T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRİTON X-100'ÜN *Allium cepa* L. ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ

FATMANUR ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN: PROF. DR. FERUZAN DANE
EDİRNE, 2012

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRİTON X-100'ÜN *Allium cepa* L. ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ

FATMANUR ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN PROF. DR. FERUZAN DANE

EDİRNE, 2012

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRİTON X-100'ÜN *Allium cepa* L. ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

FATMA NUR ÖZTÜRK

Bu tez 28.08.2012 tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından Kabul Edilmiştir.

Prof.Dr. Feruzan DANE

Doç. Dr. Halide AKBAŞ

Yrd. Doç. Dr. Mehmet AYBEKE

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Suda, sulu bir çözeltide veya susuz ortamda çözündüklerinde sıvı yüzeyini küçülten, yani yüzey gerilimini azaltan maddelere yüzey aktif madde (surfaktant) denir (Atkins, 1990, Anianson, 1976). Son yıllarda gelişen biyoteknoloji, elektronik baskı, manyetik kayıt gibi ileri teknoloji alanlarında da kullanılmaya başlamış olan yüzey aktif maddeleri kullanımlarındaki bu yaygınlık ve sahip oldukları özellikler nedeniyle önemini günden güne artıran katkı maddeleri arasındadırlar (Lange, 1999). Surfaktantlar "Surface active agent" (Yüzey aktif maddeler) sözcüklerinden türetilmiş olup, adjuvantların en önemli grubudur. Sürfaktantların, temizlik maddeleri, gıda, ilaç, ziraat, tekstil, kimya endüstrisi, plastik endüstrisi vb. geniş bir kullanım sahası vardır (Miller ve Westra, 1998). Adjuvantlar, pestisitlerden beklenen performansın arttırılmasını sağlamak amacıyla, formülasyonlara veya uygulama karışımına eklenen çeşitli kimyasallardır. Aktivatör adjuvantlar pestisit formülasyonuna veya uygulama karışımına eklenerek pestisitin; etkinliğini, bitki tarafından alınımını ve yaprak üzerinde tutunmasını arttıran, suyla yıkanmasını ve buharlaşmasını azaltan maddelerdir. Aktivatör adjuvantlar daha düşük dozda pestisit uygulamalarına olanak sağlar. Surfaktantlar, aktivatör ajanların en önemli grubudur (Penner, 2000).

Surfaktantların hangi grup olduğu özelikle birlikte kullanıldığı pestisitin seçiminde önem kazanmaktadır. Noniyonik surfaktanttlar pestisitin bitki kutikulasına penetrasyonuna yardımcı olduğu için daha çok sistemik etkili pestisitlerle

kullanılmaktadır. Surfaktant grupları içerisinde pestisitlerle en uyumlu, dolayısıyla en çok kullanılan gruptur (Lorenz, 1999).

Surfaktantların doğada yarattığı kirlenme biyolojik sistemler ve özellikle sucul canlılar üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir (Pozo vd. , 2003). Yaygın olarak kullanılmasına rağmen, ülkemizde surfaktantların canlılar üzerinde toksik veya genotoksik etkileri ile ilgili araştırmalar çok sınırlıdır.

Çevrenin, karsinojenik ve diğer toksik kimyasallar tarafından kirlenmesi, halk sağlığı uzmanları ve bilim adamları, özellikle ekolog, toksikolog ve genetikçilerin sürekli devam eden bir endişesidir (Barry vd., 1990). Allium testi, çevresel kirliliğe sebep olabilen kimyasallar, kirletici vb. için hızlı bir tarama prosedürü sağlar. Kök büyümesinin önlenmesi ve kromozomlar üzerine olumsuz etkileri muhtemelen toksisite göstergesidir (Fiskesjo, 1995). Allium testi, ucuz ve kolayca uygulanabilen bir testtir. Birçok kirleticinin mutajenik ve toksik etkilerini makro ve mikro düzeyde kök ucu hücrelerinde gösterebilmek için kullanılır. Sonuçlar bir haftadan kısa bir süre içinde belirlenir ve bu sonuçlara dayanarak insan hücre sistemleri hakkında tahmin yürütülebilir. Çevre koruma ajansının raporuna göre, Allium testi, belli bir kimyasala maruz kalma sonucu oluşan kromozom aberasyonlarının tahlili için mükemmel bir test olarak tanımlanmıştır (Barry vd., 1990)

Bu araştırmada, sentetik noniyonik bir surfaktant olan Triton X-100'ün *Allium cepa* kök büyümesi inhibisyonu testi ile etkili konsantrasyon değeri (EC_{50}) belirlenmiş, farklı konsantrasyon uygulamalarının sitogenetik açıdan mitotik indeks, faz indeksi ve kromozom aberasyon oluşumları üzerinde etkisi incelenmiştir.

BÖLÜM 2

KAYNAK ARAŞTIRMASI

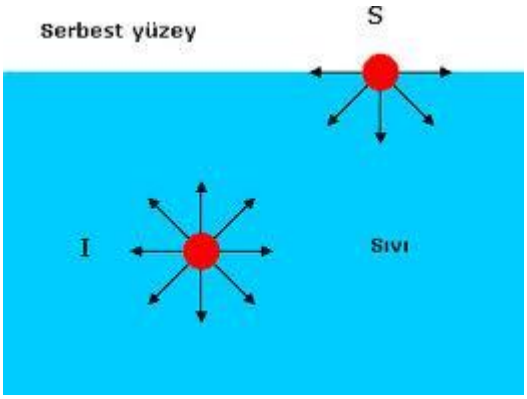
2.1.Yüzey Aktif Maddeler

2.1.1.Yüzey Bilimi

Bütün sıvılarda şiddeti sıvının türüne göre değişen moleküller arası çekim kuvvetleri (kohezyon kuvvetleri) bulunmaktadır. Sıvılarda iç kısımlarda (sıvının çeşitli derinliklerinde bulunan) moleküller çevresindeki komşu moleküller tarafından her yönden eşit olarak, diğer bir ifadeyle küresel simetrik şekilde, çekim kuvvetlerinin etkisi altında bulunurlar. Böylece sıvı içerisindeki bir moleküle etkiyen kuvvetler birbirlerini dengeler (Hiemenz, 1986). Oysa sıvının yüzeyinde bulunan bir molekül (sıvı- buhar ara yüzeyi göz önüne alındığında) buhar fazındaki yoğunluk sıvı fazdan düşük olduğundan, sadece yüzeyin altındaki moleküller tarafından sıvının içerisine doğru çekilirler. Sıvı içerisindeki moleküller, yüzeydekilere göre daha fazla çekim kuvvetinin etkisi altında bulunduklarından potansiyel enerjileri, yüzeydeki moleküllerin potansiyel enerjilerinden daha düşüktür. Çünkü genel olarak bilinmektedir ki bir cisme etki eden çekim kuvvetleri ne kadar fazla ise cismin potansiyel enerjisi o kadar düşüktür. Şekil 2.1'de buhar ile temasta bulunan bir sıvı sistemi görülmektedir.

Sıvının iç kısmındaki molekülleri yüzeye çıkararak sıvının serbest yüzeyini artırmak için, sıvı molekülleri arasındaki kohezyon kuvvetlerine karşı iş yapılmalıdır. Bunun sonucu olarak sıvının yüzey bölgesinin molar serbest enerjisi, sıvının diğer kısmının molar serbest enerjisinden yüksektir. Thomas Young 1805 yılında sıvı yüzeyinin mekanik özelliklerinin, yüzey üzerine gerilmiş hayali bir zarın

mekanik özellikleri ile ilişkilendirilebileceğini göstermiştir



Şekil 2. 1. Sıvı-buhar ara yüzeyi molekülleri sıvının iç kısmından yüzeye getirerek yüzeyi genişletmek için, sistemin üzerine iş yapılması gereklidir (http://atanesa.atauni.edu.tr/AtaNesADosya/dosya//2735/Y%C3%9CZEY%20GER%C4%B0L%C4%B0M%C4%B04.htm).

Böylece sıvı yüzeyi moleküller arasında mevcut olan kohezyon kuvvetlerinin sonucu olarak, bir bakımdan gerilmiş hayali bir zar gibi daima büzülmek isteyen ve mümkün olan en küçük yüzeyi almak isteyen 1 molekül kalınlığında çok ince zar gibi düşünülebilir.

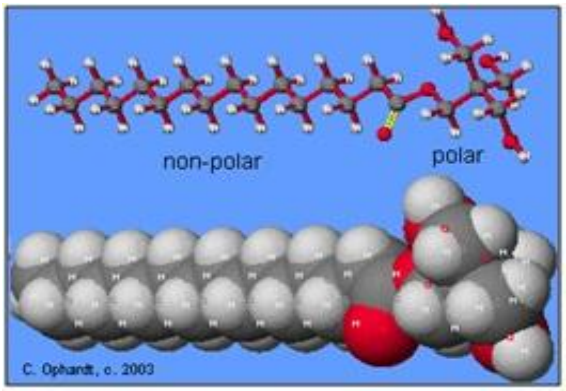
2.1.2.Yüzey Aktif Maddeler ve Özellikleri

Yüzey aktif maddeler günlük hayatta kullandığımız deterjanlar, kozmetik ürünleri gibi birçok ürünün önemli girdilerinden biridir. Birçok endüstriyel proseste ve uygulamada örneğin petrol geri kazanımında, tekstil proseslerinde, metal teknolojisinde, medikal uygulamalarda, tarım ve yiyecek uygulamalarında; son yıllarda gelişen biyoteknoloji, elektronik baskı, manyetik kayıt gibi ileri teknoloji alanlarında önemli rol oynayan maddelerdir (Kye-Hong vd., 2001).

Suda, sulu bir çözeltide veya susuz ortamda çözündüklerinde sıvı yüzeyini küçülten, yani yüzey gerilimini azaltan maddelere **surfaktant** denir (Atkins, 1990, Anianson, 1976). Yüzey aktif maddenin ingilizce karşılığı olan ***surface active agent*** sözcüklerinin harflerinden oluşan bir kısaltma olan **surfactant** kelimesi de yüzey aktif madde yerine kullanılır. Sabun, yüzey gerilimini azaltan bir maddedir. Fakat surfaktant denince akla,

daha çok alkil sülfat, alkil sülfonat, etoksillenmiş yağ asitleri, sodyum tuzları gibi organik türevler gelir.

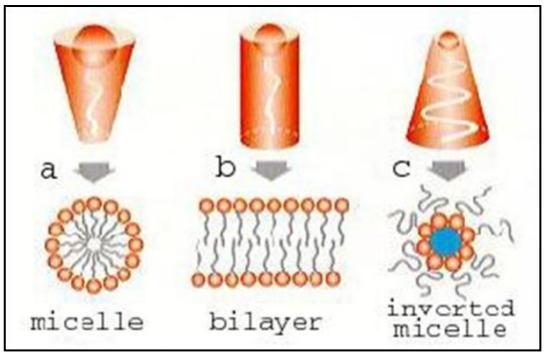
Yüzey aktif maddelerin karakteristik yapısında hidrofobik (su sevmeyen) kuyruk ve hidrofilik (suyu seven) baş grupları yer alır (Şekil 2.2). Sahip oldukları bu yapı sayesinde sıvı/hava ara yüzeyine adsorblanarak yüzey gerilimini düşürürken çözelti içerisinde de çeşitli türde kümeleşmelerin oluşmasını sağlarlar. Bu özelliklerinden dolayı çok geniş bir uygulama alanına sahiptirler (Zhao ve Zhu, 1995). Çözelti içerisindeki yüzey aktif madde derişimi arttıkça yüzey gerilimi azalmakta ve bu azalma limit bir değere kadar devam etmektedir. Limit yüzey gerilimine ulaşmayı sağlayan yüzey aktif madde derişimine kritik miselleşme konsantrasyonu (KMK) denir ve yüzey aktif maddeler KMK üzerindeki derişimlerde çözelti içerisinde çeşitli kümeleşmeler (misel, vezikül, solucan miseller) meydana getirirler.



Şekil 2.2.Yüzey aktif madde(http:// www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/ 558detergent.html)

KMK, surfaktantların uygulama alanlarında ve surfaktant seçiminde oldukça önemlidir. Kullanım alanları genis olan surfaktantlar misel oluşumu dışında, ıslatma, temizleme, köpük verme, emülsiye etme ve flotasyon gibi fonksiyonel özelliklere de sahiptirler. Örnegin, surfaktant çözeltilerinin suda çözünmeyen maddeleri çözme ve çözündürme özelliği KMK' da baslar ve misel konsantrasyonu arttıkça artar. Ayrıca, KMK' da deterjanların temizleme ve köpürme yetenekleri maksimumdur (Rosen, 1989). Şekil 2.3'teki kümeleşme türleri yüzey aktif maddelerin oluşturduğu yapıların en genel halleridir. Küresel miseller daha çok suda çözünmeyen maddelerin ayrılması proseslerinde kullanırlar. Silindirik misellerin çaplarının yaklaşık 5-20 nm

ve uzunluğunun mikrometreye ulaşması ile solucan miseller oluşur.
Solucan missellerin paketleme parametreleri yaklaşık ½ 'dir ve çözeltilerin viskozitelerini önemli ölçüde artırırlar (Yang, 2002).



Şekil 2.3. Küresel misel, silindirik misel ve lamellar faz (http://www.magma.ca/~pavel/science/Guests-2.htm).

Surfaktantlar da kimyasal reaksiyonların çogu tek tek atomlar, moleküller ve iyonlar gibi küçük taneciklerle değil, daha büyük taneciklerle yürür. Bu tanecikler basit kimyasal moleküllere kıyasla çok büyük oldukları halde, kabın dibine çökmezler, adi süzgeç kâğıdından geçerler, bazı optik özellikler gösteririler. Uygun işlemlerle çöktürülebilir veya pıhtılaştırılabilirler. Bu sistemler bir gazın bir sıvı içinde (köpük), bir sıvının diger bir sıvı içinde (emülsiyon) olduğu gibi az, biri dağılım ortamı diğeri de küçük parçacıklar halinde dağılım fazı olmak üzere iki fazlı sistemlerdir. Bu sistemlere dispers (dağıltı) sistemler denir. Sistemdeki bütün taneciklerin büyüklügü aynı ise monodispers, birbirinden farklı ise polidispers sistem olarak adlandırır. Surfaktantların çoğu polidispers sistemlerdir. Surfaktantlar da polidisperslik, aynı tipte fakat farklı zincir uzunluğunda veya diğer yapısal özelliklerinin bazılarında farklılık olan ürün, olarak tarif edilir.

Çözeltilerinde solucan misel oluşturan yüzey aktif maddeler petrol sahası uygulamalarında kırıcı akışkan olarak, bölgesel ısıtma ve soğutma akışkanlarında sürtünme azaltma ajanı olarak, ev bakım ürünlerinde sert yüzey temizleyicisi ve pis su borusu açıcı olarak, kişisel bakım ürünlerinde şampuanların ve vücut temizliğinde kullanılan ürünlerin bileşeni olarak kullanılmaktadırlar. Çözeltilerinde vesikül oluşturan yüzey aktif maddeler; ilaç taşıma sistemlerinde ilaç taşıyıcı olarak, kimyasal reaksiyonlar için mikro reaktör olarak, biyolojik zar modeli olarak kullanılmaktadırlar.

2.1.3.Yüzey Aktif Maddelerin Sınıflandırılması

Yaygın olarak yüzey aktif maddelerin sınıflandırılması hidrofilik baş grubun sahip olduğu yüke göre yapılır. Yüzey aktif maddeler oluşumları bakımından iki grupta incelenir.

A) Doğal Yüzey Aktif Maddeler

a) İyonik

1)Safra tuzları 2)Fosfolipitler

b) Non iyonik

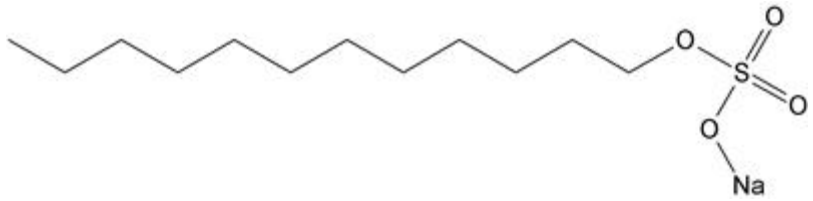
1) Kolesterol 2) Saponin

Doğal olarak oluşan amfifiller, basit lipitler (örneğin, karboksil asit esterleri), kompleks lipitler (örnegin fosfor, azot veya seker içeren yag asitleri), kolik ve deoksikolik asit gibi safra asitlerini içerirler. Doğada kolay parçalanabilirler ve zehir etkileri bulunmamaktadır.

B) Sentetik Yüzey Aktif Maddeler

a) Anyonik Yüzey Aktif Maddeler

Suda çözündüklerinde hidrofilik grup negatif yük taşır. Karboksilatlar, sulfonatlar, sulfatlar ve fosfatlar örnek olarak verilebilir. Köpürme ve temizleme yetenekleri yüksek olduğu için çoğunlukla çamaşır, bulaşık makinesi deterjanlarında ve şampuanlarda kullanılırlar. Ayrıca tekstilde kumaşlarda kalmış kimyasal maddelerin temizlenmesinde de kullanılırlar (Şekil 2.4).



Sodyum Dodesil Sulfat

Şekil 2.4.Anyonik Yüzey Aktif Madde

b) Katyonik Yüzey Aktif Maddeler

Suda çözündüklerinde hidrofilik grup pozitif yük taşır. Aminler ve kuaterner amonyum tuzları örnek verilebilir (Şekil 2.5). Yumuşaklığı sağladıkları için kumaş yumuşatıcılarında ve dezenfeksiyon özelliklerinden dolayı ev ve banyo temizlik ürünlerinde kullanılırlar.

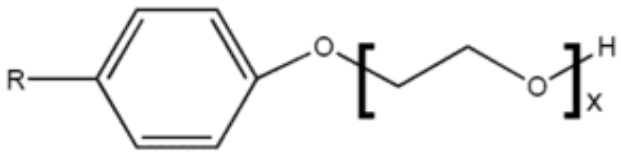


Dodesilpridinyum Klorür

Şekil 2.5. Katyonik Yüzey Aktif Madde

c) Noniyonik Yüzey Aktif Maddeler

Herhangi bir yüklü grup içermezler ve iyonlaşmazlar ancak eterik oksijenlerinin yaptığı hidrojen bağları sayesinde suda çözünebilirler. Etoksilatlar, esterler ve amidler örnek olarak verilebilir. Negatif veya pozitif yük içermedikleri için sert suya karşı dayanıklıdırlar. Yağı çok iyi uzaklaştırabildikleri için çamaşır deterjanlarında, ev temizleyicilerinde ve elde bulaşık yıkama ürünlerinde kullanırlar (Şekil 2.6).



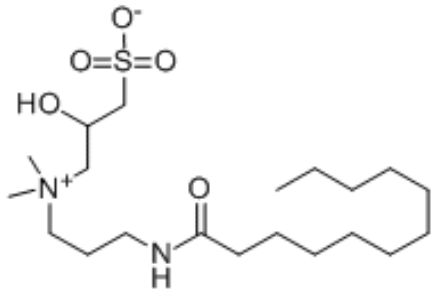
Polioksietilen 10 İsooktilsiklohekzil Eter (Triton-X 100)

Şekil 2.6. Noniyonik Yüzey Aktif Madde

d) Amfoterik Yüzey Aktif Maddeler

Aynı molekül içerisinde anyonik ve katyonik hidrofilik grubu birlikte bulundururlar. Bulundukları ortamın pH'ına göre pozitif negatif veya yüksüz hal alırlar. Mükemmel dermatolojik özelliklere sahip olduklarından genellikle kişisel bakım

ürünlerinde kullanılırlar. Ayrıca yüksek köpürme sağladıklarından elde kullanılan bulaşık deterjanlarında, ev temizlik ürünlerinde, şampuanlarda ve kozmetik ürünlerinde kullanılırlar (Şekil 2.7).



Kokamidopropil Hidroksisultain

Şekil 2.7. Amfoterik Yüzey Aktif Madde

2.1.4. Biyosurfaktantlar

Surfaktant olarak adlandırılan yüzey aktif maddeler çözündüklerinde ara yüzeylerde toplanarak yüzey gerilimi azaltan ve miseller gibi agregat yapıları oluşturan amfifilik bileşiklerdir. Surfaktantlar çözünürlüğü, mobiliteyi, biyooluşumu ve hidrofobik veya çözünmeyen organik bileşiklerin biyolojik bozunmasını arttırırlar. Surfaktantlar kimyasal olarak ya da mikrobiyolojik olarak üretilebilirler. Kimyasal yöntemlerle üretilen surfaktantlar sentetik surfaktantlar, mikrobiyolojik olarak birçok farklı mikroorganizmalar tarafından çoğunlukla oksijenli ortamda üretilenler ise biyosurfaktantlar olarak isimlendirilir.

Mikrobiyal yüzey aktif maddeler (biyosurfaktantlar) mikroorganizmalar tarafından üretilen hidrofilik ve hidrofobik kısım içeren çoğunlukla mikrobiyal hücre yüzeylerinde bulunan veya hücre dışına salınan amfifilik moleküllerdir. Son zamanlarda biyolojik olarak bozunabilirliği, sentetik surfaktantlara göre düşük toksiteleri, nisbeten kolay hazırlanmaları ve belirli hidrokarbon kirleticilerinin mikrobiyel ayrışmasının biyosurfaktantların eşzamanlı üretimi ile kolaylığından dolayı biyosurfaktantlar biyoteknolojik ürünler olarak endüstriyel ve tıbbi uygulamalar için giderek önem kazanmaktadır.

Biyosurfaktantların Sınıflandırılması Ve Mikrobiyal Kaynaklar

Biosurfaktantlar kimyasal bileşimleri ve mikrobiyal kaynaklarına göre temel olarak sınıflandırılır. Genel olarak, yapıları amino asit veya peptid anyon ve katyonunu içeren hidrofilik grup; mono-,di-, veya polisakkaritler; ve doymamış, doymuş veya yağ asitlerinden ibaret hidrofobik kısım içerirler (Tablo 2.1).

BİYOSURFAKTANTLAR	KAYNAKLAR
1. GLİKOLİPİDLER	
▪ Rhamnolipitler	*Pseudomonas aeruginosa*
▪ Trehalose lipitler	*Mycobacterium, Nocardia*
▪ Sophorolipitler	*Torulopsis bombicola,T apicola*
2. LİPOPEPTİD VE LİPOPROTEİNLER	
▪ Gramicidin	*Basillus brevis*
▪ Polymyxins	*Basillus polymyxa*
▪ Surfactin	*Basillus subtilis*
3. YAĞ ASİTLERİ / DOĞAL LİPİDLER	*Acinetobacter sp,Penicillium sp*
4. FOSFOLİPİDLER	*Candida sp, Micrococuc sp*
5. POLİMERİK BİYOSURFAKTANTLAR	
▪ Emulsan	*Aretbrobacter calcoaceticus*
▪ Biodispersan	*Aretbrobacter calcoaceticus*
▪ Manan-lipid protein	*Candida tropicalis*
▪ Liposan	*Candida lipolytica*
▪ Karbonhidrat-protein-lipid	*Pseudomonas fluorescens*
▪ Protein PA	
6. PARTİKÜL BİYOSURFAKTANTLAR	
▪ Vezikül ve saçak	
▪ Bütün hücreler	*Artbrobacter calcoaceticus*

Tablo 2.1. Mikrobiyal surfaktantların yapısal tipleri

Biyosurfaktantların Üretimi

Biyosurfaktantlar farklı mikroorganizmalar ve karbon kaynakları kullanılarak sentezlenmiştir. Biyosurfaktant üretiminde kullanılan karbon kaynakları hidro-karbonlar, karbonhidratlar ve bitkisel yağlardır. Biyosurfaktantlar sentetik surfaktantlar ile ekonomik yönden yarışamazlar. Üretim fiyatlarını düşürmek için diğer yeni karbon kaynaklarını araştırmak gerekir. Endüstriyel atık olan zeytin yağı pres atık suyu, peynir

yapımından kesilmiş sütün suyu, cassava un suyu, molasses ve kullanılmış bitkisel yağlar da biyosurfaktant üretimi için kullanılabilir.

Mikroorganizmalar

Biyosurfaktantlar çeşitli *prokaryotlar* ve *eukaryotlar* tarafından üretilmişlerdir. Mikrobiyel surfaktantlar lipidal moleküllerdir ve oluşumları, kimyasal yapıları ve özellikleri geniş olarak incelenmektedir. *Rhodoccocus* ve *corynebacterium* hidrofobik subsratta mikroorganizmanın büyümesi boyunca üretilen gruba örnek verilebilir. P*seudomonus aeruginosa* and *T. Bombicola* ise suda çözünen ve hidrofobik subsratta büyüyen gruba örnektir. Doğru substrat seçimi uygun mikroorganizmaların seçimi için geliştirilmelidir (Akbaş ve Dane, 2010).

Biyosurfaktantların Avantajları

1. Biyolojik olarak bozunmaları
2. Kimyasal farklılıklarla geniş seçim olanağı
3. Biyo-rekabet edilebilirlik ve sindirilebilirlik
4. İşlenmemiş metallerin kullanılırlığı
5. Çevre kontrolünde kullanımı
6. Uygun üretim ekonomisi
7. Genellikle düşük toksisite (Kosaric, 1992)
8. Antioksidan aktivite (Yalçın ve Çavuşoğlu, 2010).

Biyosurfaktantların Kullanım Alanları

Birçok endüstri sektöründe (örneğin; petrol ve petrokimyasallar, organik kimyasallar, gıda ve içecek, kozmetik ve farmakotikler, maden ve metalurji, agrokimya ve gübre, çevre kontrölü ve yöneticilik ve diğer endüstrilerde) emülsifier, de-emülsifier, ıslatma maddesi, dağıtıcı madde, köpürtücü madde, fonksiyonel gıda içeriği, deterjan olarak kullanılabilirler (Kosaric, 1992).

2.1.5.Yüzey Aktif Maddelerin Fonksiyonel Özellikleri

1) Misel oluşturma
2) Emülsiyon oluşturma
3) Köpük oluşturma
4) Islatma ve Temizleme
5) Çözündürme
6) Flotasyon

2.1.6.Yüzey Aktif Maddelerin Kullanım Alanları

1) Deterjanve temizleyiciler
2) Boya ve vernik kaplama
3) Kozmetik ve kişisel bakım ürünleri
4) Eczacılık alanında
5) Yiyecek ve paketleme
6) Kağıt ve selüloz üretimi
7) Bitki koruma ve böcek kontrolü
8) Plastik ve kompozit maddeler
9) Tıbbi ve biyokimyasal araştırmalarda
10) Metal işleme prosesleri
11) Teskstil ve iplik sanayi
12) Yağ alanındaki kimyasallar
13) Deri ve kürk sanayinde
14) Madencilik ve flotasyon
15) Diğer ileri teknoloji alanlarında
16) Kimyasal ve diğer endüstriyel uygulamalarda
17) Gıda, ilaç, ziraat, fotoğraf endüstrisi, yapıştırıcılar, yol yapımı, maden ve metalürji petrol saha kimyasalları, yangın söndürücülerden inşaat malzemelerine kadar oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olduklarından günümüzde bu maddelerle ilgili çalışmalar devam etmektedir.

2.1.7.Yüzey Aktif Maddelerin Tarımda Kullanımı

Yüzey aktif maddeler sulu sistemlerde yüzey gerilimini azaltarak, yapraklara uygulanan herbisitlerin, diğer pestisit ve yaprak öldürücü maddelerin etkinliğini artırmak için kullanılır. Fakat yüzey aktif maddelerin bitkilerin büyüme ve gelişmelerinde, stimülatör etkisi olduğu kadar inhibitör etkisinin olduğuna dair kanıt vardır (Parr ve Norman, 1965). Maksimum yüzey gerilimi düşürmek için gerekli olan optimum surfaktant konsantrasyonu surfaktanta bağlı olarak % 0,1'dir (Singh ve Orsenigo, 1978).

Adjuvant, pestisit formulasyonlarına ve tank karışımlarına konulan, karışımı ve uygulamayı geliştiren veya performansı artıran kimyasal maddedir. Bir adjuvantın akıllıca kullanımı ile pestisit bileşiğinin etkinliği 5-10 kat çıkarılabilir. Birçok pestisit formülasyonları adjuvantların en azından küçük bir yüzdesini içerir. Islatma maddeleri ve serpmeler pestisit kullanıcıları tarafından en sık eklenen adjuvantlardır (http://courses.cropsci.ncsu.edu/cs414/cs414_web/CH_6_2005.htm).

Herbisidal katkılar için kullanılan terminoloji kafa karıştırıcıdır. Genellikle yaprak yüzeyinde, sprey karışımında suyun yüzey gerilimini azaltan ya da sprey solusyonunun ıslanılabilirliğini artıran herhangi bir malzeme uygun adjuvant olarak kabul edilir. Fakat tarımsal adjuvantların gerçek rolü ve fonksiyonu tam olarak anlaşılmamıştır. Advuvanlar herbisidlerin aktivitesini kolaylaştıran veya herbisit solusyonlarında veya sprey solusyonlarında herbisit özelliklerini kolaylaştırıp değiştiren materyallerdir.

Herbisitlerle kullanılan adjuvantların üç temel tipi vardır:

1) **Aktivatör adjuvantlar**: surfaktantlar, ıslatma maddeleri, penetranlar ve yağlar.
2) **Sprey modifiye edici maddeler**, yapıştırıcılar, film biçimlendiriciler, serpmeler, serpme-yapıştırıcılar, depozit inşacılar, kalınlaştırma maddeleri ve köpürenler.

3) **Yararlı modifiye ediciler**, emülsifiyeler, seyrelticiler, sabitleştirilmiş maddeler, bağlama maddeleri, ko-çözücüler, uygunluk maddeleri, tamponlayıcı maddeler ve köpürmeyen maddeler.

Şu açıktır ki, kullanım ve amaçların bu dizilimi ile adjuvant terimi ıslatma maddesi ve surfaktantdan daha geniş bir anlam kapsar. Her ıslatma maddesi ve surfaktant adjuvant olmadığı gibi, her adjuvant, surfaktant veya ıslatma ajanı değildir. Herbisidal aktivite üzerinde çok az etkisi olan birçok adjuvant vardır. Bunlar **yararlı modifiye ediciler**dir.

Sprey modifiye edici maddeler ve yararlı modifiye ediciler, genellikle herbisit formülünün içinde bulunur ve üretici tarafından herbisit ürünün içine eklenir. Aktivatör maddeler ise en çok bilinen adjuvantlardır çünkü normalde kullanıcı tarafından ayrı olarak satın alınır ve herbisidiyal solüsyona sprey tankında eklenir. Yinede istenilen sonuca ulaşılabilmek için zaman zaman bu üç sınıf adjuvantdan sprey solusyonuna eklenebilir.

Surfaktantlar

Uygun seçim yapma ve yüzey aktif maddenin herbisit ile kullanımıyla sık sık karışıklıklar oluşur. Suyun yüzey gerilimini azaltan veya sprey solüsyonun ıslatabilirliğini artıran herhangi bir madde surfaktant madde olarak kullanılabileceğini düşünmek yanlıştır. Örneğin, ev sabun ve deterjan gibi ürünler püskürtme ekipmanının performansına engel olacak çökelti ve köpük oluşması için sert su ile birleştirebilir. Ayrıca çoğu sıvı detejanda surfaktant maddelerden çok az konsantrasyonda vardır (%10-20). Tarımsal surfaktantlar ise %50-90 oranında bulunur. Tarımsal surfaktantlar çökelme oluşturmazlar, sert ve yumuşak suda sıcak veya soğuk sudaki kadar eşit etkilirler (http://www.extension.purdue.edu/extmedia/WS/WS-7.html).

Islatma maddeleri olarak dört grup surfaktant kullanılır: anyonik, katyonik, noniyonik ve amfoterik. Anyonik ve katyonik surfaktantların suda elektrik yükleri vardır (Negatif ve pozitif, sırasıyla). Noniyoniklerin eletrik yükleri yoktur. Amfoterik surfaktantların solüsyonun pH'sına bağlı olarak farklı yükleri vardır (http:// courses. cropsci.ncsu.edu/cs414/cs414_web/CH_6_2005.htm).

Katyonik surfaktantlar bitkiler için çok toksik maddedir ve seçici herbisitlerde kullanılmaz. Ancak, kırpılmış araziyi temizlemek için kullanılan seçici olmayan herbisitler için kullanılır. Anyonik surfaktantların mükemmel köpürme yetenekleri vardır ve sık sık herbisit dağılması için non-iyonik yüzey aktif madde ile karıştırılır. İkisi de tek başına kullanılabilirler. Amfoterik surfaktantların tarımda kullanımı çok nadir olmuştur. Belirli pestisitlerin özelliklerini birleştirmek için kullanılırlar. Tek başlarına kullanılmazlar (http://www.ehow.com/list_6935277_foamers-used-agriculture-industry.html).

Noniyonik surfaktantlar, genellikle herbisit sprey solüsyonlarına eklemek için satılan türdür. Bu surfaktantlar, iyi dağıtıcı, soğuk suda sabit ve bitkiler ve hayvanlar için düşük toksisitelidir (http://www.extension.purdue.edu/extmedia/WS/WS-7.html).

Sıcak ve soğuk suda çözünebilirler. 1960'ların ilk yıllarında genel kullanıma katılan nispeten yeni bir gruptur. Noniyonik surfaktantlar şimdi surfaktantların toplam üretiminin oldukça büyük bir bölümünü oluşturur (http: //courses. cropsci .ncsu. edu/cs414/cs414_web/CH_6_2005.htm).

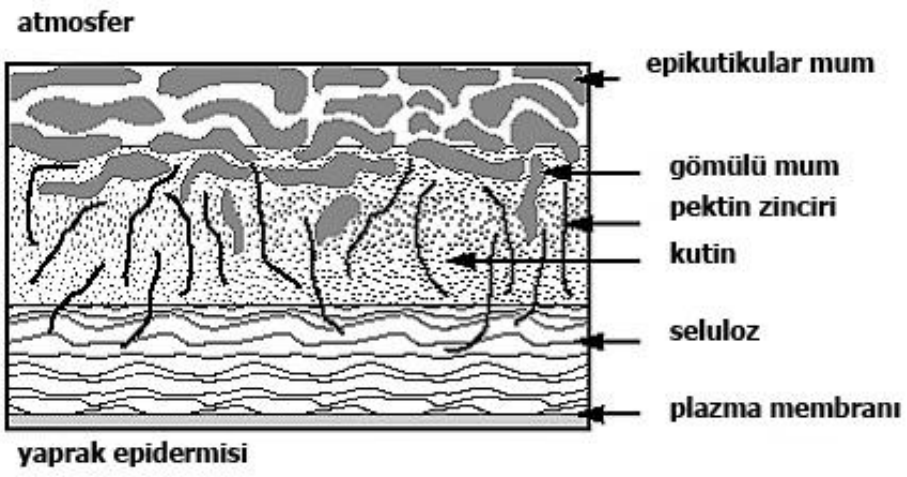
Doğru oranda kullanıldığında, bitkilere zararsızdır ve hemen her tarımsal kimyasalın dağılmasını izin veren mükemmel köpürme yetenekleri sağlar. Zaman zaman toprak örtüsü sağlamak ve ürünleri dondan kırmak için bağımsız bir ürün olarak kullanılırlar (http://www.ehow.com/list_6935277_foamers-used-agriculture-industry.html).

Organo-Silikon Surfaktantlar

Organo-silikon surfaktantlar (OSS) piyasada nispeten yeni bir surfaktant türüdür. OSS'lerin yüzey gerilimini azaltmak için mükemmel bir yetenekleri vardır yaprak yüzeyine yayılan mükemmel bir damlacık oluşturur (Bu yüzden "süper ıslatıcılar" denir). OSS tipik noniyonik surfaktantlarla (NIS) ile harmanlanır. OSS genellikle NIS'tan daha düşük fiyatla (OSS tipik hacim olarak yaklaşık % 0.05 'de dâhil, NIS genellikle hacim olarak % 0.25' de dahil) kullanılmaktadır.

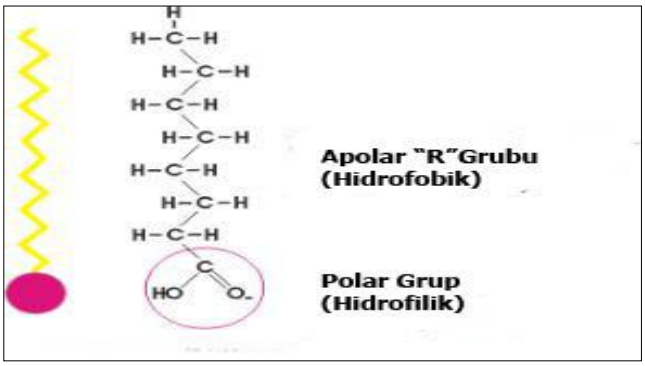
Surfaktantların Mekanizma ve Fonksiyonları

1) Bitkilerin yerüstü kısımları, devamlı, hücresel olmayan, cansız kutikula denilen bir membran ile kaplıdır. Kutikula, su geçirmeyen balmumları, az su geçiren kutin ve pektinden oluşur. Herbisitler, hücrelere etkilerini göstermeden önce kutikul, hücre duvarı (selüloz), hücre zarını (plazma zarı) aşmalıdır (Şekil 2.8). Balmumu epiderm yapraktan uygulanan herbisitlerin nüfuzunda önemli bir engeldir.



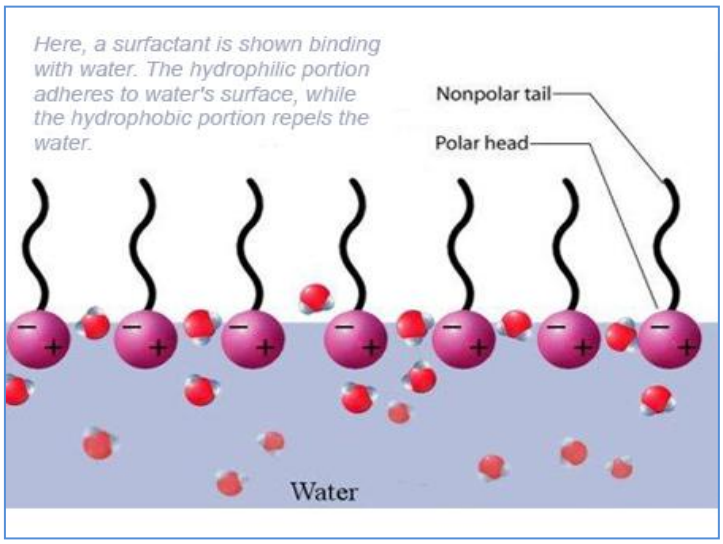
Şekil 2.8. Basitleştirilmiş bitki kutikulası (http://courses.cropsci.ncsu.edu/cs414/cs414_web/CH_6_2005.htm).

2) Bir surfaktant molekülünün (suyu seven) hidrofillik ve lipofilik (yağ seven) olmak üzere iki özelliği vardır (Şekil 2.9).



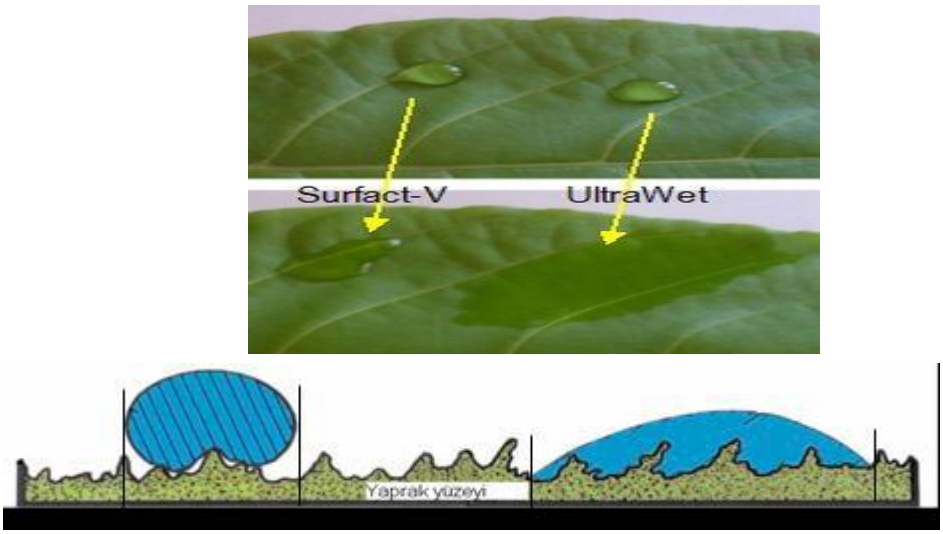
Şekil 2.9. Surfaktantın grafiksel şekli (http://www.d-foam.com/Foam.html).

3) Surfaktantlar, arayüzde hizalayarak su ve lipofilik materyalin karıştırmaya yardım ederler, su ile bağlantılı hidrofilik baş ve lipofilik materyal (yağlı, mumsu) ile bağlantılı lipofilik kuyruk (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Su Yüzeyindeki surfaktant moleküllerinin görünümü (http://www.oilfieldchemicals.in/surfactant.htm).

4) Bir adjuvant olarak kullanıldığında, surfaktantlar yaprak yüzeyine yayılmalarını sağlayarak sprey damlacıklarının yüzey gerilimini azaltır. Surfaktantlar, yaprağın büyük bir bölümü sprey damlacığı tarafından kaplandığı için herbisit absorpsiyonunu artırır (Şekil 2.11). Ayrıca surfaktantların, yaprak mumlarını çözmek ve kutikula geçirgenliğini değiştirmek gibi birçok etkileri olabilir (http://courses.cropsci.ncsu.edu/cs414/cs414_web/CH_6_2005.htm).



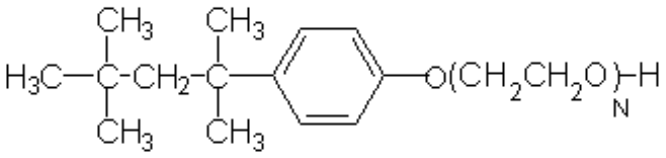
Şekil 2.11. Mumsu yaprak yüzeyindeki damla (http://www.victuslabs.com/9384/index.html).

Surfaktantlar çözeltilerin yüzey gerilimini azaltarak ince bir tabaka halinde yayılmasını sağlar. Çözeltilerin yaprak ya da meyve yüzeyi ile olan teması arttıkça epidermal hücrelere daha fazla kimyasal girmekte ve seyreltici maddelerin etkinliği artmaktadır (Ryugo, 1988). Püskürtme karışımlarına yüzey gerilimini azaltan bu maddelerin (Tween 20 vb.) ilave edilmesi hormonların ve diğer seyrelticilerin yapraklar tarafından alımını büyük ölçüde arttırmaktadır. Surfaktant katılan düşük dozda hormon uygulamaları ile surfaktant katılmamış yüksek dozda hormon uygulamalarının benzer sonuçları verdiği vurgulanmaktadır (Williams, 1979).

Surfaktant kullanımı hem kimyasalın etkinliğini arttırmak hem de kimyasalın daha az miktarda kullanılmasını sağlayarak maliyeti azaltması bakımından önemlidir. Ayrıca, surfaktantlar, seyreltmenin güç olduğu koşullarda yüksek dozda hormon uygulamalarının olası zararlı etkilerini azaltabilmektedir. Tween 20 surfaktantı 100 litre suya 125 ml oranında (800 litre suya 1 litre olarak) katılabilir (Batjer ve Billingsley, 1964).

2.1.8.Triton X-100

Kimyasal ve Yapısal formülü: (C2-H4-O)nC14-H22-O (Şekil 2.12)



Şekil 2.12. Triton X-100'ün açık formülü

Triton X-100 çoğunlukla proteinleri çözünür hale getirmek için biyokimyasal uygulamalarda kullanılan, % 100 aktif noniyonik bir deterjandır. Triton X-100 herhangi bir antimikrobiyal özelliğe sahip değildir. "Triton X" serisi deterjanlar etilen oksit ile polimerize edilmiş oktilfenolden üretilir. ("-100") numarası dolaylı olarak yapı içindeki etilen oksit birimi sayısı ile ilgilidir. Triton X-100 molekül başına ortalama 9.5 etilen oksit birimi ve 625 ortalama moleküler ağırlığa sahiptir. Hücreleri parçalamak için, suda tipik olarak yaklaşık % 0,1 Triton X-100 çözeltisi yeterli olacaktır ve hatta % 0,5 'i kadar konsantrasyonu genellikle izole edilen enzimlere zarar vermez (http://www.snowpure.com/docs/triton-x-100-sigma.pdf).

Birçok enzim Triton X-100 varlığında aktif kalır, örneğin, Proteinaz K, X-100 ün % 1 (w / w) çözeltisinde aktif kalır (Burrel, 1993).

Belirli bir uygulama için, uygun bir yüzey aktif madde seçimi, yüzey aktif maddenin çözünürlüğü, polaritesi ve misel boyutundan hedef çözünen ile aksiyon mekanizmasına kadar bir dizi değişkene bağlıdır. Literatürde çok sayıda makalesi bulunmaktadır:

- (Eritrosit) membranların çözünürleştirme için deterjan (Grant ve Hjerten, 1977).
- (Sitokrom) membran çözünürleştirme üzerine hidrofil-lipophil dengesi (Slinde ve Flatmark, 1976).
- Membran proteini ile polioksietilen glikol deterjan etkileşim modu (Le Maire vd., 1983).
- Yüzey aktif madde ve protein saflaştırma kullanımı hakkında genel arka plan (Neugebauer ve Hjelmeland, 1990)

TRİTON X-100 son derece etkili bir deterjandır. Tekstil temizleme

uygulamalarında etkilidir ve ev ve endüstriyel yıkama için tasarlanmış formülasyonlarda kullanılmaktadır, sert yüzey temizleme uygulamaları için mükemmel performans sunmaktadır.

Ev ve sanayi için özel formülasyonlar performansını artırır. İstisnai bir sert yüzey temizleme deterjanı olmasından dolayı yüzey temizleyicileri, sterilize edici deterjanlar ve metal temizleyicileri için uygundur. Hızlı ıslatma özellikleri ve kumaşlar için kullanılan iyi bir deterjan olduğundan, Triton X-100 çamaşır ürünleri ve tekstil fabrikası işlemleri için önerilir.

Triton X-100 toz azaltmak ve deterjan etkinliğini arttırmak için pudralı ürünlere eklenebilir; % 0,25 gibi düşük konsantrasyonlarda etkilidir. Yüzde 10 kadar Triton içeren pudralı formülasyonlar, onların serbest akışlı özelliklerini koruyabilir. İstek üzerine, pudralı preperatlara sıvı yüzey aktif madde eklemek için spesifik öneriler mevcuttur. Triton X-100 büyüyen ürünlere uygulanan veya hasat sonrası muameleler için kullanılan pestisit formülasyonları içerisinde de kullanılabilir (www.shunchia.com/doc/x100.doc).

1946'da yayınlanan "DDT ve diğer insetisitler ve kovucular" başlıklı bir ABD askeri el kitabı Triton X-100'ün içerikten ayrılmasını önlemek ve DDT emilimini artırmak amacıyla DDT püskürtme işlemlerinde ana bileşen olarak kullanıldığını ortaya çıkarmıştır. Deri emilimi ve inhalasyon ile çok az, yutulması ile hiçbir tehlike olmadığından, emulsifiye edici madde çalışmaları, öncelikle cilt üzerindeki etkileri ile sınırlı kalmıştır. Ayrıca, DDT emilimini artırmaları ile ilişkileri önemli bir ölçüde incelenmiştir. Triton X-100 ile yapılan bilimsel çalışmalar yukarıdaki ifadelerin yanlış olduğu kanıtlar. Aslında Triton X-100 apoptosis adı verilen hücre intiharına neden olur. Triton X-100 içeren karışımlar, 1940'ların sonu ve 1950'lerin başında çocuk felci salgının yüksek olduğu dönem boyunca, sebze ve bitkiler üzerine doğrudan püskürtülmüştür. Ayrıca "The Centers of Disease Control" adlı web sitesine göre Influenza (Fluarix, Fluzone) aşısı içerisinde Triton X-100 bulunmaktadır. Triton X-100,

- Beyini koruyan kan-beyin bariyerini bozabilir,
- Bağışıklık sistemini baskılayabilir,
- Sıçanlarda epileptik nöbete neden olur,
- Sıçanlarda dişi organlarının gelişimini hızlandırır,
- Sıçanlarda enjeksiyonu yapılan bölgede kansere neden olur,

- Muhtemelen viral veya bakteriyel enfeksiyonları teşvik eder,
- Alyuvarları parçalar,
- Sıçanlarda kalbe zarar verir (http://vactruth.com/2011/09/10/wwii-military-handbook-reveals-pesticide-chemicals-used-in-infant-vaccines/).

2.2.Yüzey Aktif Maddelerin Toksik Etkileri

2.2.1 Mikroorganizmalar Ve Böceklerde

Surfaktantların bakteriler için toksik olabileceği iyi bilinmektedir. Noniyonik surfaktantlar genellikle iyonik surfaktantlarda daha az toksik olmasına, gram-negatif bakteriler genellikle gram pozitif bakterilerden daha az duyarlı olmasına rağmen (Swisher, 1987), yüksek konsantrasyonlarda olumsuz etkisi olabilir. Fakat Triton X-100, Tergitol NPX, Brij 35 ve Igepal CA-720 'in gram-negatif *Pseudomonas* üzerinde toksik etkisi olmamıştır. Maksimum büyüme oranı ve hücrelerin oksijen alımı oranını surfaktant varlığı etkilememiştir (Volkering vd., 1995).

Kapasiteleri ve etkileşimleri nedeniyle protein ve fosfolipid ile noniyonik surfaktantların mikroorganizmalar ve böcekler üzerinde birçok biyolojik etkiler gösterir. Bu etkiler bazı biyoteknolojik ve immünolojik süreçlerinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Tween 80, ligninase üretimini ve *Phanerochaete chrysosporium* mantarının büyümesini artırmıştır. Polietilen glikol 600, *Bacillus subtilis*'in y-amilaz üretimini artırırken, sürfaktan karakterinin biyolojik verimlilik üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu tekrar kanıtlayarak Triton X-100, and Tween 80 etkisiz kalmıştır. Tween 80 Neurospora crassa'nın intervaz salgısını değiştirmiştir. Molekül kütlesi 7,90 Da olan blok polimerler polietilen oksit-polipropilen oksit, *Streptococcus pneumoniae*'den kaynaklanan hexasaccharide protein konjugatlarına karşı antikor salgılanmasını teşvik etmiştir. Aynı blok-polimerler, normal ve Xid farelerde poliklonal antiserumlarda *Streptococcus pneumoniae* tip 3e karşı antikorların aviditesini artırmıştır (Cserhati, 1995).

Noniyonik surfaktantlardan polietilen glikol hücre füzyonunu arttırır (Prado vd., 1989). Triton X-100 ve Triton XR depolanmış domateslerde bulunan *Mucor mucedo'*da

spor çimlenmesini ve çimlenme tüplerinin büyümesini bastırır **(**Reyes, 1992**).** Triton X-100 hücre otolizini uyararak *Bacillus subtilis* hücre ölümüne neden olur (Cho vd., 1990). Surfaktantların otolizin düzenleyici sistemini etkilediği ve *B.subtilis*'te otolizin aktivasyonunu etkilediği ileri sürülmektedir (Tsuchido vd., 1990). Nonilfenol etilen oksit-asetatın iki tipinin *Photobacterium phosphoreum, Serratia marinorubra Acinetobacter calcoaceticus*'un büyümesine etkisi olmamıştır (Poremba vd., 1991). Fakat heterotrof deniz kaçılılarının büyümesini engellemiştir. Noniyonik yüzey aktif maddeler (Activator NF ve Ortho X-77) *Chironomus riparius* larvaları için orta düzeyde toksiktir (Buhl ve Faerber, 1989). Toprak ve yüzey sularında noniyonik yüzey aktif maddelerin akıbeti gayretle çalışılmıştır (Knaebel ve Vestal, 1992). Tween bileşikleri (sırasıyla Tween 85>Tween 80>Tween 60) *Anabaena variabilis'*in sulu süspansiyonları içinde hidrojen üretimini uyarır (Famiglietti vd., 1993). Bu bulgu surfaktantların etkilerinin hidrofobik tarafınkarakterine ve polar etilen oksit zincirinin uzunluğuna göre değiştiğini kanıtlamaktadır. Polialkilen glikoller *Saccharomyces cerevisiae'*de hücre büyümesi, canlılık ve alkol üretimini geliştirir (Benchekroun ve Bonaly, 1992). Daha fazla etilen oksit grupları içeren surfaktantlar *Mysidopsis bahia'*da düşük toksisite göstermiştir (Hall vd., 1989). Noniyonik surfaktantlar birçok mikroorganizmaların büyümesini uyarabilir ya da inhibe edebilir. Bu etkilerin insan sağlığı, biyoteknoloji, çevre koruma ve agrokimya üzerinde belirgin bir etkisi vardır (Cserhati, 1995).

2.2.2.Bitkilerde

Bitki büyümesinde surfaktantların etkisi genelleştirilemez. Farklı surfaktantların farklı bitkiler üzerinde farklı etkileri vardır. Belli bir surfaktantın etkisi bitkinin farklı bölgelerinde değişebilir (Şekil 2.13). Yapılan çalışmalarda;

- Vatsol OT'un *Sorgum* yapraklarında (Foy, 1961), Tween-20'nin çam fidelerinde (Sopmeyer, 1961), Heksadekanol ve Dokosanol tarafından tütün fidelerinde (Bourget ve Parups, 1963), Santomerse No. I'in yonca tohumlarının çimlenmesi üzerinde (Spurrier ve Jacobs, 1955) ve Surfaktant-WK'nın (Dodesil eter polietilen glikol) şeker kamışı üzerindeki fitotoksik etkileri (Singh ve Orsenigo, 1984) saptanmış,

- Tween-20 ve Tween-80'nin arpada potasyum alımını inhibe ettiği (Parr ve Norman, 1964) ve
- Tween-80'nin fasulyede fosfor translokasyonu azalttığı gözlenmiştir (Swanson ve Whitney, 1953).



Şekil 2.13. Surfaktantın bezelye üzerinde olumsuz etkisi

Bitki türleri üzerinde noniyonik surfaktantların direkt etkisi nadiren incelenmiştir, çünkü genellikle surfaktantlar bitkilere çeşitli tarım ilaçları ile birlikte uygulanır. Nonyonik surfaktantların *Nicotiana tabacum*, *Beta vulgaris*, ve *Tradescantia albiflora* 'da fitotoksik belirtilere neden olduğu bulunmuştur (Cserhati,1995).

Czarnota and Thomas'a göre (The Univ. Of Georgia), noniyonik surfaktantların solusyonlarda elektirk yükleri yoktur ve tarımda en çok kullanılan surfaktantlardır. Doğru kullanıldıklarında bitkilere zarar vermezler, sabit kalırlar, yüzey gerilimini düşürmede iyi iş çıkarırlar. Ancak uygulama miktarı çok önemlidir. Fazla miktarda uygulandıklarında bitkilere zarar verirler (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Noniyonik surfaktantın *Viola spp.* 'de tahribatı, nod küçülmesi(http://www.caes.uga.edu/publications/pubDetail.cfm?pk_id=7678).

Yüksek veya düşük miktarda etilen oksit içeren surfaktantlar daha az etkilidir. Daha hidrofilik olan (daha az etilen oksit grupları içeren) surfaktantların, *Phaseolus vulgaris*'in etilen evolüsyonu ve yaprak büyümesi üzerinde en küçük etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Noniyonik surfaktantlar buğday fidelerinin köklerinde büyük ölçüde net potasyum akışını azaltmıştır, etkileri etilen oksit grupların sayısı ve surfaktantın genel hidrofobikliğine bağlıdır. Bu surfaktantların börülce yapraklarındaki toksisitesi etilen oksit zincirinin uzunluğuyla ilişkili bulunmuştur.. Bu veriler surfaktantların fizikokimyasal parametrelerinin fitotoksik faaliyette önemli ölçüde rol oynadığını düşündürmektedir. Benzer sonuçlar surfaktantlar pestisitler ile birlikte kullanıldığında zaman bulunmuştur. Oktilfenoksi surfaktantlar DDT ve atrazinin yapraktan emilimini artmıştır. Bu etki surfaktantların lipofil- hidrofil dengesi ile ilişkili bulunmuştur (Cserhati,1995).

Deiyonize suya eklenen noniyonik surfaktantlar Triton X-100 ve Genapol C-80 (1 g l^{-1}), yeşil yapraklı *Euphorbia pulcherrima* braktelerine uygulandığında aşırı fitotoksisiteye neden olmuştur (Şekil 2.15). Kalsiyum klorür veya nitrat gibi kalsiyum ilavesi, artan konsantrasyonlarda sürfaktan kaynaklı nekrozu azalttı (Uhlig ve Wissemeier, 2000).



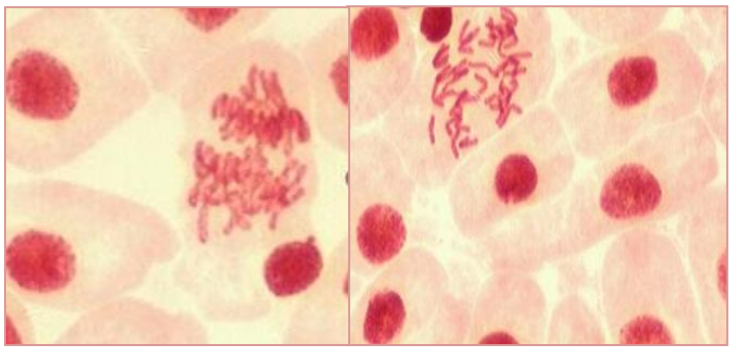
a **b** **c**

Şekil 2.15. Noniyonik surfaktantların (Triton X-100, Genapol C-80) *Euphorbia pulcherrima* Willd. brakteleri üzerinde fitotoksik etkisi a) Laminanın üst kısmında: 1 g % 0,1 surfaktant, Laminanın alt kısmında:100 mM Kalsiyum klorit ve 1g % 0,1 surfaktant, Çözünmüş % 0,1 Genapol C-80 spreyinin (b) veya (c) 100 mM CaCl2,CaCl2'siz Genapol C-80 uygulananda renk kaybı (Uhlig ve Wissemeier, 2000).

Surfaktant-WK % 0,5,% 1,0 ve % 2,0 (v / v) konsantrasyonlarında şeker kamışı için aşırı fitotoksiktir. Fitotoksisitenin muhtemel nedenleri, protein denatürasyonu ve çökelmesi gibi biyokimyasal tiplerin veya protein-surfaktant komplekslerinin oluşumu olabilir (Glassman, 1948, Mitchell, 1951, Parr ve Norman 1965, Putnam ve Neurath 1944, Wyss, 1951).

Anyonik sentetik surfaktant olan ABS (Alkil benzen sülfonat) ve bir noniyonik surfaktant olan Citowett (izooktifenol)'in hücre bölünmesi üzerine olan etkileri *Allium cepa* L. bitkisi üzerindeki çalışmalarda araştırılmış ve negatif etkileri saptanmıştır. Araştırıcılar ABS ve Citowett'in hücre bölünmesi üzerinde gösterdikleri olumsuz etkilerinin diğer surfaktantlar tarafından da oluşabileceğini ifade etmişler ve bu konudaki çalışmaların arttırılması gerektiğini vurgulamışlardır (Bellania vd., 1991).

Geçen yıl yaptığımız çalışmada (Akbaş ve ark. 2011), iki anyonik surfaktant Sodyum dodesil sulfat (SDS) ve Sodyum dodesil benzen sulfat (DBSNa), iki katyonik surfaktant Setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ve Gemini surfaktant (16-2-6) ve iki noniyonik surfaktant Polioksietilen oktil fenil eter (Triton X-100) ve Polioksietilen 23 lauril eter (Brij 35)'in fitotoksik etkileri test materyali olarak *Allium cepa* L. kullanılarak laboratuvar şartları altında araştırılmıştır. Anyonik ve katyonik surfaktantların fitotoksik etkilerinin fazla olduğu, noniyonik surfaktantlardan Brij35'in stimüle edici etkisinin olduğu görülmüştür. Surfaktantların toksisitesi etilen oksit grupların sayısı ve surfaktantın genel hidrofobikliği ile ilişkili bulunmuştur (Cserhati, 1995). Ayrıca, yaptığımız çalışmada fitotoksik etkilerin Triton X-100'ün düşük konsantrasyonlarında yüksek konsantrasyonlarındakine göre daha az olduğu görülmüştür. Triton X-100'ün, *Allium cepa* kök hücreleri ile yapılan preperatlarda mitoz bölünmesi üzerinde sitotoksik etkilerinin olduğu da dikkat çekmiştir (Şekil 2.16)



a **b**

Şekil 2.16: Triton X-100'ün (%0,375g/L) sitotoksik etkileri a) Anafaz köprüsü b) C-mitoz (144 saatlik muamele)

Toprağa uygulanan anyonik, katyonik ve non-iyonik deterjan yüzey aktif maddelerinin bitki gelişimine etkileri ve toksiklik belirtileri araştırılmıştır. Sera koşullarında her üç bitkide (buğday, domates ve soya) anyonik yüzey aktif maddenin uygulanması ile birinci denemede, verimde önce bir yükselme sonra düşme olmuştur. Katyonik ve non-iyonik yüzey aktif maddelerin etkileri önemli olmamıştır. İkinci sera denemesinde ise birinci denemeye göre dozlar altı kat artırılarak uygulanmıştır. Uygulanan yüzey aktif madde arttıkça buğday, soya ve domates kuru ağırlık verimleri azalmış ve bitki gelişiminde gerileme olmuştur. Tarla koşullarında ise üç yıl süreyle devam eden denemelerde artan düzeylerde uygulanan anyonik, katyonik ve non-iyonik deterjan yüzey aktif maddeleri buğday veriminde önemli düzeyde azalmalara ve bitki gelişiminde gerilemeye neden olmuştur (Gedikoğlu vd., 2002).

2.2.3.Hayvanlarda

Noniyonik surfaktantların yaygın kullanımı organizmaların surfaktantları büyük miktarda absorbe edebileceğini ortaya koyar. Toksik etkilerini açıklamak için, çeşitli hayvan modelleri kullanılmıştır. Sıçanlarda, surfaktantlar aynı anda kullanıldığında ksenobiyotiklerin toksik etkilerini artırabilir. Surfaktantlar sıçan kolon ksenobiyotiklerinin emilimini artırır (Martinez-Coscolla vd., 1995). Polisorbat 80, sıçan kolon phenylalkylcarboxylic asitlerin emilimi artırırken (Bermejo vd, 1991), Tween 80 sıçan bağırsağında anthelmintik ilaç olan albendazolün intestinal emilimini artırır (Del Estal vd., 1991).

Noniyonik surfaktantlar kendileri toksik etki gösterirler. Hekzaetoksilat doğrusal birincil alkol (C9 11) sıçanlarda oral yoldan orta düzeyde toksiktir. Temizlik ürünlerinde kullanılan konsantrasyonlarda dermal olarak uygulandığında, ciltte tahriş, sistemik veya üreme toksisite üretmezler (Gingell ve Lu, 1991). Lubrol PX % 0,8 (v / v) (pH 6,98-0,02) ve Triton X-100% 0,5 (v / v) (pH 7,41-0,03) (Kontrol pH 6,23-0,02.), sıçanın proksimal jejunal mukoza yüzeyinde pH'ı anlamlı biçimde artırır (McKie vd., 1991). Emulgen 913 (polyoxyethylene glikol nonylphenyl eter) sıçanlarda karaciğer ağırlığı, sitokrom P450, sitokrom b5 ve mikrozomal hem içeriği azaltır fakat hem oksijenaz aktivitesi önemli ölçüde geliştirir (Ariyoshi vd., 1990, Ariyoshi vd., 1991). Noniyonik surfaktantlardan nonoksinol-9 overektomili sıçanlarda nigrosin boyama ve bioelektronik parametrelerin ölçümü ile belirlenen vajinal geçirgenliği değiştirir, Tween 80 ise etkisizdir (Levin ve Parker, 1986, Levin, 1987). Farelerde, polisorbatlar (Tween 20, 21, 80 ve 81) yanı sıra poloksamer andpoloksaminler tam kalınlıkta bir fare derisinin metanol geçirgenliğinde sadece hafif bir etkisi vardır, fakat lipofilik oktanol geçirgenliğini azaltır (Cappel ve Kreuter, 1991) .

Tavşanlarda, noniyonik yüzey aktif madde oküler yolla amelanocyte-uyarıcı hormonun sistemik emilimi artırmıştır. Tavşan kornea epitel hücreleri üzerinde yüzey aktif madde sitotoksisite sırası katyonik> anyonik = amfoter> noniyoniktir, ancak, Triton X-100'ün anyonik yüzey aktif maddeye benzer bir sıralaması vardır. Poloxalene (%30 Polietilenoksit ve %70 polipropilen oksit, 3000 MW) tavşanda nötr yağ ve kolesterol emilimini inhibe etmiştir. Tavşan kornea hücreleri tarafından nötr kırmızısı alımı ile ilgili yapılan çalışma, noniyonik yüzey aktif maddelerin, anyonik katyonik ve amfoter olanlardan, daha düşük toksik etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Cserhati, 1995).

Nijerya'nın ekolojik bölgesindeki Nijer Delta'sına toksik yüzey aktif madde-içeren endüstriyel kimyasalların sürekli salınması sonucu öldürücü etkileri, laboratuvar toksite testi kullanılarak çalışılmıştır. Test organizmaları, acı suyu elde edilen *Tilapia guineensis* (balık) 96 s, 6,25, 12,5, 25, 50 ve 100 mg/L konsantrasyonlarında Neatex (endüstriyel deterjan) ve Norust CR 486 (korozyon inhibitörü)'a maruz bırakılmıştır. Yaygın olarak kullanılan bu iki sürfaktan içeren kimyasalın balıklar üzerinde toksik etkileri oldu. Bu kısa vadeli toksikolojik bir çalışmanın sonuçları, bu zararlı kimyasalların kazara ve istemeden pelajik sucul organizmalar için zararlı olabileceğini,

besin zincirini bozabileceğini (balıklar insanda dahil olmak üzere bir çok türün besinidir) göstermektedir (Ogeleka vd. , 2009).

2.2.4.İnsanlarda

Günümüzde kimyasallar her alanda olduğu gibi evlerimizde de artan miktarda kullanılmaya başlanmıştır. Bir yandan hayatımızı kolaylaştıran bu maddeler, diğer yandan da çeşitli riskler taşımakta ve hayatımızı tehdit etmektedirler.

Deterjan, sabun, şampuan ve parlatıcılar:

Bu gruba giren maddeler non-iyonik yada anyonik yüzey aktif maddelerdir. Non-iyonik yüzey aktif maddeler, yağ alkollerinin etilen oksit ile kondensasyonu sonucu oluşan ürünlerdir. Anyonik yüzeyaktif maddeler ise yağ asitlerinin sodyum, potasyum ve amonyum tuzlarıdır (Henry ve Wiseman, 1997). Ağız yolu ile alındıklarında bulantı, kusma ve ishale yol açan bu maddeler, nadiren dehidratasyon, elektrolit anomalileri, hipokloremik alkaloz ve metabolik asidoza da neden olabilirler. Bu maddelerin göze temasında ise geçici bir irritasyon söz konusudur, kalıcı hasara neden olmazlar. Deride ise kuruma ve irritasyona yol açarlar. Allerjik kontakt dermatiti ve egzama da görülebilir (Micromedex Healthcare Series, 2006). Aspirasyonu halinde üst solunum yollarında ödem ve solunum sıkıntısı görülebilir. Deterjan üretiminde çalışan işçilerde meslek hastalığı olarak öksürük, nefes almada güçlük, göğüste hırlama ve sıkışma hissi gibi bulgularla astım gelişebilir (Wheeler vd., 2003). Bulaşık makinelerinde kullanılan deterjanlar, sodyum karbonat, sodyum silikat ve sodyum tripolifosfat gibi maddelerin ilavesiyle daha alkali hale getirilmiştir. Bu deterjanların, pH'ları 10,5-13 arasında olup, yakıcı özellikte olduklarından gastrointestinal sistemde yanıklara neden olabilirler (Henry ve Wiseman, 1997).

Yumuşatıcılar:

Bu gruba giren maddeler kuaterner amonyum yapısında bileşikler olup katyonik deterjanlardır. Katyonik deterjanlar anyonik ve non-iyoniklere göre çok daha toksik maddelerdir. %7.5'un üzerindeki konsantrasyonlarda ağız, farenks ve özofagusta yanıklara neden olurlar. Ağız yolu ile alındıklarında, bulantı, kusma, hipotansiyon, metabolik asidoz, santral sinirhepatik nekroz, methemoglobinemi, pulmoner ödem ve

bronkospazm gelişebilir. Hatta solunum paralizisine bağlı olarak hasta kaybedilebilir. Göz temasında ise, %0,1'lik konsantrasyonlarda hiçbir etki görülmezken, %10'luk solusyonlarda ciddi korneal hasar görülür (Ellenhorn ve Barceloux, 1997).

İnsan derisinin yüzey aktif maddeler ile temas halinde olması en yüksek ihtimaldir. İnsan deri fibroblastları kültüründe 17 yüzey aktif maddenin sitotoksisitesi belirlenmiştir ve Brij 35, 58, ve 99 yüksek sitotoksik olduğu tespit edilmiştir. Fetal buzağı serumu eklenmesi, muhtemelen yüzey aktif maddeye bağlanarak ve serbest yüzey aktif maddelerin konsantrasyonlarını düşürerek toksisiteyi azalmıştır (Cornelis vd., 1991). Brij 78, Brij 99 ve Triton X-100, Tween 40 ve 80 daha toksiktir (Cornelis vd., 1992). In vivo olarak yüzey aktif maddenin tahriş potansiyelini tahmin etmek için kullanılan yöntem uygun olduğu ifade edilmiştir (Cserhati, 1995).

2.3.Allium Testi

Allium testi, toksisite ölçümünde kullanılan metodlardan birisidir. Çevresel etkilerin belirlenmesinde kullanılan temel araştırmalarda, bitki materyalinin kullanılması yerinde ve faydalı bir metottur (De serres, 1978) Bu tür araştırmalarda bitkilerin kullanılmasının birçok nedeni vardır. Bitkilerin depolanması, taşınması ve kullanılması çok kolaydır, ucuzdur, genellikle güzel ve iyi gözlenebilen kromozomları vardır. Buna ilaveten bitki kökleri biyolojik testler için çok faydalı materyallerdir. Çünkü kök uçları, doğada toprağa ve suya karışan kimyasallara maruz kalan ilk yapılardır (Yüzbaşıoğlu, 2001).

Allium kök uçları, kimyasalların neden olduğu biyolojik etkilerin araştırılmasında, Allium testinin ilk kez LEVAN tarafından icat edildiği günden beri kullanılmaktadır (Levan, 1938). Allium testi, son derece hassas ve tekrarlanabilir olduğu için kolay uygulanan, nispeten hızlı bir testtir. Aynı zamanda, diğer birçok deney sistemi ile karşılaştırılabilir sonuçlar sağlar. Makroskopik ve mikroskopik etkileri gözlenebilir ve bu ikisi arasında iyi bir ilişki olduğu görülür. Makroskopik etkisi (kök büyümesini engellediği) en hassas parametre olarak gözükmektedir. Bu büyüme inhibisyonu ile sonuçlanması beklenen herhangi bir direk ve indirek zararlı etkidir. Mikroskopik inceleme kromozom hasarı ve hücre bölünmesi bozukluklarının değerlendirilmesini sağlar, böylece toksik etkinin şiddeti veya mekanizması veya

potansiyel mutajenite hakkında ek bilgi sağlar. Sistem geniş bir uygulama alanına sahiptir (örn saf kimyasallar, içme suyu, doğal su, endüstriyel atık) ve toksik referans ile çevresel kimyasalların değerlendirilmesi ve sıralanması için yararlıdır (Fiskesjö, 1995). Bunun yanında diğer birçok kök ucu sistemleri de klasik bir metot şeklinde kullanılmakta olup, bu bitkilere *Vicia faba* (Kihlman, 1975) ve *Tradescantia* (Ma ve Grant, 1982) örnek verilebilir.

Yüksek yapılı bitkiler, kimyasalların kullanımı veya çevresel kirliliğin neden olduğu muhtemel genetik hasarın belirlenmesinde birinci sırada yer alan alternatif test sistemleri olarak deneysel çalışmalarda özgül avantajlara sahiptir. Yani, bitki köklerinin meristematik mitotik hücreleri çevresel kirleticilerin "klastojenite"sinin (kromozom kırılması ve/veya buna bağlı olarak kromozom parçalarındaki kayıp, artma ya da düzensizliklerin olması**)** belirlenmesi için uygun bir sitogenetik materyaldir (Ma vd., 1995).

Çevresel kirleticilerin (atık sular, pestisitler, herbisitler vb.) toksik ve genotoksik etkileri, yaygın olarak kullanılan *Allium* kök büyümesi inhibisyonu testi ile belirlenen etkili konsantrasyon ve farklı uygulama süreleri temelinde mitotik indeks, mitotik anormallikler, kromozom aberasyonları ve mikronükleus olusumları ile belirlenebilmektedir. Mitotik indeksteki azalma, kontrole göre %22'nin altına düşerse letal etki (Antonsie-wiez, 1990), %50'nin altına düşerse subletal etki (Panda ve Sahu, 1985) değeri olarak kabul edilmektedir. Bu değerler, sitotoksik sınır değerleridir (Sharma, 1983).

Allium test metodu, kullanılan kimyasalın çeşitli toksik ve klastojenik etkilerini direkt olarak göstermektedir. Bunun da ötesinde, bitkiler insanoğlunun en büyük yiyecek kaynağını oluşturması nedeniylede, çevresel kimyasalların, bitkiler üzerindeki etkilerinin araştırılması daha önemli ve faydalıdır.

Bütün bu nedenler dikkate alınarak, bu çalışmada Triton X-100 maddesinin fitotoksik ve sitotoksik etkileri olup olmadığı, varsa ne tür etkilerinin olduğunun araştırılmasında Allium testi kullanılmıştır.

2.4.Hücre Döngüsü

Hücre Döngüsü Ve Mitoz Bölünme

Hücre bölünmesi

Tek hücreli ve çok hücreli organizmaların büyüme, gelişme ve çoğalmaları hücre bölünmesiyle sağlanır. Prokaryotik ve ökaryotik hücreler, DNA sentezinin koordinasyonu ve DNA'nın eşit olarak yavru hücrelere paylaştırılması yönlerinden birbirinden farklılık gösterirler. Hücre bölünmesi iki tiptedir;

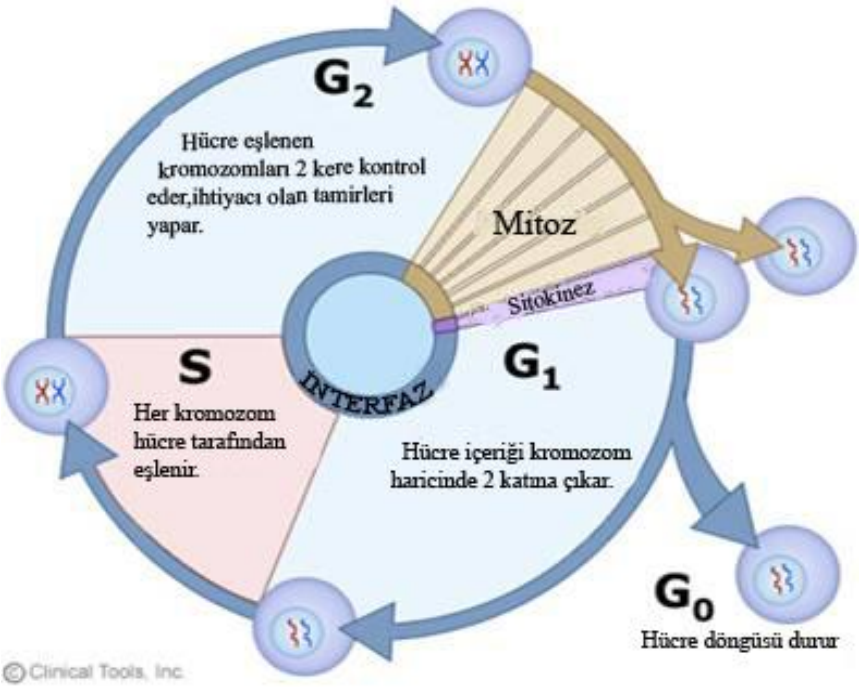
1. Mitoz (Mitosis)

2. Mayoz (Meiosis)

Bunlardan mitoz, diploid somatik hücrelerde, birbirine eşit olarak oluşan hücrelerin genetik özdeşliğini sağlarken, mayoz; haploid germ hücrelerini meydana getirir ve çok hücreli organizmalarda döller arasındaki genetik devamlılığı sağlar.

Hücre Siklusu

Bakterilere zıt olarak, ökaryotik hücrelerde DNA sentezi sürekli değildİr. Hücre bölünmesinden önce sentez işlemi gerçekleşir. DNA sentezi ve hücre bölünmesi arasındaki İlişkinin analizi, bütün hücrelerin büyüme ve bölünme yeteneğine sahip olan memeli hücre kültürlerinde yapılmıştır. Bütün bu çalışmalar DNA sentezinin, ökaryotik hücrelerde hücre siklusunun sentez evresi olarak adlandırılan S fazında olduğunu ortaya koymuştur. S fazından önce ve sonra birer zaman aralığı (Gap) Bu yüzden ortaya çıkar. Hücre siklusu G_1 (ilk aralık), S (sentez), G_2 (ikinci aralık) ve M (mitoz) olmak üzere dört evreden meydana gelir (Şekil 2.17). G_1, S ve G_2 evrelerinin hepsine birden interfaz adı verilir. İnterfaz diğer bir deyimle mitoza hazırlık evresidir. İnterfazın G_1, evresinde; hücre için gerekli RNA ve proteinler sentezlenir, DNA için sentez hazırlığı yapılır. S evresinde; RNA sentezi devam ederken protein sentezi en yüksek düzeye ulaşır. DNA sentezi yapılarak DNA miktarı iki katına çıkar. G_2 evresinde; DNA sentezi tamamlanmıştır fakat RNA ve protein sentezi G_1 evresindeki kadar olmamakla birlikte devam eder.



Şekil 2.17. Hücre döngüsü evreleri- G_1,S,G_2,G_0

Dokulardaki birçok bölünmeyen hücre (dinlenme durumundaki fibroblastlar gibi), S evresinden hemen önce, yeteri kadar büyümemişlerse, hücre siklusunu durdururlar. Böyle dinlenme durumundaki hücrelere G_0 durumunda (veya G_0 hücresi) denir. G_0 birkaç gün, birkaç hafta sürebilir hatta hücre bölünmekten tamamen vazgeçebilir.

M Evresi olayları

M evresi geleneksel olarak 5 evreye ayrılır (Şekil 2.18). İlk 4 evre; profaz, metafaz, anafaz, telofaz, 5. evre ise telofazı takiben gerçekleşen sitokinez'dir. Sitokinez gerçekte anafazda başlar ve mitotik siklusun sonuna kadar devam eder.

1. Profaz (Prophase)

Hücre siklusunda G_2 fazından M fazına geçiş keskin hatlarla olmaz. İnterfaz esnasında yaygın olan kromatin yavaş yavaş yoğunlaşarak belirgin kromozomlar halini alır. Her bir kromozom aslında S fazında duplike olmuş ve her biri iki kardeş kromatid (sister kromatid)'li hale geçmiştir. Bu kardeş kromatidlerin her biri sentromer adı verilen özel bir DNA bölgesi taşır. Bu bölge kromatidlerin uygun olarak birbirinden ayrılmalarında önemli rol oynar. Profazın başlarında sentrioller hücrenin farklı

kutuplarına doğru göç etmeye başlar. Profazın sonuna doğru, interfazda sitoplazma iskeletini oluşturan mikrotübüller dağılır ve nukleus dışında mitoz iğciği oluşmaya başlar. Bu iğcik sentrioller arasında uzanan mikrotübül ve onlara bağlı proteinlerden ibaret çifi kutuplu bir yapıdır.

2. Metafaz (Metaphase)

Metafaz iki alt evrede ele alınabilir:

a) Prometafaz: Prometafaz kesin olarak nüklear zarfın dağılmasıyla başlar. Nüklear zarf çok küçük veziküller halini almış E.R. parçacıklarından ayırt edilemeyen zar vezikülleri halinde parçalanıp dağılır. Bu veziküller bütün mitoz boyunca iğcik çevresinde kalır. Nüklear zarfiın dağılmasıyla iğciği oluşturan mikrotübüller artık nukleusun yer almış olduğu bölgede uzanır. Her bir sentromer üzerinde, kinetokor (kinetochore) olarak adlandırılan, özelleşmiş protein kompleksleri ortaya çıkar ve bunlar iğcik mikrotübüllerine tutunur. Bu mikrotübüller kinetokor mikrotübülleri olarak adlandırılır. İğcikte yer alan diğer mikrotübüller ise polar mikrotübüller adını alır. Polar mikrotübüllerin iğcik dışına doğru uzananları ise astral mikrotübüller olarak adlandırılır. Kinetokor mikrotübülleri her kromozomdaki iki kardeş kromatidten farklı yönlere uzanırlar.

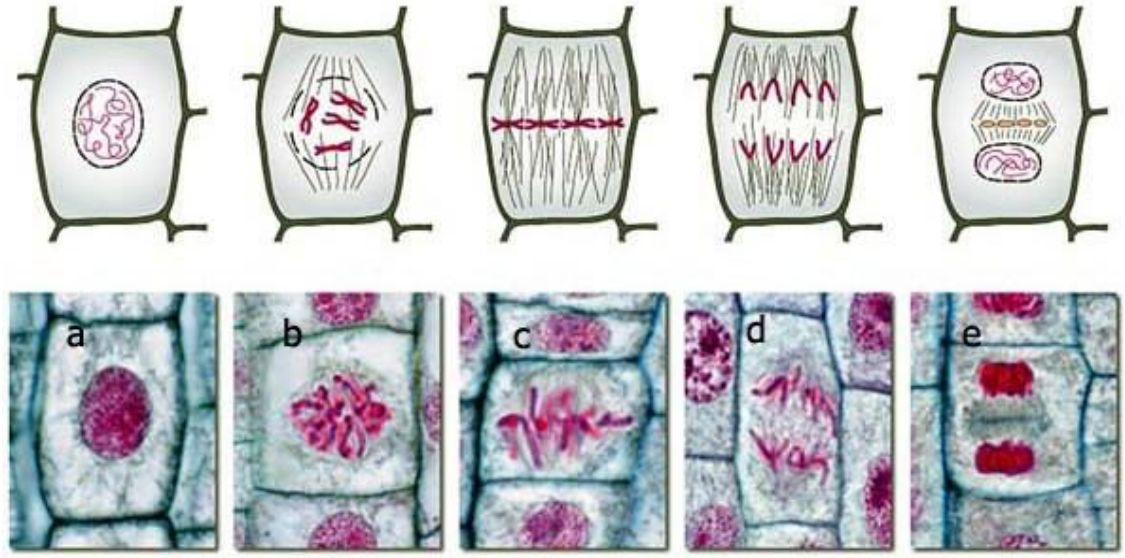
b) Metafaz: Bu evrede kromozomlar kinetokorları ve onları farklı kutuplara bağlayan kinetokor mikrotübüIleri sayesinde metafaz plağında (iğciğin ekvator düzleminde) yer alırlar.

3. Anafaz (Anaphase)

Özel bir sinyal tarafından başlatılır. Anafaz, her bir kromozomdaki kinetokor çiftlerinin ayrılmalarıyla başlar ki bu da her bir kromatidin yüzleştiği iğcik kutbuna yavaş yavaş çekilmesini sağlar. Bütün kromatidler aynı hızla hareket eder. Bu hız yaklaşık olarak dakikada 1 μm dir. Anafaz esnasında iki farklı olay ortaya çıkar: Anafaz A'da kinetokor mikrotübüller kısalır, böylece kromozomlar kutuplara yaklaşır. Anafaz B'de ise, polar mikrotübüller uzamaya başlar, böylece iğciğin iki kutbu birbirinden gittikçe uzaklaşır. Anafaz tipik olarak sadece birkaç dakika sürer.

4. Telofaz (Telophase)

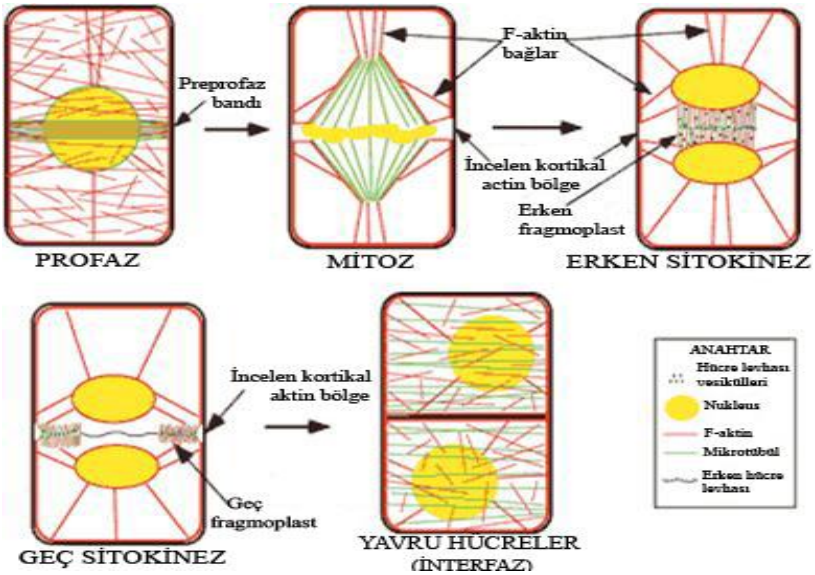
Birbirinden ayrılmış olan kromatidler kutuplara ulaşır ve kinetokor mikrotübülleri görünmez olur. Polar mikrotübüller hala uzamaktadır. Bu esnada yeni kromozomların etrafında yeni nuklear zarf oluşur, yoğunlaşmış haldeki kromatinler yaygınlaşır, nukleolus görünmeye başlar, böylece mitoz sonlanır.



Şekil 2.18. *Allium cepa* hücrelerinde mitoz bölünme evreleri. a İnterfaz, b Profaz, c Metafaz, d Anafaz, e Telofaz

5. Sitokinez (Cytokinesis)

Sitoplazma, ayrışma (cleavage) olarak adlandırılan bir yöntemle bölünür. Bu olay genellikle anafaz esnasında başlar (Şekil 2.19). Hücrenin orta bölgesine (ekvator bölgesine) denk gelen kısmındaki hücre zarı, aktin ve miyozin flamentlerden oluşan kontraktil halkaların etkisiyle, iğcik eksenine dik ve iki yeni nukleus arasında bir ayrışma oluğu (cleavage furrow) oluşturur. Bu oluk mitotik iğciğe yaklaşana kadar gittikçe daralır ve sonunda bu dar bölge iyice daralıp kaynaşarak iki yeni hücrenin oluşumunu sağlar (Güneş, 2006).



Şekil 2.19. Bitki hücresinde sitokinez

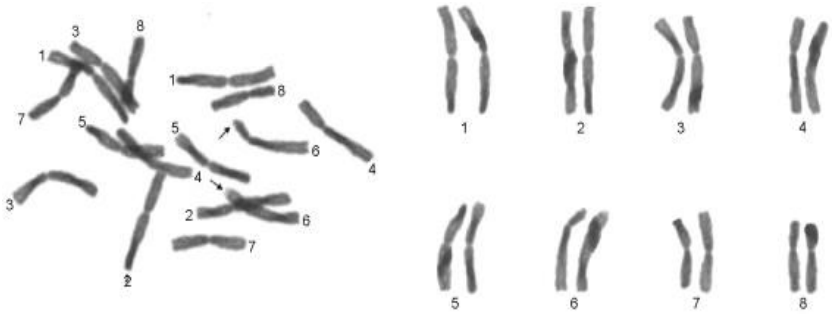
BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1.Materyal

3.1.1.Test Materyali

Bu araştırmada, *Allium cepa* L. (mutfak soğanı) (2n=16)(Şekil 3.1.) kullanılmıştır. Kolay ve ucuz elde edilmesi, her zaman kök oluşturma yeteneğine sahip olması ve dolayısıyla kök ucu meristem bölgesinden mitotik hücre elde edilebilmesi, kromozom sayısının az ve kromozom boyutlarının büyük olması nedeniyle kimyasalların toksik etkilerinin belirlenmesi için birçok araştırmada kullanılmıştır.



Şekil 3.1. *Allium cepa* L. karyotipi (Leme ve Morales, 2009)

3.1.2.Test Kimyasalı

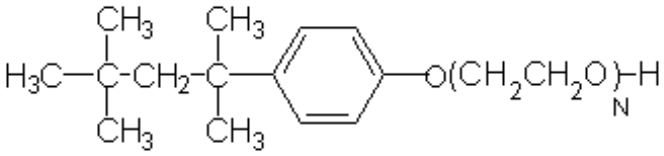
Bu araştırmada, bir noniyonik yüzey aktif madde olan Triton X-100 kullanılmıştır. Bu surfaktanta ilişkin bazı bilgiler aşağıda verilmiştir (http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9927635).

Ticari adı: TRITON X-100

Sinonimleri: Polietilen glikol oktilfenil eter; Oktilfenoksipolietoksietanol; Polietilen glikol mono[4- (1,1,3,3-tetrametilbutil) fenil] eter

Molekül ağırlığı:624 g/mol

Kimyasal ve Yapısal formülü: (C2-H4-O)nC14-H22-O



N = yaklaşık olarak 9.5

Şekil 3.2. Triton X-100'ün yapısal formülü

3.2 Metot

3.2.1. Test Materyalinin Hazırlanması

Soğanlar kullanılmadan önce serin, kuru ve havalandırılan ortamda muhafaza edilmiştir. Denemelerde sağlıklı, yaklaşık 45-50 mm çapında ve eşit büyüklükte soğanlar kullanılmıştır. Köklendirme denemelerinden önce soğanların tabana yakın dış kabukları soyulmuş ve kök primordiyalarına zarar verilmeksizin kuru kökler dikkatlice uzaklaştırılmıştır.

3.2.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddelerin Hazırlanışı

3.2.2.1.Etkili Konsantrasyon (EC_{50}) Değeri ve Test Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Triton X-100 'ün fitotoksik etkilerinin çalışılmasında kullanılacak (EC_{50}) değeri (ortalama kök uzunluğunu kontrole göre %50 azaltan konsantrasyon değeri=etkili konsantrasyon) ve buna bağlı diğer test konsantrasyonlarının (EC_{50}/2 ve EC_{50}×2) belirlenmesinde *Allium* kök büyümesi inhibisyonu testi kullanılmıştır.

Musluk suyu ile doldurulmuş cam bardaklara (50 mm çap ×75 mm uzunluk) yerleştirilen soğanlar 24 saat süreyle köklendirilmiştir. Bu süre sonunda, sağlıklı homojen köklenmenin olduğu soğanlar kontrol (musluk suyu) ve Triton X-100'ün % 0,25 g/L ,% 0,125 g/L, % 0,0625 g/L konsantrasyonlarına (g/L) 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Her 24 saatte bir çözeltiler yenilenmiştir. Deney, 22±1ºC sıcaklıkta ve laboratuvarın direkt güneş ışığı almayan kısmında gerçekleştirilmiştir. Kontrol ve Triton X-100 gruplarının her biri için homojen köklenmiş 10'ar soğan kullanılmıştır.

Triton X-100 'ün %0,125 'lik konsantrasyonda kök uzunluğu ortalama değerinin yaklaşık olarak kontrolün yarısı kadar olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle ortalama kök uzunluğunu kontrole göre %50 azaltan konsantrasyon değeri etkili konsantrasyon (EC_{50}) değeri % 0,125 g/L olarak tanımlanmıştır.

EC_{50} değeri belirlendikten sonra iki katı (EC_{50}X2=% 0,25 g/L), (EC_{50}=% 0,125 g/L) ve yarısı (EC_{50}/2=% 0,0625 g/L) olan Triton X-100 konsantrasyonları esas alınmıştır.

3.2.2.2.Fiksasyon, Hidroliz Ve Boyama İşlemleri İçin Kullanılan Kimyasalların Hazırlanışı

a)Fiksatifin Hazırlanması

Carnoy Fiksatifi (Farmer Sıvısı)

Glasiyal asetik asit .....1 kısım
%100 etil alkol.....3 kısım (Yakar-Tan,1982).

b)Hidroliz İşlemi İçin 1 N HCl Hazırlanması

1 N HCl

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

c)Boyaların Hazırlanması

Feulgen Eriyiği (Schiff Ayıracı)

1 g bazik fuksin 200 ml kaynar suda eritilmiş ve 5 dakika çalkananıp karışım tam 50 °C olana kadar soğutulup süzülmüştür. Süzüntüye 20 ml 1 N HCl eklenerek, 25 °C'ye kadar soğutulmuş ve 1 g Sodyum metabisülfit ($Na_2S_2O_5$) kaynatılıp 14-24 saat karanlıkta bekletilmiştir. Karışım üzerine 2 g aktif kömür tozu eklenerek 1-2 dk çalkalanmış, süzülmüş ve buzdolabında +4°C'de, karanlıkta saklanmıştır.

Feulgen Yıkama Eriyiği

%10 Sodyum metabisülfit ($Na_2S_2O_5$).....5 ml
1 N HCl .....5 ml
Saf su.....100 ml

Aseto Orsein

45 ml kaynatılmış asetik asit içine 2 g orsein atılıp eritilmiş ve soğumaya bırakılmıştır. Eriyik soğuyunca 55 ml saf su eklenerek, süzülmüştür (Ozban ve Özmutlu, 1994).

3.2.3. *Allium* kök büyümesi inhibisyonu ve Kromozom Aberasyon Testi

Triton X-100 'ün fitotoksik etkilerinin belirlenmesinde *Allium* kök büyümesi inhibisyonu testi kullanılmıştır.

Musluk suyunda 24 saat süreyle bekletilen soğanlardan homojen uzunluktaki köklere sahip soğanlar, kontrol (% 0) % 0,25 g/L, % 0,125 g/L ve % 0,0625 g/L Triton X-100 konsantrasyonlarına 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Musluk suyu ile hazırlanan Triton X-100 çözeltileri 48, 72 ve 96 saatlik uygulamalarda her 24 saat sonunda yenilenmiştir. Her muamele için 10'ar adet soğan kullanılmıştır. Ölçümlerde her konsantrasyondaki her bir soğanın en iyi gelişim gösteren 10 kökü ölçülerek (her bir konsantrasyon için= 10 soğan X 10 kök=100 kök), o gruba ait ortalama uzunluk değeri hesaplanmıştır. Fiksasyon, boyama ve preparasyon için tüm soğanların kök uçlarından örnekleme yapılmış ve her soğana ait kökler ayrı bir şişeye konulmuştur.

Mitoz bölünmenin en fazla gün ortası ile gece yarısı olduğu kabul edildiğinden (Yakar-Tan, 1982), fiksasyon işlemleri 12.00-13.00 arasında yapılmıştır.

3.2.4. Fiksasyon, Hidroliz, Boyama ve Preparasyon

Fiksasyon

Soğan kök ucundan itibaren yaklaşık 1-2 cm uzunluğunda kesilen materyaller Carnoy fiksatifine alınarak 24 saat +4ºC'de saklanmış, daha sonra kökler kullanılıncaya kadar %70'lik alkol içerisinde buzdolabında muhafaza edilmiştir (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010)

Hidroliz

Meristem dokusu hücrelerini birbirlerinden ayırıp mikroskobik incelemelerde hücrelerin daha iyi gözlenebilmelerini sağlamak amacıyla kökler %70'lik alkol içerisinden çıkartıldıktan sonra 1N HCl içerisine alınarak 60ºC lik su banyosunda 8 dakika hidroliz edilmiştir.

Boyama

Hidroliz işleminden sonra kökler önce soğuk 1 N HCL ile çalkalanmış, sonra distile su içerisine alınarak, her 5 dakikada bir suyu yenilenmek üzere, 15 dakika için bekletilmiştir. Buradaki amaç HCl'nin etkisini durdurmaktır. Daha sonra kökler bazik fuksin ile hazırlanmış Feulgen eriyiği (Schiff ayıracı) içine alınarak oda sıcaklığında bir saat boyanmıştır (Yakar-Tan, 1982). Erguvani renge boyanan kök uçları Feulgen eriyiğinden çıkarılıp yeni hazırlanmış Feulgen yıkama eriyiğine alınmış ve her birinde 2 dakika tutulan 3 yıkama işleminden sonra 5 dakika akarsuda yıkanmıştır (Ozban ve Özmutlu, 1994). Lam üzerine alınan kök uçlarının uç kısımları alınmış % 2'lik aseto orseinle ezilerek boyanmıştır (Ünal vd., 2008).

Preparasyon

Triton X-100'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks, faz indeksi ve kromozom aberasyon oluşumları üzerine etkisi geçici preparatlar üzerinde incelenmiştir.

3.2.5. Mikroskobik Analizler

Daimi preparatlar, Olympus marka mikroskopta 100X büyütmede incelenmiştir. Kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks ve faz indeksi belirlenmesinde, her uygulama için 10 preparat hazırlanmıştır. Her birinde 500'ün üzerinde hücre olmak üzere yaklaşık 5000 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 500 metafaz ve anafaz hücresi incelenerek kromozom aberasyonları , daha önce yapılmış kromozom aberasyon çalışmaları esas alınarak belirlenmiştir (Çördük ve Akı, 2006, Kıran ve Şahin, 2005, De

Campos ve Viccini, 2003, Fındıklı ve Türkoğlu, 2010, Tabur ve Demir, 2008, Cesur, 2007, Öney, 2009, Gönen, 2007, Dalgıç, 2005, Metin, 2006, Grant, 1978, Oloyede vd., 2009, Fernandes vd., 2009, Seth vd., 2008, Tkalec vd., 2008, Tıpırdamaz vd., 2003, Kalcheva vd., 2009).

Gözlenen kromozom abersayonları şunlardır;

Metafazda, fragment oluşumu, C-mitoz, vagrant kromozom(ileri veya geri gitmiş kromozom), yapışıklık, tabla kayması, anafazda, köprü, yapışıklık, vagrant kromozom, yanlış kutuplaşma. Belirlenen kromozom aberasyonları 10×40 büyütmede Nikon E200 model kameraya duyarlı mikroskop kullanılarak fotoğraflanmıştır.

3.2.6.Verilerin İstatistiki Analizleri

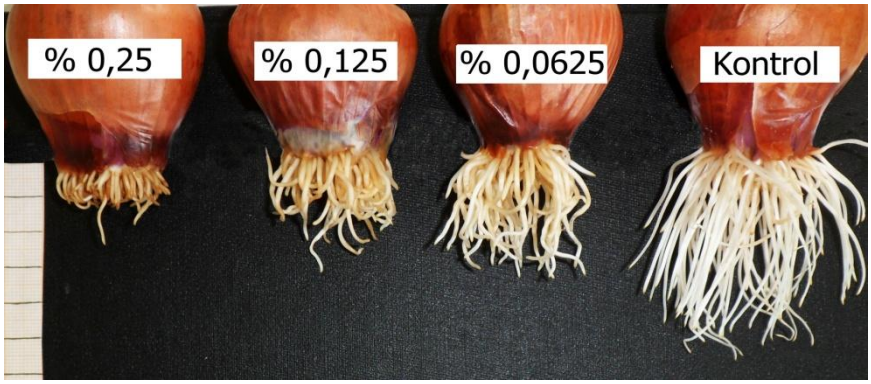
Biyolojik testlerin her birinden elde edilen verilere varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve SPSS v. 10.0 paket programı kullanılarak istatistiki analizler yapılmıştır. Veri ortalamaları arasındaki önemli düzeydeki ($P<0.05$) farklılıklar, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. *Allium* Kök Büyüme İnhibisyonu Testi

Triton X-100 'ün %0,125 'lik konsantrasyonda kök uzunluğu ortalama değerinin yaklaşık olarak kontrolün yarısı kadar olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle ortalama kök uzunluğunu kontrole göre %50 azaltan konsantrasyon değeri etkili konsantrasyon (EC_{50}) değeri %0,125 g/L olarak tanımlanmıştır. EC_{50} değeri belirlendikten sonra iki katı ($EC_{50}\times2$=% 0,25 g/L), (EC_{50}=% 0,125 g/L) ve yarısı ($EC_{50}/2$=% 0,0625 g/L) olan Triton X-100 konsantrasyonları esas alınmıştır. Musluk suyunda 24 saat süreyle bekletilen soğanlardan homojen uzunluktaki köklere sahip soğanlar, kontrol (% 0), %0,0625 g/L, %0,125 g/L ve %0,25 g/L Triton X-100 konsantrasyonlarına 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. *Allium cepa* L. (mutfak soğanı) kök büyümesinin, Triton X-100 konsantrasyonlarına 96 saat süreyle maruz kalma sonucu kök uzamaları Şekil 4.1 ve 4.2'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile uygulama grupları kök uzunluğu ortalamaları arasındaki fark istatistikî açıdan önemli bulunmuştur. Triton X-100 uygulamalarında ortalama kök uzunluğu, kontrole göre önemli derecede ($P<0,05$) azalmıştır. Kök uzunluğu ortalaması bakımından, uygulanan %0,125 g/L ve %0,0625 g/L arasındaki farklar önemsizdir (Tablo 4.1).



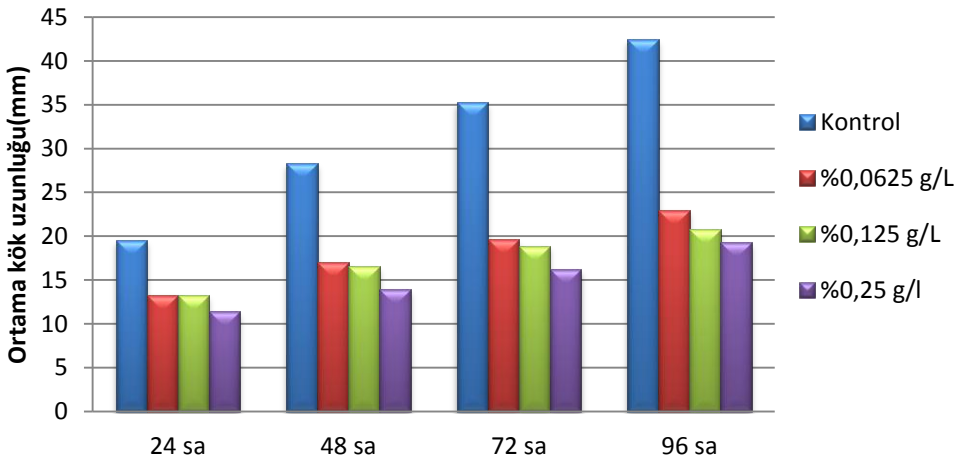
Şekil 4.1. Triton X-100 konsantrasyonlarının(g/L) *Allium cepa* kök büyümesi üzerine etkisi

Tablo 4.1. Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök uzaması üzerine etkisi

Konsantrasyon (g/L)	**Kök uzunluğu(mm) (X±SH)****	**Kontrole göre kök uzunluğu (%)**	**Kontrole göre azalma (%)**
Kontrol	31.15 **a***	100	-
%0,0625	18.35 **b**	58.89	41.11
%0,125	17.41 **b**	55.89	44.11
%0,25	15.16 **c**	48.65	51.35

*Sütundaki farklı harfler, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre ortalamalar arasındaki farkın önemli düzeyde olduğunu ifade etmektedir (P<0,05).

* *X ± SH = Ortalama ± Standart Hata



Şekil 4.2. *Allium cepa* kök büyüme inhibisyonu testine göre belirlenen Triton X-100 'ün EC_{50} değeri (EC_{50} değeri: % 0,125 g/L)

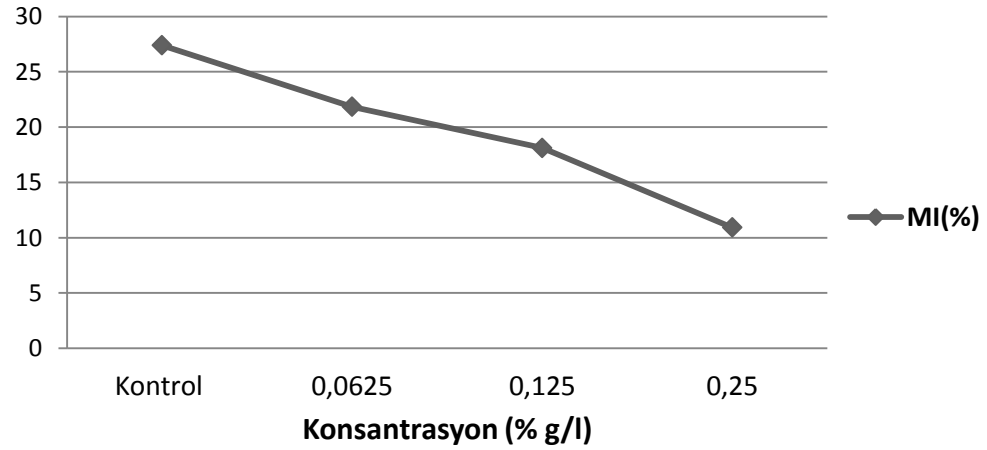
4.2. Triton X-100'ün Mitotik İndeks ve Faz İndeksi Üzerine Etkisi

Kontrol (% 0) ve %0,0625 g/L, %0,125 g/L, %0,25 g/L Triton X-100 konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks ve faz indeksi üzerine etkisinin belirlenmesinde, her uygulama için 500'ün üzerinde hücre olmak üzere yaklaşık 5000 bölünen hücre sayılarak mitotik indeks, MI=mitotik hücre sayısı×100/toplam hücre sayısı, formülü ile belirlenmiştir. Tablo 4.2'de görüldüğü gibi uygulanan tüm Triton X-100 konsantrasyonlarının mitoz bölünmeyi olumsuz etkilemiştir. Doz artışına bağlı olarak mitotik indeksin azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.3).

Kontrol grubunda %27.39 olarak belirlenen mitotik indeksin, %0,25'lik konsantrasyonda %10.92, %0,125 lik konsantrasyonda %18.11 ve %0,0625'lik konsantrasyonda %21.83 olduğu saptanmıştır. %0,25'lik konsantrasyonda mitotik indeksin kontrole göre yaklaşık 1/3 oranında azalarak %10.92'ye indirgenmiş olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.2. Uygulanan Triton X-100 Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks Üzerine Etkisi

Konsantrasyon (g/L)	**Sayılan Toplam Hücre Sayısı**	**Bölünen Hücre Sayısı**	**Mitotik İndeks (%)**
Kontrol	5015	1374	27.39
%0,0625	5015	1095	21.83
%0,125	5013	908	18.11
%0,25	5014	548	10.92



Şekil 4.3. Uygulanan Triton X-100 Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks Üzerine Etkisi

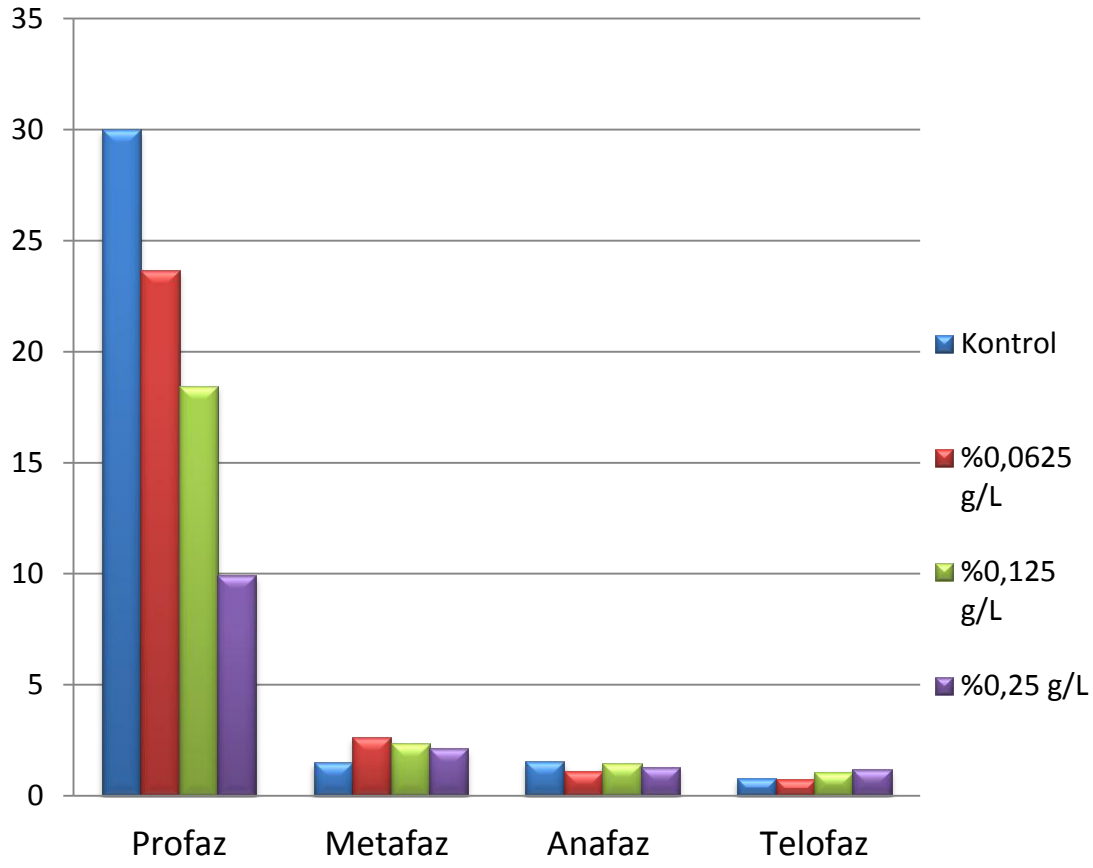
Triton X-100'ün mitoz bölünme evrelerine etkisini incelemek amacıyla her konsantrasyonun bütün fazlarındaki hücreler sayılmış (Tablo 4.3), ilgili fazdaki hücre sayısı x 100/ toplam mitotik hücre sayısı formülü ile fazlara ait indeks hesaplaması yapılmıştır (Tablo 4.4). Profaz evresindeki hücrelerin faz indeksinin konsantrasyon arttıkça kontrole göre azaldığı, diğer fazlardaki hücrelerin faz indeksinin ise konsantrasyona göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 4.4)

Tablo 4.3. Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme evreleri üzerindeki etkisi

Konsantrasyon (g/L)	**Profaz**	**Metafaz**	**Anafaz**	**Telofaz**	**Toplam**
Kontrol	1178	60	61	31	1374
% 0,0625	929	104	44	29	1095
% 0,125	725	93	57	42	908
%0,25	390	84	51	47	548
			Toplam bölünen hücre sayısı		**3925**

Tablo 4.4 Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi üzerindeki etkisi

Konsantrasyon (g/L)	**Profaz (%)**	**Metafaz (%)**	**Anafaz (%)**	**Telofaz (%)**	**Toplam (%)**
Kontrol	30,01	1,52	1,55	0,78	34,31
% 0,0625	23,66	2,64	1,12	0,73	27,89
% 0,125	18,47	2,36	1,45	1,07	23,13
%0,25	9,93	2,14	1,29	1,19	13,96



Şekil 4.4. Triton X- 100'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi üzerindeki etkisi (%)

4.3.Triton X-100'ün Kromozom Aberasyonları Üzerine Etkisi

Triton X-100'ün *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerinde metafaz-anafaz kromozom aberasyonlarına neden olduğu belirlenmiştir. Metafaz-anafaz kromozom aberasyonlarını belirlemek için 96 saat sonunda her konsantrasyon için yaklaşık 500 metafaz-anafaz hücresinde sayılmıştır. *Allium cepa* metafaz- anafaz kromozom aberasyonu testine ait veriler Tablo 4,5'de verilmiştir. Gözlenen kromozom aberasyonları şunlardır;

Metafazda, yapışıklık, fragment oluşumu, tabla kayması, C-mitoz, vagrant kromozom, anafazda, köprü, yapışıklık, fragment, vagrant kromozom, yanlış kutuplaşma.

Toplam kromozom aberasyon % oranı, her bir konsantrasyonda aberasyon gözlenen tüm hücrelerin toplamı X 100/ tüm konsantrasyonlarda aberasyon gözlenen hücrelerin toplamı olarak hesaplanmıştır. Her aberasyon tipinin % oranı ise her konsantrasyonda ilgili aberasyon tipinin gözlendiği hücrelerin toplamı X 100/ tüm konsantrasyonlarda aberasyon gözlenen hücrelerin toplamı olarak hesaplanmıştır.

Kontrole göre tüm Triton X-100 konsantrasyonlarında kromozom aberasyon oranlarında artış olduğu, konsantrasyon arttıkça aberasyon oranının arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.5).

Kontrol uygulamasında, metafazda fragment, anafazda yapışıklık ve fragment belirlenmezken, tüm Triton X-100 konsantrasyonlarında belirlenmiştir. Kontrol grubunda gözlenen tüm normal safhalar anormalliklerle karşılaştrmak amacıyla fotoğraflanmıştır (Şekil 4.6).

Buna göre yüksek oranda belirlenen kromozom aberasyonları; metafazda tabla kayması (%22,13), yapışıklık (%12,02), vagrant kromozom (%5,62) ve C-mitoz (%3,29), anafazda, yanlış kutuplaşma (%18,96), vagrant kromozom (%14,7), köprü (%10,02), yapışıklık (%2,47) olarak belirlenmiştir. Buna karşın, metafazda fragment (%0,55) ve anafazda fragment (%1,09) daha düşük oranda saptanmıştır (Tablo 4.6).

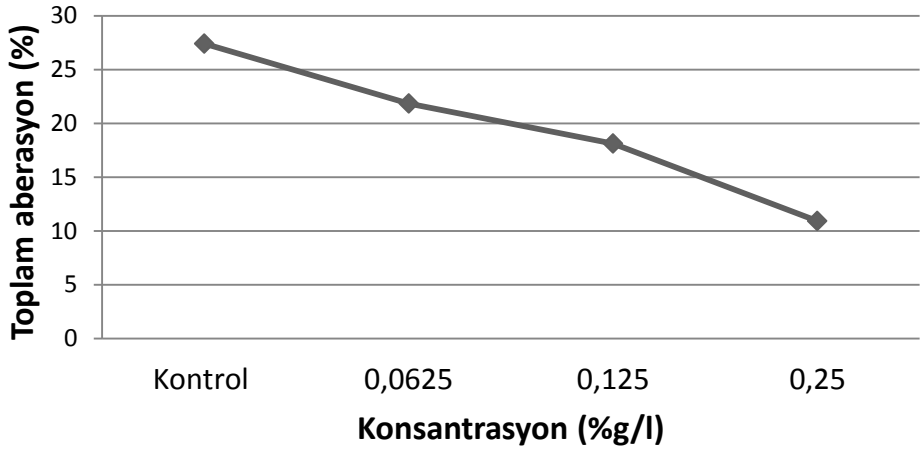
Metafaz kromozom aberasyonları arasında en yüksek oranda gözlenen 'tabla kayması'dır (Şekil 4.7**c,e**, 4.8**a**). Kontrol uygulamasında metafazda tabla kayması %6,74 iken % 0,0625'lik konsantrasyonda %8,66, % 0,125'lik konsantrasyonda %5,36 ve % 0,25'lik konsantrasyonda %1,37'dir (Tablo 4.6). Metafazda, tabla kaymasından sonra en fazla gözlenen kromozom aberasyonları 'yapışıklık' (Şekil 4.7**a**, 4.8**d**), ' vagrant kromozom' (Şekil 4.7**c**, 4.8**c**) ve 'C-mitoz'dur (Şekil 4.7**ç** , 4.8**b**). Kontrole göre konsantrasyon arttıkça 'yapışıklık' oranı artmıştır. Vagrant kromozom ve C-mitoz, %0,25 Triton X-100 konsantrasyonunda gözlenmezken, diğer konsantrasyonlarda kontrole göre konsantrasyon arttıkça aberasyon oranı artmıştır.

Anafaz kromozom aberasyonları arasında en fazla gözlenen kromozom aberasyonu "yanlış kutuplaşmalar"dır (Şekil 4.7**a**, 4.8**d**). Her konsantrasyonda, anafazda yanlış kutuplaşmalar kontrole göre azalmıştır (Tablo 4.6).

Anafazda, yanlış kutuplaşmalardan sonra fazla gözlenen kromozom aberasyonları "vagrant kromozom" (Şekil 4.7**d**, 4.7**b**, 4.9**ç**), "köprü" (Şekil 4.7**c**, 4.9**ç**) ve 'yapışıklık' aberasyonlarıdır (Şekil 4.7**ç**). Vagrant kromozom oranları

konsantrasyonlara göre değişirken, köprü oranları konsantrasyon arttıkça kontrole göre artmıştır. Anafazda yapışıklık ise sadece % 0,25'lik Triton X-100 konsantrasyonunda görülmüştür (Tablo 4.6).

Metafaz ve anafaz aberasyonları arasında en düşük oranda belirlenen kromozom aberasyonu "fragment" oluşumlarıdır (Şekil 4.7 **b,e**, 4.9**e**) ve metafazda sadece % 0,25'lik konsantrasyonda, anafazda ise %0,0625'lik ve %0,25 konsantrasyonlarda çok düşük oranda gözlenmiştir (Tablo 4.5).



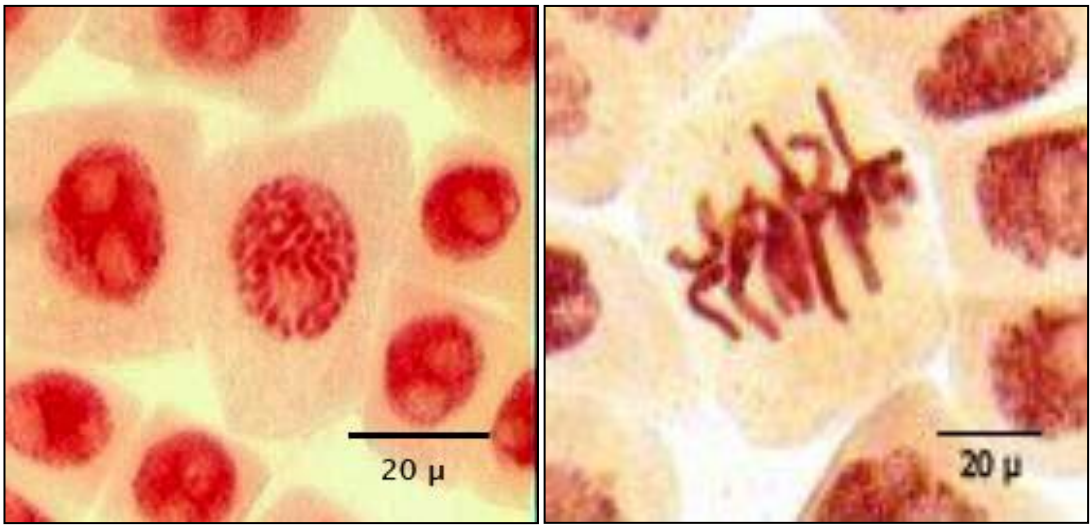
Şekil 4.5. Triton X-100 'ün aberasyon %'sine etkisi

Tablo 4.5 Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom aberasyonu görülen hücre sayıları

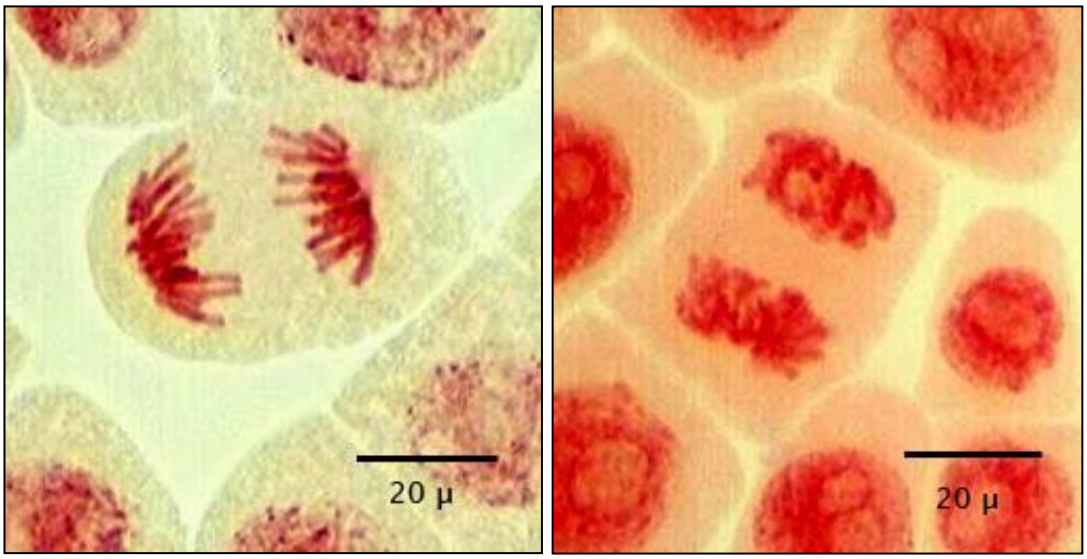
		METAFAZ					**ANAFAZ**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Tabla kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant kromozom**	**Yanlış kutuplaşma**	**Toplam**
Kontrol	502	10	-	49	4	5	8	-	-	23	46	145
%0,0625	506	25	-	63	9	17	7	-	1	21	35	178
%0,125	501	39	-	39	11	19	13	-	-	40	30	191
%0,25	509	79	4	10	-	-	45	18	7	23	27	213
Toplam aberasyon		**153**	**4**	**161**	**24**	**41**	**73**	**18**	**8**	**107**	**138**	727

Tablo 4.6. Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evreleri kromozom aberasyon % oranları

		METAFAZ(%)					**ANAFAZ(%)**					
Konsantrasyon (g/L)	**İncelenen hücre**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Tabla kayması**	**C-Mitoz**	**Vagrant kromozom**	**Köprü**	**Yapışıklık**	**Fragment**	**Vagrant kromozom**	**Yanlış kutuplaşma**	**Toplam (%)**
Kontrol	502	1,37	-	6,74	0,55	0,68	1,10	-	-	3,16	6,32	19,94
%0,0625	506	3,43	-	8,66	1,23	2,33	0,96	-	0,13	2,88	4,81	24,48
%0,125	501	5,36	-	5,36	1,51	2,61	1,78	-	-	5,50	4,12	26,27
%0,25	509	10,86	0,55	1,37	-	-	6,18	2,47	0,96	3,16	3,71	29,29
Toplam aberasyon%		**12,02**	**0,55**	**22,13**	**3,29**	**5,62**	**10,02**	**2,47**	**1,09**	**14,70**	**18,96**	

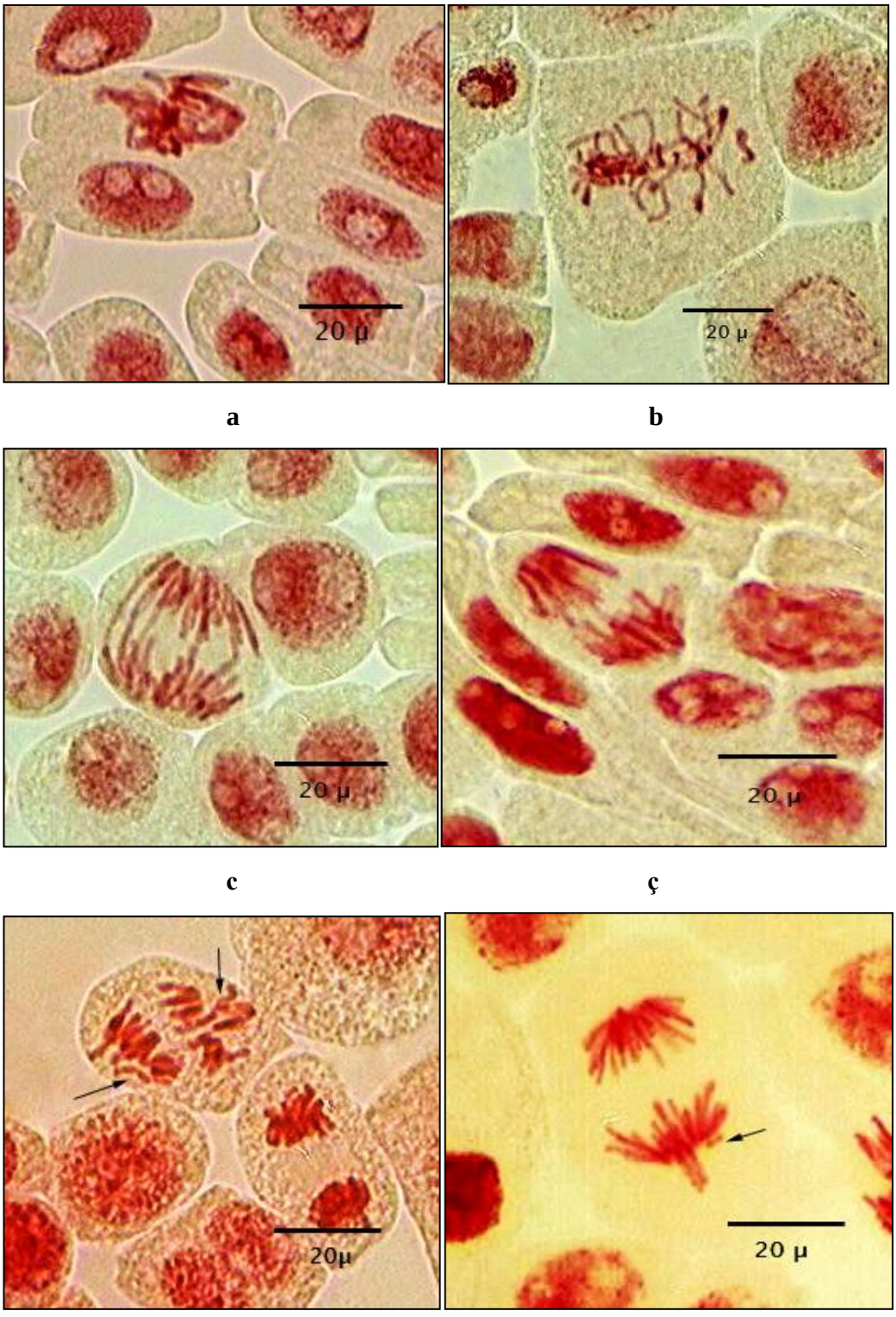


a **b**



c **ç**

Şekil 4.6. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde kontrol grubunda mitoz bölünme evreleri **a**. profaz, **b.** metafaz, **c.** anafaz, **d.** telofaz

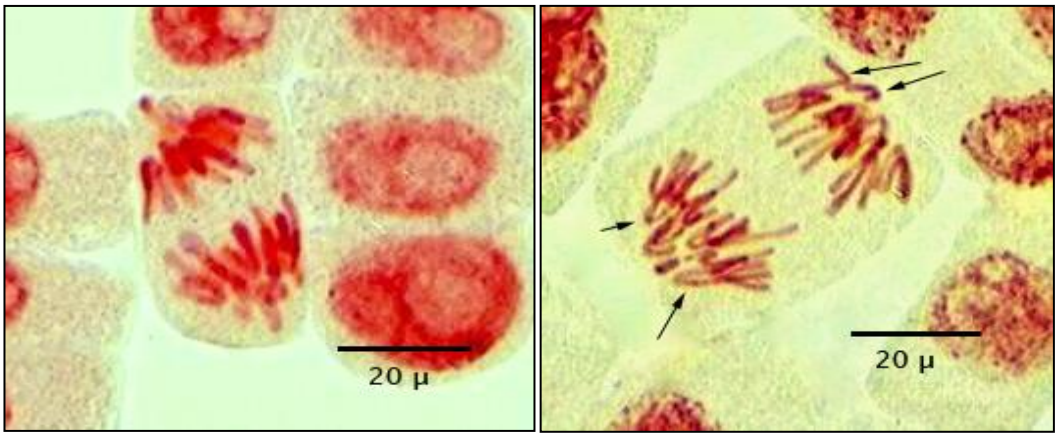


a **b**

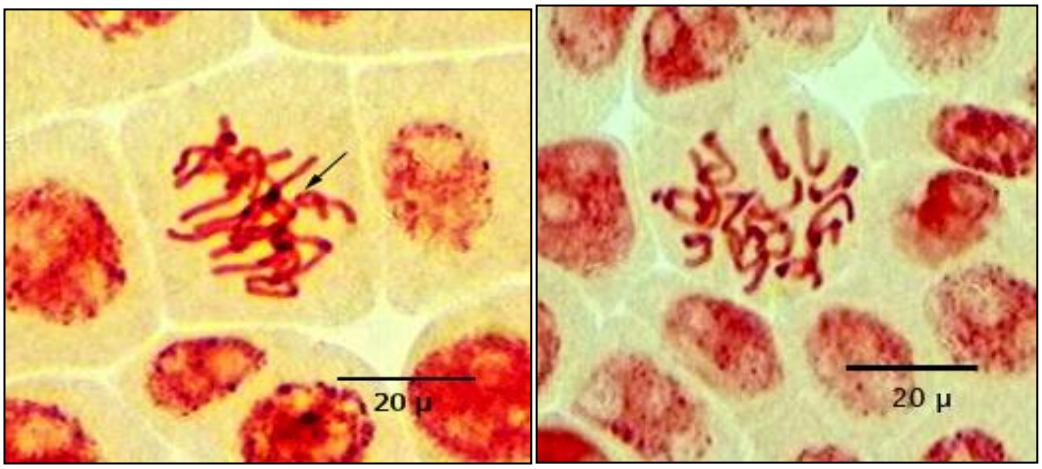
c **ç**

d **e**

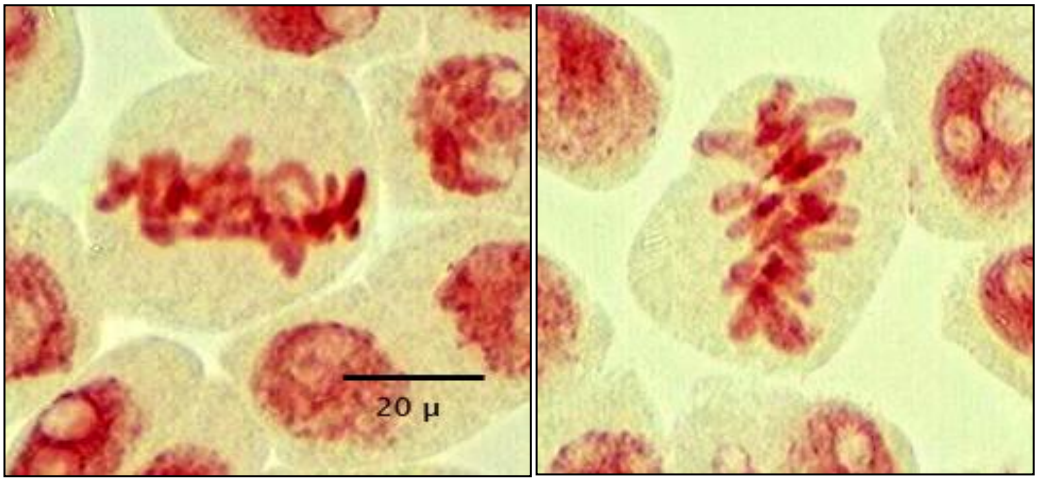
Şekil 4.7. Triton X-100'ün % 0,25'lik konsantrasyonu ile 96 saat muamele edilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde görülen metafaz- anafaz aberasyonları **a.** metafazda yapışıklık, **b.**metafazda fragment, **c.** anafazda köprü, **ç.** anafazda yapışıklık, **d.** anafazda vagrant kromozom, **e**.anafazda fragment



a **b**

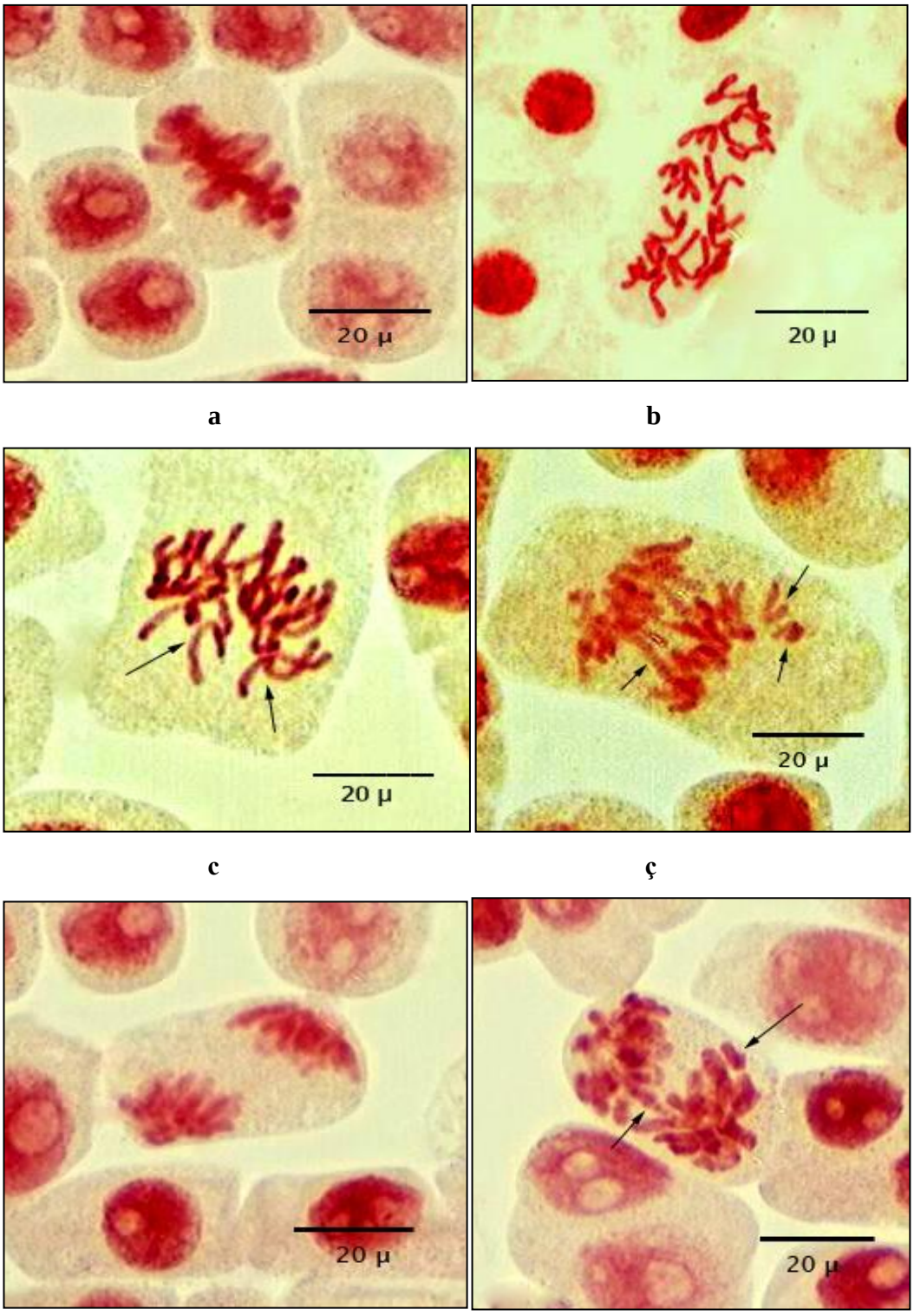


c **ç**



d **e**

Şekil 4.8. Triton X-100'ün % 0,125'lik konsantrasyonu 96 saat muamele edilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde görülen metafaz- anafaz aberasyonları **a.** yanlış kutuplaşma, **b.** anafazda vagrant kromozom **c.** metafazda vagrant kromozom ve tabla kayması, **ç.** C-mitoz, **d.** metafazda yapışıklık, **e.** metafazda tabla kayması



Şekil 4.9. Triton X-100'ün % 0,0625'lik konsantrasyonu ile 96 saat muamele edilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde görülen metafaz- anafaz aberasyonları **a.** tabla kayması, **b.** C-mitoz, **c.** metafazda vagrant kromozom, **ç.** anafazda köprü ve vagrant kromozom, **d.** yanlış kutuplaşma, **e.** anafazda köprü ve fragment

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Allium cepa testi kimyasal tarama ve çevresel kirleticilerin özellikle bitkiler üzerindeki genotoksisitelerinin izlenmesi için etkin ve kolay bir testtir (http://www.vscht.cz/uchop/ ekotoxikologie /studijni _materialy/ Ekotox-Labo/AJverze /10_onion.pdf). Allium kök uçları, kimyasalların neden olduğu biyolojik etkilerin araştırılmasında, Allium testinin ilk kez Levan tarafından icat edildiği günden beri (Levan, 1938) birçok araştırmada kullanılmaktadır (Fiskesjo, 1985). Allium testi, son derece hassas ve tekrarlanabilir olduğu için kolay uygulanan, nispeten hızlı bir testtir. Aynı zamanda, diğer birçok deney sistemi ile karşılaştırılabilir sonuçlar sağlar. Makroskopik ve mikroskopik etkileri gözlenebilir ve bu ikisi arasında iyi bir ilişki olduğu görülür. Makroskopik etkisi (kök büyümesini engellediği) en hassas parametre olarak gözükmektedir. Bu büyüme inhibisyonu ile sonuçlanması beklenen, herhangi bir direk ve indirek zararlı etkidir. Mikroskopik inceleme kromozom hasarı ve hücre bölünmesi bozukluklarının değerlendirilmesini sağlar, böylece toksik etkinin şiddeti veya mekanizması veya potansiyel mutajenite hakkında ek bilgi sağlar (Fiskesjö, 1995).

Bu çalışmada noniyonik bir surfaktant olan Triton X-100'ün *Allium cepa* L. kök ucu üzerindeki etkileri makraskobik (kök büyümesi) ve mikroskobik düzeyde incelenmiştir. Uygulamalarda kullanılacak dozları belirlemek için öncelikle kök büyümesi testi yapılır. Bu test kök uzamasının EC_{50} değerini bulmak için uygulanır. *Allium* kök uçları önce 4 gün süre ile çalışmada kullanılacak kimyasalın farklı dozları içerisinde bekletilir. Kontrole göre büyümeyi % 50 azaltan doz EC_{50} değeridir. Bu

çalışmada EC_{50} değerini bellirlemek için 10 soğandan 10 ayrı ölçüm yapılmıştır. Bu şekilde istatistiki açıdan doğru bir sonuç elde edilmesi sağlanmıştır (Fiskesjo, 1985). Çalışmamızın toksisite ve genotoksisite denemelerinde 24 saat süreyle musluk suyunda köklendirilmiş soğanlar kullanılmıştır. Benzer olarak, kök büyümesi inhibisyonu çalışmalarında bitki materyalleri kimyasallarla muameleden önce 24 veya 48 saat süreyle musluk suyunda köklendirilmiştir. Fakat soğanların önce musluk suyu yerine distile su içerisinde köklendirildiği çalışmalar mevcuttur (Fiskesjö, 1988, Liu vd., 1992, Rank ve Nielsen, 1997). Bunun yanısıra, Yüzbaşıoğlu (2001), kontrol ile kimyasal uygulamalar arasında kesin bir karşılaştırmanın yapılabilmesi bakımından distile suda köklendirilmeden direkt farklı kimyasal konsantrasyonlarına maruz bırakılarak kök büyümesi inhibisyonu testinin yapılması gerekliliğini vurgulamıştır. Araştırmamızda, kök primordiyalarının herhangi bir nedenle zarar görmüş olma ihtimalini ortadan kaldırmak ve homojen olarak köklenmiş soğanları kullanmak için farklı Triton X-100 konsantrasyonları ile muamele etmeden önce, musluk suyunda 24 saat süreyle surfaktant uygulamalarına maruz bırakılması sağlanmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda, soğanda önceden varolan kurumuş kökler, kök primordiyalarına zarar vermeden uzaklaştırılmıştır (Grover ve Kaur, 1999, Soliman, 2001)

Araştırmamızda kullanılan Triton X- 100 surfaktantının EC_{50} değeri % 0,125 g/l olarak belirlenmiş ve daha sonraki mitotik indeks ve kromozom aberasyonları çalışmalarında bu değerin yanı sıra yarısı (EC_{50}/2=% 0,0625g/L) ve EC_{50} değerinin iki katı (EC_{50}×2=% 0,25 g/L) kullanılmıştır. Benzer birçok araştırmada, genotoksik çalışmalarda kullanılmak üzere çevresel kirleticilerin konsantrasyonlarının belirlenmesi için EC_{50} değeri saptanmıştır (Nielsen ve Rank, 1994, Rank ve Nielsen, 1998, Chauhan vd., 1999, Yüzbaşıoğlu, 2001, Ateeq vd., 2002, Saxena vd., 2005, Yıldız vd., 2006). Kimyasalların genotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde EC_{50} değerinin kullanılmasının yanı sıra, yarısı, dörtte biri, sekizde biri, iki katı, dört katı gibi değerler de kullanılmıştır (Chauhan vd., 1999, Saxena vd., 2005). Buna karşın, kimyasalın EC_{50} değerine bağımlı kalmaksızın farklı konsantrasyonların uygulandığı çalışmalar da mevcuttur. Çalışmamızda Triton X- 100'ün doz artışına bağlı olarak kontrole kök uzunluğunun azaldığı, EC_{50}×2=% 0,25 g/L konsantrasyonlarında kök uzamasını ihhibe ettiği saptanmıştır. EC_{50}/2=% 0,0625g/L ve EC_{50}=% 0,125 g/L konsantrasyonları arasındaki fark ise istatistikî açıdan önemsiz bulunmuştur.

Bu araştırmada, kontrol (musluk) ve Triton X-100'ünkonsantrasyonlarının mitotik indeks üzerine etkisi incelenmiştir. Yapılan birçok genotoksisite çalışmasında, test edilen çevresel kirleticilerin olumsuz etkilerini saptamak için farklı konsantrasyonların yanı sıra farklı süreler (4, 6, 8, 12, 24, 48 ve/veya 72 saat) kullanılmıştır (Zhang ve Yang, 1994, Rank ve Nielsen, 1997, El-Ghamery vd., 2000, Patra vd., 2003, Marcano vd., 2004, Chandra vd., 2005). *Allium cepa*'nın kök ucu meristem hücrelerinin hücre döngüsünün 24 saat (Kihlman, 1971) veya yaklaşık 20 saat (Grant vd., 1981) olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmada ise bir hücre döngüsünün 24 saatte tamamlandığı göz önüne alınarak 24 saat musluk suyunda köklenmiş soğanlar, Triton X-100'ün konsantrasyonlarına 96 saat süreyle maruz bırakılmışlardır.

Sitotoksisite, mitotik indekste bir azalma olarak tanımlanmaktadır (Smaka-Kincl vd., 1996). Mitotik indeks, hücre bölünme frekansını yansıtır ve büyüme gelişme oranını belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılır. Mitotik indeksteki azalmaya paralel olarak büyüme ve gelişme olayları da yavaşlar (Jiang ve Liu, 2000).

Bu araştırmada, tüm uygulama konsantrasyonlarında uzatılmış *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks, her uygulama için hazırlanan 10 preparatta yaklaşık 5000 hücre içinde bölünen hücreler sayılarak hesaplanmıştır. Mitotik indeks için araştırmamızda sayıldığı kadar yaklaşık aynı sayıda hücre sayımları yapılan çalışmalara rastlanırken (Patra vd., 2005, Ateeq vd., 2002), preparat başına farklı sayıda hücre sayımı yapılan çalışmalara da rastlanılmıştır. Her muamele için 3-4 preperatta 300-400 hücrenin incelendiği (Kanaya vd., 1994, El-ghamery vd., 2000) yada 10 preperatta 1000 hücrenin tarandığı (Yüzbaşıoğlu, 2001), 5 preperatta 5000 hücrenin sayıldığı (Arıkan, 2006) çalışmalara da rastlanmıştır.

Bu araştırmada, Triton X-100 konsantrasyonlarında, mitotik indeks değerlerinin (%) ortalamasının konsantrasyonun artmasına bağlı olarak mitotik indeksin kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Mitotik indeksteki doza bağlın bu gerileme, özellikle % 0,25'lik konsantrasyonda gözlenmiştir. Bazı araştırıcılar mitotik indeksteki azalmayı kimyasalın normal mitoz bölünmede, bölünen hücre sayısını azaltmasına, bazıları protein sentezindeki inhibisyonuna bağlamışlardır (Badr, 1983, Adam vd., 1990). Hücre duvarı oluşumunun engellenmesi nedeniyle mitoz bölünmenin etkilendiği de düşünülmektedir (Dalgıç, 2005).

Bu çalışmada Triton X-100'ün mitoz bölünme evrelerinde azalmalar meydana getirdiği, kontrol grubu dahil tüm evrelerde profaz evresinin frekansının yüksek olduğu saptanmıştır. Diğer evrelerin frekanslarının farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Mitotik indeks inhibisyonunun;

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

b) S fazının süresindeki artış (Webster ve Davidson, 1969),

c) Hücrenin mitoza girmesini engelleyen G_2 fazının bloke olması (Van't Hoff, 1968, El-Ghamery vd., 2000),

d) Çevresel kimyasalların biyolojik sistemin DNA/protein sentezi üzerindeki etkisi (Badr ve Ibrahim, 1987)

e) Uzamış bir G_2 periyodu veya DNA sentezinin baskılanmasıyla mitozun interfazda bloke edilmesi (Badr ve Ibrahim, 1987), gibi nedenlerden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Mitotik indeksteki azalma, kontrole göre % 22'nin altına düşerse letal etki (Antonsie-wiez, 1990), %50'nin altına düşerse subletal etki (Panda ve Sahu, 1985) değeri olarak kabul edilmektedir. Bu değerler, sitotoksik sınır değerleridir (Sharma, 1983).

Çalışmamızda, kontrol mitotik indeksinde (%27.39) subletal etki, tüm Triton X-100 konsantrasyonlarında mitotik indeksin % 22'nin altında olduğu için letal etki görülmüştür.

Sitotoksik maddelerin hücrelerin mitoz bölünme frekansına ve kromozomların davranışlarına olan etkilerini incelemek için kullanabilecek sitotoksik maddeler hormonlar, antibiyotikler, pestisitler çeşitli kimyasal maddeler vb. olabilir. Kimyasal maddelerin birçoğu hücrelerde sitotoksik etki yapar. Sitotoksik etkiler şöyle özetlenebilir; mitotik indekste kontrole göre azalma, mitoz bölünme evrelerinde kromozom kopmaları, kromozom köprüleri, kromozomlarda aşırı kontraksiyon, anafazda çok kutupluluk ve eşit olmayan dağılım, kromozomların kutuplara geç çekilmesi gibi kromozom davranışlarında bozukluklara, sitoplazmada ve nükleus da

vakuol oluşumuna hücredeki morfolojik bozukluklara ve hücre ölümüne neden olabilir (Ünal vd., 2008).

Bu araştırmada, *Allium cepa* kök ucu meristem hücreleri üzerinde Triton X- 100 'ün farklı konsantrasyonlarının sitotoksik etkileri incelenmiştir. Çalışmamızda, Triton X- 100'ün sitotoksik etkisine bağlı olarak metafazda, tabla kayması, yapışıklık, vagrant kromozom, C-mitoz ve fragment, anafazda, yanlış kutuplaşma, vagrant kromozom, köprü, yapışıklık ve fragment olarak belirlenmiştir.

Bu araştırmada, Triton X- 100 'ün *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerinde metafazda meydana getirdiği en sık rastlanan kromozom aberasyonu metafazda tabla kayması (%22,13) ve anafazda yanlış kutuplaşmadır (%18,96). Mitotik konfigürasyondaki bu bozulmanın ve düzensiz evre oluşumunun, kromozomların hareket mekanizmasında veya ekvatoriyal plaktaki yerleşimlerindeki düzensizlikten kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Soliman, 2004).

Triton X- 100'ün *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerinde sıklıkla gözlenen bir diğer kromozom aberasyon tipi de metafazda (%12,02) ve anafazda (%2,47) yapışıklıktır (Darlington ve Mc Leish, 1951). Yapışıklığın kromozomal DNA'nın parçalanması veya depolimerizasyonundan dolayı olabileceğini ileri sürmüştür. Yapışıklık, inter-kromozomal kromatin fibrillerin dolaşmasının sonucu olarak kromozomlar arasında subkromatid bağlantıların oluşmasıyla meydana geldiği bildirilmiştir (Mc Gill vd., 1974, Chauhan vd., 1986). Yapışıklık, tek bir kromozom ve kromatidin hatalı sarmalanması sonucu oluşur. Sonuç olarak kromozom liflerinde bir karışma olur ve kromozomlar kromatid köprüleriyle birbirlerine bağlanmış olur (Grant, 1978). Yapışık kromozomlar, kimyasalların toksik etkilerini yansıtmakta ve genellikle geri dönüşümsüz olup, muhtemelen hücrenin ölümüne neden olmaktadır (Liu vd., 1992).

Triton X-100 uygulanan *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerinde metafazda (%5,62) ve anafazda (%14,7) oranlarında vagrant kromozom gözlenmiştir. İğ ipliklerinin etkilenmesiyle oluşan bu senkronizasyon bozuklukları bir çok araştırmada gözlenmiştir.

Triton X- 100 ‘ün *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerinde anafazda teşvik ettiği köprüler (%10,02) gözlenen bir diğer kromozom aberasyon tipidir. Badr’a (1983) göre kromozom köprülerinin oluşması, kromozom veya kromatid yapışmasından kaynaklanabilir. Kromozomların yapışması kromatidlerin birbirlerinden ayrılmasını engellemekte ve köprülerle birbirlerine bağlı kalmalarına neden olmaktadır (Kabarity vd., 1974, Badr vd., 1992).

Triton X-100’ün uygulandığı *Allium cepa* kök ucu meristem hücrelerinde metafazda %3,29 gibi nispeten düşük bir oranda C-mitoz gözlenmiştir. Triton X-100 muhtemelen hücrede mikrotübüllerin polimerizasyonunu inhibe ederek C-mitoz oluşumlarına neden olmuştur. Çesitli çevresel kimyasalların, hücre bölünmesi esnasında iğ ipliklerinin oluşumunu engelleyerek c-mitoza neden olduğu birçok araştırmada bildirilmiştir (Liu vd., 1992, Kovalchuk vd., 1998, Chauhan vd., 1999, Saxena vd., 2005).

Triton X-100 metafazda (%0,55) ve anafazda (%1,09) gibi çok düşük oranda “fragment” oluşumuna neden olmuştur. Fragmentlerin kromozom ve kromatidlerde oluşan kırılmalardan meydana geldiği (Prakash vd., 1988, Yi ve Meng, 2003) ve muhtemel mutajenitenin bir sonucu olabileceği bildirilmiştir (Fiskesjö, 1997).

Bu araştırmada, *Allium cepa* kök uçlarına uygulanan Triton X-100’ün fitotoksik ve sitotoksik etkileri, diğer çalışmalarda kullanılan birçok çevresel kirleticinin etkisine benzemektedir. Başta EC_{50} konsantrasyonu olmak üzere uygulamamızda kullandığımız üç Triton X-100 konsantrasyonu da kök uzamasını inhibe ederek *Allium cepa* L. kök uçlarında fitotoksik, doz artışına bağlı olarak mitotik aktivitede azalma ve aberasyon oranlarında artış göstererek sitotoksik etkilere neden olmuştur. Çevresel kirleticilerin toksik etkilerinin belirlenmesinde, Allium testinin önemli bir test olduğu ortaya çıkmaktadır.

Mitotik aktivitede azalma, Triton X-100 maddesinin kök ucu hücrelerinde G_1 fazının normal ilerlemesini engelleyerek, G_2 fazını bloke ederek veya S safhasında DNA hasarına yol açarak, sentezine engel olarak veya enzim inhibitörü şeklinde etki göstererek hücre büyümesi ve bölünmesi için gerekli olan metabolik olayların inhibisyonu sonucu meydana gelmiş olabilir. Kromozom aberasyon oranlarında artış, Triton X-100’ün, kromatidlerin hatalı sarmalanmasına, kromozom veya kromatidlerin

kırılması ve aralarında köprüler oluşmasına, iğ ipliklerinin oluşmasını engellenmesine, ertelenmesine veya iğ ipliklerinin işlev görememesine neden olması sonucu meydana geldiği düşünülebilir.

Çevresel kirleticiler, insanlara doğrudan zarar verdiği gibi, birçoğu da hayvanlar ve bitkilerde birikmekte ve besin zinciri yolu ile insanlara geçebilmektedir. Tüm bu nedenler göze alındığında, araştırmamızda kullanılan üç konsantrasyonunda herhangi bir pesitisit-surfaktan karışımında veya insan sağlığını dolaylı ya da dolaysız etkileyebilecek herhangi bir uygulamada kullanılması uygun değildir.

KAYNAKLAR

1. Adam , Z.M., Ebad, Z.A., Elkheir, A., El-Sheikh, 1990, Alterations in nucleic acits protein content and mitotic division of *Vicia faba* root tip cells a affected by malathion and tamaron insecticides, Cytologia, 55:349-355.

2. Akbaş, H. , Dane , F., 2010, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (21-25 Haziran), Denizli, Türkiye.

3. Akbaş, H. , Dane, F. , Yılmaz, G., Öztürk F., Leventer, S., 2011, Phytotoxic Effects of six surfactants on *Allium cepa* L. Plantlets, 18th International Botanical Congress (IBC2011 Congress) (23-30 July), Abstract Book, p. 458, Melbourne, Australia.

4. Anionson, E.A.G., 1976, Theory of the Kinetics of Micellar Solutions of Ionic Surfactants, J. Phys. Chem.80, 905.

5. 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.

6. 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 Enstiüsü, Afyonkarahisar.

7. Ariyoshi, T., Hasegawa, H., Matsumoto, H., Arizono, K., 1991, Effects of surfactants on the contents of metallothionein, heme, and hemoproteins and on the activities of heme oxygenase and drug-metabolizing enzymes in rats pretreated with phenobarbital or B-naphtoflavone, Bull Environ Contam Toxicol 46:120-127.

8. Ariyoshi, T., Hasegawa, H., Nanri, Y., Arizono, K., 1990, Profile of hemoproteins and heme-metabolizing enzymes in rats treated with surfactants, Bull Environ Contam Toxicol, 44:369-376.

9. Ateeq, B., Farah, M.A., Ali, M.N., Ahmad, W., 2002, Clastogenicity of pentachlorophenol, 2,4-D and butachlor evaluated by *Allium* root tip test, Mutation Research, Vol.514, pp.105-113.

10. Atkins, P. W., 1998, Fizikokimya, Oxford University Pres.

11. Badr, A. and Ibrahim, A.G., 1987, Effect of herbicide glean on mitosis chromosomes and nucleic acids in *Allium cepa* and *Vicia faba* root meristems, Cytologia, Vol.52, pp.293-302.

12. Badr, A., 1983, Mitodepressive and chromotoxic activities of two herbicides in *Allium cepa*, Cytologia, Vol.48, pp.451-457.

13. Badr, A., Ghareeb, A. , El-Din, H.M., 1992, Cytotoxicity of some pesticides in mitotic cells of *V. faba* roots, Egyptian Journal of Applied Science, Vol.7, pp.457-468.

14. 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.

15. Batjer, L.P., Billingsley, H.D., 1964, Apple thinning with chemical sprays, Wash. State. Agricultural Experiment Station Bulleten, 651.

16. 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, Pages 179-181, 183-185.

17. Benchekroun, K, Bonaly, R. , 1992, Physiological properties and plasma membrane composition of Saccharomyces cerevisiae grown in sequented batch culture and in the presence of surfactants, Apple Microbiol Biotechnol 36:673-678.

18. Bermejo, M.V., Perez-Verona, A.T., Segura-Bon, M.J., Martin-Villodre, A., Pla-Delfina, J.M., Garrigues, T.M., 1991, Compared effects of synthetic and natural bile acid surfactants on xenobiotic absorption, I. Studies with polysorbate and taurocholate in rat colon, Int J Pharm 69:221-231.
19. 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.

20. Buhl, K.J., Faerber, N.L., 1989, Acute toxicity of selected herbicides and surfactants to larvae of the midge Chironomus riparius, Arch Environ Contam Toxicol 18:530 536.

21. Burrell M.M., 1993, Enzymes of Molecular Biology, Humana Press, NJ, p. 307.

22. Cappel, M.J, Kreuter, J. ,1991, Effect of nonionic surfactants on transdermal drug delivery. II. Poloxamer and poloxamine surfactants, Int J Pharm 69:155-167.
23. Cappel, M.J,, Kreuter, J., 1991, Effect of nonionic surfactants on transdermal drug delivery. I. Polysorbates, Int J Pharm 69:143-153.

24. 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

25. Chandra, S., Chauhan, L.K.S., Murthy, R.C., Saxena, P.N., Pande, P.N. , Gupta, S.K., 2005, Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium cepa*, Science of the Total Environment, Vol.347, pp.46-52.

26. Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N., Gupta, S.K., 1999, Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*, Environmental and Experimental Botany, Vol.42, pp.181-189.

27. Cho, H-Y.,Tsuchido, T., Ono, H., Takano, M, 1990, Cell death of Bacillus subtilis caused by surfactants at low concentrations results from induced cell autolysis, J Ferment Bioeng 70:11-14.

28. Cornelis, M., Dupont, C., Wepierre, J. ,1991, In vitro cytotoxicity test on cultured human skin fibroblasts to predict the irritation potential of surfactants, ATLA 19:324-336.

29. Cornelis, M., Dupont, C., Wepierre, J. , 1992, Prediction of eye irritating potential of surfactants by cytotoxicity tests in vitro on cultures of human skin fibtoblasts and keratinocytosis, Toxic in Vitro 6:119-128.

30. Cserhati, T. ,1995, Alkyl Ethoxylated and Alkylphenol Ethoxylated Nonionic Surfactants: Interaction with Bioactive Compounds and Biological Effects, Environ:HeaIth Perspect 103:358-6.

31. Çördük. N., Akı C., 2006, Çanakkale Kanyak Fabrikası Atık Suyunun *Vicia faba* L. Kök Ucu Mitozu Üzerine Etkisi ve Total Protein Değişimleri, 26-30 Haziran 2006 XVIII, Ulusal Biyoloji Kongresi Kuşadası-AYDIN(Poster bildiri).

32. Dalgıç, Ö., 2005, Fusilade (fluazifop-p-butyl)'in mercimek bitkisi (lens culinaris medik) üzerindeki bazı toksik etkilerinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

33. Darlington, C.D. , McLesih, L., 1951, Action of maleic hydrazide on the cell, Nature, Vol.167, pp.407-408.

34. 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.

35. De serres, F.J.,1978, Introduction: utilization of higher plant systems as monitors of environmental mutagens, Environ. Health Perspect, 27:3-6.

36. Del Estal, J.L., Alvarez, A. I., Villaverde, C., Coronel, P., Fabra, S., Prieto, J.G. , 1991, Effect of surfactants on Albendazole absorption, J Pharm Biomed Anal 9:1161-1164 .

37. El-Ghamery, A.A., El-Nahas, A.I. and Mansour, M.M., 2000, The action of atrazine herbicide as an inhibitor of cell division on chromosomes and nucleic acids content in root meristems of *Allium cepa* and *Vicia faba*, Cytologia, Vol.55, pp.209-215.

38. Ellenhorn, M.J., Barceloux, D.G., , 1997, Ellenhorn's Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning, Williams & Wilkins, New York.

39. Famiglietti, M., Hochkoeppler, A., Luisi, P.L. , 1993,Surfactant-induced hydrogen production in Cyanobacteria, Biotechnol Bioeng 42:1014-1018.

40. Fernandes, T. C. C., Mazzeo, D. E. C., Marin-Morales, M. A., 2009, Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent—Trifluralin herbicide, Ecotoxicology and Environmental Safety, Volume 72, Issue 6: 1680–1686.

41. 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, Cilt 31 Sayı 2.

42. Fiskesjö, G., 1985, The *Allium* test as a standard in environmental monitoring, Hereditas, Vol.102, pp.99-112.

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

44. Fiskesjö, G., 1997, *Allium* test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters, Plants for environmental studies, CRC Press, LLC-New York, pp.308- 333.

45. Fiskesjö, G.,1988, The *Allium* test an alternative in environmental studies: The relative toxicity of metal ions, Mutation Research, Vol.197 (2), pp.243-260.

46. 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.

47. Gedikoğlu, İ., Kalınbacak, K., Yurdakul,İ., Yalçıklı, A., 2002, Çeşitli deterjan Yüzey Aktif Maddelerinin Buğday, Domates ve Soyada Gelişim ve Verim Üzerine Etkileri, Toprak ve Su Kaynakları Araştırma Yıllığı, Yayın No:119, sayfa:314-330, Ankara.

48. Gingell, R., Lu, C.C., 1991, Acute, subchronic, and reproductive toxicity of a linear alcohol ethoxylate surfactant in the rat, J Am Coll Toxicol 10:477-486.

49. Glassman, H.N. , 1948, Surface active agents and their application in bacteriology, Bacteriol Rev 12:105-148.

50. Gönen, U., 2007, *Aloe vera* L. Jel Ekstraktlarının, *Allium cepa* L. Kök Ucu Hücrelerinde Mitotik İndeks Ve Faz İndeksi Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.

51. Grant, D.A. , Hjerten, S., 1977, Biochem. J., 164, 465468.

52. Grant, W. F., 1978, Chromosome Aberrations in Plants as a Monitoring System, Environmental Health Perspectives Vol. 27, pp. 37-43.

53. Grover, I.S., Kaur, S., 1999, Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium cepa* root anaphase aberration and micronucleus assays, Mutatation Research, Vol.426,pp.183-188.

54. Güneş H., V., 2006, Moleküler Hücre Biyolojisi, Kaan kitapevi.

55. Hall, W.S., Patoczka, J.B., Mirenda, R.J., Porter, B.A., Miller, E., 1989, Acute toxicity of industrial surfactants to Mysidopsis bahia, Arch Environ Contam Toxicol 18:765-7.

56. Henry, J., Wiseman, H., 1997, Management of Poisoning, International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva.

57. Hiemenz, P.C., 1986, Principle of Colloid and Surface Chemistry, 2nd edition, Markel Dekker, New York.

58. Hoffman, H., Pössnecker, G., 1994, The Mixing Behaviour Surfactants, Langmuir,10,381-389.

59. Jiang, W., Liu, D., 2000, Effects of Pb 2+ on root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays* L. , Bull.Environ. Contam. Toxicol., 65:786-793.

60. Kabarity, A., El-Bayoumi, A.S. , Habib, A.A., 1974, Effect of morphine sulphate on mitosis of *Allium cepa* root tips, Biologia Plantarum, Vol.16, pp. 275-282.

61. Kalcheva, V.P., Dragoeva, A.P., Kalchev, K.N.,Enchev, D.D., 2009, Cytotoxic and genotoxic effects of Br-containing oxaphosphole on *Allium cepa* L. root tip cells and mouse bone marrow cells, Genet. Mol. Biol. vol.32 no.2.

62. Kanaya, N., Gill, B.S., Grover, I.S., Murin, A., Osiecka, R., Sandhu, S.S., Andersson, H.C., 1994, *Vicia faba* chromosomal aberration assay, Mutation Research, Vol.310, pp.231-247.

63. Kihlman, B.A., 1975, Root tips of *Vicia faba* for the study of the induction of chromosomal abrretions, mutation research, 31:401-412.

64. Kosaric, N., 1992, Biosurfactants in industry, Pure & *Appl.* Chern., Vol. 64, No. 11, pp. 1731-1737,1.

65. Kovalchuk, O., Kovalchuk, I., Arkhipov, A., Telyuk, P., Hohn, B. , Kovalchuk, L., 1998, The *Allium cepa* chromosome aberration test reliably measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the Ukraine contaminated by the Chernobyl accident, Mutation Research, Vol.415, pp.47-57.

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

67. Lange, R.K., Surfactants:A Practical Handbook, Hanser Publisher:Munich.

68. Le Maire, M., 1983, Eur. J. Biochem., 129, 525-532.

69. Levan, A., 1938, The effect of colchicine on root mitoses in Allium, Hereditas, 24: 471-486.

70. Levin, R.J., 1987, Bioelectric activity as a quantitative index of acute spermicide (nonoxynol-9 actions on rat vaginal epithelial function during the ostrous cycle, Pharmacol Toxicol 60:175-178.

71. Levin, R.J., Parker, A., 1986, Changes in the bioelectrical parameters and dye (nigrosin) staining as quantitative indices of the acute action of surfactants on the vagina of ovariectomized rats,J Physiol 378:5P .

72. Liu, D., Jiang, W. , Li, M., 1992, Effect of Trivalent and Hexavalent Chromium on Root Growth and Cell Division of Allium cepa, *Hereditas*, 117: 23-29.

73. Liu, D., Jiang, W., Li, M., 1992, Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*, Hereditas, Vol.117, pp.23-29.

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

75. Ma, T.H., Xu, Z.D., Xu, C., McConnell, H., Rabago, E.V., Arreola, G.A., Zhang, H., 1995, The improved *Allium*/*Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants, Mutation Research, Vol.334, pp.185-195.

76. Ma, T.H., Grant, W.F., 1982, The tradescantias-adventuous plants, Harbarist, 48, 36-44.

77. Marcano, L., Carruyo, I., Del Campo, A. and Montiel, X., 2004, "Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L.", Environmental Research., Vol.94, pp.221-226.

78. Martinez-Coscolla, A., Miralles-Loyola, E., Garrigues, T.M., Sirvent, M.D., Salianas, E., Casabo, V.G., 1993, Studies on the reliability of a novel absorption-lipophilicity approach to interpret the effects of the synthetic surfactants on drug and xenobiotic absorption, Arzneim Forsch 43:699-705.

79. McKie, A.T., Stewart, W., Lucas, M.L. , 1991, The effect of sodium deoxycholate and other surfactants on the mucosal surface pH in proximal jejunum of rat, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 343:659-664.

80. Metin, M., 2006, *Urginea maritima* L. ekstraktının kromozomlar üzerindeki etkisinin Allium test metodu ile araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.

81. Micromedex (R) Healthcare Series, 2006, Toxicology (Poisindex & Identidex System), Vol.128,U.S. & Canada.

82. Miller, P., Westra P. , 1996, Herbicide surfactants and adjuvants, Colorado State University Cooperative Extension, Production Crop Series.

83. Mitchell, P., 1951, Toxicity of surface tension depressants, In: Werkman CH and Wilson, P.W. (eds), Bacterial Physiology,Academic Press, New York, p 149-150.

84. Neugebauer, J.M., Hjelmeland, L.M., 1990, Methods in Enzymology:reviews, 182, 239-282.

85. Nielsen, M.H., Rank, J., 1994, Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of the *Allium* test, Hereditas, Vol.121, pp.249-254.

86. Ogeleka, D. F. , Ezemonye, L. I. , Okieimen, F. E. , 2009, The toxicity of a synthetic industrial detergent and a corrosion inhibitor to brackish water fish (*Tilapia guineensis*), Turk J Biol 35, 161-166.

87. Oloyede, A., Okpuzor, J., Omidiji, O., 2009, Cytological and Toxicological Properties of a Decoction Used for Managing Tumors in Southwestern Nigeria, Pakistan Journal of Biological Sciences, 12: 383-387.

88. Ozban, N., Özmutlu, Ö., 1994, Mikropreparasyon Yöntemleri, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basım Evi, İstanbul.

89. 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.

90. 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.

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

92. Patra, J., Sahoo, M.K., Panda, B.B., 2003, Persistence and preventation of aliminium-and paraquat-induced adaptive response to methyl mercuric chloride in plant cells in vivo, Mutation Research, Vol.538, pp.56-61.

93. Patra, J., Sahoo, M.K., Panda, B.B., 2005, Salicylic acid triggers genotoxic adaptation to methyl mercuric chloride and ethyl methane sulfonate, but not to maleic hydrazide in root meristem cells of *Allium cepa*, Mutation Research, Vol.581, pp.173-180.

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

95. Poremba, K., Gunke, W., Lang, S., Wagner, F. , 1991, Marine biosurfactants. III. Toxicity testing with synthetic surfactants, Z Naturforsch 46c:210-216.

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

97. Prado, A., Partearroyo, M.A., Mencia, M., Goni, M., Brabara-Guillem, E., 1989, Surfactant enhancement of polyethyleneglycol-induced cell fusion, FEBS Lett 259:149-152.

98. Prakash, N.S., Lakshmi, N., Harini, I., 1988, Cytological effects of agricultural chemicals II. Effects of fungucides "bavistin" and "deltan" on chilli (*Capsicum annuum* L.), Cytologia, Vol.53, pp.709-715.

99. Putnam, F.W., Neurath, H. , 1944, Complex formation between synthetic detergents and proteins, J Biol Chem 150:263-264.

100. Rank, J., Nielsen, M.H., 1998, Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay, Mutation Research, Vol.418, pp.13-119.

101. 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, Mutation Research, Vol.390, pp.121-127.

102. 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, Mutation Research, Vol.390, pp.121-127.

103. Reyes, A.A., 1992, Comparative effects of an antitranspirant, surfactants and fungicides on Mucor rot of tomatoes in storage, Microbios 71:235-241.

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

105. Ryugo, K., 1988, Fruit Culture Its Science and Art. John Wiley & Sons, 344s.

106. Saxena, P.N., Chauhan, L.K.S. , Gupta, S.K., 2005, Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: Spectroscopic basis of chromosome damage, Toxicology, Vol.216, pp.244-252.

107. Schneiderman, N., Pearl, L., Wilson, W., Metcalf, F., Moore, J.W., Swadlow, H.A., 1971, Stimulus control in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) as a function of different intensities of intracranial stimulation, Journal of Comparative Physiology, Vol.76(2), pp.175-86.

108. Seth, C.S. , Misra, V., Chauhan, L.K.S., Singh,R.R., 2008, Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and Comet assay approach, Ecotoxicology and Environmental Safety, Volume 71, Issue 3:711–716.

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

110. Singh, M., Orsenigo, J.R., 1978, Effect of surfactants on surface tension and contact angle in herbicidal solutions,Weed Sci Soc Amer Abstr 1978. No. 19.

111. Slinde, E. , Flatmark, T., 1976, Biochem. Biophys. Acta, 455, 796-508.

112. Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M., Toman, M.J., 1996, The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure, Mutation Research, Vol.368, pp.171-179.

113. Soliman, M.I., 2001, Genotoxicity testing of neem plant (*Azadirachta indica* A. Juss.) using the *Allium cepa* chromosome aberration assay, Journal of Biological Sciences, Vol.1, pp.1021-1027.

114. Soliman, M.I., Ghoneam, G.T., 2004, The mutagenic potentialities of some herbicides using *Vicia faba* as a biological system, Biotecnology, 3(2):140-154.

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

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

117. 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: 816-82.

118. Swisher, R. D. ,1987, Surfactant biodegradation. Surfactant science series 18. Marcel Dekker, Inc., New York.

119. 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.

120. Şahin, Z., 2008, Büyük Menderes nehriyle sulanan Aydın bölgesi 'ndeki toprakların genetoksisitesinin Allium test sistemiyle belirlenmesi,Yüksek Lisans Tezi Adnan Menderes Üniveristesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın

121. Tıpırdamaz, R., Gömürgen, N., Kolankaya, D., Doğan M., 2003, Determination of Toxicity Of Pulp-MIII Effluents By Using Allium Test , Tarım Bilimleri Dergisi, 9 (1) 93-97.

122. Tkalec**,** M., Malarić**,** K., Pavlica, M., Pevalek-Kozlina , B., Vidaković-Cifrek, Z., 2009, Effects Of Radiofrequency Electromagnetic Fields On Seed Germination And Root Meristematic Cells Of *Allium cepa* L., Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, Volume 672, Issue 2:76–81.

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

124. Tsuchido, T., Svarachorn, A., Soga, H., Takano, M., 1990, Lysis and aberrant morphology of Bacillus subtilis cells caused by surfactants and their relation to autolysin activity, Antimicrob Agents Chemother 34:781-785.

125. Uhlig, B.A., Wissemeier, A. H., 2000, Reduction of non-ionic surfactant phytotoxicity by divalent cations, Crop Protection 19 (2000) 13-19.

126. Ünal, M., Vardar F., İsmailoğlu, I., 2008, Hücre Biyolojisi Laboratuvarı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

127. Van't Hoff, J., 1968, The action of IAA and kinetin on the mitotic cycle of proliferative and stationary phase exised root meristems, Experimental Cell Research, 51: 167-176.

128. Webster, P.L., Davidson, D., 1969**,** Changes in the duration of the mitotic cycle induced by colchicine and Indol-3yl-acetic acid in *Vicia faba* roots Journal of Experimental Botany, Vol., pp.671-685.

129. Wheeler, D.S., Bonny, A.E., Ruddy, R.M., Jacobs B.R., 2003, Late-onset respiratory distress after inhalation of laundry detergent, Pediatr. Pulmonol; 35 (4): 323-5.

130. Williams, M. W., 1979, Chemical thinning of Apples. Hort. Rev. Vol. 1. (Ed: J.Janick), 270-300.

131. Wyss, O.,1951, Surface active agents, In: Werkman CH and Wilson PW (eds) Bacterial Physiology, Academic Press New York, p 204.

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

133. Yalçın, E., Çavuşoğlu K., 2010, Structural Analysis and Antioxidant Activity of a Biosurfactant Obtained from *Bacillus subtilis* RW-I, Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2010; 35 (3) ; 243–247.

134. Yang, J., 2002, Viscoelastic wormlike micelles and their applications, Current Opinion in Colloid & Interface Science, 7, 276-281.

135. Yi, H., Meng, Z, 2003, Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*, Mutation Research, Vol.537, pp.109-1124.

136. Yildiz, M., Arikan, E.S. , Terzi, H., 2006, Farklı Kimyasal Maddelerin Etkili Konsantrasyonlarının *Allium* Kök İnhibisyon Testi ile Belirlenmesi, 18.Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran, Kuşadası/Aydın.

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

138. Zhang, H., 1995, The improved *Allium*/*Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants, Mutation Research, Vol.334, pp.185-195.

139. Zhang, Y., Yang, X., 1994, The toxic effects of cadmium on cell division and chromosomal morphology of *Hordeum vulgare*, Mutation Research, Vol.312, pp.121-126.

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

141. http://courses.cropsci.ncsu.edu/cs414/cs414_web/CH_6_2005.htm
142. http://www.ehow.com/list_6935277_foamers-used-agriculture-industry.html
143. http://www.extension.purdue.edu/extmedia/WS/WS-7.html
144. http://www.snowpure.com/docs/triton-x-100-sigma.pdf
145. http://www.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/studijni_materialy/Ekotox-Labo/AJverze /10_onion.pdf).
146. www.shunchia.com/doc/x100.doc
147. http://atanesa.atauni.edu.tr/AtaNesADosya/dosya//2735/Y%C3%9CZEY%20GER%C4%B0L%C4%B0M%C4%B04.htm
148. http://www.oilfieldchemicals.in/surfactant.htm
149. http://www.magma.ca/~pavel/science/Guests-2.htm
150. http:// www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/ 558detergent.html
151. http://www.d-foam.com/Foam.html
152. http://www.oilfieldchemicals.in/surfactant.htm
153. http://www.victuslabs.com/9384/index.html
154. http://www.caes.uga.edu/publications/pubDetail.cfm?pk_id=7678
155. http://vactruth.com/2011/09/10/wwii-military-handbook-reveals-pesticide-chemicals-used-in-infant-vaccines/

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında İstanbul'un Üsküdar ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi İstanbul'da tamamladım. 2005 yılında Çamlıca Kız Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)'nden mezun oldum. 2010 yılında, Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimimi tamamladım ve yine aynı yıl Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Hücre Biyolojisi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım. Ağustos 2012'de yüksek lisans tezimi tamamladım.

Yayınlar :

Akbaş, H. , Dane, F. , Yılmaz, G., Öztürk F., Leventer, S., 2011, Phytotoxic Effects of six surfactants on *Allium cepa* L. Plantlets, 18th International Botanical Congress (IBC 2011 Congress) (23-30 July), Abstract Book, p. 458, Melbourne, Australia.

Yılmaz, G., Akbaş, H. , Dane, F., Öztürk F., Leventer, S., 2012, Micellization And Related Behaviours Of Polyoxyethylene-Type Nonionic Surfactants On Rootelongation Of *Allium Cepa* L., International Conference on Global Trendsin Pure and Applied Chemical Sciences (ICGTCS-2012)(3rd-4thMarch), Poster No: AB-329/PP-128, Udaipur (Rajasthan), India.

Dane, F., Yılmaz, G., Akbaş, H. , Dane, F., Öztürk F., Leventer, S.,2012, Phytotoxic Effects of Non-Ionic Surfactant Octylphenol Series (Triton X-100, Triton X-114, Triton X-405) on Onion International Conference on Global Trendsin Pure and Applied Chemical Sciences (ICGTCS-2012)(3rd-4thMarch), Poster No: AB-330/PP-129, Udaipur (Rajasthan), India.

Yüksek Lisans

"Triton X-100'ün *Allium cepa* L. Üzerinde Sitotoksik Etkileri"

Trakya Üniversitesi

Fen Bilimleri Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada, bir noniyonik surfaktan(yüzey aktif madde) olan Triton X-100'ün farklı konsantrasyonlarının *Allium cepa* L.'nın kök uçlarında kök büyümesi, mitotik indeks, mitotik faz indeksi ve kromozom aberasyonları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Kontrol uygulamaları musluk suyunda gerçekleştirilmiştir. Tüm denemelerde, 24 saat için musluk suyunda homojen köklenmiş soğanlar kullanılmıştır. *Allium* kök büyümesi inhibisyonu testinde, Triton X-100'ün etkili konsantrasyon (EC_{50}) değeri yaklaşık % 0,125 g/L olarak bulunmuştur. Sitotoksisite testinde, soğanlar musluk suyu (kontrol) ve Triton X-100'ün EC_{50} değeri (% 0,125 g/L), EC_{50} değerinin yarısı ($EC_{50}/2$=% 0,0625g/L) ve EC_{50} değerinin iki katı ($EC_{50}\times2$=% 0,25 g/L) konsantrasyonlarında 24, 48, 72 ve 96 saat süreyle bekletilmiştir. Triton X-100 uygulamalarında ortalama kök uzunluğu, kontrole göre önemli derecede azalmıştır ($P<0,05$). Bu uygulamalardan sonra, mikroskobik incelemeler için kök ucu örneklerinden preparatlar hazırlanmış, mitotik indeks, mitotik faz indeksi ve kromozom aberasyonları belirlenmiştir. Triton X-100 konsantrasyonunun artmasıyla mitotik indeks önemli düzeyde azaldığı, kromozom aberasyonlarının arttığı gözlenmiştir. Bu aberasyonlar, metafazda, tabla kayması (%22,13), yapışıklık (%12,02), vagrant kromozom (%5,62) ve C-mitoz (%3,29), anafazda, yanlış kutuplaşma (%18,96), vagrant kromozom (%14,7), köprü (%10,02), yapışıklık (%2,47) olarak belirlenmiştir. Buna karşın, metafazda fragment (%0,55) ve anafazda fragment (%1,09) daha düşük oranda saptanmıştır.

2012, 75 sayfa

Anahtar kelimeler: *Allium cepa* L., Triton X-100, kök büyümesi, etkili konsantrasyon, mitotik indeks, faz indeksi, kromozom aberasyonları

Master Thesis

"Cytotoxic effects of Triton X-100 on *Allium Cepa* L."

Trakya University Institute of Natural Sciences

Department of Biology

ABSTRACT

In this study, the effects of nonionic surfactant Triton X-100 on root growth, mitotic index, mitotic phase index and chromosome aberrations on root tips of *Allium cepa* L. were investigated. The control treatments were performed in tap water. In all treatments, the onions which homogeneously rooted in tap water for 24 h were used. In *Allium* root growth inhibition test, effective concentration (EC_{50}) value of Triton X-100 was found approximately % 0,125 g/L. In cytotoxicity test, onions were grown at tap water (control), and at EC_{50} (% 0,125 g/L), EC_{50} half of the ($EC_{50}/2$=% 0,0625g/L) and double the EC_{50} ($EC_{50}\times2$=% 0,25 g/L) concentrations of Triton X-100 for 24, 48, 72 and 96 h. In concentrations of Triton X-100, mean of root growth reduced significantly compared to control ($P<0,05$). After these treatments, the slides were prepared from the root tip samples and mitotic index, mitotic phase index and chromosome aberrations were determined. It was observed that mitotic index was significantly decreased, chromosome aberrations induced by increasing the concentration of Triton X-100. These aberrations were detected such as plate shifting (%22,13), stickness (%12,02), vagrant chromosomes (%5,62) ve C-mitosis (%3,29) in metaphase, wrong polarization (%18,96), vagrant chromosomes (%14,7), bridge (%10,02), stickness (%2,47) in anaphase. Whereas the low rate of fragments in metaphase (%0,55) and fragments in anaphase (%1,09) were found.

2012, 75

Key words: *Allium cepa,* Triton X-100, root growth, effective concentration, mitotic index, phase index, chromosome aberration

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında sonsuz desteğiyle ve engin tecrübesiyle yanımda olan değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Feruzan DANE'ye şükranlarımı sunarım. Tezimin her aşamasında yardımlarıyla sürekli yanımda olan çok değerli arkadaşım yüksek lisans öğrencisi Sinem LEVENTER'e ve burada ismini yazamadığım destekleriyle yanımda olan sevgili arkadaşlarıma, hiçbir konuda yardım etmekten çekinmeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Halide AKBAŞ, Yrd.Doç.Dr. Mehmet AYBEKE, Arş. Gör. Dr. Gülden YILMAZ'a ve istatistiksel değerlendirme çalışmalar aşamasında bana yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Utku GÜNER'e ve Uzm. Dr. Volkan AKSOY'a çok teşekkür ederim.

Sonsuz maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalısmayı TÜBAP-2012-122 nolu proje ile destekleyen Trakya Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET I

ABSTRACT II

TEŞEKKÜR III

İÇİNDEKİLER IV

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ V

TABLOLAR LİSTESİ VI

ŞEKİLLER LİSTESİ VII

BÖLÜM 1 1

GİRİŞ

BÖLÜM 2 3

KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.Yüzey Aktif Maddeler 3

2.2.Yüzey Aktif Maddelerin Toksik Etkileri 21

2.3.Allium Testi 29

2.4.Hücre Döngüsü 31

Bölüm 3 36

MATERYAL VE METOD

Bölüm 4 43

BULGULAR

Bölüm 5 56

TARTIŞMA

KAYNAKLAR 63

ÖZGEÇMİŞ 75

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
EC_{50}	Etkili konsantrasyon
DDT	Dikloro difenil trikloroetan
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
L	Litre
ºC	Santigrad
µm	Mikrometre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
MI	Mitotik indeks
M	Molarite
KMK	Kritik miselleşme konsantrasyonu
$Na_2S_2O_5$	Sodyum metabisülfit
SD	Standart sapma

TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo 2.1 Mikrobiyel surfaktantların yapısal tipleri……..10

Tablo 4.1. Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök uzaması üzerine etkisi……...44

Tablo 4.2. Uygulanan Triton X-100 Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks Üzerine Etkisi……45

Tablo 4.3. Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme evreleri üzerindeki etkisi……. 46

Tablo 4.4 Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi üzerindeki etkisi……46

Tablo 4.5 Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evrelerinde kromozom aberasyonu görülen hücre sayıları…….50

Tablo 4.6. Triton X-100 'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde metafaz ve anafaz evreleri kromozom aberasyon % oranları……...51

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 2.2 Sıvı-buhar ara yüzeyi molekülleri sıvının iç kısmından yüzeye getirerek yüzeyi genişletmek için, sistemin üzerine iş yapılması gereklidir ……...4

Şekil 2.2 Yüzey aktif madde…….....5

Şekil 2.3 Küresel misel, silindirik misel ve lamellar faz ……..…….6

Şekil 2.4 Anyonik Yüzey Aktif Madde……7

Şekil 2.5 Katyonik Yüzey Aktif Madde…….....8

Şekil 2.6 Noniyonik Yüzey Aktif Madde…….8

Şekil 2.7 Amfoterik Yüzey Aktif Madde…….…….9

Şekil 2.8 Basitleştirilmiş bitki kutikulası…….16

Şekil 2.9 Surfaktanın grafiksel şekli…….……...17

Şekil 2.10 Su Yüzeyindeki surfaktan moleküllerinin görünümü……..17

Şekil 2.11 Mumsu yaprak yüzeyindeki damla……18

Şekil 2.12 Triton X-100'ün açık formülü……19

Şekil 2.13 Surfaktanın bezelye üzerinde olumsuz etkisi…….23

Şekil 2.14 Noniyonik surfaktanın *Viola spp*. 'de tahribatı, nod küçülmesi……..23

Şekil 2.15 Noniyonik surfaktanların (Triton X-100, Genapol C-80) *Euphorbia pulcherrima* Willd. brakteleri üzerinde fitotoksik etkisi…….24

Şekil 2.16 Triton X-100'ün (% 0,375 g/L) sitotoksik etkileri……..… 26

Şekil 2.17 Hücre döngüsü evreleri- G_1,S,G_2,G_0.....32

Şekil 2.18 *Allium cepa* hücrelerinde mitoz bölünme evreleri……34

Şekil 2.19 Bitki hücresinde sitokinez…….35

Şekil 3.1. *Allium cepa* L. karyotipi…….…….36

Şekil 3.2 Triton X-100'ün yapısal formülü…….37
Şekil 4.1 Triton X-100 konsantrasyonlarının *Allium cepa* kök büyümesi üzerine etkisi…….44
Şekil 4.2 *Allium cepa* kök büyüme inhibisyonu testine göre belirlenen Triton X-100 'ün EC_{50} değeri (EC_{50} değeri: %0,125)…….44
Şekil 4.3 Uygulanan Triton X-100 Konsantrasyonlarının Mitotik İndeks Üzerine Etkisi …….45

Şekil 4.4 Triton X-100'ün *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde faz indeksi üzerindeki etkisi (%)...…….47

Şekil 4.5 Triton X-100 'ün aberasyon %'sine etkisi……..…..49

Şekil 4.6 *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde kontrol grubunda mitoz bölünme evreleri**……...……...……...**52
Şekil 4.7 Triton X-100'ün % 0,25'lik konsantrasyonu ile 96 saat muamele edilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde görülen metafaz- anafaz aberasyonları……..……53

Şekil 4.8 Triton X-100'ün % 0,125'lik konsantrasyonu 96 saat muamele edilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde görülen metafaz- anafaz aberasyonları……...…54

Şekil 4.9 Triton X-100'ün % 0,0625'lik konsantrasyonu ile 96 saat muamele edilen *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde görülen metafaz- anafaz aberasyonları……55