

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**





**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce**

**Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / /**

**Tezin Savunma Tarihi : / /**

**Tez Danışmanı :**

**Trabzon**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Biyoloji Anabilim Dalında  
Salar JALALI Tarafından Hazırlanan**

**OXYFLUORFEN HERBİSİTİNİN *HELLANTHUS  
ANNUUS* L. (AYÇİÇEĞİ) KÖK UCU HÜCRELERİ ÜZERİNE MUTAJENİK  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 26 / 02 / 2019 gün ve 1793 sayılı  
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
olarak kabul edilmiştir.**

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. Sema AYAZ**

**Üye : Prof. Dr. Hüseyin İNCEER**

**Üye : Doç. Dr. Melahat ÖZCAN**

  
.....  
.....  
.....

**Prof. Dr. Asim KADIOĞLU**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

“Oxyfluorfen Herbisitinin *Helianthus annuus* L. (Ayçiçeği) Kök Ucu Hücreleri Üzerine Mutajenik Etkilerinin Araştırılması” adlı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda ‘Yüksek Lisans Tezi’ olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek gerek konu seçimi gerekse çalışmaların planlanıp değerlendirilmesinde yardımlarını ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Hüseyin İNCEER’e, teşekkür ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Lisansüstü eğitimim süresince her konuda bana yardımcı olan ve bilgi birikimlerini benimle paylaşan sayın hocam Prof. Dr. Sema AYZA’ya teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca tezimle ilgili yardımlarından dolayı Kemal Vehbi İMAMOĞLU ve Tuba ERGİN’e, deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere ayçiçeği meyvelerinin temini sağlayan Yusuf Alper GEDİK’e teşekkür ediyorum. Lisansüstü eğitimim süresinde desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem Şahnavaz HASANİ ve babam Samad JALALI’ye teşekkür ediyorum.

Salar JALALI  
Trabzon, 2019

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Oxyfluorfen Herbisitinin *Helianthus annuus* L. (Ayçiçeği) Kök Ucu Hücreleri Üzerine Mutajenik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Hüseyin İNCEER’in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri kendim topladığımı, deneyleri ve analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 14/03/2019

Salar JALALI



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET .....	VI
SUMMARY .....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ .....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş .....	1
1.2. Literatür Özeti.....	3
1.3. Oxyfluorfen Herbisitinin Kimyasal Özellikleri, Kullanım Alanları ve Hedef Olmayan Bazı Organizmalar Üzerindeki Etkileri.....	3
1.3.2. Mutajenite Testleri ve Monitör Olarak Kullanılan Bitkiler .....	5
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	7
2.1. Materyal Temini .....	7
2.3. Fiksasyon ve Stoklama .....	8
2.4. Hidroliz.....	8
2.5. Boyama ve Preparat Hazırlama .....	9
2.6. Sitogenetik İncelemeler .....	9
2.7. İstatistiksel Analiz .....	10
3. BULGULAR.....	11
3.1. Oxyfluorfen'in Mitotik Hücre Bölünmesi Üzerine Etkisi .....	11
3.2. Oxyfluorfen'nin Mitotik Kromozomlarda Neden Olduğu Anormallikler.....	14
3.3. Oxyfluorfen'in Mitotik Hücrelerde Mikronukleus Oluşumu Üzerine Etkisi .....	22
4. TARTIŞMA.....	23
5. SONUÇLAR.....	26
6. ÖNERİLER.....	27
7. KAYNAKLAR.....	28
ÖZGEÇMİŞ	

## Yüksek Lisans Tezi

### ÖZET

#### OXYFLUORFEN HERBİSİTİNİN *HELIANTHUS ANNUUS* L. (AYÇİÇEĞİ) KÖK UCU HÜCRELERİ ÜZERİNE MUTAJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Salar JALALI

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Hüseyin İNCEER  
2019, 31 Sayfa

Bu tez çalışmasında, oxyfluorfen herbisitinin *Helianthus annuus* L. kök ucu hücreleri üzerine mutajenik etkileri araştırıldı. Petri kaplarında çimlendirilen akenler, 75, 150, ve 300 ppm oxyfluorfen ile 12 ve 24 saat süreyle muamele edildi. Oxyfluorfen'in doz ve zaman artışına bağlı olarak *H. annuus*'un kök ucu meristematik hücrelerinde mitoz bölünmeyi önemli derece baskıladığı ve mitotik hücrelerde çeşitli kromozomal anormalliklere neden olduğu tespit edildi. Meristematik hücrelerde hücre bölünme frekansının önemli ölçüde azaldığı gözlemlendi. En yaygın kromozom anormallikleri olarak profazda düzgün dağılmamış kromatin, yapışık kromozom, C-mitoz, kromatid köprüsü ve geri kalmış kromozoma rastlanıldı. Bunlara ilave olarak, uygulama gruplarının tamamında mikronükleus oluşumu tespit edildi. Yapılan mutajenite testleriyle oxyfluorfen'in ayçiçeği üzerinde mutajenik bir etkiye sahip olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Oxyfluorfen, *Helianthus annuus*, Kromozom anormallikleri, Mikronükleus, Mitoz, Mutajenite

Master Thesis

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF THE MUTAGENIC EFFECTS OF THE HERBICIT  
OXYFLUORFINE ON *HELIANTHUS ANNUUS* L. (SUNFLOWER) ROOT CELLS

Salar JALALI

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Biology Graduate Program  
Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin INCEER  
2019, 31 Pages

In this thesis, the mutagenic effects were investigated on root tip cells of the herbicide oxyfluorfen on *Helianthus annuus* L. The germinated achenes in petri dishes were treated with 75, 150, and 300 ppm of oxyfluorfen during 12 and 24 hours. Due to the increase in dose and time of oxyfluorfen *H. annuus* was found to significantly suppress in mitotic cell division within meristematic cells at root tips as well as caused various chromosomal abnormalities in mitotic cells. Cell division frequency was significantly reduced in meristematic cells. The most common chromosomal abnormalities were found disturbed chromatin in the prophase, C-mitosis, chromatid bridge and laggard chromosomes. Moreover, micronucleus formation was detected in all treatment groups. It was concluded that oxyfluorfen has a mutagenic effect on sunflower by mutagenicity tests.

**Key Words:** Oxyfluorfen, *Helianthus annuus*, Chromosomal abnormalities, Micronucleus, Mitosis, Mutagenicity



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1. Oxyfluorfen'in (2-Chlor- $\alpha$ , $\alpha$ , $\alpha$ -trifluor-p-tolyl-3-ethoxy-4-nitrophenylether) yapısal formülü.....	4
Şekil 2. Sıvı fazında oxyfluorfenin fotolitik reaksiyon sonucu oluşan ürünlerin yapısının gösterimi .....	4
Şekil 3. a, b Akenlerin filtre kağıtları arasında yerleştirilmesi .....	7
Şekil 4. Mutajenite testlerinde kullanılan aktif kökler.....	8
Şekil 5. Oxyfluorfen uygulanan <i>H.annuus</i> kök ucu hücrelerinde mitotik indeks ve anormallik frekansları.....	13
Şekil 6. Oxyfluorfen'in neden olduğu mitotik hücrelerdeki kromozom anormallikleri....	16
Şekil 7. <i>Helianthus annuus</i> kök ucu hücrelerinin kontrol grubunda mitotik bölünmenin normal profaz safhası .....	17
Şekil 8. <i>Helianthus annuus</i> kök ucu hücrelerinin kontrol grubunda mitotik bölünmenin normal metafaz safhası.....	17
Şekil 9. <i>H.annuus</i> kök hücrelerinin kontrol grubunda mitotik bölünmenin normal anafaz safhası.....	18
Şekil 10. <i>Helianthus annuus</i> kök ucu hücrelerinin kontrol gruplarında mitotik bölünmenin normal telofaz safhası .....	18
Şekil 11. <i>Helianthus annuus</i> aktif köklerinde hücre bölünmesinin profaz safhasında düzgün dağılmamış kromatin.....	19
Şekil 12. <i>Helianthus annuus</i> aktif köklerinde hücre bölünmesinin metafaz safhasında yapışık kromozom.....	19
Şekil 13. <i>Helianthus annuus</i> aktif köklerinde hücre bölünmesinin anafaz safhasında yapışık kromozom.....	20
Şekil 14. <i>Helianthus annuus</i> aktif köklerinde hücre bölünmesinin metafaz safhasında C-mitoz.....	20
Şekil 15. <i>Helianthus annuus</i> aktif köklerinde hücre bölünmesinin anafaz safhasında kromatid köprüsü .....	21
Şekil 16. <i>Helianthus annuus</i> aktif köklerinde hücre bölünmesinin anafaz safhasında geri kalmış kromozom .....	21
Şekil 17. <i>Helianthus annuus</i> hücre bölünmesinde mikronukleus oluşumu.....	22

## TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Oxyfluorfen herbisitinin <i>H. annuus</i> mitotik hücreleri üzerine etkisi .....	12
Tablo 2. Oxyfluorfen'nin <i>H. annuus</i> mitotik hücrelerinde neden olduğu kromozom anormallikleri .....	15
Tablo 3. Oxyfluorfen'nin <i>H. annuus</i> mitotik hücrelerinde mikronukleus oluşumu üzerine etkisi .....	22

## KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ

cm	: Santimetre
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EPA	: Çevre Koruma Ajansı
HCl	: Hidroklorik asit
gr	: gram
L	: Litre
Mİ	: Mitotik İndeks
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
M	: Molarite
ppm	: Milyonda bir kısım
SS	: Standart Sapma
vd	: Ve diğerleri
µm	: mikrometre

# 1. GENEL BİLGİLER

## 1.1. Giriş

Dünya nüfusunun her geçen gün artması ve mevcut tarım alanlarında veriminin düşmesi başta açlık olmak üzere birçok sorununu da beraberinde getirmektedir. Diğer taraftan, tarım alanlarında ürün kaybını azaltmak ve verimliliği arttırmak için başta ıslah ve zirai mücadele olmak üzere çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Yavuz, 2010).

Tarım alanlarında bitkilere zarar veren canlılara karşı yapılan zirai mücadelede kullanılan yöntemler arasında genellikle kültürel, fiziksel, biyolojik ve kimyasal mücadele yer alır. Ancak, bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan kimyasal mücadele yöntemidir (Öztürk ve Tosun, 2004).

Pestisitler, genellikle tarım alanlarında ürün kaybını azaltmak ve verimliliği arttırmak amacıyla zararlılara karşı kullanılan kimyasallardır (Karaismailoglu ve Inceer, 2017). Pestisitler, zararlı hedef organizma grubuna göre insektisit (böcek öldürücü), herbisit (yabancı ot öldürücü), fungusit (mantar öldürücü), akarasit (akar öldürücü), rodentisit (kemirici öldürücü), mollusit (salyangoz öldürücü), nematosit (nematod öldürücü), afisit (yaprak biti öldürücü), avisit (kuş öldürücü), bakterisit (bakteri öldürücü), nematisit (yuvarlak kurt öldürücü) olmak üzere sınıflandırılırlar (Yavuz, 2010). Zirai mücadelede pestisit kullanımı sosyal bir problemdir. Ancak, pestisit kullanımının her geçen gün artması, birtakım sorunlarını da beraberinde getirmektedir (Inceer vd., 2009).

Diğer yandan, pestisitler toprağa veya suya karışabilirler ve besin zinciri yoluyla da başta insanlar olmak üzere diğer organizmalara da geçebilirler. Böylece, tarım alanlarında kullanılan pestisitler, gerek sucul gerekse karasal ekosistemlerde hedef olmayan organizmalar üzerine mutajenik ve/veya kanserojenik etkiler yapabilirler (Grant, 1978; Inceer vd., 2004; 2009).

Pestisitler zirai mücadelede yanlış kullanıldıklarında, yani uygun doz ayarlaması yapılmadığında, gıdalar, yüksek yapılı organizmalar ve dolayısıyla insanlar dahil birçok organizmayı olumsuz yönde etkileyebilirler (Inceer vd., 2004; 2009). Örneğin insanlarda kronik hastalıklara ve ölümlere neden olabilirler (Jayaraj vd., 2016). Bununla birlikte, doğada uzun süre bozulmadan kalabilir ve canlılarda biyolojik birikime neden olabilirler. Bu

nedenle, pestisitlerin hedef olmayan organizmalar üzerindeki etkilerinin mutlaka izlenmesi gerekmektedir.

Mutajen veya kanserojen ajanların hedef olmayan organizmalar üzerindeki sitotoksik ve/veya genotoksik etkilerinin izlenmesinde genellikle bitkilerin meristematik kök uçları veya polen ana hücreleri model bir izleme sistemi olarak kullanılmaktadır (Grant ve Owens, 2002). Bir başka değişle, bitkilerde mitotik hücreler, çevresel kirlenici ajanların klastogenik etkilerinin tespit edilmesi için elverişli bir materyaldir (Ma vd., 1995). Bitki kökleri kullanılarak yapılan mutajenite testleri, ortamdaki hedef olmayan organizmalar için direk veya indirekt riskleri temsil eden mutajen veya kanserojen ajanların varlığı ile birlikte sitotoksisiteyi veya genotoksisiteyi gösterebilir (Fiskesjö, 1985). Aynı zamanda, bitki kökleri ile yapılan testler, çevresel kirlenici ajanların hedef olmayan organizmalar üzerindeki etkilerinin araştırılmasında ucuz, kolay, duyarlı, hassas, güvenilir ve geçerli bir metod sağlamaktadırlar (Grant, 1978). Bununla birlikte, yapılan birçok çalışma, bitki mitotik hücreleri ile memeli hücre sistemlerinin mutajenite testlerinde benzer gösterdiğini de ortaya koymuştur (Majer vd., 2005).

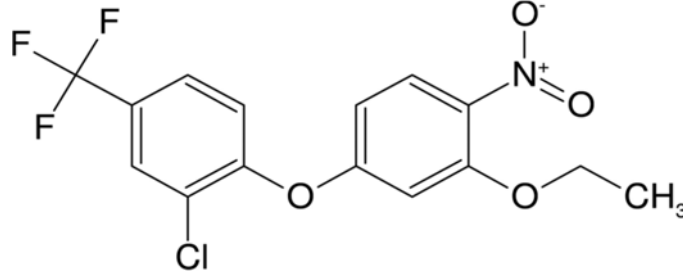
*Helianthus annuus* L. (Ayçiçeği) Asteraceae familyasında yer alan ve ekonomik açıdan önemli olan bir bitkidir (McGregor, 1976). Aynı zamanda, endüstride yağ, yem ve süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır. Bu nedenle, ülkemizde dahil olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde yaygın olarak tarımı yapılmaktadır. Oxyfluorfen herbisiti ayçiçeği tarım alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu herbisit dekarda 100 mL ticari konsantrasyonlarda Darıcan (*Echinochloa crus-galli*), Sirken (*Chenopodium album*), Kokar ot (*Biforia radians*), Papatya (*Matricaria* spp.), Dügün çiçeği (*Ranunculus arvensis*), Bambul otu (*Chrozophora tinctorial*) gibi zararlı yabancı otlara karşı ayçiçeğinin zirai mücadelesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Dindar Yay., 2015). Bu herbisitle ilgili olarak hedef olmayan organizmalar üzerinde bazı çalışmalar yapılmasına rağmen (Rio vd., 1997; Hamdy ve Hassanei, 2002; Dragoeva vd., 2012; Geoffroy vd., 2003; Pannacci vd., 2007), řu ana kadar oxyfluorfen herbisitinin ayçiçeği üzerindeki mutajenik etkilerinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu yüksek lisans tezinde, oxyfluorfen herbisitinin ayçiçeği kök ucu mitotik hücreleri üzerine mutajenik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 1.2.Literatür Özeti

Ekonomik öneme sahip olan bitkilerin ürün ve verimliliği arttırmak amacıyla hastalıklara karşı korunması zirai mücadele olarak tanımlanır (Delen vd., 2005). Ekonomik bakımdan, tarım alanlarında ürünlerde kayıpları azaltmak ve verimliliği arttırmak amacıyla zararlı organizmalara karşı pestisitler yaygın olarak kullanılır (Ragsdale ve Sisler, 1994). Tarım alanlarında kullanılan toplam pestisitler içinde yabancı otlara karşı kullanılan herbisitler %47'lik yüksek bir oranla ilk sırada, böceklere karşı kullanılan insektisitler ise %29'luk bir oranla ikinci sırada yer alırlar (Tiryaki vd., 2010). Böylece her iki pestisit grubu, toplam pestisit kullanımının %70'ninden daha fazlasına kapsar. Diğer yandan, pestisitlerin tarım alanlarında bilinçsiz ve kontrolsüz bir şekilde kullanımı, çevre ve hedef olmayan organizmalar üzerine olumsuz etkiler yapmaktadır. Tarım alanlarında uygulanan pestisitlerin %90'nın üzerindeki büyük bir miktarı agroekosistemler de toprağa ve hedef olmayan organizmalara ulaşmaktadır (Yıldız vd., 2006). Bununla birlikte, pestisitler besin zinciri yoluyla başta insan olmak üzere yüksek yapılı canlılara geçmekte ve böylece çevreye ve insan sağlığına zarar vermektedir (Soyöz ve Özçelik, 2004).

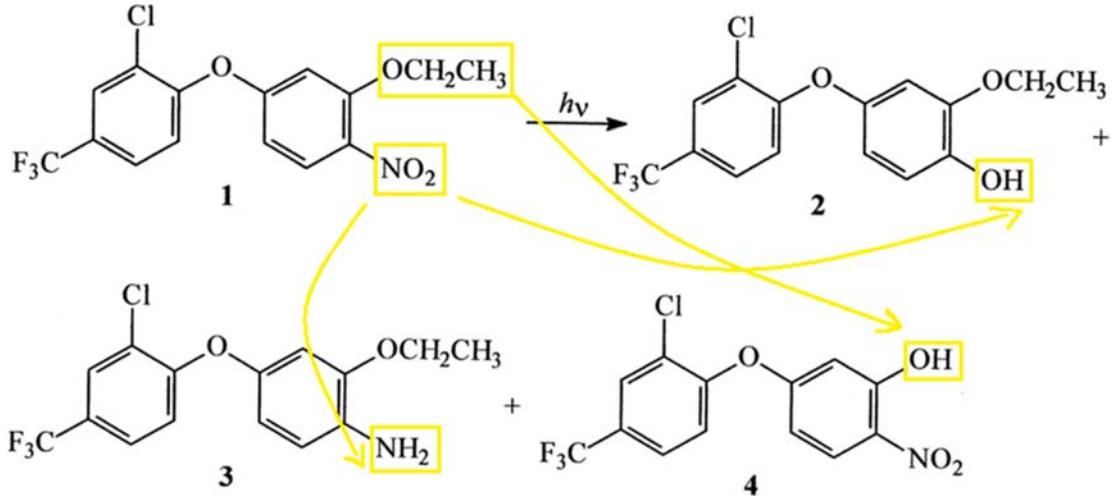
## 1.3. Oxyfluorfen Herbisitinin Kimyasal Özellikleri, Kullanım Alanları ve Hedef Olmayan Bazı Organizmalar Üzerindeki Etkileri

Oxyfluorfen kimyasal olarak turuncu renkli bir kristal maddedir (Şekil 1). Yabancı otlara karşı zirai mücadelede oldukça yaygın olarak kullanılan bir herbisittir (Meister ve Sine, 2006). *Arachis hypogaea* (yer fıstığı), *Zea mays* (mısır), *Helianthus annuus* (ayçiçeği), *Glycine max* (soya fasulyesi), sebze ve pirinç tarlalarında yabancı otların kontrolünde kullanılmaktadır (USEPA, 1992). Oxyfluorfen ile insanların deri dokusunun temas etmesi halinde, kan dolaşımına katılabilir (WSSA, 1989).



Şekil 1. Oxyfluorfen'in (2-Chlor- $\alpha$ ,  $\alpha$ ,  $\alpha$ -trifluor-p-tolyl-3-ethoxy-4-nitrophenylether) yapısal formülü (Stagg vd., 2012)

Oxyfluorfen, güneş ışığında fotolitik ve hetroolitik değişimine uğruyabilir ve türelenen ürünlere dönüşebilir (Şekil 2). Bu kimyasal reaksiyonlar genellikle oxyfluorfen'nin molekül yapısında eter veya etil-oksijen bağlarının kırılması ile meydana gelir (Brodsky vd., 1992; Secrano vd., 2004).



Şekil 2. Sıvı fazında oxyfluorfenin fotolitik reaksiyon sonucu oluşan ürünlerin yapısının gösterimi (Secrano vd., 2004'den değiştirilerek)

Oxyfluorfen, kimyasal yapısı itibari ile bir difenil eter herbisiti olarak, geniş yapraklı otlarda, klorofil sentezini bloke ederek fotosentezi inhibe etme özeliğine sahiptir (Sandmann vd., 1984). Aynı zamanda, hızlı emilebilme özeliğine sahip olan oxyfluorfen, toprak mikroflorasıyla da bir etkileşime girebilir ve mikroflora üzerine olumsuz etkiler yapabilir (Cyon ve Seged, 2007).

Oxyfluorfen sucul ekosistemlerde, *Scenedesmus. obliquus* gibi alglerde klorofil miktarını azaltarak büyümeyi inhibe ettiği tespit edilmiştir (Geoffroy vd., 2003).

Oxyfluorfen insan protoporfirinojen oksidaz enziminin üzerinde yan etkiye sahip olduğu ve hematolojik hastalıklara yol açabileceği belirtilmiştir (Rio vd., 1997). Ayrıca yüksek dozlarda *in vitro* kültür ortamlarında hücre büyümesi ve hücre bölünmesi üzerine sitotoksik etkisi yaptığı ve hemoglobin sentezini inhibe ettiği bildirilmiştir (Rio vd., 1997). Benzer şekilde, *Allium cepa*'da doz ve zamana bağlı olarak meristematik kök uçlarının büyümesini inhibe ettiği ve mitotik hücrelerde bazı kromozom anormalliklerine yol açtığı rapor edilmiştir (Dragoeva vd., 2012).

Zirai mücadele sırasında çevreye bırakılan oxyfluorfen'in yeraltı sularının kirlenmesine yol açabileceği saptanmıştır. Farklı toprak tipleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, oxyfluorfen'in kuvvetli bir şekilde toprak tarafından emildiği ve besin zincirine hızlı ve kalıcı bir şekilde geçtiği belirlenmiştir (Wauchope vd., 1992).

Oxyfluorfen ile muamele edilen maş fasulyesinin kotiledonlarında yapılan incelemeler sonucunda, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) azaldığı, tekli doymamış (C:16,1 C:18,1) yağ asitlerinin ise arttığı tespit edilmiş ve böylece oxyfluorfen'in perokside edici özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bitkilerin sürekli ve aşırı bir şekilde oxyfluorfen ile temas etmesi sonucunda, hücrelerde fosfolipid miktarında azalmalar ve bunun sonucunda hücre zarlarında tahribatlar olduğu gözlenmiştir (Watanabe vd., 2001).

Oxyfluorfen, gerek sucul gerekse karasal ekosistemlerde, omurgasızlardan başlayıp balıklar, kuşlar ve memelilere kadar uzanan çok geniş bir yelpazede canlılar üzerinde toksik bir etkiye sahiptir ve insanlarda çeşitli kronik veya subkronik hastalıklara da neden olmaktadır (Santos vd., 2016). Bununla birlikte, oxyfluorfen'in bakteri ve fare hücre kültürleri üzerine klastogenetik etkisi olduğu (USEPA, 1992), 25°C'de ve yüksek konsantrasyonlarda (300 mg/ L<sup>-1</sup>) tüm biyolojik işlemleri inhibe ettiği de bilinmektedir (Carboneras vd., 2018).

### **1.3.2. Mutajenite Testleri ve Monitör Olarak Kullanılan Bitkiler**

Mutajen, DNA yapısı veya dizisini değiştirerek mutasyona neden olan fiziksel veya kimyasal bir faktör veya ajandır (Karaismailoglu ve Inceer, 2017). Mutajenlerin etkisi sonucu DNA'da hasarlar veya bozukluklar meydana gelir ve bunlar tamir edilemediğinde başta kanser olmak üzere, kısırlık ile bazı genetik ve çok faktörlü hastalıklar oluşur (Atlı-Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).



Kimyasal ajanların mutajenik veya kanserojenik etkilerinin tespiti için mutajenite testleri yapılır. Yaygın olarak kullanılan başlıca mutajenite testleri; kuyruklu yıldız testi (Liman vd., 2011), *Tradescantia* micronukleus testi (Ruiz vd., 1992), *Drosophila* eşeye bağlı letalite testi (Kilbey vd., 1984), *Saccharomyces cerevisia* genotoksisite testi (Buschini vd., 2003), *Allium cepa* kromozom anormallik testi (Fiskesjö, 1985), fare, hamster kemik iliği mikronukleus testi (Ono vd., 2006)'dir.

Mutajenite testlerinde, uygulanan mutajene hızlı bir şekilde yanıt vermesi, memeli hücreleriyle benzer sonuçlar göstermesi, ucuz ve güvenilir olması nedeniyle daha çok bitkiler tercih edilmektedir (Grant, 1978; Fiskesjö, 1985). Bu kapsamda, mutajenlerin sitotoksik veya genotoksik etkilerini izlemede daha çok *Allium cepa* (Fiskesjö, 1985), *Vicia faba* (Sang ve Li, 2004), *Triticum aestivum* (Dragoeva vd., 2012), *Crepis capillaris* (Gadeva ve Dimitrov, 2008), ve *Helianthus annuus* (İnceer vd., 2004; 2009) model bitkiler olarak kullanılır.

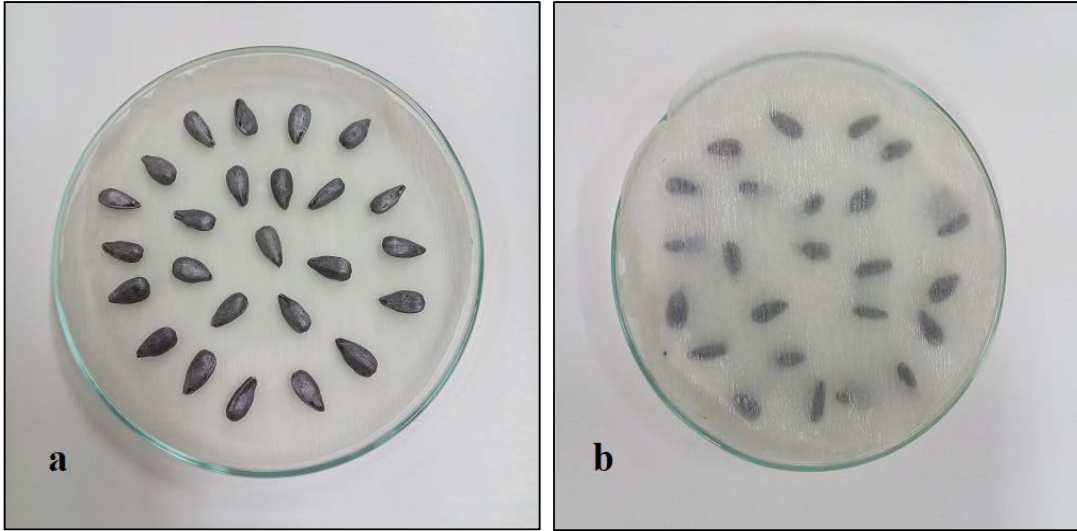
## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Materyal Temini

Bu çalışmada kullanılan *Helianthus annuus* akenleri ve oxyfluorfen herbisiti Samsun'dan bir ticari marketten temin edildi.

Akenler, oxyfluorfen ile muamele yapılmadan önce bir petri kabı içerisindeki saf su ile ıslatılmış filtre kâğıtları arasında yerleştirildi (Şekil 3). Daha sonra etüv de  $22\pm 2$  °C'da çimlenmeye bırakıldı. Çimlenen akenlerin yaklaşık 1 cm uzunluğa erişen aktif kökleri mutajenite testlerinde kullanıldı (Şekil 4).

Mutajenik testlerde kullanılmak üzere oxyfluorfen herbisitinin kontrol grubu ile birlikte 75, 150, ve 300 ppm konsantrasyonları saf su ile hazırlandı. Uygulama süresi olarak hücre döngüsü alınarak 12 ve 24 saatlik zaman dilimleri belirlendi.



Şekil 3. a, b Akenlerin filtre kâğıtları arasında yerleştirilmesi



Şekil 4. Mutajenite testlerinde kullanılan aktif kökler

### 2.3. Fiksasyon ve Stoklama

Çimlendirilen akenlerden alınan aktif kökler 3:1 oranında alkol-asetik asit çözeltisinde +4 °C’de bir gece fikse edildi. Fiksasyondan sonra materyalin daha uzun süre saklanması amacıyla kökler %70’lik alkole alındı. Daha sonra materyaller stok halde +4°C’da buzdolabında muhafaza edildi (Jones ve Rickards, 1990).

### 2.4. Hidroliz

Stok kök örnekleri saf su ile yıkandıktan sonra 1 M HCl’ de, 60 °C’ de (Jones ve Rickards, 1990), 10-12 dakika hidroliz edildi.

## 2.5. Boyama ve Preparat Hazırlama

Hidroliz işlemini takiben kökler saf suyla yıkandı ve daha sonra *Shiff-Reagent* solüsyonunda 1-2 saat bekletilerek aktif kök uçlarının boyanması sağlandı. Boyama sonunda daha belirgin hale gelen kök uçları lam üzerine alınarak bir jilette kesildi ve %45'lik asetik asit (CH<sub>3</sub>COOH) ile ezme preparatlar yapıldı. Entellan ile preparatlar daimî hale getirildi (Elçi, 1994).

## 2.6. Sitogenetik İncelemeler

Her doz için hazırlanan preparatların her birinden rastgele seçilen 5 bölgedeki hücreler sayıldı. Hücre sayımları 5 farklı preparatta yapıldı. Her preparatta mitoz bölünmenin farklı safhalarındaki hücreler incelendi ve kromozomal anormallikler tespit edildi (İnceer ve Beyazoğlu, 2000). Daha sonra, her bir uygulama grubu için mitotik indeks hesaplandı (Kara vd., 1994).

$$\text{Mitotik İndeks (Mİ)} = \frac{\text{Toplam Bölünen Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100$$

Uygulama grupları için mitozun her aşamasında hücrelerin oranı belirlendi. En sık görülen anormalliklerin fotoğrafları çekildi. Normal ve anormal hücrelerin oranı, aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Kara vd., 1994).

Normal hücreler için:

$$\% = \frac{\text{Profazdaki Hücre Sayısı} \times 100}{\text{Toplam Mitotik Hücre Sayısı}}$$

Anormal hücreler için:

$$\% = \frac{\text{Profazdaki Anormal Hücre Sayısı} \times 100}{\text{Profazdaki Toplam Hücre Sayısı}}$$

## 2.7. İstatistiksel Analiz

Kontrol ve uygulama grupları arasındaki istatistiksel farklılıklar, SPSS 20 bilgisayar programında tek yönlü varyans analizi (one way-ANOVA) ile Dunnett t-test (2 yönlü) yapılarak değerlendirildi (P=0,05).



### 3. BULGULAR

Oxyfluorfen'in *H. annuus* aktif köklerine uygulanması ile mitotik hücre bölünmesi ve kromozomlar üzerinde meydana gelen değişimler Tablo 1-2 ve Şekil 5-6, verilmiştir.

#### 3.1. Oxyfluorfen'in Mitotik Hücre Bölünmesi Üzerine Etkisi

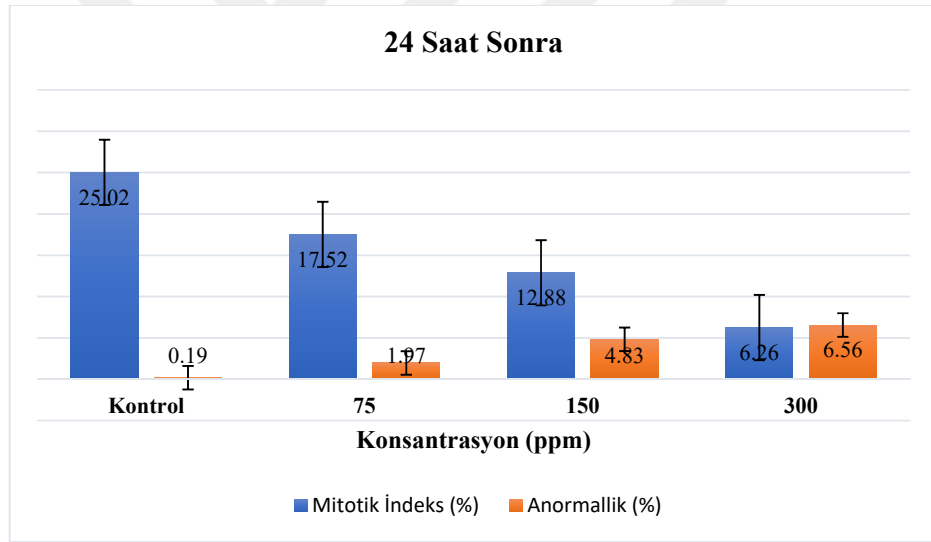
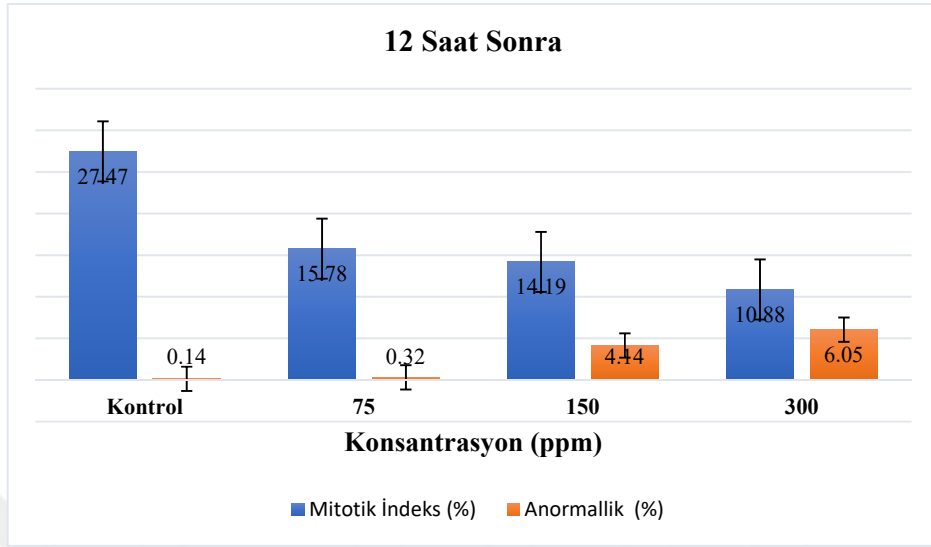
Oxyfluorfen'in, *H. annuus* mitotik hücrelerinde neden olduğu sitogenetik etkiler Tablo 1'de verilmiştir. Mitotik hücre bölünmesinin farklı safhalarında normal ve anormal hücreler sayılarak anormallik yüzdesi hesaplanmıştır. Tablo 1'den görülebileceği gibi, herbisit uygulama grubu ile kontrol grubu birbirleri ile karşılaştırıldığında, mitotik hücre bölünmesinin hemen hemen her safhasında önemli ölçüde frekans değişimlerinin olduğu gözlenmiştir. Uygulanan doz ve zamana bağlı olarak mitotik hücrelerdeki frekans değişimleri en fazla profaz daha sonra sırası ile metafaz ve ana-telofaz'da safhalarında meydana gelmiştir.

Oxyfluorfen'in *H. annuus* aktif köklerinde, mitotik hücre bölünmesi üzerine toksik etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol ve uygulama grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında, her bir uygulama grubunda, doz ve zamana bağlı olarak mitotik indeks de önemli ölçüde azalmalar meydana gelmiştir ( $P = 0,05$ ). Yapılan inceleme ve analizlerde, en düşük mitotik indeks değeri, 24 saat 300 ppm herbisit uygulama grubunda tespit edilmiştir. Benzer şekilde, 24 saat 300 ppm herbisit uygulama grubunda anormal hücrelerin görülme sıklığı, diğer uygulama gruplarına önemli ölçüde artış göstermiştir. Diğer yandan, anormal hücrelerin görülme sıklığı en az 12 saat 75 ppm uygulama gruplarında olmuştur.

Tablo 1. Oxyfluorfen herbisitinin *H. annuus* mitotik hücreleri üzerine etkisi

Zaman (Saat)	Konsantrasyon (ppm)	İncelenen Hücre Sayısı	Mitotik indeks±SS	Profaz (%)		Metafaz (%)		Ana – Telofaz (%)	
				Toplam	Anormal	Toplam	Anormal	Toplam	Anormal
12	Kontrol	3400	27,47 ± 1,08	67,65	0,7	20,78	0,7	11,57	0,7
	75	3749	15,78 ± 0,64*	67,57	1,8	14,84	2,7*	11,70	0,9
	150	3354	14,19 ± 0,48*	46,76*	13,66*	8,56*	18,06*	10,88	1,8
	300	3117	10,88 ± 0,53*	31,37*	2,46*	6,27*	30,63*	4,43*	5,08*
24	Kontrol	3575	25,02 ± 2,21	69,55	0,61	26,68	0,28	3,15	0,28
	75	3499	17,52 ± 1,03*	65,94	5,8	20,83	4,52*	2,71	2,17
	150	3184	12,88 ± 0,3*	40,03*	22,47*	20,10	8,61*	2,63	4,23*
	300	3284	6,26 ± 1,03*	37,16*	27,53*	9,97*	19,03*	1,11*	5,74*

\*P = 0.05



Şekil 5. Oxyfluorfen uygulanan *H.annuus* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks ve anormallik frekansları

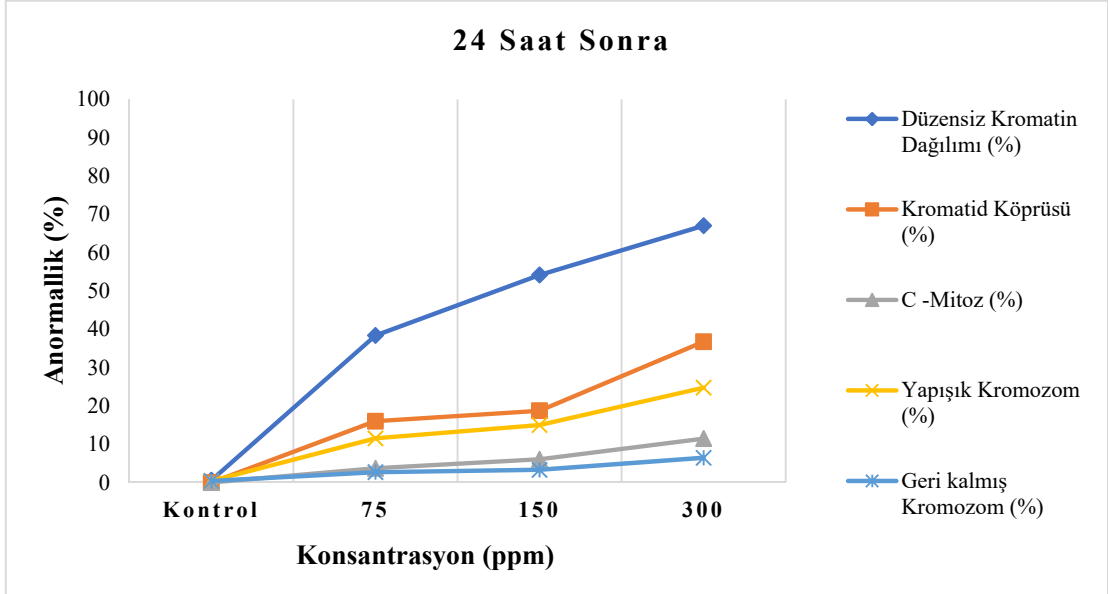
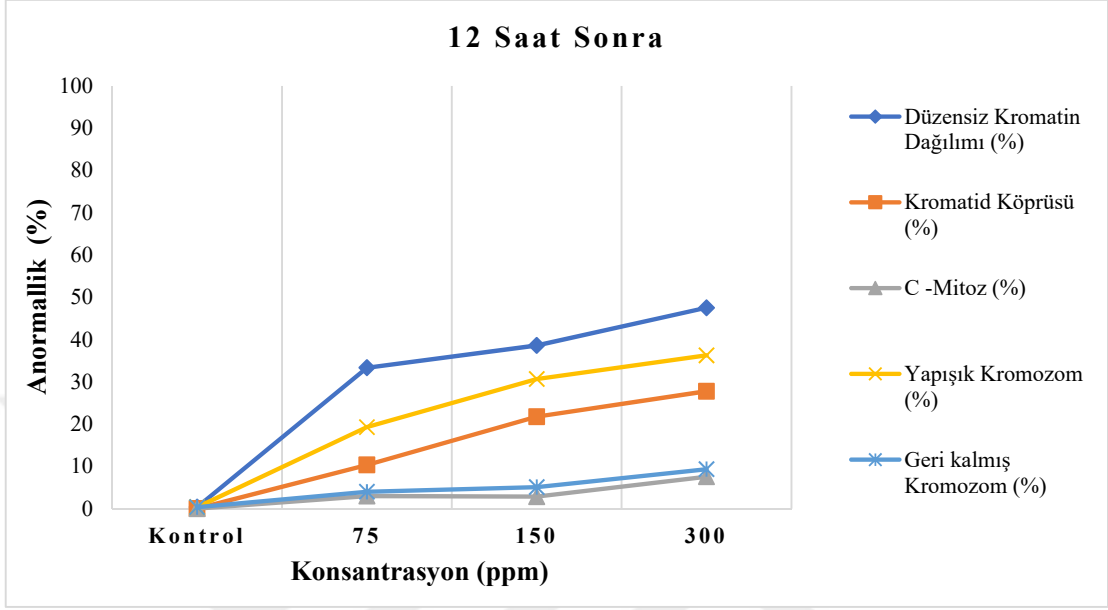


### 3.2. Oxyfluorfen'nin Mitotik Kromozomlarda Neden Olduğu Anormallikler

Oxyfluorfen'nin *H. annuus* mitotik hücrelerinde neden olduğu kromozom anormallikleri Tablo 2 ve Şekil 11-16'da verilmiştir. Yapılan incelemelerde, en yaygın olarak, düzensiz kromatin dağılımı, kromatid köprüsü, C-mitoz, yapışık kromozom, geri kalmış kromozom anormalliklerine rastlanılmıştır. Bunlara ilave olarak, genellikle uygulanan doz ve süreye bağlı olarak kromozom anormalliklerinin görülme sıklığında bir artış gözlenmiştir. Uygulama gruplarında hemen hemen tamamında en fazla profaz'da düzensiz kromatin dağılımına, en az ise C-mitoz anormalliğine rastlanılmıştır. Diğer yandan, gerek 12 saat gerekse 24 saat uygulama gruplarının her ikisinde de, 300 ppm'lik uygulamada en yüksek toplam kromozom anormallik yüzdesi tespit edilmiştir.

Tablo 2. Oxyfluorfen'in *H. annuus* mitotik hücrelerinde neden olduğu kromozom anormallikleri

Zaman (Saat)	Konsantrasyon (ppm)	Düzensiz Kromatin Dağılımı (%)	Kromatid Köprüsü (%)	C -mitoz (%)	Yapışık Kromozom (%)	Geri kalmış Kromozom (%)	Toplam Anormallik (%)
12	Kontrol	0.36	0.00	0.00	0.36	0.36	0.14
	75	33.33	10.33	3.00	19.30	4.00	0.32
	150	38.61	21.75	2.84	30.66	5.10	4.14
	300	47.53	27.77	7.55	36.27	9.33	6.05
24	Kontrol	0.58	0.00	0.00	0.40	0.40	0.19
	75	38.37	16.00	3.70	11.52	2.70	1.97
	150	54.17	18.72	6.05	14.98	3.30	4.83
	300	61.03	36.74	11.45	24.75	6.45	6.56



Şekil 6. Oxyfluorfen'in neden olduğu mitotik hücrelerdeki kromozom anormallikleri



Şekil 7. *Helianthus annuus* kök ucu hücrelerinin kontrol grubunda mitotik bölünmenin normal profaz safhası



Şekil 8. *Helianthus annuus* kök ucu hücrelerinin kontrol grubunda mitotik bölünmenin normal metafaz safhası

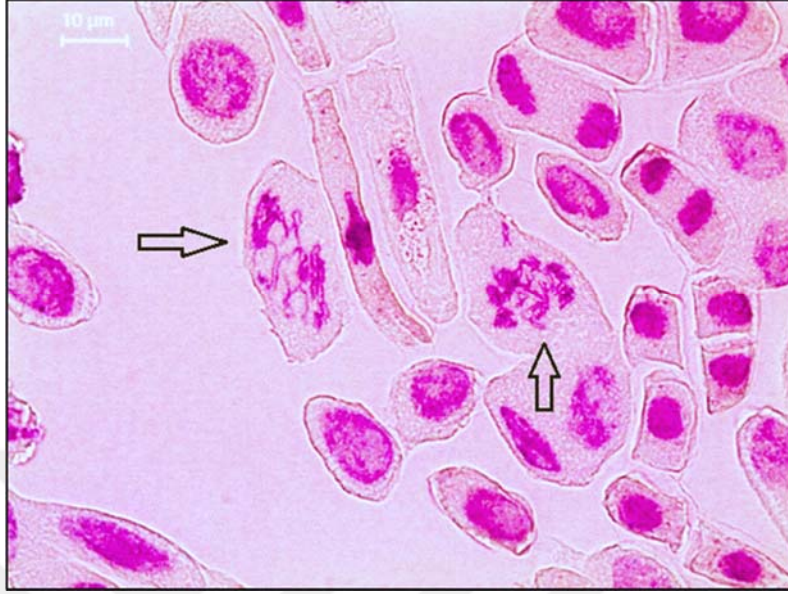


Şekil 9. *H.annuus* kök hücrelerinin kontrol grubunda mitotik bölünmenin normal anafaz safhası



Şekil 10. *Helianthus annuus* kök ucu hücrelerinin kontrol gruplarında mitotik bölünmenin normal telofaz safhası

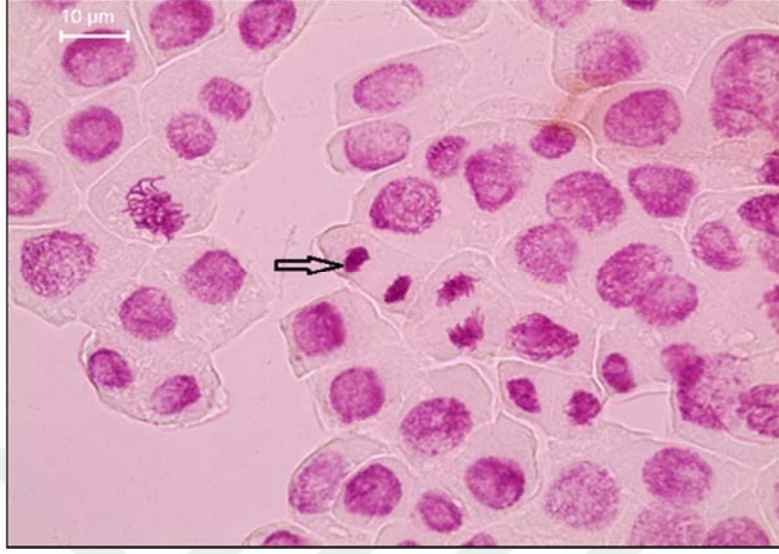




Şekil 11. *Helianthus annuus* aktif köklerinde hücre bölünmesinin profaz safhasında düzgün dağılmamış kromatin



Şekil 12. *Helianthus annuus* aktif köklerinde hücre bölünmesinin metafaz safhasında yapışık kromozom



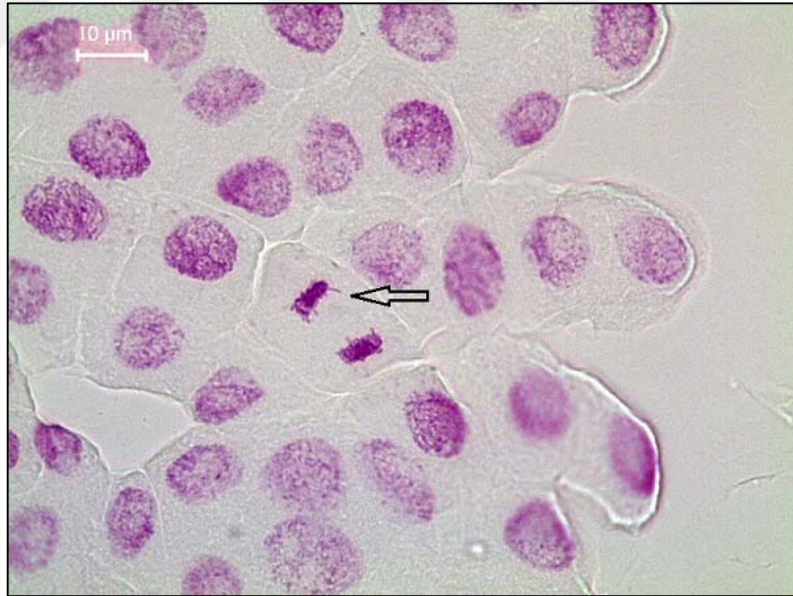
Şekil 13. *Helianthus annuus* aktif köklerinde hücre bölünmesinin anafaz safhasında yapışık kromozom



Şekil 14. *Helianthus annuus* aktif köklerinde hücre bölünmesinin metafaz safhasında C-mitoz



Şekil 15. *Helianthus annuus* aktif köklerinde hücre bölünmesinin anafaz safhasında kromatid köprüsü



Şekil 16. *Helianthus annuus* aktif köklerinde hücre bölünmesinin anafaz safhasında geri kalmış kromozom



### 3.3. Oxyfluorfen'in Mitotik Hücrelerde Mikronukleus Oluşumu Üzerine Etkisi

Oxyfluorfen herbisiti, *H. annuus* mitotik hücrelerinde, uygulanan doz ve süreye bağlı olarak mikronukleus oluşumuna neden olmuştur (Tablo 3, Şekil 17). Yapılan mutajenite testleri sonucunda, kontrol gruplarında mikronukleus oluşumu gözlenmezken, oxyfluorfen uygulanan gruplarda özellikle de 300 ppm uygulama grubunda mikronukleus görülme sıklığında bir artış gözlenmiştir.

Tablo 3. Oxyfluorfen'nin *H. annuus* mitotik hücrelerinde mikronukleus oluşumu üzerine etkisi

Zaman (Saat)	Konsantrasyon (ppm)	İncelenen Hücre Sayısı	Mikronükleus (%)
12	Kontrol	2758	-
	75	2709	0.04
	150	2680	0.10
	300	2408	0.18
24	Kontrol	2801	-
	75	2957	0.07
	150	2854	0.13
	300	2790	0.21



Şekil 17. *Helianthus annuus* hücre bölünmesinde mikronukleus oluşumu

#### 4. TARTIŞMA

Bu çalışmada oxyfluorfen herbisitinin, *H. annuus*'un kök mitotik hücreleri üzerine mutajenik etkisi araştırılmıştır. Yapılan mutajenite testi sonucu elde edilen veriler Tablo 1-3, Şekil 5-6 ve 11-17 sunulmuştur. İlk kez yapılan bu çalışma ile yabancı otlara karşı zirai mücadelede de yaygın olarak kullanılan oxyfluorfen herbisitinin *H. annuus* kök mitotik hücreleri üzerinde mutajenik bir etkisiye sahip olduğu ortaya konulmuştur.

*Helianthus annuus* meristematik kök hücrelerinin oxyfluorfen ile muamelesi sonucu, uygulanan doz ve zaman bağlı olarak mitotik hücre bölünmesinin olumsuz yönde etkilendiği tespit edilmiştir. Mitotik hücrelerin bölünme frekanslarında önemli ölçüde azalmalar, mikronukleus oluşumu ve anormal hücrelerin görülme sıklığında ise önemli ölçüde artışlar gözlenmiştir. Benzer sonuçlar *A. cepa* kök meristematik hücreleri üzerine oxyfluorfen uygulaması ile de elde edilmiştir (Dragoeva vd., 2012). Diğer yandan, mitotik hücre bölünmesinde gözlemlenen bu olumsuz etkilerin, hücre döngüsünün sentez (S) evresindeki DNA sentezinin inhibisyonu, iğ ipliğini oluşumunun inhibe edilmesi ve mitotik kromozomlarda meydana gelen yapısal değişimlerden kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (İnceer vd., 2004; 2009).

Oxyfluorfen, *H. annuus*'un meristematik kök hücrelerinde, kontrol gruplarına göre mukayese edildiğinde, uygulanan doz ve zamana bağlı olarak, mitotik indekste önemli ölçüde azalmalar meydana getirmiştir (Tablo 1). Bununla birlikte, en düşük mitotik indeks değerine 24 saat 300 ppm uygulama grubunda rastlanılmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, oxyfluorfen herbisitinin, *H. annuus*'un meristematik kök hücreleri üzerine mitodepresif bir etki yaptığını ortaya koymuştur. Benzer sonuçlar, *H. annuus* üzerine linuron (Inceer vd., 2004) ve quizalofop-*p*-etil (Karaismailoglu ve Inceer, 2017) herbisitlerinin uygulamaları ile de elde edilmiştir. Aynı zamanda, mitotik hücrelerin görünme sıklığındaki azalmaların, hücre döngüsünün G<sub>2</sub> safhasının bloke edilmesi veya DNA sentezinin inhibisyonu sonucu kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Chand ve Roy, 1981).

*Helianthus annuus* meristematik köklerine oxyfluorfen herbisiti uygulanmasından sonra, mitotik hücrelerde yaygın olarak düzensiz kromatin dağılımı, kromatid köprüsü, C-mitoz, yapışık kromozom, geri kalmış kromozom gibi anormallikler meydana gelmiştir (Tablo 2, Şekil 11-16). Uygulanan doz ve maruz kalınan süreye bağlı olarak, kromozom anormalliklerinin görülme sıklığında bir artış gözlenmiştir. Benzer kromozom

anormalliklerine, *H. annuus* meristematik köklerine linuron (Inceer vd., 2004) ve quizalofop-*p*-etil (Karaismailoglu ve Inceer, 2017) herbisitlerinin uygulamaları sonucunda da rastlanılmıştır.

Yapılan mutajenite testleri sonucu, *H. annuus* mitotik hücrelerinde en yaygın olarak profaz safhasında düzgün dağılmamış kromatin anormalliğine rastlanılmıştır (Tablo 2, Şekil 11). Benzer sonuç, *H. annuus* kök ucu mitotik hücrelerine, quizalofop-*p*-etil herbisitinin uygulamasından sonra elde edilmiştir (Karaismailoglu ve Inceer, 2017). Bu anormallik tipinin, hücre bölünmesinin profaz safhasında, kromatin materyalinin nukleus içindeki düzensiz organizasyonundan kaynaklanabileceği ve bu durumun metafaz safhasında kromozomların organizasyonunu da olumsuz yönde etkileyebileceği belirtilmiştir (Grant, 1978).

Oxyfluorfen'nin *H. annuus* mitotik hücrelerinde neden olduğu en sık rastlanan bir diğer anormallik tipinin yapışık kromozom anormalliği olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2, Şekil 12-13). Pestisitlerin mutajenik etkileri üzerine yapılan çalışmalarda yapışık kromozom anormalliği, en sık rapor edilen anormallik tipleri arasında yer almıştır (Inceer vd., 2009; Dragoeva vd., 2012). Aynı zamanda, bu anormallik tipi kromozomlar üzerinde genotoksik etkinin yaygın ve belirgin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Fiskesjö ve Levan, 1993; Liu vd., 1995). Darlington ve McLeish (1951) mitotik hücrelerde görülen bu anormallik tipinin DNA'nın bozulması veya depolimerizasyonundan, Briand ve Kapoor (1989) ise kromozom kırılması veya iğ ipliklerinin inhibisyonundan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Oxyfluorfen, *H. annuus* mitotik hücrelerinde kromatid köprüsü oluşumuna neden olmuştur (Tablo 2, Şekil 15). Mitotik hücre bölünmesinin anafaz safhasında meydana gelen bu anormallik tipinde, oxyfluorfen uygulamasının, *H. annuus* mitotik hücrelerinde tekli, ikili ve üçlü kromatid köprülerinin oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir. Benzer kromozom anormalliğine, *H. annuus* meristematik köklerine linuron (Inceer vd., 2004) ve quizalofop-*p*-etil (Karaismailoglu ve Inceer, 2017) herbisitlerinin uygulamaları sonucunda da rastlanılmıştır. Liu vd. (1995) mitotik hücre bölünmesi esnasında genellikle mutajenik veya toksik etkiler sonucu oluşan kromatid köprülerinin geri dönüşümsüz bir kromozom anormallik tipi olduğunu belirtmiştir.

Oxyfluorfen uygulamasından sonra, *H. annuus* meristematik kök hücrelerinde tespit edilen bir diğer anormallik tipi de geri kalmış kromozom olarak belirlenmiştir (Tablo 2, Şekil 16). Benzer sonuç, *H. annuus* meristematik köklerine linuron (Inceer vd., 2004) ve

quizalofop-*p*-etil (Karaismailoglu ve Inceer, 2017) herbisitlerinin uygulamaları sonucunda da elde edilmiştir. Anafaz safhasında oluşan bu kromozom anormalliğinin, iğ ipliklerinin toksik maddeler ile etkileşimine bağlı olarak, görevlerini yerine getirememesi ve kromozomların farklı kutuplara çekilememesi sonucu oluştuğu ileri sürülmüştür (Brinkley, 1985).

Oxyfluorfen herbisitinin, *H. annuus* kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği bir diğer bir anormallik tipi de C-mitoz olarak tespit edilmiştir (Tablo 2, Şekil 14). Yapılan incelemeler sonucu, bu anormallik tipinin görülme sıklığının, diğer anormallik tiplerine göre oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Pestisitlerin mutajenik etkileri üzerine daha önce yapılan birçok çalışmada, C-mitoz anormalliğinin hücre bölünmesi esnasında, iğ ipliklerinin oluşumun engellenmesi sonucu meydana geldiği rapor edilmiştir (Yıldız vd., 2006; Karaismailoglu ve Inceer, 2017).

Oxyfluorfen, *H. annuus* mitotik hücrelerinde, mikronukleus oluşumuna neden olmuştur (Tablo 3, Şekil 17). Uygulanan konsantrasyon ve zamana bağlı olarak mikronukleus görülme sıklığında bir artış gözlenmiştir. Mikronukleus oluşumu, mutajenite testlerinde, mutajenik etkinin en önemli parametreleri arasında yer almıştır (Karaismailoglu ve Inceer, 2017). Bununla birlikte, mikronukleus oluşumu, klastogeninin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Yi ve Meng, 2003; Fernandes vd., 2006).

## 5. SONUÇLAR

1) Bu çalışma ile oxyfluorfen herbisitinin *Helianthus annuus* kök ucu hücreleri üzerine mutajenik etkileri ilk kez detaylı olarak araştırılmıştır.

2) Yapılan mutajenite testleri sonucu, oxyfluorfen'in *H. annuus* mitotik hücreleri üzerine genotoksik etki yaptığı gözlenmiştir. Konsantrasyon ve zaman artışına paralel olarak mitotik safhaların frekanslarında önemli ölçüde değişimler belirlenmiştir. Mitotik hücrelerin bölünme frekanslarında önemli ölçüde azalmalar tespit edilmiştir.

3) Oxyfluorfen'in *H. annuus* mitotik hücrelerinde, çeşitli kromozom anormalliklerine neden oldukları gözlenmiştir. En yaygın olarak, profazda düzgün dağılmamış kromatin, metafazda yapışik kromozom ve C-mitoz, anafazda kromatid köprüsü oluşumu ve geri kalmış kromozom anormalliklerine rastlanılmıştır.

4. Oxyfluorfen herbisiti, uygulanan doz ve süreye bağlı olarak tüm uygulama gruplarında, mutajenik etkinin en önemli göstergesi olan mikronukleus oluşumuna neden olmuştur.

5) Elde edilen bu sonuçlar, *H. annuus*'da yabancı otlara karşı zirai mücadelede yaygın olarak kullanılan, oxyfluorfen herbisitinin, *H. annuus* kök ucu hücrelerinde mutajenik bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur.

6) Mutajenite testler sonucu elde edilen veriler ile genotoksisite çalışmalarına katkılar sağlanmıştır.

## 6. ÖNERİLER

*Helianthus annuus*'un zirai mücadelesinde oxyfluorfenin 250 gr/L<sup>-1</sup> ticari konsantrasyonları kullanılmaktadır. Bu çalışmada yapılan mutajenite test sonuçlarına göre, zirai mücadelede oxyfluorfen'in özellikle 75 ppm'den daha az dozlarının kullanılması, bu herbisit'in ayçiçeği üzerindeki toksik etkilerini en aza indirecektir.

Oxyfluorfen herbisitinin, *H. annuus* üzerindeki mutajenik etkileri hakkında daha ayrıntılı bilgilere ulaşmak için akım sitometrik analizler yardımı ile hücre döngüsü ve DNA üzerindeki toksik etkileri ortaya konulabilir.

Zirai mücadelede yaygın olarak kullanılan herbisitlerin, hedef olmayan canlılar ve çevreye zararları ile yan etkisi en az doz seçimi hakkında bilgilendirmeler yapılarak, tarımla uğraşan kişilerde bir farkındalık oluşturulabilir.

Halen zirai mücadelede kullanılan ve yeni kullanılmaya sunulacak herbisitlerin hedef olmayan organizmalar üzerinde mutajenite testlerinin yapılması, uygun doz ve uygulama sürelerinin belirlenmesi gerek çevre gerekse insan sağlığı açısından faydalı olacaktır.

Zirai mücadele de yaygın olarak kullanılan herbisitlerin mutajenik etkilerine karşı, antioksidanların antimutajenik etkileri bitki genetik sistemlerinde araştırılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- Atlı-Şekeroğlu, Z. ve Şekeroğlu, V., 2011. Genetik Toksisite Testleri, Tünav Bilim Dergisi, 4, 3, 221-229.
- Brinkley, B., R., 1985. Microtubule Organizing Centers, Annual Review Cell and Developmental Biology, 1, 145-172.
- Briand, C. H. ve Kapoor, B., M., 1989. The Cytogenetic Effects of Sodium Salicylate on The Root Meristem Cells of *Allium sativum* L, Cytologia, 54, 203–209.
- Brodsky, S., Kluev, A., Jilnikov V., G. ve Bocharov, B., V., 1992. Photodegradation of The Herbicide Goal, Toxicol. Environ. Chem, 34,105–112.
- Buschini, A., Poli, P. ve Rossi, C., 2003. *Saccharomyces cerevisiae* as A Eukaryotic Cell Model to Assess Cytotoxicity and Genotoxicity of Three Anticancer Anthraquinones, Mutagenesis, 18, 25-36.
- Carboneras, M., B., Villasen, J., Morales, F. J. F. Rodrigo, M., A. ve Canizares, P., 2018. Biological Treatment of Wastewater Polluted with an Oxyfluorfen Based Commercial Herbicide, Chemosphere, 213, 244-251.
- Chand, S. ve Roy, S. C., 1981. Effects of Herbicide 2,4-Dinitrophenol on Mitosis, DNA, RNA and Protein Synthesis in *Nigella sativa* L, Biologia Plantarum, 23, 198–202.
- Cyon, M. ve Seged, ZP., 2007. Effect of Selected Pesticides on Soil Microflora Involved in Organic Matter and Nitrogen Transformations: Pot experiment, Polish Journal of Ecology, 35, 9-19.
- Darlington, C. D. ve McLesih, L., 1951. Action of Maleic Hydrazide on The Cell, Nature, 167, 407-408.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A., 2005. Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları, TMMOB Ziraat Mühendisleri Teknik Kongresi, Ocak, Ankara, Bildiriler Kitabı 6: 3-7
- Dindar Yay, Ö., 2015. Edirne İli Ayçiçeği Ekim Alanlarında Görülen Önemli Yabani Ot Türleri, Yoğunluk Ve Rastlama Sıklıklarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Namik Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Dragoeva, A., Koleva, V., Hasanova, N. ve Slanev, S., 2012. Cytotoxic and Genotoxic Effects of Diphenyl-ether Herbicide GOAL (Oxyfluorfen) using the *Allium cepa* Test. Res, J. Mutagen, 2, 1–9.
- Elçi, Ş. 1994. Sitogenetikte Araştırma Yöntemleri ve Gözlemler, 100. Yıl Üniversitesi Yayınları, Van.
- Fernandes T. C. C. Mazzeo D., E., C. ve Marin-Morales M., A., 2006. Mechanism of Micronuclei Formation in Polyploidized Cells of *Allium cepa* Exposed to Trifluralin Herbicide, Pesticide Biochemistry and Physiology, 88, 252-259.

- Fiskesjö, G. ve Levan, A., 1993. Evaluation of the First Ten MEIC Chemicals in the *Allium* Test, The American Theological Library Association, 21, 139-14.
- Fiskesjö, G., 1985. The *Allium* Test as a Standart in Environmental Monitoring, Hereditas, 102, 99-112.
- Gadeva, P. ve Dimitrov, B., 2008. Genotoxic Effects of The Pesticides Rubigan, Omite And Rovral in Root-Meristem Cells of *Crepis capillaris* L, Genet Toxicol Environ Mutagen, 652, 191-197.
- Geoffroy, L., Dewez, D., Vernet, G. ve Popovic, R., 2003. Oxyfluorfen Toxic Effect on *S. obliquus* Evaluated by Different Photosynthetic and Enzymatic Biomarkers, Environmental Contamination and Toxicology, 45, 445-452.
- Grant, W. F. 1978. Chromosome Aberrations in Plants as a Monitoring System, Environmental Health Perspectives, 27, 37-43.
- Grant, W. F. ve Owens, E. T., 2002. Lycopersicon Assays of Chemicalradiation Genotoxicity for The Study of Environmental Mutagens, Mutation Research, 511, 207-237.
- Hamdy, M. ve Hassanein, A., 2002. Toxicological Effects of The Herbicide Oxyfluorfen on Acetylcholinesterase in Two Fish Species: *Oreochromis niloticus* and *Gambusia affinis*, Journal of Environmental Science and Health, 37, 521-527.
- İnceer, H. ve Beyazoğlu, O., 2000. Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray Kök Ucu Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri, Turkish Journal of Biology, 24, 553-559.
- İnceer, H., Hayırlıoğlu-Ayaz, S. ve Özcan, M., 2009. Genotoxic effects of the insecticide cypermethrin on the root meristem cells of sunflowers (*Helianthus annuus* L.), Bull. Environ. Contam. Toxicol., 83, 652-656.
- İnceer, H., Eryiğit H. N. ve Beyazoğlu, O. 2004. Effects of The Herbicide Linuron on Somatic Chromosomes of *Helianthus annuus* L., Caryologia, 57, 2, 127-132.
- Jayaraj, R., Megha, P. ve Sreedev, P., 2016. Organochlorine Pesticides, Their Toxic Effects on Living Organisms and Their Fate in The Environment, Interdisciplinary Toxicology, 9, 90-100.
- Jones, R., N. ve Rickards, G., K., 1990. Practical Genetics, Open University Press, Buckingham.
- Kara, M., Şanda, M. A. ve Ateş, A., 1994. Cytogenetic Effects of The Insecticide Cypermethrin on The Root Meristems of *Allium cepa* L. Turkish Journal of Biology, 18, 323-331.
- Karaismailoglu, M. C. ve Inceer, H., 2017. Evaluation of Potential Genotoxic and Cytotoxic Effects of Deltamethrin Insecticide on Somatic Chromosomes of *Helianthus annuus* L. Caryologia, 7114, 1-7.
- Kilbey, B. J., Legator, M., Nicholson, W. ve Ramel, C., 1984. Handbook of Mutagenicity Test Procedures, (2nd edition), Elsevier, Amsterdam.
- Liman, R., Ciğerci, İ. H., Akyıl, D., Eren, Y. ve Konuk, M., 2011. Determination of Genotoxicity of Fenaminosulf by *Allium* and Comet Tests, Pesticide Biochemistry and Physiology, 99, 61-64.



- McGregor, S. E., 1976. Insect Pollination of Cultivated Crop Plants, Agricultural Handbook No: 496, US, 345 s.
- Meister, R., T. ve Sine, C. (eds), 2006. Crop Protection Handbook, 92, D 312, HSDB, US, Willoughby.
- Ma, T., H., Xu, Z., D., Xu, C., McConnell, H., Rabago, E., V., Arreola, G., A. ve Zhang, H., 1995. The Improved *Allium/Vicia* Root Tip Micronucleus Assay for Clastogenicity of Environmental Pollutants, Mutation Research, 334, 185-195.
- Majer, B., J., Grummt, T., Uhi, M., ve Knasmuller, S., 2005. Use of Plant Assays for The Detection of Genotoxins in The Aquatic Environment, Acta of Hydrochemistry and Hydrobiology, 33, 45-55.
- 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, 77-87.
- Ono, H., Tamura, H., Yamashita, Y., Tamura, K. ve Iwakura, K. 2006. *In vitro* Chromosome Aberration Test and *in vivo* Micronucleus Test of Ca-type Garcinia Extract, Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 47, 80-84.
- Pannacci, E., Graziani, F. ve Covarelli, G., 2007. Use of Herbicide Mixtures for Pre and Post - emergence Weed Control in Sunflower (*Helianthus annuus*), Crop Protection, 26, 1150-1157.
- Ragsdale, N., N. ve Sisler, H., D., 1994. Social and Political Implication of Maninging Plant Disease in The United States, Annual Review of Phytopathology, 32, 545-557.
- Rio, B., Parent-Massin, D., Lautrait, S. ve Hoellinger, H., 1997. Effects of a Diphenyl-ether Herbicide, Oxyfluorfen, on Human BFU-E/CFU-E Development and Haemoglobin Synthesis. Human & Experimental Toxicology, 16, 115-122.
- Ruiz, E. F. Rabago, V. M. E. Lecona, S., U., Perez, A. B. ve Ma, T. H., 1992. Tradescantia-Micronucleus (Trad-MCN) Bioassay on Clastogenicity of Wastewater and in Sutu Monitoring, Mutation Research, 270, 45-51.
- Sandmann, G., Reck, H. ve Böger, P., 1984. Herbicidal Mode of Action on Chlorophyll Formation, J. Agric. Food chem, 32, 868-872.
- Santos, E. V., Sáez, C., Martínez-Huitle, C., A., Cañizares, P. ve Rodrigo, M., A., 2016. Removal of Oxyfluorfen From Ex-Situ Soil Washing Fluids Using Electrolysis With Diamond Anodes, J. Environ. Manage, 171, 260-266.
- Sang, N. ve Li, G. 2004. Genotoxicity of Municipal Landfill Leachate on Root Tips of *Vicia faba*, Mutation Research, 560, 159-165.
- Secrano, L., Bufo, S. A., Cataldi, T. R. I. ve Albanis, T. A., 2004. Surface Retention and Photochemical Reactivity of the Diphenylether Herbicide Oxyfluorfen, J. Environ. Qual, 33, 605-611.
- Stagg, N. J., Lebaron, M. J., Eisenbrandt, D. L., Gollapudi, B., B. ve Klaunig, J. E., 2012. Assessment of Possible Carcinogenicity of Oxyfluorfen to Humans Using Mode of Action Analysis of Rodent Liver Effects, Toxicol. Sci, 128, 334-345.
- Soyöz, M. ve Özçelik, N., 2004. Zirai Mücadelede Kullanılan Pestisitlerin Sitogenetik

- Etkileri, Süleyman Demirel üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 10, 6-9.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S., 2010. Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26, 2, 154-169.
- USEPA, US, 1992. Environmental Protection Agency, Pesticide Tolerances for Oxyfluorfen. Federal Register, Yayın No: 57, 22202-22203, Washington, USA.
- WSSA, 1989. Weed Science Society of America Updates Popular Herbicide Handbook, Yayın No: 202, 746-4686, US, Washington, 1989
- Watanabe, K., Ohori, Y., Sato, Y., Böger, P. ve Wakabayashi, K., 2001. Changes in Fatty Acid Composition of Neutral Lipid in Mung Bean Cotyledons by Oxyfluorfen-Induced Peroxidation, Pesticide Biochemistry and Physiology, 69, 166–173.
- Wauchope, R., D., Buttler, T., M., Hornsby, A., G. ve Augusstijn-Bechers, P.W.M., 1992. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, The SCS/ARS/CES Pesticide Properties Database for Environmental Decision-Making, 123, 1-155.
- Yavuz, B., 2010. Samsun’da Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Sağlığa ve Çevreye Etkileri, Alnteri/ Rewiev, 19, 28–35.
- Yi, H. ve Meng, Z., 2003. Genotoxicity of Hydrated Sulfur Dioxide on Root Tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*, Mutation Research, 537, 109-114.
- Yıldız, M., Arıkan, E., S. ve Terzi, H., 2006. Farklı Kimyasal Maddelerin Etkili Konsantrasyonlarının *Allium Kök İnhibisyon Testi* ile Belirlenmesi, 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, Haziran, Kuşadası/Aydın, Bildiriler Kitabı, 26-30

## ÖZGEÇMİŞ

Salar JALALİ, 1984 yılında İran – Tebriz’de doğdu. 2001 yılında Talegani lisesinden mezun oldu. 2003 yılında Şabestar Azad Üniversitesinde Ziraat Fakültesi Zootečniğ Bölümünde lisans eğitimine başladı ve 2008 yılında mezun oldu. 2016 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen yüksek lisans eğitimine devam etmektedir. İyi derecede İngilizce bilmektedir.

