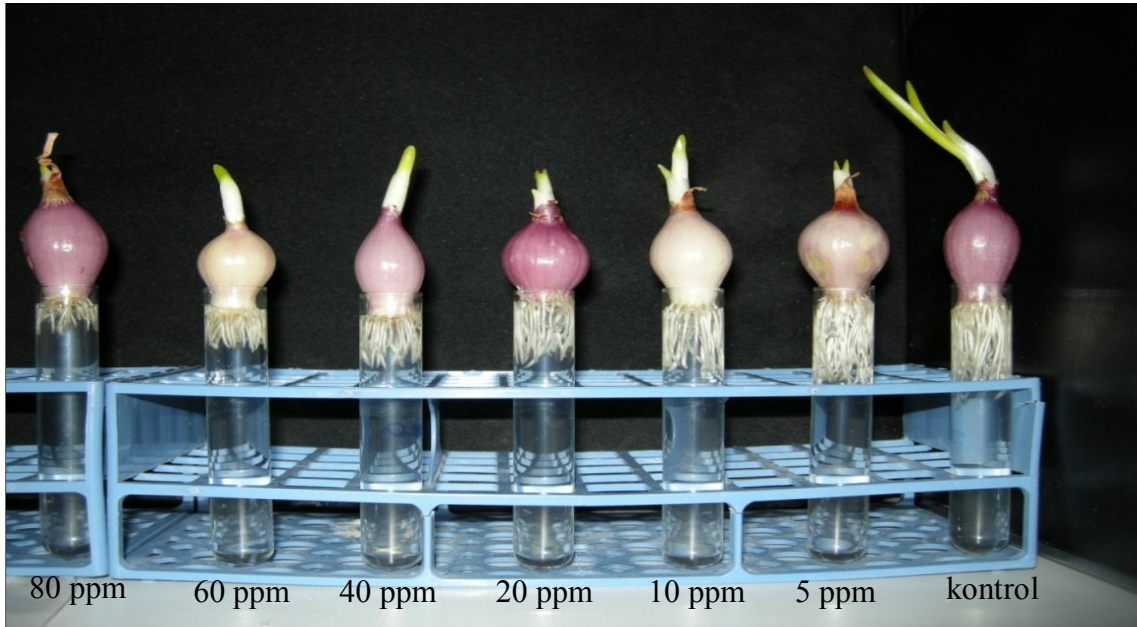
Kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeksin belirlenmesinde, her uygulama için hazırlanan 5 preparatın her birinde 1000'in üzerinde hücre olmak üzere toplam yaklaşık 5000-6000 hücre içinde mitoz giren hücreler sayılmıştır (MI=Mitoza girmiş hücre sayısı / Toplam hücre sayısı  $\times$ 100).

Mitotik indeks hesaplamalarından sonra, preparatların incelenmesine yeniden başlanmış ve bu sefer kromozom aberasyonları her preparatta 100 anafaz veya telofaz hücresi olmak üzere her uygulamada toplam 500 anafaz veya telofaz hücresi incelenerek belirlenmiştir. Mitotik anormallikler saptanarak en sık görülen anormalliklerin fotoğrafları x40 ve x100 objektifte çekilmiştir.

## 5. BULGULAR

### 5.1 Büyüme Engelleme Testi

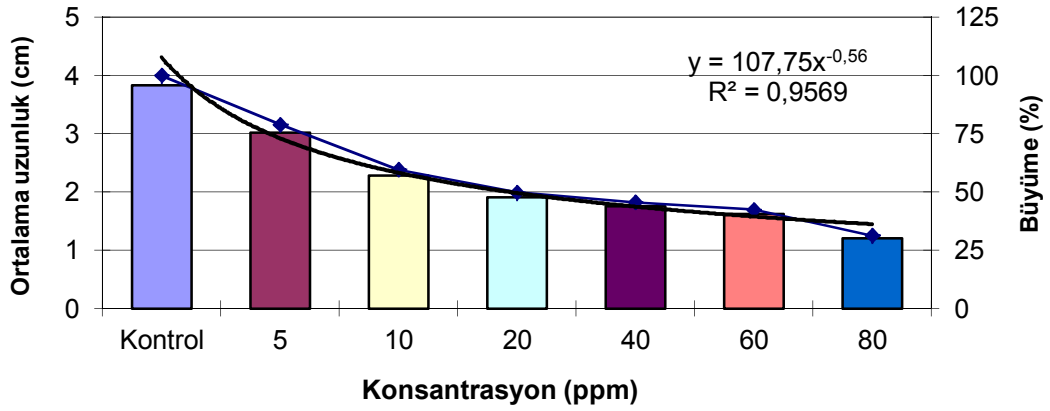
İmazethapyr herbisitinin  $EC_{50}$  değerinin belirlenmesi için büyüme engelleme testi yapılmıştır. Bunun için imazethapyr herbisitinin 5, 10, 20, 40, 60 ve 80 ppm'lik konsantrasyonları hazırlanmış, negatif kontrol grubu olarak da saf su kullanılmıştır (Şekil 5.1). Her bir konsantrasyon ve negatif kontrol grubu için 5'er adet soğan kullanılmıştır. Soğanlar 4 gün boyunca çimlendirilmiş olup azalan konsantrasyonlara ilaveler yapılmıştır. 4. gün sonunda her bir konsantrasyon için her bir soğandan en iyi filizlenmiş 10 kök alınarak toplam 50 kök ucundan her bir konsantrasyon için ortalama kök uzunluğu bulunmuştur (Şekil 5.2). Negatif kontrolde çimlendirilen soğanların ortalama kök uzunluğu olan 3,83 cm uzunluğunun yarısı olan 1,915 cm veya buna en yakın olan büyüme araştırılmıştır. İmazethapyr herbisitinin  $EC_{50}$  konsantrasyonu 20 ppm olarak belirlenmiştir. Burada kök uçlarının ortalama uzunluğu 1,90 cm'dir. 20 ppm'de köklerdeki büyüme oranı % 49,8 ve büyümedeki azalma oranı ise % 50,2 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.1 İmazethapyr herbisitinin büyüme engelleme testi



## Büyüme Engelleme Testi



**Şekil 5.2** İmazethapyr herbisitinin *A. cepa* kök ucu hücrelerinde konsantrasyonuna bağlı olarak ortalama kök uzunlukları

Çizelge 5.1'e bakıldığı zaman konsantrasyon arttıkça büyümenin azaldığı gözlemlenmiştir ve bu azalan kök büyümeleri istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $r^2 = -0,92$ ,  $p = 0,01$ ) 10 ppm'den itibaren konsantrasyon arttıkça saçak köklerin renklerinin koyulaştığı, kalınlıklarının arttığı ve jelatinimsi bir yapı kazandıkları gözlemlenmiştir.

**Çizelge 5.1** İmazethapyr herbisitinin *A. cepa* kök ucu hücrelerinde konsantrasyonuna bağlı olarak ortalama kök uzunlukları

Dozlar (ppm)	Ortalama uzunluk $cm \pm SS^*$	% Büyüme	% Büyümede azalma
Kontrol	3,83 $\pm$ 0,22a	100	-
5	3,02 $\pm$ 0,38b	78,94	21,06
10	2,28 $\pm$ 0,15c	59,62	40,38
20	1,90 $\pm$ 0,24d	49,8	50,2
40	1,74 $\pm$ 0,09e	45,6	54,4
60	1,62 $\pm$ 0,16f	42,36	57,64
80	1,20 $\pm$ 0,17g	31,33	68,67

\*Sütunlardaki farklı küçük harfler  $p < 0,05$  düzeyinde önemli (Duncan çoklu dağılım testi), SS: Standart sapma

## 5.2 Mitotik İndeks ve Mitotik Faz Frekansları

İmazethapyr herbisitinin *A. cepa* kök uçlarına uygulanmasıyla mitotik indeks ve mitotik fazlarda meydana getirdiği değişimler Duncan çoklu dağılım testi ile belirlenmiştir (Çizelge 5.2). Tüm doz ve uygulamalardaki mitotik indeks değeri kontrol grubuna ve MMS'ye göre azalmış olup bu azalmalar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. 96 saatlik uygulama hariç mitotik indeks değerleri doza bağlı olarak azalmıştır. İmazethapyr herbisitinin en düşük mitotik indeks değerine 20 ppm'lik konsantrasyonun 96 saatlik uygulamasında ( $9,65 \pm 0,27$ ), en yüksek mitotik indeks değerine ise 24 saatlik uygulamanın 10 ppm'lik konsantrasyonunda ( $24,37 \pm 0,59$ ) rastlanılmıştır. Her bir konsantrasyon için uygulama süresi arttıkça mitotik indeks değerinin düşük olduğu gözlemlenmiştir.

İmazethapyr herbisitinin mitotik faz frekanslarına etkisi incelendiğinde profaz frekanslarının kontrole göre arttığı gözlemlenirken, diğer frekansların kontrole göre azaldığı görülmüştür. İmazethapyr herbisitinin 10 ppm'lik konsantrasyonun 24 saatlik uygulaması ve yine 10 ppm'lik konsantrasyonun 96 saatlik uygulamasının metafaz safhası hariç artan ve azalan faz safhaları istatistiksel açıdan kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur.

**Çizelge 5.2** imazethapyr herbisitinin *A. cepa* kök hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik fazlara olan etkisi

Konsantrasyon ( ppm )	Sayılan Hücre	Mitotik İndeks ± Stantard hata*	Mitotik Faz Safhaları (%) ± Stantard hata*			
			Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz
<b>Kontrol- 24 saat</b>	5431	31,57±0,58a	84,53±0,9a	6,52±0,45a	3,19±0,38a	5,76±0,63ab
<b>MMS-10</b>	5136	26,57±0,51b	86,69±1,31a	3,61±0,65b	3,29±0,43a	6,41±1,13a
<b>10</b>	5101	24,37±0,59c	87,68±1,53a	5,45±0,75a	2,89±0,41a	3,98±0,65bc
<b>20</b>	5136	23,75±0,47c	94,36±0,96b	3,04±0,89b	1,47±0,23b	1,13±0,29d
<b>40</b>	5236	19,19±1d	94,74±0,2b	1,98±0,47b	0,99±0,21b	2,29±0,57cd
<b>Kontrol- 48 saat</b>	5163	23,76±0,64a	74,97±1,23a	10,82±1,33a	4,07±0,45a	10,14±0,88a
<b>MMS-10</b>	5177	20,47±0,68b	86,92±0,93b	3,47±0,46bc	3,86±0,36ab	5,75±0,69b
<b>10</b>	5213	18,19±0,51c	93,69±1,55c	1,95±0,63b	1,37±0,35c	2,99±0,86c
<b>20</b>	5144	13,3±0,53d	83,96±1,21bd	5,8±1,14c	3,27±0,71ab	6,97±0,67b
<b>40</b>	5181	11,8±0,29d	88,65±1,42d	3,95±0,78bc	2,45±0,25b	4,95±0,64bc
<b>Kontrol-72 saat</b>	5317	22,25±0,68a	82,07±1,28a	6,65±0,82a	5,8±0,48a	5,48±0,44a
<b>MMS-10</b>	5064	19,57±0,92b	82,38±0,91a	4,82±0,2ab	3,27±0,7b	9,53±0,7b
<b>10</b>	5578	13,81±0,37c	92,23±2,36b	2,62±1,19bc	2,05±0,83bc	3,1±0,69c
<b>20</b>	5260	13,02±0,65c	93,46±0,77b	2,17±0,82c	1,45±0,37c	2,92±0,66c
<b>40</b>	5340	12,88±0,12c	94,04±1,14b	1,75±0,69c	1,02±0,16c	3,19±0,77c
<b>Kontrol- 96 saat</b>	5504	21,36±0,96a	77,63±3,21a	9,26±1,67a	4,26±0,83a	8,85±1,3a
<b>MMS-10</b>	5159	18,30±0,38b	82,32±1,37ab	4,8±0,3bc	3,66±0,48ab	9,22±1,04a
<b>10</b>	5403	9,95±0,16c	88,01±2,03b	6,62±1,48ab	2,02±1bc	3,35±0,23bc
<b>20</b>	5136	9,65±0,27c	95,12±1,65c	2,14±0,91c	1,39±0,39c	1,35±0,61b
<b>40</b>	5081	9,85±0,2c	87,54±2,44b	4,16±1,14bc	2,36±0,35abc	5,94±1c

\*Sütunlardaki farklı küçük harfler p< 0.05 düzeyinde önemli (Duncan çoklu dağılım testi)

### 5.3 İmazethapyr Herbisitinin Neden Olduğu Anormalliklerin Tipleri ve Oranları

İmazethapyr herbisitinin neden olduğu anormalliklerin tipleri ve oranları çizelge 5.3'de gösterilmiştir. İmazethapyr herbisitinin anafaz-telofaz safhalarında araştırılan en fazla anormallik olayına 10 ppm'lik konsantrasyonun 96 saatlik uygulanmasında (% 37,07±1,97), en az anormallik olayına ise 40 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulanmasında (%21,8±1.71) rastlanılmıştır. Ayrıca 96 saatlik uygulamanın 40 ppm'lik dozunda yeterince anafaz-telofaz hücresi sayılmadığından bozukluklar hesaplanamamıştır. Kullanılan imazethapyr herbisitinin doz ve uygulama süreleri, anafaz-telofaz anormalliklerini değişik şekilde etkilemişlerdir. 10 ppm'lik dozun 48 saatlik uygulaması hariç toplam anormallikleri artırdığı, 40 ppm'lik dozun 72 saatlik uygulaması hariç toplam anormallikleri azalttığı gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna göre azalış ve artış şeklinde gerçekleşen anormalliklerden 20 ppm'lik dozun 24 ve 96 saatlik uygulaması ve incelenen bütün konsantrasyonların 48 saatlik uygulaması istatistiksel açıdan anlamlı bulunurken diğer dozlar ve uygulama süreleri istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

İmazethapyr herbisitinin bütün konsantrasyon ve uygulama sürelerinde anafaz-telofaz safhalarında neden oldukları anormallikler bozulmuş anafaz-telofaz, kalgın kromozom, yapışıklık ve anafaz köprüsüdür. Kalgın kromozom en fazla görülen anormallik olup % 20,76 oranında 40 ppm'lik dozun 72 saatlik uygulamasında tespit edilmiştir. Bunu % 12,8 oranında bozulmuş anafaz telofaz (20 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulaması) ve % 7,63 oranında yapışıklık (10 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulaması) izlemektedir. Bunların dışında anafaz köprüsü anormallikleri % 5,01 oranında (10 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulaması) belirlenmiştir.

Kalgın kromozom (Şekil 5.3 a) olayına en fazla % 20,76 oranında 40 ppm'lik dozun 72 saatlik uygulanmasında en az olarak da 40 ppm'lik dozun 48 saatlik uygulamasında (% 5,34) rastlanılmıştır. 48 saatlik uygulamalar ve 40 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulaması hariç diğer doz ve uygulama sürelerinde imazethapyr herbisiti kalgın kromozom oranını artırmıştır.

İmazethapyr herbisitinin neden olduğu diğer bir anormallik de yapışıklıktır (Şekil 5.3 b). 20 ppm'lik dozun 72 saatlik uygulaması ve 40 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulaması hariç bütün dozlarda görülmüştür. En fazla 96 saatlik uygulamanın 10 ppm'lik dozunda (% 7,63) görülmüştür.

İmazethapyr herbisitinin neden olduğu anormallikten birisi bozulmuş anafaz-telofazdır (Şekil 5.3 c). 24 saatlik uygulamaların hepsinde, 48 saatlik uygulamanın 40 ppm'lik dozu ve 96 saatlik uygulamanın 20 ppm'lik dozu hariç, diğer uygulama ve dozlarda bu anormallik azaltmıştır.

Anafaz köprüsü olayına 20 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulaması ve 40 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulaması hariç bütün uygulamalarda rastlanılmıştır. Anafaz köprüsü olayı en fazla 96 saatlik uygulamanın 10 ppm'lik dozunda (% 5,01) görülmüştür (Şekil 5.3 d).

**Çizelge 5.3** İmazethapyr herbisitinin neden olduğu anormalliklerin tipleri ve oranları

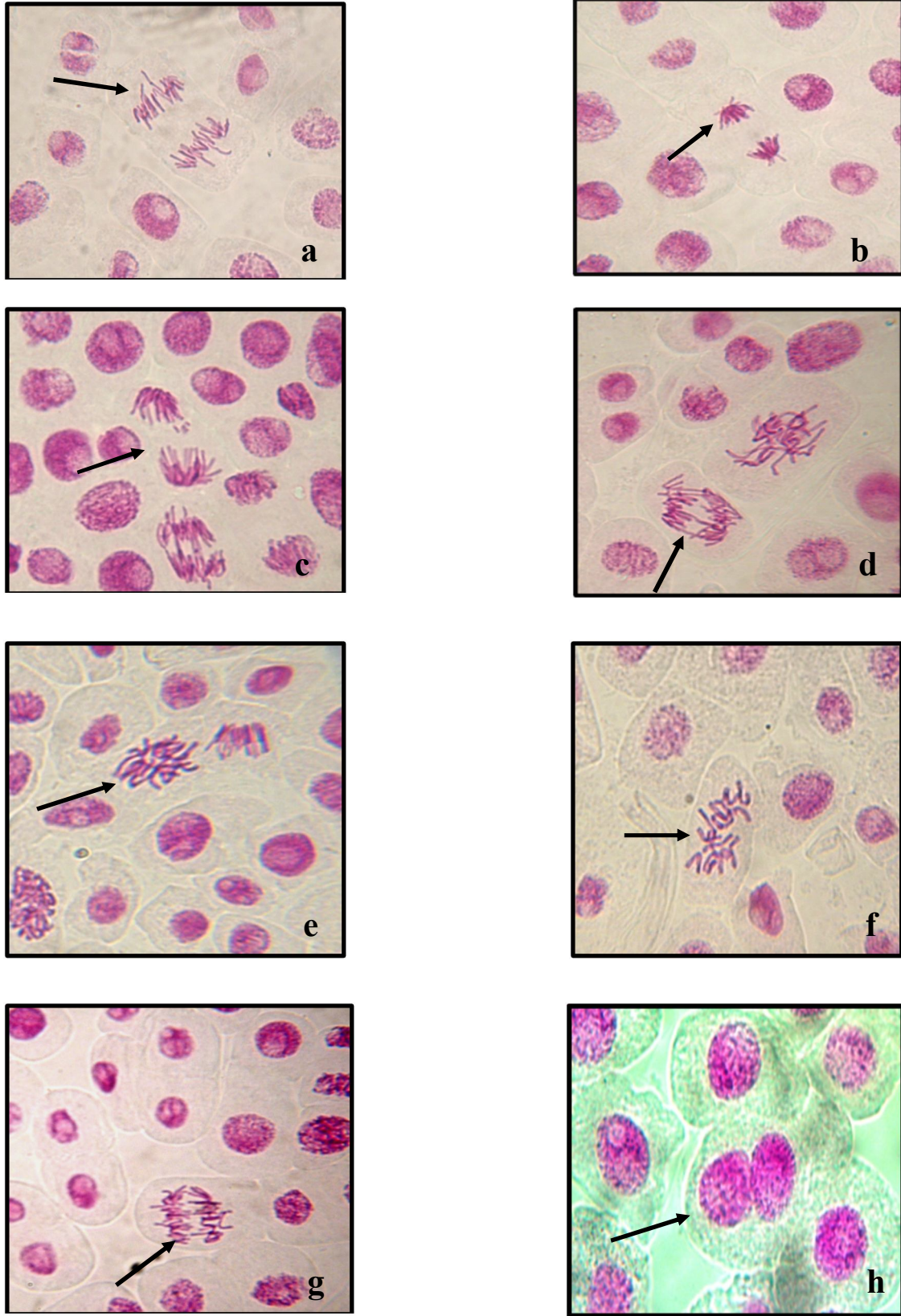
Konsantrasyon (ppm)	İncelenen Hücre Sayısı	Anafaz-telofazdaki Anormallikler ( % )*					Diğer Anormallikler ( % )*					
		Bozulmuş anafaz-telofaz	Kalın kromozom	Yapışıklık	Anafaz köprüsü	Toplam Anormallikler ( %± SH )	Sayılan hücre sayısı	Prometafaz	C-metafaz	Poliploidi	Binükleer Hücre	Toplam Anormallikler ( %± S.H )
<b>Kontrol- 24 saat</b>	500	7,2	6	7	4,4	<b>24,6±1,4ac</b>	5431	0,59	0,15	-	-	<b>0,74±0,11a</b>
<b>MMS-10</b>	500	11,2	9	15,4	3	<b>38,6±0,81b</b>	5136	0,02	0,08	-	0,22	<b>0,32±0,08bc</b>
<b>10</b>	500	8,4	12,6	3	2,8	<b>26,8±3,15ac</b>	5101	0,3	0,17	-	0,04	<b>0,51±0,14ac</b>
<b>20</b>	500	12,8	13,6	3	-	<b>29,4±1,96c</b>	5136	0,12	0,1	0,04	-	<b>0,26±0,11bc</b>
<b>40</b>	252	7,4	11,4	2,4	0,6	<b>21,8±1,71a</b>	5236	0,04	0,08	-	-	<b>0,12±0,05b</b>
<b>Kontrol- 48 saat</b>	500	9,2	14	7,6	2,4	<b>33,20±1,85a</b>	5163	0,44	0,1	-	-	<b>0,54±0,11ab</b>
<b>MMS-10</b>	500	16,96	11,72	6,41	6,99	<b>42,08±1,44b</b>	5177	0,06	0,2	-	0,32	<b>0,58±0,03a</b>
<b>10</b>	415	8,26	7,24	5,16	1,89	<b>22,55±1,55c</b>	5213	0,1	0,02	-	-	<b>0,12±0,07c</b>
<b>20</b>	500	8,2	7	4,60	4,6	<b>24,4±2,18c</b>	5144	0,14	0,17	-	-	<b>0,31±0,06bc</b>
<b>40</b>	435	10,12	5,34	6,21	3,23	<b>24,9±2,05c</b>	5181	0,08	0,04	-	-	<b>0,12±0,02c</b>
<b>Kontrol-72 saat</b>	500	7,33	11,8	5,32	0,2	<b>24,66±1,79ac</b>	5317	0,08	0,07	-	-	<b>0,15±0,03ab</b>
<b>MMS-10</b>	473	10,79	11,39	11,68	6,1	<b>39,96±1,71b</b>	5064	0,02	0,14	0,02	-	<b>0,18±0,04b</b>
<b>10</b>	237	0,93	16,1	7,31	0,49	<b>24,82±0,25ac</b>	5578	0,09	0,02	-	0,02	<b>0,13±0,03ab</b>
<b>20</b>	283	6,57	12,43	-	3,28	<b>22,27±0,73a</b>	5260	0,02	0,11	-	-	<b>0,13±0,05ab</b>
<b>40</b>	227	2,53	20,76	2,8	0,74	<b>26,84±1,56c</b>	5340	0,02	0,02	-	-	<b>0,04±0,02c</b>
<b>Kontrol- 96 saat</b>	500	9,6	9,8	8,8	0,6	<b>28,8±1,82a</b>	5504	0,16	0,25	-	-	<b>0,41±0,08a</b>
<b>MMS- 10</b>	500	18,4	5,4	21	1,4	<b>46,2±1,93b</b>	5159	0,02	0,08	--	-	<b>0,1±0,03b</b>
<b>10</b>	128	7,3	17,13	7,63	5,01	<b>37,07±1,97c</b>	5403	0,04	0,12	-	-	<b>0,16±0,06b</b>
<b>20</b>	84	12,18	11,19	4,55	1,54	<b>29,45±2,39a</b>	5136	0,04	0,08	-	0,02	<b>0,14±0,04b</b>
<b>40</b>	-	-	-	-	-	-	5081	0,1	0,1	-	0,02	<b>0,22±0,05b</b>

\* Sütunlardaki farklı küçük harfler p< 0.05 düzeyinde önemli (Duncan çoklu dağılım testi), SH: Standart Hat

Anafaz-telofaz anormalliklerinden başka diğer anormallikler de (c-metafaz, prometafaz, poliploidi ve binükleer hücre bozuklukları) gözlemlenmiştir. En düşük anormallikler, imazethapyr herbisitinin 72 saatlik uygulamasının 40 ppm'lik dozunda ( $0,04\pm 0,02$ ) gözlemlenirken, en yüksek anormallikler 24 saatlik uygulamasının 10 ppm'lik dozunda ( $0,51\pm 0,14$ ) gözlemlenmiştir. Toplam anormallikler kontrol grubuna göre bütün uygulamalarda azalmış olup 10 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulaması, 10 ve 20 ppm'lik dozun 72 saatlik uygulaması hariç istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.

İmazethapyr herbisitinin neden olduğu prometafaz (Şekil 5.3 e) incelenen bütün uygulama ve sürelerde gözlemlenmiş olup en fazla 10 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulamasında (% 0,3) rastlanılmıştır.

C-metafaz olayı en fazla 10 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulamasında ve 20 ppm'lik dozun 48 saatlik uygulamasında % 0,17 oranında gözlemlenmiştir (Şekil 5.3 f). Ayrıca çeşitli konsantrasyon ve saat uygulamalarında çizelge 5.3'te görüldüğü gibi poliploidi (Şekil 5.3 g) ve binükleer hücre (Şekil 5.3 h) anormalliklerine de rastlanmıştır.



**Şekil 5.3.** İmazethapyr herbisiti ile muamele edilen *A. cepa* kök hücrelerinde görülen anormallikler a) Kalgın kromozom b) yapışıklık c) Bozulmuş anafaz-telofaz d) anafaz köprüsü e) prometafaz f) C-metafaz g) Poliploidi h) Binükleer hücre



## 6. TARTIŞMA ve SONUÇ

*Allium cepa* çeşitli kimyasalların toksik etkisinin belirlenmesinde oldukça sık kullanılan bir materyaldir. Mutajenite çalışmalarında bitkilerin kullanımı ilk defa Levan (1938) tarafından kolşisinin *Allium cepa* kök hücrelerinde iğ ipliklerinin dağılmasına ve poliploidiye yol açtığını göstermesiyle başlamıştır. Bu test sistemine ek olarak kimyasalların kromozomlar üzerindeki etkisi araştırmak için *Vicia faba* (Amer ve Ali 1983), *Tradescantia paludosa* (Dryanosvka 1987), *Hordeum vulgare* (Kluge and Podlesak 1985), *Pisum sativum* (Amer vd. 1999), *Oryza sativa* (El-Nahas vd.2000), *Cyperus esculentus* (Grichar and Sestak 2000) ve *Crepis capillaris* (Dimitrov 1994) gibi pek çok bitki türü yaygın olarak kullanılmaktadır.

Toksisitenin izlenmesi için uygun test sistemleri arasında, *Allium* testi çok iyi bilinmekte olup bir çok laboratuarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Fiskesjö 1985, Rank vd. 2002, Yüzbaşıoğlu vd. 2003, Smaka-Kincl vd. 1996, Evseeva vd. 2003, Kara vd. 1994, Grant 1992, Konuk vd. 2007, Liman *et al.* 2010, 2011, 2012). Çünkü soğanların depo edilmesi ve kullanılması oldukça kolay olup, kök ucu hücrelerinde makroskopik (büyüme, EC<sub>50</sub>) ve mikroskopik parametreler (c-mitoz, yapışıklılık, kromozom kırıkları) için uygun bir sistem oluşturmaktadır. Ayrıca *Allium* testinin sonuçları ökaryotik ve prokaryotik diğer test sonuçları ile iyi bir korelasyon göstermektedir (Fiskesjö 1985).

Bu çalışmada imazethapyr herbisitinin *A. cepa* kök ucu hücrelerine olan etkileri araştırılmıştır. IMI herbisiti olan imazethapyr'de {5-ethyl-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-4,5 dihydroimidazol-1H-2-yl)nicotinic acid} asetolaktak sentez enzimini inhibe ederek izolösin, lösin ve valin amino asitlerin ilave edilmesini engellemektedir (Grichar and Sestak, 2000; Hidayat and Presto, 2001, Tan vd. 2005, Zabalza *et al.*, 2007). *Setaria spp* (kirpi darı), *Echinochloa crus-galli* L. Beauv.( ak diken), *Panicum capillare* L.(ayrık otu), *Polygonum convolvulus* L.(sarmaşık çoban değneği), *Polygonum persicaria* L.(kaz arpası), *C. Album* (sirken), *S. Arvensis* (yabani hardal), *Solanum spp*.(patates), *A. retroflexus*(kırmızı köklü tilki kuyruğu), *A. artemisiifolia* (yıllık ot) ve *A. theophrasti* (imam pamuğu) gibi tek yıllık otsu bitkilerin ve geniş

yapraklı yabancı otlara karşı imazethapyr soya fasulyesi, yer fıstığı ve diğer baklagillerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Grichar 1994; Richburg *et al.* 1993, Perucci and Scarponi 1994, Vencill 2002, Senseman 2007; Omafra 2008). Örnek olarak Çin’de her yıl 150-300 ton imazethapyr soya fasulye alanlarını kontrol etmek için kullanılmaktadır (Li *et al.* 2008).

İmazethapyr herbisitinin *A. cepa* L kök ucu hücrelerine olan etkilerini araştırmada kullanılacak doz miktarlarını belirlemek için büyüme engelleme testi uygulanarak EC<sub>50</sub> değeri tespit edilmiştir. EC<sub>50</sub> değerini belirlemek için kök uçlarının büyümesini kontrole göre % 50 oranında azaltan doz esas alınmaktadır (Fiskesjö 1988, Yüzbaşıoğlu vd. 2003, Rank and Nielsen 1994, Rank 2002, Konuk 2007, Liman *et al.* 2010, 2011, 2012). Bu çalışmada imazethapyr herbisitinin EC<sub>50</sub> değeri yaklaşık olarak 20 mg/L olarak bulunmuştur. İmazethapyr herbisitinin akut ağız LD<sub>50</sub> değeri ratlar için >5000 mg/kg, deri LD<sub>50</sub> değeri tavşanlar için >2000 mg/kg olarak bulunmuştur (OHS Database 1994, American Cyanamid Company, 1996). Ancak etkileri araştırılacak maddelerin EC<sub>50</sub> değerinin belirlenmediği çalışmalar da bulunmaktadır (Evseeva 2003, Panda and Sahu 1985, Kumari 2009, Ghosh *et al.* 2010 ).

EC<sub>50</sub> değerini belirlemek için kullanılan imazethapyr herbisitinin konsantrasyonu uygulanan bütün dozlarda, konsantrasyona bağlı olarak saçak köklerin renklerinin koyulaştığı, kalınlıklarının arttığı, jelatinimsi bir yapı kazandıkları ve kök uçlarındaki büyümenin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak azaldığı görülmüştür. Soğan kök uçlarındaki büyümenin kontrol grubuna göre % 45’den daha fazla azalması, bitkiler üzerinde büyük bir olasılıkla subletal etkiye sahip toksik maddelerin varlığına işaret etmektedir (Fiskesjö 1985, Hidalgo 1989, Wierzbicka 1988, Antonsiewicz *et al.* 1990). Bu bilgiye dayanarak imazethapyr herbisitinin 20 mg/L ve üzerindeki dozların, *A. cepa* kök uçlarına subletal etkisinin olduğu sonucunu söylenebilir. Kök büyümesinin inhibisyonu genellikle apikal meristematik aktivite (Webster and Macleod 1996) ve farklılaşma sırasında hücrenin uzaması ( Fusconi 2006) ile ilgilidir.

EC<sub>50</sub> değeri yaklaşık olarak 20 ppm olarak belirlendikten sonra uygulama dozlarının belirlenmesinde 2xEC<sub>50</sub>, EC<sub>50</sub> ve 1/2xEC<sub>50</sub> değerleri kullanılmıştır. Buna

bağlı olarak imazethapyr herbisitinin 40, 20 ve 10 ppm'lik dozları kullanılmıştır. Saf su negatif kontrol grubu olarak, MMS ise pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Seçilen bu dozlar *A. cepa*'nın hücre döngüsünü 24 saatte tamamlamasından dolayı (Rank and Nielsen 1994, Yüzbaşıoğlu vd. 2003) uygulama süresi olarak 24, 48, 72 ve 96 saat seçilmiştir. Ancak literatürde farklı uygulama sürelerine de rastlanılmaktadır. 4 ve 8 saat (Öbek 1993), 12 ve 24 saat (İnceer 2000), 6 ve 24 saat (Kara 1994), 3gün (Özen vd.2011), 2 ve 6 gün (Metin 2006) ve 7 gün (Smaka-Kincl *et al.* 1996) gibi değişik uygulama süreleri kullanılmış birçok çalışma bulunmaktadır.

Deneyde kullanılan imazethapyr herbisitinin bütün konsantrasyonları mitotik indeks değerini, pozitif ve negatif kontrol grubuna göre azaltmış olup bu değerler istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. En düşük mitotik indeks değeri imazethapyr herbisitinin 20 ppm'lik dozun konsantrasyonun 96 saatlik uygulamasında ( $9,65\pm 0,27$ ) en yüksek mitotik indeks ise 10 ppm'lik konsantrasyonun 24 saatlik uygulamasında ( $24,37\pm 0,59$ ) elde edilmiştir. Mitotik indeks değerleri 96 saatlik uygulamalar hariç doza bağlı olarak azalmıştır. *Solanum tuberosum* (Spackman and Cobb 1999), *Triticum durum* (Rad *et al.* 2011) ve *Vicia faba*'da (El-Nahas 2000) imazethapyr herbisiti çalışmamıza benzer şekilde mitotik indeks değerlerini düşürmüştür. İmidazolinon içeren bileşikler valin, lösin ve izölösün sentezini *in vivo* olarak inhibe ederlerse, böyle amino asitlerin, amino asit havuzunda bulunmaları azalacak böylece protein sentezinin azalmasına neden olurlar (Shaner vd 1984). Aynı şekilde İmazethapyr'in *Arabidopsis thaliana*'da karbonhidrat kullanımını inhibe ettiğini ve karbonhidrat kullanımının inhibe edilmesi ile bitki büyümesinin gecikeceğini ve kök uzamasının azaldığını Qian vd. (2011) belirtmişlerdir. İzamethapyr ve imazapic herbisitleri mısır çeltikleri arasında bulunan *Cyprinus carpio*'da toksikolojik ve metabolik değişikliklere neden olmuştur (Moraes *et al.* 2011). Sonuç olarak İmidazolinon herbisitleri hücre bölünme oranının azalmasına neden olmaktadır. ALS inhibe edici imazethapyr herbisiti vasıtasıyla hücre bölünmesinin inhibe edilmesi kök uzunluklarının büyümesini engellemiş olabilir. Çalışmamızda da konsantrasyona bağlı olarak hem mitotik indeks değeri düşmüş hemde ortalama kök uzunlukları kontrol grubuna göre azalmıştır.

Sitotoksik seviyesi, mitotik indeks değerinin artış ve azalışıyla belirlenebilir. Mitotik indeks değerinin kontrol grubundan dūřuk olması, test edilen bileşiğin bŸyŸme ve gelişmeyi negatif yŸnde etkiler buna karşılık yŸksek olması durumunda ise hŸcre bŸlŸnmesi uyarılır, kontrolsŸz çoğalmaya ve hatta tŸmŸr oluşumuna sebep olabilir ya da geciktirilmif mitoz bŸlŸnme sonucunda oluşabilir (Fernandes *et al.* 2007, Hoshina *et al.* 2002, Tkalec *et al.* 2009). HŸcre çoğalmasının artması DNA tamiri için gerekli olan zamanın azalması sonucunda gerçekleşebilir (Evseeva *et al.* 2003).

Mitotik indekste Ÿnemli dŸzeydeki azalma, test edilen maddenin mitodepresif etki yaptığını gŸstermektedir. Test maddesinin interfaza geçen hŸcrelerin sayısını azaltarak hŸcre siklusunun normal işleyişini bozmaktadır (Badr and İbrahim 1987). Mitotik aktivitenin azalması S safhasındaki DNA sentezinin engellenmesiyle de meydana gelmektedir (Sadia and Vahidy 1994). HŸcre dŸngŸsŸnŸn baskılanmasıyla proteinler test maddesine hedef olmakta, bŸylece hem DNA sentezi için gerekli olan DNA polimeraz enzimi hem de iğ oluşumuyla ilgili olan birçok enzim baskılanmaktadır. Bu durum antimitotik etki olarak açıklanmaktadır (Hidalgo vd. 1989, YŸzbařioęlu *et al.* 2003). Ayrıca mitotik indeksteki dŸřŸř, ATP miktarının azalması ve enerji Ÿretim merkezi fonksiyonun baskılanması sonucunda da olabilmektedir (Jain and Andsorbhoy 1988).

İmazethapyr herbisitinin mitotik faz frekanslarına etkisi incelendiğinde; profaz frekanslarının kontrole gŸre arttığı, diğer faz frekanslarının ise kontrole gŸre azaldığı gŸrŸlmŸřtŸr. İmazethapyr herbisitinin 10 ppm'lik konsantrasyonun 24 saatlik uygulaması ve yine 10 ppm'lik konsantrasyonun 96 saatlik uygulamasının metafaz safhası hariç artan ve azalan faz safhaları istatistiksel açıdan kontrol grubuna gŸre anlamlı bulunmuştur. Bu durumun sebebi chfr (profaz ve metafaz arasındaki kontrol noktası) noktasının engellenmesinden olabilir. (Scolnic and Halazonetis 2000) mitotik strese karşı hŸcrelerin metafaza geçişini geciktiren chrf kontrol noktasını tanımlamışlardır. Çalışmamıza benzer Źekilde imazethapyr herbisiti *Triticum durum*'da (Rad *et al.* 2011) 0.5 ppm'lik uygulama hariç profaz faz indeksini artırmış, anafaz ve telofaz faz indeks değerlerini dŸřŸrmŸřtŸr.

İsoproturon, 2,4-D (Kumar 2010), dithiopyr (Armbruster vd. 1991), koriskol tozu (Çelik 2006), pendimethalin (Beuret 1980), cypermethrin ve fenvalerate (Chauhan vd. 1999), gramoxone (paraquat) (El-Abidin Salam vd. 1993), fluazifop-p-butyl (Aksoy vd. 2007), roundup (Rank vd. 1993), metribuzin, chlorimuron-etil ve brominal (Soliman ve Ghoneam 2004) ve ronstar (Butt and Vahidy 1994) herbisitleri de mitotik indeksi değerlerini çalışmamıza benzer şekilde etkilemişlerdir.

İmazethapyr herbisitinin anafaz-telofaz hücrelerinde neden olduğu anormallikler sürelerinde en fazla görülen anormallikler kalgın kromozom, bozulmuş anafaz-telofaz, yapışıklık ve anafaz köprüsüdür. En fazla anormallik olayına imazethapyr herbisitinin 10 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulanmasında (% 37,07), en az anormallik olayına ise 40 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulanmasında (% 21,8) rastlanılmıştır. İmazethapyr herbisiti; 10 ppm'lik dozu 48 saatlik uygulaması toplam anormallikleri kontrol grubuna göre artırmış buna karşılık 20 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulaması hariç 20 ve 40 ppm'lik dozlar toplam anormallikleri kontrol grubuna göre azaltmıştır. Bu artışlar ve azalışlar, 20 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulaması (%29,4), 48 saatlik uygulamalar ve 10 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulaması (%37,07) kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ve 96 saatlik uygulamanın 40 ppm'lik konsantrasyonunda yeterince anafaz-telofaz hücresi sayılamadığından bozukluklar hesaplanamamıştır. Ayrıca imazethapyr herbisitinin neden olduğu toplam anormallikler her bir uygulama süresinde MMS'den daha düşük çıkmıştır. Fragiorge vd (2008), imazethapyr herbisitinin *Drosophila melanogaster* somatik hücrelerinde genotoksik etkiye neden olmadıklarını göstermişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak *Triticum durum* (Rad et al. 2011) ve *Vicia faba* 'da (El-Nahas 2000) imazethapyr herbisiti doza bağlı olarak anormallikleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttırmıştır. Koutrus vd. (2009) izamethapyr aromatik amin pestisitinin insanlarda mesane ve kolon kanseri olma riskini istatistiksel olarak anlamlı derecede artırdıklarını bulmuşlardır. Diğer bir imidalizon bileşiği olan imazapy A. cepa kök hücrelerinde kromozom aberasyonlarına ve farelerde mikronükleus sayısını artırmamıştır (Grisolia et al. 2004).

Bozulmuş anafaz-telofaz olayına en fazla % 12,8 oranında 20 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulanmasında en az olarak da 10 ppm'lik dozun 72 saatlik uygulamasında (% 0,93) rastlanılmıştır. Kalgın kromozom olayı 40 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulaması hariç bütün uygulamalarda gözlenmiştir. Bu iki bozukluk imazethapyr herbisitinin mikrotübül oluşumunu etkilemesi sonucunda kaynaklanmış olabilir (Amer and Ali 1983, Kumari et al. 2009). Kalgın kromozomlar kromozomların ya da asentrik kromozom fragmentlerinin kutuplara doğru çekilmesi sırasında oluşarak mikronükleus oluşumuna neden olabilmektedir (Leme and Marin-Morales 2009).

Anafaz köprüsü en fazla 96 saatlik uygulamanın 10 ppm'lik dozunda (%5,01) rastlanılmışken 20 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulaması ve 40 ppm'lik dozun 96 saatlik uygulamasında rastlanılmamıştır. Anafaz-telofaz köprüleri translokasyon sırasında eşit olmayan kromatid değişimi ya da kromozom ve kromatidlerin kırılıp birleşmeleri sonucunda ya da disentrik kromozomların varlığında oluşabilir. Bu köprüler yapısal kromozom mutasyonlarına sebep olurlar (El-Ghamery *et al.* 2000, Luo *et al.* 2004).

İmazethapyr herbisitinin neden olduğu diğer bir anormallik de yapışıklıktır. En fazla 96 saatlik uygulamanın 10 ppm'lik dozunda (%7,63) görülmüştür. Yapışkanlığın kromozomlar arasındaki subkromatit bağlantılardan oluşabileceği açıklanmıştır (McGill *et al.* 1974). Kromozomlardaki yapışıklık durumu, imazethapyr herbisitinin etkisiyle kromozom hareketinin engellenmesi sonucunda da oluşabilir. Böylece kromozomlar kutuplara ulaşamaz, ortada kalırlar ve yoğunlaşarak yapışık bir görüntü sergilerler (Ajay and Sarbhoy 1988). Ayrıca yapışıklık kromatinin proteince yoğun içeriğinin bir tip fiziksel adezyonu olarak açıklanmıştır (Patil and Bhat 1992). Yapışıklık olayı kromozom fragmentlerine ve anafaz-telofaz safhasında köprülere sebep olmaktadır (Yüzbaşıoğlu vd. 2003). Yapışıklık ve fragmentlerin kromozom yapısında değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (El-Ghamery *et al.* 2000). Ayrıca yapışıklık, kullanılan maddenin toksik olmasının göstergesi olarak kabul edilmekte ve hücrenin ölümüne yol açtığı düşünülmektedir (Fiskesjö 1985, Barbério *et al.* 2011).

Anafaz-telofaz anormalliklerden başka, diğer anormallikler de (c-metafaz, prometafaz, poliploidi ve binükleer hücre bozuklukları) gözlemlenmiştir. Ancak

görülen bozukluklar hiçbir zaman kontrol değerlerini aşmamış ve azalan değerlerin çoğu istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. En düşük anormallikler, 72 saatlik uygulamanın 40 ppm'lik dozunda (%0,04±0,02) gözlemlenirken, en yüksek anormallikler 24 saatlik uygulamanın 10 ppm'lik dozunda (%0,51±0,14) gözlemlenmiştir. Bu anormallikler hücre ölüm yollarının uyarılmasına neden olabilir (Leme and Marin-Morales 2009).

C-metafaz olayı en fazla 10 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulamasında ve 20 mg/L'lik dozun 48 saatlik uygulamasında %0,17 oranında gözlemlenmiştir. Bu bozukluk imazethapyr herbisitinin iğ ipliklerinin yapısını bozmasıyla ya da kromatinin yapısına giren proteinlerin dengesizliği sonucu ortaya çıkmış olabilir. Bazı durumlarda c-metafaz anöploidi ile sonuçlanmaktadır (Fiskesjö 1988, Shahin and El-Amodi 1991, Odeigah vd. 1997, Kurás vd. 2006, Fernandes *et al.* 2007).

Çalışmada görülen diğer bir anormallik prometafaz olayıdır. Prometafaz olayı en fazla 10 ppm'lik dozun 24 saatlik uygulamasında (%0,3) görülmüştür. Bazı hücrelerde metafaz kromozomlarının profaz safhasındaymış gibi düzenlendikleri görülmüş olup prometafaz olarak adlandırılmaktadır (Amer and Ali 1983).

Ayrıca çeşitli konsantrasyon ve saat uygulamalarında poliploidi ve binükleer hücre anormalliklerine de rastlanmıştır. Poliploidi hücreler fragmoplastın eksikliğinden kaynaklanabilir (Videkovivé-Cifrek *et al.* 2002, Fernandes *et al.* 2007). Binükleer hücre oluşumu ise normal sitokinez olayının engellediğinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Ateeg *et al.* 2002).

Sonuç olarak, tek yıllık otsu bitkilere ve geniş yapraklı yabancı otlara karşı soya fasulyesi, yer fıstığı ve diğer baklagillerin üretiminde yaygın olarak imazethapyr herbisiti kullanılmaktadır. A. cepa kök hücreleri üzerine sitotoksik etki yaparak kök ucu büyümesini engellemiş ve mitotik indeks değerini düşürmüştü fakat 10 ppm'lik doz hariç uygulanan diğer dozlar genotoksik etkiye neden olmamıştır. Bu herbisit dikkatli olarak uygun dozlarda kullanılmalı ayrıca sitotoksik ve genotoksik özellikleri diğer test sistemleri ile de araştırılmalıdır.

## KAYNAKLAR

- Aksoy, O.D., Dane, F. and Sanal, F.E.(2007). The effects of Fusilade (Fluazifop-p-butyl) on germination, mitotic frequency and  $\alpha$ -amylase activity of lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds. *Acta Physiol Plant* **29**: 115-120.
- Amer, S.M. and Ali, E.M. (1983). Cytological effects of pesticides XVII. Effects of the insecticide dichlorvas on root mitosis of *Vicia faba*. *Cytologia*, **51**: 21-25.
- Amer, S.M., Mohammed F.I. and Ashry, Z.M., 1999, "Cytogenetic effects of the fungicide benomyl on *Vicia faba* and *Pisum saivum*", Bulletin of the National Research Center **24**(4): 481-494.
- Armbruster, B.L., Molin, W.T. and Bugg, M.W.(1991). Effects of the herbicide dithiopyr on cell division in wheat root tips. *Pestic Biochem Physiol*, **39**: 110-120.
- Antonsiewicz, D. (1990). Analysis of the cell cycle in root meristem of *Allium cepa* under the influence on Ledakrin, Folia Histochem. *Cytobiology*, **28**: 79-86.
- Ateş, B., Abul Ferah, M., Niamat Ali M. and Ahmad W. (2002). Clastogenicity of pentachlorophenol, 2,4-D and butachlor evaluated by *Allium* root tip test. *Mutation Research*, **514**: 105-113.
- Ateeq, B., Farah, M.A., Ali, M.N. and Ahmad, W. (2002). Clastogenicity of pentachlorophenol, 2,4-D and butachlor evaluated by *Allium* root tip test. *Mutation Research*, **514**: 105-113.
- Ayaz, B. (2000). Tri (Süstitüe) Fenil İmidazol ve Türevlerinin Mutajenik Aktivitesinin Ames / Salmonella / Mikrozom Testi ile Araştırılması. *Turk J Biol*, **24**: 57-64
- Aybeke, M., Olgun, G., Sıdal, U. ve Kolankaya, D.(2000). Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Bugday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi. *Turk J Biol.*, **24**: 127-140
- Badr, A. and İbrahim, A.G. (1987). Effect of herbicide Glean on mitosis, chromosomes and nucleic acids in *Alium cepa* and *Vicia faba* root meristems. *Cytologia*, **52**: 293-302.
- Barbério A, Voltolini JC & Mello MLS (2011). Standardization of bulb and root sample sizes for the *Allium cepa* test. *Ecotoxicology*, **20**: 927–935.



- Başaran, A., Başaran, N., Solak, M. and Güneş, H. (1995). Tıbbi Biyoloji ve Genetik, Anadolu Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi Yayınları, 117-123.
- Battaglin, W.A., Furlang, E.T., Burgkhardt, M.R. and Peter, C.J. (2000). Occurrence of sulfonylurea, sulfonamide, imidazolinone, and other herbicides in rivers, reservoirs and ground water in the Midwestern United States. *Science of The Total Environment*, **248**: 123-133.
- Beuret, E. (1980). Effect of Pendimethalin on root meristem in *Allium cepa* L. *Weed Res*, **20**: 83-86.
- Butt, S.K. and Vahıdy, A.A. (1994). Cytotoxic Effects of Herbicide Ronstar on Meristematic Cells of *Allium cepa* L.. *Pak. J. Bot.*, **26**(1): 69-74.
- Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N. and Gupta, S.K. (1999). Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Environ Exp Bot*, **42**: 181-189.
- Çelik, T.A. (2006). Cytogenetic effects of some fungicides on barley root tip meristem cells. *Pak J Biol Sci*, **9**: 2508-2511.
- Constantin, M.J. and Owens, E.T. (1982). Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays: a report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.*, **99**: 1-12.
- Dimitrov, B. (1994). Types of chromosomal aberrations induced by seed aging in *Crepis capillaris* L.. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **37**: 199-209.
- Dryanosvka, O.A. (1987). Mutagenic of the herbicide alachor during meiosis in *Tradescantia paludosa*. *Acad. Blug. Sci.*, **40**: 73-76.
- Duggleby, R.G. and Pang, S.S. (2000). Acetohydroxyacid Synthase. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, **1**: 1-36.
- El-Nahas, A. (2000). Mutagenic potential of imazethapyr herbicide on *Vicia faba* in the Presence of urea fertilizer. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **5**: 900-905.
- El-Ghamery, A.A., El-Nahas, A.I. and Mansour, M.M. (2000). The action of atrazine herbicide as an indicator of cell division on chromosomes and nucleic acid content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia*. **65**: 277-287.
- El-Nahas, A. (2000). Mutagenic potential of imazethapyr herbicide on *Vicia faba* in the Presence of urea fertilizer. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **5**: 900-905.

- Elzen, G. W.( 1989). Sublethal effects of pesticides on beneficial parasitoids. P. C. Jepson Pesticides and non-target invertebrates. Intercept Wimborne, Dorset, UK. 129-150.
- Evseeva, T., Geras'kin, S.A. and Shuktomova, I.I. (2003). Genotoxicity and toxicity assay of water sampled from a radium production industry storage cell territory by means of *Allium*-test. *Jour. Of En. Radioactivity*, **68**: 235-248.
- Fernandes, T.C.C., Mazzeo, D.E.C. and Marin-Morales, M.A. (2007). Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **88**: 252–259.
- Fiskesjö, G. (1985). The Allium test as standart in enviromental monitoring. *Hereditas*, **102**: 99-112.
- Fiskesjö, G. (1988). The Allium Test-an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions. *Mutation Research*. **197** : 243–260.
- Fragiorge, E.J., Rezende, A.A., Graf, U. and Spanó M.A.(2008). Comparative genotoxicity evaluation of imidazolinone herbicides in somatic cells of *Drosophila melanogaster* Food Chem. *Toxicol.*, **46**: 393–401.
- Fusconi, A., Repetto, O., Bona, E., Massa, N., Gallo, C.,Dumas-Gaudot, E. And Berta, G.(2006). Effect of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativum* L. Cv. Frisson seedligs. *Env Exp Bot*, **58**: 253-260.
- Gaston, S., Zabalza, A., Gonzalez, E.M., Arrese-Igor, C., Aparicio-Tejo, P.M. and Royuela, M.(2002). Imazethapyr, an inhibitor of the branchedchain amino acid biosynthesis, induces aerobic fermentation in pea plants. *Physiol. Plant*, **114**: 524–532.
- Gerwick, C.B., Subramanian, M.V. and Loney-Gallant, V.I.(1990). Mechanism of action of the 1,2,4-triazolo[1,5-a] pyrimidines. *Proc Brighton Crop Pront Conf*, 357–364.
- Ghosh, M., Paul, J., Sinha, S. and Mukherjee A (2010). Comparative evaluation of promutagens *o*-PDA *m*-PDA and MH for genotoxic response in root cells of *Allium cepa* L. *Nucleus* **53**: 45–50.
- Grant, W.F., (1982). Chromosome aberration assays in *Allium*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research*, **99**: 273-291.

- Grichar, W. J.(1994). Spiny amaranth (*Amaranthus spinosus* L.) control in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Weed Technol*, **8**: 199–202.
- Grichar, J. and Sestak, D. (2000). Effect of adjuvants on control of nutsedge (*Cyperus esculentus* and *C. Rotunds*). *Crop Protection*, **19**: 461-465.
- Grisolia, C.K., Bilich, M.R., Formigli, L.M.(2004). A comparative toxicologic and genotoxic study of the herbicide arsenal, its active ingredient Imazapyr, and the surfactant nonylphenol ethoxylate. *Ecotoxicol. Environ. Safe*, **59**: 123–126.
- Harte, J., Holdren, C., Schneider, C. and Shirley, C. (1991). *Toxics A to Z, A guide to everyday pollution hazards*. University of California Press.
- Hidalgo, A., Gonzales, J.A., Navas, P. and Garcia-Herdugo, G. (1989). Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by propham and chlorpropham. *Cytobios*, **57**: 7-17.
- Hidayat, I. and Presto, C. (2001). *Pestic. Biochem. Physiol.* 71, 190.
- Hoseiny, Rad, M., Aivazi, A.A. and Jagannath, S., (2011). Cytogenetic and biochemical effects of imazrthapyr in wheat (*Triticum durum*). *Tübitak*, **35**: 663-770.
- Hoshina, H., Nagashima, K. and Takagi, R.(2002). Effect of local hyperthermia on metastases in oral squamous cell carcinoma. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, **131**:84 – 89.
- İnceer, H. ve Beyazoğlu, O. (2000). Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray Kök Ucu Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri. *Turk J Biol.*, **24**: 553-559.
- Jain, A.K. and Andsorbhoy, R.K.(1988). Cytogenital studies on the effects of some chlorinated pesticides III. Concluding Remarks. *Cytologia*, **53**: 427-436.
- Kara, M., Sanda, M.A., ve Ateş, A. (1994). Cytogenetics effect of the insecticide cypermethrin on the root meristems of *Allium cepa* L.. *Turkish Journal of Bio.*, **18**(4): 323-331.
- Konuk, M., Liman, R. and Cigerci, I.H. (2007). Determination of genotoxic effect of boron on *Allium cepa* root meristematic cells. *Pakistan Journal of Botany*, **39**: 73–79.
- Koutros, S., Lynch, C.F., Ma, X., Lee, W.J., Hoppin, J.A. and Christensen, C.H.(2009). Heterocyclic aromatic amine pesticide use and human cancer risk: results from the U.S. Agricultural Health Study. *Int J Cancer*. **124**: 1206–1212.

- Kumar, S.(2010). Effect of 2,4-D and isoproturon on chromosomal disturbances during mitotic division in root tip cells of *Triticum aestivum* L. *Cytol Genet*, **44**: 79-87.
- Kumari, M., Mukherjee, A. & Chandrasekaran, N. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of The Total Environment* **407**: 5243–5246.
- Klug, W.S. and Cummings M.R. (2002). Concept of Genetics, 6 th Edition, 0-13-081626-4 (Çev: ÖNER, C. Genetik Kavramlar, Palme yayıncılık,816).
- Kurás, M., Nowakowska, J., Sliwinska, E., Pilarski, R., Ilasz, R., Tykarska, T., Zobel, A., and Gulewicz, K. (2006). Changes in chromosome structure mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *Journal of Ethnopharmacology*, **107**: 211-221.
- Lao, W., Gan, J., (2006). High-performance liquid chromatographic separation of imidazolinone herbicide enantiomers and their methyl derivatives on polysaccharide-coated chiral stationary phases. *J. Chromatogr*, **1117**: 184–193.
- Leme, D.M. and Marin-Morales, M.A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, **682**: 71–81.
- Leme, D.M. and Marin-Morales, M.A. (2008). Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water a case study. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **650**: 80–86.
- Levan, A., 1938, “The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*”, *Hereditas*, Vol.24, pp.471-486.
- Li, J.Z., Absher, D.M., Tang, H., Southwick, A.M., Casto, A.M., Sohini, R., Conn, H.M., Brosh, G.S., Feldman, M., Cavalli-Sfarza, L.L. and Myers, R.M. (2008). Worldwide Human Relationships Inferred from Genome-Wide Patterns of Variation. *Science Journals*, 319: 1100-1104.
- Liman, R., Akyıl, D., Eren, Y. and Konuk, M. (2010). Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/*Salmonella* and *Allium* Test. *Chemosphere*, **80**: 1056–1061.
- Liman, R., Cigerci, I.H., Akyıl, D., Eren, Y. and Konuk, M. (2011). Determination of genotoxicity of fenaminosulf by *Allium* and Comet Tests. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **99**: 61–64.

- Liman, R., Gökçe, U.G., Akyıl, D., Eren, Y. and Konuk, M. (2012). Evaluation of genotoxic and mutagenic effects of aqueous extract from aerial parts of *Linaria genistifolia* subsp. *genistifolia*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **22**: 541-548.
- Luo, L.Z., Werner, K.M., Gollin, S.M. and Saunders, W.S. (2004). Cigarette smoke induces anaphase bridges and genomic imbalances in normal cells. *Mutation Research*. **554**: 375–385.
- Mazur, B.J. and Falco, S.C. (1989). Herbicides. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol*, **40**: 441–470.
- McCourt, J.A., Pang, S.S., King-Scott, J., Guddat, L.W. and Duggleby, R.G. (2006). Herbicide-binding sites revealed in the structure of plant acetohydroxyacid synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**: 569–573.
- Mc-Gill, M., Pathak, S. and Hsu, T.C. (1974). Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: A possible maternal basis chromosomes stickiness. *Chromosoma*, **47**: 157–167.
- Metin, A., Uysal, G., Güven, A., Uylu, A. and Öztürk, M.H. (2004). Tuberculous brain abscess in a patient with hyper IgE syndrome. *Pediatr. Int.*, **46**: 97-100.
- Moraes, S.B., Cloven, B., Loro, L.V., Toni, C., Avila, A.L., Marcheson, E., Oliveira Machado, S.L. Zanella, R. and Reimche, G.B. (2011). Toxicological responses of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **74**: 328-335.
- Odeigah, P.G.C., Nurudeen, O. and Amund, O.O. (1997). Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. *Hereditas*, **126**: 161–167.
- OHS Database. MDL Information Systems, Inc. 1994. MSDS for Imazethapyr. MDL Information Systems, Inc., San Leandro, CA.
- Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (OMAFRA), (2008). Guide to Weed Control. Publication 75. OMAFRA, Toronto, ON, Canada.
- Öbek E. (1993). Bazı Böcek Öldürücü Sentetik Pyrethroidler'in Soğan (*Allium cepa* L.) Da Hücre Bölünmesi ve Kromozomların Yapısına Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Doktora Tezi, Van.
- Öncüler, C. (2004). Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları. Adanan Menderes Üniversitesi Yayınları, **19**: 260-299.

- Öner, C. (2003). Genetik Kavramlar, Palme Yayıncılık, 6. baskıdan çeviri, Türkiye, 455-467.
- Özen, E., Çiçek, B., Gür, B., Aydın, N., Akıncı, B., Topal, M., Keser, G. ve Çavuşoğlu, K. (2011). Paraquat'ın *Allium cepa*'da Bazı Sitotoksik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri. *Fırat Univ. Journal of Science*, **23**(2): 117-124.
- Öztürk, İ. ve Tosun, N.(2004). Famoxadone ve Cymoxanil Etkili Maddeli Bir Fungisitinin Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Bitkisi Üzerine Fizyolojik Etkisi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, **41**(3): 77-87.
- Panda, B.B. and Sahu, U.K. (1985). Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fensulfothion. *Cytobios*, **42**: 147-155.
- Patil, B.C. and Bhat, G.I. (1992). A comparative study of MH and EMS in the induction of chromosomal aberrations on lateral root meristem in *Clitoria ternata* L. *Cytologia*, **57**: 259-264.
- Perucci, P., Scarponi, L.(1994). Effects of the herbicide imazethapyr on soil microbial biomass and various soil enzyme activities. *Biol. Fertil. Soils*, **17**: 237-240.
- Quian, H., Hu, H., Mao, J., Zhang, A., Liu, W. and Fu, Z.,(2009). Enantioselective phytotoxicity of the herbicide imazethapyr in rice. *Chemosphere*, **76**: 885-892.
- Rad, M.H., Aıvazı, A.A. and Jagannath, S.(2011). Cytogenetic and biochemical effects of imazethapyr in wheat (*Triticum durum*). *Turk J Biol*, **35**: 663-670.
- Rank, J. and Nielsen M.H. (1994). Evaluation of *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. *Mutation Research*, **312**: 17-24.
- Rank, J., Lopez, L.C., Nielsen, M.H. and Moretton, J. (2002). Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEPH in *Allium cepa* root cells performed by two different laboratories. *Hereditas*, **136**: 13-18.
- Rank, J. (2003). The method of *Allium* Anaphase-Telophase Chromosome Aberration Assay. *Ekologia*, 38-42.
- Ray, T.B.(1984). Inhibition of Valine and Isoleucine biosynthesis in plants. *American Society of Plant Biologists*, **3**: 827-831.

- Richburg, J.S., Wilcut, J.W. and Wehtje, G.R.(1993). Toxicity of imazethapyr to purple (*Cyperus rotundus*) and yellow nutsedges (*Cyperus esculentus*). *Weed Technol.* **7**: 900–905.
- Sadia, K.B. and Vahidy, A.A. (1994). Cytotoxic effect of herbicide ronstar on meristamic cells of *Allium cepa*, L. *Pak. J. Bot.*, **26**: 69-74.
- Salam, El- Abidin, Hussein, A.Z., El Itriby, E.H.A, Anwar, H.A., Mansour, S.A. (1993). The mutagenicity of Gramoxone (paraquat) on different eukaryotic systems. *Mutat. Res.* **319**(2): 89-101.
- Scolnic, D. and Halazonetis, T. (2000). Chfr defines a mitotic stress checkpoint that delays entry into metaphase. *Nature.* **406**: 430–435.
- Senseman, S.A.(2007). Effects of simulated drift of Glyphosate, Imazethapyr, Glufosinate and Imazamox to non-transgenic rice. Louisiana State University. WeedScience Society of America. Pp. 89-91.
- Shahin, S.A. and El-Amoodi, K.H.H. (1991). Induction of numerical chromosomal aberrations during DNA synthesis using fungicides nimrod and rubigan-4 in root tips of *Vicia faba* L. *Mutation Research.* **261**: 169–176.
- Shaner, D.L., Anderson, P.C. and Stidham, M.A. (1984). Molecular Basis of sulfonylurea herbicide inhibition of Acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiol*, **76**: 545-546.
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M. and Toman and M.J. (1996). The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. *Mutation Research*, **368**: 171-179.
- Soliman, M.I. and Ghoneam, G.T.(2004). The mutagenic potentialities of some herbicides using *Vicia faba* as a biological system. *Biotechnology* **3**: 140–154.
- Spackman, V.M.T and Cobb, A.H.(1999). Cell cycle inhibition of potato root tips treated with Imazethapyr. *Ann. appl. Biol.* **135**: 585-587.
- Stidham, M.A.(1991). Herbicides that inhibit acetohydroxyacid synthase. *Weed Sci.* **39**: 428-434.
- Takahashi, S., Shigematsu, S. and Morita A.(1991).Herbicides. *Proc Brighton Crop Prot Conf.*, **1**: 57–62.

- Tan, S., Evans, R.R., Dahmer, M.L., Singh, B.K. and Shaner, D.L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Manag Sci*, **61**: 246–257.
- Tkalec, M., Malaric, K., Pavlica, M., Pevalek-Kozlina, B. & Vidakovic-Cifrek, Z. (2009). Effects of radiofrequency electromagnetic fields on seed germination and root meristematic cells of *Allium cepa* L. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **672**: 76–81.
- Topbas, M.T., Brohi, A.R. ve Karaman, M.R., 1998, “Çevre kirliligi, T.C. Çevre Bakanlığı Yayınları”, Ankara.
- Trucco, F., Hager, A.G. and Tranel, P.J.(2006). Acetolactate synthase mutation conferring imidazolinone-specific herbicide resistance in *Amaranthus hybridus*. *Journal of Plant Physiology*, **163**: 475-479.
- Vencill, V. K. (2002). *Herbicide Handbook*, 8th ed.; Lawrence, KS: Weed Science Society of America
- Vidakovic-Cifrek, Z., Pavlica, M., Regula, I. and Papers, D. (2002). Cytogenetic damage in shallot (*Allium cepa*) root meristems induced by oil industry High-Density Brines. *Environmental Contamination and Toxicology*, **43**: 284–291.
- Vural, N., 1984, “Toksikoloji”, Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yay. No. 56, Ankara
- Webster, P.L., and Macleod, R.D. (1996). The root apical meristem and its magrin, In: Waishel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U., (Eds.), *Plant roots. the hidden half* (Second Ed.), Marcel Dekker, New York, pp. 51–76.
- Wierzbicka, M. (1988). Mitotic disturbances induced by low doses of inorganic lead. *Caryologia*, **41**: 143-163.
- Yavuz O. ve Şanlı, Y.,(1999). Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisid Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri, I. Seminer. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri
- Yüzbaşıoğlu D. (2001). Illoxan ve Racer herbisitlerinin *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde mitoz bölünmeye ve kromozomlara etkileri.Doktora Tezi, Gazi üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Sancak C. ve Kasab, R. (2003). Cytological effects of herbicide racer flurochloridone on *Allium cepa*. *Caryologia*, **56**: 97-105.



- Zabalza A., Gastón, S., Sandalio, L.M., del Río, L.A. and Royuela, M. (2007). Oxidative stress is not related to the mode of action of herbicides that inhibit acetolactate synthase. *Environ Exp Bot*, **59**: 150–159
- Zhou, Q., Liu, W., Zhang, Y. and Liu, K.K. (2007). Action mechanisms of acetolactate synthase inhibiting herbicides. *Pest Biochem Physiol* **89**:89–96.

### **İnternet Kaynakları**

1-<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/34179>, 25.06.2013

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nur Serap ÖZTÜRK  
Doğum Yeri : merkez/karabük  
Doğum Tarihi : 03/04/1989  
Yabancı Dili : İngilizce  
İletişim (Telefon/e-posta) : biyologg\_serap@hotmail.com

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Karabük Demir Çelik Lisesi (2003-2006)  
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi (2007-2011)  
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi (2011-2013)