

Glyphos ve DDVP' nin *Allium cepa* L.' da Mitoz Bölünme ve Kromozomlar Üzerine Etkisi

Zeynep FINDIKLI* ve Şifa TÜRKÖĞLU

*Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 58140\Sivas

* zeynepfindikli@gmail.com

Received: 05.11.2009, Accepted: 21.12.2009

Özet: Bu çalışmada, bir pestisit olan Glyphos ve DDVP' (2,2-dichlorovinly dimethyl phosphate) nin *Allium cepa* L.'da mitotik safha oranları, mitotik indeks ve kromozomlar üzerine olan etkileri araştırılmıştır. *Allium cepa*' nin kökleri Glyphos' un (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm ve 60 ppm) ve DDVP' nin (0.5 ppm, 1.0 ppm, 1.5 ppm, 2.0 ppm ve 2.5 ppm) konsantrasyon serileri ile 24 saat muamele edilmiştir. Bu kimyasalların bütün dozları *Allium cepa*' nin kök uçlarında hücre bölünmesi üzerinde inhibitör etkisi göstermiş ve mitotik indeks üzerinde bir azalmaya neden olmuştur. Bu bileşikler test materyalinde kromozom anormalliklerini artırmışlardır. Bu anormallikler C-mitoz, anafaz köprüsü, yapışkanlık, kırılma, kalgın kromozom, vakuollü nükleus ve multinükleusdur.

Anahtar Kelimeler: Pestisit, kromozom anormallikleri, mitotik indeks, DDVP, Glyphos

The Effects of Glyphos and DDVP on Mitotic Division and Chromosomes in *Allium cepa* L.

Abstract: In this study, the effects of Glyphos and DDVP (2,2-dichlorovinly dimethyl phosphate) (pesticides) were investigated on mitotic phases, mitotic index and chromosomes in *Allium cepa* L. The roots of *Allium cepa* were treated with a series of concentrations of Glyphos (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm and 60 ppm) and DDVP (0.5 ppm, 1.0 ppm, 1.5 ppm, 2.0 ppm and 2.5 ppm) for 24 h. All concentrations of these chemicals showed an inhibitory effects on cell division in root tips of *Allium cepa* and caused a decrease in mitotik index values. These compound increased chromosome abnormalities in test material. These abnormalities were C-mitosis, anaphase bridges, stickiness break, laggard chromosome, vacuolated nuclei and multinuclei.

Key Words: Pesticides, Chromosome abnormalities, Mitotic Dvision, DDVP, Glyphos

Giriş

Pestisitler, dünyanın birçok ülkesinde tarımsal ürünlere zarar veren bitki ve hayvanlara karşı sıklıkla kullanılmaktadır. Pestisit uygulaması, zararlıların kontrolünde hızlı ve yüksek etkiye sahip olmasına rağmen, bu kimyasalların kontrolsüz kullanımı çevre kirliliğine ve besin kontaminasyonuna neden olmaktadır. Bu çevresel kirlenmeler yaşayan organizmaların tümü için toksik etkiye sahip olur [1-6]. Bazı kimyasallar toksik bir seviyede besin zincirine katıldıklarında insan sağlığı üzerinde direk etkiye sahip olurlar [7, 8]. Pestisitlere direk veya indirek maruz kalan insanlarda kanser frekansının arttığı görülmüştür. Çevresel zararlıların biyolojik etkilerinin tespitinde 200'den fazla yöntem bilinmektedir. Bitki test sistemleri çevresel zararlılar tarafından meydana getirilen somatik mutasyonlar ve kromozom hasarlarının tespitinde diğer sistemlerden çok daha fazla kullanılır. Genellikle çevresel zararlıların toksik etkileri bitki hücrelerinde genetik hasara neden olur. Fakat toksisite her zaman genotoksisite ile ilgili değildir [9].

Glyphos evde, tarımsal amaçlı ve bitki büyüme hormonu olarak kullanılan kimyasal bir herbisittir. Memeliler üzerindeki toksik etkisi diğer herbisitlere oranla daha düşüktür. Suda ve yiyeceklerde daha az kirliliğe neden olur. Glyphos'un etkin maddesi Aminometilfosfonik Asit (AMPA) dir. Glyphos seçici değildir, tüm bitkileri öldürür. Sistemik bir ilaç olduğundan bitkinin yeşil aksamına nüfus ederek köklere kadar taşınabilir. Amino asitlerin sentezini engeller ve herhangi bir yayıcı ajanla su olmadan da çözünme yeteneğindedir [10].

Dichlorvos (2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate; DDVP) tarımsal mücadelede, halk sağlığı ve veteriner hekimlikte insektisit olarak sıklıkla kullanılan geniş spektrumlu organik fosforlu (OF) bir bileşiktir. Çevre koruma örgütü (EPA) tarafından hazırlanan sıralamada çok zehirli insektisitler arasındadır. DDVP birincil toksik etkisini, asetil kolinesteraz enzimini inhibe ederek gösterir. Hava ile dichlorvos maruz kalındığında göz ve solunumda çeşitli rahatsızlıklar ortaya çıkabilir. Eğer yoğun bir şekilde etkilenme meydana gelmişse kaslarda zayıflama, kasılma, kas seğirmeleri ve ileri aşamalarda felç oluşabilir. Kalbin durmasını da içeren atım düzensizlikleri görülebilir [11]. Dichlorvos çabuk buharlaşması nedeniyle deri, sindirim ve solunum yoluyla kolayca adsorbe edilebilir [12]. Bu pestisit karaciğer tarafından hızla inaktive edilerek desmetildiklorvos, dimetilfosfat ve dikloroasetaldehit metabolitlerine dönüştürülür [13, 14]. Dichlorvos yer altı sularına karışma riski olan pestisitlerdendir. Pek çok araştırmada organofosfatlı pestisitlerin, organik klorlu pestisitler gibi karbonhidrat metabolizmasını etkileyerek hiperglisemiye neden olduğu ileri sürülmektedir [15, 16].

Yapılan literatür taramalarında Glyphos'un genotoksik ve mutajenik etkilerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. DDVP'nin *Drosophila melanogaster*'de oluşturduğu

mutasyon tipleri ve canlı kalma oranları araştırılmış, dozlara bağlı olmaksızın canlı kalma oranları düşmüş ve kanatlarında mutasyonun arttığı gözlenmiştir [17].

Allium test sitotoksik etkilerin araştırılmasında sıklıkla kullanılan bir kontrol testidir [18]. *Allium* test birçok avantaja sahiptir, kolay uygulanabilir olması, ucuza mal olması ve yöntemin basitliği bu avantajlardan bazılarıdır. Ayrıca mitotik hücrelerdeki bütün anormalliklerin tespitinde rol oynaması nedeniyle en fazla tercih edilen yöntemdir. Bu özelliklerin yanı sıra memeli test sistemleri ile de iyi bir korelasyon göstermektedir [18-23]. Bu nedenle bu çalışmada test materyali olarak *Allium cepa* L. kullanılmıştır.

Bu çalışmanın amacı *Allium cepa* L.'nin kök ucu hücrelerinde Glyphos ve DDVP tarafından meydana getirilen kromozom anormalliklerini incelemektir. Ayrıca mitotik indeks ve mitotik kromozom anormallikleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Çalışmamızda materyal olarak kullanılan *Allium cepa* L. (soğan), üç gün oda sıcaklığında çimlendirilmeye bırakılmıştır. Herbisit olarak kullanılan Glyphos'un 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm ve 60 ppm'lik dozları, insektisit olarak kullanılan DDVP'nin 0.5 ppm, 1.0 ppm, 1.5 ppm, 2.0 ppm ve 2.5 ppm'lik dozları kullanılmıştır. Bu hazırlanan dozlar kimyasalların kullanım şartları göz önüne alınarak hazırlanmıştır. Kontrol grubu soğanlar ilaçla muamele edilmemiştir.

A. cepa L. bitkisi çimlendikten sonra 24 saat Glyphos ve DDVP'nin farklı dozları ile muamele edilmiştir. Bu süre sonunda *A. cepa* L. kökleri uçlara yakın bölgeden makasla kesilerek etil alkol-glasiyel asetik asit (3:1) karışımında +4°C de 24 saat süre ile fikse edilmiştir. Fikse edilen köklerin hücre çeperlerinin parçalanması için 1N HCl çözeltisinde 7-10 dk bekletilerek doku yumuşatılmıştır ve kökler orcein ile boyanmış ve ezme yöntemi ile preparatlar hazırlanmıştır. Preparatlar mikroskopta incelenerek her doz ve kontrol için en az 1500 hücre sayılmış ve hasarlı hücrelerin fotoğrafları çekilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Allium cepa L. kök hücrelerine 24 saat süre ile Glyphos ve DDVP'nin uygulanması sonucu, mitotik indeks ve mitotik safhalarla ilgili elde edilen veriler Tablo 1'de görülmektedir.

Mitotik indeks yaşayan tüm organizmalar için kabul edilebilir bir sitotoksik ölçüttür [24]. Sitotoksik seviye mitotik indeks oranındaki azalmayla belirlenebilir. %50' den daha az orandaki azalmalar genelde subletal etkiyi ifade eder. Eğer mitotik indeks oranındaki azalma

%50' nin üzerine çıkarsa test organizması üzerinde öldürücü etkiye sahip olabilir. Genellikle sitotoksik maddeler mitoz üzerine olan etkilerini mikrotübül oluşumunu inhibe ederek gösterirler. Birçok araştırmacıya göre C-mitoz, multipolar anafaz ve yapışkanlıklar gibi anormallikler iğ ipliği formasyonunun inhibisyonuna bağlanmaktadır [24- 27]. Yapılan istatistiksel analizlerde, kontrol grubu ile diğ er uygulama grupları arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir. Diğ er uygulama grupları arasındaki istatistiksel ilişkiler Tablo 1 ve Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Glyphos'un farklı dozlarının 24 saat süre ile *Allium cepa* L. köklerine uygulanması sonucu elde edilen mitotik safha, mitotik indeks ve kromozom anormallikleri oranları

DOZ	T.H.S. *	B.H.S. *	Profaz*	Metafaz*	Anafaz*	Telofaz*	M.I ± ORT*	V.N.*	M.N.*	C-Mitoz	A.K.*	Y.*	K.*	K.K.*	T.H.H.O. *
Kontrol	1530	321	16,33 ± 1,25 a	2,15 ± 1,19 ad	1,76 ± 2,28 ac	0,58 ± 1,00 a	20,90 a	—	—	—	—	—	—	—	— a
10 ppm	1580	108	5,69 ± 0,18 b	0,62 ± 1,27 bd	0,37 ± 0,38 b	0,43 ± 2,19 a	6,83 b	9,36	6,64	0,24	—	0,18	—	—	13,50 b
20 ppm	1550	171	5,92 ± 3,15 b	3,01 ± 2,18 a	0,96 ± 1,14 ac	1,08 ± 0,58 a	11,03 c	7,93	1,35	0,96	0,25	0,19	0,19	0,19	10,84 c
30 ppm	1520	228	10,9 ± 1,11 c	1,69 ± 2,00 d	1,30 ± 1,25 ac	1,30 ± 0,25 a	15,00 d	9,86	—	0,59	—	—	—	—	10,46 c
40 ppm	1590	223	9,60 ± 0,34 cd	1,59 ± 2,25 d	2,00 ± 2,16 c	0,75 ± 2,90 a	14,01 dc	9,67	1,43	1,05	0,18	—	—	0,18	12,50 bd
50 ppm	1640	249	10,17 ± 1,29 cd	1,82 ± 3,15 cd	1,82 ± 1,21 c	1,33 ± 1,49 a	15,18 d	10,48	2,43	0,60	—	—	0,18	0,29	13,90 b
60 ppm	1480	228	9,38 ± 2,13 d	1,13 ± 0,92 d	1,68 ± 2,00 c	1,21 ± 2,12 a	13,37 e	9,32	1,07	1,07	—	—	0,20	—	11,75 cd

*T.H.S.=Toplam Hücre sayısı; *B.H.S.= Bölünen Hücre Sayısı; M.I.= Mitotik İndeks; Ort.= Ortalama; V.N.= Vakuollü Nükleus; M.N.= Multinükleus; A.K.= Anafaz

Köprüsü; Y.= Yapışkanlık; K.= Kırılma; K.K.= Kalgın Kromozom; T.H.H.O.= Toplam Hasarlı Hücre Oranı

* Her sütunda aynı harfle gösterilenler istatistiksel olarak önemsizdir (P > 0.05).

Tablo 2. DDVP'nin farklı dozlarının 24 saat süre ile *Allium cepa* L. köklerine uygulanması sonucu elde edilen mitotik safha, mitotik indeks ve kromozom anormallikleri oranları

DOZ	T.H.S.*	B.H.S.*	Profaz*	Metafaz*	Anafaz*	Telofaz*	M.I ± ORT.*	V.N.*	C -Mitoz	A.K.*	Y.*	K.*	K.K.*	M. N.*	T.H.H.O.*
Kontrol	1530	321	16,33 ± 0,19 a	2,15 ± 0,21 a	1,76 ± 1,79 a	0,58 ± 0,70 a	20,90 a	—	—	—	—	—	—	—	— a
0.5 ppm	1630	82	2,80 ± 1,27 b	0,79 ± 0,34 b	1,03 ± 1,06 a	0,36 ± 2,21 b	5,20 b	7,73	—	0,18	0,36	—	0,18	—	7,97 b
1.0 ppm	1620	109	4,74 ± 1,33 c	0,66 ± 1,24 b	1,03 ± 2,11 a	0,24 ± 1,17 c	6,72 bc	10,85	0,24	—	0,18	—	—	—	11,35 c
1.5 ppm	1530	130	6,72 ± 0,58 d	0,58 ± 0,11 b	0,90 ± 0,13 a	0,25 ± 1,34 c	8,49 c	6,19	0,25	0,19	0,39	0,19	0,19	—	6,92 bd
2.0 ppm	1540	233	12,90 ± 0,47 e	0,89 ± 0,31 b	0,97 ± 2,06 a	0,31 ± 2,11 d	15,11 d	5,90	0,58	—	—	0,38	0,19	—	7,90 b
2.5 ppm	1500	156	8,12 ± 2,51 f	1,00 ± 1,42 b	0,92 ± 1,24 a	0,32 ± 1,19 d	10,40 e	4,60	0,26	0,32	0,20	—	—	0,46	5,72 d

*T.H.S = Toplam hücre sayısı ; B.H.S = Bölünen hücre sayısı ; M.I. = Mitotik indeks ; ORT.= Ortalama V.N. = Vakuollü nükleus ; A.K.= Anafaz köprüsü ; Y. = Yapışkanlık ; K. =Kırılma ; K.K. = Kalgın kromozom ; M.N. = Multinukleus ; T.H.H.O. = Toplam hasarlı hücre oranı

*Her sütunda aynı harfle gösterilenler istatistiksel olarak önemsizdir (P > 0.05).

Glyphos'un uygulanan dozlarının mitotik safhalar arasında önemli farklılıklar oluşturduğu Tablo 1'de görülmektedir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda mitotik safhalar ile kontrol grubu arasındaki farkın önemli olduğu bulunmuştur.

DDVP'nin farklı dozlarının 24 saat süre ile *Allium cepa* L.'nin kök ucu hücrelerine uygulanması sonucunda mitotik indeks oranının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (Tablo 2). Gruplar arasında yapılan istatistiksel analizler sonucunda kontrol grubu ile tüm gruplar ve 2.0 ve 2.5 ppm'lik gruplar ile diğer gruplar arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık 0.5 ve 1.0 ppm'lik gruplar arasındaki fark önemsiz ve 0.5 ile 1.5 ppm'lik gruplar arasındaki fark ise önemlidir. Tablo 2'de DDVP'nin uygulanan dozlarının istatistiksel verileri görülmektedir. Mitotik safha oranları incelendiğinde kontrol grubu ile tüm gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, mitotik indeksi tüm uygulama gruplarında kontrole göre azaltmıştır. Mitotik indeksteki bu azalmanın doza bağlı olmadığı sanılmaktadır. Bilaloğlu [28] Korthion insektisitini *Allium cepa* L.'ya uygulamış ve mitotik indekste etkin bir şekilde azalmaya neden olduğunu gözlemiştir. Aktaş ve ark. [29] endosülfan'ın mercimek üzerine etkilerini araştırmışlar ve mitotik indekste azalmanın olduğunu saptamışlardır. Mitotik indeks oranında meydana gelen azalmalar mitotik inhibisyonlara bağlanabilir. Kimyasal bir madde bir kez hücrelere temas edip, kritik konsantrasyonlarda hücre içinde kalırsa, hücre döngüleri arasında bozulmalara neden olan aktif bir form oluşturabilir. Bu olumsuz etki uygulama periyodunun uzamasına bağlı olarak gittikçe artabilir. Schreiderman ve ark. [30] mitotik aktivitedeki azalmanın DNA sentezinin inhibisyonu ile gerçekleşebileceğini ileri sürmektedirler. Van't Hof [31] hücre siklusunda G₂ fazının bloke olması veya uzaması ile hücrenin mitoz girmesinin engellendiğini veya geciktiğini, bunun da mitotik indeksi azalttığını belirtmektedir.

Bu çalışma sırasında gözlenen bir diğer değişiklik ise mitotik safhadaki değişimlerdir (Tablo1, Tablo 2). Mitotik safha oranlarındaki değişimler, birçok kimyasal maddelerinin farklı test sistemlerine uygulanması sonucu, tespit edilmiştir. El-Khodary ve ark. bir herbisit olan Garlon-4'ü *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerine uyguladıklarında, mitotik safha oranlarının, kimyasalın doz ve uygulama sürelerine paralel olarak değiştiğini gözlemlenmiştir. Maddenin düşük dozlarında profaz safhası oranı artarken, yüksek dozlarında metafaz safhası oranının arttığı görülmüştür [32].nın Yaptığımız bu çalışma ile de kullanılan pestisitlerin mitotik safhaların oranlarını değiştirdiği belirlenmiştir. Bulgularımız, El-Khodary ve ark. [32] bulguları ile paralellik taşımaktadır. Mitotik safhalardaki değişimler, kullanılan kimyasal maddenin dozlarına bağlı olarak S fazındaki DNA sentezinin inhibisyonuna bağlanabilir.

Yine kullanılan doz ve uygulama süresine bağlı olarak, iğ ipliği formasyonunun bloke olması da bu safhaların oranlarında değişimlere neden olabilir.

Çalışmamızda meydana gelen çeşitli kromozom anormallikleri tespit edilerek Tablo 1 ve Tablo 2’de gösterilmiştir. En fazla anormallik Glyphos’da 10 ppm ve 50 ppm’lik dozlarda görülmüştür. Bu anormallikler sırasıyla vakuollü nükleus (Şekil 1), multinükleus (Şekil 2), C-mitoz (Şekil 3), anafaz köprüsü (Şekil 4), yapışkanlık (Şekil 5), kırılma (Şekil 6) ve kalgın kromozom (Şekil 7)’dur. DDVP’de en sık görülen kromozom anormalliği vakuollü nükleus’dur (Şekil 1).

Badr ve Ibrahim [33] Glean herbisitini *Allium cepa* L. ve *Vicia faba* kök meristemlerine uygulamışlar ve mitoz bölünme, kromozomlar ve nükleik asitler üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Araştırma sonunda, bu herbisitinin neden olduğu kromozomal anormalliklerin, iğ ipliklerinin yapısındaki bozulmalardan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Bir insektisit olan deltametrinin *Allium sativum* ve *Allium cepa*’nın kök meristemlerine uygulanması sonucu çeşitli mitotik kromozom anormalliklerinin olduğu da belirlenmiştir [34].

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda her iki madde ile muamele edilen tüm uygulama grupları ile kontrol grubu arasında önemli fark olduğu tespit edilmiştir. Glyphos ile yapılan incelemelerde 10 ppm ile 40 ve 50 ppm’lik dozlar arasındaki farkın ve 20 ppm ile 30 ve 60 ppm’lik dozlar arasındaki farkın önemsiz olduğu gözlenmiştir. DDVP ile yapılan incelemelerde ise 1.0 ppm’lik doz ile diğer tüm dozlar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir. 1.5 ile 2.5 ppm’lik doz arasındaki farkın önemsiz olduğu bulunmuştur.

Yapılan bu araştırmada, mikroskopik gözlemler sonucu tespit ettiğimiz kromozom anormalliklerinin oluşum nedenleri, genel olarak üç grupta toplanabilir [35]. İlk grupta, yukarıdaki birçok çalışmada ve kendi çalışmamızda da gözlenmiş olan, kullanılan kimyasal maddelerin iğ ve aster iplikleri gibi mitotik aygıtları etkilemesi sonucu meydana gelen mitotik kromozom anormallikleri sayılabilir. Bu grup içine C-mitoz, çok kutupluluk (multipolarite), poliploidi ve kalgın kromozomlar dahil edilebilir. Gözlenen anormalliklerin dahil olduğu diğer grupta, bölünme sırasında kromozomlarda, fizyolojik bir etkinin sonucu olarak meydana gelen kromozom yapışkanlıkları sayılabilir [36]. Üçüncü grup da kromozom bozuklukları olarak kromozom kırılmaları, kromozom köprüleri, fragmentler ve mikronükleuslar sayılabilir [37, 38].

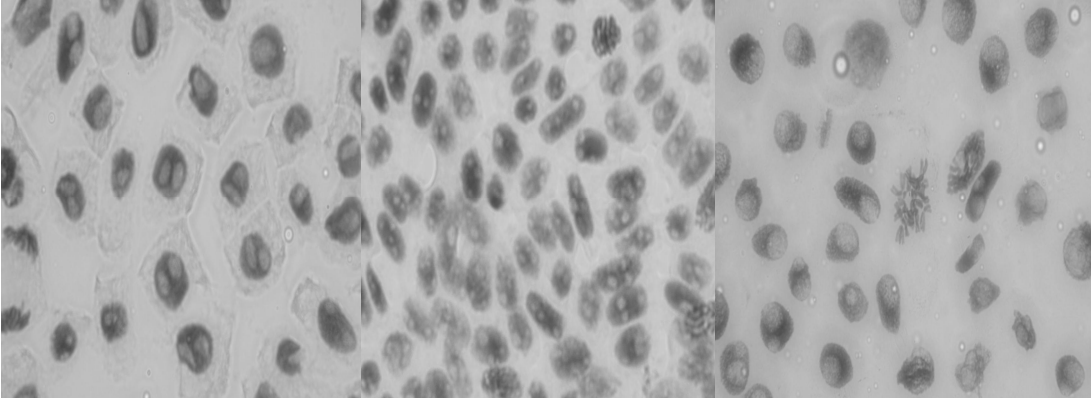
Glyphos ve DDVP’nin farklı dozlarının *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerine uygulanması sonucu rastlanan anormalliklerden biri C-mitozdur (Şekil 3, Tablo 1, Tablo 2). Metafazda kromozomların düzensiz dağılmış olan hücre devresine C-mitoz denir. Kullanılan kimyasal maddenin etkisi colchicine benzemektedir ve iğ ipliklerinin yapısını bozmaktadır.

Buna bağı olarak da sentromer bölünmesi gecikmekte ve kromozomlar replike olmuş fakat birbirlerinden ayrılmamış olarak hücre içinde dağınık durumda kalmaktadır. Metafazdaki bu tip anormallikler, mitotik indeksin azalmasına neden olabilir. C-mitoz hücreleri farklı kimyasal maddelerle muamele edilen birçok test materyalinde tespit edilmiştir [39- 43].

Çalışmamızda mikroskobik incelemeler sonucu gözlenen anormalliklerden bir diğeri, anafaz köprüsüdür (Şekil 4). Anafaz köprüsü kullandığımız iki kimyasalda da gözlenmiştir (Tablo 1, Tablo 2). Kromozom köprüleri, genellikle metafazda kromozomların yapışması veya kullanılan kimyasal maddelerin klastojenik etkisi sonucu kromozomların kırılıp sonra yeniden birleşmesi sonucu meydana gelebilir [44, 45]. Kromozom segmentlerinin düzensiz translokasyon ve inversiyonları da kromozom köprülerine neden olabilir [43]. Kromozom köprüleri veya kromatidler arası bağlantılar metafazda kardeş kromatidlerin birleşimi sonucu oluşan kromatin fiberleri tarafından meydana getirilirler ve bu kromatidler geç anafaz veya telofaza kadar bir arada kalırlar. Eğer bu bağlantılar çok gerilirse, kromatidler anafazdaki birleşme noktalarında veya bu noktalara yakın yerlerden kırılabilirler. Bu kırılmalar kardeş kromatidlerin her ikisinde de ayrı noktada meydana gelebilir ve sonuçta kromozom benzeri yapılar olan fragmentlerin oluşumuna neden olur.

Diğeri bir kromozomal anormalliğimiz ise yapışkanlıktır (Şekil 5). Patil ve Bhat [46] kromozom yapışkanlığını çoğunlukla kromatin materyalinin protein matriksini içine alan fizyolojik bir adezyon tipi olarak tanımlamıştır. Yapışkanlık DNA'daki fosfat grupları ile komplekslerin formasyonu üzerine kimyasal maddelerin etkisi olarak kabul edilebilir [47]. Liu ve ark. [48] kromozom yapışkanlığının geri dönüşümsüz hücre ölümüne neden olan bir anormallik tipi olduğunu belirtmişlerdir.

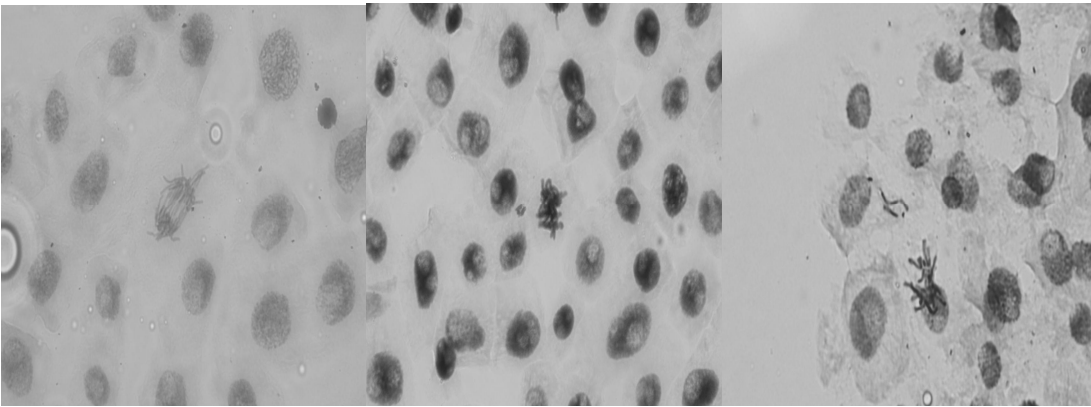
Kalın kromozom, Glyphos ve DDVP ile muamele edilen test materyalinin hücrelerinde gözlenen bir diğeri anormalliktir (Tablo 1, Tablo 2, Şekil 7). Kalın kromozom, hücrenin farklı kutuplarına hareket etmekte geç kalan kromozomlardan kaynaklanmaktadır. Patil ve Bhat [46], kalın kromozomların iğ ipliklerinin organizasyonunda veya fonksiyonlarındaki bir bozukluktan oluşabileceklerini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca asentrik fragmentlerde kalın kromozom olarak kabul edilmektedir.



Şekil 1. Vakuollü Nükleus

Şekil 2. Multinükleus

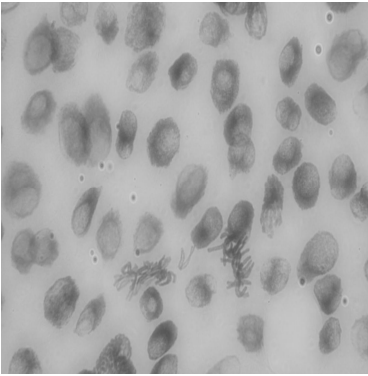
Şekil 3.C-Mitoz



Şekil 4 .Anafaz Köprüsü

Şekil 5. Yapışkanlık

Şekil 6. Kırılma



Şekil 7. Kalgın Kromozom

Diğer bir anormallik ise kromozom kırıklarıdır (Tablo1, Tablo 2, Şekil 6). Kromozom kırıklarına neden olan kimyasal maddeler klastojenik ajanlar olarak bilinirler ve kromozomlar üzerindeki etkilerini DNA'ya etki ederek gerçekleştirdikleri belirtilmektedir [49].

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen bulgular Glyphos ve DDVP'nin *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde sitotoksik ve genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kromozom anormallikleri kimyasalların genotoksik etkilerini belirlemek için duyarlı bir veri olarak kullanılmaktadır. Sonuçlardan görüldüğü gibi *Allium cepa* L. pestisitlerin genotoksik etkilerini tespit etmek için kullanılan bir biyosensördür. Çalışmada kullanılan her iki madde mitotik indeksi düşürdüğünden sitotoksik aktiviteye sahip oldukları kabul edilebilir. Ayrıca, kalıtım materyali üzerine olan etkilerinden dolayı genotoksik olarak da kabul edilebilir. Bu sonuçlar, Glyphos ve DDVP'nin bitkiler için mutajenik ajanlar olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle bu maddelerin tarım alanlarındaki kullanımlarının sıkı bir şekilde kontrol altında tutulması gerekir.

Kaynaklar

- [1] Amdur, M.O., Doull, J., Klassen, C.D., Caserett and Doull's Toxicology. The basic science of poisons. Pergamon Press, New York 1033, 1991.
- [2] Soheir, M.A. and Odette, R.F. Cytologia effects of Pesticides XII. effects of the phosphorathioate insecticide dursban on the mitosis of *Vicia faba*. Cytologia, 48: 27-33, 1983.
- [3] Pandey R.K., Shukla R. and Datta S., Chromotoxic effects of one fungicide (Dithane M-50) and two insecticides (Aldrex-30 and Metacid-50). Cytologia, 59:419-422, 1994.
- [4] Yüzbaşıoğlu D., Cytogenetic effects of fungicide Afugan on the meristematic cells of *Allium cepa* L. Cytologia, 68(3): 237-243, 2003.
- [5] Çelik M., Yüzbaşıoğlu D., Ünal F., Arslan O. and Kasap R. Effects of dinocap on the mitosis of *Allium cepa* L., Cytologia, 70(1), 13-22, 2005.
- [6] Kırımhan, S., N. Boyabat ve B. Keskinler. Karasu (Kaynak-Aşkale arası) kirlilik araştırmaları. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinin Su Kaynakları ve Sorunları Simpozyumu, Erzurum, 454-470, 1984.
- [7] Bolle P., Mastragela P., Tucci M.G., Evandri, Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test. Environmental and Molecular Mutagenesis, 43:137-142, 2004.
- [8] Cantor K.P., Blair A., Everett G., Gibson R., Burmeister L.F., Brown L.M., Schumann L. and Dick F.R., Pesticides and other agricultural risk factors for non-Hodkin's lymphoma among men in Iowa and Minnesota. Cancer Research, 52: 2447-2445, 1992.

- [9] Kovalchuk O., Kovalchuk I., Arkhipov A. Telyuk P., Hohn B. and Kovalchuk L., The *Allium cepa* L. chromosome aberration test reliably measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the Ukraine contaminated by the Chernobyl accident. *Mutation Research*, 415: 47-57, 1998.
- [10] <http://www.odevturk.com/indirir2.asp?id=42221>
- [11] Hathaway GJ, Proctor NH, Hughes JP, Fischman ML. Proctor and Hughes chemical hazards of the workplace. 3rd edition New York: Van Nostrand Reinhold; 1991.
- [12] Parmeggiani L. Encyclopedia of occupational health and safety. Vol. 2. Geneva: International Labour Organization; 1983.
- [13] Bradway De, Shafik TM, Lores EM. Comparison of cholinesterase activity, residue levels, and urinary metabolite excretion of rats exposed to organophosphorus pesticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(6): 1353-8, 1977.
- [14] Hayes AI, Wise RA, Weir FW. Assessment of occupational exposure to organophosphates in pest control operators *Am Ind Hyg Assoc Journal*, 41(8): 568-75, 1980.
- [15] Seifert J. Toxicologic significance of the hyperglycemia caused by organophosphorous insecticides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67:463-9, 2001.
- [16] Sudhakar R., Ninge G.K.N. and Venu, G. Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cell of *Allium cepa* L. *Cytologia*, 66: 235-239, 2001.
- [17] Ekebaş S., Çakır Ş., Ertuğrul O., Kence A. Bazı kimyasal maddelerin (Azametis, Diklorvos, Metil Parathion, Aflotoksin B₁) mutajenik etkisinin *Drosophila melanogaster*' de SMART yöntemi ile araştırılması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 20: 563-569, 2000.
- [18] Fiskesjo G., The *Allium* test as a standart in environmental monitoring. *Hereditas*, 102: 99-112, 1985.
- [19] Fiskesjo G., A 2-3 day plant test for toxicity assesment by measuring the mean root growth of onions (*Allium cepa* L.) *Environ Toxicol and Wat Quality*, 8: 461-470, 1993.
- [20] Jovtchev G., Stergios M., and Schubert I., A comparison of N-methyl-N-nitrosourea-induced chromatid aberrations and micronuclei in barley meristems using FISH techniques *Mutation Research*, 517: 47-51, 2002.
- [21] Grant W.F., The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation Research*, 310: 175-185, 1994.
- [22] Yi H.L., and Meng Z.Q., *Acta Phytoecol. Sin.*, 26: 303-307. In: Sang N., Li G. and Xin X., 2006. Municipal landfill leachate induces cytogenetic damage in root tips of *Hordeum vulgare*. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 63: 469-473, 2002.
- [23] Smaka-Kinell V., Stegnar P., Lovka M. and Toman J., The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. *Mutation Research*, 368: 171-179, 1996.

- [24] Amer S.M., Alı E.M., Cytological effects of pesticides V. Effects of some herbicides on *Vicia faba*. *Cytologia*, 39: 633-643, 1974.
- [25] Haliem A.S., Cytological effects of the herbicide sencor on mitosis of *Allium cepa*. *Egyptian Journal of Botany*, 33:93-104, 1990.
- [26] Grant W. F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations-a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals, *Mutation Research*, 426, 107-112, 1999.
- [27] Lazareve E.M., Polyakov V.Y., Chentsov Y.S. and Smırnova E.A., Time and cell dependent formation of heterogeneous tubulin arrays induced by colchicines in *Triticum aestivum* root meristem. *Cell Biology International*, 27:633-646, 2003.
- [28] Bilaloğlu R., Gromoxone, Afolon ve Korthion'un hücre bölünmesi ve kromozomlar üzerine etkileri. *Cum. Üniv. Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 3:191-204, 1984.
- [29] Aktaç, T. ve ark. Endosulfanın mercimek kök ucu hücreleri üzerindeki etkileri. *Türk Biyoloji Dergisi*, 18: 27-37, 1994.
- [30] Schneiderman M. H., dewey W. C., Highfield D. P. Inhibition of DNA synthesis in synchronized Chinese hamster cell treated in G₁ with cycloheximide, *Experimental Cell Research*, 67, 147-155, 1971.
- [31] Van't Hof J. The action of IAA and kinetin on the mitotic cycle of proliferative and stationary phase excised root meristem. *Experimental Cell Research*, 51, 167-176, 1968.
- [32] El-Khodary S., Habib A. And Haliem A. Cytological effect of the herbicide Garlon-4 on root mitosis of *Allium cepa*. *Cytologia*, 54, 465-472, 1989.
- [33] Badr, A, and Ibrahim, A.G. Effect of Herbicide Glean on Mitosis Chromosomes and Nucleic Acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* Root Meristems. *Cytologia*, 52, 293-302., 1987.
- [34] Saxena P.N. Murthy R.C. Gupta S.K. Evaluation of cytogenetic effects of deltamethrin in root *Allium sativum* and *Allium cepa*: A possible mechanism of chromosome damage. *Toxicological Environmental Chemistry*, 91, 577-594, 2009.
- [35] Badr A. Effects of the s-triazine herbicide terbutryn on mitosis chromosomes and nucleic acids in root tips of *Vicia faba* root meristems, *Cytologia*, 51, 571-578, 1986.
- [36] Savage J. R. K., Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *Journal of Medical Genetics*, 12, 103-122, 1975.
- [37] Amdur M.O., Doull J., Klassen C.D., Caserett and Doull's Toxicology. The basic science of poisons. Pergamon Press, New York, 1033, 1991.

- [38] El-Ghamery A. A., El Nahas A. I. and Mansour M. M. The action of atrazine herbşeşde as an inhibitor of cell divisions on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Cytologia* 65, 277-287, 2000.
- [39] El-Ghamery A. A., El-Kholy M. A. and Abou El-Yousser M. A. Evaluation of cytological effects of Zn^{+2} in relation to germination and root growth of *Nigella sativa L.* and *Triticum aestivum L.*, *Mutation Research*, 537, 29-41, 2003.
- [40] Rencüzoğulları E. H.B. İla, A. Karayıldız, M. Topaktaş, Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes treated with sodium metabisulfit a food preservative, *Mutation Research/Genetics Toxicology Environmental Mutagenesis*, 490, 107-112., 2001.
- [41] Borah S. P. and Talukdar J. Studies on the cytotoxic effects of extract of castor seed (*Ricinus communis L.*). *Cytologia*, 67. 235-243, 2002.
- [42] Dönbak L., Rencüzoğulları E., Topaktaş M. The cytogenetic effects of the food additive boric acid in *Allium cepa L.*, *Cytologia*, 67, 153-157, 2002.
- [43] Gömürgeñ A.N. Cytological effect of the potassium metabisulphite and potssium nitrate food preservative on root tips of *Allium cepa L.*, *Cytologia*, 70, 119-128., 2005.
- [44] Türkoğlu Ş. Genotoxicity of five food preservation tested on root tips of *Allium cepa L.* *Mutation Research*, 626, 4-14, 2007.
- [45] Tomkins D. J. and Grant W. F. Comparative cytological effects of pesticides menazon, metrobromuron and tetrachloro nitrile in *Hordeum* and *Tradescanita*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 14: 245-256, 1972.
- [46] Patil B.C. and Bhat T.G.I. A comparative study of MH and EMS in the induction of chromosomal aberrations on lateral root meristem in *Clitoria termata L.*, *Cytologia* 57, 259-264, 1992.
- [47] Valle B. L. and Ulmer D. D. Biochemical effects of mercury, cadmium and lead, *Annual Review of Biochemistry*, 41, 92-128, 1972.
- [48] Liu D. H., Jiang W.S., Wang C. L. Effect of Zn^{+2} on root growth, cell divisions and nucleoli of *Allium cepa L.* *Environmental Science*, 8. 21-27, 1996.
- [49] Chauhan L. K. S., Saxena P. N. and Grupta S. K. Cytogenetic effects of Cypermethrin and Fenverlate on the root meristems cells of *Allium cepa*. *Environmental Experimental Botany*, 42, 181-189, 1999.