T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NONİYONİK SURFAKTANT "TRİTON X-114" VE KATYONİK SURFAKTANT "GEMİNİ 10-2-10"UN SOĞAN (*ALLİUM CEPA* L.) VE MERCİMEK (*LENS CULİNARİS* Medik) ÜZERİNDEKİ GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

HAZAL SEZGİNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof.Dr. FERUZAN DANE

EDİRNE- 2017

Hazal SEZGİNER'in hazırladığı "Noniyonik Surfaktan "Triton X-114 " ve Katyonik Surfaktant "Gemini 10-2-10"un Soğan (*Allium cepa* L.) ve Mercimek (*Lens culinaris* Medik) Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri: İmza:

Prof. Dr. Feruzan DANE (Tez Danışmanı)

Prof.Dr. Çiler KARTAL

Doç. Dr. Özlem AKSOY

Tez Savunma Tarihi: 30/10/2017

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza:

Prof.Dr. Feruzan DANE

Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof.Dr. Murat YURTCAN

Fen Bilimleri Enstitü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS TEZ PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

30/ 10 / 2017

Hazal SEZGİNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Noniyonik Surfaktant "Triton X-114" ve Katyonik Surfaktant "Gemini 10-2-10"un Soğan (*Allium cepa* L.) ve Mercimek (*Lens culinaris* Medik) Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada, yaygın olarak kullanılan oktifenol serilerinden noniyonik surfaktant "Triton X-114" ve katyonik surfaktant "Gemini 10-2-10", genotoksik etkilerini incelemek için seçildi. Surfaktantlar, soğan (*Allium cepa* L.) ve mercimek (*Lens culinaris* Medik) bitkileri kullanarak laboratuvar koşullarında değerlendirildi. Kökler üzerindeki fitotoksik etkiler 7 gün sonunda belirlendi. Fitotoksisite, kök uzunluğu ve tohum çimlenme yüzdesi üzerindeki fitotoksik etki ,% 50 (EC_{50}) değeri saptandı. Genotoksisite sonuçları test materyallerindeki, mitoz bölünme evreleri, mitotik indeks ve kromozom aberasyonlarına bakılarak belirlendi. Test materyalleri ışık mikroskobu altında incelenerek ve fotoğraflar Olympus fotomikroskobu tarafından alındı. Hücre döngü analizi için ise Flow sitometri yöntemi kullanıldı. Deneyler en az 3 kez tekrarlanarak ve sonuçlar istatiksel olarak değerlendirildi.

Yıl : 2017

Sayfa Sayısı : 163

Anahtar Kelimeler : Surfaktantlar, Triton X-114, Gemini 10-2-10, *Allium cepa* , *Lens culinaris*, Genotoksik etki.

UNDERGRADUATE THESİS

Determination of Genotoxic Effects of Nonionic surfactant "Triton X-114" and Cationic Surfactant "Gemini 10-2-10" on Onion (*Allium cepa* L.) and Lentil (*Lens culinaris* Medik).

Trakya University Institute of Natural Sciences

Biology

ABSTRACT

In this study, two widely used octylphenol series non-ionic surfactant Triton X-114 and cationic surfactant "Gemini 10-2-10"the gemini surfactants chosen to examine their genotoxic effect. They was evaluated under laboratory conditions using onion (*Alium cepa* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medik) plants. The phytotoxic effects on root determined after 7th days. Surfactants used in study tested at different surfactant concentrations. The phytotoxicity results was based on the effective concentration that reduced root growth and seed germination by 50 % (EC_{50}). The genotoxicity results was based, the phases of mitosis, mitotic index and chromosomal abnormalities in test materials. The test materials was examined under a light microscope and photogral was taken by an Olympus photomicroscope. The cell cycle analysis performed by flow cytometry method. The experiments were repeated 3 times and the statistical analysis was performed acoording to these results.

Year : 2017

Number of Pages : 163

Keywords : Surfactants, Triton X-114, Gemini 10-2-10, *Allium cepa*, *Lens culinaris*, Genotoxic effect.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun seçiminde yardımcı olan, tezin her aşamasında yanımda olup yol gösteren, senelerce biriktirmiş olduğu kıymetli bilgilerini benimle paylaşan, saygısını sevgisini, sabrını, hoşgörüsünü, merhametini esirgemeden beni bilimsel alana daha çok teşvik eden, lisans ve lisansüstü eğitimimde düşünceleri, bilgileri, eleştirileri ve desteğiyle beni yetiştiren, disiplinli çalışmanın ne demek olduğunu öğreten, bir annenin sevgisini ve şefkatini verdiği için çok değerli ve kıymetli hocam Sayın Prof.Dr. Feruzan DANE'ye sonsuz minnettarlığımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimde surfaktantlarla çalışmama olanak sağlayan Sayın Prof.Dr. Halide Akbaş'a ile Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç.Dr. Mesut BOZ'a, flow sitometri çalışmalarında değerli bilgilerini paylaşıp yardım eden Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Çiler KARTAL'a, flow sitometri analizlerinde yardımcı olan Namık Kemal Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü Çayır Mera ve Yem Bitkileri Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Metin TUNA'ya, yardımlarını esirgemeyen Sayın Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi elemanı Sayın Uzm. Sinem LEVENTER'e, teşekkür ederim.

Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje 2015/186) vermiş olduğu maddi destek ve yardımlarından dolayı minnettarlığımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca beni şimdiki ben yapan, sonsuz maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, çok değerli ve sevgili aileme, sevgi, saygı ve minnettarlığım sunarım.

İÇİNDEKİLER:

ÖZET……i
ABSTRACT……ii
TEŞEKKÜR……iii
İÇİNDEKİLER……iv
SEMBOLLER VE KISALTMALAR……v
TABLOLAR……vi
ŞEKİLLER……ix
BÖLÜM 1-GİRİŞ……1
BÖLÜM 2- GENEL BİLGİLER ……4
2.1.Toksik Maddeler……4
2.1.1. Surfaktant Maddeler……4
2.1.2. Surfaktantların Sınıflandırılması……5
2.2.Toksisite……8
2.2.1.Genotoksisite……9
2.2.2. Genotoksisite Testleri……9
2.2.2.1. İn Vivo Testler……10
2.2.2.2.İn Vitro Testler……13
2.2.2.2.1. *Allium* Testi……13
2.2.3. Mitotik Aktivite(İndeks) Hesaplama Yöntemi……14
2.2.4. İstatistiksel Analizler……15
2.2.5. Hücre Siklusu (Döngüsü)……16
2.2.6. Flow Sitometri (Akım Sitometri)……21
BÖLÜM 3- MATERYAL VE METOD ……23
3.1. Materyal……23
3.1.1. Test Materyali……23
3.1.2. Test Kimyasalları……24
3.2. Metod……25
3.2.1. Test (Bitki) Materyallerinin Hazırlanması……25
3.2.2. Kimyasal Maddelerin Hazırlanışı ve Deneylerin Kurulması……26
3.2.3. Fiksasyon, Hidroliz Ve Boyama Kimyasalları ……27
3.2.4. *Allium* ve Kromozom Aberasyon Testi ……28
3.2.5. Fiksasyon, Hidroliz, Boyama ve Preparasyon İşlemleri ……29
3.2.6. Mikroskobik Analizler …….. …..30
3.2.7. Flow Sitometri Analizleri ……30
3.2.8. Verilerin İstatistiki Analizleri……31
BÖLÜM 4- SONUÇLAR VE TARTIŞMA ……32
4.1. Sonuçlar……32
4.1.1. Kök Büyüme İnhibisyonu Testi (Fitotoksik Etki Sonuçları)……32
4.1.2. Mitotik Aktivite (İndeks) Sonuçları……46
4.1.3 Faz Aktivite (İndeks) Üzerine Etki Sonuçları……53
4.1.4. Kromozom Aberasyon (Anormallik) Sonuçları……70
4.1.5. Flow Sitometri (Hücre siklusu)Analiz Sonuçları……132
4.2. Tartışma……156
BÖLÜM 5- KAYNAKLAR ……162
BÖLÜM 6 - ÖZGEÇMİŞ ……173

SİMGELER VE KISALTMALAR:

KMK: Kritik Miselleşme konsantrasyonu

LD_{50}-LC_{50}-EC_{50}:Mediyan latel doz

TI: Tedavi indeksi

LT_{50}: Letal süre

DNA: Deoksiribonükleik asit

RAPD: Rastgele arttırılmış polimorfik DNA

DAF: DNA Amplification finger printing

KA: Kromozom anormalliği

KKD: Kardeş kromatit değişimi

ANOVA: Varyans analizi

G_1: Preduplikasyon-presentez evresi

S: Sentez

G_2: Post-duplikasyon evresi

M: Mitoz

E.R: Endoplazmik retikulum

TABLOLAR:

Tablo 2.1: Otokontrol puanlarının yaş değişkenine göre farklılaştığını belirlemek üzere yapılan tek yönlü varyans analizi (ANOVA TESTİ)

Tablo 2.2: Hasta özellikleri-Duncan çoklu karşılaştırma testi

Tablo 4.1: Triton X-114 surfaktantının *A. cepa* bitkisinin kök uzamasına 7 gün sonundaki etkisinin istatistik verileri (P<0,05)

Tablo 4.2: Gemini-10-2-10 surfaktantının *A. cepa* bitkisinin kök uzamasına 7 gün sonundaki etkisinin istatistik verileri (P<0,05)

Tablo 4.3: Triton X-114 surfaktantının *L.culinaris* bitkisinin kök uzamasına 7 gün sonundaki etkisinin istatistik verileri (P<0,05)

Tablo 4.4: Gemini-10-2-10 surfaktantının *L. culinaris* bitkisinin kök uzamasına 7 gün sonundaki etkisinin istatistik verileri (P<0,05)

Tablo 4.5: Triton X-114 konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerindeki etki yüzdeleri (*A. cepa*)

Tablo 4.6: Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerindeki etki yüzdeleri (*A. cepa*)

Tablo 4.7: Triton X-114 konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerindeki etki yüzdeleri (*L. culinaris*)

Tablo 4.8: Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerindeki etki yüzdeleri (*L.culinaris*)

Tablo 4.9: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre sayısı

Tablo 4.10: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre yüzdesi

Tablo 4.11: Gemini (10-2-10) 'un *A. cepa*. *kök* ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre sayısı

Tablo 4.12: Gemini (10-2-10) 'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre yüzdesi

Tablo 4.13: Triton-X-114 ‘ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre sayısı

Tablo 4.14: Triton-X-114 ‘ün *L.culinaris* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre yüzdesi

Tablo 4.15: Gemini (10-2-10) ‘un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre sayısı

Tablo 4.16: Gemini (10-2-10) ‘un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre yüzdesi

Tablo 4.17: Triton X-114 ‘ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde görülen kromozom aberasyonu sayıları

Tablo 4.18: Triton X-114 ‘ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinde telofaz evresinde ve diğer görülen kromozom aberasyonu sayıları

Tablo 4.19: Triton X-114 ‘ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom aberasyon yüzde oranları

Tablo 4.20: Triton X-114 ‘ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinde telofaz evresinde ve diğer kromozom aberasyon yüzde oranları

Tablo 4.21: Gemini (10-2-10)’ un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde görülen kromozom aberasyonu sayıları

Tablo4.22: Gemini (10-2-10)’un *A.cepa* kök ucu hücrelerinde telofaz evresinde ve diğer görülen kromozom aberasyonu sayıları

Tablo 4.23: Gemini (10-2-10)’un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom aberasyon yüzde oranları

Tablo 4.24: Gemini (10-2-10)’un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde telofaz evresinde ve diğer kromozom aberasyon yüzde oranları

Tablo 4.25: Triton X-114 ‘ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde görülen kromozom aberasyonu sayıları

Tablo 4.26: Triton X-114 ‘ün *L.culinaris* kök ucu hücrelerinde telofaz evresi ve diğer görülen kromozom aberasyonu sayıları

Tablo 4.27: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom yüzde oranları

Tablo4.28: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde telofaz evresi ve diğer kromozom aberasyon yüzde oranları

Tablo 4.29: Gemini (10-2-10)'un *L.culinaris* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde görülen kromozom aberasyonu sayıları

Tablo 4.30: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde telofaz evresi ve diğer görülen kromozom aberasyonu sayıları

Tablo 4.31: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom aberasyon yüzde oranları

Tablo 4.32: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde telofaz evresi ve diğer kromozom aberasyon yüzde oranları

ŞEKİLLER:

Şekil 2.1: Surfaktantların yapısı

Şekil 2.2: Anyonik Surfaktant

Şekil 2.3: Katyonik Surfaktant

Şekil 2.4: Noniyonik Surfaktant

Şekil 2.5: Amfoterik Surfaktant

Şekil 2.6: Toksisiteye etki eden faktöreler

Şekil 2.7: Genotoksinlerin DNA üzerindeki etki mekanizması

Şekil 2.8: Mediyan latel doz

Şekil 2.9: Zararsızlık sınırlarını belirleme

Şekil 2.10: Ortalama ölüm zamanı ile doz arasındaki ilişki

Şekil 2.11: *Allium* kromozom aberasyon testi

Şekil 2.12: Mitotik profaz ve metafaz safhaları

Şekil 2.13: Hücre siklusu

Şekil 2.14: Mitoz bölünme ve evreleri (Tez çalışmasına ait preparat görüntüleri)

Şekil 2.15: *A. cepa* hücresi-Sitokinez (Tez çalışmasına ait preparat görüntüsü)

Şekil 2.16: Hücre Döngüsü Kontrol Mekanizmaları ve Düzenleyiciler**.**

Şekil 2.17: Flow sitometri bileşenleri

Şekil 2.18: Flow sitometri çalışma prensibi

Şekil 3.1: Triton-X-114' ün yapısal formülü

Şekil 3.2: Gemini (10-2-10)' un yapısal formülü

Şekil 4.1: Triton X-114 surfaktantının *A. cepa* **a.** 7 günlük kök uzama **b.** Ortalama kök uzunluğu

Şekil 4.2: Triton X-114 surfaktantının *A. cepa* bitkisinin 7 gün sonundaki köklerin görüntüsü

Şekil 4.3: Gemini (10-2-10) surfaktantının *A. cepa* **a.** 7 günlük kök uzama **b.** Ortalama kök uzunluğu

Şekil 4.4: Gemini (10-2-10) surfaktantının *A. cepa* bitkisinin 7 gün sonundaki köklerin görüntüsü

Şekil 4.5: Triton X-114 surfaktantının *L. culinaris* bitkisi tohum çimlenme üzerinde 2 gün sonundaki etkisi

Şekil 4.6: Triton X-114 surfaktantının *L. culinaris* **a.** 7 günlük kök uzama **b.** Ortalama kök uzunluğu

Şekil 4.7: Triton-X-114 surfaktantının *L. culinaris* bitkisinin 7 gün sonundaki köklerin görüntüsü

Şekil 4.8: Gemini (10-2-10) surfaktantının *L.culinaris* bitkisi tohum çimlenme üzerinde 2 gün sonundaki etkisi

Şekil 4.9: Gemini (10-2-10) surfaktantının *L.culinaris* **a.** 7 günlük kök uzama **b.** Ortalama kök uzunluğu

Şekil 4.10: Gemini (10-2-10) surfaktantının *L. culinaris* bitkisinin 7 gün sonundaki köklerin görüntüsü

Şekil 4.11: *A. cepa ve L. culinaris* bitkilerinde kök büyüme inhibisyonu testine göre belirlenen 7 gün sonundaki ortalama kök uzunluğu (mm) verileri

Şekil 4.12: Triton X-114 Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks Üzerine Etkisi (*A.cepa*)

Şekil 4.13: Gemini (10-2-10) Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks Üzerine Etkisi (*A. cepa*)

Şekil 4.14: Triton X-114 Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks Üzerine Etkisi (*L.culinaris*)

Şekil 4.15: Gemini (10-2-10) Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerine etkisi (*L.culinaris*)

Şekil 4.16: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.17: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,12 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.18: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinin 0,25 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.19: Triton X-114 ‘ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,50 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.20: Triton X-114 ‘ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 1 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.21: Triton X-114 ‘ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 2 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.22: Gemini (10-2-10) ‘un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.23: Gemini (10-2-10) ‘un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,06 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.

Şekil 4.24: Gemini (10-2-10) ‘un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,12 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.25: Gemini (10-2-10) ‘un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,25 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.26: Gemini (10-2-10) ‘un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,50 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.27: Gemini (10-2-10) ‘un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 1 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.28: Triton X-114 ‘ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.29: Triton X-114 ‘ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,50 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.30: Triton X-114 ‘ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 1 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.31: Triton X-114 ‘ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 2 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.32: Triton X-114 ‘ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 4 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.33: Triton X-114 ‘ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 8 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.34: Gemini (10-2-10) ‘un *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.35: Gemini (10-2-10) ‘un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,06 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.36: Gemini (10-2-10) ‘un *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,12 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.37: Gemini (10-2-10) ‘un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,25 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.38: Gemini (10-2-10) ‘un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,50 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.39: Gemini (10-2-10) ‘un *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin 1 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi

Şekil 4.40: Triton X-114 ‘ün *A. cepa* aberasyon %’si

Şekil 4.41: Triton-X-114 0,12 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A.cepa* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz fragment kromozom, **c.** Metafaz tabla kayması, **d.** C-mitoz**, e.** Metafaz vagrant kromozom, **f**. Anafaz köprü, g. Anafaz köprü - yapışıklık, **h**. Anafaz fragment ve vagrant kromozom, ı**.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **j.** Telofaz yanlış kutuplaşma, vagrant kromozom, yapışıklık, **k.** Telofaz köprü, **l.** Telofaz fragment kromozom

Şekil 4.42: Triton-X-114 0,25 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık ve vagrant kromozom **b.** Metafaz tabla kayması, **c.** Metafaz fragment kromozom, **d.** C- mitoz, **e.**Anafaz fragment ve vagrant kromozom - telofaz fragment ve vagrant kromozom, f**.**Anafaz yanlış kutuplaşma, **g.**Anafaz köprü - yapışıklık, **h.** Telofaz yapışıklık, **ı.** Telofaz yanlış kutuplaşma

Şekil 4.43: Triton-X-114 0,50 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.**C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-fragment ve vagrant kromozom, **c.**Metafaz yapışıklık, **d.**Anafaz vagrant kromozom - köprü, e**.**Anafaz fragment kromozom, f**.**Anafaz yanlış kutuplaşma, **g.**Anafaz yapışıklık, **h.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **ı.** Telofaz fragment ve vagrant kromozom

Şekil 4.44: Triton-X-114 1 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A.cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması, **c.** Metafaz yapışıklık, **d.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom, e**.** Anafaz fragment ve vagrant kromozom, f**.** Anafaz yapışıklık-yanlış kuruplaşma, **g.** Anafaz köprü, **h.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **ı.** Telofaz fragment ve vagrant kromozom, j**.** Binükleat hücre

Şekil 4.45: Triton-X-114 2 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **c.**Metafaz yapışıklık-fragment kromozom - tabla kayması, **c.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom, d**.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **e.** Anafaz köprü o, **f.** Anafaz fragment kromozom-yapışıklık, **g.** Telofaz fragment kromozom, h**.** Telofaz vagrant kromozom, ı**.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **j.** Binukleat hücre

Şekil 4.46: Gemini(10-2-10)'un *A. cepa* aberasyon %'si

Şekil 4.47: Gemini (10-2-10) 0,06 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık- vagrant kromozom, b**.** Metafaz yapışıklık-fragment ve vagrant kromozom - tabla kayması, **c.** C-mitoz, **d.** Anafaz yapışıklık-vagrant kromozom, e**.** Anafaz vagrant kromozom- yanlış kutuplaşma, **f.** Telofaz yapışıklık-vagrant kromozom, **g.** Mikronükleus, h**.** Binukleat hücre

Şekil 4.48: Gemini (10-2-10) 0,12 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom, **c.** Metafaz tabla kayması- yapışıklık, **d.** Anafaz yanlış kutuplaşma-vagrant kromozom, e**.** Anafaz köprü-yapışıklık-fragment kromozom, **f.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofaz köprü oluşumu, **h.** Telofaz vagrant kromozom, ı**.** Binükleat hücre

Şekil 4.49: Gemini (10-2-10) 0,25 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A.cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-vagrant kromozom - yapışıklık, **c.** Metafaz fragment kromozom o, **d.** Anafaz köprü-fragment ve vagrant kromozom, e**.** Anafaz yanlış kutuplaşma-yapışıklık, **f.** Telofaz yanlış kutuplaşma-köprü, **g.** Telofaz vagrant kromozom -yapışıklık, **h.** Telofaz fragment kromozom, ı**.** Binukleat hücre

Şekil 4.50: Gemini (10-2-10) 0,50 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması, **c.** Metafaz yapışıklık-fragment

ve vagrant kromozom, d**.** Anafaz yanlış kutuplaşma- fragment ve vagrant kromozom -yapışıklık, **e.** Anafaz köprü, **f.** Telofaz köprü, **g.** Telofaz fragment ve vagrant kromozom, h**.** telofaz yanlış kutuplaşma, **ı.** Binukleat hücre

Şekil 4.51: Gemini (10-2-10) 1 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz yapışıklık-fragment ve vagrant kromozom, c**.** Metafaz tabla kayması- vagrant kromozom -yapışıklık, **d.** Anafaz yanlış kutuplaşma-,köprü-vagrant kromozom , **e.**Anafaz yapışıklık-fragment ve vagrant kromozom o, **f.** Telofaz vagrant kromozom , **g.** Telofazda yanlış kutuplaşma –fragment kromozom , **h.** Telofaz yapışıklık, **ı.** Binukleat hücre

Şekil 4.52: Triton X-114 'ün *L. culinaris* aberasyon %'si

Şekil 4.53: Triton-X-114 0,50 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L.culinaris* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz tabla kayması, **c.** Metafaz vagrant kromozom, d**.** Metafaz fragment kromozom, e**.** C-mitoz, **f.** Anafaz yanlış kutuplaşma-fragment ve vagrant kromozom, g. Anafaz yapışıklık- köprü, h**.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **ı.** Telofaz yapışıklık-fragment kromozom, j**.** Telofaz köprü, k**.** Telofaz vagrant kromozom, l. Binükleat hücre, **m.** Mikronukleus

Şekil 4.54: Triton-X-114 1 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz tabla kayması-vagrant kromozom, telofaz vagrant kromozom, c**.** C-mitoz, **d.** Anafaz köprü -vagrant kromozom, e**.** Anafaz yanlış kuruplaşma-fragment kromzom -yapışıklık, f**.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofaz vagrant kromozom, h**.** Binukleat hücre**, ı.** Mikronukleus

Şekil 4.55: Triton-X-114 2 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L.culinaris* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz tabla kayması-vagrant kromzom, c**.** C-mitoz, **d.** Anafaz köprü -vagrant kromozom, e**.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **f.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofazda köprü , **h.** Telofaz fragment ve vagrant kromozom , **ı.** Mikronukleus

Şekil 4.56: Triton-X-114 4 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz vagrant kromzom , **c.**Metafaz tabla

kayması, **d.** C-mitoz, **e.** Anafaz köprü o-vagrant kromzom , **f.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofaz vagrant kromzom , **h.** Telofaz yanlış kutuplaşma.

Şekil 4.57 : Triton-X-114 8 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması- vagrant kromozom, **c.** Metafaz yapışıklık-fragment kromozom, **d.** Anafaz yapışıklık-yanlış kutuplaşma, **e.** Anafaz fragment ve vagrant kromozom, **f.** Anafaz köprü, g. Telofaz yanlış kutuplaşma-yapışıklık, **h.** Telofaz vagrant kromzom, **ı.** Telofaz köprü, **j.** Binukleat hücre

Şekil 4.58: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* aberasyon %'si

Şekil 4. 59: Gemini (10-2-10) 0,06 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L.culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.**Metafaz tabla kayması-yapışıklık, **c.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom o, **d.** Anafaz köprü-vagrant kromozom - telofaz yanlış kutuplaşma, **e.** Telofaz köprü, **f.** Telofaz fragment kromzom, g. Telofaz vagrant kromzom, h**.** Binukleat hücre

Şekil 4.60 : Gemini (10-2-10) 0,12 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması- yapışıklık, **c.** Metafaz vagrant kromozom, **d.** Metafaz fragment kromozom, **e.** Anafaz yanlış kutuplaşma-yapışıklık-fragment kromzom, f**.** Anafaz köprü- vagrant kromzom, **g.** Telofaz fragment kromozom ol, **h.** Telofaz köprü, **ı.** Telofaz vagrant kromozom

Şekil 4.61: Gemini (10-2-10) 0,25 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-yapışıklık-vagrant kromozom, c**.** Anafaz yapışıklık- köprü- vagrant kromozom, d**.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **e.** Telofaz yanlış kutuplaşma-vagrant kromozom , **f.** Mikronukleus , **h.** Binukleat hücre

Şekil 4.62 : Gemini (10-2-10) 0,50 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-yapışıklık, **c.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom, d**.** Anafaz köprü- fragment kromozom, **e.** Anafaz vagrant kromozom, **f.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofaz fragment kromozom, **h.** Telofaz vagrant kromozom, ı**.** Binukleat hücre, **j.** Mikronukleus

Şekil 4.63 : Gemini (10-2-10) 1 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L.culinaris* görülen aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-fragment ve vagrant kromozom-yapışıklık, **c.** Anafaz yanlış kutuplaşma- köprü-vagrant kromozom, d**.** Telofaz köprü, **e.** Telofaz vagrant kromozom - yanlış kutuplaşma, **f.** Binukleat hücre

Şekil 4.64: *A. cepa* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.65: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin EC_{50} değeri 0,50g/L dozundaki hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.66: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin (2x EC_{50}) değeri 1 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G1-S-G2) yüzdesi

Şekil 4.67: Gemini (10-2-10) 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin EC_{50} değeri 0,25g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.68: Gemini (10-2-10) 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin (2x EC_{50}) değeri 0,50 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.69: *A. cepa* kök ucu hücrelerinin Flow sitometri analizlerinin karşılaştırmalı istatistiki verileri (hücre siklus fazlarının (G1-S-G2) yüzdeler)

Şekil 4.70: *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin kontrol konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.71: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin EC_{50} değeri 2 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.72: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin (2x EC_{50}) değeri 4 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.73: : Gemini (10-2-10) ‘un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin EC_{50} değeri 0,25 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.74: Gemini (10-2-10) ‘un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin (2x EC_{50}) değeri 0,50 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi

Şekil 4.75: *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin Flow sitometri analizlerinin karşılaştırmalı istatistiki verileri (hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdeler)

BÖLÜM 1

GİRİŞ

İnsanlar, toksik etki eden maddelerin zararlarını en aza indirgemek veya tamamen yok etmek için çaba göstermektedirler. Endüstri devriminden sonra ve özellikle 2. Dünya Savaşı'ndan bu yana canlılar, sayıları her geçen gün artan ve kullanıma sunulan kimyasal maddelerin etkisi altındadır. Şuan ki verilere göre, Dünya'da yer alan 5 milyondan fazla kimyasalın 70.000'i aktif olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden piyasaya sürülen kimyasal maddelerin toksisitesinin araştırılması gereklidir.

Bir kimyasal maddenin toksisitesinin analizi, maddenin tehlike arz eden etki potansiyelini ve bu potansiyelin toksik etki şeklini tespit etmeyi içerir.

Diğer taraftan bu kimyasal maddelerin toksisitelerinin belirlenmesi risk analizlerinin saptanması güvenli koşulları oluşturma olanağı sağlar (Vural,2005).

Toksisitenin canlılardaki ortaya çıkış şekli; canlı gelişiminde geri kalma, apoptosis, hastalanma, beslenme zorluğu olabilir. Bir maddenin toksisitesinin belirlenmesinde birçok yol ve yöntem kullanılmaktadır. Toksisitenin belirlenmesinde kullanılan alt başlıklardan biri de genotoksisitedir. Genotoksisite; kromozom ve DNA yapısında meydana gelen aberasyonların tamamını kapsayan toksikolojinin alt dalıdır (http://maycalistaylari.comu.edu.tr).

Canlı organizma metabolizmasına girdiğinde yaşamsal mekanizmayı bozan, çalışmasını engelleyen ve yok eden maddelere, toksik maddeler denir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan ve bazı durumlarda toksik etkilere sebebiyet veren maddelerden birisi de **surfaktantlardır (yüzey aktif madde)**. Suda, sulu çözeltide ya da susuz ortamda çözündüklerinde yüzey gerilimini indirgeyen maddelere, surfaktant denir (Taner,2006). Bu maddeler tekstilde, tıbbi uygulamalarda, endüstride, tarımda zirai uygulamalarda ve teknolojinin gelişen alanlarında kullanılırlar (Aydoğan,2007). Surfaktant maddeler, bitkilere zirai ilaçlarla birlikte uygulanır ve pestisitlerin absorpsiyonunu (emilimi) artırır (Singh,1984). Pestisitlerin düşük dozlarda kullanılmalarını sağlarlar. Surfaktantlar, zirai maddeleri etkin duruma geçiren en önemli yüzey aktif gruptur. (Penner,2000).

Surfaktantların çalışma mekanizması, genelde pestisitin bitkiye geçişini kolaylaştırmak olduğu için, sıklıkla sistemik etkili (iletim dokuları vasıtasıyla bitkinin tüm organlarına kadar ulaşabilen pestisitler) pestisitlerle korelasyon gösterirler. (Lorenz,1999).

Surfaktant maddelerin, çevre ortamında yaratmış olduğu kirlenme biyolojik sistemler üzerinde negatif sonuçlar doğurabilir (Pozo, 2003). Birçok alanda kullanılmalarına rağmen, ülkemizde surfaktantların canlı ve çevre üzerindeki toksik veya genotoksik etkilerini kapsayan araştırmalar çok sınırlı ve yeterli sayıda değildir.

Bu tip maddelerle çevrenin kirlenmesi, uzmanlar ve bilim adamları, özellikle ekoloji, toksikoloji ve genetikçilerin süregelen endişesidir (Barry ve Koritz,1990). Bu durumda, hızlı bir şekilde risk tayini yapmak oldukça önemlidir. Bitki test sistemleri, çevrede kirliliğe neden olabilecek kimyasalları ve kirleticileri hızlı bir şekilde tarama prosedürünü sağlar. Özellikle bir maddenin, kök büyümesini önlemesi ve kromozomları üzerinde olumsuz etki oluşturması olası toksisite belirtisidir (Fiskesjö,1995). Birçok kirleticinin toksik etkilerini birçok düzeyde gösterebilmek için kullanılırlar. Elde edilen veriler 7 günden az bir sürede saptanır ve elde edilen sonuçlara bakılarak memeli hücre sistemleri ile ilgili görüşler belirtilebilir (Foy,1961).

Tarımda kullanılan surfaktantların etkisi, uygulanan konsantrasyonlara, bitki türlerine ve uygulama yerlerine göre değişkenlik gösterir. Önceden yapılmış olan çalışmalar gösteriyor ki; Vatsol OT ’nin *Sorgum* yapraklarındaki denemeler (Foy,1961), Tween-20’nin çam fidelerindeki etkileri (Sopmeyer,1961), Heksadekanol ve Dokosanol ile tütün fideleri üzerindeki etkileri (Bourge, Parups,1963), Santomerse No. I’in yonca tohumlarının çimlenmesi üzerindeki negatif etkilerini (Spurrier,Jacobs,1955) ve Surfaktant-WK’nın (Dodesil eter polietilen glikol) şeker kamışı üzerindeki fitotoksik etkilerini (Singh, Orsenigo,1984) belirlenmiş, Tween-20 ve Tween-80’nin arpada potasyum alımını bloke ettiği (Parr ,Norman 1964) ve Tween-80’nin fasulyede fosfor translokasyonun azaldığı keşfedilmiştir.(Swanson ,Whitney 1953). Sodyum dodesil sülfat ve sodyum dodesil benzen sülfonat’ın *Allium cepa* var. *cepa* kök meristem hücrelerine zarar verdiği (Al,2015), Triton-X-110’un *Allium cepa* L. mitotik frekansı ve kromozomları etkilediği belirlenmiştir (Öztürk,2012). Araştırıcılar

surfaktantlarla yapılan çalışmaların yeterli olmadığını ve bu tip çalışmaların arttırılması gerektiğini bildirmişlerdir (Bellania, vd.,1991).

Daha önce yapılan çalışmalarda noniyonik (Yılmaz vd.,2012,Dane vd.,2012, Akbaş vd.,2015) katyonik (Dane vd.,2013/2015) ve anyonik (Akbaş vd.,2012) surfaktantların *Allium cepa* L. ve *Lens culinaris* Medik bitkilerinde fitotoksik etkileri ile ilgili çalışmalar yapılmış ve EC_{50} değerleri incelenmiştir. "Triton X-114" ve "Gemini 10-2-10" surfaktantlarının çok fitotoksik olduğu gözlenmiştir (Dane vd,2012, Akbaş vd.,2014). Tarımda kullanılan surfaktantların minumum toksik etki gösteren konsantrasyonu bulmak önemli olduğu için "Triton X-114" ve "Gemini 10-2-10" surfaktantlarının genotoksik etkilerinin araştırılması oldukça önem taşır. Araştırılacak surfaktantların kontrol değerlerine yakın değerleri gösteren konsantrasyonu, EC_{50} değerini, canlı sağlığı için maksimum fayda sağlayan ve minumum toksisite gösteren konsantrasyonu saptamak bu çalışmanın en önemli amacıdır. Araştırma bitkileri olarak, *Allium cepa* L. (Mutfak Soğanı) ve *Lens culinaris* Medik (Mercimek) seçilmiştir. *Allium cepa* L. ve *Lens culinaris* Medik kolay elde edilmesi, ucuz olması, her zaman kök oluşturma-çimlenme yeteneğinde olması, kromozom boyutlarının büyük olması ve kromozom sayısının az olması nedenleri ile deney materyali olarak kullanılmıştır. Özellikle de bu bitkilerin, ülkemizde beslenmede yaygın olarak kullanılması ve gıda olarak çokça tercih edilmesi gibi özelliklerinden dolayı da tercih edilmiştir.

Bu nedenle; bu çalışmada, noniyonik surfaktant "Triton X-114" ve katyonik surfaktant "Gemini 10-2-10"un *Allium cepa* L. ile *Lens culinaris* Medik üzerindeki fitotoksik etkileri ile kök ucu hücrelerindeki mitotik aktivite; mitoz bölünmeye bağlı oluşan faz indeksi; kromozom anormallikleri ve anormallik görülen hücrelerin oranı ile hücre siklusunun flow sitometri yöntemi kullanılarak genotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Toksik Maddeler:

Teknolojinin artması ile; tarımda, evlerde ve endüstride birçok kimyasal madde kullanılmaktadır. Günlük yaşantımızda kullandığımız kimyasallar yaşamın vazgeçilmez gereksinimleridir. Faydaları yanında, zararlarının da olabileceği gibi; bunları seri bir şekilde tespit etmek neredeyse imkânsızdır.

Güncel verilere (TSCA: Toxic Substances Control Act Inventory) bakılırsa pestisitler, kozmetik, gıda katkı maddeleri, tıbbi ilaçlarda kullanılan kimyasal maddelerin total sayısı 66.000' in üzerindedir.

Ayrıca her yıl 1000'den fazla geliştirilmiş kimyasal madde, kullanıma sunulmaktadır. Avrupa topluluğundaki ülkelerde ise, piyasadaki kimyasal maddelerin 100.000 aştığı hesaplanmıştır. Yaşantımız boyunca kullanılan kimyasal maddelerin sadece az bir kesiminin zararlılık etkisi belirlenmiştir

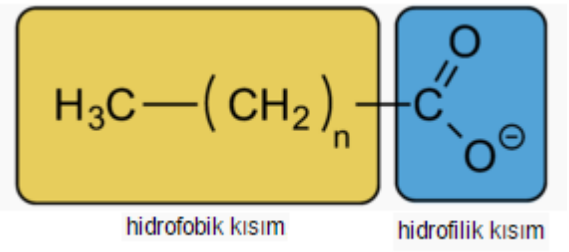
Ve bu kimyasalların %5-10'unun zararlı etkilere sahip olduğu tespit edilebilmiştir. Toksik etkiye sahip kimyasal maddeleri; kullanım alanına, kimyasal ve fiziksel yapılarına göre sınıflandırmak mümkündür.(Fisbein ve Food,1987).

2.1.1. Surfaktant Maddeler:

Suda, sulu bir çözeltide veya su bulunmayan ortamda çözündüklerinde sıvı yüzeyini küçülten, yani yüzey gerilimini azaltan maddelere surfaktant denir. Yaygın olarak kullanılan, deterjan, kozmetik ürünleri gibi ürünlerin temel datalarından biridir. Endüstride , tekstilde, metal teknolojisinde, tıpta, tarımda zirai uygulamalarda sıkça kullanılırlar (Kye-Hong vd.,1987).

Surfaktantların yapısında, hidrofobik (su sevmeyen) kuyruk ve hidrofilik (suyu seven) baş grupları yer almaktadır (Şekil 2.1). Sahip oldukları bu yapı sayesinde sıvı ile havanın ara yüzeyine adsorblanarak (emilerek) yüzey gerilimini düşürürken çözelti içerisinde de çeşitli türde birikmelerin oluşmasını

sağlarlar. Sahip oldukları bu özelliklerinden dolayı kullanım alanları oldukça geniştir (Zhao ve Zhu,1995).



Şekil 2.1: Surfaktantların yapısı (http:// commons.wikimedia.org).

Uygulama alanlarında surfaktant seçimi oldukça önem kazanmaktadır. Kullanım alanları geniş olan surfaktantlar misel oluşumu (koloidal solüsyonda/çözeltide dağılmış yüzey-aktif/surfaktant moleküllerin kümelenmesi) ve köpürme gibi özellikleri de vardır. Ayrıca, kritik miselleşme konsantrasyonu KMK' da temizlik ürünlerinin köpürme ve temizleme gücü maksimum seviyededir (Rosen,1989).

Surfaktantlar, kimyasal reaksiyonlarda büyük taneciklerle bir arada ilerler. Büyük tanecikler diğer kimyasallara kıyasla büyük oldukları halde bulundukları kabın dibine çökmezler, filtre kâğıdından süzülebilirler ve optik özellik taşırlar. Çeşitli çöktürme işlemlerinde kullanılırlar. Bileşikteki taneciklerin büyüklüğü aynı ise monodispers, heterojen özellik gösteriyorlar ise polidispers olarak adlandırılır. Surfaktantların birçoğu polidispers özellik gösterir.

2.1.2.Surfaktantların Sınıflandırılması:

Surfaktantların sınıflandırılması hidrofilik baş grubun sahip olduğu yüke göre yapılır. Bir araya gelen gruplar bakımından iki grupta incelenir.

- **Doğal Surfaktant Maddeler:**
    - İyonik
    - Non iyonik

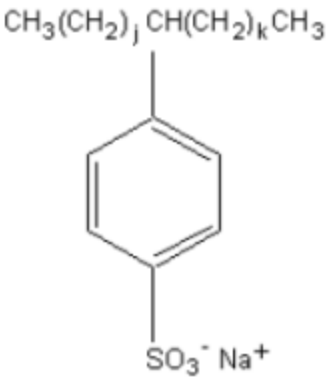
Doğal surfaktantlar; kolik ve deoksikolik asit, basit lipitler, kompleks lipitler, safra

asitleri bu surfaktant grubuna örnek olarak verilebilir. Ekosistemde kolayca parçalanabildikleri gibi toksik etkileri yoktur.

- **Sentetik Surfaktant Maddeler:**

a) Anyonik Surfaktantlar (Şekil 2.2):

Hidrofilik grup negatif yük taşır. Lineer Alkil Benzen Sülfonik Asit bu surfaktant grubuna örnektir. Temizleyici özellikleri kuvvetli olduğu için genellikle makine deterjanlarında ve kozmetik olarak şampuanlarda kullanılırlar (Öztürk,2012).

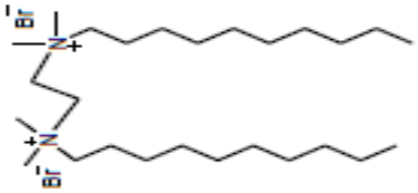


Lineer Alkil Benzen Sülfonik Asit

Şekil 2.2: Anyonik Surfaktant.

b) Katyonik Surfaktantlar (Şekil 2.3):

Hidrofilik grup pozitif yük taşır. Katyonik Gemini (10-2-10), bu surfaktant grubuna örnek verilebilir. Dezenfekte özelliklerinde dolayı ev ve banyo temizliği için kullanılan maddelerin içeriklerinde yer alırlar(Akbaş vd.,2014).

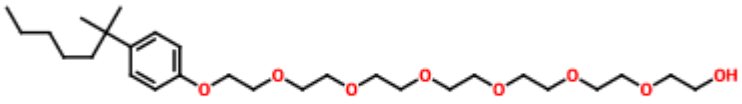


Katyonik Gemini (10-2-10)

Şekil 2.3: Katyonik Surfaktant (Akbaş vd.,2014).

c) Noniyonik Surfaktantlar (Şekil 2.4):

Yüklü grupları yoktur ve iyonlaşmazlar, ancak eterik oksijenlerinin yaptığı hidrojen bağları ile suda çözünebilirler. Noniyonik Triton-X-114 bu surfaktant grubuna örnektir. Herhangi bir yük taşımadıklarından dolayı suya karşı dirençleri yüksektir. Evsel temizleyicilerin içeriklerinde yaygın olarak bulunurlar (Dane vd.,2012).

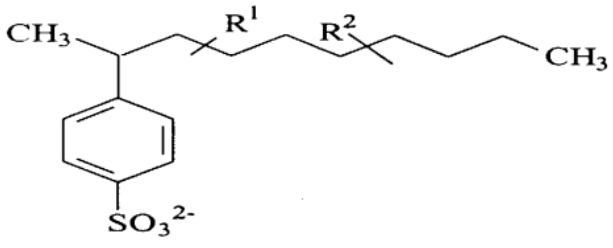


Noniyonik Triton-X-114.

Şekil 2.4: Noniyonik Surfaktant (http://www.molbase.com/en/index-948017-1.html)

d) Amfoterik Surfaktantlar (Şekil 2.5):

Molekül ve bileşiklerde anyonik ve katyonik hidrofilik grubu ile birlikte yer alırlar. Kişisel bakım ürünlerinde, evsel temizleyicilerde kullanılırlar (Öztürk,2012).

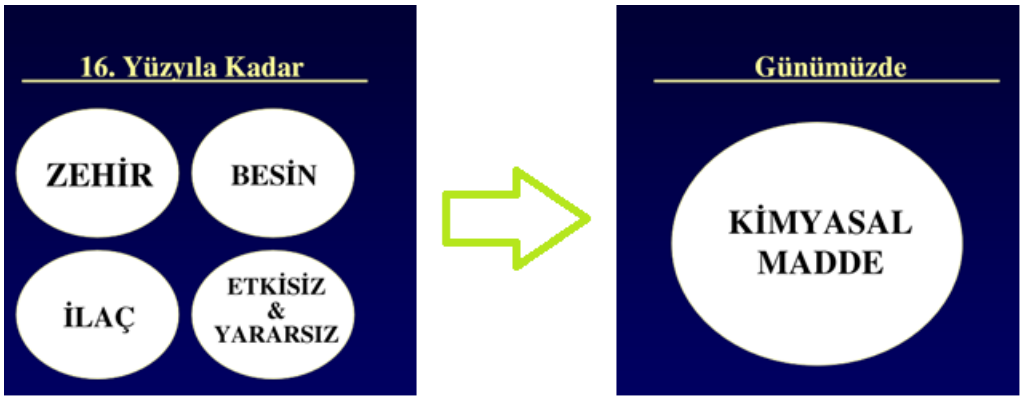


Linear Alkil Benzen Sülfonat

Şekil 2.5: Amfoterik Surfaktant.

2.2. Toksisite:

Genel bir tanımla, toksik maddeyle alışveriş ya da maruziyetin canlının aleyhine sonuçlanması durumuna toksisite denir (http://www.tfd.org.tr/eski/KTCG_Kurs_042010/01_HO.pdf). Toksik etkiye sahip olan maddeye maruziyetin sonucunda ortaya çıkan ilk etkiye akut etki, hedef bireyin ilerleyen yaşamsal evresinde ortaya çıkan ikincil etkiye ise kronik etki denir. (Vural,1984).Toksisiteye etki eden faktörler, 16. yüzyıla kadar zehir, besin, ilaç iken; günümüzde birçok alanda kullanılan kimyasal maddelerdir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Toksisiteye etki eden faktöreler(http://www.tfd.org.tr/eski/KTCG_Kurs_042010/01_HO.pdf) .

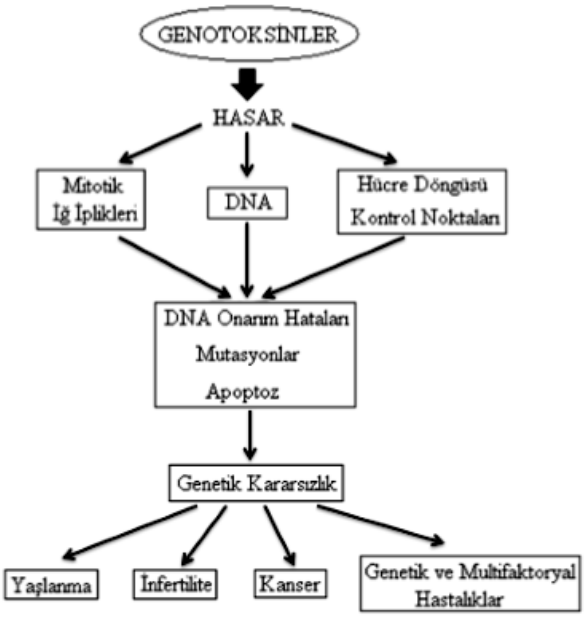
2.2.1.Genotoksisite:

Toksikolojinin alt birimi olarak kabul edilen genetik toksisite canlı organizmanın biyolojik işlevi sırasında kimyasal, fiziksel ve biyolojik etkiler sonucunda DNA düzeyinde meydana gelen değişimleri inceleyen bilimdir. (Choy,2001). Çevresel etkenlerin yaratmış oldukları bu genetik hasarın değerlendirilmesi oldukça önemlidir (Young,2002).

Genetik toksisite, hücrede DNA düzeyinde meydana gelen tüm aberasyonları kapsayan terimdir (Mortelmans ve Rupa,2004). DNA replikasyonu sağlayan

enzimlerle etkileşime giren kimyasal maddelerin yaratmış olduğu etkiler genotoksik etki olarak tanımlanır. (Zeiger,2004).

DNA molekülünde aberasyona neden olan bu kimyasal maddeler ve mutajenler ya doğrudan ortaya çıkar ya da protein sentezine katılarak dolaylı olarak ortaya çıkmaktadır (Kirsch-Volders vd., 1997). DNA hasarına neden olan bu maddeler canlıda, kanser, infertilite, ölüm, genetiksel bozukluk ve hastalık şeklinde açığa çıkmaktadır. (Mateuca, 2006). Genotoksinlerin DNA üzerindeki etki mekanizması Şekil 2.7'de verilmiştir.



Şekil 2.7: Genotoksinlerin DNA üzerindeki etki mekanizması (http://dergipark.ulakbim.gov.tr).

2.2.2. Genotoksisite Testleri:

Genotoksisite testleri, 1970 yılından itibaren günümüze kadar çok geliştirilmiştir. Yeni test sistemleriyle de uyumlu hale getirilmiştir. Bu sayede günümüzde kullanıma açık birçok genotoksisite testi geliştirilmiştir (Bedir vd.,2004). Genotoksisite testleri, doğrudan ya da dolaylı olarak kullanılarak hücredeki genetik yapılarda meydana gelen hasarları tespit etmekte kullanılır. Bu

hasarları tespit etmek için in vitro ve in vivo testlerden oluşan sistemler kullanılır. (Vural,2005).

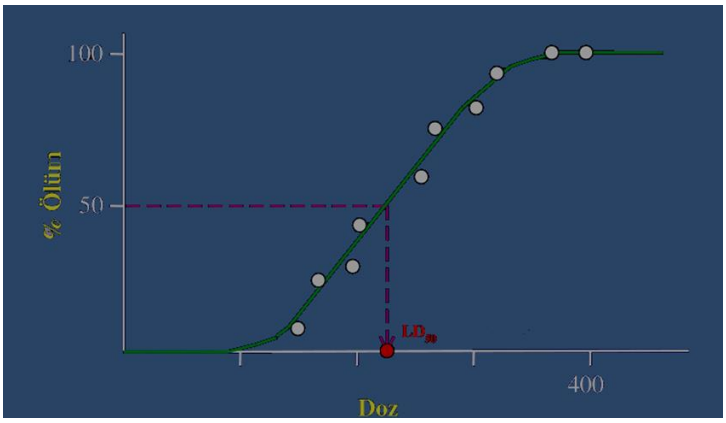
Genotoksisite testleri; surfaktant madde, fiziksel etki, diğer zararlı kimyasallar, piyasadaki ilaçlar gibi potansiyel tehlikesi olan her ajanı tespit etmede kullanılır (Preston,1981). Kullanıma sürülmeden önce genetik etkilerinin tayininde ve güvenilirliklerini araştırmada kullanılan biyoizlem testleridir. (Jena vs., 2002).

Toksik etkiye neden olabilecek maddelerin, genotoksik etkilerinin bilinmesi ekosistemde yer alan biyolojik aktiviteler ile karşılaştırma olanağı sağlar. Böylece maddelerin ekosistemdeki dayanıklılıkları ve stabiliteleri belirlenebilir. Ayrıca oluşabilecek ara ürünlerin de toksisitesinin araştırılmasını gerektirebilir (Hayes,1989). Genotoksiste testleri in vivo ve in vitro olarak uygulanabilir.

2.2.2.1. İn Vivo Testler:

Toksisitesi araştırılacak kimyasal maddenin etki değeri birçok canlı türünde in vivo olarak incelenir. Akut toksisite; canlı populasyonunda meydana gelen ölüm oranı testi, kronik toksisitede ise; dokulardaki biriken toksik maddeler üzerinde incelemeler yapılır.

- Akut toksisite araştırılmasında; deney canlılarında tek dozla alınan cevap (etki) ilişkisi değerlendirilir. Bu amaçla kimyasal maddedeki letal doz (LD_{50} -LC_{50}-EC_{50}) tayini yapılır (Hodgson ve Guthrie, 1984) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Mediyan latel doz (http://www.tfd.org.tr/eski/KTCG_Kurs_042010/01_HO.pdf).

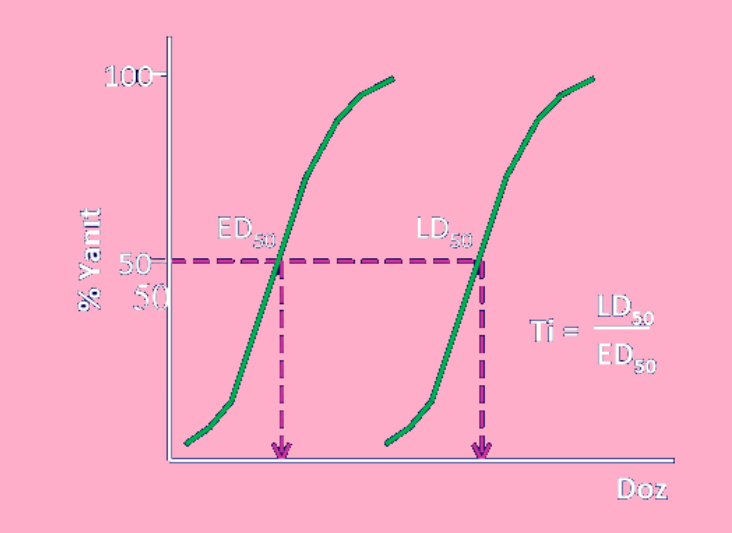
LD_{50} Median letal doz: deneysel olarak kullanılan canlıların belli standartlarda uygulanan toksik maddenin, bu canlı populasyonunun %50'sini ortadan kaldıran doz olarak tanımlanır. LC_{50} –EC_{50} ise: "belirlenmiş zaman periyotlarında, ortamda (su, hava gibi) bulunan kimyasal maddenin etkisinde olan deneysel olarak kullanılan canlı populasyonunun %50'sini öldüren ya da %50'sinin gelişmesini olumsuz etkileyen madde konsantrasyonu" olarak ifade edilir (Hayes, 1989).

LD_{50} ve LC_{50}- EC_{50} tayininde kullanılan en basit yöntem, grafiksel yöntem olup, hep ya da hiç düşüncesine dayanır. Böylece deney grubunda, kimyasal maddeye bağlı ölüm yüzdesi ve biriken değerlerin incelemesi yapılır (Hodgson ve Guthrie, 1984).

Terapotik indeks (Tedavi indeksi); canlı populasyonu üzerinde etkili olan toksik madde dozu (LD_{50}- EC_{50}) ile bu toksik etkiye neden olan maddenin tedavisinde kullanılan etki madde dozunu (ED_{50}) karşılaştırmak için kullanılır. TI yüzdesi ne kadar yüksek ise, toksik madde tedavisinde kullanılan bu ilacın güvenilirliği o kadar yüksek demektir

Kimyasal madde güvenilirliğinin araştırılmasında TI yeterli değildir.

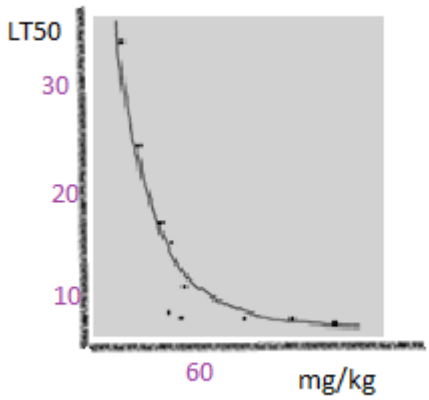
Terapotik indeks kavramı, kimyasal maddeler dışında, genelde ilaçların risk tayininde kullanılır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9: Zararsızlık sınırlarını belirleme (http://www.tfd.org.tr/eski/KTCG_Kurs_042010/01_HO.pdf).

- Kronik testler: deney canlısının yaşamının önemli bir kısmını, bazen de birden fazla jenerasyon üzerinde yapılan toksisite araştırmalarını içerir. Kronik toksisite deneyleri, 3 aydan fazla süreli olarak uygulanır. Genelde uygulama süresi, deney canlısının incelenecek maddeye temas etme süresi temel alınarak yapılır. Bazı durumlarda, bir madde için 6-8 ay yeterli kabul edilirken, bazı durumlarda bu süre 2 yıla kadar çıkabilir. Kronik toksisite araştırmaları; kronik toksisite, karsinojenesite, teratojenesite ve üreme (reprodüksiyon) testleri olmak üzere sınıflandırılabilir. Bu test toksik etkili kimyasal maddenin dokulardaki birikme etkilerini araştırır. Ayrıca maddenin karsinojenik potansiyeli olup olmadığı araştırılır.

- Letal süre (LT_{50}): Toksik etkili kimyasal maddenin belirlenmiş olan bir konsantrasyonunun deney canlı popülasyonunun yarısını öldürmesi için geçen süredir. (Şekil 2.10). Ancak maddelerin toksisitelerini karşılaştırmada kullanılamaz. LT_{50}'nin doza göre değişimi, kronik toksisitenin kantitatif değerlendirilmesinde kullanılabilir (Vural,2005).



Şekil 2.10: Ortalama ölüm zamanı ile doz arasındaki ilişki.

2.2.2.2. İn Vitro Testler:

Kimyasal maddelerin yaygın bir şekilde kullanılmasının, yaşadığımız çevre, ekosistem ve yaban hayata etkisi oldukça olumsuzdur (Bora ve Delen, 1981).

In vitro testler genel olarak yalıtılmış hücre sistemleriyle birlikte uygulanır. Genellikle kısa sürelidir ve etki-cevap ilişkisi soruna kesin cevaplar verir. İn vivo test sistemleriyle kombine olarak kullanılabildikleri gibi, tek bir sisteme bağlı olarak analizler yapmak mümkündür. İn vitro test sitemlerin de toksik etki taşıyan kimyasalın direkt olarak hücre ve DNA düzeyinde veriler elde edilmesini sağlar. (Blank vd., 1985). İn vitro genotoksisite testlerini; Salmonella/Mikrozom Mutajenite (Ames) (Mron ve Ames,1983), Comet Testi (Şekeroğlu,2011), RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimofik DNA) Testi (Welsh,1990), Kromozom Anormallikleri (KA) Testi (Norpha,2006), Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Testi (Wilson ve Thompson, 2007), Mikronukleus (MN) Testi (Hayashi, 2000), Stamen Tüy Analizi(Akı ve Karabay, 2004, İlhan ve Akı,2009), *Allium* Testi şeklinde sınıflandırabilir.

2.2.2.2.1. *Allium* Testi:

Toksisite testlerinde genellik olarak tercih edilen canlılar; çeşitli bakteri türleri, mayalar, mantar türleri, böcekler, memeli hücre sistemleri ya da laboratuvar fareleridir Rank vd., 1997). Kimyasalların, canlılar üzerinde neden olduğu genetik hasarların tespitinde bitki biyotestleri yüksek duyarlılıkları sebebiyle uzun yıllardır kullanılmaktadırlar (Al,2015). Bu testler; *Allium/Vicia* kromozom anormallik testleri veya mikronükleus testleri, *Tradescantia* mikronükleus testleridir (Al,2015, Chakraborty,2009).

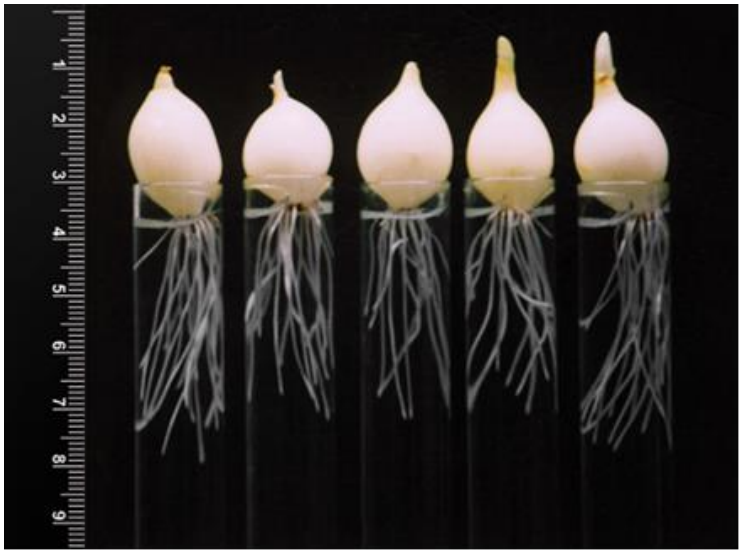
Özellikle kolay elde edilmesi, uygulamadaki basitlik sebebiyle *Allium* testi bilim insanları tarafından sıkça tercih edilmektedir (Fındıklı ve Türkoğlu,2010) (Şekil 2.10). *Allium* testi tüm mitotik evrelerdeki anormalliklerin belirlenmesini sağlamaktadır ve memeli test sistemleriyle iyi korelasyon (uyum) göstermektedir (Yıldız vd., 2009). Genel hatlarıyla *Allium* testinin fayda ve avantajları aşağıdaki gibidir (Al,2015).

1) Kökleri test edilecek kimyasal ile direkt temas halinde olduğu için önemli bir in vivo model organizmadır.

2) Diğer test sistemlerine göre kolay elde edilmesi, ucuz olması, hücre siklusunun kısa olması gibi nedenlerden dolayı tercih edilmektedir.

3) Ökaryotik bir canlı olan *Allium cepa* L. mitoz ve mayoz geçirir, mutasyona uğrar. Kendiliğinden oluşan mutasyonlar gerçekleştiğinden, dolaylı yoldan memeli sağlığını etkileyebilecek mutajenlerin tespit edilmesini sağlar.

4) Kromozom sayısının ve yapısının sabit olması, kromozom morfolojisinin yapısal ve sayısal anormalliklerin tespit edilmesinde kullanılır (Al,2015,Arıkan,2006,Firbas,2013).



Şekil 2.10: *Allium* kromozom aberasyon testi (http://www.mik-ce.si/okna/energijska-okna) .

2.2.3. Mitotik Aktivite (İndeks) Hesaplama:

Meristematik hücrelerdeki toksik etkiyi belirlemek için kullanılan temel hesaplama yöntemlerinden biridir. Hesaplamalar bölünen hücrelerin bölünmeyen hücrelere oranı yapılarak bulunur. Toksikolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Sonuçlar yüzde (%) şeklinde bulunur.

•Mitotik aktivite (indeks) formülü (Şekil 2.11);

$$\text{Mitotik indeks (\%)} = \frac{\text{Bölünen Hücre Sayisi}}{\text{Toplam Hücre Sayisi}} x100$$

Şekil 2.11: Mitotik indeks formülü (http://maycalistaylari.comu.edu.tr).

2.2.4. İstatiksel Analizler:

ANOVA tek yönlü varyans analizi (Tablo 2.1): ANOVA (Analysis of Variance) testi grup ortalamaları, grup içi ve gruplar arası varyasyonlara bağlı olan işlemleri analiz etmek için kullanılan temel istatistik modellerindendir. Parametrik bir çıkarım olan ANOVA, ana kütle ortalamaları arasında fark olup olmadığını çeşitli güven aralıklarıyla sınayan bir istatistiksel sistemdir(Al,2015, Ferguson ve Takane, 2005).

Tablo 2.1: Otokontrol puanlarının yaş değişkenine göre farklılaştığını belirlemek üzere yapılan tek yönlü varyans analizi (ANOVA TESTİ) (http://mustafaotrar.net/).

YAŞ	Otokontrol Değerleri (OD)	*OD ± SH
15	57	57 ± 0,97
16	62	62 ± 1,03
17	70	70± 1,97
18	81	81± 2,03

***OD ± SH (Ortalama değer ± Standart Hata)**

Duncan çoklu karşılaştırma testi (Tablo 2.2): Duncan testi, grup ortalamaları karşılaştırılırken ortalamaların büyüklük sıralanışlarını temel alan bir yöntemdir. Ortalamalar, büyüklüklerin birbirlerinden uzaklıklarına göre hesaplanır ve değerlendirilir. Özellikle toksisite çalışmalarında oldukça sık kullanılan varyans analizlerindendir (Kesici ve Kocabaş,1998).

Tablo 2.2: Hasta özellikleri-Duncan çoklu karşılaştırma testi (http://www.tuberktoraks.org)

	KOAH	ASTIM
YIL	38±7	42±17
CİNSİYET (K/E)	9/11	10/10
SİGARA (PAKET/YIL)	-	-

2.2.5. Hücre Siklusu (Döngüsü) :

Canlılar yaşamları boyunca mitotik aktivitelerini devam ettirirler. Hücre bölünmesi mitoz ve mayoz olmak üzere iki tiptedir.

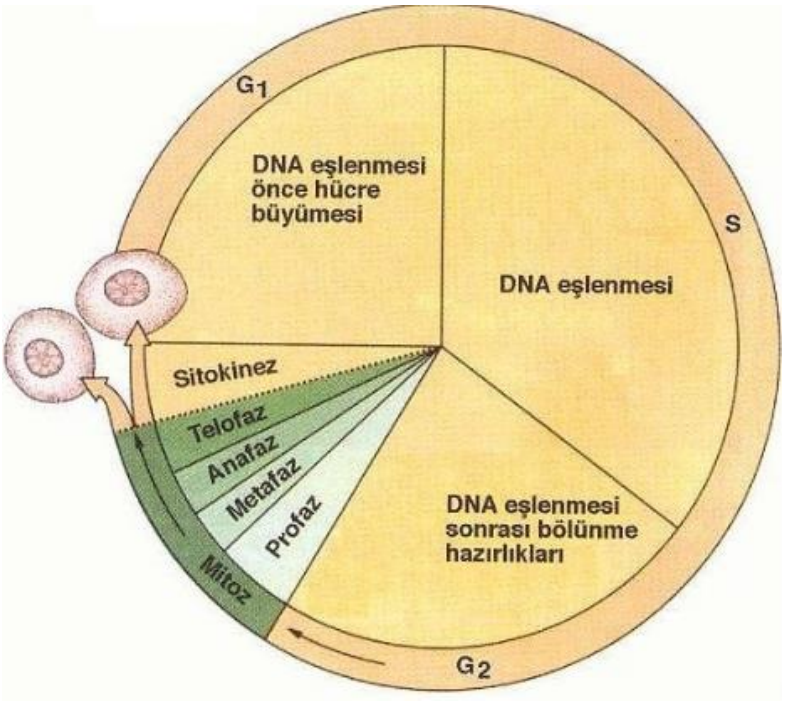
Mitoz bölünme de, temelde diploid somatik hücrelerin aynı genetik özelliği taşıyan hücreler oluşturması şeklindedir. Mayoz bölünmede ise, haploid germ hücreleri oluşur ve çok hücreli canlı türlerinde genetik materyalin gelecek nesle aktarımını sağlar.

Hücre döngüsü, hücre içinde gerçekleşen, hücrenin iki eşit kardeş hücreye bölünmesini sağlayan olaylar zinciridir. Hücre döngüsü sırasında mitoz ve interfaz olmak üzere iki kilit olay gerçekleşir. İnterfaz evresi mitoz evresinden daha uzundur. Bu olaya döngü (siklus) denmesinin sebebi, hücre mitozunun telofazda başlaması ve telofazdan sonra interfaza girmesinden kaynaklanmaktadır. Hücre siklusunun süresi canlı türlerine göre değişkenlik gösterir. Hücre siklusu G_1 (Preduplikasyon), S (sentez), G_2 (Postduplikasyon) ve M (mitoz) evrelerinden oluşur (Şekil 2.13). (Öztürk,2012,Güneş,2006).

Preduplikasyon evresi-G1 evresi: DNA' nın kendine duplike edebilmesi için gerekli enzimlerin üretimi bu evrede başlar. Bu evrede hücre hacmi hemen hemen yarıya indiği için RNA ve protein sentezi gerçekleşir. Nukleus yapımı tamamlanmış olup sentrioller kendini duplike etmeye başlar.

Sentez (S) Evresi: Sentriol duplikasyonu bu evrede devam eder. DNA duplike olmuştur ve yapısına nükleoproteinlerin hepsi katılır. DNA duplikasyonu tamamlandığı için hücrede DNA iki katına çıkar. Kromatin materyali oluşur.

Post-duplikasyon-G2 Evresi: Bu evrede DNA hatalarının onarılacağı kontrol noktaları bulunur ve DNA replikasyonu denetlenir. Mitoz bölünme sırasında tüketilecek olan enerji bu evrede sağlanır. Protein sentezi devam eder. (ipedu.cumhuriyet.edu.tr).



Şekil 2.13: Hücre siklusu (döngüsü) (biyologlar.com).

M Evresi: Toplamda 5 evreden oluşur (Şekil 2.14). İlk 4 evre; profaz, metafaz, anafaz, telofazdır, 5. evre ise telofazdan sonra meydana gelen sitokinez'dir.

- **Profaz:**

Hücre siklusunda (döngüsünde), G_2 fazından M fazına geçiş belirgin değildir. İnterfaz sırasında, kromatin yoğunlaşarak belirginleşir. Kromozom, S fazında duplike olmuş ve her biri iki kardeş kromatid (sister kromatid)'li hale geçerler. Sentromerler,

kromatidlerin uygun olarak birbirinden ayrılmalarını sağlarlar. Profazın başlarında, sentrioller hücrenin farklı kutuplarına doğru çekilirler. Profaz evresinin sonunda, interfaz evresinde sitoplazmanın iskeletini oluşturan mikrotübüller dağılır ve nukleus dışında mitotik iğcik oluşmaya başlar. Sentrioller arasında uzanan mikrotübüller ve onlara bağlı proteinler oluşan çift kutuplu yapıdadır.

- **Metafaz:**
  Metafaz iki alt evrede incelemek mümkündür:

a) Prometafaz: Prometafaz tam olarak nüklear zarfın dağılması ile başlar. Nüklear zarf küçük vezikül halini almış Endoplazmik retikulum (E.R) parçacıklarından ayırt edilemeyen zar vezikülleri halinde parçalanır. Bu veziküller bütün mitoz boyunca iğcik çevresinde yer alır. Nüklear zarın dağılmasıyla iğciği oluşturan mikrotübüller ise, nukleusun yer almış olduğu bölgede uzanır. Kinetokor mikrotübülleri, her kromozomdaki iki kardeş (sister) kromatidten farklı yöne uzanarak durur.

b) Metafaz: Bu evrede kromozomlar, metafaz plağında (ekvator düzleminde) yer alırlar.

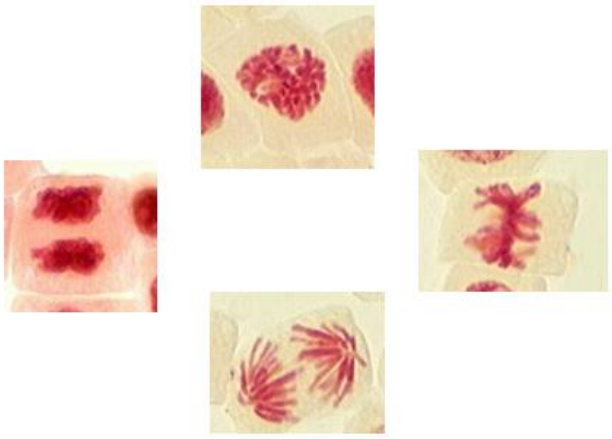
- **Anafaz:**

Özel sinyaller ile başlatılır. Anafazda, her bir kromozom kinetokor çiftleri ayrışır. Böylece her bir kromatin iğciklerle eşleşir, kromozomlar hücre kutbuna çekilir. Bütün kromatidler aynı hızla (dakikada 1 µm)hareket eder. Anafaz sırasında iki farklı olay gerçekleşir:

Anafaz A: kinetokor mikrotübüller kısalır, dolayısıyla kromozomlar kutuplara yaklaşır. Anafaz B: mikrotübüllerin uzamasıyla da iğciğin iki kutbu birbirinden uzaklaşır.

- **Telofaz:**

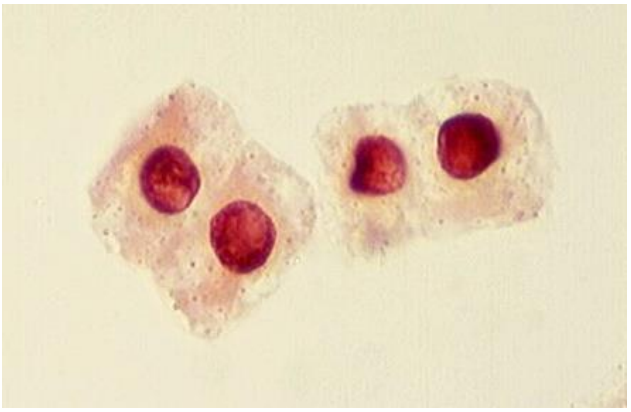
Kromatidler kutuplara çekilir ve kinetokor mikrotübülleri ortadan kalkar. Polar mikrotübülleri ise uzama işlemine devam eder. Oluşan yeni kromozomların etrafında nuklear zarf oluşur, yoğun durumdaki kromatinler yayılır, nukleolus görünür hale gelir ve mitoz sonlanmış olur (Öztürk,2012).



Şekil 2.14: Mitoz bölünme ve evreleri (Tez çalışmasına ait preparasyon görüntüleri).

- **Sitokinez:**

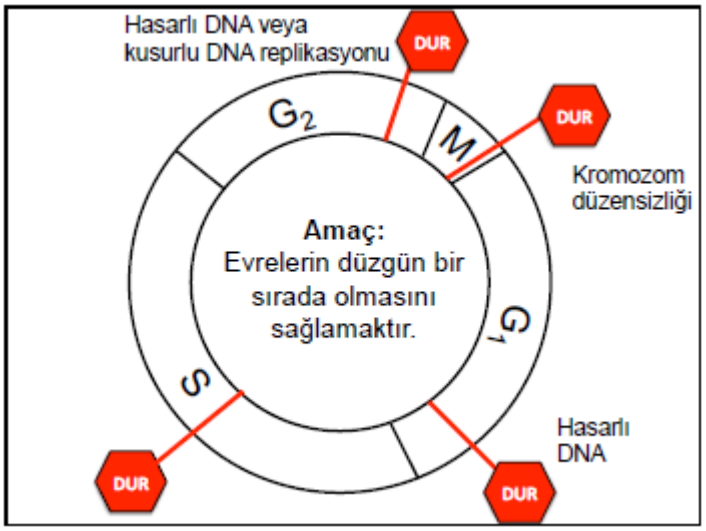
Sitokinez, ayrışma olarak da adlandırılır (Şekil 2.15). Sitokinez olayı, anafaz evresi sırasında başlar. Hücrenin ekvator bölgesine paralel olan hücre zarı, aktin ve miyozin flamentlerden meydana gelen kontraktil halkaları ile nukleus arasında bir ayrışma oluğu oluşturur (Güneş,2006). Oluşan oluk, gittikçe daralır ve kaynaşarak iki yeni hücrenin oluşmasını sağlar (Öztürk,2012, Kesici ve Kocabaş,1998).



Şekil 2. 15: *Allium cepa* L hücresi Sitokinez (Tez çalışmasına ait preparat görüntüsü) .

Hücre Döngüsü Kontrol Mekanizmaları ve Düzenleyiciler: Hücre döngüsündeki olayların düzenli devam etmesi, kontrol noktaları ile sağlanır. Kontrol noktaları hücrenin; interfazda hasarlı DNA'nın ve replikasyonu tamamlanmamış kromozomların yavru hücrelere geçişini engeller, hücre siklusunda fazlar arası koordinasyonu sağlar, mitoz bölünmede hücrenin metafazdan anafaza geçişini ve mitozdan çıkışını kontrol eder. Temelde hücre siklusu kontrol noktaları G_1, S, G_2 ve M kontrol noktaları olmak üzere ayrılırlar.

- **G_1 Kontrol Noktası:** Hasarlı bir DNA varsa hücrenin S evresine geçişi yavaşlar ya da engellenir. Eğer DNA'nın onarılma imkânı var ise, hasarlı DNA'yı onarılmasına olanak sağlanır.
- **S Kontrol Noktası:** Baz eşleşmelerinde ve DNA replikasyonunda bir hata varsa hatayı bulma ve onarma şeklinde kontrol görevi yapar.
- **G_2 Kontrol Noktası:** S evresinin tamamlanmadan hücrenin mitoza girişini engeller, replike olmamış DNA'lar saptanır ve hücrenin mitoza başlamasını durdurur.
- **M Kontrol Noktası:** Metafaz ve anafazda genom bütünlüğünün korunmasını, bölünme sırasında metafaz ve anafaz geçişlerini ve kromozom dizilişlerinin kontrolünü sağlar (Şekil 2.16).



Şekil 2.16: Hücre Döngüsü Kontrol Mekanizmaları ve Düzenleyiciler (Aytekin,2015).

2.2.4. Flow Sitometri (Akım Sitometri) :

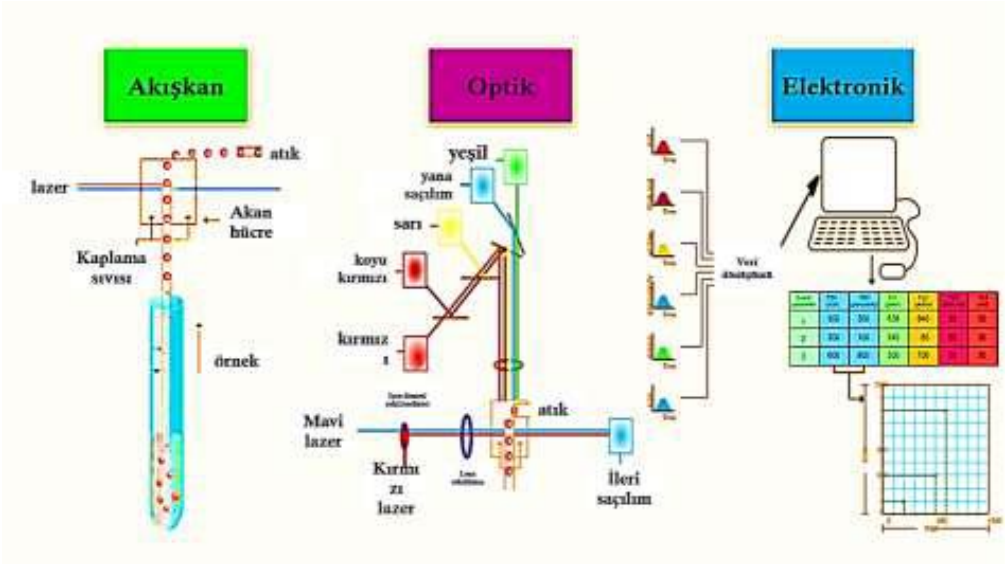
Flow sitometrinin çalışma prensipleri 1969 ‘de argon lazerinin keşfi ve kullanımıyla başlamıştır ve son yıllar da gelişmeye devam etmesiyle günümüze kadar gelmiştir (Dunphy 2004).

Flow sitometri, hücrelerin veya biyolojik partiküllerin fiziksel ya da kimyasal karakterlerinin ölçülmesidir (Kanev 2016). Flow sitometri temelde; sitoplazmik granülerite, DNA ve RNA içeriği, hücreleri boyut- şekil, açısından değerlendirir. Flow sitometri analizinde, hücre ya da partiküller flüoresan boyar madde ile işaretlenir. (Kanev2016, Demirel 1995).

Flow sitometri de flüorasan boyar madde ile işaretlenmiş süspansiyon lazer ışınlarının bulunduğu kaynaktan geçerek sinyaller oluşturur. Oluşan bu sinyallerden veriler toplanır. Toplanan verilerden hücrenin araştırılmak istenen özellikleri hakkında bilgiler edinilir. (Kanev 2016, Karaboz vd., 2008).

Flow sitometri sistemin temel olarak, akış kapileri, lazer ışık kaynağı, ayırma bileşenleri ve istatistik programından meydana gelir (Şekil 2.16) (Pozarowski vd.,2004).

Akıcı sistem, merkez kanaldan oluşur ve örnek cihaza bu kısımdan yüklenir. (Craig ve Foon,2004).



Şekil 2.17: Flow sitometri bileşenleri (Kanev,2016).

Flow sitometri, hücrelerin büyüklük ve granülitelerini kantitatif olarak ölçen bir sistemdir (Şekil 2.17) (Taneli,2007,Youli vd,2009).

Flow sitometri cihazı ve tekniği hızlı bir teknik olup, kısa sürede detaylı veriler toplanmasını sağlar. Heterojen özellik gösteren populasyonların analizlerini kısa sürede tamamlanmasına olanak verir. (Kanev,2016, http://flowcytometry.med.ualberta.ca/). Flow sitometri 'de, analizler dört şekilde yapılabilmektedir (Brown ve Wittwer,2000. İbrahim,2007,Herzenberg vd,2002, Rahman,2006).

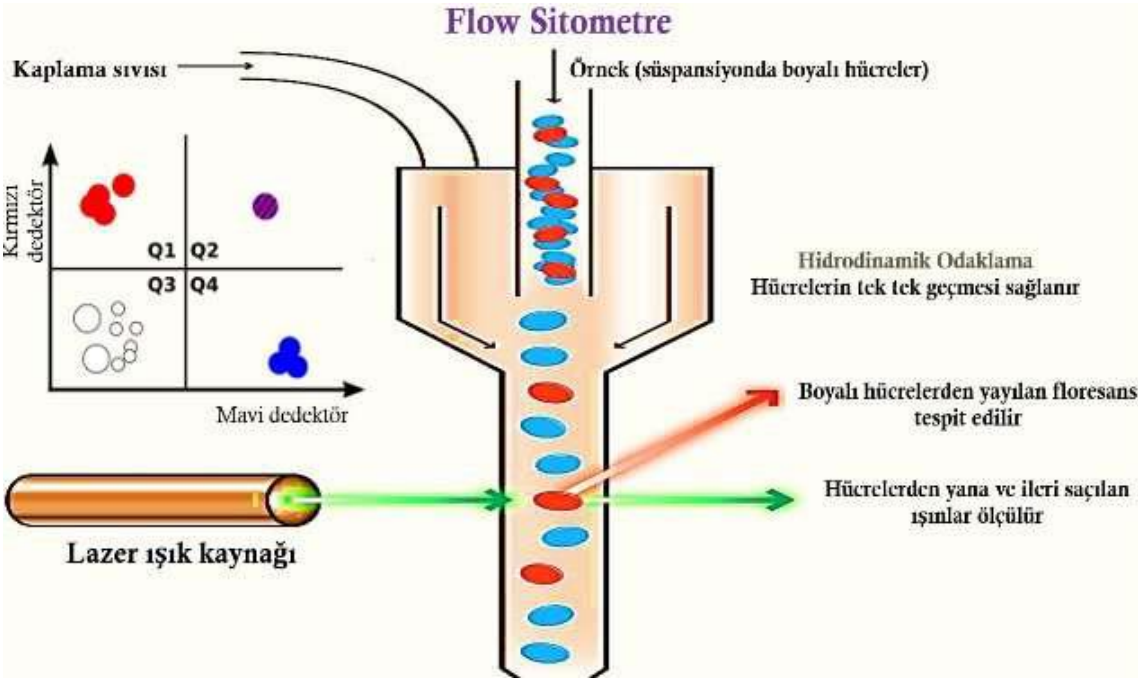
Bunlar;

1-Hücrelerin büyüklüklerine ve granülitisine göre analiz;

2-Tek tip floresan boya kullanılarak yapılan analiz;

3-Çok renkli floresan etkili boyar madde (2-17 renk) ile işaretlenerek gerçekleştirilen analiz (Villas, 1998);

4-Hücre zarının geçirgenliğinin artırılması sonucu eklenen floresan boya ile işaretli monoklonal antikorlar ile yapılan analiz şeklinde sıralamak mümkündür(Çınar,2009).



Şekil 2.18: Flow sitometri çalışma prensibi (Kanev,2016, Daniel 2004).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1.Materyal

3.1.1.Test Materyalleri

- ***A. cepa:***

Bu çalışmada araştırma materyallerinden ilki, ticari olarak eşit büyüklükte temin edilmiş *A. cepa* (2n=16)'dır. Kolay elde edilmesi, ucuz olması, her zaman kök oluşturma yeteneğinde olması, kromozom boyutlarının büyük olması ve kromozom sayısının az olması nedenlerinden dolayı kimyasal maddelerin toksik etkilerinin belirlenmesinde birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. Aynı zamanda memeli test sistemleri ile büyük korelasyon gösterdiği için test materyali olarak seçilmiştir. Test öncesinde oda sıcaklığında kuru ve ışık görmeyen bir ortamda muhafaza edilmiştir.

A. cepa sistematik olarak şu şekilde sınıflandırılmaktadır;

Alem (=Regnum) : *Plantae* – Bitkiler
Alt alem (=Subregnum) : *Tracheobionta* – Vasküler bitkiler
Süper Bölüm (=Super divisio) : *Spermatophyta* – Tohumlu bitkiler
Bölüm (=Divisio) : *Magnoliophyta* – Çiçekli bitkiler
Sınıf (=Classis) : *Liliopsida* – Monokotiledonlar
Alt Sınıf (=Subclassis): *Liliidae*
Takım (= Takım): *Liliales*
Familya (=Familia) : *Liliaceae*
Cins (=Genus) : *Allium* L. – Soğan
Tür (=Species) : *Allium cepa* L. – Mutfak soğanı (http://www.tubives.com).

- ***L. culinaris:***

Bu çalışmada araştırma materyallerinden bir diğeri de, ticari olarak temin edilmiş *L. culinaris* (2n=14)2dir. Kolay elde edilmesi, ucuz olması, her zaman çimlenme yeteneğinde olması, kromozom boyutlarının büyük olması ve kimyasal maddelerin toksik etkilerinin belirlenmesinde araştırmacılar tarafından kullanılmıştır. Ayrıca yapısal olarak ekstrem şartlara uyum sağlaması, zengin besin değerlerine sahip olması ve ülkemizde yaygın kullanımı nedenleri ile test materyali olarak seçilmiştir. Test öncesinde +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

L. culinaris Medik sistematik olarak şu şekilde sınıflandırılmaktadır;

Alem (=Regnum): *Plantae* – Bitkiler
Alt alem (=Subregnum) :*Tracheobionta* – Vasküler bitkiler
Süper Bölüm (=Super divisio): *Spermatophyta* – Tohumlu bitkiler
Bölüm (=Divisio): *Magnoliophyta* – Çiçekli bitkiler
Sınıf (=Classis): *Magnoliopsida* – Dikotiledonlar
Altsınıf (=Subclassis): *Rosidae*
Ordo (=Ordo): *Fabales*
Aile (=Familia): *Fabaceae*
Cins (=Genus): *Lens*
Tür (=Species): *Lens culinaris* Medik. –Mercimek (http://www.tubives.com).

3.1.2 Test Kimyasalları

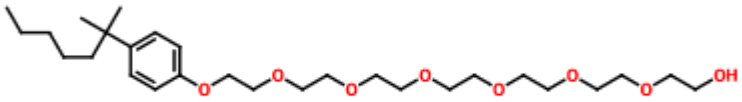
Bu araştırmada, noniyonik surfaktant Triton X-114 (Şekil 3.1) ve katyonik surfaktant Gemini (10-2-10) kullanılmıştır.

- **Noniyonik Surfaktant Triton-X-114:**

Ticari adı: Triton-X-114
Sinonimi: Polyethylene glycol tert-octylphenyl ether.

Moleküler ağırlığı: 514,69 g/mol.

Kimyasal ve Yapısal formülü: ($C_{14}H_{22}O[C_2H_4O]7$-8).



Şekil 3.1: Triton-X-114' ün yapısal formülü.

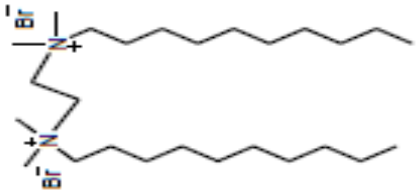
- **Katyonik surfaktant Gemini (10-2-10) (Şekil3.2):**

Ticari adı: Gemini (10-2-10)

Sinonimi: N,N'didecyl-N,N,N',N-tetramethyl N,N-ethanediyl-diammonium dibromide.

Moleküler ağırlığı: 663,91 g/mol.

Kimyasal ve Yapısal formülü: C10H21N+(CH3)2-CH2-(CH2-OCH2)2-CH2-+(CH3)2C10H21, 2Br-



Şekil 3.2: Gemini (10-2-10)' un yapısal formülü.

3.2 Metod

3.2.1. Test (Bitki) Materyallerinin Hazırlanması

A. cepa kullanılmadan önce nemsiz ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. 60-70 mm çapında ve eşit büyüklükteki *A. cepa* kullanılmıştır. Köklendirme denemelerinden önce *A.cepa*'ların köke zarar vermeden kuru kökler dikkatlice uzaklaştırılmıştır.

L. culinaris kullanılmadan önce +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Deney kurulmadan önce, seçilen *L. culinaris* tohumları 2 dakika % 75 (v / v) etanol ile yıkanmıştır. Tohumlar yıkama işlemini takiben % 2.5 (v / v) sodyum hipoklorit ile 10 dakika süreyle sterilize edildikten sonra ve distile su ile yıkanmıştır.

3.2.2. Kimyasal Maddelerin Hazırlanışı ve Deneylerin Kurulması

Triton X-114 ve Gemini(10-2-10) 'un deney aşamalarında kullanılacak (EC_{50}), (EC_{50}/2), (EC_{50}/4) ile ($2\times EC_{50}$), ($4\times EC_{50}$) değerlerin belirlenmesinde kök büyümesi inhibisyonu testi (fitotoksisite testi) kullanılmıştır.

A. cepa; distile su ile dolu cam kaplara (60 mm çap ×80 mm uzunluk) bırakılan soğanlar 1 gün süre ile bekletilmiştir. 1 gün sonra, kontamine olmamış soğanlar; kontrol (distile su) ve Triton X-114'ün % 2 g/L ,% 1 g/L, % 0,50 g/L, %0,25 g/L, % 0,12 g/L - Gemini (10-2-10)'un % 1 g/L ,% 0,50 g/L, % 0,25 g/L, %0,12 g/L, % 0,06 g/L konsantrasyonlarına (g/L) 1 hafta süreyle büyümeye bırakılmıştır. Deney, 24±1ºC'de laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiştir. İlk 24 saatin sonunda deney gruplarından; kök ucu hücrelerinde mitotik indeks, kök ucu hücrelerinde faz indeksi, mitoz bölünme evrelerinde anormallik görülen hücrelerin sayı ve yüzdelerini belirlemek için, 1 mm uzunluğundaki kök uçları fiksatife alınmıştır.

L.culinaris; güneş ışığı almayan koşullarda (100 x 15 mm) petri kabında, filtre kağıdına 30'ar adet mercimek tohumları ekilmiştir. Kontrol (distile su) ve Triton X-114'ün % 8 g/L ,% 4 g/L, % 2 g/L, % 1 g/L, % 0,50 g/L - Gemini (10-2-10)'un % 1 g/L ,% 0,50 g/L, % 0,25 g/L, %0,12 g/L, % 0,06 g/L konsantrasyonlarına (g/L)'un 25 ± 2 ºC'de 48 saat boyunca büyümeye bırakılmıştır. 48 saatin sonunda çimlenme yüzdelerini belirlemek için, 0,5 mm ve üzerindeki kök uçları çimlenmiş olarak kabul edilmiştir. İlk 48 saatin sonunda deney gruplarından; kök ucu hücrelerinde mitotik indeks, kök ucu hücrelerinde faz indeksi, mitoz bölünme evrelerinde anormallik görülen hücrelerin sayı ve yüzdelerini belirlemek için, 1 mm uzunluğundaki kök uçları fiksatife alınmıştır. Daha sonra, primer kökleri olan (3-5 mm uzunluğundaki) çimlendirilmiş tohumlar her 24 saatte bir çözeltiler yenilenerek 7 gün boyunca büyümeye bırakılmıştır.

Triton X-114 ve Gemini (10-2-10)'un (EC_{50}) değerleri belirlendikten sonra surfaktantların $EC_{50}/2$, $EC_{50}/4$ ile $2\times EC_{50}$, $4\times EC_{50}$ konsantrasyonları esas alınmıştır. Her bir deney en az 3 kez tekrarlanmıştır.

A. cepa flow sitometri analizleri için, kontrol grubuna göre kök uzamasına en çok etkiyi gösteren Triton-X-114'ün EC_{50} = 0,50 g/L. ile $2\times EC_{50}$ = 1 g/L- Gemini (10-2-10)'un EC_{50} = 0,25 g/L. ile $2\times EC_{50}$ = 0,50 g/L konsantrasyonları seçilmiştir. Soğanlar 48 saat çözeltilerle muamele edildikten sonra, flow sitometri analizleri için 1 mm uzunluğundaki kök uçları kullanılmıştır.

L. culinaris flow sitometri analizleri için, kontrol grubuna göre kök uzamasına en çok etkiyi gösteren Triton-X-114'ün EC_{50} = 2 g/L. ile $2\times EC_{50}$ = 4 g/L- Gemini (10-2-10)'un EC_{50} = 0,25 g/L. ile $2\times EC_{50}$ = 0,50 g/L konsantrasyonları seçilmiştir. Mercimek tohumları 48 saat çözeltilerle muamele edilip çimlendirildikten sonra, flow sitometri analizleri için 1 mm uzunluğundaki kök uçları kullanılmıştır.

3.2.3.Fiksasyon, Hidroliz Ve Boyama Kimyasalları

a)Fiksasyon

Carnoy Fiksatifi

Asetik Asit .....1 kısım

%100 Saf Alkol.....3 kısım (Yakar,1982).

Fiksatifin her kullanımda günlük kullanıma yetecek kadar hazırlanarak, +4°C'de, karanlıkta muhafaza edilmiştir.

b) 1 N HCl (Hidroliz)

%37'lik HCl 'den 82.5 ml alınıp saf su 1000 mi distile su ile tamamlanmıştır.

1 N HCl hazırlanarak +4°C'de, karanlıkta muhafaza edilmiştir.

c)Boyar Maddelerin Hazırlanması

Aseto Orsein Çözeltisi

45ml kaynamış asetik asite 2 g orsein atılarak karışım homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır. Aseto orsein boya solüsyonu oda sıcaklığına gelince üzerine 55 ml saf

su eklenerek, süzülmüştür (Özban,1994). Süzülme işleminden sonra oda sıcaklığında, karanlıkta muhafaza edilmiştir.

CyStain® PI Absolute P kiti

Ambalaj içerisinde 250 test örneğine yetecek kadar reaktif yer almaktadır. Bunlar;

- 125 ml. Çekirdek Ekstraksiyon Tamponu (Nuclei Extraction Buffer),
- 500 ml. Boyama ara Belleği (Staining Buffer),
- 2 x 1,5 ml Propidium Iodide,
- 1 x 5 mg. RNAse A'dır.

1) RNAse S stok solüsyonu

1,5 ml dH_2O (distile su) içine 5 mg RNAse A eklenerek karıştırılmıştır. Stok solüsyon -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

2) 10 örneklik Staining solüsyonu

20 ml Staining Buffer içerine 120 µl Propidium iodide ve 60 µl stok RNAse A solüsyonundan eklenmiştir (https://la-en.sysmex-flowcytometry.com). Hazırlanan solüsyon 2-8 °C'de, karanlıkta sadece 24 saat muhafaza edilmiştir. Her kullanımda günlük kullanım miktarına göre hazırlanmıştır.

3.2.4. *Allium* ve Kromozom Aberasyon Testi

Bitki materyallerinde Triton X-114 ve Gemini (10-2-10)'un 'ün fitotoksik etkilerinin belirlenmesinde, *Allium* testi kullanılmıştır.

A. cepa; Köklenmenin olduğu soğanlar kontrol (distile su) ve Triton X-114'ün % 2 g/L ,% 1 g/L, % 0,50 g/L, %0,25 g/L, % 0,12 g/L - Gemini (10-2-10)'un % 1 g/L ,% 0,50 g/L, % 0,25 g/L, %0,12 g/L, % 0,06 g/L konsantrasyonların da (g/L) 1 hafta süreyle büyümeye bırakılmıştır. Ölçümlerde surfaktant konsantrasyonlarındaki her bir soğanın en iyi gelişim gösteren kökler milimetrik cetvelle ölçülerek, o gruba ait ortalama kök uzunluk değeri hesaplanmıştır. İlk 24 saatin sonunda deney gruplarından; kök ucu hücrelerinde mitotik indeks, kök ucu hücrelerinde faz indeksi, mitoz bölünme evrelerinde anormallik görülen hücrelerin sayı ve yüzdelerini belirlemek için, 1 mm

uzunluğundaki kök uçları fiksatife alınmıştır. Mitoz bölünmenin en fazla görüldüğü sabah saatleri 09.00-10.00 arası fiksasyon işlemleri yapılmıştır.

L. culinaris; güneş ışığı almayan koşullarda (100 x 15 mm) petri kabında, filtre kâğıdına 30'ar adet mercimek tohumları ekilmiştir. Kontrol (distile su) ve Triton X-114'ün % 8 g/L ,% 4 g/L, % 2 g/L, % 1 g/L, % 0,50 g/L - Gemini (10-2-10)'un % 1 g/L ,% 0,50 g/L, % 0,25 g/L, %0,12 g/L, % 0,06 g/L konsantrasyonlarına (g/L)'un 25 ± 2 ºC'de 48 saat boyunca büyümeye bırakılmıştır. 48 saatin sonunda çimlenme yüzdelerini belirlemek için, 0,5 mm ve üzerindeki kök uçları çimlenmiş olarak tespit edilmiştir. İlk 48 saatin sonunda deney gruplarından; kök ucu hücrelerinde mitotik indeks, kök ucu hücrelerinde faz indeksi, mitoz bölünme evrelerinde anormallik görülen hücrelerin sayı ve yüzdelerini belirlemek için, 1 mm uzunluğundaki kök uçları fiksatife alınmıştır. Mitoz bölünmenin en fazla görüldüğü sabah saatleri 09.00-10.00 arası fiksasyon işlemleri yapılmıştır. Daha sonra, primer kökleri olan (3-5 mm uzunluğundaki) çimlendirilmiş tohumlar her 24 saatte bir çözeltiler yenilenerek 7 gün boyunca büyümeye bırakılmıştır. Ölçümlerde her konsantrasyondaki her bir mercimek tohumunun en iyi gelişim gösteren kökler milimetrik cetvelle ölçülerek, o gruba ait ortalama kök uzunluk değeri hesaplanmıştır.

3.2.5. Fiksasyon, Hidroliz, Boyama ve Preparasyon İşlemleri

Fiksasyon İşlemi

Bitki kök uçlarından yaklaşık 1 mm uzunluğunda kesilen materyaller Carnoy fiksatifine alınarak +4ºC'de saklanmıştır. Bu işlem sonrasında, kökler inceleme amaçlı kullanılıncaya kadar +4ºC'de muhafaza edilmiştir (Topaktaş,2010).

Hidroliz İşlemi

Doku hücrelerini birbirlerinden ayırmak amacıyla kökler Carnoy fiksatifinden çıkartıldıktan sonra 1N HCl içerisine alınarak 60ºC'de 10 dakika hidroliz edilmiştir.

Boyama İşlemi

Saat camı üzerine 1 damla 1N HCl 9 damla % 2'lik aseto orsein damlatılarak kök uçları toplu iğne ile parçalanmıştır. Daha sonra lam üzerine alınan kök uçlarının üzerine 1 damla % 2'lik aseto orseinle boyanmıştır.

Preparasyon İşlemi

Triton X-114 ve Gemini (10-2-10)'un *A. cepa* ile *L. culinaris* bitkilerinin kök ucu hücrelerinde mitotik indeks, faz indeksi ve kromozom aberasyon oluşumları üzerine etkilerini incelemek için geçici preparatlar hazırlanmıştır.

3.2.6. Mikroskobik Analizler

Hazırlanan preparatlar, Olympus marka mikroskopta 40X büyütmede incelenmiştir. Kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks ve faz indeksi belirlenmesinde, her uygulama için 10 preparat hazırlanmıştır. Her birinde 300'ün üzerinde hücre olmak üzere yaklaşık 3000 bölünen hücre sayılarak mitotik indeks, MI= mitotik hücre sayısı×100/ toplam hücre sayısı, formülü ile belirlenmiştir. Fazlara ait indeks hesaplaması ise, ilgili fazdaki hücre sayısı x 100/ toplam mitotik hücre sayısı şeklinde bulunmuştur.

Mitotik indeks hesaplamalarından sonra, preparatlar yeniden incelenerek her preparatta 100 olmak üzere her uygulamada toplam 1000 metafaz, anafaz, telofaz ve diğer hücreler incelenerek kromozom aberasyonları, daha önce yapılmış kromozom aberasyon çalışmaları esas alınarak belirlenmiştir (Öztürk,2012, Çördük,2006, De Campos,2003, Fındıklı,2010, Tabur,2008, Cesur,2007,Öney,2009).

Belirlenen kromozom aberasyonları 10×40 büyütmede Nikon E200 model kameraya duyarlı mikroskop kullanılarak fotoğraflanmıştır.

3.2.7. Flow Sitometri Analizleri

A. cepa ve *L. culinaris* bitkilerinin kök büyümesine en çok etki eden (2x EC_{50}) ve (EC_{50}) surfaktant konsantrasyonları ile kontrol gruplarına ait kök uçları analiz

edilmiştir. Analiz için bitki örneklerinin, kök uçlarından 5-6 adet 1 mm kesilerek petri kabı içerisine alınmıştır. Kök uçlarının olduğu petri kabına 500 µl Nuclei Exraction Buffer ilave edilerek keskin jilet ile 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılana kadar parçalanmıştır. Hazırlanan örnekler petri kabı içerisinde hafifçe 10-15 saniye kadar çalkalandıktan sonra 40 saniye kadar bekletilmiştir. Kök ucu örnekleri Partec marka 50 µl CellTrics filtre ile süzülerek tüp içerisine transfer edilmiştir. Tüp içerisine daha önce hazırlanmış 2ml Staining solüyonu ilave edilerek hazırlanan örnek ışıksız bir ortamda 30-60 dakika inkübe edildikten sonra, kök ucu örneklerin analizleri PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak tamamlanmıştır (Tuna ve Cabi, 2014).

3.2.8.Verilerin İstatistiki Analizleri

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 20 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Veri ortalamaları arasındaki önemli düzeydeki ($P<0.05$) farklılıklar, ANOVA Testi ile belirlenmiştir.

BÖLÜM 4

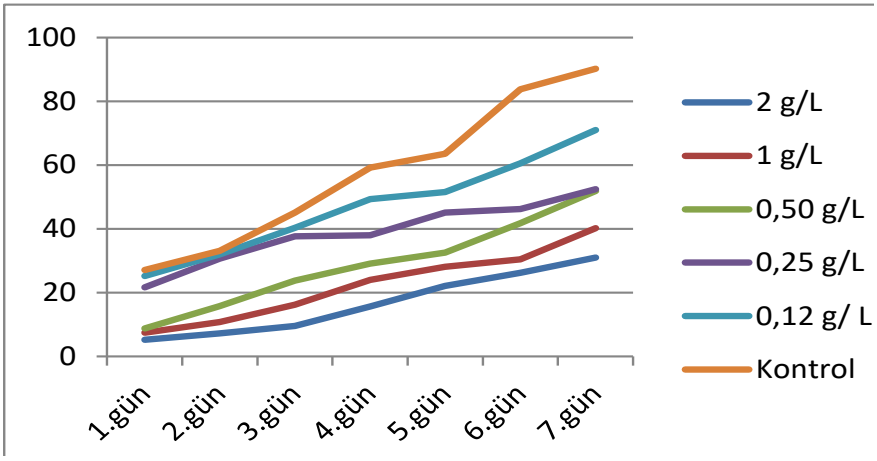
SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Sonuçlar

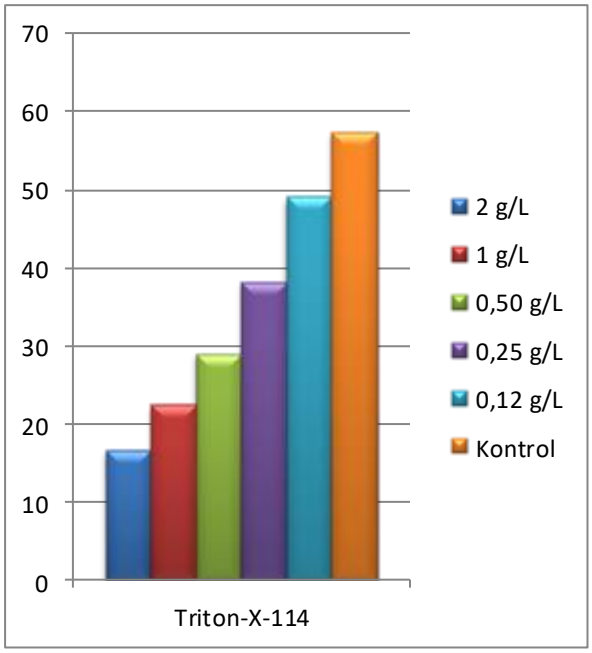
4.1.1. Kök Büyüme İnhibisyonu Testi (Fitotoksik Etki Sonuçları):

- ***A.cepa* L.:**

Triton X-114 'ün (EC_{50}) değeri 0,50 g/L olarak belirlenmiştir. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 2 g/L), ($2\times EC_{50}$= 1 g/L), (EC_{50}= 0,50 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,25 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,12 g/L) olan Triton X-114 konsantrasyonları esas alınmıştır. *A. cepa* 'nın, Triton X-114 konsantrasyonlarının 7 günlük kök uzamaları ve grafikleri Şekil 4.1 ve 4.2'de gösterilmiştir. Kontrol grubu (distile su) ile Triton X-114 konsantrasyonları IBM SPSS Statistics 20 paket programı ANOVA testi ile analiz edilince, 7 gün sonundaki kök uzunlukları ortalamaları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır. Triton X-114 konsantrasyonu arttıkça ortalama kök uzunluğunun azaldığı görülmüştür($P<0,05$). Kök uzunluğu ortalamalarının istatistiki tablosu Tablo 4.1' de verilmiştir.



a.



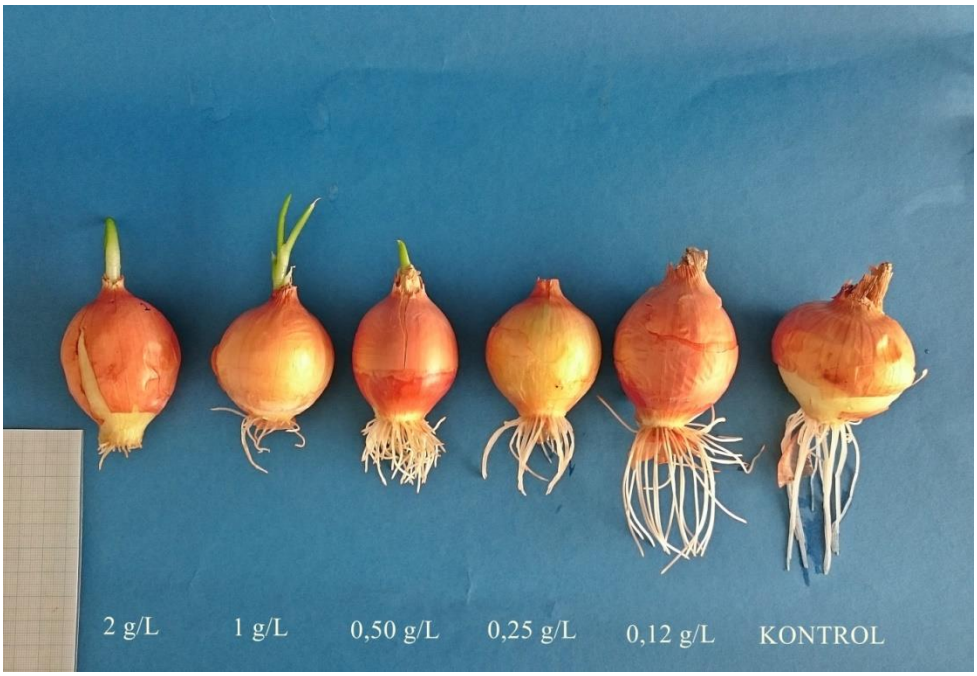
b.

Şekil 4.1: Triton X-114 surfaktantının *A. cepa* **a.** 7 günlük kök uzama **b.** Ortalama kök uzunluğu

Tablo 4.1: Triton X-114 surfaktantının *A.cepa* bitkisinin kök uzamasına 7 gün sonundaki etkisinin istatistik verileri (P<0,05)

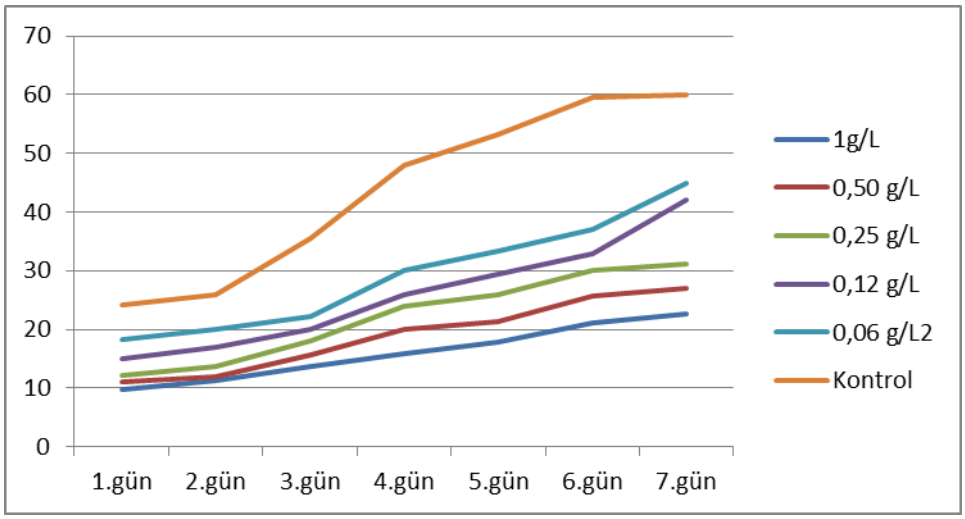
Triton-X-114	**Kök Uzunluğu (mm)**							
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün	OD ± SH
Kontrol	27,10	33,10	45,10	59,20	51,50	63,50	90,20	57,40± 9,08
0,12 g/L	29,20	35,00	47,30	49,30	51,50	60,50	71,00	49,10± 5,97
0,25 g/L	21,60	30,60	37,60	38,00	45,10	46,2 0	48,20	38,20± 3,61
0,50 g/L	8,80	15,80	23,80	29,10	32,58	41,80	51,80	29,00± 5,57
1 g/L	7,40	10,80	16,20	24,00	28,10	30,40	40,20	22,40± 4,40
2 g/L	5,20	7,20	9,50	15,70	22,10	26,20	31,00	16,70± 3,77

*OD ± SH = Ortalama Değer ± Standart Hata

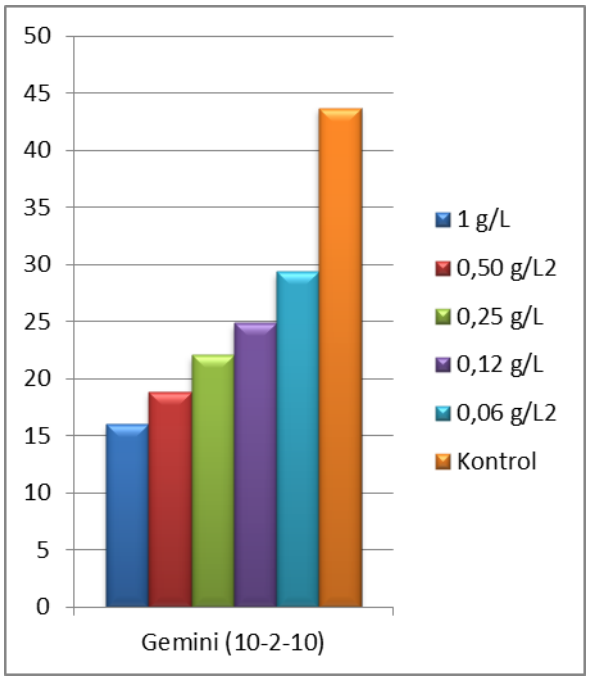


Şekil 4.2: Triton X-114 surfaktantının *A.cepa* bitkisinin 7 gün sonundaki köklerin görüntüsü

Gemini (10-2-10)'un (EC_{50}) değeri 0,25 g/L olarak belirlenmiştir. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 1 g/L), ($2\times EC_{50}$= 0,50 g/L), (EC_{50}= 0,25 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,12 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,06 g/L) olan Gemini (10-2-10) konsantrasyonları esas alınmıştır. *Allium cepa* L. kök büyümesinin, Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarına 7 günlük kök uzamaları ve grafikleri Şekil 4.3 ve 4.4'de gösterilmiştir. Kontrol grubu (distile su) ile Gemini(10-2-10) konsantrasyonları IBM SPSS Statistics 20 paket programı ANOVA testi ile analiz edilince, 7 gün sonundaki kök uzunlukları ortalamaları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır. Gemini (10-2-10) konsantrasyonu arttıkça ortalama kök uzunluğunun azaldığı görülmüştür($P<0,05$). Kök uzunluğu ortalamalarının istatistiki tablosu Tablo 4.2' de verilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda katyonik surfaktant Gemini (10-2-10)' un noniyonik surfaktant Triton X-114' e göre daha çok toksik etki gösterdiği ve kök uzamasını negatif yönde etkilediği saptanmıştır (Şekil 4.11).



a.



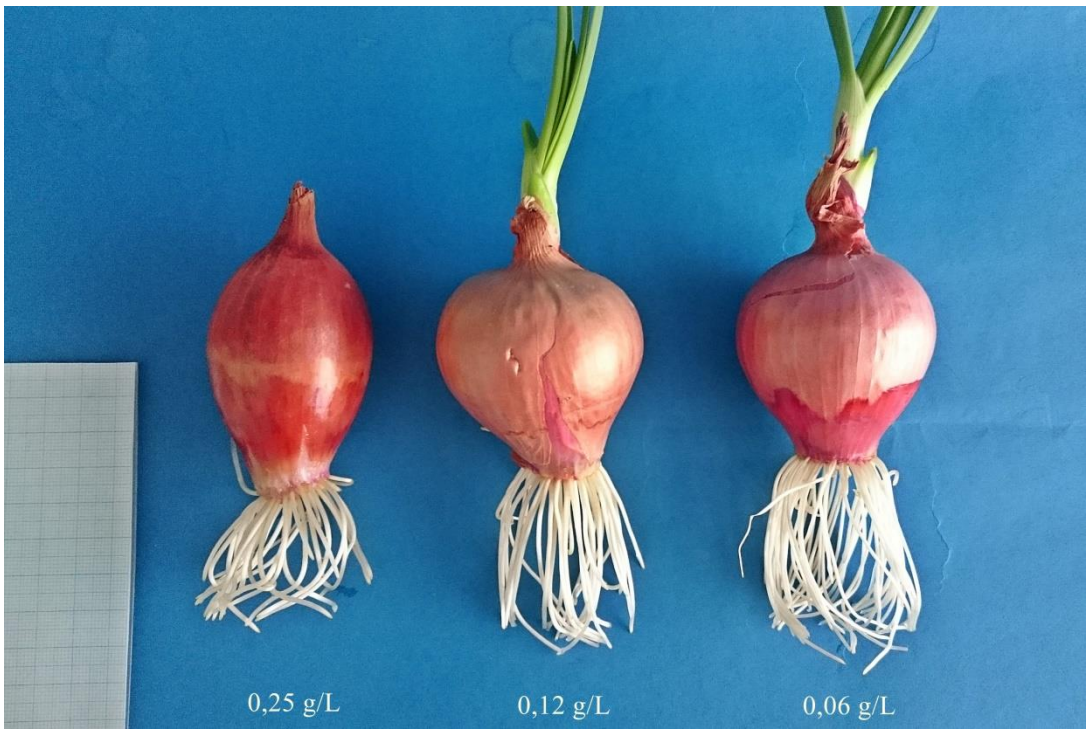
b.

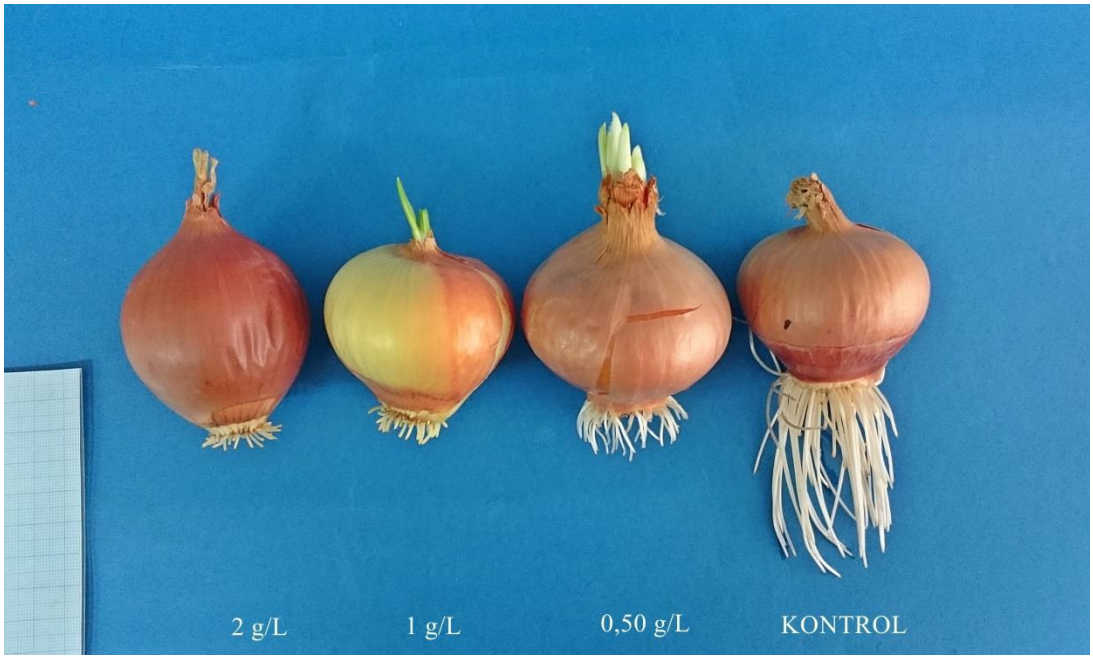
Şekil 4.3: Gemini (10-2-10) surfaktantının *A. cepa* **a.** 7 günlük kök uzama **b.** Ortalama kök uzunluğu

Tablo 4.2: Gemini-10-2-10 surfaktantının *A.cepa* bitkisinin kök uzamasına 7 gün sonundaki etkisinin istatistik verileri (P<0,05)

Gemini-10-2-10	**Kök Uzunluğu (mm)**							
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün	OD ± SH
Kontrol	24,20	26,00	35,50	48,00	53,20	59,50	60,00	43,70± 5,74
0,06 g/L	18,30	20,00	22,30	30,00	33,40	37,00	45,00	29,40± 3,71
0,12 g/L	14,90	17,00	20,00	26,00	29,30	33,00	42,00	24,90± 3,63
0, 25 g/L	12,10	13,70	1 8,00	23,90	26,00	30,00	31,10	22,10± 2,88
0,50 g/L	11,10	12,00	15,70	20,00	21,40	25,70	27,00	18,90± 2,38
1 g/L	9,70	11,30	13,70	15,80	17,90	21,00	22,70	16,00± 1,82

*OD ± SH = Ortalama Değer ± Standart Hata



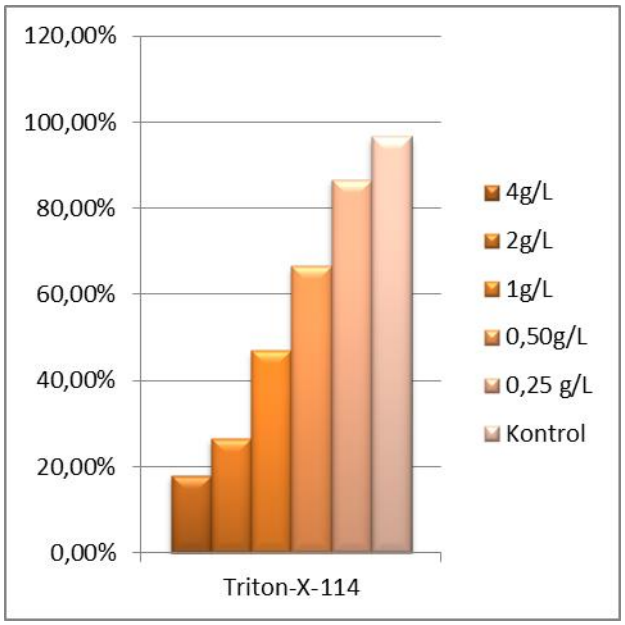


Şekil 4.4: Gemini (10-2-10) surfaktantının *A.cepa* bitkisinin 7 gün sonundaki köklerin görüntüsü

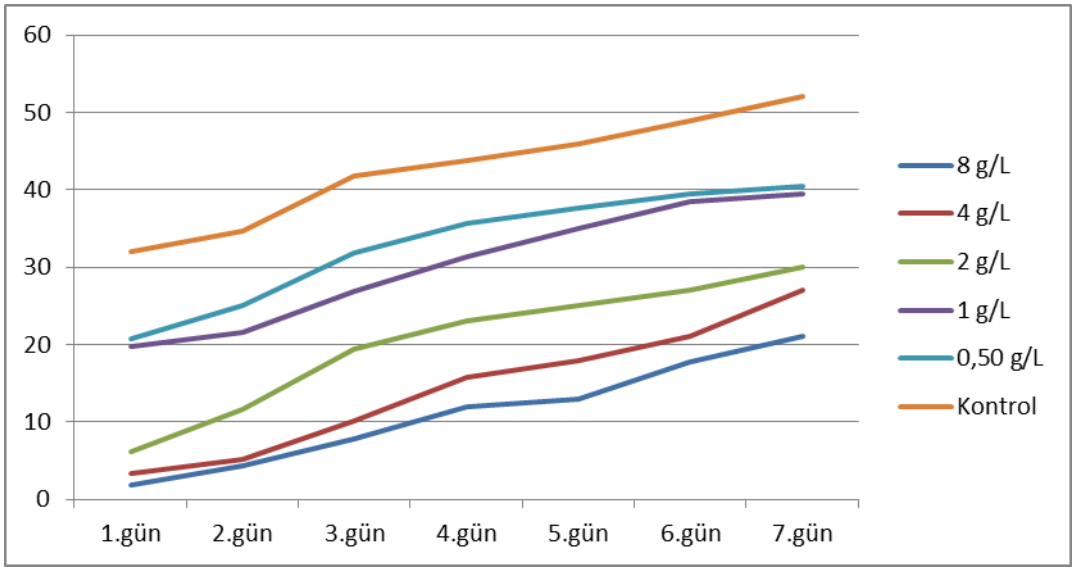
- ***L. culinaris*** **:**

Triton X-114 surfaktantının *L. culinaris* bitkisi tohum çimlenme yüzde oranını yarı yarıya düşüren konsantrasyonun 1 g/ L olduğu görülmüştür. Bu nedenle ortalama çimlenme yüzde oranının (EC_{50}) değeri 1 g/L olarak belirlenmiştir. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 4 g/L), ($2\times EC_{50}$= 2 g/L), (EC_{50}= 1 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,50 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,25 g/L) olan Triton X-114 konsantrasyonları dikkate alınmıştır (Şekil 4.5). Triton X-114 'ün kök uzamasının (EC_{50}) değeri 2 g/L olarak tanımlanmıştır. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 8 g/L), ($2\times EC_{50}$= 4 g/L), (EC_{50}= 2 g/L) ,($EC_{50}/2$= 1 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,50 g/L) olan Triton X-114 konsantrasyonları dikkate alınmıştır. *L. culinaris* bitkisi kök büyümesinin, Triton X-114 konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz kalma sonucu kök uzamaları ve grafikleri Şekil 4.6 ve 4.7'de gösterilmiştir. Triton X-114 'ün mercimek tohumlarının çimlenme yüzde oranı ve kök uzamalarına farklı etkilere sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubu (distile su) ile Gemini (10-2-10) konsantrasyonları IBM SPSS Statistics 20 paket programı ANOVA testi ile analiz edilince, 7 gün sonundaki kök uzunlukları ortalamaları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır. Triton X-114 konsantrasyonu arttıkça ortalama kök

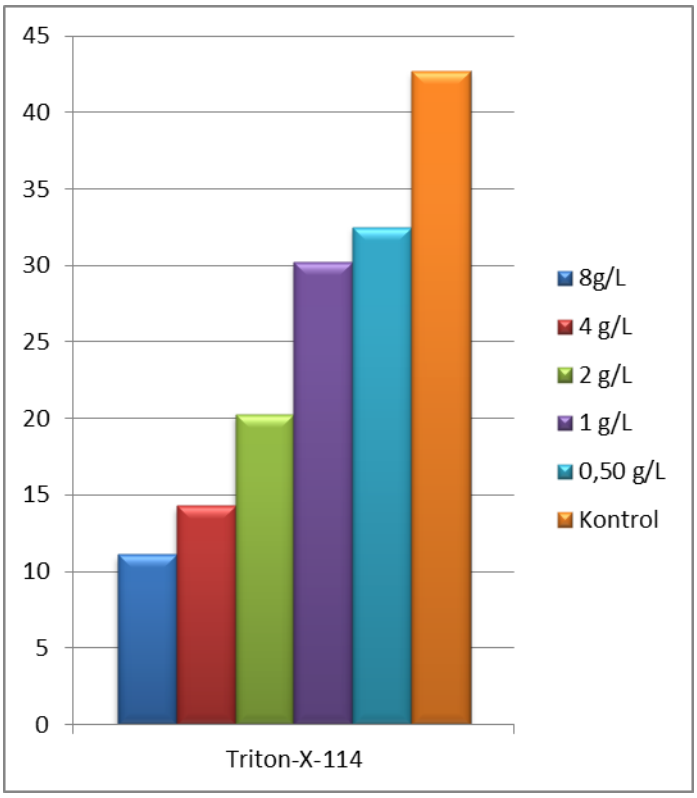
uzunluğunun azaldığı görülmüştür(P<0,05). Kök uzunluğu ortalamalarının istatistiki tablosu Tablo 4.3' de verilmiştir



Şekil 4.5: Triton X-114 surfaktantının *L.culinaris* bitkisi tohum çimlenme üzerinde 2 gün sonundaki etkisi



a.



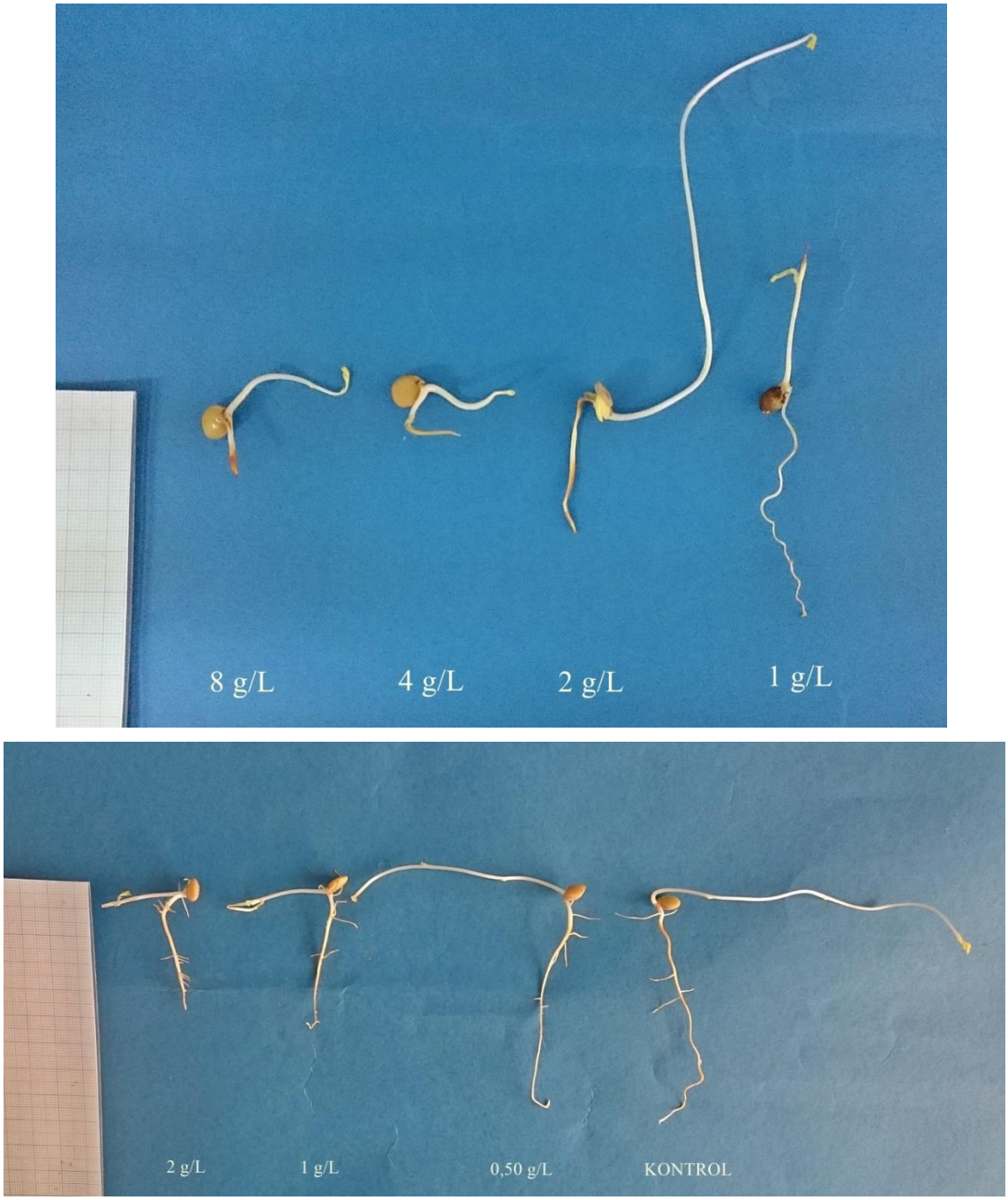
b.

Şekil 4.6: Triton X-114 surfaktantının *L. culinaris* **a.** 7 günlük kök uzama **b.** Ortalama kök uzunluğu

Tablo 4.3: Triton X-114 surfaktantının *L. culinaris* bitkisinin kök uzamasına 7 gün sonundaki etkisinin istatistik verileri (P<0,05)

Triton-X-114	**Kök Uzaması (mm)**							
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.güm	OD ± SH
Kontrol	32,00	34,60	41,80	43,70	46,00	49,00	52,00	42,70± 2,75
0,50 g/L	20,80	25,10	31,80	35,60	37,70	39,50	40,50	32,50± 2,84
1 g/L	19,80	21,50	26,80	31,30	35,00	38,50	39,50	30,20± 2,98
2 g/L	6,10	11,60	19,50	23,00	25,00	27,00	30,00	20,30± 3,25
4 g/L	3,30	5,20	10,20	15,70	18,00	21,00	27,00	14,30± 3,24
8 g/L	1,90	4,30	7,80	11,90	13,00	13,80	21,00	11,10± 2,62

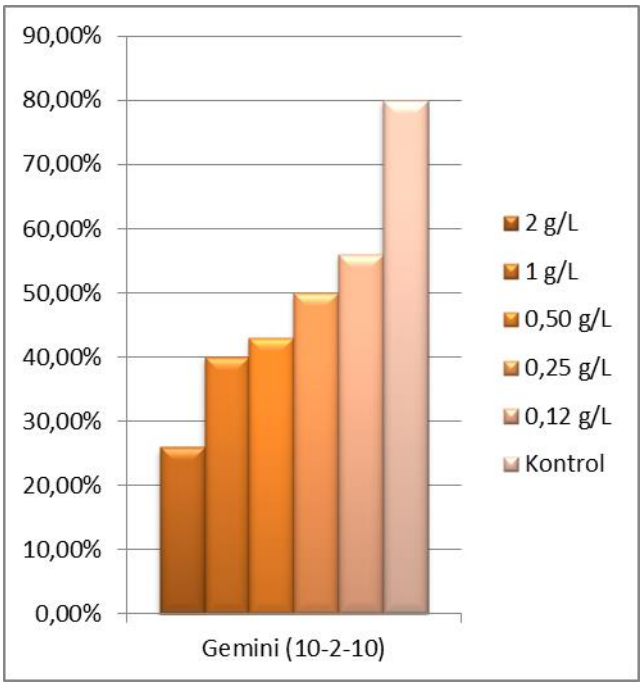
*OD ± SH = Ortalama Değer ± Standart Hata



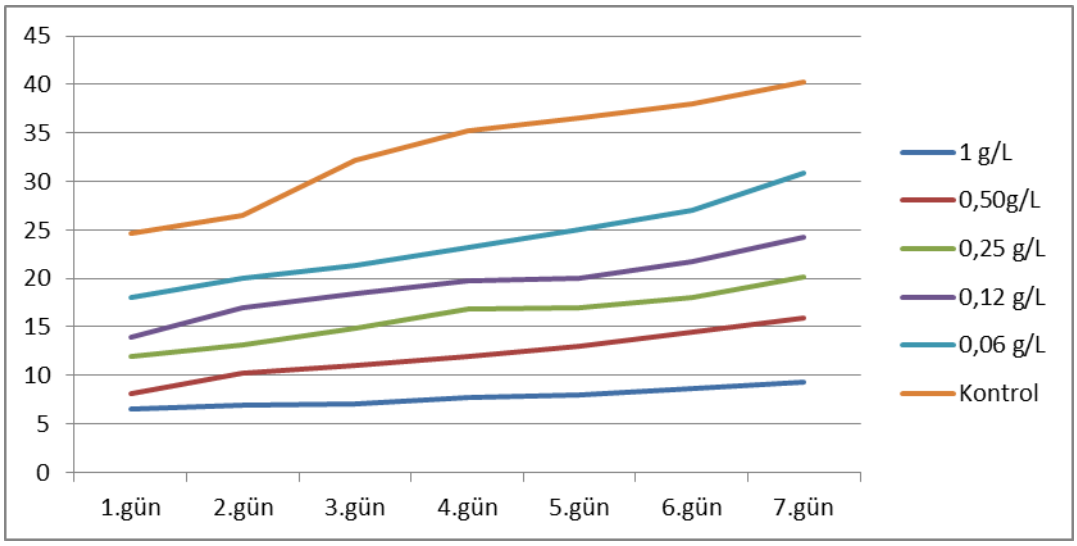
Şekil 4.7: Triton-X-114 surfaktantının *L. culinaris* bitkisinin 7 gün sonundaki köklerin görüntüsü

Gemini (10-2-10) surfaktantının *L. culinaris* bitkisi tohum çimlenme yüzde oranını yarı yarıya düşüren konsantrasyonun 0,50 g/ L olduğu görülmüştür. (EC_{50}) değeri 0,50 g/L olarak belirlenmiştir. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 2 g/L), ($2\times EC_{50}$= 1 g/L), (EC_{50}= 0,50 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,25 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,12 g/L) olan Gemini (10-2-10) konsantrasyonları dikkate alınmıştır (Şekil 4.8). Gemini (10-2-10) 'un kök

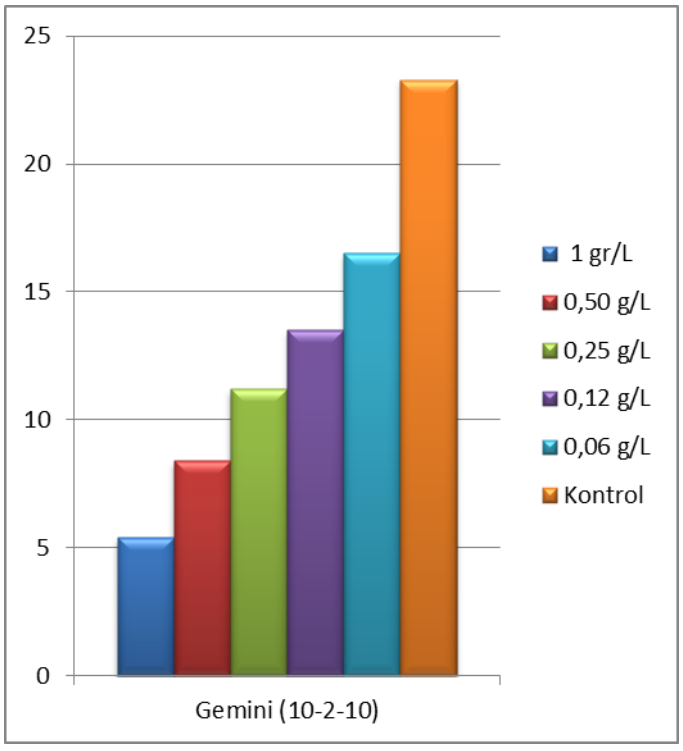
uzamasının (EC_{50}) değeri 0,25 g/L olarak tanımlanmıştır. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 1 g/L), ($2\times EC_{50}$= 0,50 g/L), (EC_{50}= 0,25 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,12 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,06 g/L) olan Gemini (10-2-10) konsantrasyonları esas alınmıştır. *L. culinaris* bitkisi kök büyümesinin, Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarına 7 günlük kök uzamaları ve grafikleri Şekil 4.9 ve 4.10'de gösterilmiştir. Gemini (10-2-10) 'un mercimek tohumlarının çimlenme yüzde oranı ve kök uzamalarına farklı etkilere sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubu (distile su) ile Gemini(10-2-10) konsantrasyonları IBM SPSS Statistics 20 paket programı ANOVA testi ile analiz edilince, 7 gün sonundaki kök uzunlukları ortalamaları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır. Gemini (10-2-10) konsantrasyonu arttıkça ortalama kök uzunluğunun azaldığı görülmüştür($P<0,05$). Kök uzunluğu ortalamalarının istatistiki tablosu Tablo 4.4' de verilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda katyonik surfaktant Gemini (10-2-10)' un noniyonik surfaktant Triton X-114' e göre daha çok toksik etki gösterdiği; çimlenme yüzde oranını ve kök uzamasını negatif yönde etkilediği saptanmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.8: Gemini (10-2-10) surfaktantının *L.culinaris* bitkisi tohum çimlenme üzerinde 2 gün sonundaki etkisi



a.



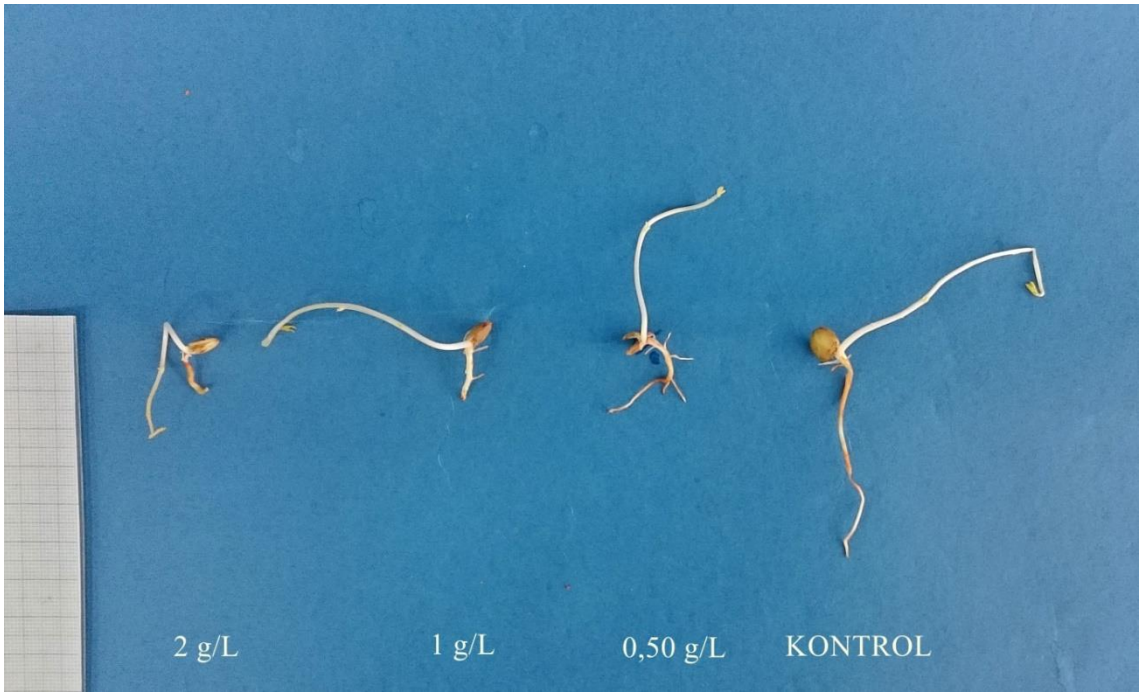
b.

Şekil 4.9: Gemini (10-2-10) surfaktantının *L.culinaris* **a.** 7 günlük kök uzama **b.** Ortalama kök uzunluğu

Tablo 4.4: Gemini-10-2-10 surfaktantının *L. culinaris* bitkisinin kök uzamasına 7 gün sonundaki etkisinin istatistik verileri (P<0,05)

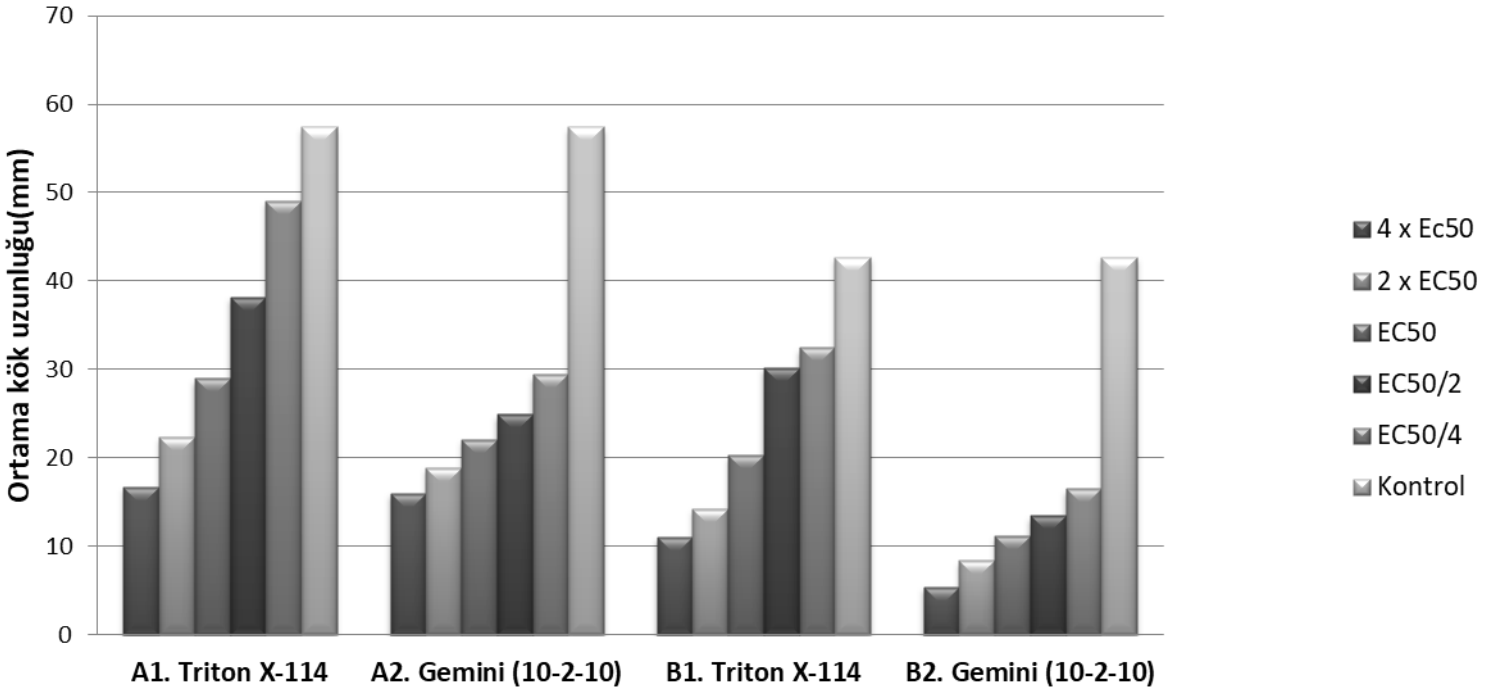
Gemini-10-2-10	**Kök Uzunluğu (mm)**							
	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün	OD ± SH
Kontrol	24,70	26,50	32,20	35,20	36,50	38,00	40,20	23,30± 2,20
0,06 g/L	18,00	20,00	21,30	23,20	25,00	27,00	30,90	16,50± 1,66
0,12 g/L	14,00	17,00	18,50	19,80	20,00	21,70	24,30	13,50± 1,24
0, 25 g/L	12,00	13,10	14,90	16,90	17,00	18,00	20,10	11,20± 1,07
0,50 g/L	8,10	10,20	11,00	12,00	13,00	14,50	15,90	8,40± 0,99
1 g/L	6,50	6,90	7,00	7,70	8,00	8,70	9,30	5,40± 0,38

*OD ± SH = Ortalama Değer ± Standart Hata





Şekil 4.10: Gemini (10-2-10) surfaktantının *L. culinaris* bitkisinin 7 gün sonundaki köklerin görüntüsü.



A1. Triton X-114: *A. cepa* **B1. Triton X-114:** *L. culinaris*

A2. Gemini (10-2-10): *A. cepa* **B2. Gemini (10-2-10):** *L. culinaris*

Şekil 4.11: *A. cepa ve L.culinaris* bitkilerinde kök büyüme inhibisyonu testine göre belirlenen 7 gün sonundaki ortalama kök uzunluğu (mm) verileri.

4.1.2. Mitotik Aktivite (İndeks) Sonuçları:

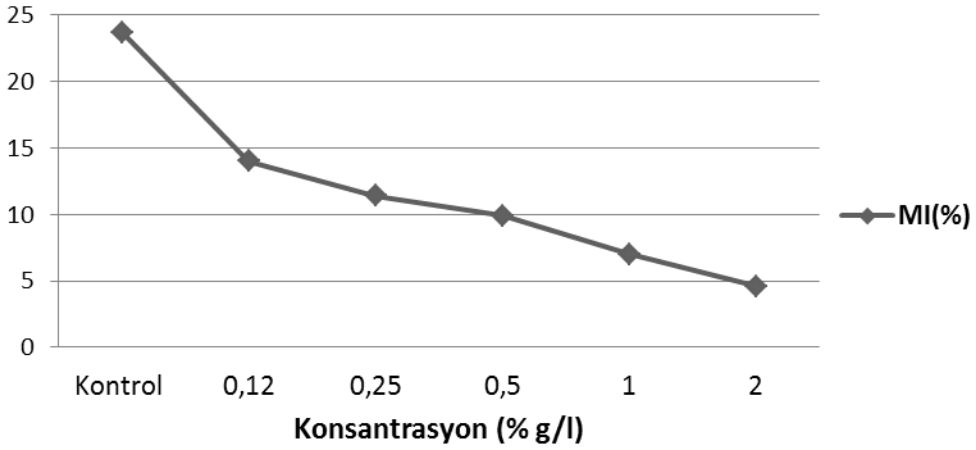
- ***A. cepa* :**

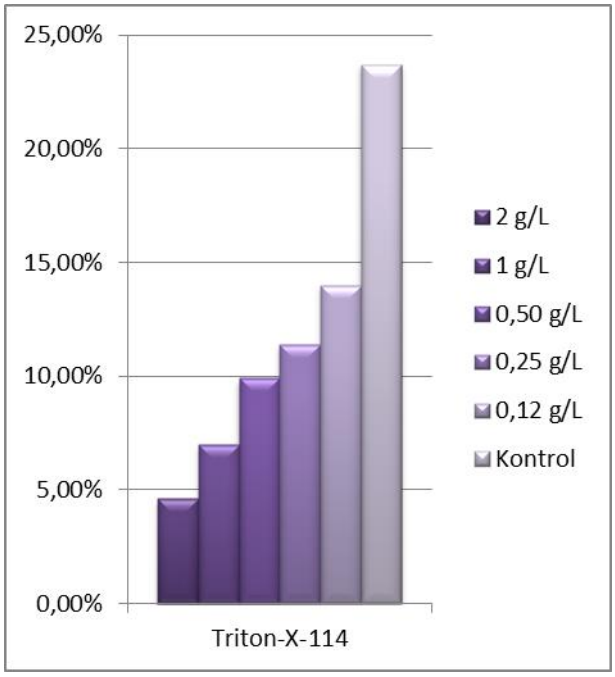
Kontrol ,($4\times EC_{50}$= 2 g/L), ($2\times EC_{50}$= 1 g/L), (EC_{50}= 0,50 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,25 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,12 g/L) Triton X-114 konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks üzerine etkisini belirlenmek için uygulanan her konsantrasyon için yaklaşık 3000 bölünen hücre sayılarak mitotik indeks belirlenmiştir. Tablo 4.5'de görüldüğü üzere Triton X-114 artan konsantrasyonuna bağlı olarak mitotik indeksin azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.12).

Mitotik indeksin, kontrol grubunda %23.70, 0,12 g/L'de %14.00, 0,25 g/L'de %11.40, 0,50 g/L'de %9.90, 1 g/L'de %7.00 ve 2 g/L'de %4.60 olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.5: Triton X-114 konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerindeki etki yüzdeleri (*A.cepa*)

Konsantrasyon (g/L)	Sayılan Toplam Hücre Sayısı	Bölünen Hücre Sayısı	Mitotik İndeks (%)
Kontrol	3015	716	23.70
0,12	3037	428	14.00
0,25	3034	348	11.40
0,50	3043	304	9.90
1	3019	214	7.00
2	3071	142	4.60





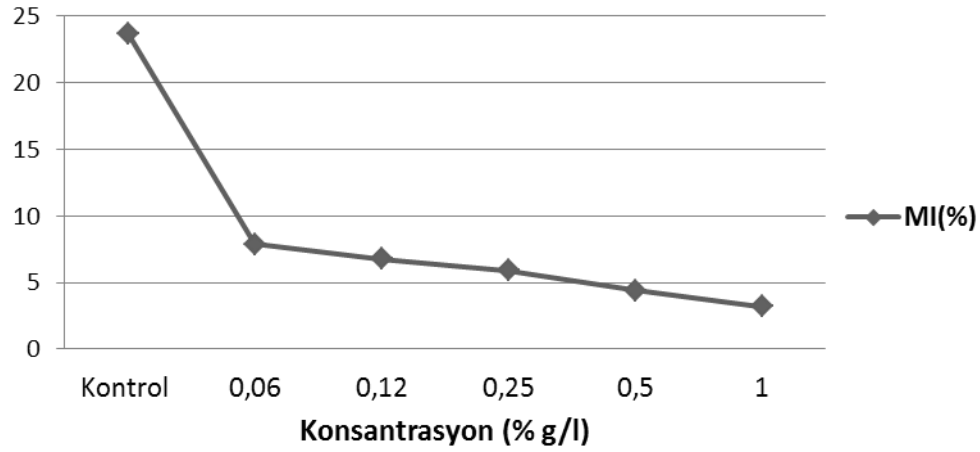
Şekil 4.12: Triton X-114 Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerine etkisi (*A.cepa*).

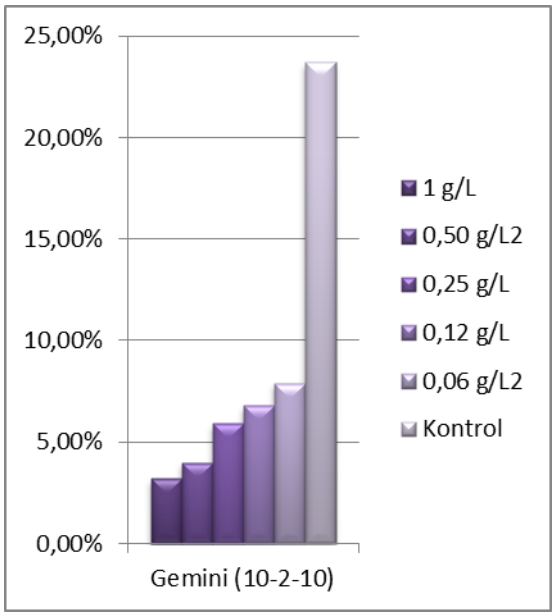
Kontrol ,($4\times EC_{50}$= 1 g/L), ($2\times EC_{50}$= 0,50 g/L), (EC_{50}= 0,25 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,12 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,06 g/L) Gemini (10-2-10 konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks üzerine etkisinin belirlenmek için uygulanan her konsantrasyon için yaklaşık 3000 bölünen hücre sayılarak mitotik indeks belirlenmiştir. Tablo 4.6'de görüldüğü üzere Gemini (10-2-10)'un artan konsantrasyonuna bağlı olarak mitotik indeksin azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.13).

Mitotik indeksin, kontrol grubunda %23.70, 0,06 g/L'de %7.90, 0,12 g/L'de %6.80, 0,25 g/L'de %5.90, 0,50 g/L'de %4.00 ve 1 g/L'dea %3.20 olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.6: Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerindeki etki yüzdeleri (*A. cepa*).

Konsantrasyon (g/L)	Sayılan Toplam Hücre Sayısı	Bölünen Hücre Sayısı	Mitotik İndeks (%)
Kontrol	3015	716	23.70
0,06	3150	250	7.90
0,12	3110	212	6.80
0,25	3094	185	5.90
0,50	3088	137	4.00
1	3057	100	3.20





Şekil 4.13: Gemini (10-2-10) Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerine etkisi (*A. cepa*).

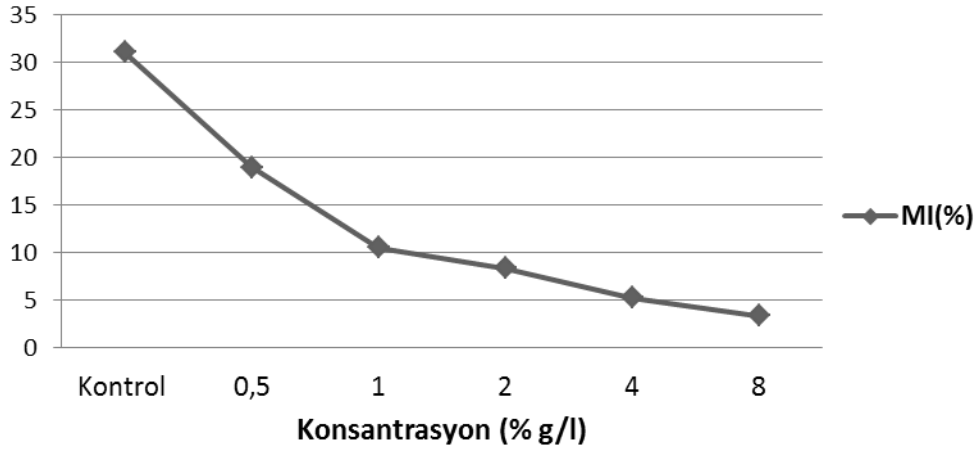
- ***L. culinaris*** **:**

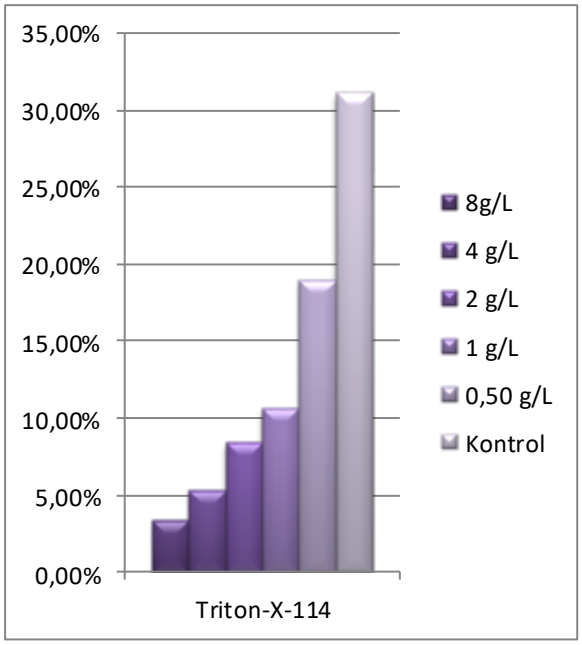
Kontrol ,($4\times EC_{50}$= 8 g/L), ($2\times EC_{50}$= 4 g/L), (EC_{50}= 2 g/L) ,($EC_{50}/2$= 1 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,50 g/L) Triton X-114 konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks üzerine etkisinin belirlenmek için uygulanan her konsantrasyon için yaklaşık 3000 bölünen hücre sayılarak mitotik indeks belirlenmiştir. Tablo 4.7'de görüldüğü üzere Triton X-114'ün artan konsantrasyonuna bağlı olarak mitotik indeksin azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.14).

Mitotik indeks, kontrol grubunda %31.10, 0,50 g/L'de %19.00, 1 g/L'de %10.60, 2 g/L'de %8.40, 4 g/L'de %5.30 ve 8 g/L'de %3.40 olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.7: Triton X-114 konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerindeki etki yüzdeleri (*L. culinaris*).

Konsantrasyon (g/L)	Sayılan Toplam Hücre Sayısı	Bölünen Hücre Sayısı	Mitotik İndeks (%)
Kontrol	3015	979	31.10
0,50	3036	579	19.00
1	3105	332	10.60
2	3129	263	8.40
4	3183	169	5.30
8	3068	106	3.40





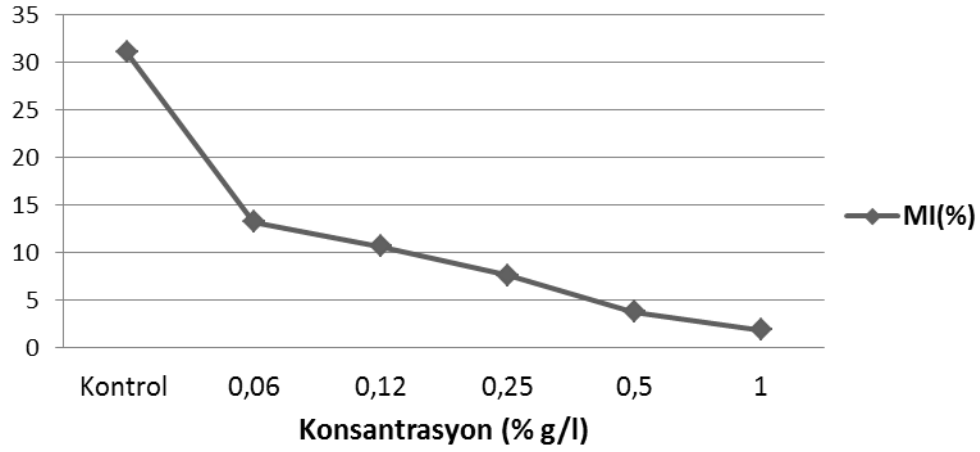
Şekil 4.14: Triton X-114 Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks Üzerine Etkisi (*L.culinaris*).

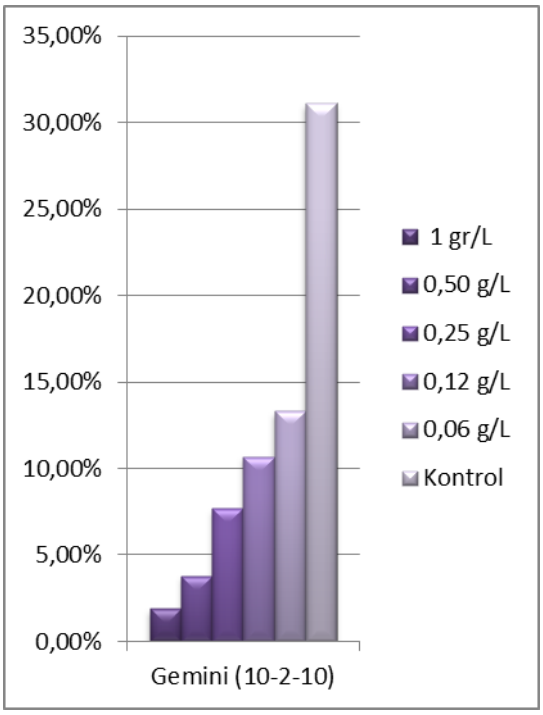
Kontrol ,($4\times EC_{50}$= 1 g/L), ($2\times EC_{50}$= 0,50 g/L), (EC_{50}= 0,25 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,12 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,06 g/L) Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks üzerine etkisinin belirlenmek için uygulanan her konsantrasyon için yaklaşık 3000 bölünen hücre sayılarak mitotik indeks belirlenmiştir.. Tablo 4.8'de görüldüğü üzere Gemini (10-2-10)'un artan konsantrasyonuna bağlı olarak mitotik indeksin azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.15).

Mitotik indeks, kontrol grubunda %31.10, 0,06 g/L'de %13.30, 0,12 g/L'de %10.70, 0,25 g/L'de %7.70, 0,50 g/L'de %3.80 ve 1 g/L'de %1.90 olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.8: Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerindeki etki yüzdeleri (*L. culinaris*).

Konsantrasyon (g/L)	Sayılan Toplam Hücre Sayısı	Bölünen Hücre Sayısı	Mitotik İndeks (%)
Kontrol	3142	716	31.10
0,06	3082	250	13.30
0,12	3118	212	10.70
0,25	3040	185	7.70
0,50	3101	137	3.80
1	3184	100	1.90





Şekil 4.15: Gemini (10-2-10) Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks üzerine etkisi (*L.culinaris*).

4.1.3 Faz Aktivite (İndeks) Üzerine Etki Sonuçları:

- ***A. cepa* :**

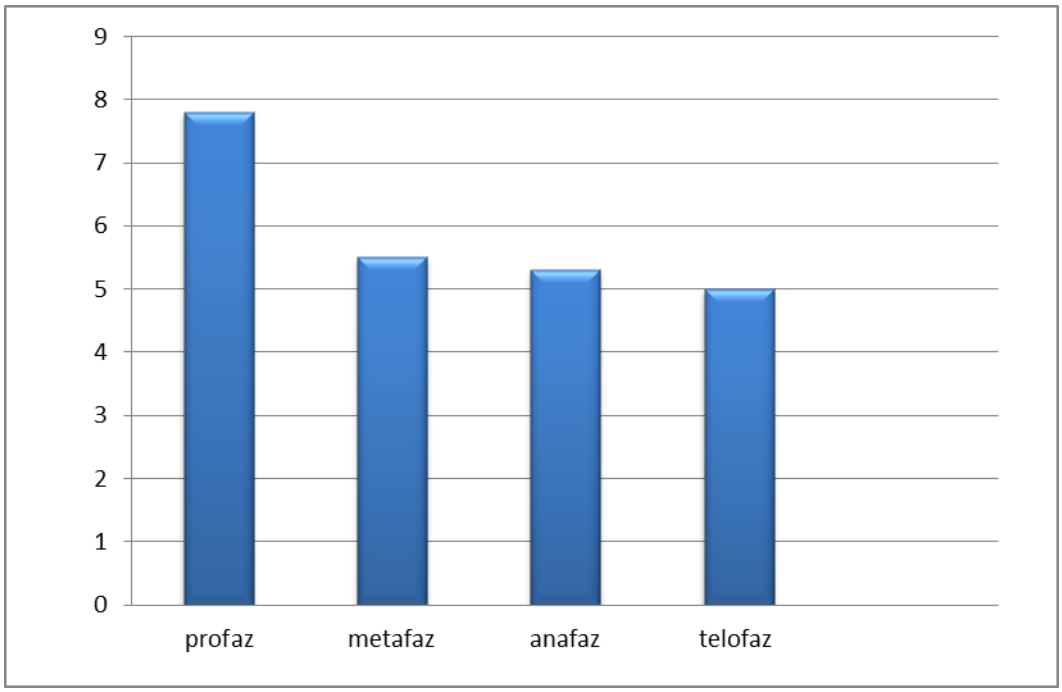
Kontrol, ($4\times EC_{50}$= 2 g/L), ($2\times EC_{50}$= 1 g/L), (EC_{50}= 0,50 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,25 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,12 g/L) Triton X-114 konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait faz indeksi Tablo 4.9-10'da verilmiştir. (Tablo 4.10). Konsantrasyon arttıkça profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evresindeki hücrelerin faz indeksinin kontrole göre azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.16-4.21).

Tablo 4.9: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre sayısı.

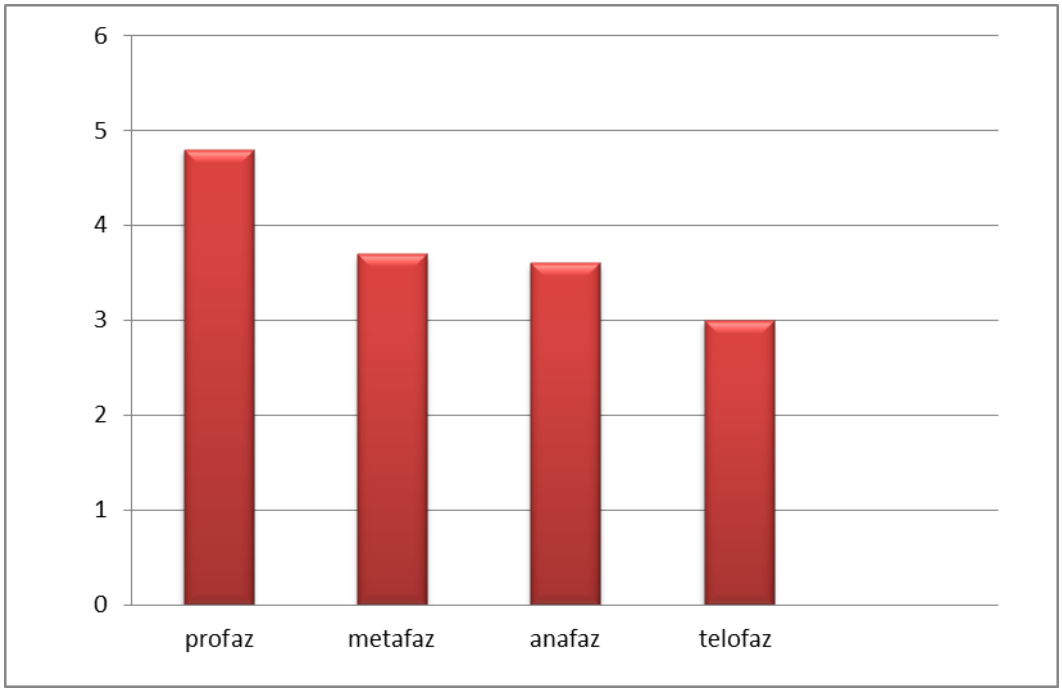
Konsantrasyon (g/L)	Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	Toplam
Kontrol	234	166	161	151	712
0,12	145	112	110	91	458
0,25	129	80	66	73	348
0,50	102	68	64	70	304
1	83	65	39	27	214
2	52	42	27	21	142
		Toplam bölünen hücre sayısı		**2178**	

Tablo 4.10: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre yüzdesi.

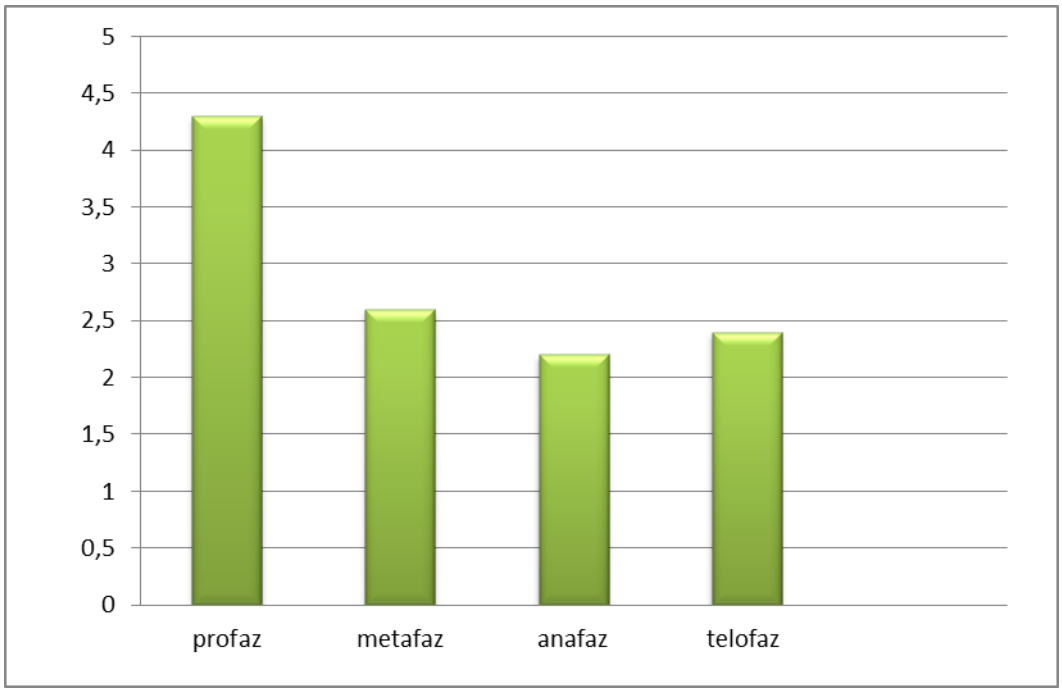
Konsantrasyon (g/L)	(%)Profaz	(%)Metafaz	(%)Anafaz	(%)Telofaz	(%)Toplam
Kontrol	7,8	5,5	5,3	5	23,6
0,12	4,8	3,7	3,6	3	15,1
0,25	4,3	2,6	2,2	2,4	11,5
0,50	3,4	2,2	2,1	2,3	10
1	2,7	2,1	1,3	0,9	7
2	1,7	1,4	0,9	0,7	4,7



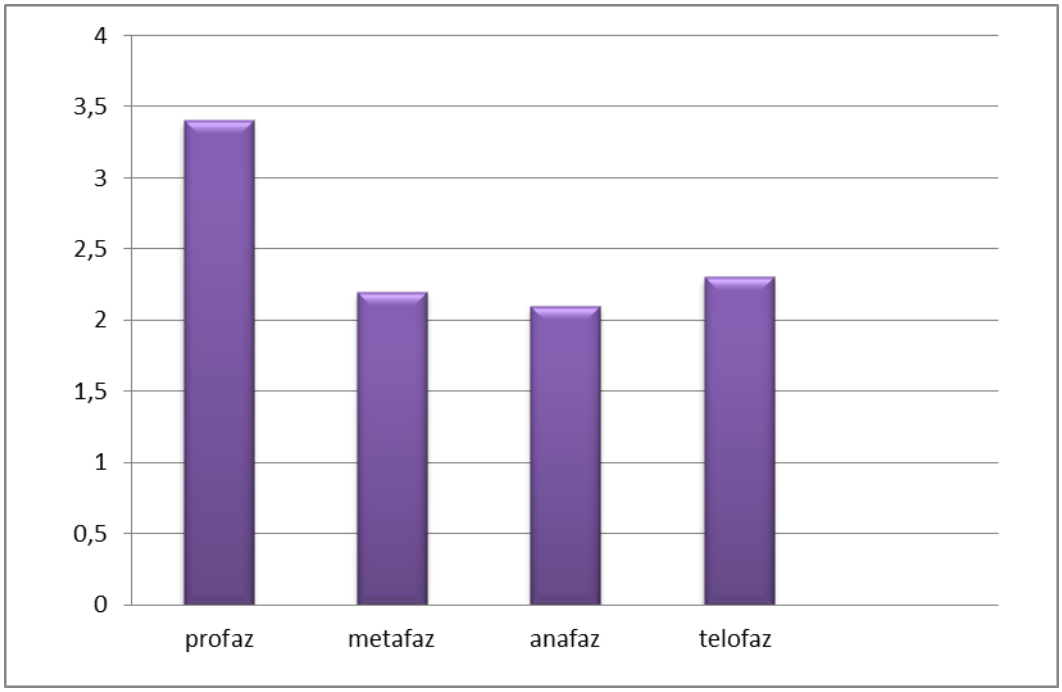
Şekil 4.16: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki faz indeksi yüzdesi.



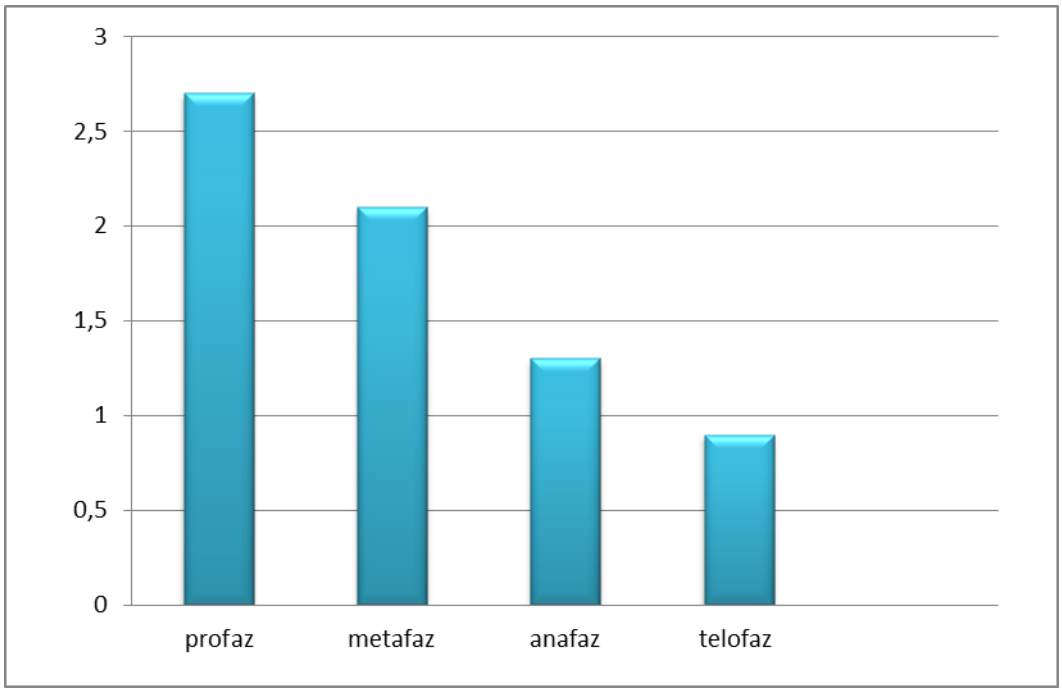
Şekil 4.17: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinin 0,12 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



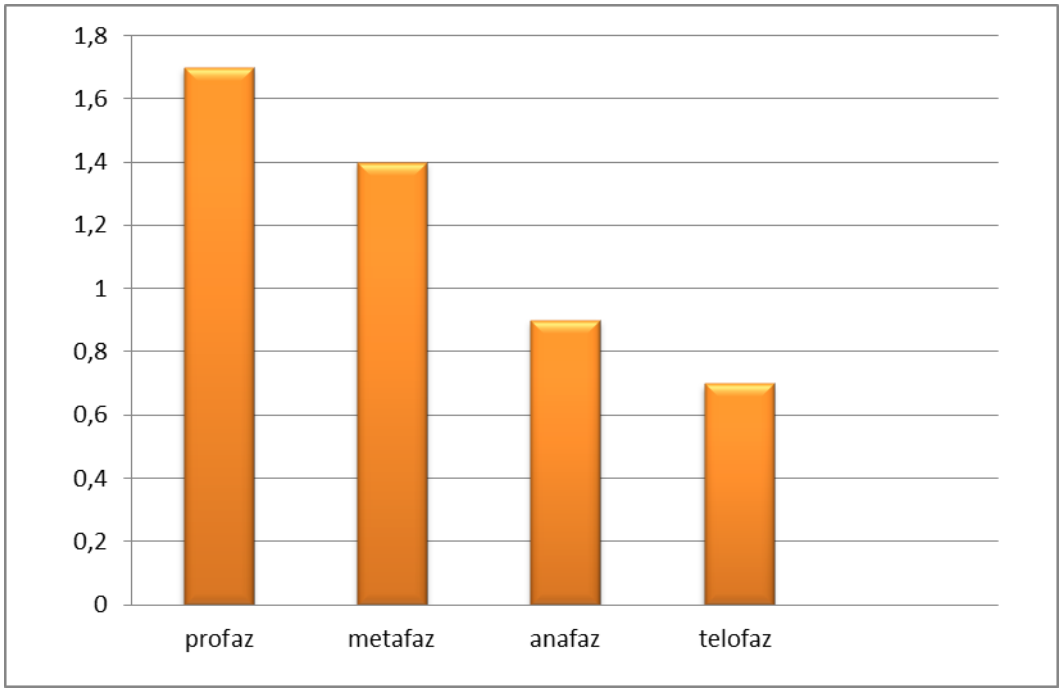
Şekil 4.18: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,25 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.19: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinin 0,50 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.20: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinin 1 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.21: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 2 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.

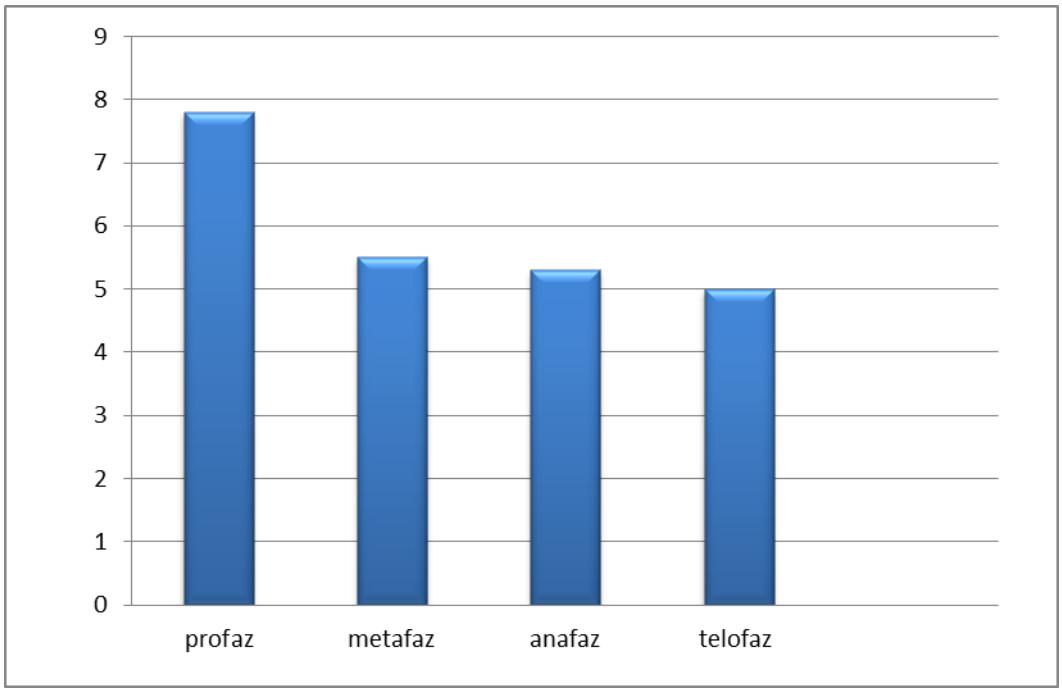
Kontrol, ($4\times EC_{50}$= 1 g/L), ($2\times EC_{50}$= 0,50 g/L), (EC_{50}= 0,25 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,12 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,06 g/L) Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait faz indeksi Tablo 4.11-12'de verilmiştir. Konsantrasyon arttıkça profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evresindeki hücrelerin faz indeksinin kontrole göre azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.22-4.27).

Tablo 4.11: Gemini (10-2-10) 'un *A.cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre sayısı.

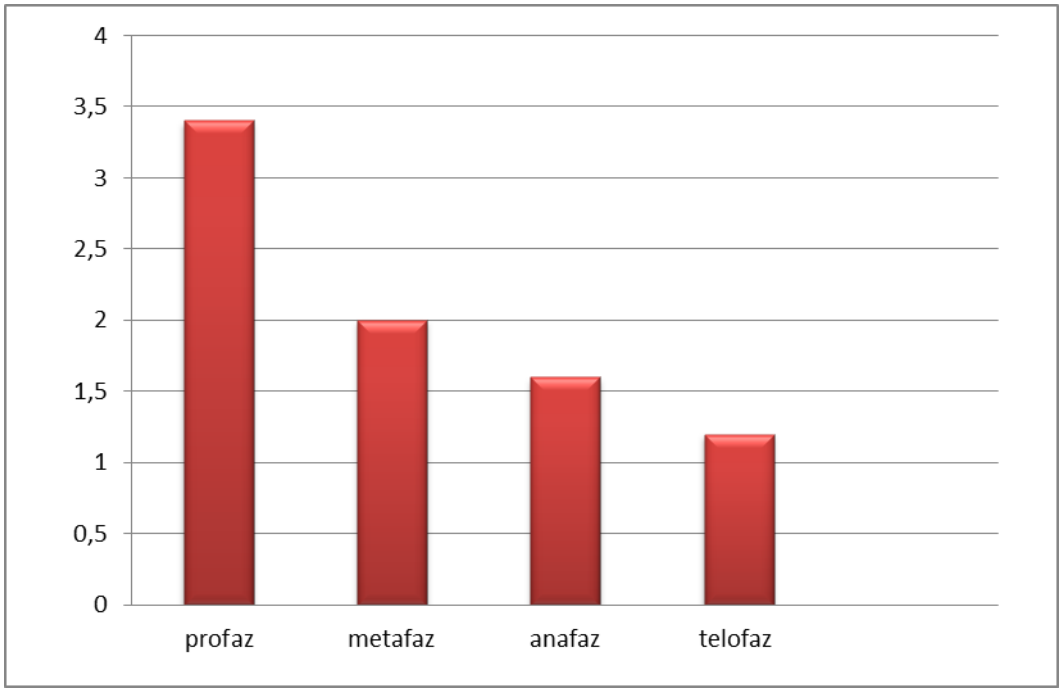
Konsantrasyon (g/L)	**Profaz**	**Metafaz**	**Anafaz**	**Telofaz**	**Toplam**
Kontrol	234	166	161	151	712
0,06	103	61	50	36	250
0,12	103	52	29	28	212
0,25	94	45	22	24	185
0,50	69	37	16	15	137
1	47	29	13	11	100
	Toplam bölünen hücre sayısı		**1596**		

Tablo 4.12: Gemini (10-2-10) 'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre yüzdesi.

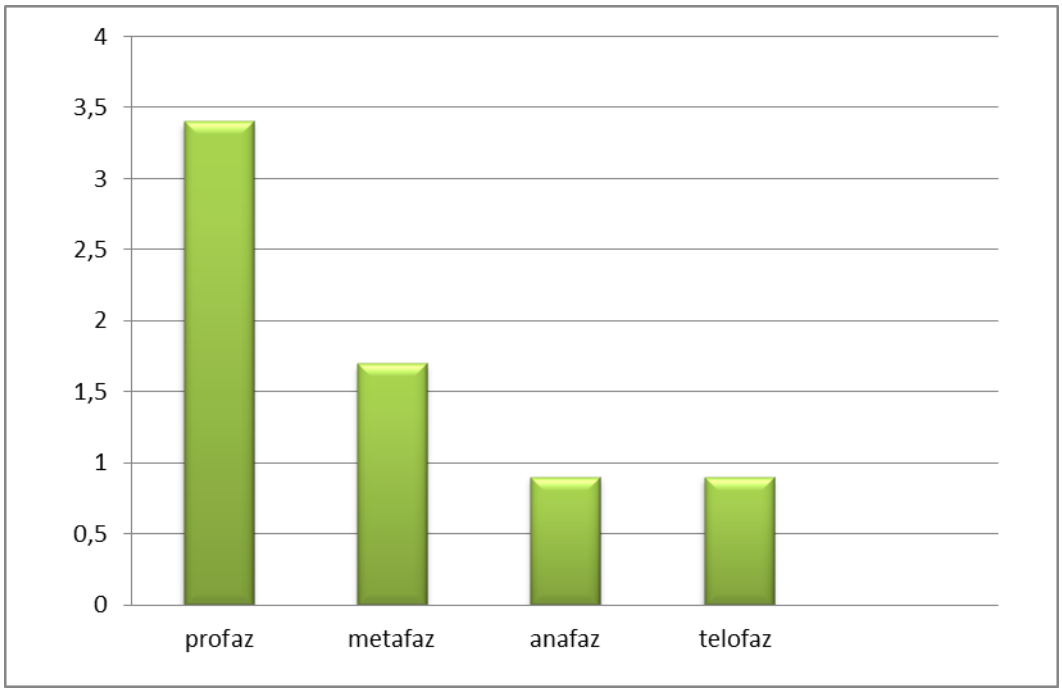
Konsantrasyon (g/L)	**(%)Profaz**	**(%)Metafaz**	**(%)Anafaz**	**(%)Telofaz**	**(%)Toplam**
Kontrol	7,8	5,5	5,3	5	23,6
0,06	3,4	2,0	1,6	1,2	8,2
0,12	3,4	1,7	0,9	0,9	6,9
0,25	3,1	1,5	0,7	0,8	6,1
0,50	2,3	1,2	0,5	0,5	4,5
1	1,5	0,9	0,4	0,3	3,1



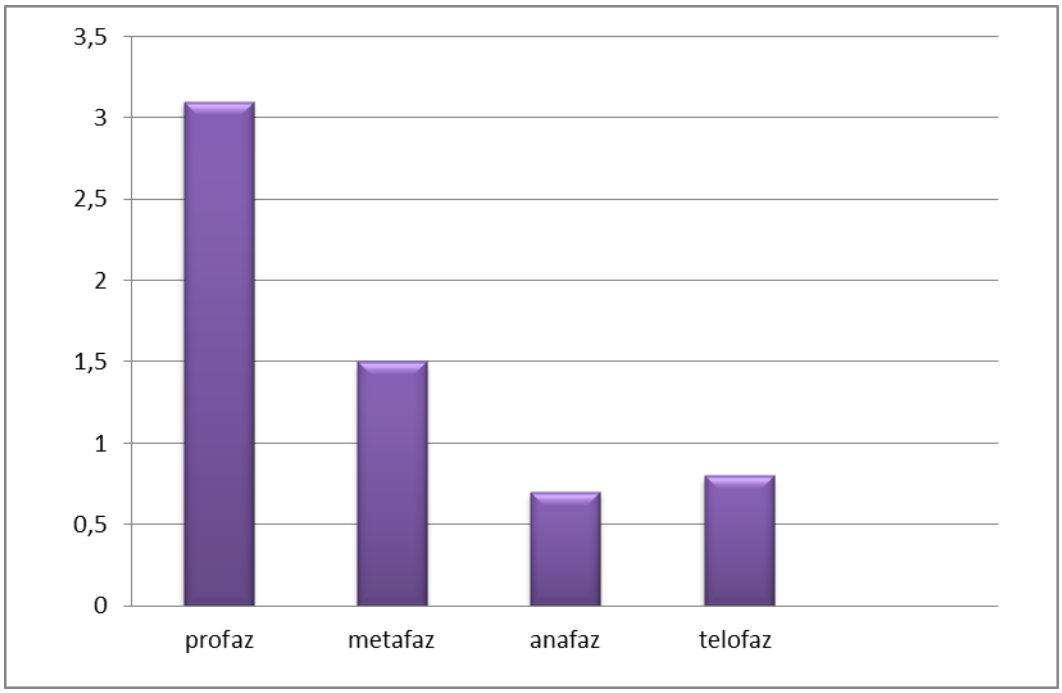
Şekil 4.22: Gemini (10-2-10) 'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki faz indeksi yüzdesi.



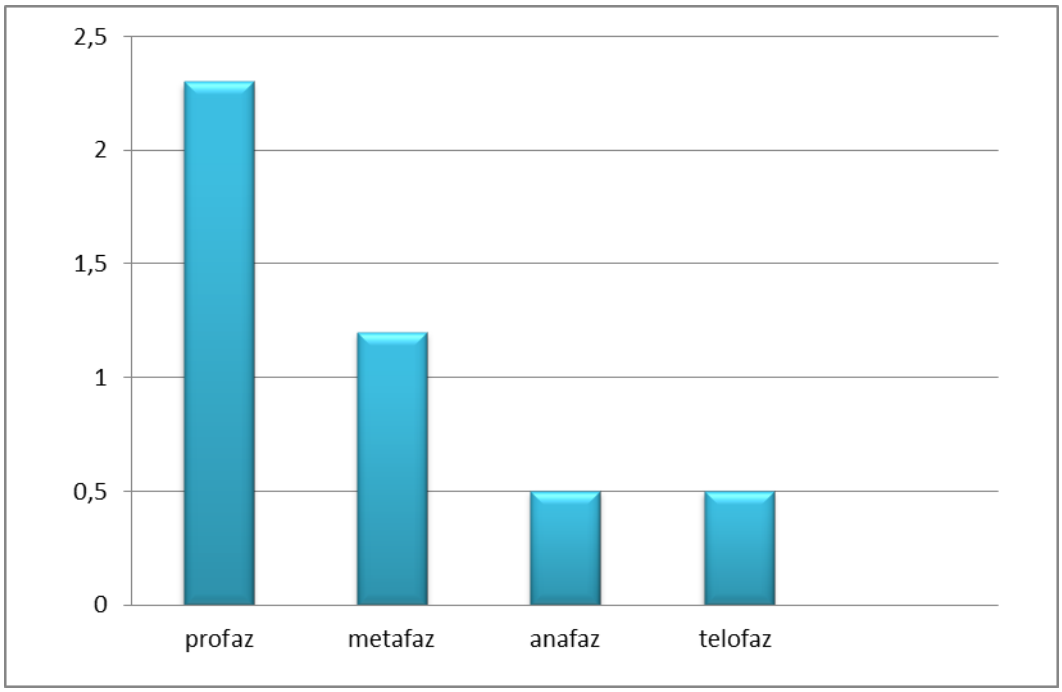
Şekil 4.23: Gemini (10-2-10) 'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,06 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



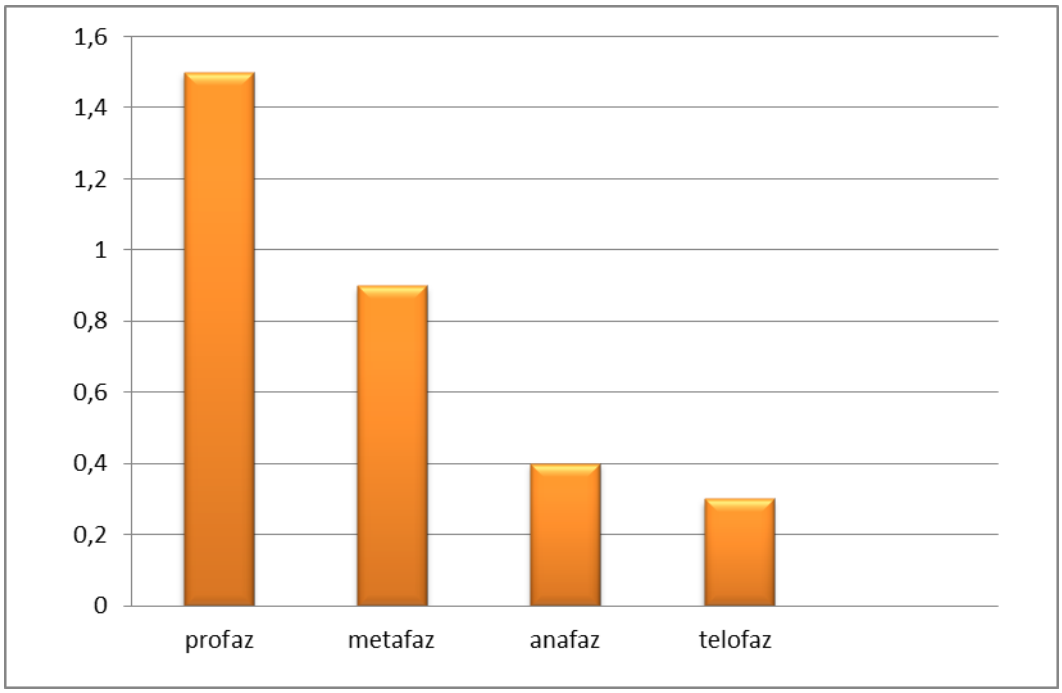
Şekil 4.24: Gemini (10-2-10) 'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,12 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.25: Gemini (10-2-10) 'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,25 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.26: Gemini (10-2-10) 'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinin 0,50 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.27: Gemini (10-2-10) 'un *A.cepa* kök ucu hücrelerinin 1 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.

- ***L. culinaris*** **:**

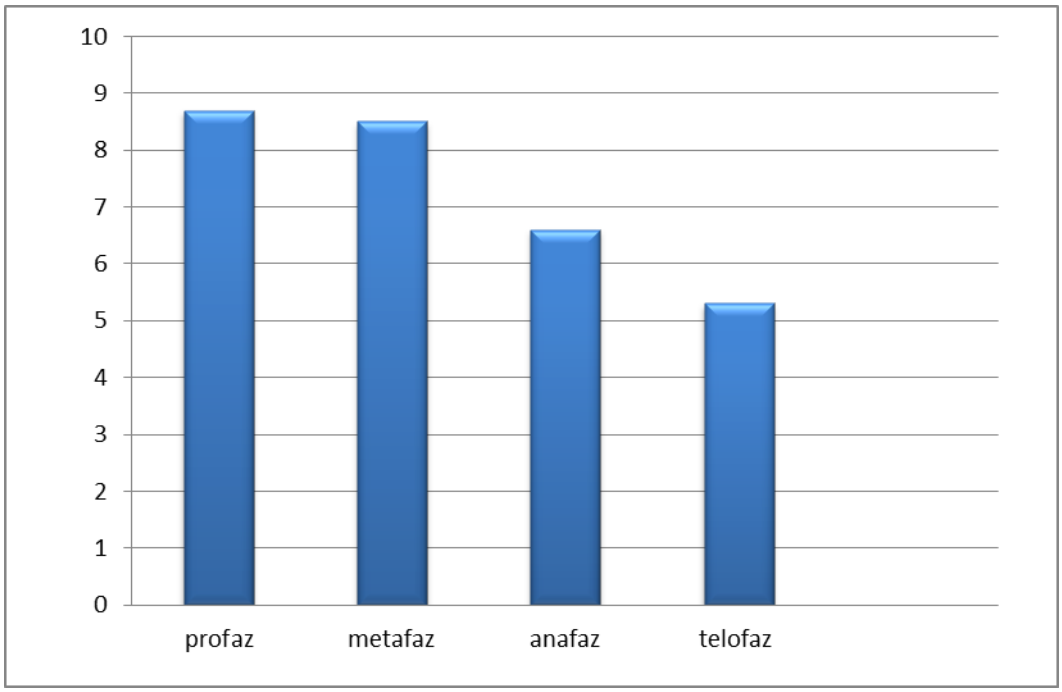
Kontrol, ($4\times EC_{50}$= 8 g/L), ($2\times EC_{50}$= 4 g/L), (EC_{50}= 2 g/L) ,($EC_{50}/2$= 1 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,50 g/L) Triton X-114 konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait faz indeksi Tablo 4.13-14'te verilmiştir. Konsantrasyon arttıkça profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evresindeki hücrelerin faz indeksinin kontrole göre azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.28-4.33).

Tablo 4.13: Triton-X-114 'ün *L.culinaris* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre sayısı.

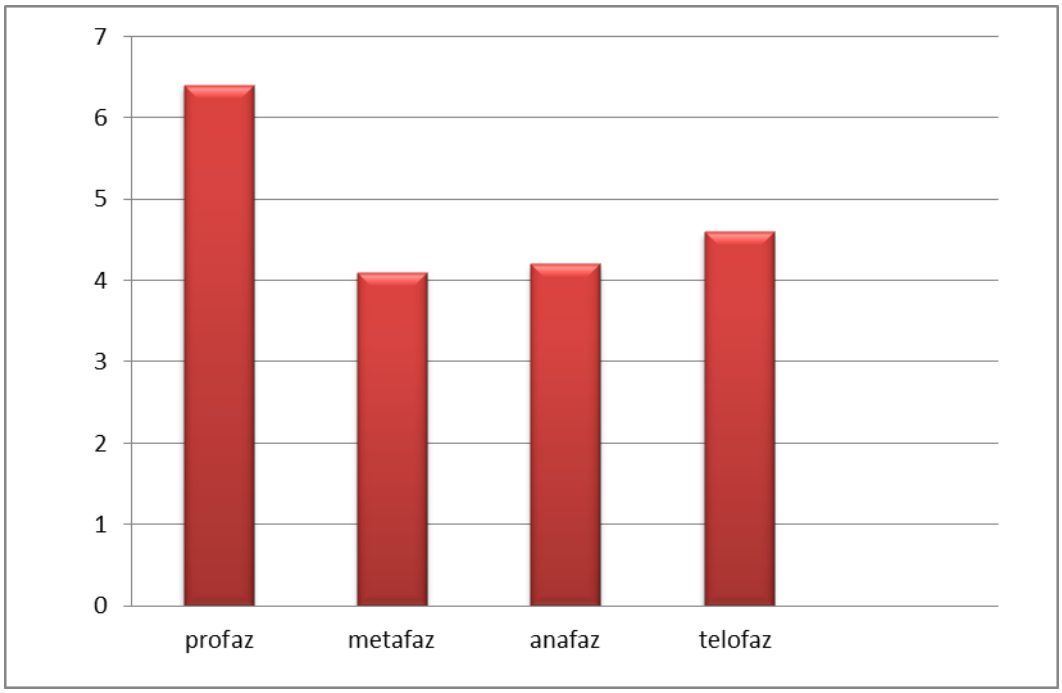
Konsantrasyon (g/L)	**Profaz**	**Metafaz**	**Anafaz**	**Telofaz**	**Toplam**
Kontrol	262	257	200	160	879
0,50	192	123	126	138	579
1	93	80	79	80	332
2	66	61	64	72	263
4	44	45	44	36	169
8	30	28	24	24	106
	Toplam bölünen hücre sayısı		**2328**		

Tablo 4.14: Triton-X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre yüzdesi.

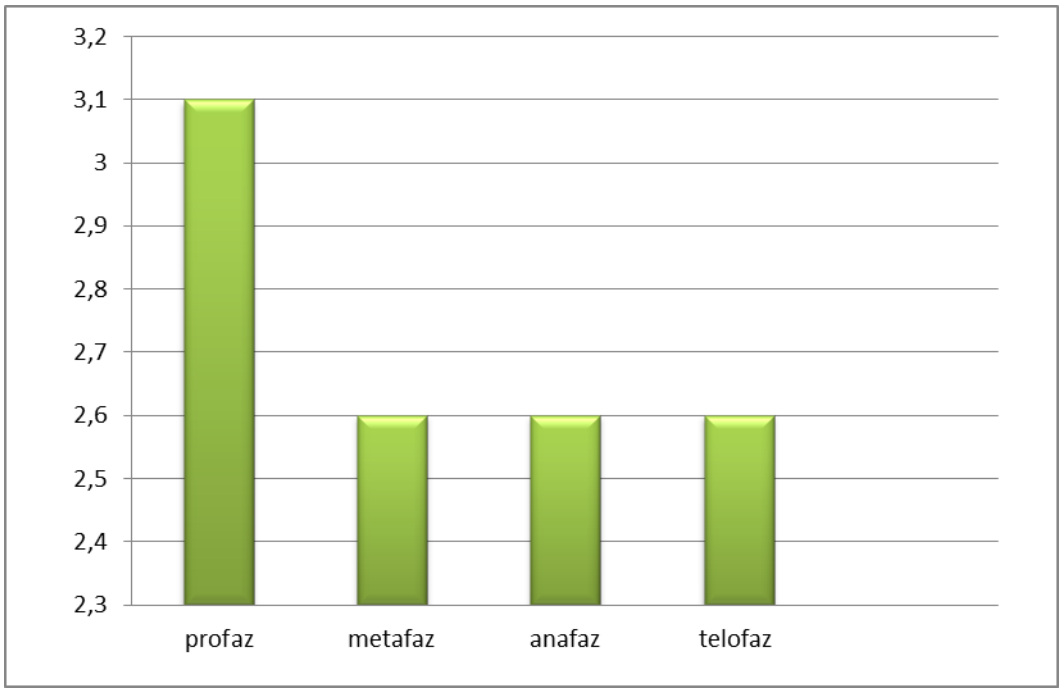
Konsantrasyon (g/L)	**(%)Profaz**	**(%)Metafaz**	**(%)Anafaz**	**(%)Telofaz**	**(%)Toplam**
Kontrol	8,7	8,5	6,6	5,3	29,1
0,50	6,4	4,1	4,2	4,6	19,3
1	3,1	2,6	2,6	2,6	10,9
2	2,2	2,0	2,1	2,4	8,7
4	1,4	1,5	1,4	1,2	5,5
8	1,0	0,9	0,8	0,8	3,5



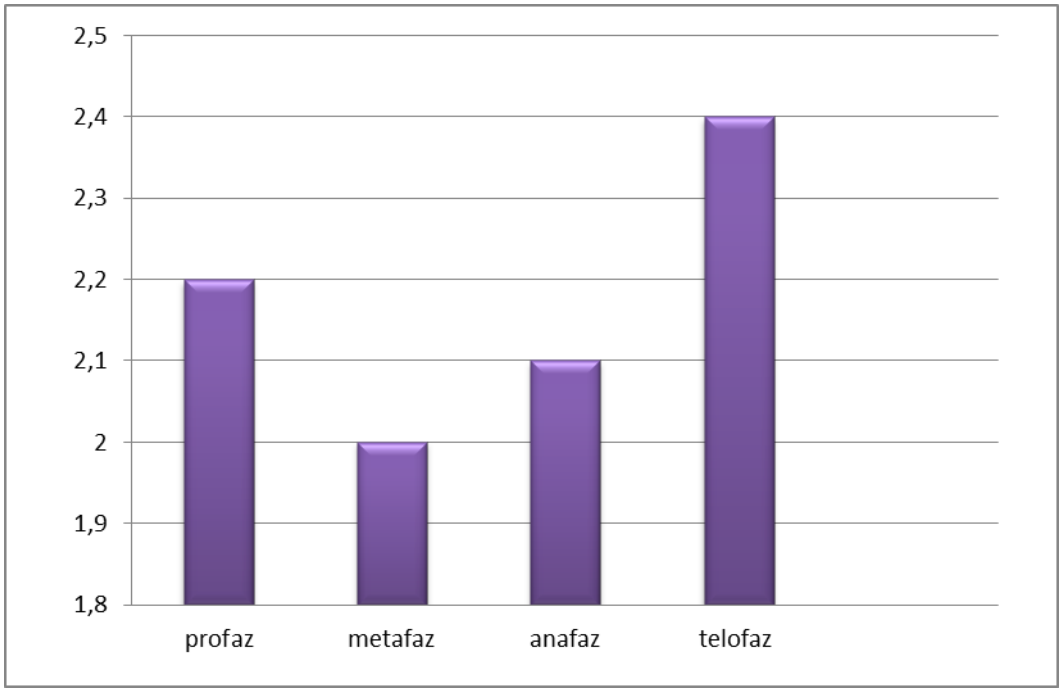
Şekil 4.28: Triton X-114 'ün *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki faz indeksi yüzdesi.



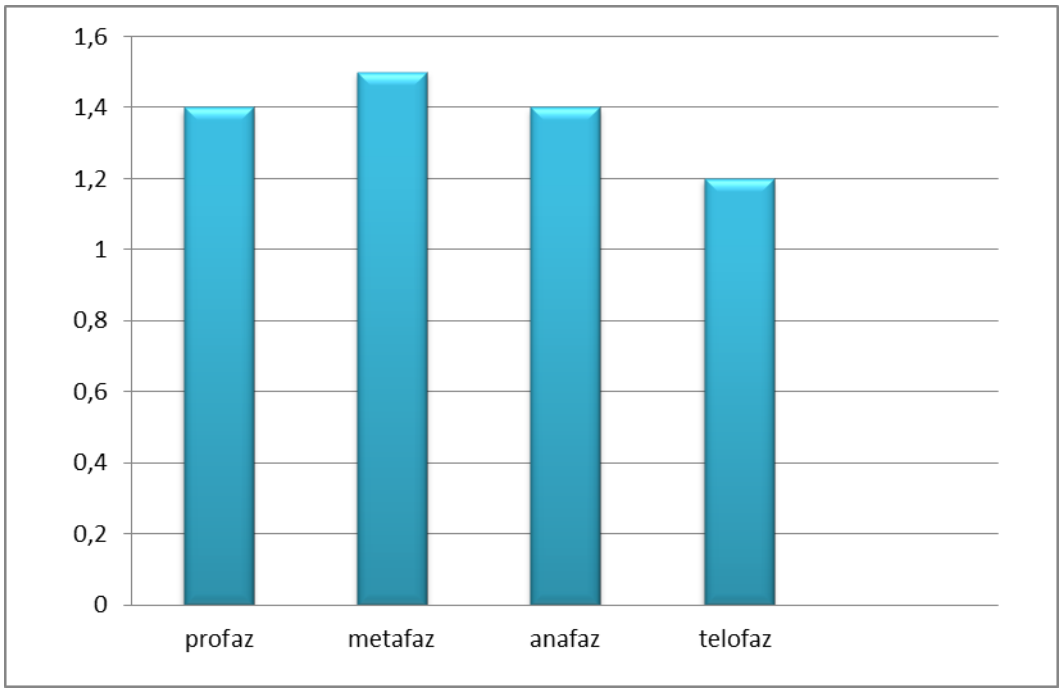
Şekil 4.29: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,50 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



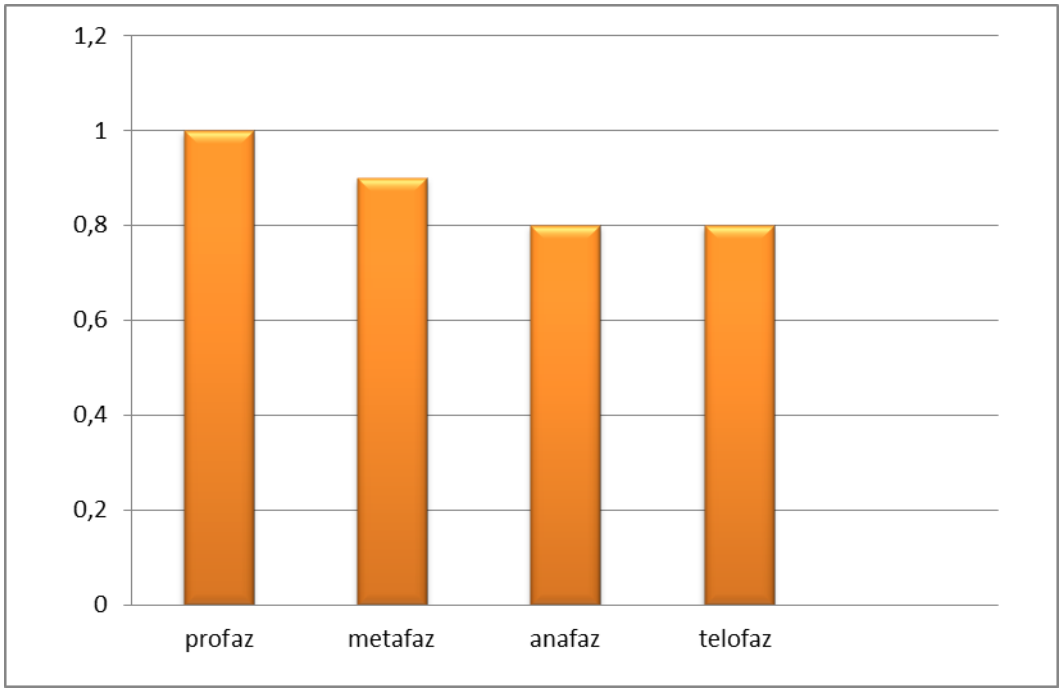
Şekil 4.30: Triton X-114 'ün *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin 1 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.31: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 2 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.32: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 4 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.33: Triton X-114 'ün *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin 8 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.

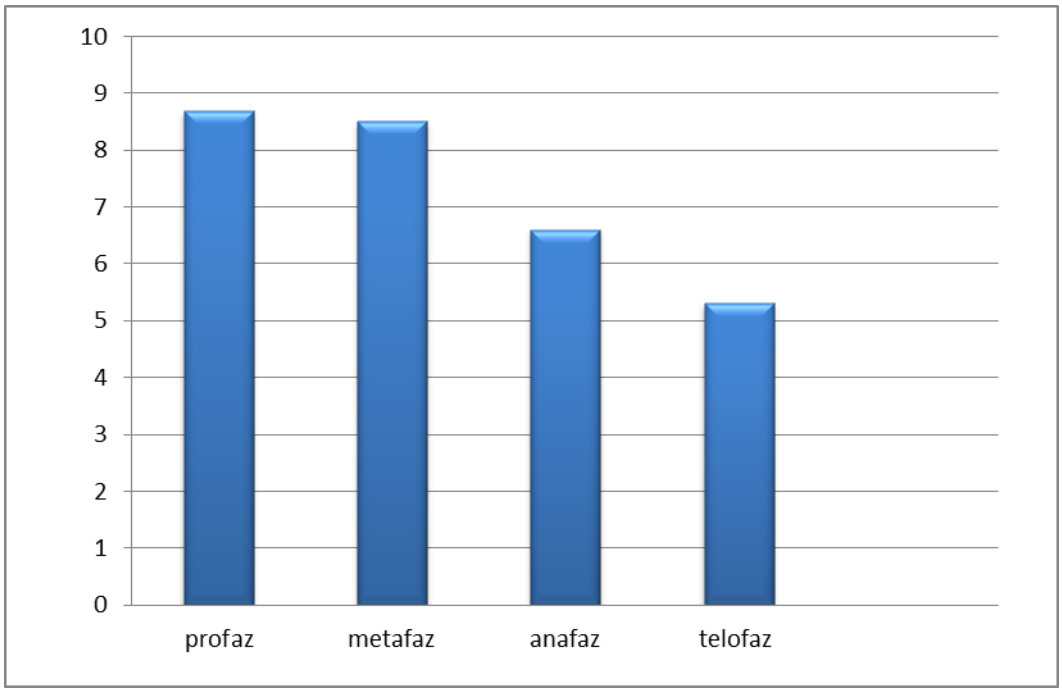
Kontrol, ($4\times EC_{50}$= 1 g/L), ($2\times EC_{50}$= 0,50 g/L), (EC_{50}= 0,25 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,12 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,06 g/L) Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait faz indeksi Tablo 4.15-16'da verilmiştir. Konsantrasyon arttıkça profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evresindeki hücrelerin faz indeksinin kontrole göre azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.34-4.39).

Tablo 4.15: Gemini (10-2-10) 'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre sayısı.

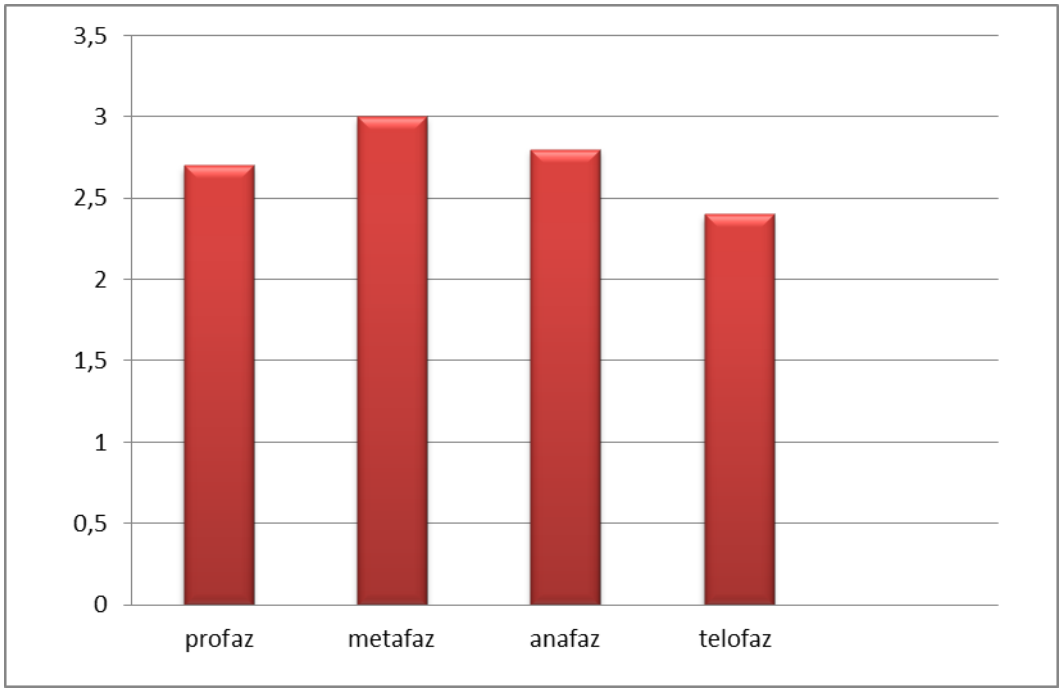
Konsantrasyon (g/L)	**Profaz**	**Metafaz**	**Anafaz**	**Telofaz**	**Toplam**
Kontrol	262	257	200	160	879
0,06	83	92	85	74	334
0,12	56	60	63	55	237
0,25	32	30	28	28	118
0,50	20	15	14	12	61
1	18	10	11	9	48
	Toplam bölünen hücre sayısı		**1677**		

Tablo 4.16: Gemini (10-2-10) 'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde faz indeksi bölünen hücre yüzdesi.

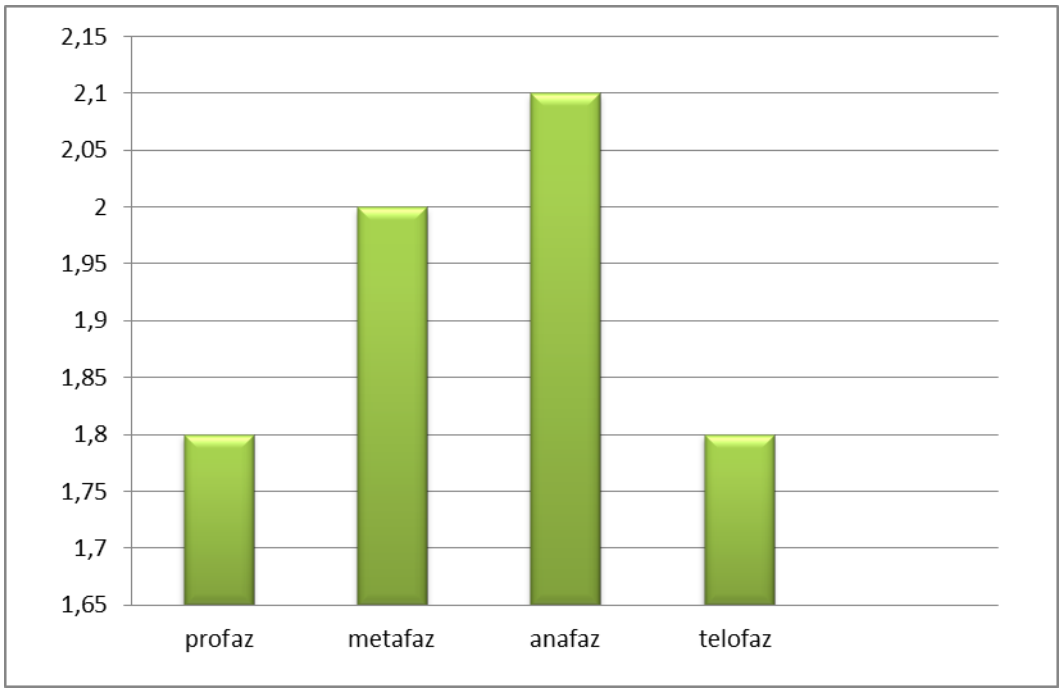
Konsantrasyon (g/L)	**(%)Profaz**	**(%)Metafaz**	**(%)Anafaz**	**(%)Telofaz**	**(%)Toplam**
Kontrol	8,7	8,5	6,6	5,3	29,1
0,06	2,7	3,0	2,8	2,4	10,9
0,12	1,8	2,0	2,1	1,8	7,7
0,25	1,0	1,0	0,9	0,9	3,8
0,50	0,6	0,5	0,4	0,4	1,9
1	0,6	0,3	0,3	0,3	1,2



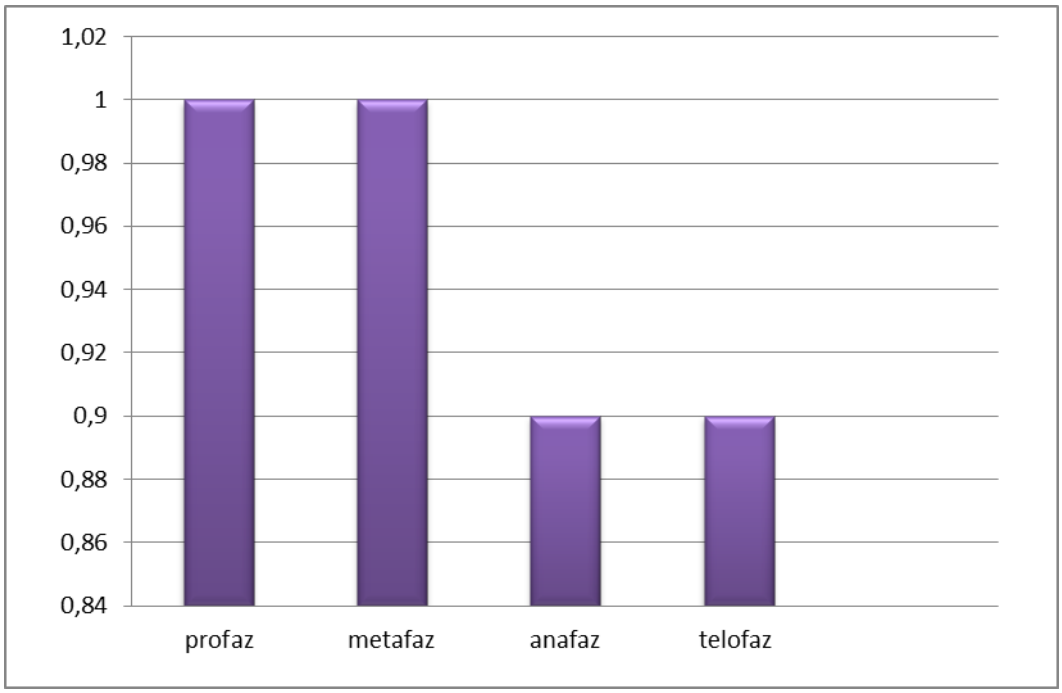
Şekil 4.34: Gemini (10-2-10) 'un *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin kontrol grubundaki faz indeksi yüzdesi.



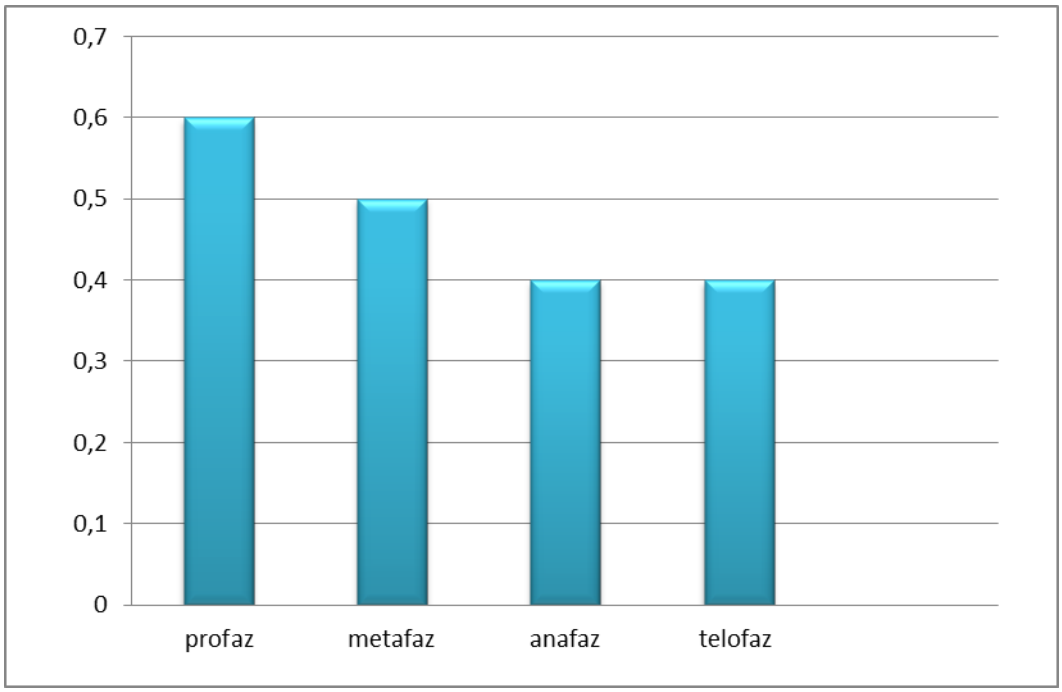
Şekil 4.35: Gemini (10-2-10) 'un *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,06 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



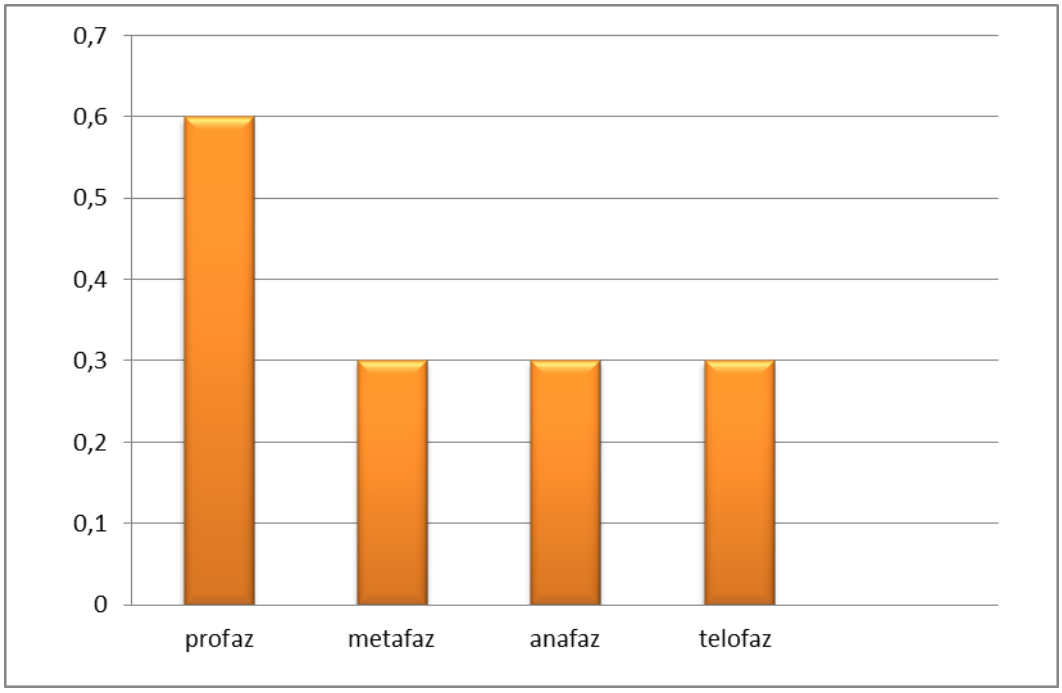
Şekil 4.36: Gemini (10-2-10) 'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,12 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.37: Gemini (10-2-10) 'un *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,25 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.38: Gemini (10-2-10) 'un *L.culinaris* kök ucu hücrelerinin 0,50 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.



Şekil 4.39: Gemini (10-2-10) 'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin 1 g/L dozundaki faz indeksi yüzdesi.

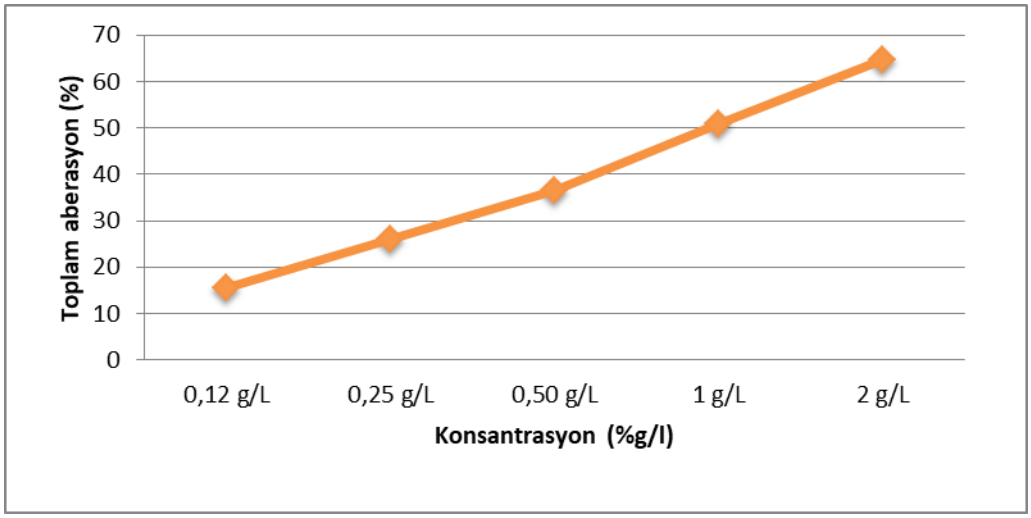
4.1.4. Kromozom Aberasyon (Anormallik) Sonuçları:

- ***A.cepa* L:**

Triton X-114'ün *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde metafaz-anafaz-telofaz ve diğer kromozom aberasyonlarına ait veriler Tablo 4.17 ve Tablo 4.18'de verilmiştir (Şekil 4.40).

Kromozom aberasyon yüzdesi surfaktant konsantrasyonu arttıkça arttığı belirlenmiştir ve her konsantrasyona ait saptanan aberasyonlar fotoğraflanmıştır. (Şekil 4.41-45).

Belirlenen kromozom aberasyonları; metafazda yapışıklık (%69,53), tabla kayması (%50,75), vagrant kromozom (%28,26) ve C-mitoz (%21,89), fragment (% 15,33). Anafazda yanlış kutuplaşma (%53,73), vagrant kromozom (%35,62), fragment kromozom (%14,13), yapışıklık (%10,55) köprü (%8,35). Telofazda yanlış kutuplaşma (%37,80), vagrant kromozom (%27,05), fragment kromozom (%10,13), köprü (%0,98), yapışıklık (%0,39). Buna karşın, binükleat hücre oluşumu Triton-X-114 konsantrasyonlarından sadece 1 g/ L. ve 2 g/L. (%3,59) görülmüştür (Tablo 4.19-Tablo 4.20).



Şekil 4.40: Triton X-114 'ün *A.cepa* aberasyon %'si.

Tablo 4.17: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde görülen kromozom aberasyon sayıları.

		METAFAZ					**ANAFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Tabla Kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant Kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,12	1008	15	1	25	8	12	2	1	3	17	27	111
0,25	1003	32	9	39	15	21	4	5	9	28	42	204
0,50	1004	47	16	51	24	30	10	12	14	36	54	294
1	1001	101	22	62	29	37	11	16	19	47	68	213
2	1000	154	29	78	34	42	15	19	26	51	79	527
Toplam aberasyon		**349**	**77**	**255**	**110**	**142**	**42**	**53**	**71**	**179**	**270**	1349

Tablo 4.18: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinde telofaz evresinde ve diğer görülen kromozom aberasyonu sayıları.

		DİĞER		**TELOFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Binükleat Hücre**	**Mikronukleus**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,12	1008	-	-	5	1	3	14	24	47
0,25	1003	-	-	-	2	7	19	29	57
0,50	1004	-	-	-	-	9	28	37	74
1	1001	4	-	-	-	13	34	48	99
2	1000	9	-	-	-	19	41	52	121
Toplam aberasyon		**13**		**5**	**3**	**51**	**136**	**190**	398

Tablo 4.19: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom aberasyon yüzde oranları.

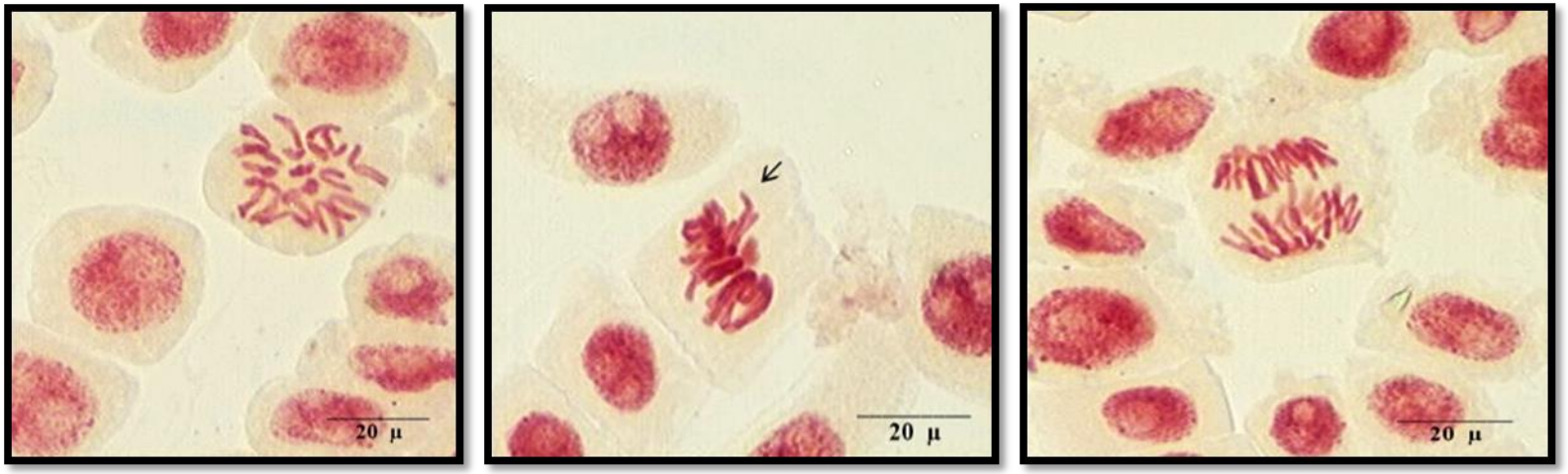
		METAFAZ					**ANAFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Tabla Kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant Kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam (%)**
0,12	1008	1,40	0,09	2,40	0,79	1,19	0,19	0,09	0,29	1,68	2,67	10,79
0,25	1003	3,19	0,89	3,88	1,49	2,09	0,39	0,49	0,89	2,79	4,18	20,25
0,50	1004	4,68	1,59	5,07	2,39	2,98	0,99	1,19	1,39	3,58	5,37	29,14
1	1001	10,08	2,19	6,19	2,89	3,69	1,09	1,59	1,89	4,69	6,79	41,07
2	1000	15,40	2,90	7,80	3,40	4,20	1,50	1,90	2,60	5,10	7,80	52,70
Toplam aberasyon (%)		**36,76**	**7,66**	**25,37**	**10,94**	**14,13**	**4,17**	**5,27**	**7,06**	**17,81**	**26,86**	

Tablo 4.20: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinde telofaz evresinde ve diğer kromozom aberasyon yüzde oranları.

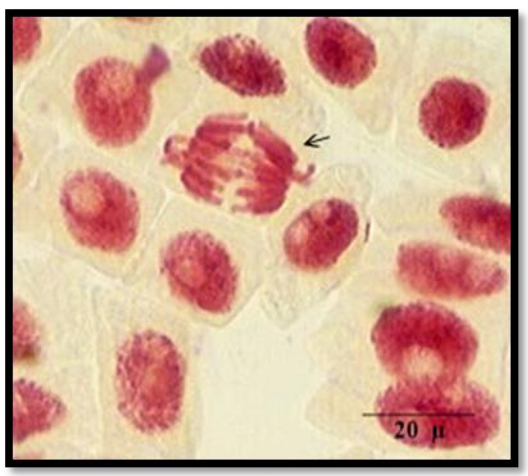
		DİĞER		**TELOFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Binükleat Hücre**	**Mikronukleus**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,12	1008	-	-	0,49	0,09	0,29	1,38	2,38	4,62
0,25	1003	-	-	-	0,19	0,69	1,89	2,89	5,66
0,50	1004	-	-	-	-	0,89	2,78	3,68	7,34
1	1001	0,39	-	-	-	1,29	3,39	4,79	9,88
2	1000	0,90	-	-	-	1,90	4,10	5,20	12,10
Toplam aberasyon		**1,29**		**0,49**	**0,28**	**5,06**	**13,52**	**18,90**	



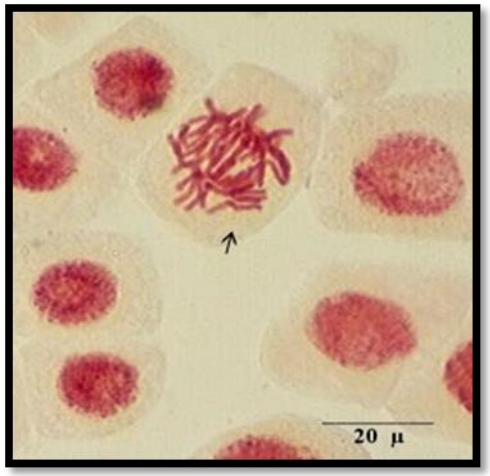
a **b** **c**



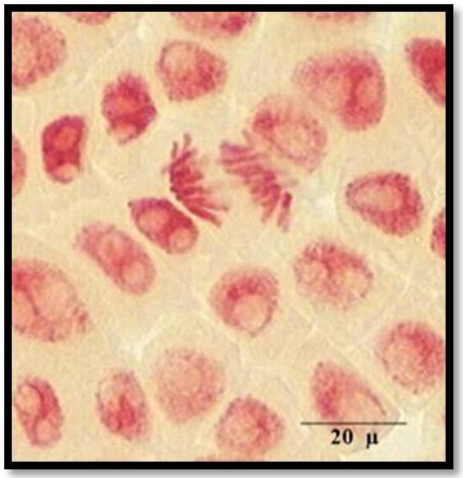
d **e** **f**



g



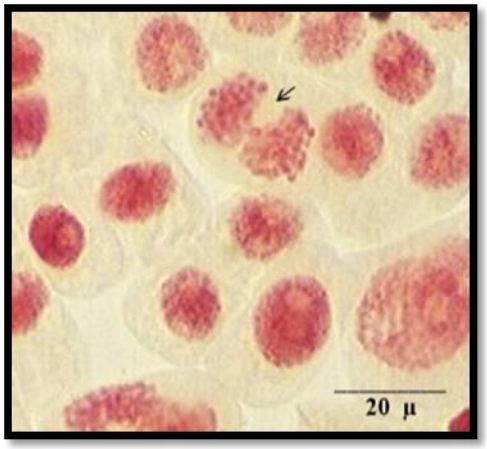
h



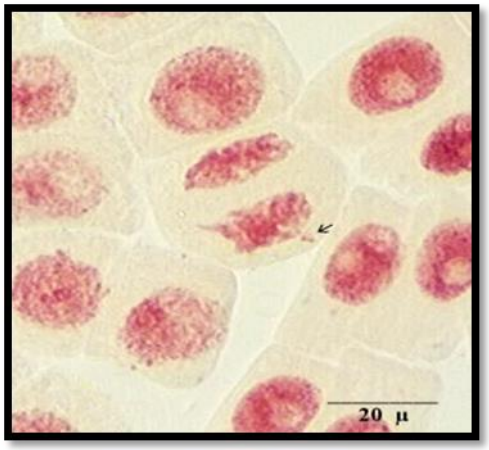
ı



j

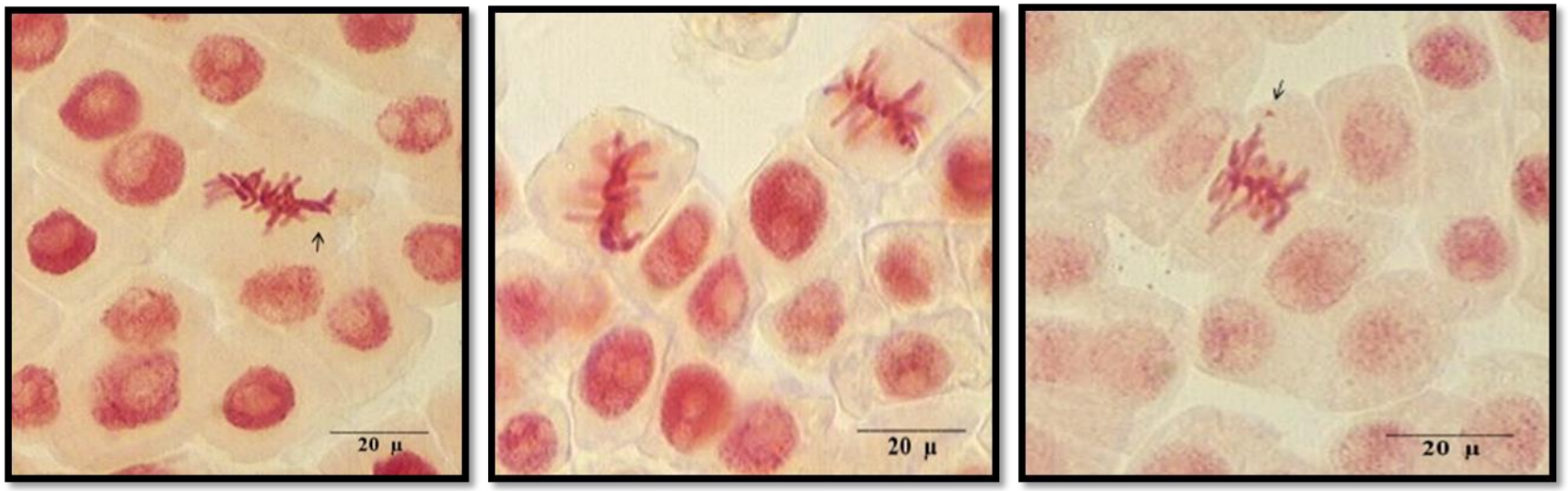


k

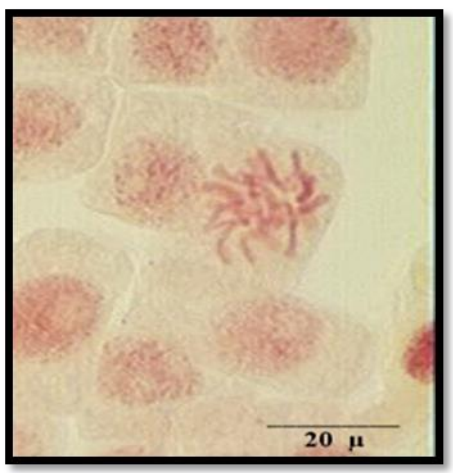


l

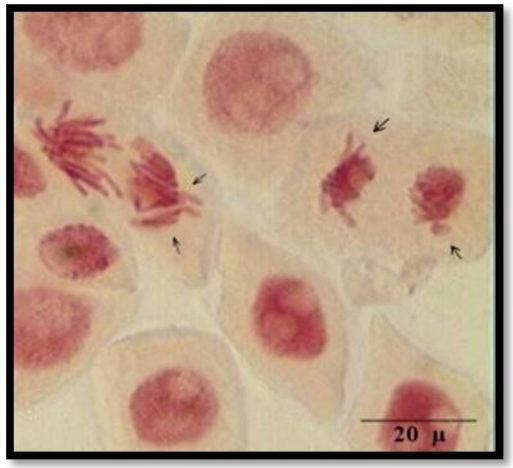
Şekil 4.41: Triton-X-114 0,12 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz fragment kromozom, **c.** Metafaz tabla kayması, **d.** C-mitoz**, e.** Metafaz vagrant kromozom, **f**. Anafaz köprü, g. Anafaz köprü - yapışıklık, **h**. Anafaz fragment ve vagrant kromozom, ı**.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **j.** Telofaz yanlış kutuplaşma, vagrant kromozom, yapışıklık, **k.** Telofaz köprü, **l.** Telofaz fragment kromozom.



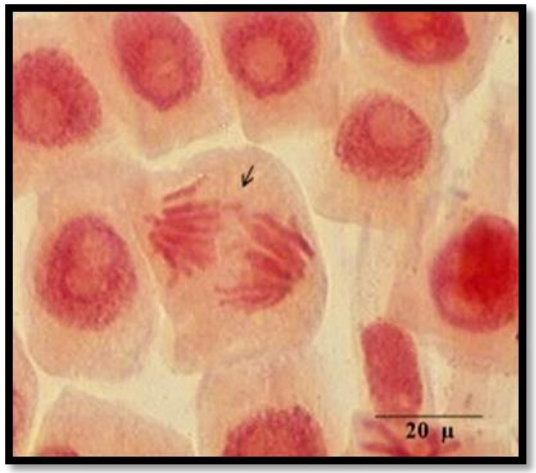
a **b** **c**



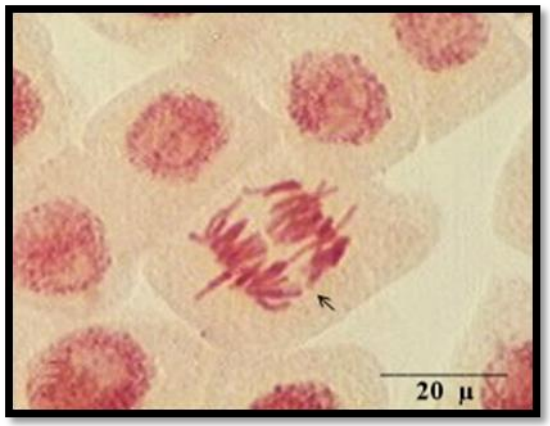
d



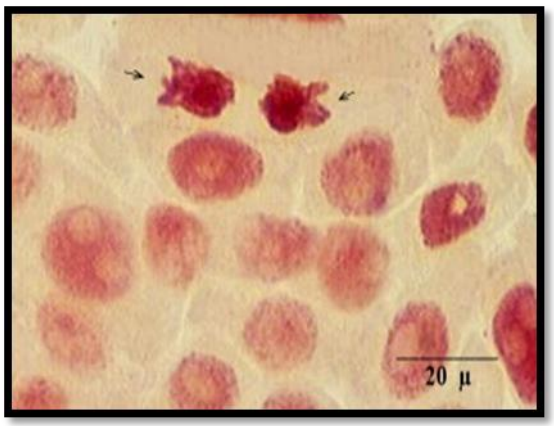
e



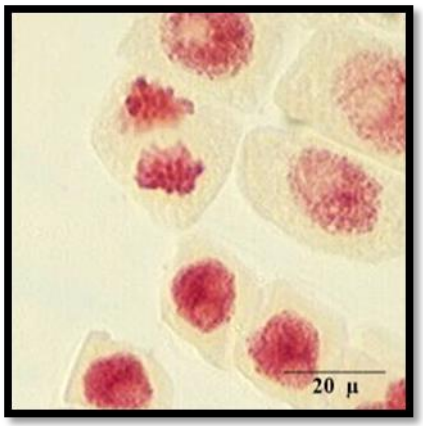
f



g

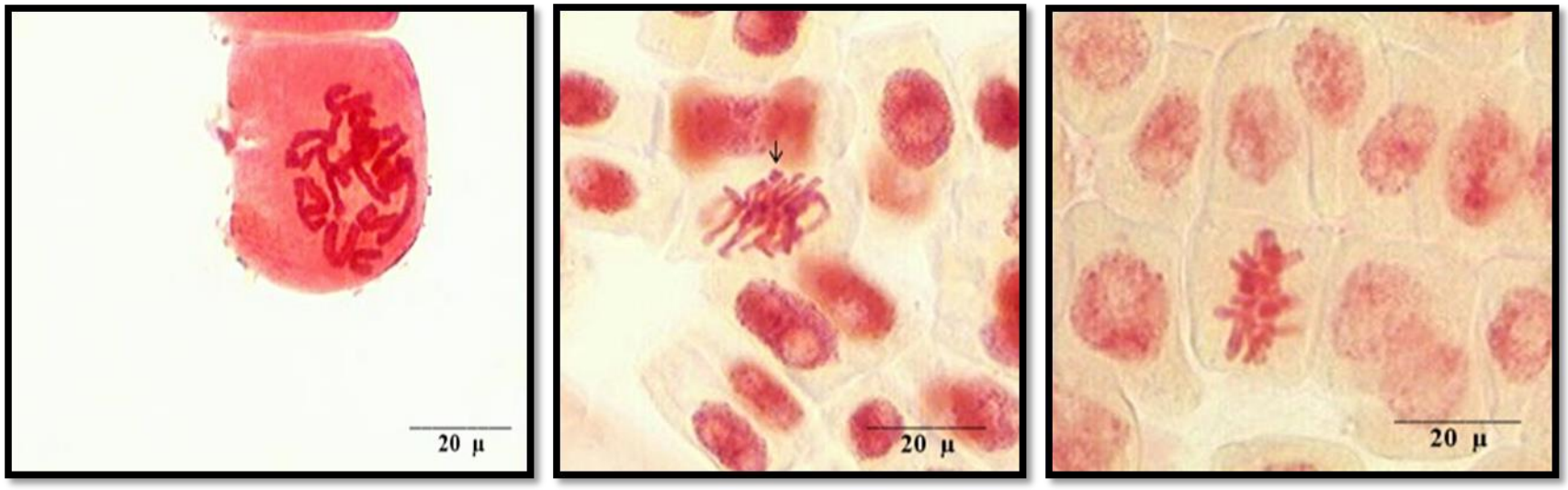


h

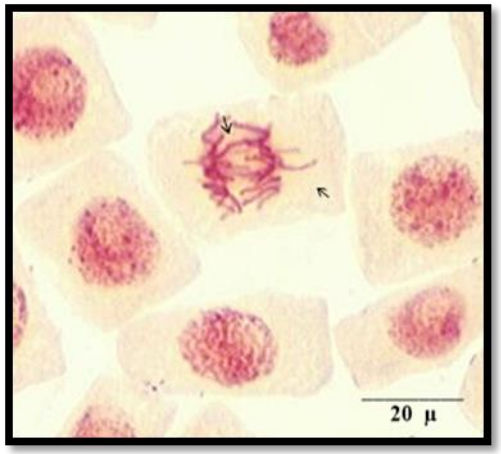


ı

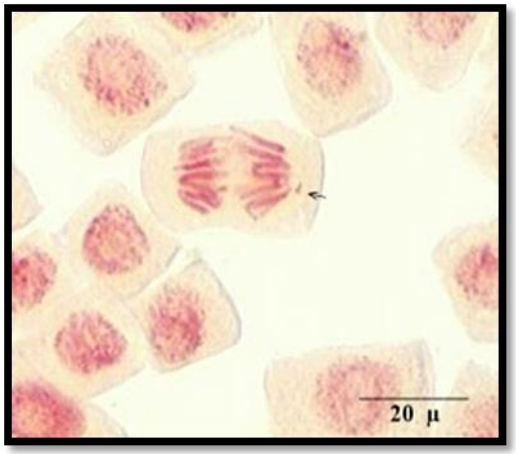
Şekil 4.42: Triton-X-114 0,25 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık ve vagrant kromozom **b.** Metafaz tabla kayması, **c.** Metafaz fragment kromozom, **d.** C- mitoz, **e.**Anafaz fragment ve vagrant kromozom -telofaz fragment ve vagrant kromozom, f**.**Anafaz yanlış kutuplaşma, **g.**Anafaz köprü - yapışıklık, **h.** Telofaz yapışıklık, **ı.** Telofaz yanlış kutuplaşma.



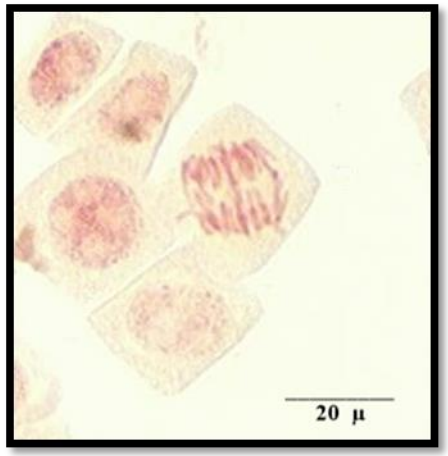
a **b** **c**



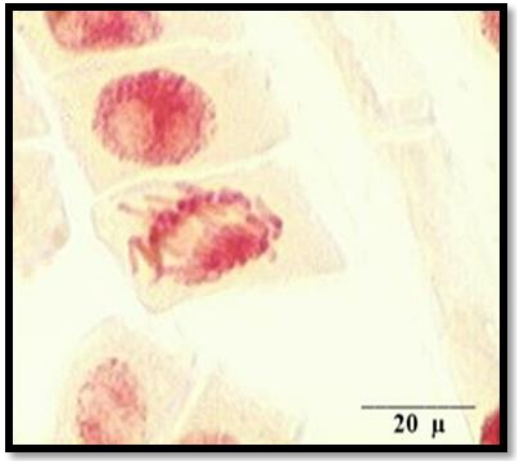
d



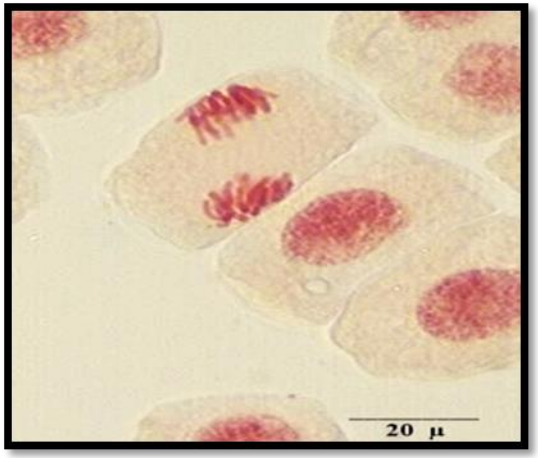
e



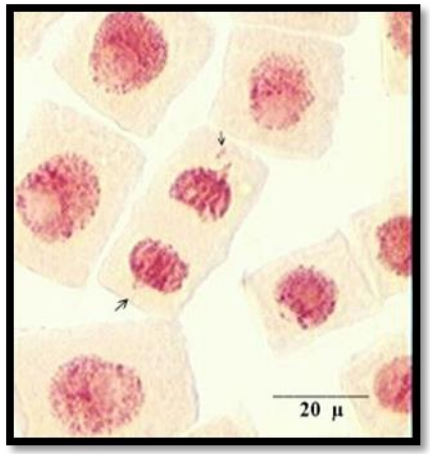
f



g



h

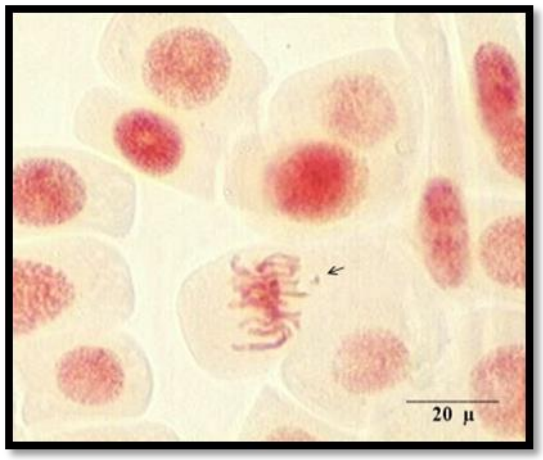


ı

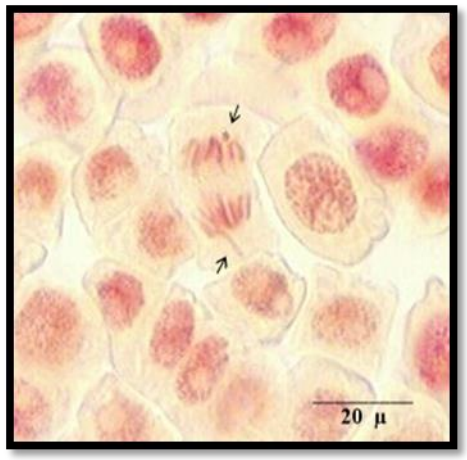
Şekil 4.43: Triton-X-114 0,50 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.**C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-fragment ve vagrant kromozom, **c.**Metafaz yapışıklık, **d.**Anafaz vagrant kromozom - köprü, **e.** Anafaz fragment kromozom, **f.**Anafaz yanlış kutuplaşma, **g.**Anafaz yapışıklık, **h.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **ı.** Telofaz fragment ve vagrant kromozom.



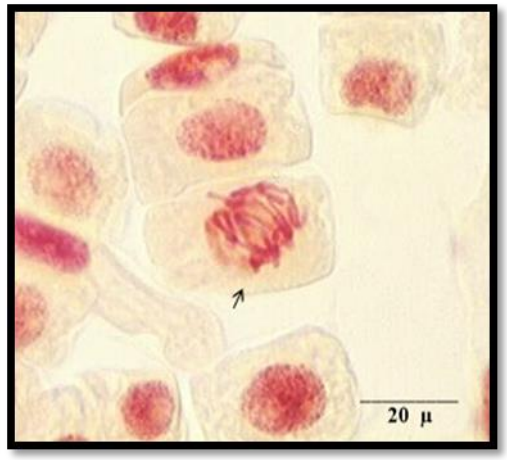
a **b** **c**



d



e



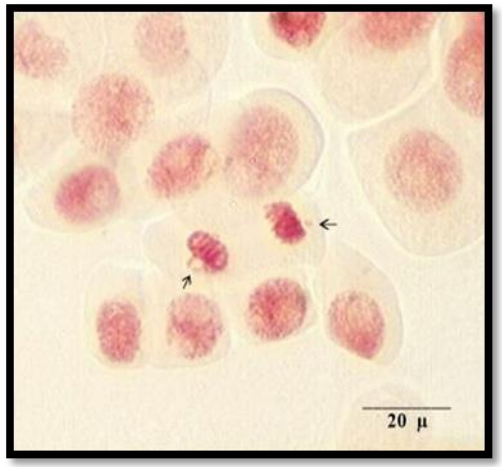
f



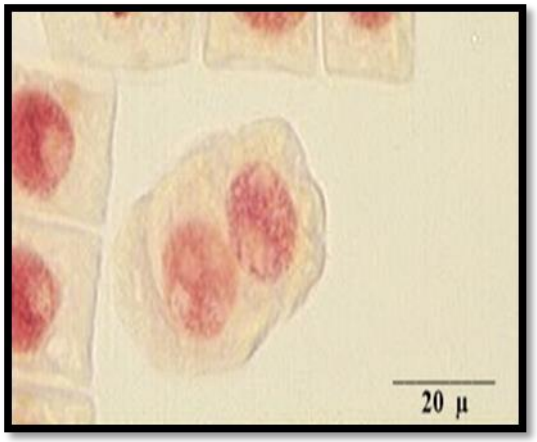
g



h

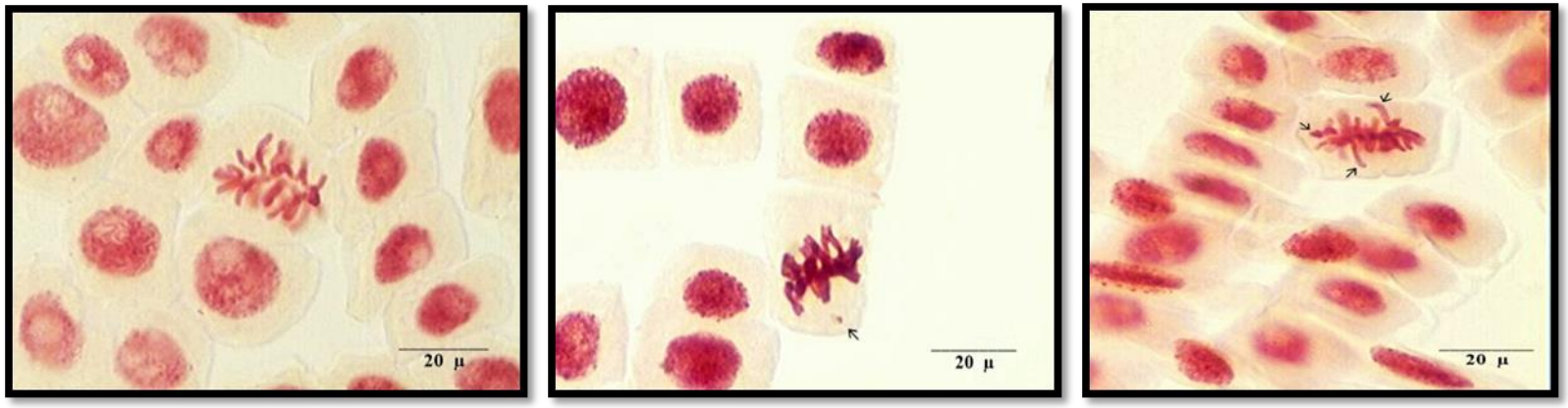


ı

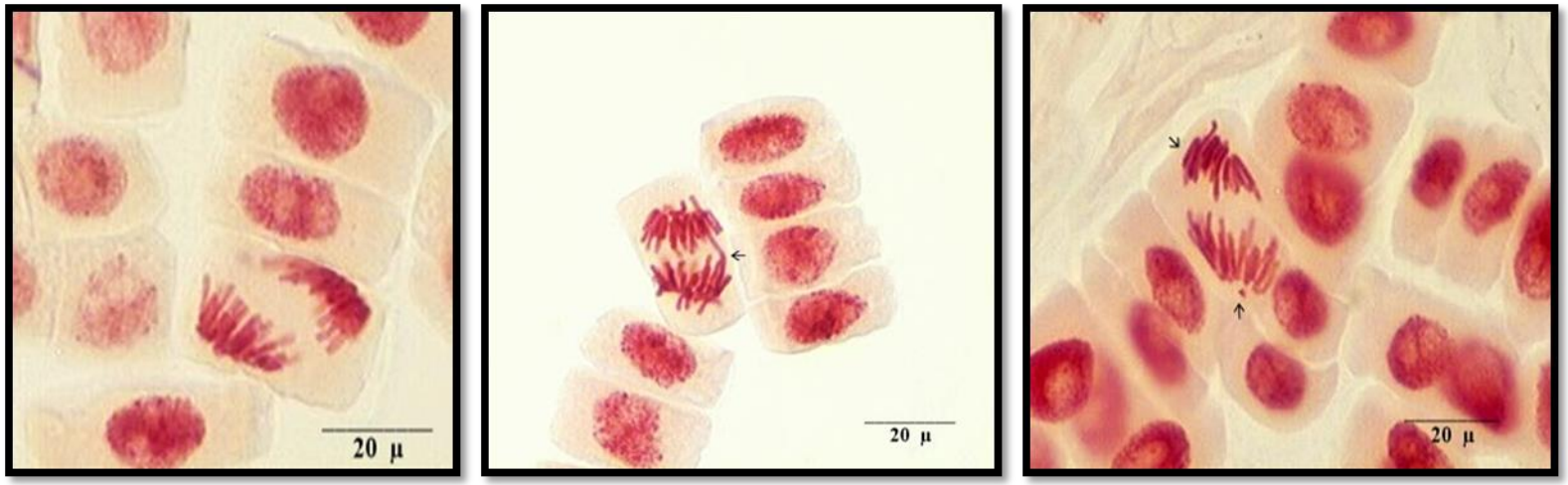


j

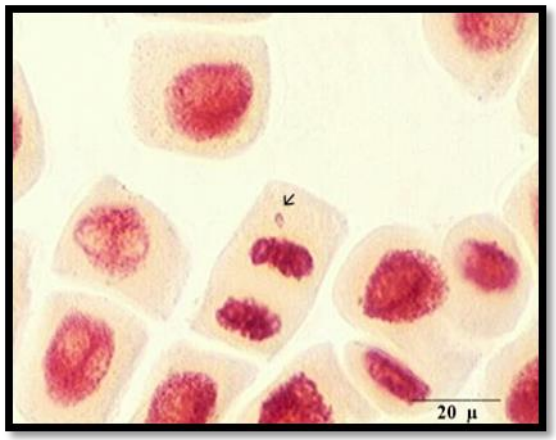
Şekil 4.44: Triton-X-114 1 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması, **c.** Metafaz yapışıklık, **d.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom, e**.** Anafaz fragment ve vagrant kromozom, f**.** Anafaz yapışıklık-yanlış kuruplaşma, **g.** Anafaz köprü, **h.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **ı.** Telofaz fragment ve vagrant kromozom, j**.** Binükleat hücre.



a **b** **c**



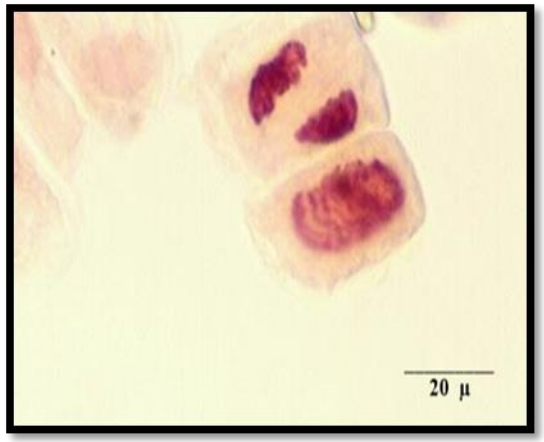
d **e** **f**



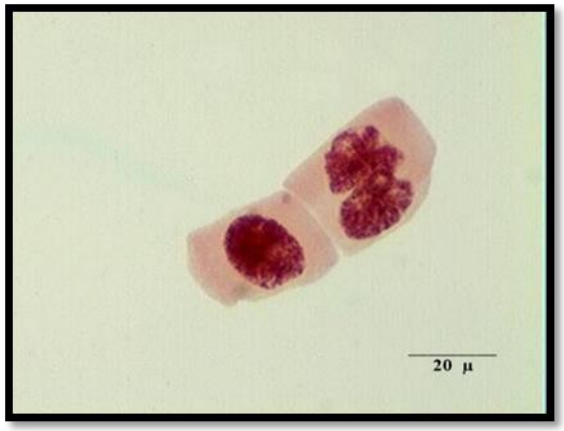
g



h



ı



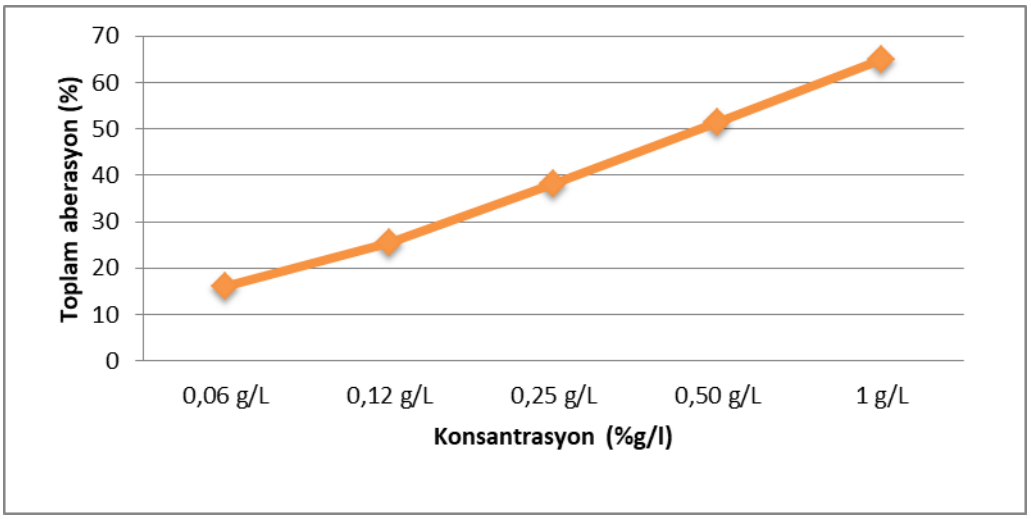
j

Şekil 4.45: Triton-X-114 2 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **c.**Metafaz yapışıklık-fragment kromozom - tabla kayması, **c.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom, d**.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **e.** Anafaz köprü o, **f.** Anafaz fragment kromozom-yapışıklık, **g.** Telofaz fragment kromozom, h**.** Telofaz vagrant kromozom, ı**.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **j.** Binukleat hücre.

Gemini (10-2-10)'un *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde metafaz-anafaz-telofaz ve diğer kromozom aberasyonlarına ait veriler Tablo 4.21 ve Tablo 4.22'de verilmiştir (Şekil 4.46).

Kromozom aberasyon yüzdesi surfaktant konsantrasyonu arttıkça arttığı belirlenmiştir ve her konsantrasyona ait saptanan aberasyonlar fotoğraflanmıştır(Şekil 4.47-51).

Belirlenen kromozom aberasyonları; metafazda tabla kayması (%53,92), C-mitoz (%34,38), vagrant kromozom (%33,19), yapışıklık (%26,44), ve fragment (% 24,40). Anafazda yanlış kutuplaşma (%48,03), vagrant kromozom (%42,09), fragment kromozom (%15,18), yapışıklık (%14,98) köprü (%11,63). Telofazda yanlış kutuplaşma (%36,72), vagrant kromozom (%36,16), fragment kromozom (%5,91), köprü (%3,94), yapışıklık (%1,96).Buna karşın, binükleat hücre oluşumu (%7,29) Gemini (10-2-10)'un tüm konsantrasyonlarında, mikronükleus ise 0,06 g/L konsantrasyonunda (%0,79) görülmüştür (Tablo 4.23-Tablo 4.24).



Şekil 4.46: Gemini(10-2-10)'un *A. cepa* aberasyon %'si

Tablo 4.21: Gemini (10-2-10)' un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde görülen kromozom aberasyonu sayıları.

		METAFAZ					**ANAFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Tabla Kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant Kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,06	1001	6	5	33	17	14	-	3	-	21	29	128
0,12	1007	15	11	42	21	18	3	5	4	31	39	189
0,25	1003	25	19	54	37	30	11	12	11	42	47	288
0,50	1009	37	38	64	48	42	17	20	21	52	56	395
1	1006	51	56	80	51	64	28	36	41	67	72	546
Toplam aberasyon		**134**	**129**	**273**	**174**	**168**	**59**	**76**	**77**	**213**	**243**	1000

Tablo4.22: Gemini (10-2-10)'un *A.cepa* kök ucu hücrelerinde telofaz evresinde ve diğer görülen kromozom aberasyonu sayıları.

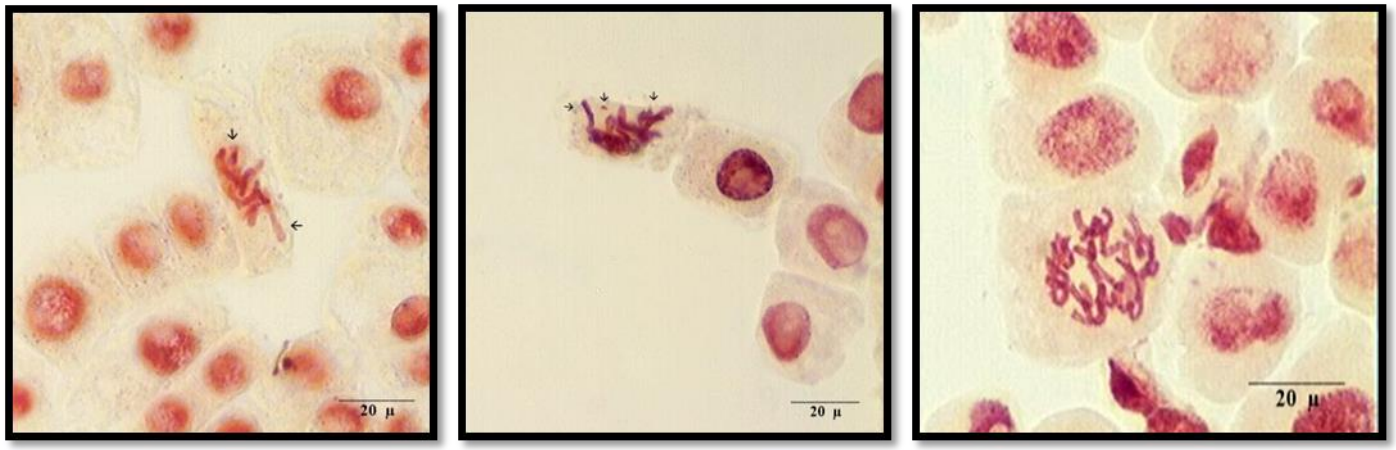
		DİĞER		TELOFAZ					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Binükleat Hücre**	**Mikronukleus**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,06	1001	3	4	-	3	-	22	-	32
0,12	1007	5	-	3	-	-	27	35	70
0,25	1003	7	-	7	4	6	34	41	97
0,50	1009	10	-	10	-	9	46	53	128
1	1006	12	-	-	5	15	54	57	143
Toplam aberasyon		**37**	**4**	**20**	**10**	**30**	**183**	**186**	

Tablo 4.23: Gemini (10-2-10)'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom aberasyon yüzde oranları.

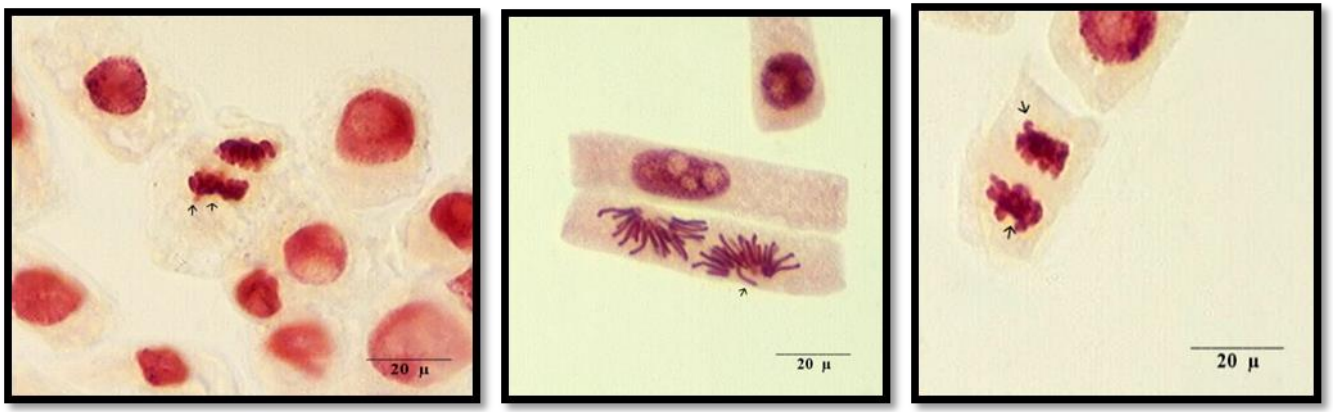
		METAFAZ					ANAFAZ					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Tabla Kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant Kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,06	1001	0,59	0,49	3,29	1,69	1,39	-	0,29	-	2,09	2,89	12,75
0,12	1007	1,47	1,08	4,14	2,07	1,77	0,29	0,49	0,39	3,05	3,84	18,61
0,25	1003	2,48	1,86	5,36	3,67	2,98	1,09	1,19	1,09	4,17	4,67	28,58
0,50	1009	3,63	3,73	6,28	4,71	4,12	1,66	1,96	2,06	5,10	5,50	38,77
1	1006	5,03	5,53	7,90	5,03	6,32	2,76	3,55	4,05	6,62	7,11	53,92
Toplam aberasyon		**13,22**	**12,20**	**26,98**	**17,19**	**16,59**	**5,81**	**7,49**	**7,59**	**21,04**	**24,01**	

Tablo 4.24: Gemini (10-2-10)'un *A. cepa* kök ucu hücrelerinde telofaz evresinde ve diğer kromozom aberasyon yüzde oranları.

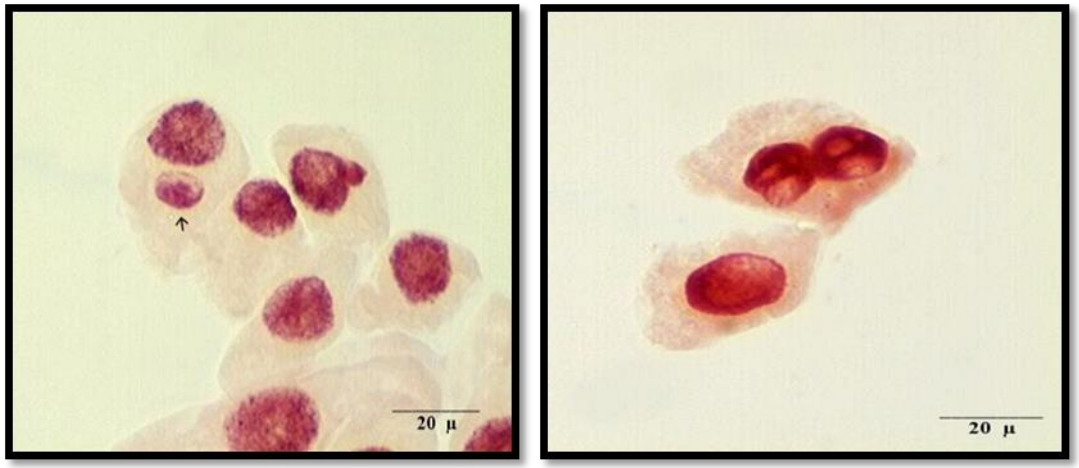
		DİĞER		**TELOFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Binükleat Hücre**	**Mikronukleus**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam (%)**
0,06	1001	0,29	0,39	-	0,29	-	2,18	-	3,19
0,12	1007	0,49	-	0,29	-	-	2,66	3,45	6,90
0,25	1003	0,69	-	0,69	0,39	0,59	3,37	4,07	9,64
0,50	1009	0,98	-	0,98	-	0,88	4,51	5,20	12,57
1	1006	1,18	-	-	0,49	1,48	5,33	5,63	14,13
Toplam aberasyon (%)		**3,64**	**0,39**	**1,97**	**1,17**	**2,95**	**18,08**	**18,36**	



a **b** **c**

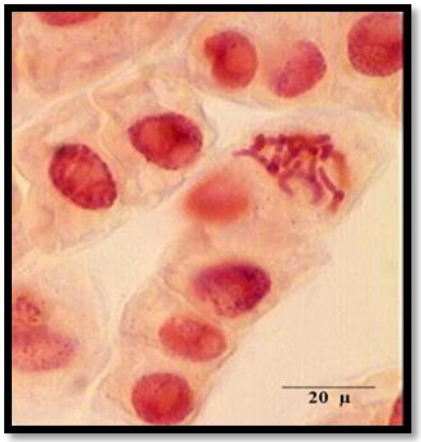


d **e** **f**



g **h**

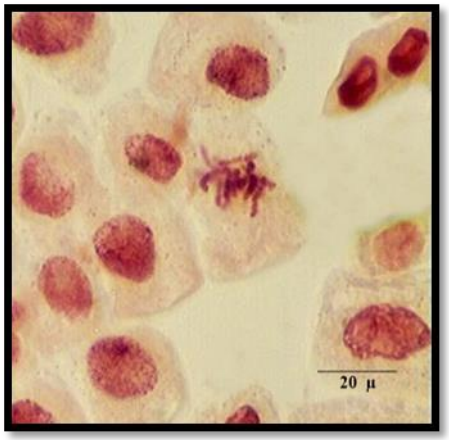
Şekil 4.47: Gemini (10-2-10) 0,06 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık- vagrant kromozom, b**.** Metafaz yapışıklık- fragment ve vagrant kromozom - tabla kayması, **c.** C-mitoz, **d.** Anafaz yapışıklık-vagrant kromozom, e**.** Anafaz vagrant kromozom- yanlış kutuplaşma, **f.** Telofaz yapışıklık-vagrant kromozom, **g.** Mikronükleus, h**.** Binukleat hücre.



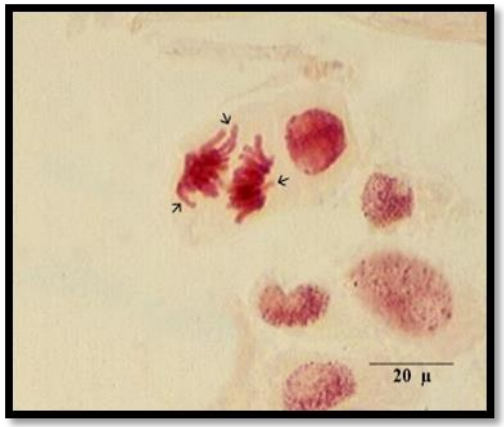
a



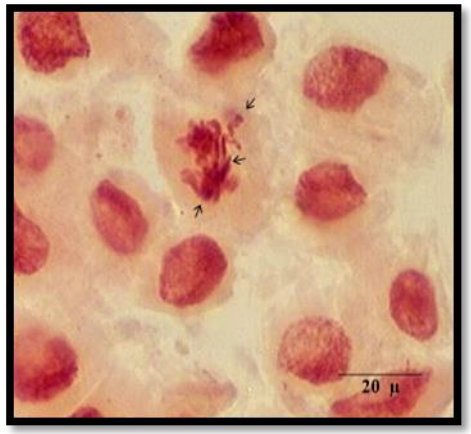
b



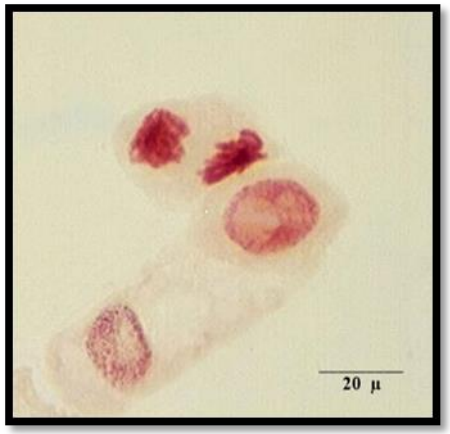
c



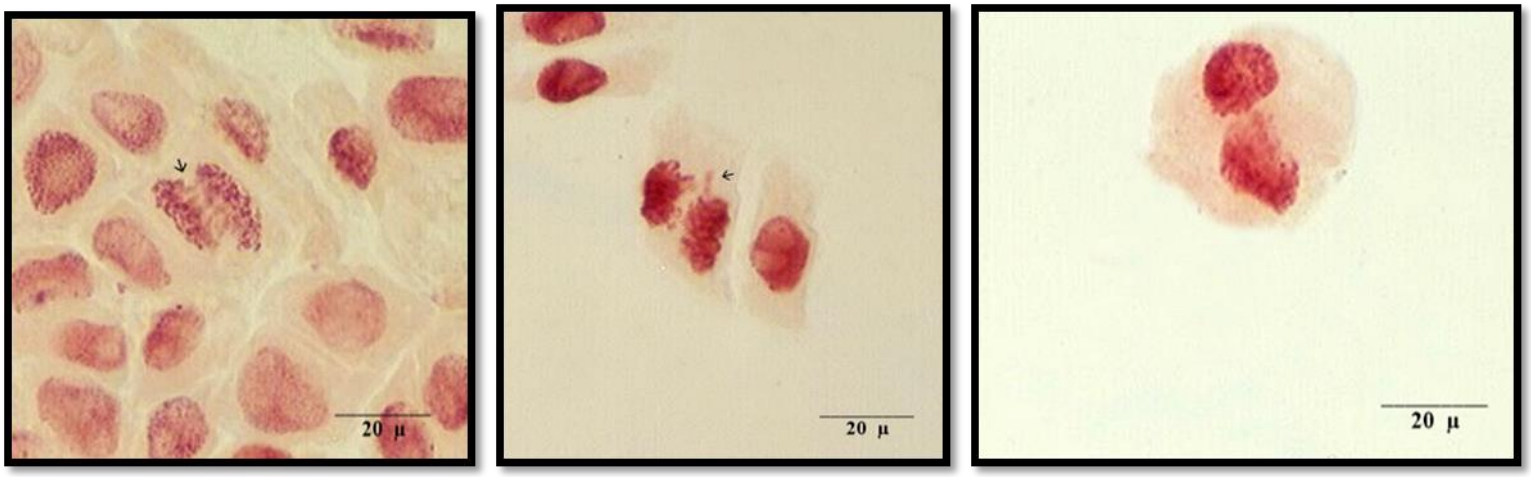
d



e



f

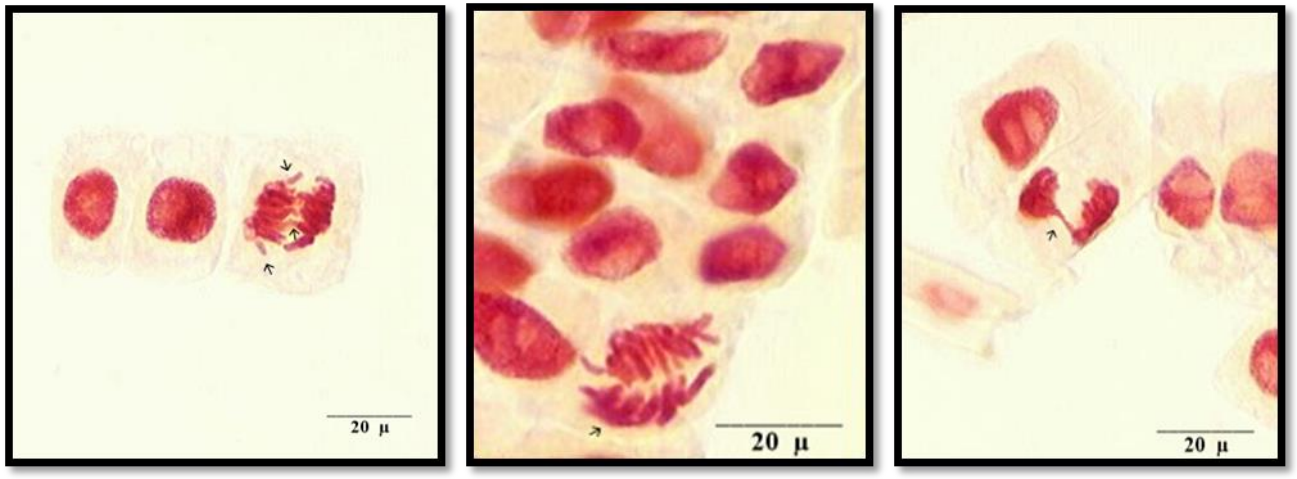


g **h** **ı**

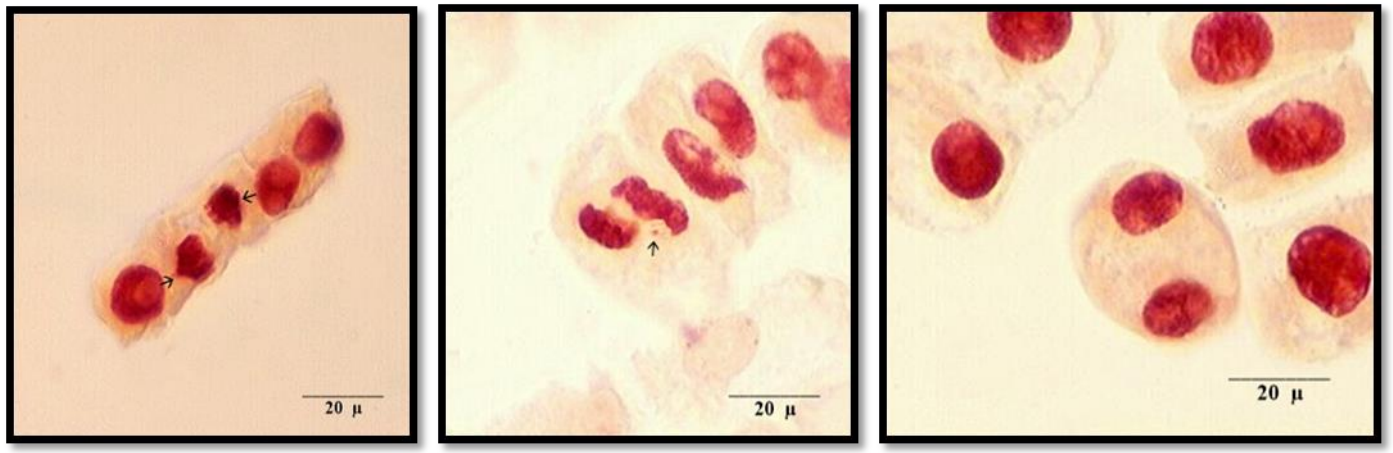
Şekil 4.48: Gemini (10-2-10) 0,12 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom, **c.** Metafaz tabla kayması- yapışıklık, **d.** Anafaz yanlış kutuplaşma-vagrant kromozom, **e.** Anafaz köprü-yapışıklık-fragment kromozom, **f.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofaz köprü oluşumu, **h.** Telofaz vagrant kromozom, **ı.** Binükleat hücre.



a **b** **c**

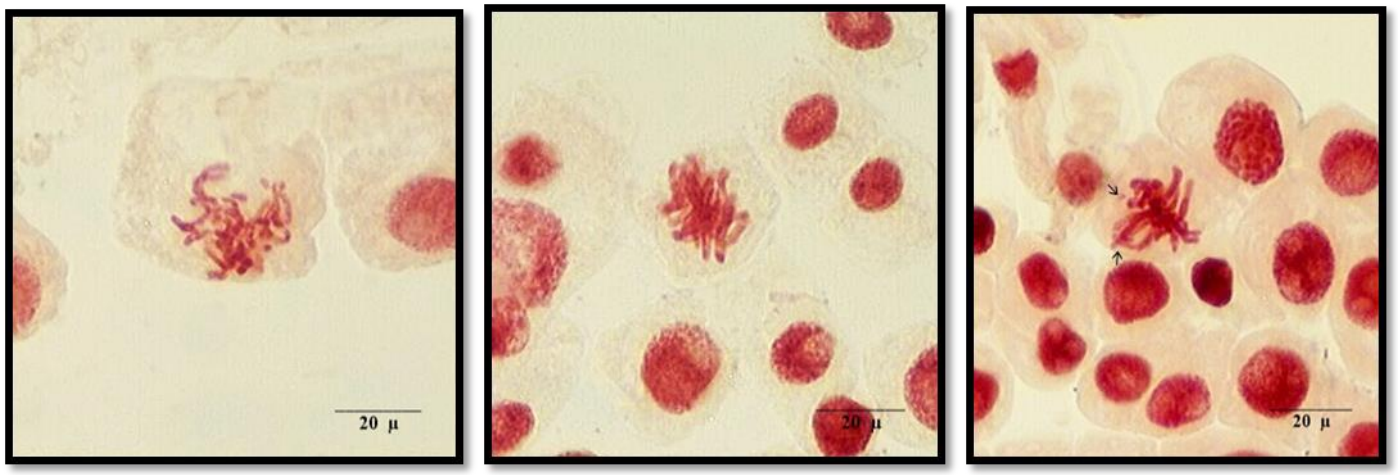


d **e** **f**



g **h** **ı**

Şekil 4.49: Gemini (10-2-10) 0,25 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-vagrant kromozom -yapışıklık, **c.** Metafaz fragment kromozom o, **d.** Anafaz köprü-fragment ve vagrant kromozom, e**.** Anafaz yanlış kutuplaşma-yapışıklık, **f.** Telofaz yanlış kutuplaşma-köprü, **g.** Telofaz vagrant kromozom -yapışıklık, **h.** Telofaz fragment kromozom, ı**.** Binukleat hücre.



a **b** **c**



d **e** **f**

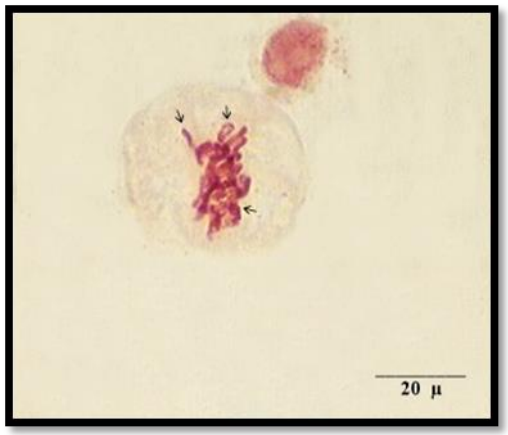


g **h** **ı**

Şekil 4.50: Gemini (10-2-10) 0,50 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması, **c.** Metafaz yapışıklık-fragment ve vagrant kromozom, d**.** Anafaz yanlış kutuplaşma- fragment ve vagrant kromozom -yapışıklık, **e.** Anafaz köprü, **f.** Telofaz köprü, **g.** Telofaz fragment ve vagrant kromozom, h**.** telofaz yanlış kutuplaşma, **ı.** Binukleat hücre.



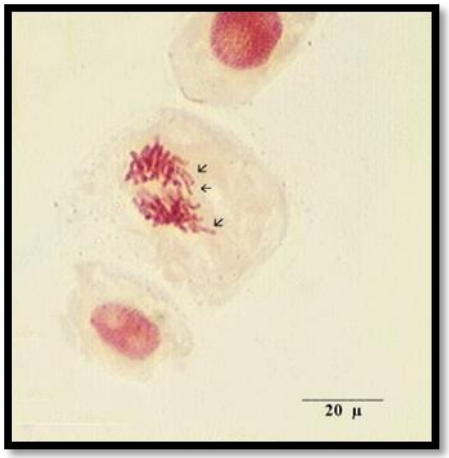
a



b



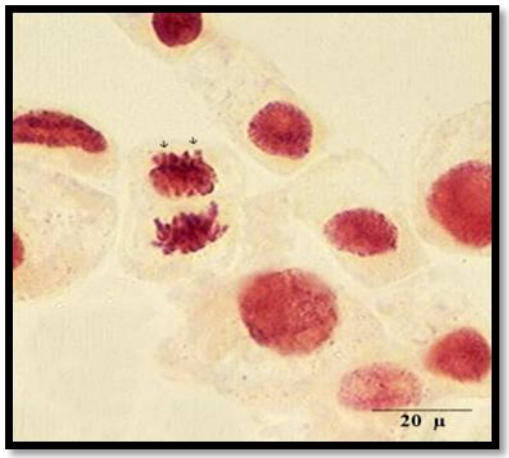
c



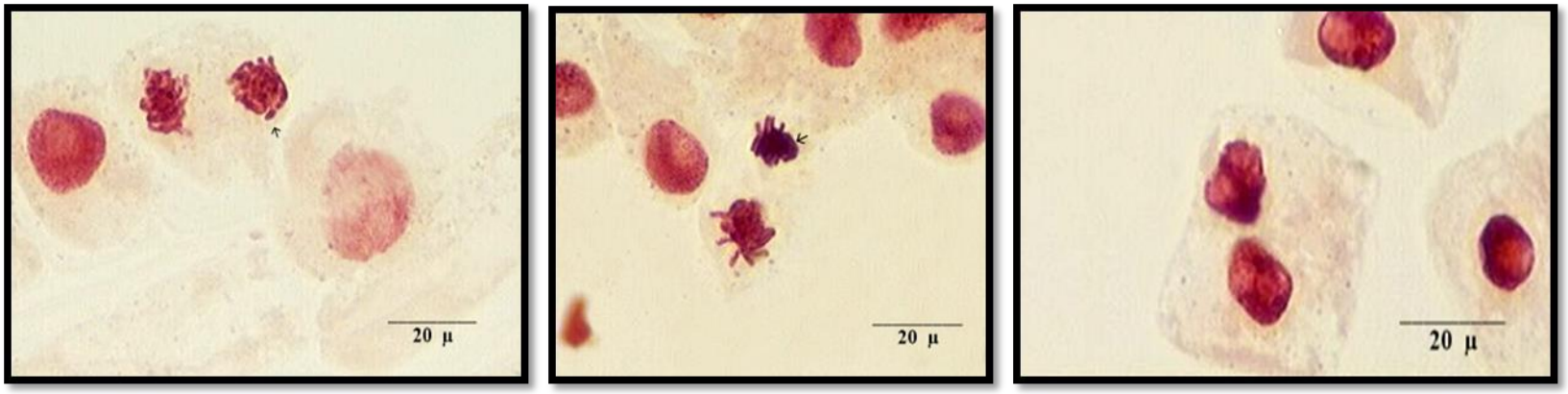
d



e



f



g **h** **ı**

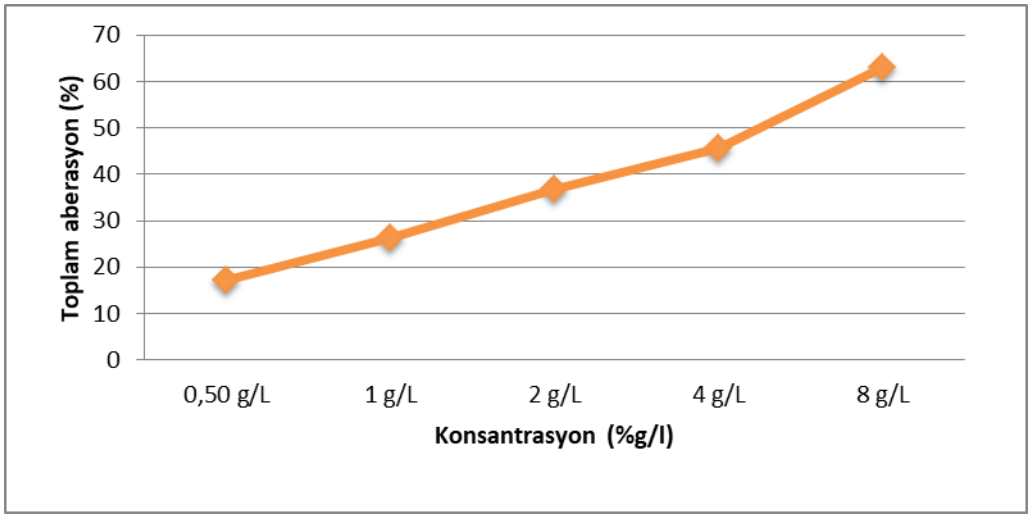
Şekil 4.51: Gemini (10-2-10) 1 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *A. cepa* aberasyonlar a**.** C-mitoz, **b.** Metafaz yapışıklık-fragment ve vagrant kromozom, c**.** Metafaz tabla kayması- vagrant kromozom -yapışıklık, **d.** Anafaz yanlış kutuplaşma-,köprü-vagrant kromozom, e**.**Anafaz yapışıklık-fragment ve vagrant kromozom o, **f.** Telofaz vagrant kromozom, g. Telofazda yanlış kutuplaşma –fragment kromozom, h**.** Telofaz yapışıklık, **ı.** Binukleat hücre.

- ***L. culinaris* :**

Triton X-114'ün *L. culinaris* kök ucu meristem hücrelerinde metafaz-anafaz-telofaz ve diğer kromozom aberasyonlarına ait veriler Tablo 4.25 ve Tablo 4.26'de verilmiştir (Şekil 4.52).

Kromozom aberasyon yüzdesi surfaktant konsantrasyonu arttıkça arttığı belirlenmiştir ve her konsantrasyona ait saptanan aberasyonlar fotoğraflanmıştır (Şekil 4.53-57).

Buna göre yüksek oranda belirlenen kromozom aberasyonları; metafazda , tabla kayması (%48,03), vagrant kromozom (%41,46), C-mitoz (%39,31), yapışıklık (%25,46), ve fragment (% 2,76). Anafazda yanlış kutuplaşma (%56,34), vagrant kromozom (%38,91), köprü (%18,73), yapışıklık (%7,49), fragment kromozom (%7,29). Telofazda yanlış kutuplaşma (%47,63), vagrant kromozom (%38,71), köprü (%8,30), yapışıklık (%2,96), fragment kromozom (%0,93). Buna karşın, binükleat hücre oluşumu Triton-X-114 konsantrasyonlarından 0,50 g/L,1 g/ L 8 g/L (%3,34) mikronükleus ise 0,50 g/L, 1 g/L ve 2 g/L (%3,76) görülmüştür (Tablo 4.27-Tablo 4.28).



Şekil 4.52: Triton X-114 'ün *L.culinaris* aberasyon %'si.

Tablo 4.25: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde görülen kromozom aberasyonu sayıları.

		METAFAZ					**ANAFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Tabla Kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant Kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,50	1001	6	4	30	15	12	3	2	4	15	32	123
1	1007	11	-	39	24	22	9	14	15	20	47	201
2	1003	29	-	47	41	37	17	-	-	36	58	265
4	1009	35	-	58	52	61	29	-	-	51	67	353
8	1006	48	10	69	70	78	37	22	18	75	81	508
Toplam aberasyon		**129**	**14**	**243**	**202**	**210**	**95**	**38**	**37**	**197**	**285**	1450

Tablo 4.26: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde telofaz evresi ve diğer görülen kromozom aberasyonu

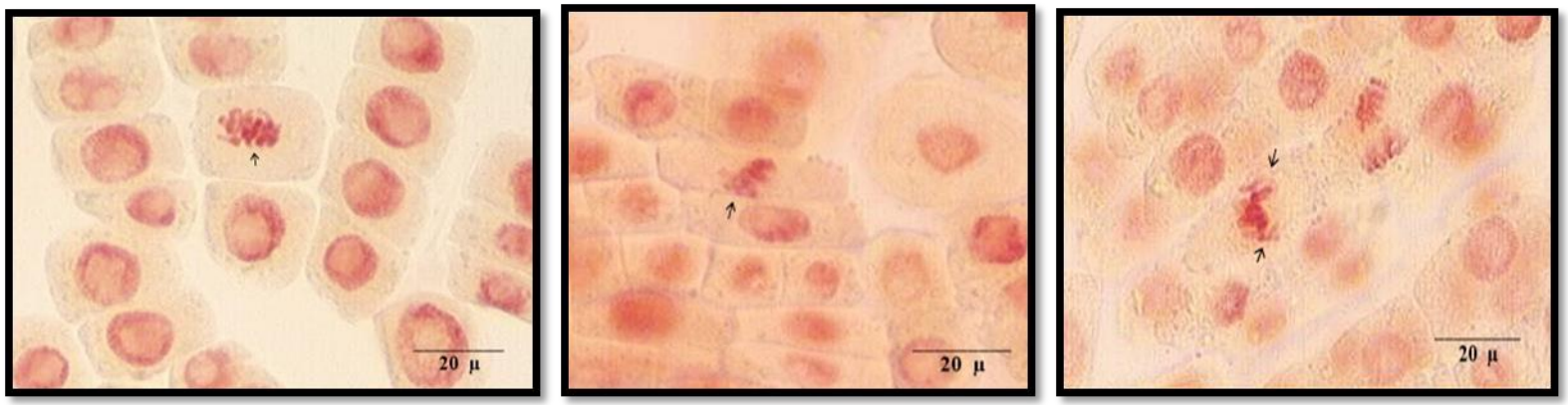
		DİĞER		TELOFAZ					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Binükleat Hücre**	**Mikronukleus**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,50	1001	2	4	4	3	5	12	21	51
1	1007	6	7	-	-	-	21	32	66
2	1003	-	8	11	-	-	37	49	105
4	1009	-	-	-	-	-	52	61	113
8	1006	9	-	27	12	-	74	78	200
Toplam aberasyon		**17**	**19**	**42**	**15**	**5**	**196**	**241**	535

Tablo 4.27: Triton X-114 'ün *L.culinaris* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom yüzde oranları.

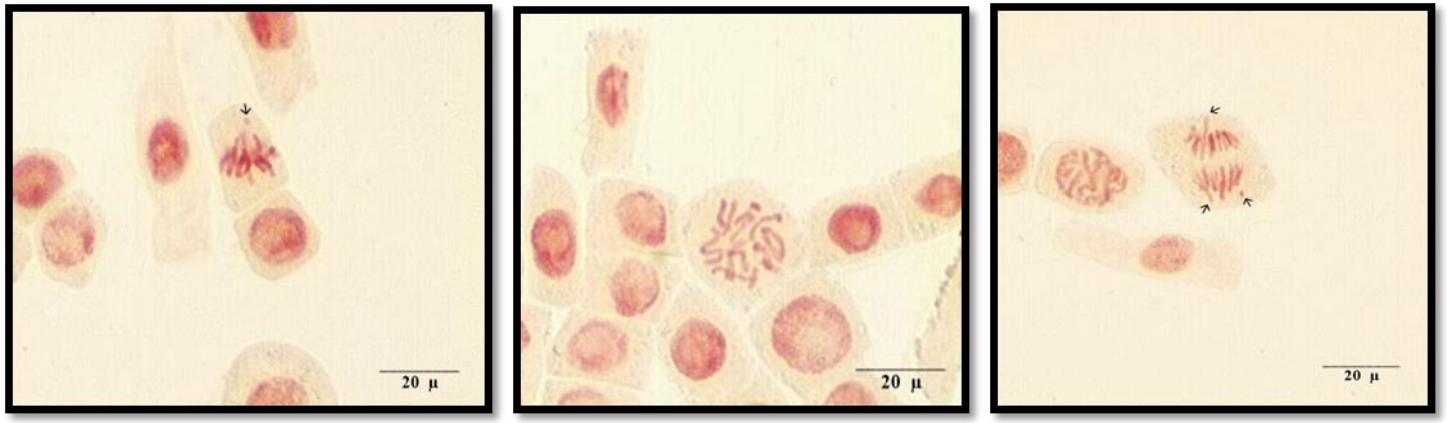
		METAFAZ					**ANAFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Tabla Kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant Kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,50	1001	0,59	0,39	2,99	1,49	1,19	0,29	0,19	0,39	1,49	3,19	12,24
1	1007	1,08	-	3,84	2,36	2,16	0,88	1,38	1,47	1,97	4,63	19,80
2	1003	2,88	-	4,67	4,07	3,67	1,68	-	-	3,57	5,76	26,32
4	1009	3,43	-	5,69	5,10	5,99	2,84	-	-	5,00	6,58	34,65
8	1006	4,74	0,98	6,81	6,91	2,70	3,65	2,17	1,77	7,41	8,00	43,25
Toplam aberasyon		**12,73**	**1,38**	**24,01**	**19,65**	**20,73**	**9,36**	**3,74**	**3,64**	**19,45**	**28,17**	

Tablo4.28: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde telofaz evresi ve diğer kromozom aberasyon yüzde oranları.

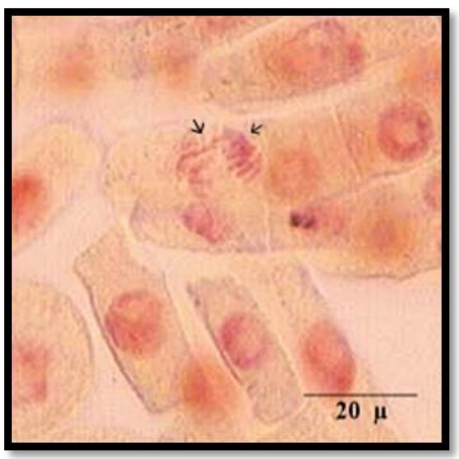
		DİĞER		**TELOFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Binükleat Hücre**	**Mikronukleus**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment Kromozom**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,50	1001	0,19	0,39	0,39	0,29	0,49	1,19	2,09	5,08
1	1007	0,59	0,69	-	-	-	2,07	3,15	6,50
2	1003	-	0,79	1,09	-	-	3,67	4,87	10,43
4	1009	-	-	-	-	-	5,10	5,99	11,10
8	1006	0,88	-	2,66	1,18	-	7,31	7,70	19,76
Toplam aberasyon		**1,67**	**1,88**	**4,15**	**1,48**	**0,49**	**19,35**	**23,81**	



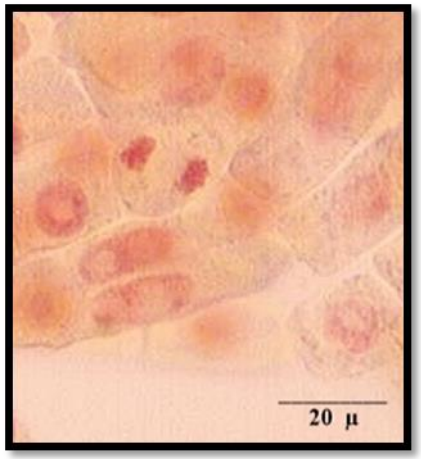
a **b** **c**



d **e** **f**



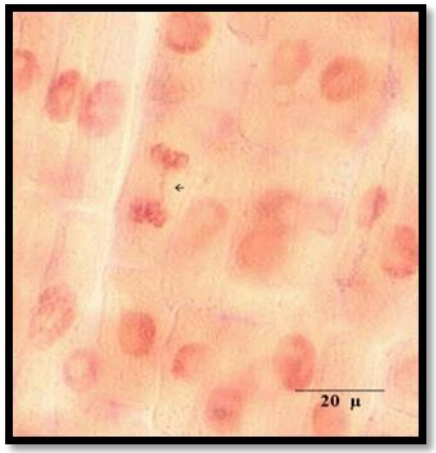
g



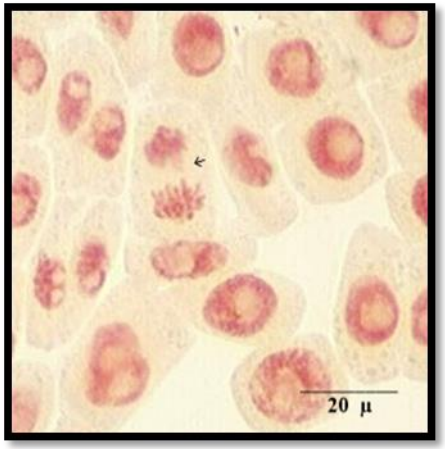
h



ı



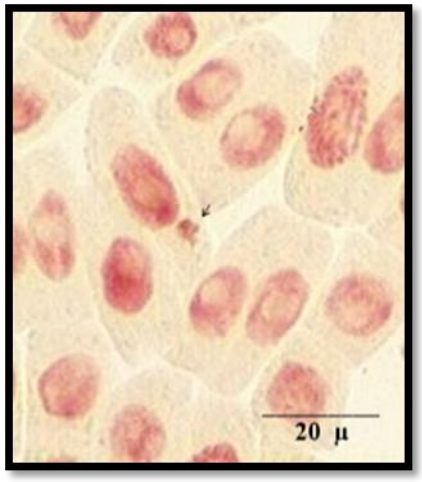
j



k



l

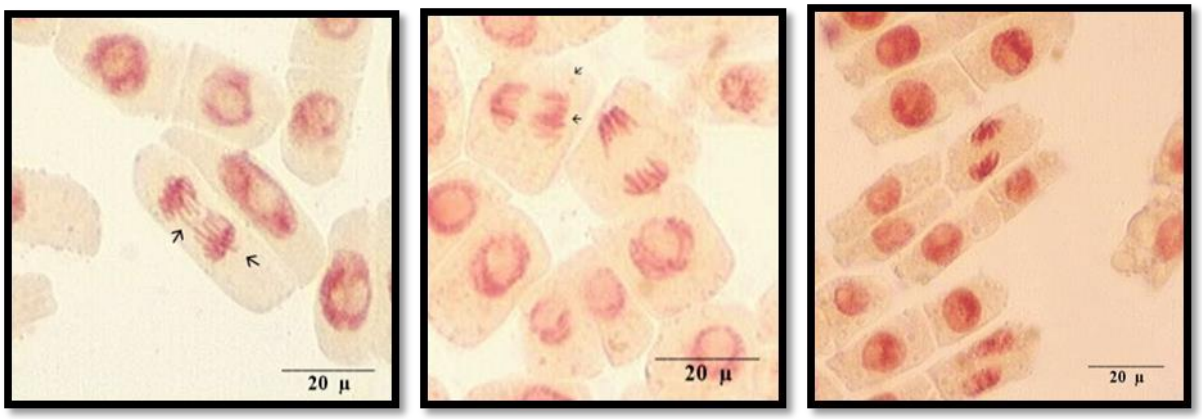


m

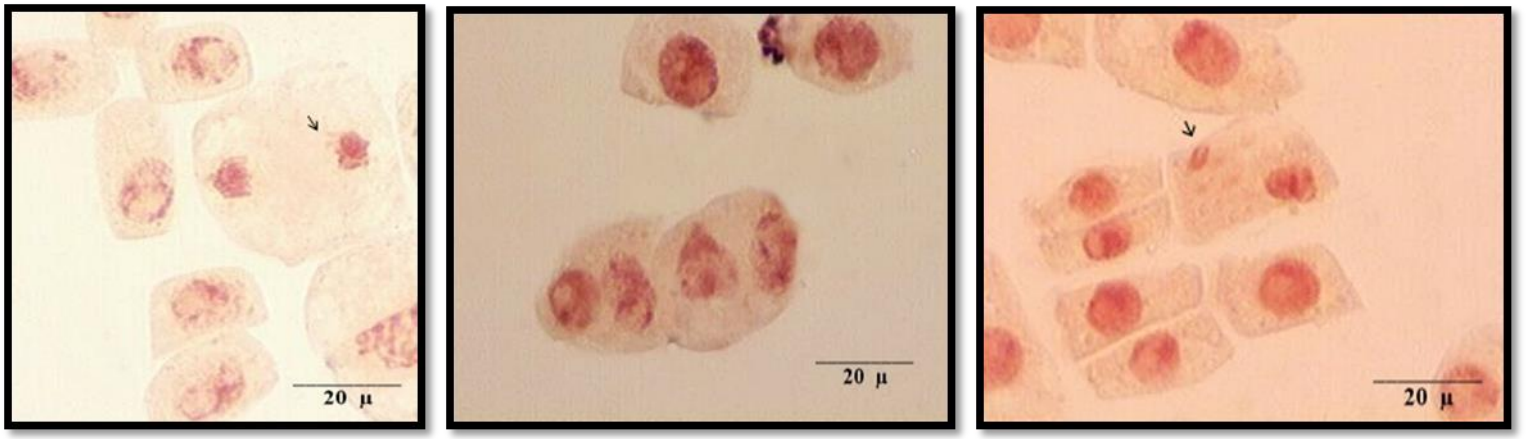
Şekil 4.53: Triton-X-114 0,50 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz tabla kayması, **c.** Metafaz vagrant kromozom, d**.** Metafaz fragment kromozom, e**.** C-mitoz, **f.** Anafaz yanlış kutuplaşma-fragment ve vagrant kromozom, g. Anafaz yapışıklık- köprü, h**.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **ı.** Telofaz yapışıklık-fragment kromozom, j**.** Telofaz köprü, k**.** Telofaz vagrant kromozom, l. Binükleat hücre, **m.** Mikronukleus.



a **b** **c**

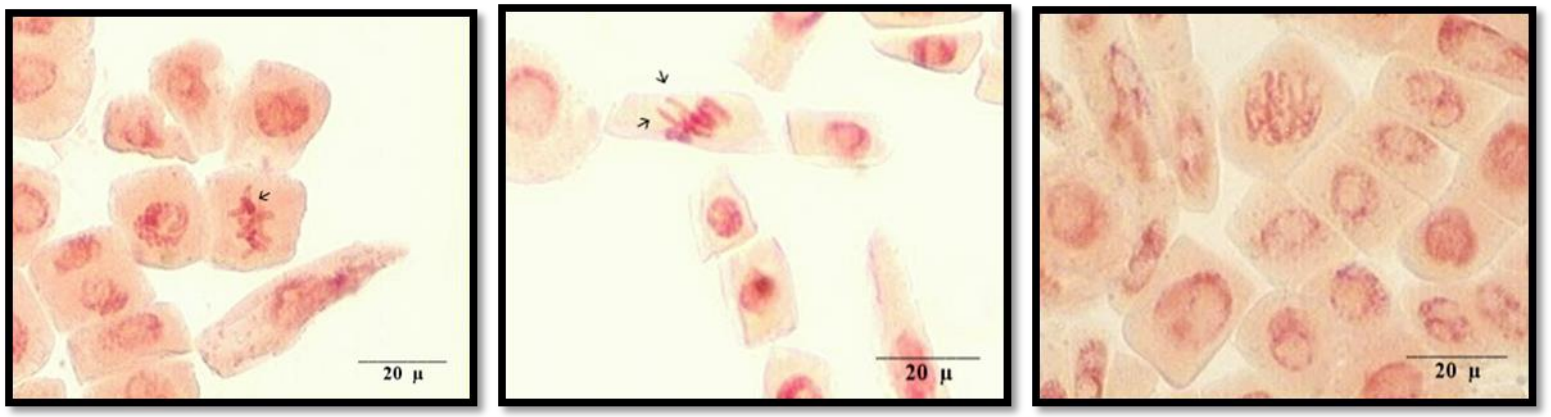


d **e** **f**

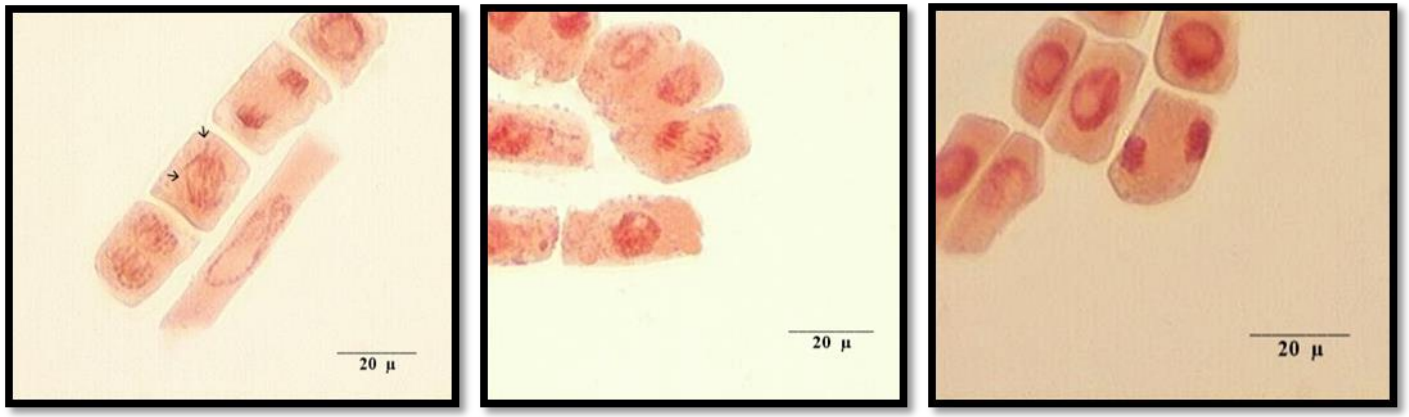


g **h** **ı**

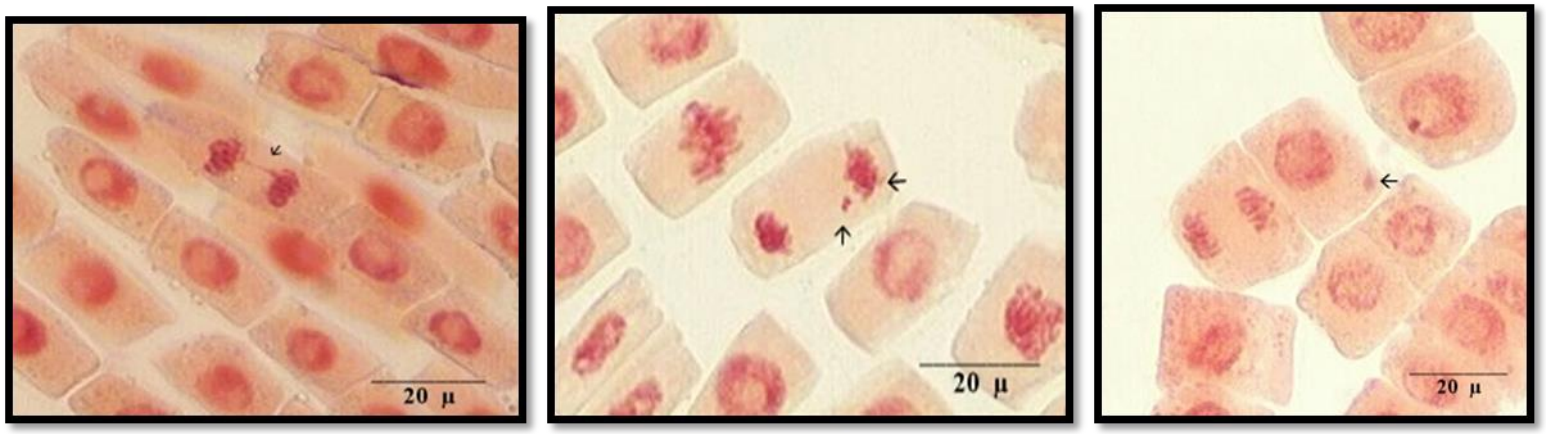
Şekil 4.54: Triton-X-114 1 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz tabla kayması-vagrant kromozom, telofaz vagrant kromozom, c**.** C-mitoz, **d.** Anafaz köprü -vagrant kromozom, e**.** Anafaz yanlış kuruplaşma-fragment kromzom -yapışıklık, f**.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofaz vagrant kromozom, **h.** Binukleat hücre**, ı.** Mikronukleus.



a **b** **c**

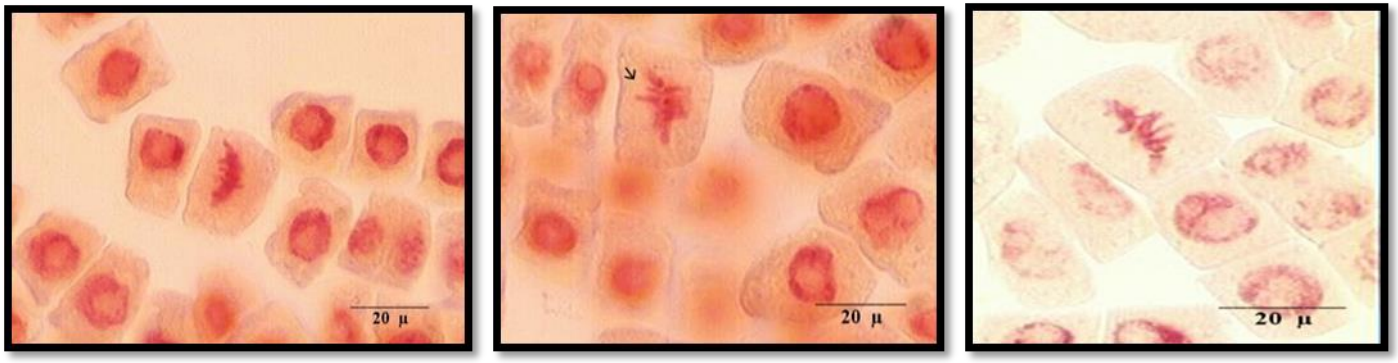


d **e** **f**

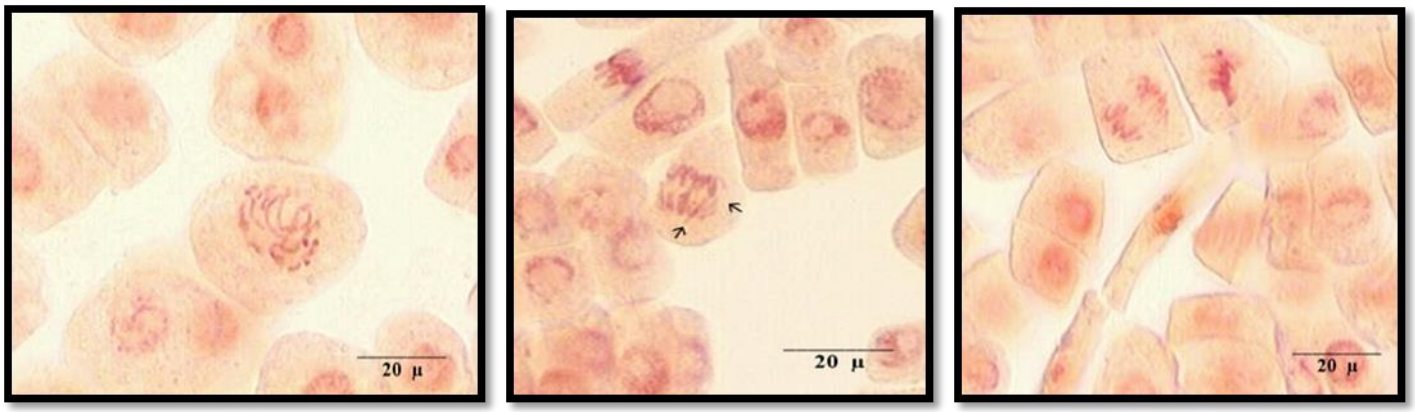


g **h** **ı**

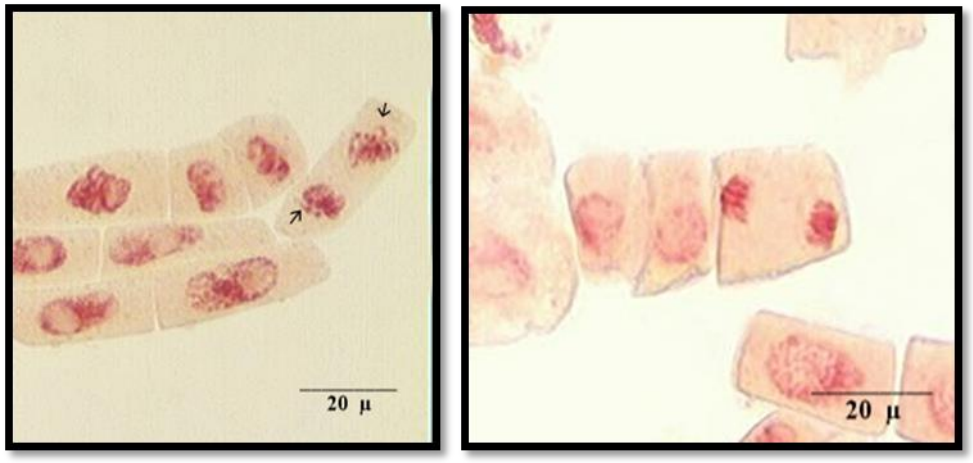
Şekil 4.55: Triton-X-114 2 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz tabla kayması-vagrant kromzom, c**.** C-mitoz, **d.** Anafaz köprü -vagrant kromozom, e**.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **f.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofazda köprü , **h.** Telofaz fragment ve vagrant kromozom , **ı.** Mikronukleus.



a **b** **c**

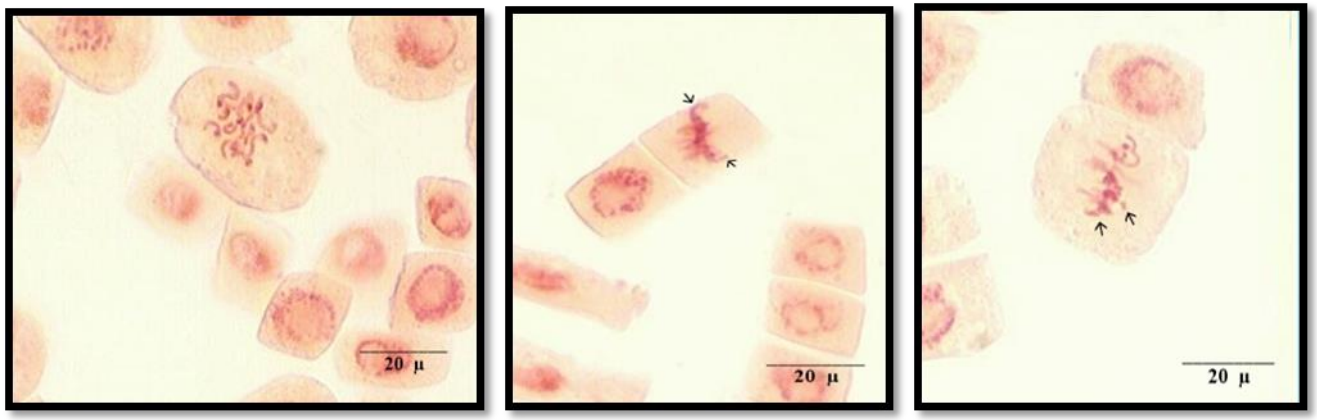


d **e** **f**

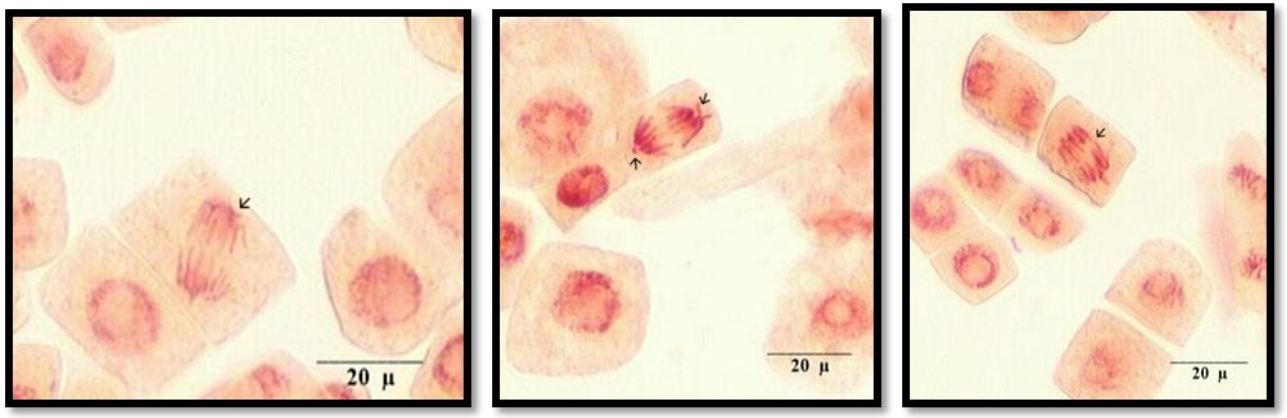


g **h**

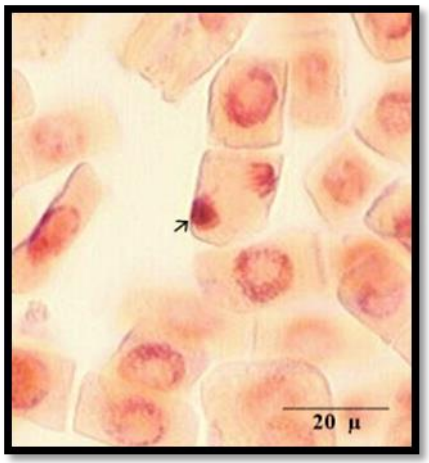
Şekil 4.56: Triton-X-114 4 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** Metafaz yapışıklık, **b.** Metafaz vagrant kromzom , **c.**Metafaz tabla kayması, **d.** C-mitoz, **e.** Anafaz köprü o-vagrant kromzom , **f.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofaz vagrant kromzom , **h.** Telofaz yanlış kutuplaşma.



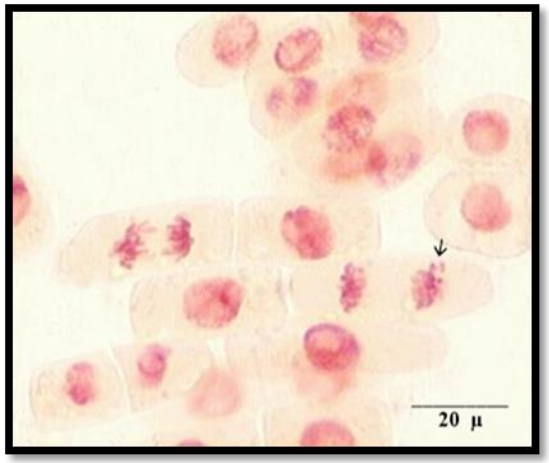
a **b** **c**



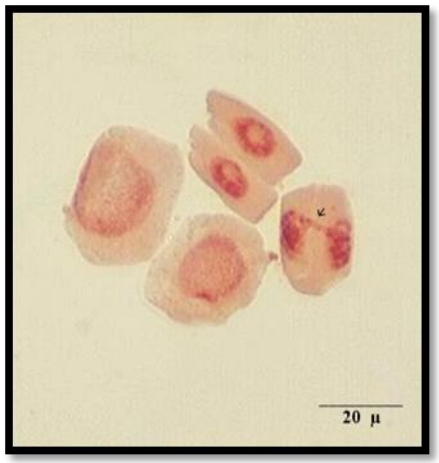
d **e** **f**



g



h



ı



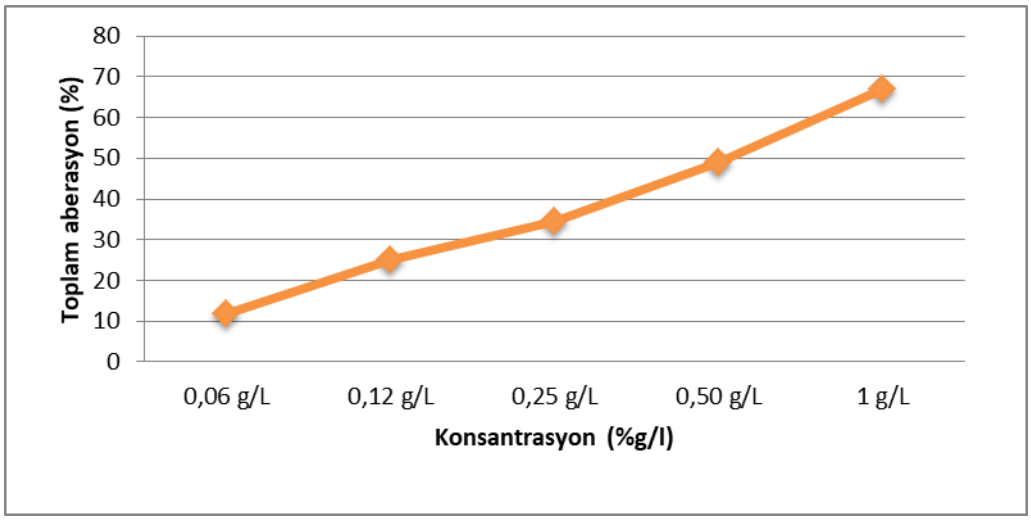
j

Şekil 4.57: Triton-X-114 8 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması- vagrant kromozom, **c.** Metafaz yapışıklık-fragment kromozom, **d.** Anafaz yapışıklık-yanlış kutuplaşma, **e.** Anafaz fragment ve vagrant kromozom, **f.** Anafaz köprü, g. Telofaz yanlış kutuplaşma-yapışıklık, **h.** Telofaz vagrant kromzom, **ı.** Telofaz köprü, **j.** Binukleat hücre.

Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* kök ucu meristem hücrelerinde metafaz-anafaz-telofaz ve diğer kromozom aberasyonlarına ait veriler Tablo 4.29 ve Tablo 4.30'de verilmiştir (Şekil 4.58).

Kromozom aberasyon yüzdesi surfaktant konsantrasyonu arttıkça arttığı belirlenmiştir ve her konsantrasyona ait saptanan aberasyonlar fotoğraflanmıştır (Şekil 4.59-63).

Buna göre yüksek oranda belirlenen kromozom aberasyonları; metafazda C-mitoz (%38,28), tabla kayması (%37,47), vagrant kromozom (%37,28), yapışıklık (%26,97), ve fragment (% 14,71). Anafazda vagrant kromozom (%42,65), yanlış kutuplaşma (%32,30), köprü (%24,59), fragment kromozom (%11,70), yapışıklık (%6,14). Telofazda vagrant kromozom (%40,26), yanlış kutuplaşma (%34,27), fragment kromozom (%8,75), köprü (%4,57). Buna karşın, binükleat hücre oluşumu Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarından 0,06 g/L,0,25 g/ L, 0,50 g/L ve 1 g/L (%9,29) mikronükleus ise 0,25 g/L, 0,50 g/L ve 01 g/L (%7,53) görülmüştür (Tablo 4.31-Tablo 4.32).



Şekil 4.58: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* aberasyon %'si.

Tablo 4.29: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde görülen kromozom aberasyonu sayıları.

		METAFAZ					**ANAFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Tabla Kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant Kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,06	1007	9	5	21	14	9	7	-	-	12	-	91
0,12	1000	15	17	27	22	19	11	14	21	25	32	203
0,25	1008	22	-	39	39	35	28	17	-	41	48	269
0,50	1002	39	22	43	50	55	36	-	35	60	-	340
1	1004	51	30	59	68	70	42	-	-	77	83	480
Toplam aberasyon		**136**	**74**	**189**	**193**	**188**	**124**	**31**	**56**	**215**	**177**	1444

Tablo 4.30: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde telofaz evresi ve diğer görülen kromozom aberasyonu sayıları.

		DİĞER		**TELOFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Binükleat Hücre**	**Mikronukleus**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,06	1007	5	-	3	-	4	19	10	41
0,12	1000	-	-	8	-	12	27	-	47
0,25	1008	8	6	-	-	-	39	30	83
0,50	1002	14	11	-	-	28	47	52	152
1	1004	20	21	12	-	-	71	70	194
Toplam aberasyon		**47**	**38**	**23**	**-**	**44**	**203**	**173**	517

Tablo 4.31: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom aberasyon yüzde oranları.

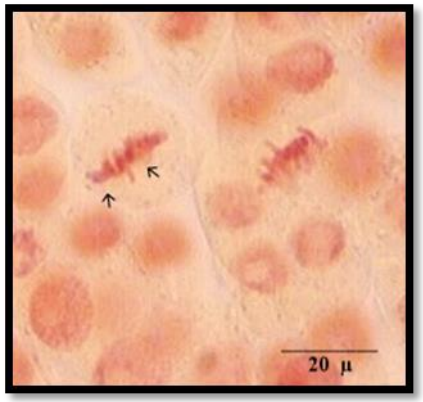
		METAFAZ					**ANAFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Tabla Kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant Kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,06	1007	0,88	0,49	1,03	1,38	0,88	0,69	-	-	1,18	-	7,58
0,12	1000	1,50	1,70	2,70	2,20	1,90	1,10	1,40	2,10	2,50	3,20	20,30
0,25	1008	2,16	-	3,83	3,83	3,44	2,75	1,67	-	4,03	4,72	26,45
0,50	1002	3,88	2,19	4,28	4,98	5,47	3,58	-	3,48	5,97	-	33,85
1	1004	5,05	2,97	5,85	6,74	6,94	4,16	-	-	7,63	8,23	47,59
Toplam aberasyon		**13,48**	**7,35**	**18,73**	**19,14**	**18,64**	**12,29**	**3,07**	**5,58**	**21,32**	**16,15**	

Tablo 4.32: Gemini (10-2-10)'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinde telofaz evresi ve diğer kromozom aberasyon yüzde oranları.

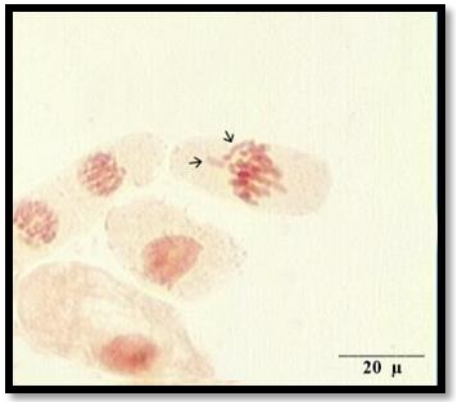
		DİĞER		**TELOFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen Hücre**	**Binükleat Hücre**	**Mikronukleus**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant Kromozom**	**Yanlış Kutuplaşma**	**Toplam**
0,06	1007	0,49	-	0,29	-	0,36	1,87	2,07	4,04
0,12	1000	-	-	0,80	-	1,20	2,70	-	4,70
0,25	1008	0,78	0,59	-	-	-	3,83	2,95	8,16
0,50	1002	1,39	1,09	-	-	2,78	4,68	5,17	15,13
1	1004	1,98	4,08	1,19	-	-	7,04	6,94	19,24
Toplam aberasyon		**4,64**	**2,26**	**2,28**	**-**	**4,37**	**20,13**	**17,13**	



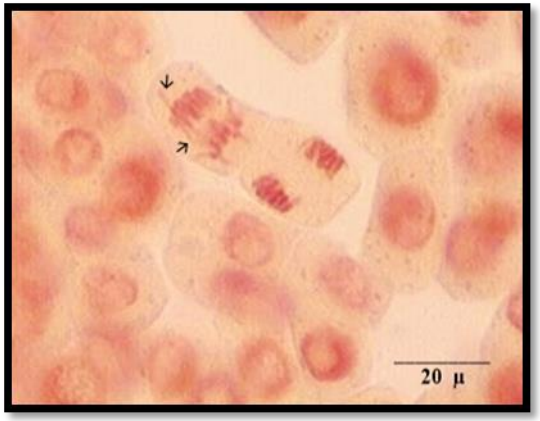
a



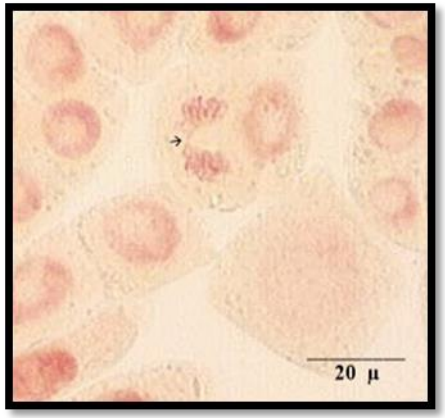
b



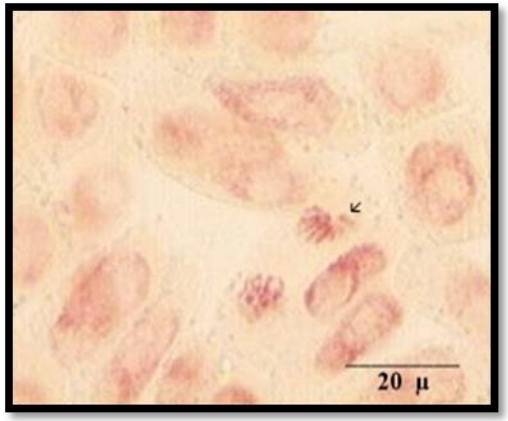
c



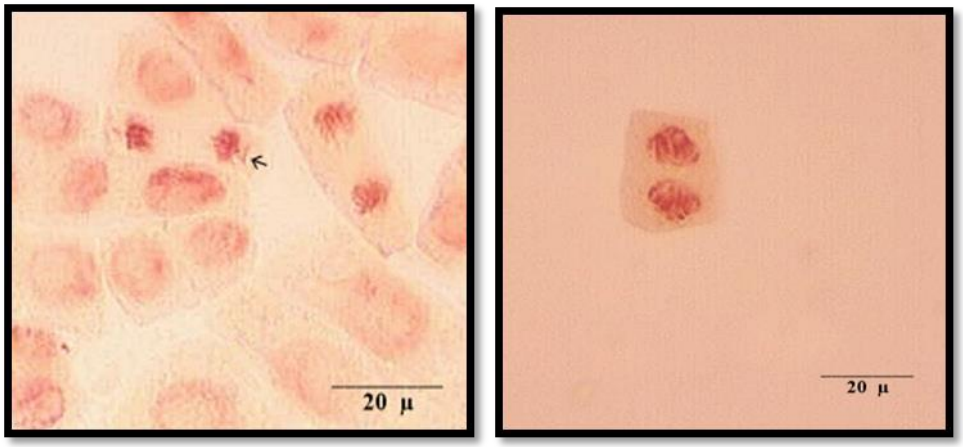
d



e

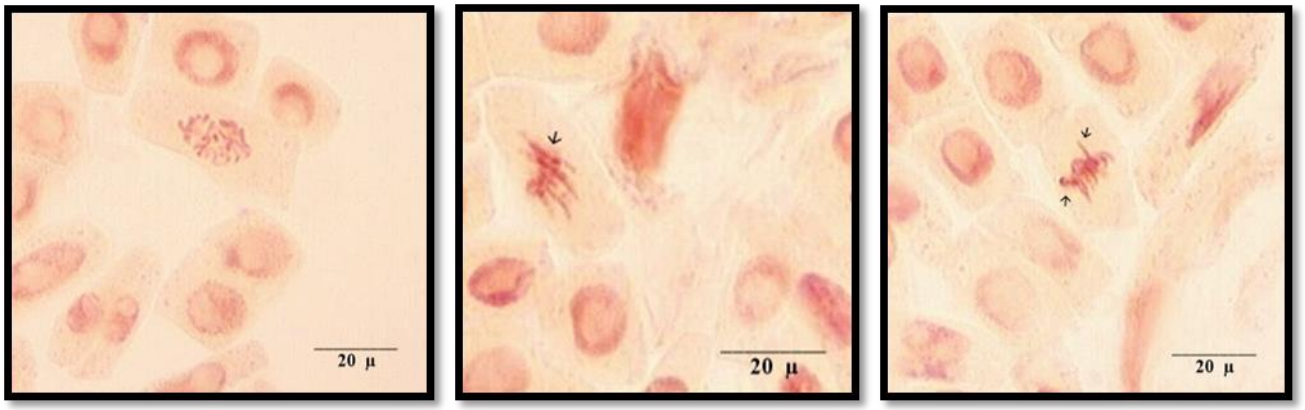


f

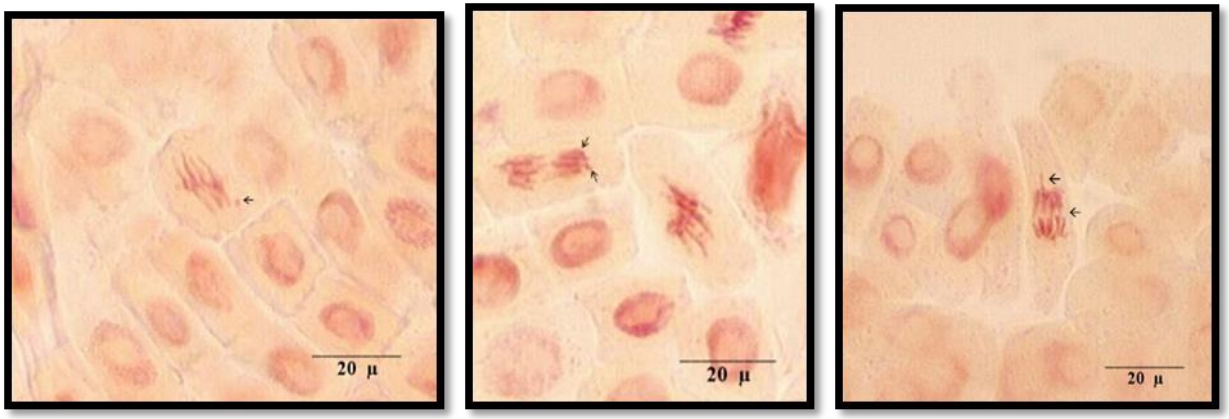


g **h**

Şekil 4. 59: Gemini (10-2-10) 0,06 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.**Metafaz tabla kayması-yapışıklık, **c.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom o, **d.** Anafaz köprü-vagrant kromozom - telofaz yanlış kutuplaşma, **e.** Telofaz köprü, **f.** Telofaz fragment kromzom, g. Telofaz vagrant kromzom, h**.** Binukleat hücre.



a **b** **c**

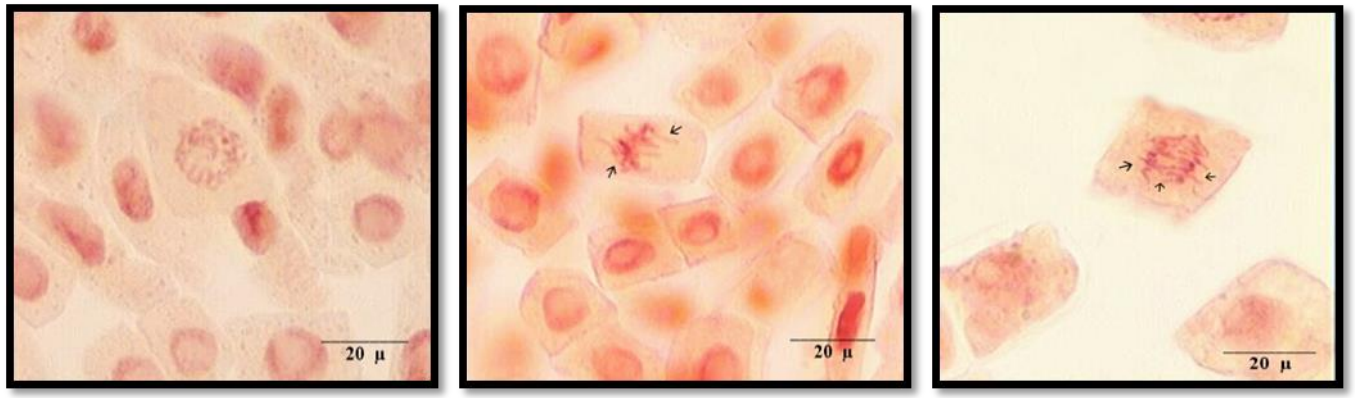


d **e** **f**

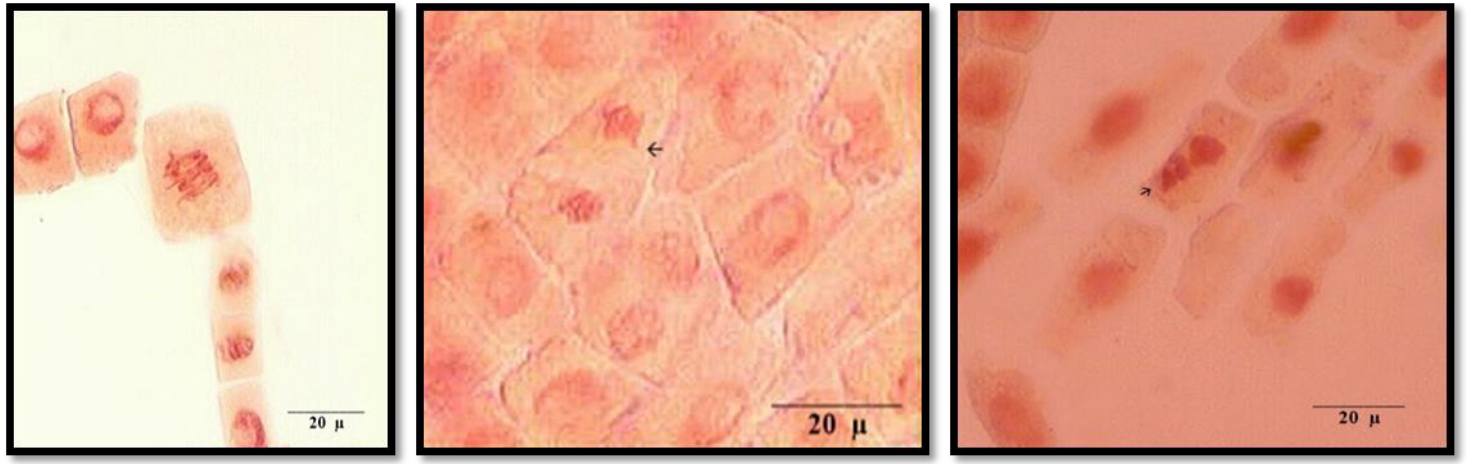


g **h** **ı**

Şekil 4.60: Gemini (10-2-10) 0,12 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması- yapışıklık, **c.** Metafaz vagrant kromozom, **d.** Metafaz fragment kromozom, **e.** Anafaz yanlış kutuplaşma-yapışıklık-fragment kromzom, f**.** Anafaz köprü- vagrant kromzom, **g.** Telofaz fragment kromozom ol, **h.** Telofaz köprü, **ı.** Telofaz vagrant kromozom.



a **b** **c**

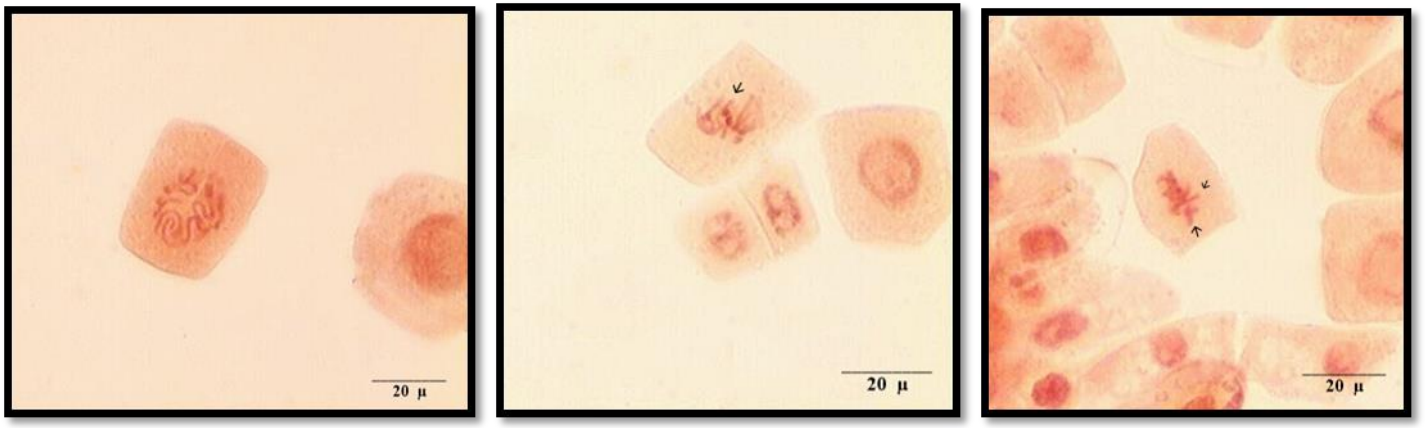


d **e** **f**

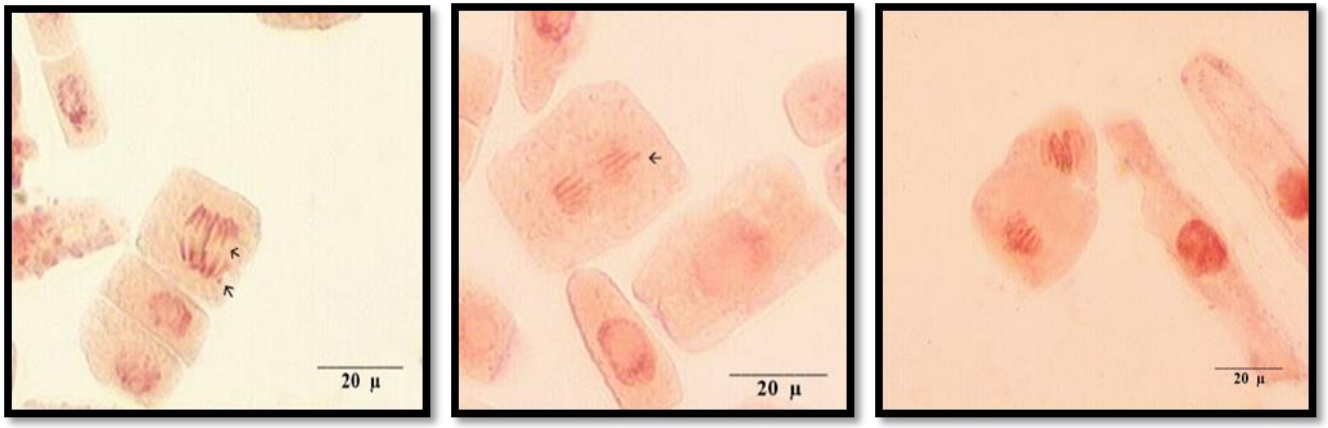


g

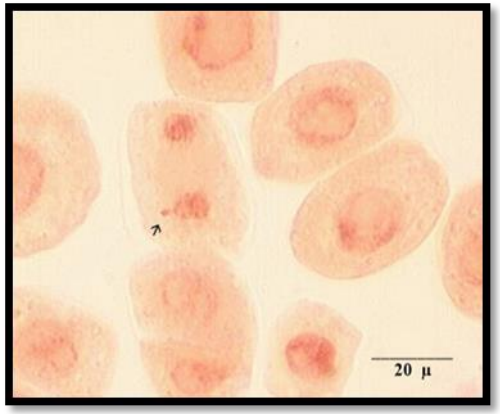
Şekil 4.61: Gemini (10-2-10) 0,25 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L.culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-yapışıklık-vagrant kromozom, c**.** Anafaz yapışıklık- köprü- vagrant kromozom, d**.** Anafaz yanlış kutuplaşma, **e.** Telofaz yanlış kutuplaşma-vagrant kromozom , **f.** Mikronukleus , **h.** Binukleat hücre.



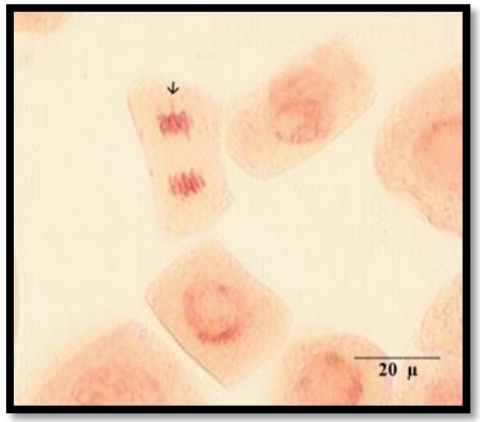
a **b** **c**



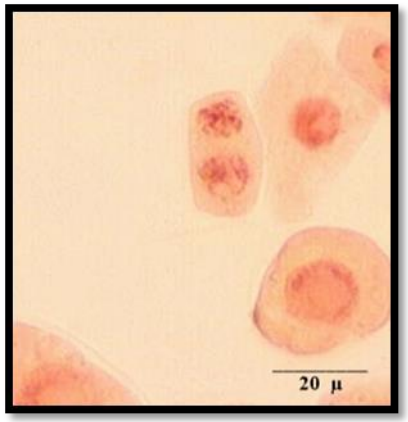
d **e** **f**



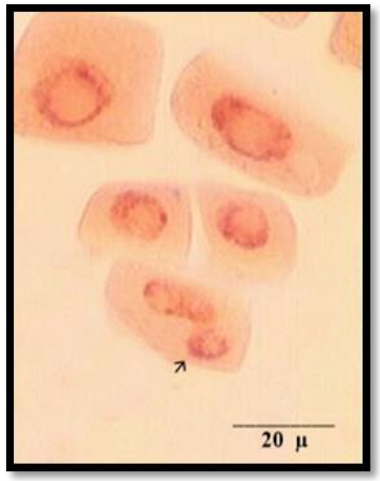
g



h

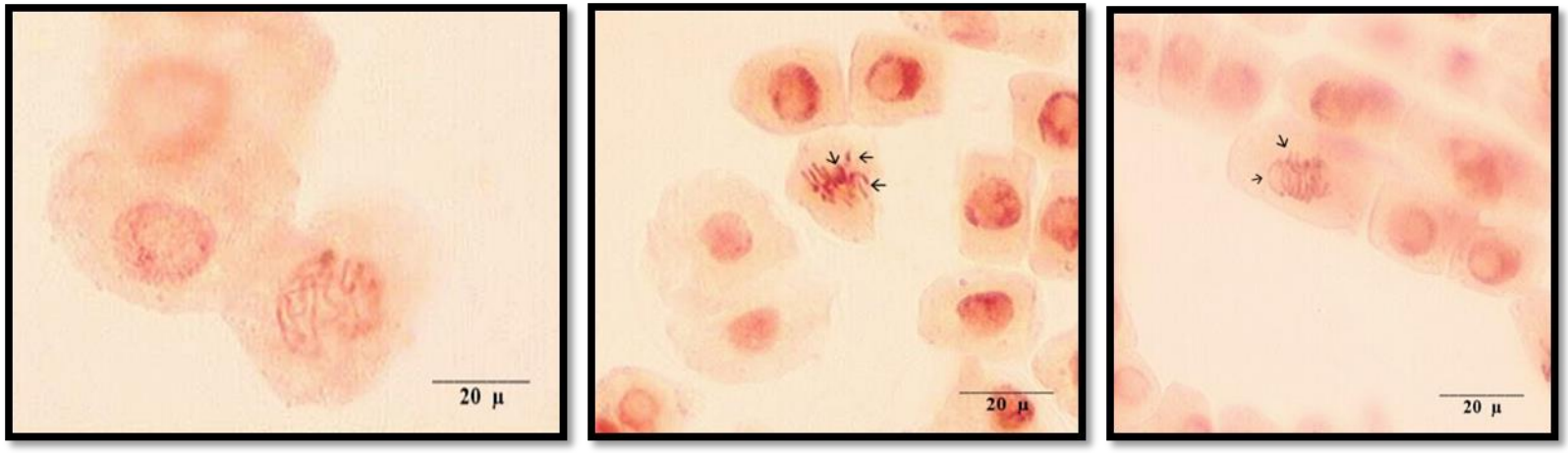


ı

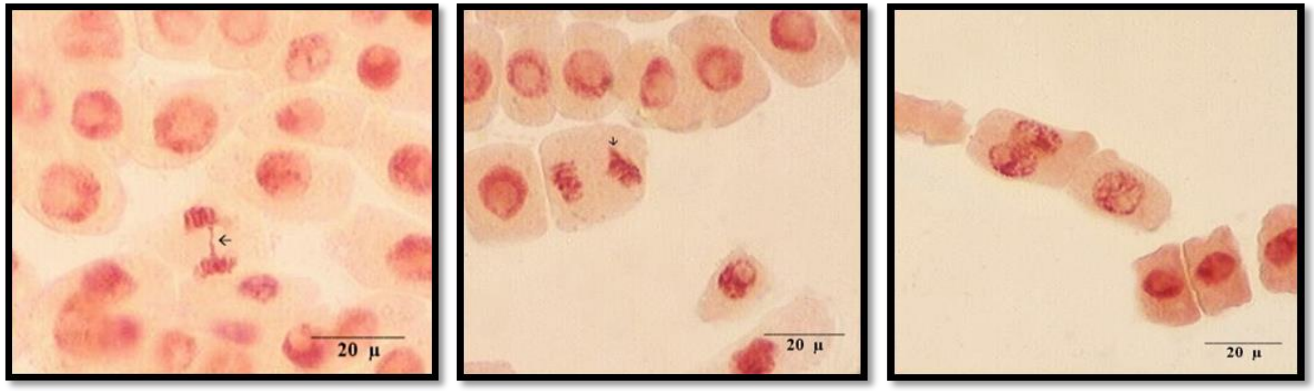


j

Şekil 4.62 : Gemini (10-2-10) 0,50 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L.culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-yapışıklık, **c.** Metafaz fragment ve vagrant kromozom, d**.** Anafaz köprü- fragment kromozom, **e.** Anafaz vagrant kromozom, **f.** Telofaz yanlış kutuplaşma, **g.** Telofaz fragment kromozom, **h.** Telofaz vagrant kromozom, ı**.** Binukleat hücre, **j.** Mikronukleus.



a **b** **c**



d **e** **f**

Şekil 4.63 : Gemini (10-2-10) 1 g/L konsantrasyonu ile 48 saat muamele edilen *L. culinaris* aberasyonlar **a.** C-mitoz, **b.** Metafaz tabla kayması-fragment ve vagrant kromozom-yapışıklık, **c.** Anafaz yanlış kutuplaşma- köprü-vagrant kromozom, d**.** Telofaz köprü, **e.** Telofaz vagrant kromozom - yanlış kutuplaşma, **f.** Binukleat hücre.

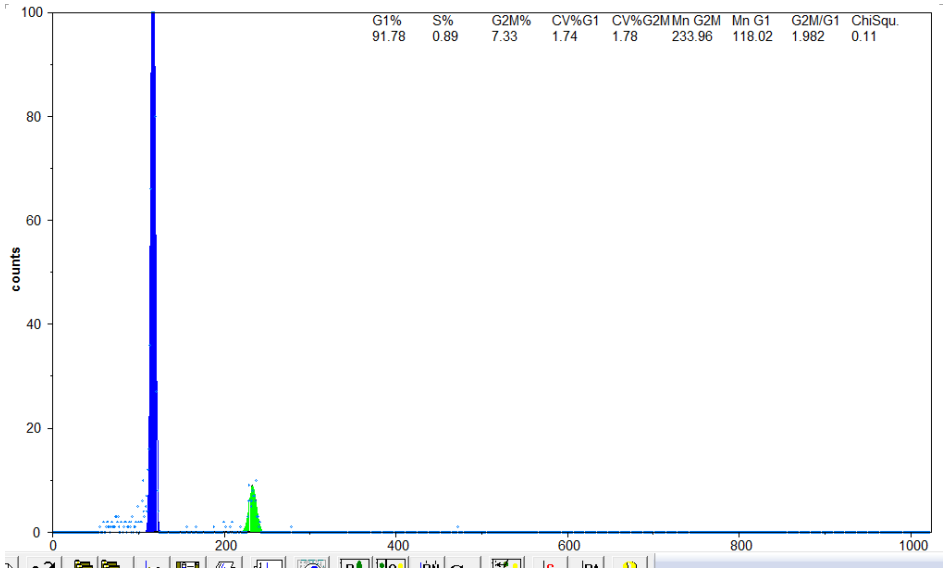
4.1.5. Flow Sitometri (Hücre siklusu)Analiz Sonuçları:

- ***A. cepa* :**

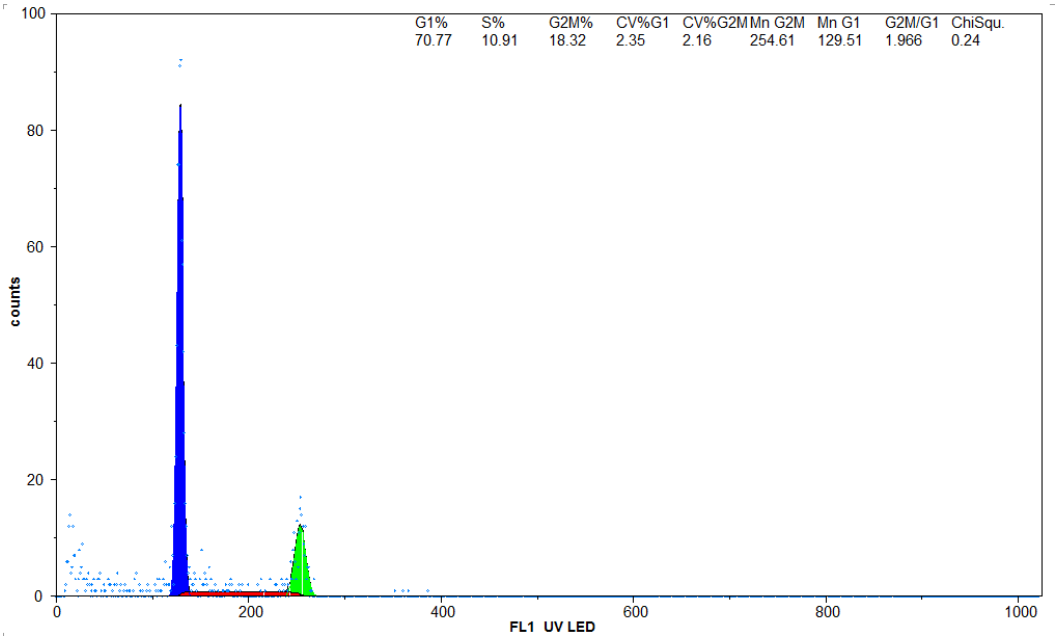
Triton X-114 'ün kök uzunluğunun (EC_{50}) değeri 0,50 g/L olarak tanımlanmıştır. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($2\times EC_{50}$)= 1 g/L olan Triton X-114 konsantrasyon Flow Sitometri analizleri için esas alınmıştır. Kontrol, 1 g/L, 0,50 g/L, Triton X-114 konsantrasyonlarına 48 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Analiz için ön çalışması yapılan *A. cepa* kök ucu örneklerin analizleri PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak tamamlanmıştır. Yapılan analizler sonucunda artan Triton-X-114 konsantrasyonlarına bağlı olarak G_1 fazlarında azalma, S ve G_2 fazlarında ise artma saptanmıştır. Flow sitometri analizlerinin istatistiki verileri şekil 4.64, 4.65 ve 4.66' de verilmiştir.

Gemini (10-2-10)' un kök uzunluğunun (EC_{50}) değeri 0,25 g/L olarak tanımlanmıştır. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($2\times EC_{50}$)= 0,50 g/L olan Gemini (10-2-10) konsantrasyon Flow Sitometri analizleri için esas alınmıştır. Kontrol, 0,50 g/L, 0,25 g/L, Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarına 48 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Analiz için ön çalışması yapılan *A. cepa* kök ucu örneklerin analizleri PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak tamamlanmıştır. Yapılan analizler sonucunda artan Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarına bağlı olarak G_1 fazlarında azalma, S ve G_2 fazlarında ise artma saptanmıştır. Flow sitometri analizlerinin istatistiki verileri şekil 4.67 ve 4.68' de verilmiştir.

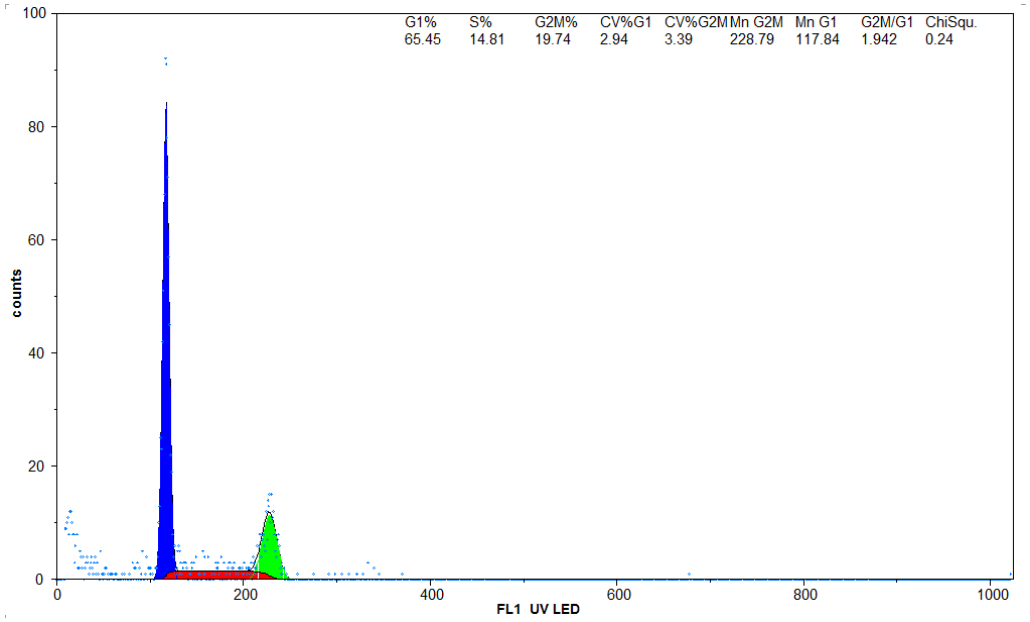
Gemini (10-2-10) Triton X-114'e göre G_1 faz yüzdesi daha yüksek, S ve G_2 faz yüzdeleri ise daha düşüktür. Triton X-114 ile Gemini (10-2-10)' un Flow sitometri analizlerinin karşılaştırmalı istatistiki verileri Şekil 4.69'de verilmiştir.



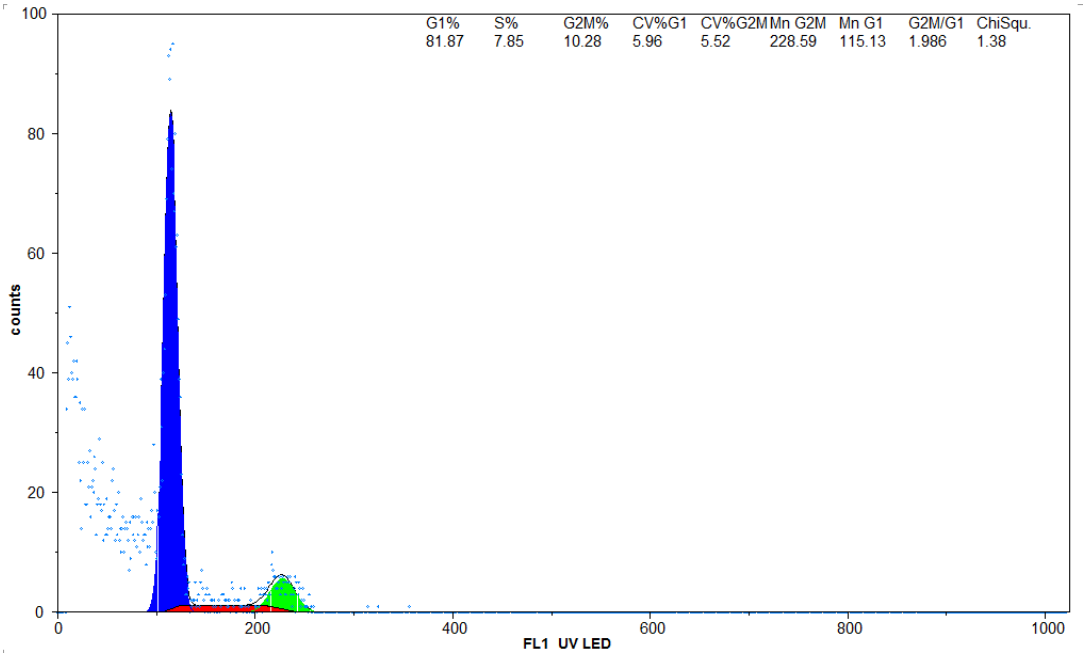
Şekil 4.64: *A. cepa* kök ucu hücrelerinin kontrol konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



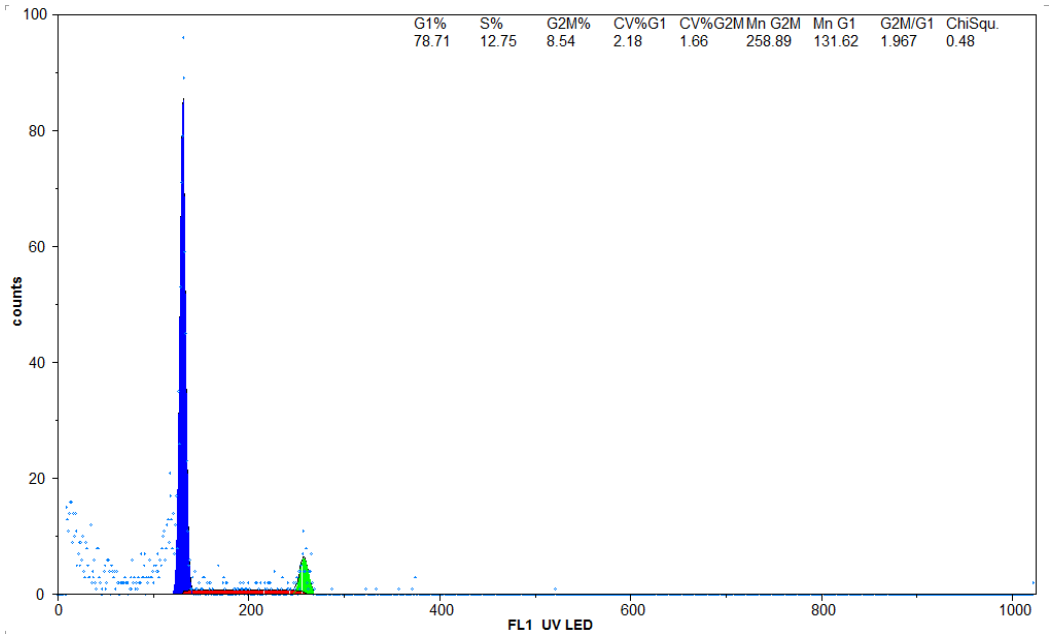
Şekil 4.65: Triton X-114 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin EC_{50} değeri 0,50g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



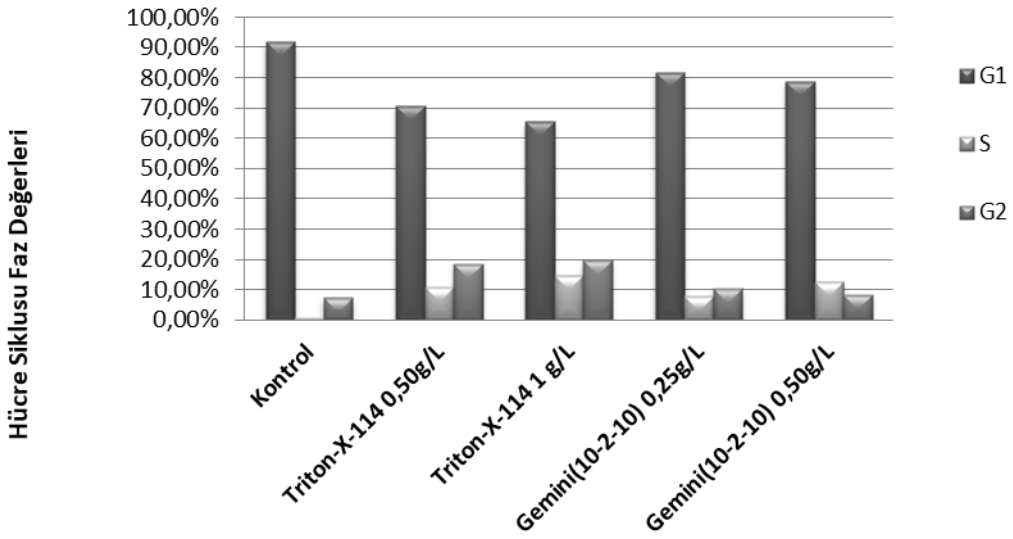
Şekil 4.66: Triton X-114 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinin (2x EC_{50}) değeri 1 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



Şekil 4.67: Gemini (10-2-10) 'ün *A. cepa* kök ucu hücrelerinin EC_{50} değeri 0,25g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



Şekil 4.68: Gemini (10-2-10) 'ün *A.cepa* kök ucu hücrelerinin (2x EC_{50}) değeri 0,50 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



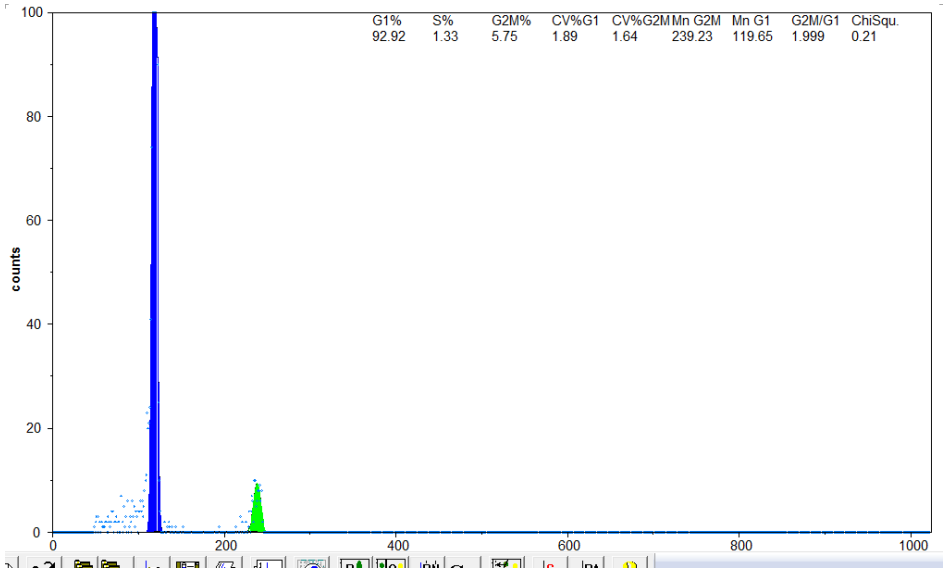
Şekil 4.69: *A. cepa* kök ucu hücrelerinin Flow sitometri analizlerinin karşılaştırmalı istatistiki verileri (hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdeler).

- ***L. culinaris* :**

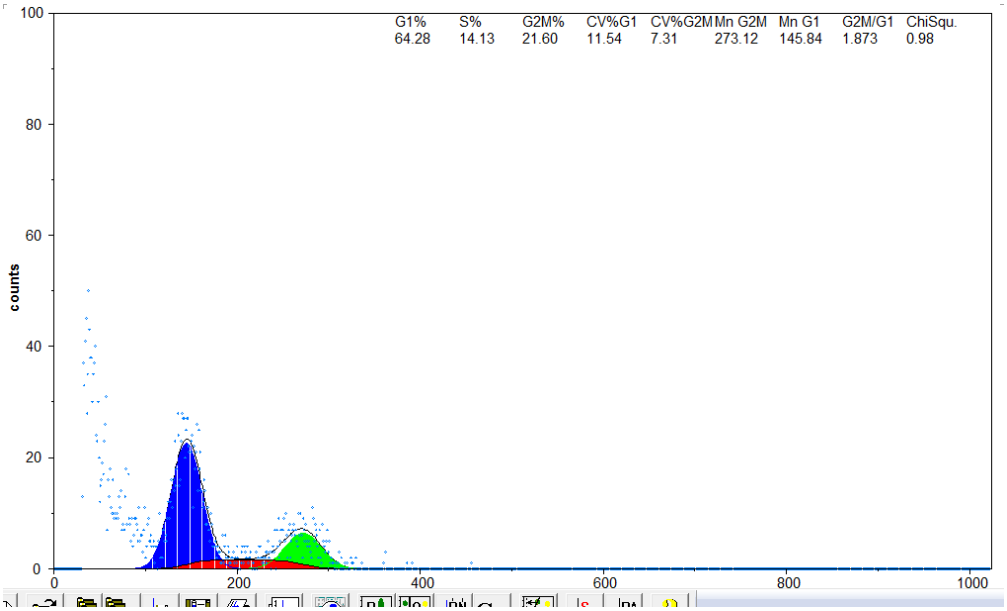
Triton X-114 ‘ün kök uzunluğunun (EC_{50}) değeri 2 g/L olarak tanımlanmıştır. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($2\times EC_{50}$)= 4 g/L olan Triton X-114 konsantrasyon Flow Sitometri analizleri için esas alınmıştır. *L. culinaris*, kontrol, 4 g/L, 2 g/L, Triton X-114 konsantrasyonlarına 48 saat süreyle çimlendirilmiştir. Analiz için ön çalışması yapılan *L. culinaris* kök ucu örneklerin analizleri PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak tamamlanmıştır. Yapılan analizler sonucunda artan Triton-X-114 konsantrasyonlarına bağlı olarak G_1 fazlarında azalma, S ve G_2 fazlarında ise artma saptanmıştır. Flow sitometri analizlerinin istatistiki verileri şekil 4.70, 4.71 ve 4.72’ de verilmiştir.

Gemini (10-2-10)’ un kök uzunluğunun (EC_{50}) değeri 0,25 g/L olarak tanımlanmıştır. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($2\times EC_{50}$)= 0,50 g/L olan Gemini (10-2-10) konsantrasyon Flow Sitometri analizleri için esas alınmıştır. *L. culinaris*, kontrol, 0,25 g/L, 0,50 g/L, Triton X-114 konsantrasyonlarına 48 saat süreyle çimlendirilmiştir. Analiz için ön çalışması yapılan *L. culinaris* kök ucu örneklerin analizleri PARTEC marka Flow sitometri cihazı kullanılarak tamamlanmıştır. Yapılan analizler sonucunda artan Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarına bağlı olarak G_1 fazlarında azalma, S ve G_2 fazlarında ise artma saptanmıştır. Flow sitometri analizlerinin istatistiki verileri şekil 4.73 ve 4.74’ de verilmiştir.

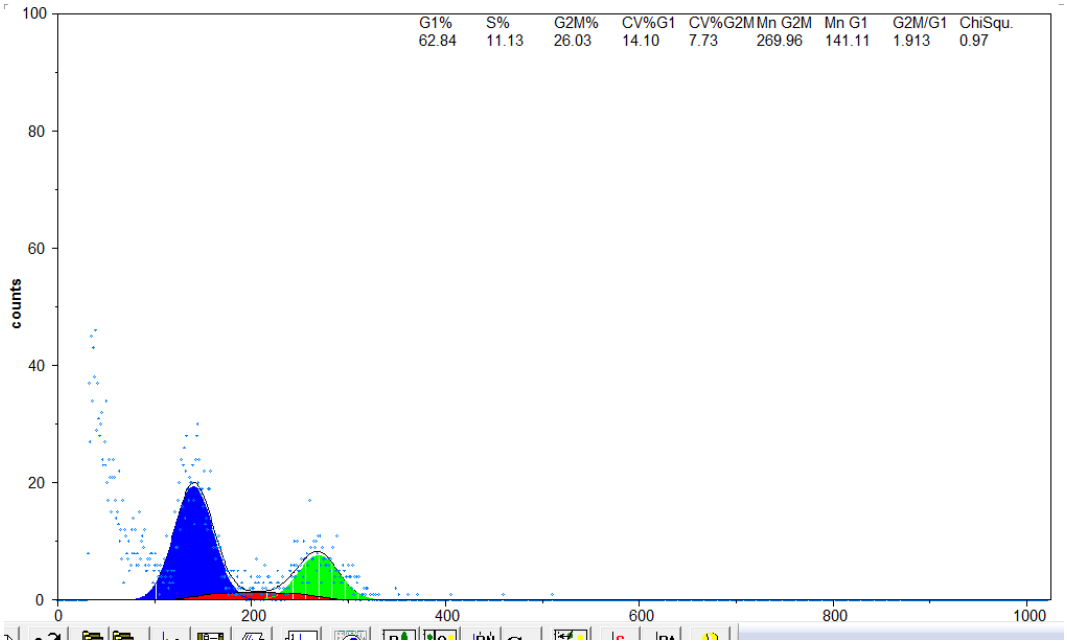
Triton X-114 Gemini (10-2-10)’a göre G_1 faz yüzdesi daha yüksek, S ve G_2 faz yüzdeleri ise daha düşüktür. Triton X-114 ile Gemini (10-2-10)’ un Flow sitometri analizlerinin karşılaştırmalı istatistiki verileri Şekil 4.75’de verilmiştir.



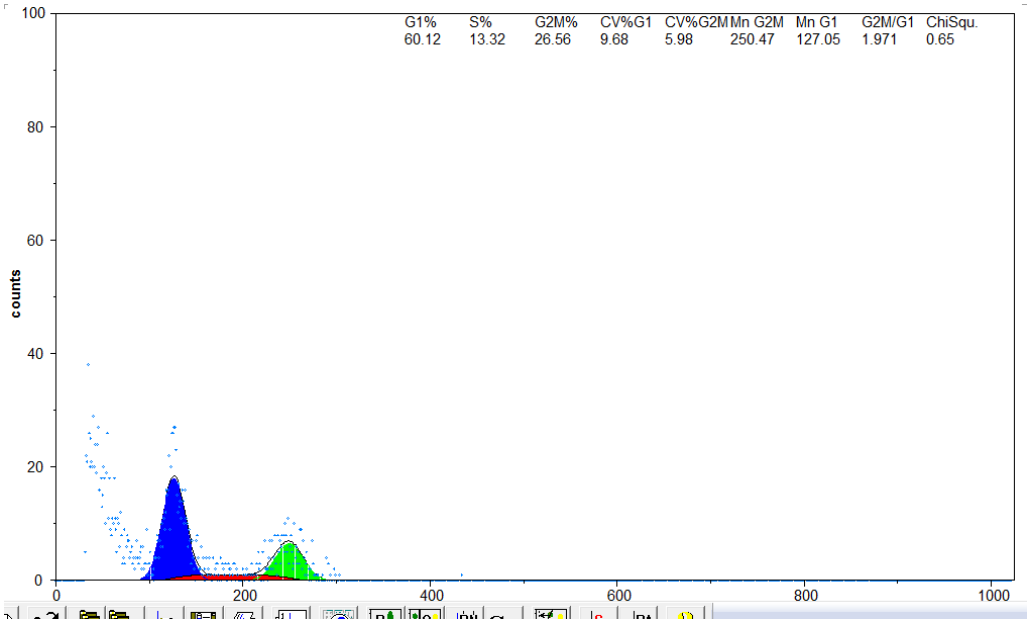
Şekil 4.70: *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin kontrol konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



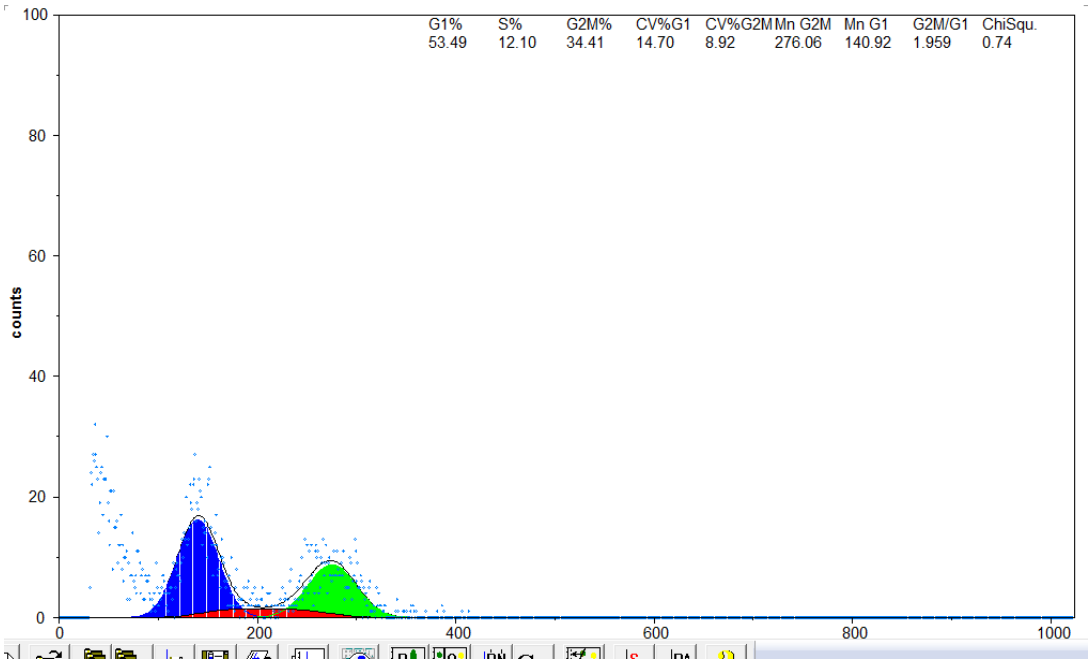
Şekil 4.71: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin EC_{50} değeri 2 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



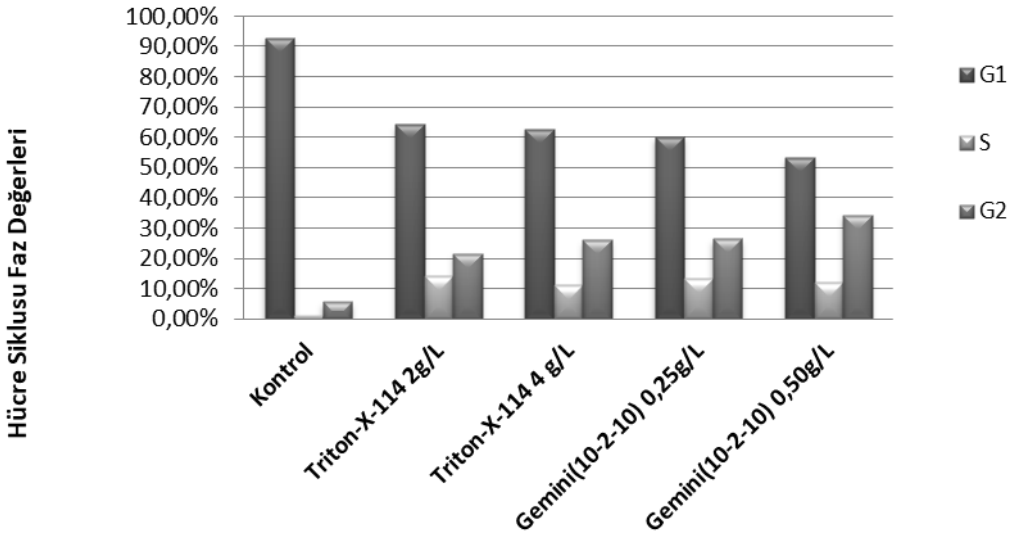
Şekil 4.72: Triton X-114 'ün *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin (2x EC_{50}) değeri 4 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



Şekil 4.73: Gemini (10-2-10) 'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin EC_{50} değeri 0,25 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



Şekil 4.74: Gemini (10-2-10) 'un *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin (2x EC_{50}) değeri 0,50 g/L konsantrasyonunun Flow Sitometri Analizi sonuçları hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdesi.



Şekil 4.75: *L. culinaris* kök ucu hücrelerinin Flow sitometri analizlerinin karşılaştırmalı istatistiki verileri (hücre siklus fazlarının (G_1-S-G_2) yüzdeler).

4.2. Tartışma:

İnsanlar, toksik etki eden maddelerin zararlarını en aza indirgemek veya tamamen yok etmek için çaba göstermektedirler. Endüstri devriminden sonra ve özellikle 2. Dünya Savaşı'ndan bu yana canlılar, sayıları her geçen gün artan ve kullanıma sunulan kimyasal maddelerin etkisi altındadır. Şuan ki verilere göre, Dünya'da yer alan 5 milyondan fazla kimyasalın 70.000'i aktif olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden piyasaya sürülen kimyasal maddelerin toksisitesinin araştırılması gereklidir.

Triton-X-114, sprey uygulamasında kullanılan sistemik etkili pestisitlerin formülasyonuna yaygın olarak kullanılan surfaktanttır (Dane vd.,2012). Gemini (10-2-10) ise katyonik surfaktant olup suda çözündüklerinde hidrofilik grup pozitif yük taşır (Akbaş vd.,2014). Bu surfaktantlar, baş grupları seviyesinde, geniş oranda hidrofobik, hidrofilik, katı veya esnek olan değişen doğaya sahip bir ara grup tarafından bağlanmış iki amfifilik parçadan oluşur (Menger ve Keiper,2000). Geleneksel tek kuyruklu surfaktant maddelere (Triton-X-114 gibi) göre farklı moleküler yapılarına sahip oldukları için, özel amaçlar için daha üstün özelliklere sahiptirler (Akbaş vd.,2014/2012/2010, Zana,1998, Rosen, 1993, Swenson,2004) .Gemini (10-2-10)'un bakteri (Hamouda ve Baker,2000, Kofonow ve Adappa,2012, Wu vd. 2012) ve mantar hücrelerinin (He vd., 2012) büyümesini (Simonetti vd., 1991) engelleyici özelliği vardır (Akbaş vd.,2014).

Önceden yapılmış olan çalışmalar gösteriyor ki; Foy'un yapmış olduğu Vatsol OT 'nin Sorgum yapraklarındaki denemeleri (Foy,1961), Sopmeyer'in Tween-20'nin çam fidelerinde yaptığı çalışmada (Sopmeyer,1961), Bourge ve Parups'un Heksadekanol ve Dokosanol ile tütün fidelerinde yaptığı çalışmada (Bourge, Parups,1963), Spurrier ve Jacobs'ın Santomerse No. I'in yonca tohumlarının çimlenmesi üzerindeki negatif etkilerini (Spurrier,Jacobs,1955) ve Sing ve Orsenigo 'nun Surfaktan-WK'nın (Dodesil eter polietilen glikol) şeker kamışı üzerindeki fitotoksik etkilerini (Singh, Orsenigo,1984) belirlemiş, Parr ve Norman'ın Tween-20 ve Tween-80'nin arpada potasyum alımını bloke ettiğini (Parr ,Norman 1964) ve son olarakta Swanson ve Whitney'in Tween-80'nin fasulyede fosfor translokasyonu azalttığını keşfetmiştir.(Swanson ,Whitney 1953). Sodyum dodesil sülfat ve sodyum dodesil benzen sülfonat'ın *Allium cepa* var. cepa kök meristem hücrelerine zarar verdiği (Al,2015), Triton-X-110'un *Allium cepa* L. mitotik frekansı ve kromozomları etkilediği

belirlenmiştir (Öztürk,2012). Araştırıcılar surfaktantlarla yapılan çalışmaların yeterli olmadığını ve bu tip çalışmaların arttırılması gerektiğini bildirmişlerdir (Bellania, vd.,1991).

Daha önce yapılan çalışmalarda noniyonik (Yılmaz vd.,2012,Dane vd.,2012, Akbaş vd.,2015) katyonik (Dane vd.,2013/2015) ve anyonik (Akbaş vd.,2012) surfaktantların *A. cepa* ve *L.culinaris* bitkilerinde fitotoksik etkileri ile ilgili çalışmalar yapılmış ve EC_{50} değerleri incelenmiştir. "Triton X-114" ve "Gemini 10-2-10" surfaktantlarının çok fitotoksik olduğu gözlenmiştir. Triton X-114 ve Gemini (10-2-10)' un *A. cepa* üzerindeki fitotoksik etkileri incelenmiş fakat EC_{50} değeri saptanamamıştır (Dane vd.,2012, Akbaş vd., 2014). Tarımda kullanılan surfaktantların minumum toksik etki gösteren konsantrasyonu bulmak önemli olduğu için "Triton X-114" ve "Gemini 10-2-10" surfaktantlarının genotoksik etkilerinin araştırılmıştır. Araştırılan surfaktantların, EC_{50} değerleri saptanmıştır. Araştırma bitkileri olarak, *A.cepa* ve *L.culinaris* seçilmiştir. *A.cepa* ve *L. culinaris* kolay elde edilmesi, ucuz olması, her zaman kök oluşturma-çimlenme yeteneğinde olması, kromozom boyutlarının büyük olması ve kromozom sayısının az olması nedenleri ile deney materyali olarak kullanılmıştır. Özellikle de bu bitkilerin, ülkemizde beslenmede yaygın olarak kullanılması ve gıda olarak çokça tercih edilmesi gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmiştir.

Bu nedenle; bu çalışmada "Triton X-114" ve katyonik surfaktant "Gemini 10-2-10"un *A. cepa* ile *L. culinaris* üzerindeki genotoksik etkilerini araştırılmıştır.

A.cepa **kök büyümesine etki eden, Triton X-114** 'ün (EC_{50}) değeri 0,50 g/L olarak belirlenmiştir. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 2 g/L), ($2\times EC_{50}$= 1 g/L), (EC_{50}= 0,50 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,25 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,12 g/L) olan Triton X-114 konsantrasyonları esas alınmıştır. Gemini (10-2-10)'un (EC_{50}) değeri 0,25 g/L olarak belirlenmiştir. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 1 g/L), ($2\times EC_{50}$= 0,50 g/L), (EC_{50}= 0,25 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,12 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,06 g/L) olan **Gemini (10-2-10)** konsantrasyonları esas alınmıştır.

L. culinaris **tohum çimlenme yüzde oranına ve kök büyümesine etki eden, Triton X-114**'ün çimlenme yüzde oranının (EC_{50}) değeri 1 g/L olarak belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 4 g/L), ($2\times EC_{50}$= 2 g/L), (EC_{50}= 1 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,50 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,25 g/L) olan Triton X-114 konsantrasyonları esas alınmıştır. Kök

uzunluğunun (EC_{50}) değeri 2 g/L tanımlandıktan sonra ($4\times EC_{50}$= 8 g/L), ($2\times EC_{50}$= 4 g/L), (EC_{50}= 2 g/L) ,($EC_{50}/2$= 1 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,50 g/L) olan Triton X-114 konsantrasyonları esas alınmıştır. **Gemini (10-2-10)** surfaktantının tohum çimlenme yüzde oranının (EC_{50}) değeri 0,50 g/L olarak belirlenmiştir. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 2 g/L), ($2\times EC_{50}$= 1 g/L), (EC_{50}= 0,50 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,25 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,12 g/L) olan Gemini (10-2-10) konsantrasyonları esas alınmıştır. Kök uzunluğu (EC_{50}) değeri 0,25 g/L olarak tanımlanmıştır. EC_{50} değeri belirlendikten sonra ($4\times EC_{50}$= 1 g/L), ($2\times EC_{50}$= 0,50 g/L), (EC_{50}= 0,25 g/L) ,($EC_{50}/2$= 0,12 g/L) ve ($EC_{50}/4$= 0,06 g/L) olan Gemini (10-2-10) konsantrasyonları esas alınmıştır.

Surfaktantların mercimek tohumlarının çimlenme yüzde oranı ve kök uzamalarına farklı etkilere sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubu (distile su) ile surfaktant konsantrasyonları IBM SPSS Statistics 20 paket programı ANOVA testi ile analiz edilince, kök uzunluğu ortalamaları arasındaki farkın istatistikî açıdan önemli olduğu surfaktant konsantrasyonu arttıkça azalmış olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Yapılan çalışma sonucunda katyonik surfaktant Gemini (10-2-10)' un noniyonik surfaktant Triton X-114' e göre daha çok toksik etki gösterdiği ve kök uzamasını (inhibe) negatif yönde etkilediği saptanmıştır. *A. cepa*'nın *L. culinaris*' e göre daha çok negatif yönde etkilendiği ve fitotoksik etkinin daha çok olduğu belirlenmiştir.

A. cepa'nın kontrol grubunda %23.70 olarak belirlenen **mitotik indeksin, Triton X-114** 'ün 0,12 g/L konsantrasyonun da %14.00, 0,25 g/L'lik konsantrasyonun da %11.40, 0,50 g/L'lik konsantrasyonun da %9.90, 1 g/L'lik konsantrasyonun da %7.00 ve 2 g/L'lik konsantrasyonun da %4.60 olduğu; Gemini (10-2-10)'un 0,06 g/L konsantrasyonun da %7.90, 0,12 g/L'lik konsantrasyonun da %6.80, 0,25 g/L'lik konsantrasyonun da %5.90, 0,50 g/L'lik konsantrasyonun da %4.00 ve 1 g/L'lik konsantrasyonun da %3.20 olduğu saptanmıştır. *L. culinaris*'in kontrol grubunda %31.10 olarak belirlenen **mitotik indeksin,** Triton X-114'ün 0,50 g/L konsantrasyonun da %19.00, 1 g/L'lik konsantrasyonun da %10.60, 2 g/L'lik konsantrasyonun da %8.40, 4 g/L'lik konsantrasyonun da %5.30 ve 8 g/L'lik konsantrasyonun da %3.40 olduğu; **Gemini(10-2-10)**'un 0,06 g/L konsantrasyonun da %13.30, 0,12 g/L'lik konsantrasyonun da %10.70, 0,25 g/L'lik konsantrasyonun da %7.70, 0,50 g/L'lik konsantrasyonun da %3.80 ve 1 g/L'lik konsantrasyonun da %1.90 olduğu saptanmıştır.

A.cepa ve *L. culinaris* ‘in profaz, metafaz, anafaz ve telofaz surfaktant konsantrasyonu arttıkça faz indeksinin azaldığı görülmüştür. Sonuç olarak, *A. cepa*’nın *L. culinaris*’e göre mitotik indeks ve faz indeksinin artan surfaktant konsantrasyonlarına bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Gemini (10-2-10)’un Triton X-114’e göre her iki bitkiye daha çok toksik etki yaptığı belirlenmiştir.

Hücre bölünmesindeki azalma, bitkinin (surfaktant varlığına bağlı olarak) metabolik süreçteki bazı bozulmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Mitotik indeks hücreyi yansıtır. Hücre bölünme yüzdesini belirlemek için bitkinin kök ucu hücreleri kullanılır. Bitki köklerinin büyüme orandaki negatif etkiye (fitotoksik etki) bağlı olarak, kökteki meristematik hücrelerinde bölünme oranlarının azalması birbirleriyle bağlantılıdır. Her iki süreçte de bitki materyallerinin kök meristematik hücrelerin bölünmelerinin azalması, kök büyüme inhibisyonunun nihai bir sonucudur (Aksoy,2007).

Önceden yapılmış olan çalışmalarda mitotik indeksin (mitotik aktivite), deneysel kimyasalların yüzdeleri kontrol (distile su ile yetiştirilen bitkiler) grupların yüzdelerine göre % 22’nin altına inerse letal (ölümcül) etki (Antonsie-wiez, 1990) %50’nin altına inerse subletal (ölümcül düzeyin altında) etki (Panda,2002) olarak kabul edilmiştir. Letal ve subletal olarak adlandırılan bu değerler canlılar için toksik değer sınırlarına girmektedir (Sharma, 1983). Çalışmada kullanılan Triton X-114 ile Gemini (10-2-10)’ nin mitotik aktivite ve faz indeks değerlerini %22’nin altına indirdiği için letal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bu surfaktantların deneysel olarak konsantrasyonlarının kullanılan *A.cepa* ve *L.culinaris* için toksik etki oluşturduğu açık bir şekilde görülmüştür.

A. cepa **belirlenen kromozom aberasyonları**; **Triton X-114**’te metafazda yapışıklık (%69,53), tabla kayması (%50,75), vagrant kromozom (%28,26) ve C-mitoz (%21,89), fragment (% 15,33). Anafazda yanlış kutuplaşma (%53,73), vagrant kromozom (%35,62), fragment kromozom (%14,13), yapışıklık (%10,55) köprü (%8,35). Telofazda yanlış kutuplaşma (%37,80), vagrant kromozom (%27,05), fragment kromozom (%10,13), köprü (%0,98), yapışıklık (%0,39). Buna karşın, binükleat hücre oluşumu Triton-X-114 konsantrasyonlarından sadece 1 g/ L. ve 2 g/L. (%3,59) görülmüştür. **Gemini (10-2-10)**’da metafazda tabla kayması (%53,92), C-mitoz (%34,38), vagrant kromozom (%33,19), yapışıklık (%26,44), ve fragment (% 24,40). Anafazda yanlış kutuplaşma (%48,03), vagrant kromozom (%42,09), fragment

kromozom (%15,18), yapışıklık (%14,98) köprü (%11,63). Telofazda yanlış kutuplaşma (%36,72), vagrant kromozom (%36,16), fragment kromozom (%5,91), köprü (%3,94), yapışıklık (%1,96).Buna karşın, binükleat hücre oluşumu (%7,29) Gemini (10-2-10)'un tüm konsantrasyonlarında, mikronükleus ise 0,06 g/L konsantrasyonunda (%0,79) görülmüştür.

L. culinaris **belirlenen kromozom aberasyonları**; **Triton X-114**'te metafazda , tabla kayması (%48,03), vagrant kromozom (%41,46), C-mitoz (%39,31), yapışıklık (%25,46), ve fragment (% 2,76). Anafazda yanlış kutuplaşma (%56,34), vagrant kromozom (%38,91), köprü (%18,73), yapışıklık (%7,49), fragment kromozom (%7,29). Telofazda yanlış kutuplaşma (%47,63), vagrant kromozom (%38,71), köprü (%8,30), yapışıklık (%2,96), fragment kromozom (%0,93). Buna karşın, binükleat hücre oluşumu Triton-X-114 konsantrasyonlarından 0,50 g/L,1 g/ L 8 g/L (%3,34) mikronükleus ise 0,50 g/L, 1 g/L ve 2 g/L (%3,76) görülmüştür. **Gemini (10-2-10)**'da metafazda C-mitoz (%38,28), tabla kayması (%37,47), vagrant kromozom (%37,28), yapışıklık (%26,97), ve fragment (% 14,71). Anafazda vagrant kromozom (%42,65), yanlış kutuplaşma (%32,30), köprü (%24,59), fragment kromozom (%11,70), yapışıklık (%6,14). Telofazda vagrant kromozom (%40,26), yanlış kutuplaşma (%34,27), fragment kromozom (%8,75), köprü (%4,57). Buna karşın, binükleat hücre oluşumu Gemini (10-2-10) konsantrasyonlarından 0,06 g/L,0,25 g/ L, 0,50 g/L ve 1 g/L (%9,29) mikronükleus ise 0,25 g/L, 0,50 g/L ve 01 g/L (%7,53) görülmüştür.

A. cepa **flow sitometri analizleri sonucunda**; Triton-X-114 ile Gemini (10-2-10) 'un artan konsantrasyonlarına bağlı olarak kontrol grubuna göre G_1 fazlarında azalma, S ve G_2 fazlarında ise artma saptanmıştır

L. culinaris **flow sitometri analizleri sonucunda**; Triton-X-114 ile Gemini (10-2-10) 'un artan konsantrasyonlarına bağlı olarak kontrol grubuna göre G_1 fazlarında azalma, S ve G_2 fazlarında ise artma saptanmıştır. Triton X-114 Gemini (10-2-10)'a göre G_1 faz yüzdesi daha yüksek, S ve G_2 faz yüzdeleri ise daha düşüktür.

Deney materyallerindeki bu aberasyonların, surfaktant konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak mitotik aktivitenin inhibisyonu sonucu oluşmuş olabilir. Surfaktant konsantrasyonlarının varlığı, mitoza giren hücre sayılarının yüzdesinde azalmaya neden olmuştur. Surfaktant varlığı hücre siklusu kontrol noktalarındaki enzim proteinlerine etki etmiş olabilir. Mitoza giren hücre sayısındaki azalmaya bağlı olarak oluşan

inhibisyon sonucu, G_1 evresi kontrol grubuna göre azalma göstermiş olabilir. S ve G_2 evrelerinde kontrol grubuna göre artma saptanmıştır. Bu durum, G_1 ve M evrelerinde oluşan azalmaya bağlı olarak hücre kendini surfaktant varlığına karşı bir tepki olarak onarmaya çalıştığı için S ve G_2 evreleri artış göstermiş olabilir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda anlaşılmıştır ki, Triton X-114 ve Gemini (10-2-10) surfaktantlarının hücre siklusu fazları üzerindeki etkileri daha detaylı(enzim ve protein düzeyindeki etkileri) araştırabilir. Ve bu çalışma gelecekte yapılacak olan surfaktantların genotoksisite çalışmalarına altyapı niteliği taşımaktadır.

Tarımda kullanılan surfaktantların etkisi uygulanan konsantrasyonlara, bitki türlerine ve uygulama yerlerine göre değişkenlik gösterir. Surfaktantların toksisitesinin bilinmesi çevredeki stabiliteleri hakkında bilgi verir. .Kontrol grubuna yakın ve zirai ilaçlar ile kullanıma uygun konsantrasyonların tespiti için daha düşük dozda deneysel çalışmaların yapılması gerekmektedir. Gelecek çalışmalarda daha düşük dozlar ile çalışmak ve kullanılabilir konsantrasyonu tespit etmek gereklidir. Çalışmada test edilen her iki surfaktantta ait konsantrasyonlar, tarımda zirai ilaçlarda kullanıma uygun konsantrasyonlar değildir.

BÖLÜM 5

KAYNAKLAR

Adın Çınar, S. , (2009), Akan hücre cihazında veri analizi, İstanbul: Medya Tower.

Akbaş H, Boz M, Elemenli A., (2010), Study on cloud point of Triton X-100- cationic surfactants mixtures: a spectroscopic approach, Spectrochimica Acta Part A. Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 75 (2):671-677.

Akbaş H, Elemenli A, Boz M.,(2012),Aggregation and thermodynamic properties of some cationic Gemini Surfactants, Journal of Surfactants and Detergents. 15:33-40.

Akbaş H., Dane, F., Yılmaz, G., Öztürk, F., Leventer, S., (2012), "Phytotoxic Effects of six Surfactants on *Allium cepa* L. Plantlets" ,Fresenius Environmental Bulletin, Vol. 21; No. 10, pp. 2856-2858.

Akbaş H., Leventer,S., Dane, F., Türkoğlu, M., Köse, B., (2014), Katyonik Gemini Surfaktant (10-2-10), (12-2-12) ve Ticari Surfaktant CTAB'nın *Allium cepa* L. Üzerindeki Fitotoksik Etkisi, BİBAD, 7 (2): 06-09.

Akbaş,H., Yılmaz,G., Sezginer,H., Dane,F., (2015), An Observation on the effects of Triton-X-405 Surfactant on the Development of the seeds of *Triticum aestivum* L., Afyon Ulusal Çevre Kongresi-2015,BİBAD, 003-006.

Akı,C., Karabay Ü., (2004), Genetik Laboratuvarı Uygulama Kitabı, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayınları, Çanakkale.

Aksoy, Ö., Dane, F., Sanal, F., Aktaç, T., (2007), The effects of Fusilade (Fluazifop-p-butyl) on germination, mitotic frequency and a-amylase activity of lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds, Acta Physiol Plant, 29:115–120 DOI 10.1007/s11738-006-0014-1.

Al, G., (2015), Sodyum dodesil sülfat ve sodyum dodesil benzen sülfonatın Allium cepa var.cepa üzerindeki genotoksik etkilerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı.

Anderson,D., (1988) ,"Human Biomonitoring", Mutat Res.

Antonsie-wiez, D., (1990),Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of Leda krin, Folia Histochemica et Cytobiologica, Vol.26, pp.79-96.

Arıkan E. S., (2006), Quizalofop-p-etil herbisitinin Allium cepa L. kök meristem hücreleri üzerine sitogenetik etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, 181417.

Aydoğan, N. , (2007),Yüzey Aktif Madde Karışımları: Sinerji Ve Kimyasal Proseslere Uygulamaları, Türkiye Bilimsel Ve Teknik Araştırma Kurumu, Tübitak Projesi No: MAG 265.

Aytekin, M., (2015), Hücre Bölünmesi ve Kontrolü, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kayseri (www.metinaytekin.com).

Barry, S., Koritz, H.G., (1990), Using the Allium Test to Detect Environmental Pollutants, The American Biology Teacher Vol. 52, No. 6, pp. 372-375.

Bedir,A., Bilgici,B.,Yurdakul,Z., Gürsel,B.Ş., Alvur,M., (2004), "DNA hasarı analizinde μ- FADU ve Comet yöntemlerinin karşılaştırılması", Türk Klinik Biyokimya Dergisi.

Bellania, L.M. , Rinalloa, C. , Bennicia, A. , (1991),Cyto-morphological alterations in Allium roots induced by surfactants, Environmental And Experimental Botany, Volume 31, Issue 2, April 1991, Pages 179-181, 183-185.

Blank, T.L., Flaherty, D.K., Ribelin, W.E., Wilson, A.G.E., (1985),Toxicity testing new approache and applications in human risk assesment, Raven press, 1140 Avenue of the Americans, New York.

Bora, T. ve Delen, N., (1981), "Türkiye'de Bitkisel Üretimde Tarımsal İlaç Sorunu ve Öneriler", II. Türkiye İktisat Kongresi Tarım Komisyonu Tebliğleri, İzmir.

Bourget, S.J. , Parups E.V., (1963), Growth of tobacco and soilmoisture evaporation as influenced by long-chain fatty alcohols in the soil, Soil Sci 95: 82-85.

Brown, M. Wittwer, C., (2000), “Flow cytometry: principles and clinical applications in hematology”, Clin. Chem., 46, 1221–1229.

Cesur, A., (2007),Tuzlu Koşullarda Çimlendirilen Arpa Köklerinde Hücre Döngüsü, Mitotik İndeks ve Kromozom Yapısına H_2O_2 Ön Muamelesinin Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.

Chakraborty R., Mukherjee A., Mukherjee A. K., (2009), Evaluation of genotoxicity of coal fly ash in Allium cepa root cells by combining comet assay with the Allium test, Environ. Monit. Assess.

Choy,W.N., (2001), “Genetic toxicology and cancer risk assessment”, Marcel Dekker, New York,.

Craig, F.E. , Foon, K.A., (2008), “Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms”, ood, 111(8), 3941-67.

Çördük. N., Akı C., (2006),Çanakkale Kanyak Fabrikası Atık Suyunun *Vicia faba* L. Kök Ucu Mitozu Üzerine Etkisi ve Total Protein Değişimleri, XVIII. Ulusal Biyoloji Kongresi Kuşadası-Aydın.

Dane, F., Yılmaz, G., Akbaş, H., Öztürk, F., Leventer, S., (2012), “Phytotoxic Effects of Non-Ionic Surfactant Octylphenol Series (Triton X-100, Triton X-114, Triton Triton X-405) on Onion”, Asian Journal of Chemistry, Vol. 24, No. 12, pp. 5746-5748.

Dane, F., Leventer, S., Akbaş, H., Öztürk, F., Yılmaz, G., (2013), “Phytotoxic Effects of Three Surfactants: DBSNa, SDS and Gemini Surfactant (16-2-16) on *Allium cepa* L. Plantlets.”, 104th AOCS Annual Meeting & Expo (28-May 2013) Montreal, CANADA.

Dane,F., Leventer,S., Sezginer,H., Akbaş,H., (2015),"Cytotoxic Effects of dimeric cationic surfactant Gemini (12-2-12), Smart Chemistry, Better Life," IUPAC-2015, Abstracts, Kore.

Daniel, H., (2004), “A Review and Applications of Flow Cytometry. Department of Chemistry”, University of Illinois at Urbana-Champaign.

De Campos, J.M.S., Viccini, L.,F., (2003), Cytotoxicity of aluminum on meristematic cells of *Zea mays* and *Allium cepa*, Caryologia Vol. 56, no. 1: 65-73.

Demirel, D., (1995), "Flow sitometrik DNA analizinin temel prensipleri", Türk Patoloji Dergisi,11(2).

Dunphy, C.H., (2004), "Applications of flow cytometry and immunohistochemistry to diagnostic hematopathology", Archives of Pathology & Laboratory Medicine. 128(9), 1004-1022.

Evans, H.J., (1984), "Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests", In: Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W., Ramel, C., eds., Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Elsevier Science, Amsterdam.

Ferguson G. A. ve Takane,Y., (2005), Statistical Analysis in Psychology and Education, 6 th ed., McGraw-Hill Ryerson Ltd., Montréal, Quebec.

Fındıklı, Z., Türkoğlu, Ş., (2010), Glyphos Ve DDVP' Nin *Allium cepa* L.' da Mitoz Bölünme ve Kromozomlar Üzerine Etkisi, C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi, C: 31 S: 2.

Firbas P., Amon T., (2013), *Allium* chromosome aberration test for evaluation effect of cleaning municipal water with constructed wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia, J. Bioremed. Biodeg., 4, 1-5.

Fishbein, L., (1987),Food and drug administration national center for toxicological research, Jefferson, Arkansas.

Fiskesjö, G., (1995), In Vitro Toxicity Testing Protocols: Methods in Molecular Biology, Volume 43, II, 119-127.

Fletcher PD., (1996), Self-assembly of micelles and micro-emissions, Current Opinion in Colloid and Interface Science. 1:101-106.

Foy, C.L., (1961), Absorption, distribution, and metabolism of 2,2-dichloropropionic acid in relation to phytotoxicity, I.Penetration and translocation of C136 and C 14 labeled dalapon, Plant Physiol 36: 688-697.

Güneş H., V., (2006), Moleküler Hücre Biyolojisi, Kaan kitapevi.

Hamouda T, Baker JR., (2000), Antimicrobial mechanism of action of surfactant lipid preparations in enteric gram-negative bacilli. J. Appl. Microbiol. 89 :397– 403.

Hayashi,M., Mac Gregor, J.T., Gatehouse,D.G., Adler,I.D., Blakey,D.H., Dertinger, S., Krishna,G., Morita,T., Russo,A., Sutou,S., (2000), " In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay: Aspects of protocol desing including repeated treatments,integration with toxicity testing, and automated scoring, A report from the international work shop on genotoxicity test procedures (IWGTP) ", Environ Mol Mutagen.

Hayes, A.W., (1989),Principles and methods of toxicology, 2nd, ed., Raven press, 1185 Avenue of the Americans, New York.

He S, Wang B, Chen H, Tang C, Feng Y., (2012), Preparation and antimicrobial properties of gemini surfactant-supported triiodide complex system, ACS Appl. Mater.Interfaces. 4:2116–2123.

Herzenberg, L.A. Parks, D. , Sahaf, B. , Perez, O. , Roederer, M. , (2002), "The history and future of the fluorescence activated cell sorter and flow cytometry: a view from Stanford", Clin. Chem. 48, 1819–1827.

Hodgson, E., Guthrie, F.E., (1984),Introduction to biochemical toxicology, Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Ibrahim, S.F. , . Engh., G.V.D, (2007), "Flow cytometry and cell sorting", Adv Biochem Engin/Biotechnol. 106, 19–39.

Ilhan D., Aki C., (2009), Mutagenicity of Sunset Yellow and Brilliant Black in *Vicia faba* L. and *Allium cepa* L. Fresenius Environmental Bulletin.

Jena,G.B., Kaul,C.L., Ramarao,P., (2002), "Genotoxicity testing, a regulatory requirement for drug discovery and development: impact of ICH guidelınes", Indian Journal of Pharmacology.

Kanev, M.O.,Muranlı,F.D., (2016),Flow sitometri ve kullanım alanları, SAÜ Fen Bil Der 20. Cilt, 1. Sayı, s. 33-38.

Karaboz, İ.,Kayar, E., Akar, S., (2008), Flow Sitometri ve Kullanım Alanları, Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, Cilt: 06 Sayı: 2 Sayfa: 01-18.

Kesici T., Kocabaş Z., (1998),Biyoistatistik, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara/Türkiye.

Kofonow JM, Adappa ND., (2012), In vitro antimicrobial activity of SinuSurf, ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec. 74:179–184.

Kye-Hong, K.,ong-Un, K., Kyung-Hee, L., Noh-Hee, J., (2001),Mixed Micellization of AnionicAmmonium Dodecyl Sulfate and Cationic Octadecyl Trimethyl Ammonium Chloride, Bull. Korean Chem. Soc., 22 (9), 1009-1014.

Lorenz, E. S., (1999), Adjuvants for enhancing herbicide performance, Agronomy Facts 37, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802.

Maron,D.R., Ames,B.N., (1983), "Revised methods for the Salmonella mutagenicity test", Mutat Res,.

Mateuca,R., Lombaert,N., Aka,P.V., Decordier,I., M,Kirsch-Volder, (2006), "Chromosomal changes: induction, detection, methods, and applicability in human biomonitoring", Biochimie.

Menger FM, Keiper JS., (2000), Gemini Surfactants, Angew Chem. Int. Ed. : 39, 1906.

Norppa,H., Bonassi,S.,Hansteen,I.L.,Hagmar,L., Strömberg,U., Rössner,P., Boffetta,P., Lindholm, C., Gundy, S., Lazutka, A. Cebulska-Wasilewska, Fabianova,E.,Sram,R.J., Kunudsen,L.E., Barale,R., Fucic, A., (2006), "Chromosomal aberrations and SCE as biomarkers of cancer risk", Mutat Res.

Öney, S., (2009),Sıcaklık Stresi Altında Çimlendirilen *Vicia Faba* L. Cv. Eresen- 87 Tohumlarında Mitotik İndeks, Hücre Döngüsü Ve Kromozom Davranışları Üzerine Kimyasal Gübrelerin Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.

Özban, N., Özmutlu, Ö., (1994), Mikropreparasyon Yöntemleri, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basım Evi, İstanbul.

Öztürk, F., (2012), "Triton X-100'ün *Alllium Cepa* L. Üzerinde Sitotoksik Etkileri" , Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı.

Parr J.F., Norman A.G., (1965), Considerations in the use of surfactants in plant systems: A review, Bot Gaz 126: 86-96.

Panda, B.B., Sahu, U.K., (2002), Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fensulfothion, Cytobios, Vol.42, pp.147-155.

Penner, D., (2000), Introductory statement on adjuvants, In: Young, B. Compendium of herbicide Adjuvants, 5th edition. Southern Illinois University, Carbondale.

Pozarowski, P. , Grabarek, J. , Darzynkiewicz ,Z., (2004), "Flow cytometry of apoptosis", Curr Protoc Cell Biol. 18 (18).

Pozo, C., Rodelas, B., Calvo, C., (2003),Linear alkylbenzene sulphonates (LAS) and soil microbial activity, Food, Agriculture and Environment, 1: 348-350.

Preston,R.J., Au,W., Bender,M.A., Brewen,J.G., Carrano,A.V., Heddle,J.A., McFee,A.F., Wolff,S., Wassom,J.S., (1981), "Mammalian in vivo and in vitro cytogenetic assays: A report of the U.S. EPA's Gene-Tox Program", Mutat Res.

Rahman, M. , (2006), Introduction to flow cytometry, Serotec Ltd. Oxford (UK). Published by Serotec Ltd.

Rank J., Nielsen M. H., (1997), *Allium cepa* anaphase–telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate, Mutat. Res.

Rosen, M. J., (1989), Surfactants and Interfacial Phenomena, 2nd Edition, John Walley and Sons, New York.

Rosen MJ. (1993),Geminis : A New Generation of Surfactants, Chemtech. 23:30-33.

Savage,J.R.K., (1993), "Update on target theory as applied to chromosomal aberrations", Env Mol Mutagen.

Seaman, D. (1990), Pestic, Sci., 29, 437.

Sharma, C.B.S.R., (1983), Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals, Current Science, Vol.52, pp.1000-1002.

Simonetti N, Auria FDD, Strippoli V., (1991), Increased in vitro sensitivity of Candida albicans to fluconazole, Chemotherapy. 37:32–37.

Singh,M.,Orsenigo,J.R., (1984), Phytotoxicity of Nonionic Surfactants to Sugarcane, Bulletin of Environmental Contamination Toxicology, 32.119-124.

Sonoda, E., Sasaki,M.S.,Morrison,C., Y. Yamaguchi-Iwai, Takata,M.,Takeda,S., (1999), "Sister chromatid exchanges are mediated by homologous recombination in vertebrate cells", Mol Cell Biol.

Sopmeyer, C.,S., , (1961),Absorption and translocation of foliarly applied phosphorus by loblolly pine seedlings, Plant Physiol36: Suppl, xxxiii.

Spurrier E. C. , Jacobs J.A. , (1955),Effect of an anionic sodium sulfonate type surfactant upon plant growth, Agron J, 47: 462-465.

Swanson C.A. , Whitney J.B. (1953), Studies on the translocation of foliar-applied p32 and other radioisotopes in bean plant, Amer J Bot 40: 816-823.

Swenson S., (2004), Controlling surfactant selfassembly, Current Opinion in Colloid & Interface Science. 9:201–212.

Şekeroğlu,Z.A., Şekeroğlu,V., Kolören,Z., (2011), “The in vitro alkaline comet assay in genetic toxicology”.

Tabur, S. , Demir, K., (2008), Tuz Stresi (Nacl) Altında Çimlendirilen Arpa Tohumlarının Mitotik İndeks Ve Kromozom Anormallikleri Üzerine Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicisi Kombinasyonlarının Etkileri, SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi (E-Dergi). 2008, 3(2) 162-173.

Taneli, F. (2007), “Flow sitometri tekniği ve klinik aboratuvarlarda kullanımı”, Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 5(2), 75-82.

Taner, T. , (2006),Katyonik Alkiltrimetilamonyum Bromür Surfaktantlar İle C.I. Reactive Orange 16 Etkileşimi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı.

Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E., (2010),Sitogenetik, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

Tuna, M., Cabi, E., (2014),Bazı Buğdaygil Yem Bitkisi Türlerine Ait Populasyonların Çekirdek DNA İçeriklerinin Flow Sitometri Yöntemiyle Belirlenmesi Ve Ploidy Analizi ile Tür Teşhisinde Kullanımı, Namık Kemal Üniversitesi,Tekirdağ.

Villas, B.H ., (1998), “Flow cytometry: an overview”, Cell Vis. 5, 56-61.

Vural, N., (1984),“Toksikoloji”, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.

Vural,N.,(2005), Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:33, ANKARA.

Welsh, J., McClelland, M., (1990),"Fingerprinting Genomes Using PCR With Arbitrary Primers", Nucleic Acids Research.

Wilson,D.M., (2007), Thompson,L.H., “Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange”, Mutat Res.

Wu T, Xie AG, Tan SZ., Cai X.,(2012),Antimicrobial effects of quaternary phosphonium salt intercalated clay minerals on Escherichia coli and Staphylococci aureus. Colloids Surf. B: Biointerfaces. 86:232–236.

Yakar-Tan, N., (1982),Bitki Mikroskopisi Klavuz Kitabı I. ve II. Bölüm, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basım Evi, İstanbul.

Yıldız M., Ciğerci İ.H., Konuk M., Fidan A. F., Terzi H., (2009),Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in Allium cepa root cells by chromosome aberration and comet assays. Chemosphere, 75, 934–938.

Yılmaz, G., Akbaş, H., Dane, F., Leventer, S., Öztürk, F., (2012),"Micellization and Related Behaviours Of Polyoxyethylene-Type Nonionic Surfactants on Root Elongation of Allium cepa L." A. Journal of Chemistry, Vol. 24, No. 12, pp. 5743-5745.

Youli, Z. Shahjahan, M. Chang, C.C. , (2009), "Basic principles of flow cytometry. basic concepts of molecular pathology", Molecular Pathology Library, 2, 139-146.

Young,R.R., (2002), "Genetic toxicology", Toxicology.

Zana R., (1998),Noval Surfactants. (C. Holmberg Ed.), Dekker, 8, 241 New York.

Zeiger,E., (2004),"History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal", Environ Mol Mutagen.

Zhao, G.X., Zhu, B.Y., (1995),Surfactant Adsorption and Aggregation, J. Dispersion Science and Technology, 16(5), 305-332.

http://maycalistaylari.comu.edu.tr/maycalistaylari/phocadownload/userupload/lise2/Danisman/cuneytaki_sunum2.pdf

http:// commons.wikimedia.org./wiki/File:Chemische-Struktur-von-Tensiden.png

http://www.molbase.com/en/index-948017-1.html

http://www.tfd.org.tr/eski/KTCG_Kurs_042010/01_HO.pdf

http://dergipark.ulakbim.gov.tr/tubav/article/viewFile/1013000169/1013000187

http://www.tupbebek-genetik.com/genetik/pre-implantasyon-genetik-tani

http://www.mik-ce.si/okna/energijska-okna

http://maycalistaylari.comu.edu.tr/maycalistaylari/phocadownload/userupload/lise2/Danisman/cuneytaki_sunum2.pdf

http://mustafaotrar.net/istatistik/ornek-bulgulartablo-yorumlari/

http://www.tuberktoraks.org/fulltext.aspx?issue_id=51&ref_ind_id=772

ipedu.cumhuriyet.edu.tr/Donem1/DonemI20052006/.../hucre_bolunmeleri.doc .

biyologlar.com/hücre-dongusu-ve-polimorfizm

http://flowcytometry.med.ualberta.ca/

http://www.tubives.com

https://la-en.sysmex-flowcytometry.com/consumables/ploidyother-reagents/1450/cystain-pi-absolute-p

BÖLÜM 6

ÖZGEÇMİŞ

Hazal SEZGİNER

Adres

Koca Sinan Mah. Şevki Arman Cad. 43. sokak

M.Çilingir Apt. EDİRNE/Merkez

(284 235 34 01)- (543 571 86 68)

E-Posta: hazalsezginer@hotmail.com



EĞİTİM:

2014 – Devam
Yüksek Lisans Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü

2010 – 2014
Lisans Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

2006 – 2010
Lise Edirne İlhami Ertem Lisesi

2003-2006
Ortaokul Edirne Alperyazoğlu İlköğretim Okulu

1998-2003
İlkokul Edirne Yükselyeşil İlköğretim Okulu

İŞ DENEYİMİ:

2014 – 2017

Edirne LC WAİKİKİ Margi Outlet-Satış Danışmanlığı

2017-Devam
Trakya Üniversitesi Devlet Konservatuarı
Fen Bilimleri Öğretim Elemanı
Müzik Ve Bale Ortaokulu
Müzik Ve Sahne Sanatları Lisesi

İLGİ ALANLARI: Kısa hikayeler yazmak, yüzmek, müzik dinlemek

BİLGİSAYAR BİLGİSİ: MS Ofis Programları (Word, Excel ve PowerPoint), SPSS

KİŞİSEL BİLGİLER: Doğum tarihi ve yeri: 16.01.1992, Tekirdağ
Medeni durumu : Bekar

SERTİFİKA VE STAJLAR: 17.12. 2012
Trakya Üniversitesi
Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

02.07. 2012-31.02.2012
Edirne Devlet Hastanesi
Biyokimya ve Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında staj

01.07. 2013-31.07.2013
Edirne Devlet Hastanesi
Biyokimya ve Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında staj

04.07.2017-04.07.2017
LCW WAIKIKI Mağazacılık Eğitim ve Gelişim Müdürlüğü
İş Sağlığı ve Güvenliği Sertifikası
10.11.2017-12.11.2017
TÜTAGEM Elektron Mikroskobu Kullanım Sertifikası

ÖDÜLLER: 2004
Edirne Rotary Kulübü

Engelliler Haftası Resim Yarışması Edirne İkinciliği

REFERANSLAR: Prof.Dr. Feruzan DANE (feruzandane@yahoo.com)
LİSANS TEZİ: GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMALAR (GDO),2014.
YÜKSEK LİSANS SEMİNERİ: TOKSİK MADDELERİN GENOTOKSİK ANALİZ YÖNTEMLERİ,2015.
YÜKSEK LİSANS TEZİ: NONİYONİK SURFAKTANT "TRİTON X-114" VE KATYONİK SURFAKTANT "GEMİNİ 10-2-10"UN SOĞAN (A*llium cepa* L.) VE MERCİMEK (*Lens culinaris* Medik) ÜZERİNDEKİ GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ.

YAYINLAR:

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler:

Sezginer H., Dane F., Genotoxic Analysis Methods of Toxic Substances, Derleme Turkish Journal of Scientific Reviews 9 (1): 50-55, 2016

Dane F., **Sezginer H.,** *Crepis reuterana* Boiss. subsp. *reuterana* (Asteraseae), *Helminthotheca echioides* Vaill. ex Zinn (Asteraceae), (Reports 30-31): In: Vladimirov V., Dane, F., Matevski T., Tan, K., (New Floristic Records in the Balkans: 29) Phytologia Balcanica, Vol: 22 (1): 93 – 123, Sofia, 2016.

Dane F., **Sezginer H.,** Yılmaz G., Akbaş H., An Observation on the Effects of Triton-X-405, Brij 35 and Brij 76 Surfactant on the Development of the Seeds of *Lens culinaris* Medik. (Lentil), BİBAD, Vol. 8:2, 003-006, 2015.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler:

Sezginer H.,Dane F., An Observation on the effects of Cationic Gemini Surfactants (10-2-10) on the Development of *Allium cepa* L. and *Lens culinaris* Medik, XIII.

Congress of Ecology and Environment With International Participation, UKECEK 2017, Conference Books, Edirne,2017.

Sezginer H.,Dane F., An Observation on the effects of (Non-ionic Surfactant Octyphenol) Triton-X-114 Surfactant on the Development *Allium cepa* L. And *Lens culinaris* Medik, International Conference on Chemical, Food, Biological, and Medical Sciences (CFBMS-16), Conference Books, Abu Dhabi (UAE),2016.

Dane F., **Sezginer H.,** Akbaş H., Boz M., An Observation on the Effects of Cationic Gemini Surfactants [Gemini (12-4-12), Gemini (12-2-12)] on the Development of the Seeds of *Lens culinaris* Medik, The 6th International Congress on Chemical, Biological and Environmental Sciences (ICCBES 2016), Abstracts, Osaka-Japan, 2016.

Dane,F., Leventer,S., **Sezginer,H.,** Akbaş,H., Cytotoxic Effects of dimeric cationic surfactant Gemini (12-2-12), "Smart Chemistry, Better Life," IUPAC-2015, Abstracts,Korea,2015.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler:

Dane F., **Sezginer H.,** *Saintpaulia ionantha* Wendl. ile *Cyrtandra lessoniana* Gaudich (Gesneriaceae)'in Vegetatif ve Generatif Organlarında Kalsiyum-okzalat Kristalleri, 23.Ulusal Biyoloji Kongresi, Özetler Kitabı, 277, Gaziantep, 2016.

Yılmaz G., **Sezginer H.,** Dane F., *Lamium purpureum* L. forma albiflorum (Dumort.) Dumort. ex Lindman. ile *Lamium album* L.'un (Lamiaceae) Gövde, Yaprak ve Korolla Anatomilerinin İncelenmesi, 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, Özetler Kitabı,278, Gaziantep, 2016.

Akbaş H., **Sezginer H,.** Dane F., Boz M., Katyonik Gemini Surfaktant (16-2-16), ve (16-6-16)'nin *Lens culinaris* Medik'in Çimlenme Oranları ve Kök Uzunluğu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, Özetler Kitabı,335, Gaziantep, 2016.

Dane F., **Sezginer H.,** Yılmaz G., Akbaş H., An Observation on the Effects of Triton-X-405, Brij 35 and Brij 76 Surfactant on the Development of the Seeds of *Lens culinaris* Medik. (Lentil),Ulusal Çevre Kongresi, Özetler kitabı, Afyon, 2015.

Sezginer H., Dane F., Genotoxic Analysis Methods of Toxic Substances, Ulusal Çevre Kongresi, Özetler kitabı, Afyon, 2015.

Yılmaz G., Akbaş H., **Sezginer H.,** Dane F., An Investigation of the effects of Brij 35 ve Brij 76 Surfactants on Germination Rates and Root Elongation of *Triticum aestivum* L. , Ulusal Çevre Kongresi, Özetler kitabı, Afyon, 2015.

Akbaş H., Yılmaz G., **Sezginer H.,** Dane F., An Observation on the effects of Triton-X-405 Surfactant on the Development of the seeds of *Triticum aestivum* L., Ulusal Çevre Kongresi, Özetler kitabı, Afyon, 2015.

Dane F., **Sezginer H.,** Bazı Süs Bitkilerinin Polen Morfolojisi, 1.Ulusal Bitki Biyolojisi Kongresi,Bolu, 2015.

PROJELER:

Proje adı: " Noniyonik Surfaktan "Triton X-114" ve Katyonik Surfaktant "Gemini 10-2-10"un Soğan (*Allium cepa* L.) ve Mercimek (*Lens culinaris* Medik) Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi." (Yüksek Lisans Projesi-TUBAP-2015 /186), Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Feruzan DANE, Projeye başlama tarihi: 05.11,2015, devam ediyor.

TEZ İLE İLGİLİ BİLİMSEL FAALİYETLER:

Sezginer H.,Dane F., An Observation on the effects of Cationic Gemini Surfactants (10-2-10) on the Development of *Allium cepa* L. and *Lens culinaris* Medik, XIII. Congress of Ecology and Environment With International Participation, UKECEK 2017, Conference Books, Edirne,2017.

Sezginer H.,Dane F., An Observation on the effects of (Non-ionic Surfactant Octyphenol) Triton-X-114 Surfactant on the Development *Allium cepa* L. And *Lens culinaris* Medik, International Conference on Chemical, Food, Biological, and Medical Sciences (CFBMS-16), Conference Books, Abu Dhabi (UAE),2016.