

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ELEKTROMAGNETİK ALANIN *Lens culinaris Medik.*
(MERCİMEK) ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ**

Şükriye Pınar EREN
(Biyoloji Öğretmeni)

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Meral ÜNAL**

İSTANBUL 2006

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ELEKTROMAGNETİK ALANIN *Lens culinaris* Medik.
(MERCİMEK) ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ**

Şükriye Pınar EREN
(Biyoloji Öğretmeni)
(141100620030270)

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Meral ÜNAL**

İSTANBUL 2006

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KABUL VE ONAY BELGESİ

**ELEKTROMAGNETİK ALANIN *Lens culinaris* Medik.
(MERCİMEK) ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ**

Şükriye Pınar Eren'in "ELEKTROMAGNETİK ALANIN *Lens culinaris* Medik. (MERCİMEK) ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ" isimli Lisansüstü tez çalışması, M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 15 Mayıs 2006 tarih ve 2006/11-6 sayılı kararı ile oluşturulan jüri tarafından BİYOLOJİ Anabilim Dalı BİYOLOJİ Programında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman :Prof.Dr. Meral ÜNAL (Marmara Üniversitesi)
Üye :Prof.Dr. Ali ÇIRPICI (Marmara Üniversitesi)
Üye :Yard.Doç.Dr. Yaşar BİRBİR (Marmara Üniversitesi)
Tezin Savunulduğu Tarih: 24 Mayıs 2006

ONAY

M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun.....tarih
ve.....sayılı kararı ile.....'in.....
Anabilim Dalı.....Programında Y.Lisans (MSc.) / Doktora (Dr, PhD.)
derecesi alması onanmıştır.

Marmara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim sırasında danışmanlığımı üstlenen, engin bilgilerinden yararlanma fırsatı veren, beni cesaretlendiren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Meral ÜNAL'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmamda manyetik alanlar ile ilgili her imkanı bana özveriyle sağlayan Teknik Eğitim Fakültesi öğretim üyesi, değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Yaşar BİRBİR'e teşekkür ederim.

Marmara üniversitesi'ndeki lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bana emeği geçmiş bütün hocalarıma teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmam sırasında her türlü yardımı ve desteği gösteren araştırma görevlileri sevgili Filiz VARDAR ile Işıl İSMAİLOĞLU'na ve Ayşen YUMURTACI'ya teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi her türlü desteği veren aileme, dostlarım Fatma BULUT ve Ümit DEMİR'e teşekkür ederim.

Nisan/2006

Şükriye Pınar EREN

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

ÖNSÖZ.....	I
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
YENİLİK BEYANI.....	VII
KISALTMALAR.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
TABLO LİSTESİ.....	XII
BÖLÜM I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER.....	3
BÖLÜM III. TEZ ÇALIŞMALARI.....	15
III.1. ARAŞTIRMA MATERYALİ.....	15
III.2. ARAŞTIRMA YÖNTEMLERİ.....	15

III.2.1. Manyetik Alan.....	15
III.2.2. Mercimek Tohumlarının Sterilizasyonu ve Çimlendirilmesi..	18
III.2.3. Sitolojik Yöntemler.....	18
III.2.3.1. Köklerin Fikse Edilmesi ve Saklanması.....	18
III.2.3.2. Ezme Preparasyon Yöntemi.....	18
III.2.3.3. Daimi Preparasyon Yöntemi.....	19
BÖLÜM IV. SONUÇLAR.....	21
IV.1. ALTERNATİF AKIMLI ELEKTROMANYETİK	
ALANIN VE DOĞRU AKIMLI STATİK MANYETİK	
ALANIN <i>Lens culinaris</i> Medik. KÖKLERİNİN	
MORFOLOJİSİNE ETKİLERİ.....	21
IV.2. ALTERNATİF AKIMLI ELEKTROMANYETİK	
ALANIN VE DOĞRU AKIMLI STATİK MANYETİK	
ALANIN <i>Lens culinaris</i> Medik. KÖK UCU HÜCRELERİNDE	
SİTOLOJİK ETKİLERİ.....	22
IV.2.1. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru	
Akımlı Statik Manyetik Alanın <i>Lens culinaris</i> Medik.Kök	
Ucu Hücrelerinin Sitoplazmalarına Etkileri.....	23
IV.2.2. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru	
Akımlı Statik Manyetik Alanın <i>Lens culinaris</i> Medik. Kök	
Ucu Hücrelerinde Mitotik İndekse Etkileri.....	24
IV.2.3. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru	
Akımlı Statik Manyetik Alanın <i>Lens culinaris</i> Medik. Kök	
Ucu Hücrelerinde Mitoz Bölünme Evrelerindeki	
Hücrelerin Sayılarına Etkileri.....	29
IV.2.4. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru	
Akımlı Statik Manyetik Alanın <i>Lens culinaris</i> Medik. Kök	
Ucu Hücrelerindeki Kromozom	
Davranışlarına Etkisi.....	30

IV.2.5. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın <i>Lens culinaris</i> Medik. Kök Ucu Hücrelerinde Sitoplazmik Kalsiyum Dağılımına Etkileri.....	34
BÖLÜM V. TARTIŞMA VE DEĞERLENDİRMELER.....	54
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	67

ÖZET

ELEKTROMAGNETİK ALANIN *Lens culinaris* Medik. (MERCİMEK) ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ

Alternatif akımlı (AC) elektromanyetik alanın ve doğru akımlı (DC) statik manyetik alanın mercimekte (*Lens culinaris* Medik.) mitotik indeks, kromozom davranışları ve sitoplazmik kalsiyum dağılımı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Mercimek tohumları petri kaplarında, laboratuvar koşullarında, nemlendirilmiş filtre kağıtları üzerinde 3 gün çimlendirildikten sonra manyetik alan uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Uygulamada kontrol grubu, alternatif akımlı manyetik alan grubu ve doğru akımlı manyetik alan grubu olmak üzere üç grup kurulmuş ve her grup için 3, 6 ve 12 saatlik uygulamalar yapılmıştır. Alternatif akımlı elektromanyetik alanda 2,25 μ Wb ve 3,86 μ Wb olmak üzere iki, doğru akımlı statik manyetik alanda ise 300 G, 600 G ve 1000 G olmak üzere üç şiddet kullanılmıştır. Alternatif ve doğru akımın kullanıldığı uygulamalarda köklerde bazı morfolojik bozukluklar gözlenmiştir. Ezme preparatlarda mikronukleus oluşumu, iki nukleuslu hücreler, kromozom köprüleri, metafaz kromozomlarında aşırı kontraksiyon, geç çekilen kromozomlar, iğ oriyantasyonu farklılığı gibi mitotik anormallikler saptanmıştır. Ayrıca nukleoplazmada vakuol oluşumu, sitoplazmada aşırı vakuolleşme, plazma zarında ve nukleus zarında bozukluklar da gözlenmiştir. Mitotik indeks şiddet ve süre artışına paralel olarak azalmış, 1000 G, 3 saatlik uygulamada ise sıfırlanmıştır. Manyetik alan uygulamasının sitoplazmik kalsiyum dağılımına etkisini araştırmak üzere köklere Alizarin Red S boyaması yapılmıştır. Şiddet ve süre artışına bağlı olarak sitoplazmik kalsiyumda artış tespit edilmiştir.

Alternatif akımlı elektromanyetik alan ve doğru akımlı statik alan mercimek hücrelerinde, mitotik indeksi azaltmış, mitotik kromozomlarda ve sitoplazmada anormalliklere neden olmuş, sitoplazmik kalsiyum dağılımını değiştirmiştir.

Nisan/2006

Şükriye Pınar EREN

SUMMARY

CYTOTOXIC EFFECTS OF ELECTROMAGNETIC FIELD ON *Lens culinaris* Medik.(LENTİL)

The effects of AC and DC magnetic fields on mitotic index, chromosomal behavior and deposition of calcium ions in cytoplasm were investigated in lentil (*Lens culinaris* Medik.). Lentil seeds were germinated in petri dishes covered with filter paper moistened with distilled water. 3 days after sowing, the root tips were exposed to the AC and DC for 3, 6 and 12 hours. Magnetic field by AC 2,25 μ Wb and 3.86 μ Wb, by DC 300G, 600 G ve 1000G were used. Some morphological defects were observed on the roots exposed to magnetic fields. Some mitotic abnormalities were also observed in treated roots such as, chromosome bridges, stickiness, lagging chromosomes, micronuclei, binucleate cell. Vacuolization is very conspicuous in the cytoplasm as well as in the nucleoplasm. Breaks on the nuclear and plasma membranes were observed. Mitotic indices were decreased by increasing time and dose and it fell zero at 1000 G. In order to identify calcium ions distribution in cytoplasm Alizarin Red S applied to the root tips. The root tips exposed to the magnetic fields were more strongly stained than control roots depending on time and dose.

In conclusion, In the root tips exposed to the AC and DC magnetic fields mitotic index was decreased, some abnormality on chromosomal behavior and cytoplasm were observed and cytoplasmic deposits of calcium ions changed depending on time and dose.

YENİLİK BEYANI

ELEKTROMAGNETİK ALANIN *Lens culinaris* Medik. (MERCİMEK) ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ETKİLERİ

Alternatif akımlı elektromanyetik alanın ve doğru akımlı statik manyetik alanın mercimek tohumlarının (*Lens culinaris* Medik.) mitoz bölünme sıklığında, kromozom davranışlarında ve sitoplazmada meydana getirdiği değişiklikler ilk kez bu çalışmada incelenmiştir. Elektromanyetik kirlenmenin yoğun olduğu günümüzde, alternatif akımlı elektromanyetik alanın ve doğru akımlı statik manyetik alanın mercimek köklerinde mitotik indeksi, kromozom davranışlarını, sitoplazmadaki kalsiyum dağılımını ve plazma membranını olumsuz etkilediği saptanmıştır.

Nisan/2006

Prof.Dr. Meral ÜNAL

Şükriye Pınar EREN

KISALTMALAR

ATPaz	: Adenozin trifosfataz enzimi
A°	: Angstrom
AC	: Alternatif akım
DC	: Doğru akım
DNA	: Deoksiribonükleik asit
HCl	: Hidroklorik asit
G	: Gauss
ns	: Nanosaniye
N	: Normalite
kV	: Kilovolt
mV	: Milivolt
m	: Metre
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
μWb	: Mikroweber
μT	: Mikrottesla
mT	: Militesla
μM	: Mikromolar
Hz	: Hertz
MHz	: Megahertz
%	: Yüzde
°C	: Derece santigrat
cm²	: Santimetre kare
V	: Volt

ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA NO

Şekil III.2.1.1.	Elektromanyetik ve statik manyetik alanının elde edildiği devre.....	16
Şekil IV.2.2.1.	Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın Mercimek Kök Ucu Hücrelerinde Mitotik İndekse Etkisi.....	27
Şekil IV.2.2.2.	Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın Mercimek Kök Ucu Hücrelerinde Mitotik İndekse Etkisi.....	28
Şekil IV.2.4.1.	Mercimek Kontrol Grubu Kök Uçlarında A. İnterfaz; B ve C. Profaz; D. Metafaz, Telofaz Sonu; E.Anafaz; F. Telofaz.....	35
Şekil IV.2.4.2.	Mercimek Kök Uçlarında 2,25 μ Wb, 3 Saat Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	36
Şekil IV.2.4.3.	Mercimek Kök Uçlarında 2,25 μ Wb, 6 Saat Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	37
Şekil IV.2.4.4.	Mercimek Kök Uçlarında 2,25 μ Wb, 12 Saat Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	38
Şekil IV.2.4.5.	Mercimek Kök Uçlarında 3,86 μ Wb, 3 Saat Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	39
Şekil IV.2.4.6.	Mercimek Kök Uçlarında 3,86 μ Wb, 6 Saat Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	40
Şekil IV.2.4.7.	Mercimek Kök Uçlarında 3,86 μ Wb, 12 Saat Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	41
Şekil IV.2.4.8.	Mercimek Kök Uçlarında 300 G, 3 Saat Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulamasından	

	Sonra Gözlenen Anormallikler.....	42
Şekil IV.2.4.9.	Mercimek Kök Uçlarında 300 G, 3 Saat Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	43
Şekil IV.2.4.10.	Mercimek Kök Uçlarında 300 G, 6 Saat Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	44
Şekil IV.2.4.11.	Mercimek Kök Uçlarında 300 G, 12 Saat Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	45
Şekil IV.2.4.12.	Mercimek Kök Uçlarında 600 G, 3 Saat Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	46
Şekil IV.2.4.13.	Mercimek Kök Uçlarında 600 G, 6 Saat Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	47
Şekil IV.2.4.14.	Mercimek Kök Uçlarında 600 G, 12 Saat Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	48
Şekil IV.2.4.15.	Mercimek Kök Uçlarında 1000 G, 3 Saat Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulamasından Sonra Gözlenen Anormallikler.....	49
Şekil IV.2.5.1.	Alizarin Red S ile Boyanmış Mercimek Kontrol Kökü.....	50
Şekil IV.2.5.2.	Alizarin Red S ile Boyanmış 2,25 μ Wb Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Muameleli Mercimek Kökleri.....	50
Şekil IV.2.5.3.	Alizarin Red S ile Boyanmış 3,86 μ Wb Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Muameleli Mercimek Kökleri.....	50
Şekil IV.2.5.4.	Alizarin Red S ile Boyanmış 300 G Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Muameleli Mercimek Kökleri.....	51
Şekil IV.2.5.5.	Alizarin Red S ile Boyanmış 600 G Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Muameleli Mercimek Kökleri	51
Şekil IV.2.5.6.	Alizarin Red S ile Boyanmış 1000 G Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Muameleli Mercimek Kökleri.....	51
Şekil IV.2.5.7.	Alizarin Red S ile Boyanan Mercimek Kontrol Kök Ucu	

	Hücreleri.....	52
Şekil IV.2.5.8.	Alizarin Red S ile Boyanan 2,25 μ Wb Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Uygulanmış Mercimek Kök Ucu Hücreleri.....	52
Şekil IV.2.5.9.	Alizarin Red S ile Boyanan 3,86 μ Wb Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alan Uygulanmış Mercimek Kök Ucu Hücreleri.....	52
Şekil IV.2.5.10.	Alizarin Red S ile Boyanan 300 G Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulanmış Mercimek Kök Ucu Hücreleri.....	53
Şekil IV.2.5.11.	Alizarin Red S ile Boyanan 600 G Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulanmış Mercimek Kök Ucu Hücreleri.....	53
Şekil IV.2.5.12.	Alizarin Red S ile Boyanan 1000 G Doğru Akımlı Statik Manyetik Alan Uygulanmış Mercimek Kök Ucu Hücreleri.....	53

TABLO LİSTESİ

SAYFA NO

Tablo III.2.1.1. Çalışmada Yapılan Deneyler.....	17
Tablo IV.1.1. Alternatif Akımlı Elektromanyetik ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanların Etkisindeki <i>Lens culinaris</i> (mercimek) Primer Kök Uçlarının 3 mm Gerisinden Alınan Enine Kesitlerin Ortalama Çap Değerleri.....	22
Tablo IV.2.2.1. Mercimek Kök Hücrelerinde Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın Ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın Mitotik İndekse Etkisi.....	25
Tablo IV.2.2.2. Uygulamaların Kontrole Göre Mitotik İndeks Azalma Yüzdeleri.....	26
Tablo IV.2.3.1. Mercimek Kök Ucu Hücrelerinde Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın Mitoz Bölünme Evrelerine Etkisi.....	29
Tablo IV.2.4.1. Alternatif Akımlı (AC) Elektromanyetik Alan Uygulamalarında Görülen Anormalliklerin Yüzdeleri.....	32
Tablo IV.2.4.2. Doğru Akımlı (DC) Statik Manyetik Alan Uygulamalarında Görülen Anormalliklerin Yüzdeleri.....	33

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Manyetik kirlenme yüksek gerilim hatları, cep telefonları, baz istasyonları, televizyonlar, radyolar, elektrikli battaniyeler ve çeşitli elektrikli ev aletleri gibi kaynakların oluşturduğu manyetik alanlardan kaynaklanır. Manyetik alan oluşturan bu kaynaklar yaşamımızın bir parçası durumundadır ve gittikçe artan miktarlarda kullanılmaktadır. Manyetik kirlenme başta insanlar olmak üzere tüm canlıları etkilemektedir.

Yıllardır birçok çalışmada bitkiler üzerinde manyetik alanın etkisi araştırılmıştır. 1930'lardan önce Savastin manyetik alanın etkisi altındaki buğday fidelerinin boylarının % uzama oranını araştırmıştır. Sonraları Murphy (1942) tohum çimlenmesindeki değişikliklerden, Audus (1960) ve Pittman (1965) kök gelişimi üzerinde güçlü elektromanyetotropik bir etkiden bahsetmiştir.

Audus (1960) aktif olarak büyüyen köklerin manyetik akımın yüksek olduğu bölgeden düşük olduğu bölgeye doğru kıvrıldığını bulmuştur (Penuelas, Llusia, 2004).

1960'lı yıllarda Murr tarafından iki alüminyum tel düzeneği arasında bir elektrik alanı oluşturulmuştur. 24 cm²'lik saksılarda köpekdişi fideleri (*Dactylis glomerata*) yetiştirildikten sonra, saksının altına bir elektrot ve bitkinin tepe noktasından 10 cm'den daha yüksek olmayacak şekilde havada asılı bir başka elektrot yerleştirilmiştir. Elektrotların bağlı olduğu güç kaynağından değişik voltajlarda akım vererek oluşan alanların bitki üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Elektrik alanının sürekli uygulanması sonucunda fidenin yaprak uçlarında kahverengi yanıklar gözlenmiş ve bitkide mineral yetersizliğine benzer belirtiler tespit edilmiştir. Yanan yaprak ucu bölgesi ile yaprağın dip kısmı arasında koyu yeşil bir bölge ortaya çıkmıştır. Murr, alana maruz kalan fidelerin yaprak uçlarında demir, çinko ve

alüminyum elementlerinin artışının solunumda rol alan metal gruplu enzimlerin (sitokromlar) aktivitesini arttırdığı, bununda doku hasarına öncülük ettiği sonucuna varmıştır (Kocaçalışkan, 2004).

Rakosy ve arkadaşları (2005), patates sürgün uçlarının in vitro kültürlerine düşük şiddetli manyetik alan vermişler, klorofil-a ve klorofil-b miktarındaki artışın, karotenoidlerin artışının iki katından fazla olduğunu bulmuşlardır.

Günümüze daha yakın zamanlarda, birçok araştırmacı, farklı bitkilerin gelişimi ve metabolizmaları üzerinde sabit manyetik alanların etkilerini incelemiştir. Kullanılan farklı şiddetteki alanların her birinin bağımsız olarak kök kütlesini, yaprak büyüklüğünü ve gövde kalınlığını değiştirdiği bulunmuştur. Köklerin manyetik alana olan hassasiyetlerinin, filizlerden çok daha fazla olduğu saptanmıştır (Penuelas ve Llusia, 2004).

Lilium henryi L. 'nin anterleri 5000 G statik manyetik alanda 4 saat tutulduktan hemen sonra polen ana hücrelerindeki mayoz bölünmede anafaz I ve telofaz I'de birkaç önemli anormallik gözlenmiştir. Manyetik uygulamadan 18-24 saat sonra sapsmalar daha fazlalaşmıştır. Mayoz bölünmede görülen bu düzensizliklerin DNA ve bazik kromozomal proteinlerin manyetik alandan etkilenmelerinin bir sonucu olduğu saptanmıştır (Linskens ve Smeets, 1978).

Tkalec ve arkadaşları (2005) *Lemna minor* L. üzerinde yaptıkları çalışmada, radyofrekanslı elektromanyetik alanların bitkideki etkilerinin, alanın karakteristiğine bağlı olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmayla; manyetik kirlenmenin çok fazla görüldüğü günümüzde, elektromanyetik ve statik manyetik alanların *Lens culinaris* Medik. kök ucu hücrelerine olan sitotoksik etkilerini araştırmak amaçlanmaktadır. Doğru akımlı statik manyetik alanın ve 50-Hz frekansında alternatif akımlı elektromanyetik alanın farklı şiddetlerinin, farklı sürelerine maruz bırakılan *Lens culinaris* Medik. kök ucu hücrelerinde mitotik sıklık, kromozom davranışları, sitoplazmik kalsiyum dağılımındaki değişiklikler ve sitoplazmada meydana gelen anormallikler araştırılmıştır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

İletken maddelerin atomlarının son yörüngelerinde 4'ten az elektron bulunur. Atomlar bu elektronları 8'e tamamlayamadıkları için serbest bırakırlar. Bu yüzden bir iletken maddede milyonlarca serbest elektron bulunur. Bu maddeye elektrik uygulandığında elektronlar negatif (-) 'den pozitif (+) yöne doğru hareket etmeye başlar. Bu harekete elektrik akımı denir (www.inonu.edu.tr). Akım taşıyan iletkenin çevresinde bir kuvvet alanı saptanmıştır. İletkenin çevresi, kuvvetler oluşturma ve iş yapma yeteneğinde olan bir enerji biriktirme bölgesidir. Manyetik alan olarak adlandırılan bu alan elektrik alanı ile birlikte bulunur (Kıymaç, 1982).

Akımlar alternatif akım (AC) ve doğru akım (DC) olarak ikiye ayrılır. Zamana bağlı olarak yönü ve şiddeti değişmeyen akıma doğru akım denir. Zamana bağlı olarak yönü ve şiddeti değişen akıma ise alternatif akım denir. Bu akımda zamana bağlı olarak akımın kendini kaç kez yinelediği önemlidir. Alternatif akım için söz konusu olan frekans akımın saniyedeki yinelenme sıklığıdır (www.inonu.edu.tr).

Alternatif akımlı elektromanyetik alan ve doğru akımlı statik manyetik alanlara ek olarak darbeli manyetik alanlar da vardır. Darbeli manyetik alanlarda darbe, gücün belli ara ve sürelerle birden artmasıdır. AC şebekede darbelerin frekansı 50-Hz, süresi 20 mikrosaniyedir (www.antrak.org.tr).

Elektromanyetik alanlar, radyofrekanslı elektromanyetik alanlar ve düşük frekanslı elektromanyetik alanlar şeklinde ikiye ayrılır.

1-) Radyofrekanslı Elektromanyetik Alanlar

Radyo, televizyon, telefon gibi megahertz (MHz) düzeyinde yüksek frekanslı kaynakların oluşturduğu elektromanyetik alanlardır.

Radyofrekanslı elektromanyetik alanların bitkiler üzerindeki etkileri mikrodalgalar seviyesinde tohumlar üzerinde denenmiştir. 2450 MHz frekanslı alan

arpa, yulaf, buğday ve mısır tohumlarına uygulandığında tohumlarda hasar olduğu ve çimlenme yüzdesinin düştüğü görülmüştür (Kocaçalışkan, 2004).

900 MHz frekansında 23 V/m’lik elektrik alana maruz kalan *Lemna minor* L.’nin büyümesi kontrolle kıyaslandığında önemli ölçüde azalmıştır. Aynı şiddetteki 400 MHz’lik alanda ise etki gözlenmemiştir. Her iki frekansta uygulama süresi uzatılınca büyümede azalma olmuştur. En yüksek şiddet olarak 390 V/m’lik alan uygulandığında büyüme çok büyük oranda inhibe olmuştur (Tkalec ve ark., 2005).

2-) Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanlar

Düşük frekanslı elektromanyetik alanlar, 10^5 Hertz’den daha küçük frekanslı enerji kaynaklarının oluşturduğu alanlardır. Bu kaynaklar, genellikle elektrik gerilim hatlarını ve çeşitli elektrikli cihazları kapsadığı için “elektrik alanları” olarak da adlandırılabilir. Günümüzde elektrik iletimi yüksek gerilim hatlarıyla gerçekleştirilmektedir. Bunlar 380–700 kV arasında elektrik enerjisi taşırlar. Bu durumda iletim hatlarının altında oluşabilecek elektrik alan şiddeti 5–12 kV/m arasındadır (Kocaçalışkan, 2004).

Evlerdeki elektrik alanlar ise genellikle 1–10 V/m’dir. Elektrikli tıraş makinesi ya da saç kurutma makinesi gibi küçük cihazlarla bu değer 20–200 V/m’ye yükselir. Elektrikli battaniyeye ya da kaynar su yatağına yakınlık, alanın şiddetini birkaç kV/m arttırabilir ve hamilelikte çocuk düşürmeye ya da rahim gelişiminde bozukluklara sebep olabilir (Lacy-Hulbert ve ark., 1998).

Çek Cumhuriyeti’ndeki Slavetice’de ve Avustralya’daki Dürnrohr’da 380 kV enerjilik yüksek gerilim hattı yakınında mısır ve kış buğdayı ile 5 yıl boyunca deneyler yapılmıştır. Bitkiler yüksek gerilim hattından 40 m, 14 m, 8 m ve 2 m’lik uzaklıklara ekilmiştir. Bu uzaklıklardaki elektrik ve manyetik alan kuvvetleri ortalama 0,2 kV/m ile 4 kV/m ve 0,4 μ T ile 4,5 μ T arasındadır. Yetiştirme standart tarım yöntemleriyle yapılmış, her yıl toprak mikrobiyal biyokütlenin davranışı için incelenmiştir. Mikrobiyal biyokütle üzerinde elektromanyetik alanın etkili olmadığı görülmüştür. Alan şiddetinin en düşük olduğu bölgeden toplanan buğday tanelerinin verimi yüksek gerilim hattına daha yakın bölgeden toplananlara göre, 5 yılın ortalamasında %7 daha fazla olduğu saptanmıştır. Mısırdaki ise tane veriminde önemli bir fark bulunamamıştır (Soja ve ark., 2003).

Wolverton ve ark. (2000) tarafından mikroyerçekiminde yetiştirilen köklere elektrik alan uygulanmış ve uygulamanın hemen sonrasında kök uzamasının inhibe

olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar yerçekimi uyarınının yokluğunda elektrik alan uyarınının verilmesi ile kök hassasiyetinin arttığını göstermiştir.

Yu ve arkadaşları (1999), çimlenme esnasında toprakta dikey durumdaki mercimek (*Lens culinaris*) primer köklerinde, kortikal bölge hücrelerinin hücre döngülerini incelemiştir. Çimlenmenin başlangıcında tüm hücrelerin G₁ fazında olduğu belirlenmiştir. İlk hücre döngüsü yaklaşık 25 saat sürmüştür. 29 saat sonunda kortikal nukleusların %14'ünün hala G₂ fazında ya da ilk hücre döngüsünün mitoz fazında olduğu, %53'ünün ikinci hücre döngüsünün G₁ fazında, %33'ünün ise S fazında olduğu görülmüştür. Mikroyerçekiminde çimlendirilen mercimek primer kök hücrelerinin DNA içeriğinin analizi yapıldığında, DNA sentezi yapan hücrelerin sayısının az olduğu, hücrelerin çoğunun G₁ fazında kaldığı saptanmıştır. Yerçekiminin yokluğunda, mercimek meristematik kök hücrelerinin ilk hücre döngüsünde ya da ikinci hücre döngüsünün G₁ fazında kaldığı gözlenmiştir.

Ruzic ve arkadaşları (1992) *Castanea sativa* tomurcuklarını 28 hafta boyunca, haftada 6 gün, her gün bir saat 1,2 mT, 3,2 mT ve 5,9 mT'lik manyetik alana bırakmışlardır. Mevsime bağlı sonuçlarda tomurcukların yazın erken dönemlerinde 5,9 mT'lik alanda %50, 3,2 mT'lik alanda %64, 1,2 mT'lik alanda %62'lik büyüme artışı görülmüştür. Yazın geç dönemlerinde ve sonbaharda ise büyüme biraz azalmıştır.

Su stresinde *Arabidopsis* ve *Raphanus sativus*'un kök hücrelerindeki amiloplastların ve hücrelerin nişasta içeriğinin hızla azaldığı bulunmuştur. Nişastasız mutant bitkinin kökleri, yabani tipiyle karşılaştırıldığında daha şiddetli hidrotropizm gösterir. Yerçekimine tepkinin azalması kök hücrelerindeki amiloplastların azalmasından kaynaklanmaktadır. Sonuçta gravitropizmdeki azalma köklerin hidrotropizm göstermelerine izin verir (Takahashi ve ark., 2003).

48 saat boyunca 60-Hz, 430 V/m elektrik alana maruz bırakılan *Pisum sativum* kökleri incelendiğinde, elektrik alana maruz kalan köklerin uzunluğunun kontrol grubuna göre %44 azaldığı gözlenmiştir (Brulfert ve ark., 1985).

Sulu inorganik besi ortamında 60-Hz, 360 V/m elektrik alana maruz kalan on iki bitki türünün köklerinin büyüme oranları ve hücre çapları incelenmiştir. Büyümedeki değişim oranı kontrole göre sıfır ile yüz arasında değişmiştir. Hücre çapları ise prokambiyum, korteks ve meristem hücreleri için ortalama 13,5-13,8 µm olarak ölçülmüştür.

Ayrıca elektrik alan kaynaklı transmembran potansiyelinin 6 mV'ye çıkmasının büyümeyi azalttığı, 10-11 mV'ye çıkmasının ise büyümeyi tamamen durdurduğu saptanmıştır (Inoue ve ark., 1985).

Vicia faba L. köklerinin büyüme oranını etkileyen elektrik alan eşik şiddetinin 60-Hz, 230 V/m olduğu saptanmıştır. Şiddet arttıkça kök büyüme oranında azalma gözlenmiştir. Kontrole göre büyümesi %35 azalan köklerde mitotik indeksin etkilenmediği görülmüştür. 360 V/m şiddetindeki alanın uygulanmasından sonraki 4 günde ise kök büyüme oranının %31-96 arasında azaldığı saptanmıştır. Ayrıca mitotik indekste de azalma görülmüştür (Inoue ve ark., 1985).

Cucumis sativus ve *Cucurbita maxima* köklerine sulu inorganik besi ortamında 60-Hz, 100-500 V/m elektrik alan uygulanmıştır. Her iki tür için alan şiddetine bağlı kök büyüme oranları kaydedilmiştir. Küçük hücrelerden oluşan köklerin elektrik alandan etkilendikleri eşik şiddetin değeri, büyük hücrelerden oluşan köklere göre daha yüksek çıkmıştır. Küçük hücreli *Cucumis sativus* için 330 V/m olarak ölçülen alan eşik şiddeti, daha büyük hücrelere sahip *Cucurbita maxima* türünde 200 V/m olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar aynı şiddette elektrik alana maruz kaldığında *Cucumis sativus*'un kök büyüme oranının *Cucurbita maxima*'ya göre daha az etkileneceğini ortaya koymuştur (Brayman ve Miller, 1986).

Cucurbita maxima ve *Cucumis sativus* 2 gün boyunca 60-Hz elektrik alana maruz bırakılmıştır. *Cucumis sativus* köklerinde %10–20, *Cucurbita maxima* köklerinde %70–80 oranında büyüme inhibisyonu gerçekleşmiştir. Hücrelerin radyal genişlemesi ise elektrik alandan çok etkilenmemiştir. *Cucumis sativus*'un kök kortikal hücrelerinin çapları, *Cucurbita maxima*'nıninkilerden %25–30 daha küçüktür. Bu sonuçlar *Cucurbita maxima* ve *Cucumis sativus*'un elektrik alanın aynı şiddetine farklı eşik tepkileri gösterdiğini ortaya koymuştur (Brayman ve ark., 1987).

Cucumis sativus L. tohumlarının bir kısmı 1000 G'lik statik manyetik alanda bir kısmı ise 700 G'lik statik manyetik alanda çimlendirilmiştir. Kontrollerle kıyaslandığında 1000 G'lik statik manyetik alana maruz kalan tohumlardan çıkan filizler olması gereken düzlemden sapmalar göstermişlerdir. 1000 G'lik statik alana maruz kalan filizlerin eğimi 700 G'lik statik alana maruz kalanlardan daha fazladır (Hirota ve ark., 1999).

Patates sürgün uçlarının in vitro kültürlerine düşük şiddetli manyetik alan verildiğinde yaprak büyümesinde önemli bir artış saptanmıştır. Buna rağmen yabancı patates hücreleri kültüründe manyetik alanın taze ağırlık üzerine ya hiç etki etmediği ya da çok az inhibe ettiği saptanmıştır (Rakosy-Tican ve ark., 2005).

Fischer ve arkadaşları tarafından (2004) ayçiçeği ve buğday tohumlarına 12 gün boyunca $20 \mu\text{T}$ $16^{2/3}$ Hz elektromanyetik alan uygulanmıştır. Ayçiçeklerinin kök ve sürgün taze ağırlıklarında önemli bir artış gözlenirken, kuru ağırlık ve çimlenme oranının etkilenmediği görülmüştür. Buğdayda ise uygulama sonunda kök kuru ve taze ağırlığının arttığı, çimlenme oranının da yükseldiği saptanmıştır. Bunlar beklenen sonuçlardır. Çünkü 2001 yılında Reina ve arkadaşları marul tohumlarına sabit manyetik alan uyguladıklarında benzer sonuçlar bulmuşlardır. Manyetik alan hücre membranından geçen iyonik akım yoğunluğunda değişikliklere sebep olur. Bu etkileşim osmotik basınçta ve doku hücrelerinin suyu absorbe etme kapasitesinde de değişiklikler yaratır. Manyetik alan iyonik akım yoğunluğunu, membran geçirgenliğini, her iki membran yüzündeki iyonik konsantrasyonu, osmotik basıncı ve tohumların su alım oranını etkiler. Manyetik alan uygulaması nedeniyle su alım oranındaki artış, sabit manyetik alana maruz kalan tohumların çimlenme hızındaki artış ile açıklanmaktadır.

Actinidia deliciosa (kivi) 50-Hz alternatif akımlı elektromanyetik alanda çimlendirilmiş ve polen tüpü sitoplazmasında iyonik dengede değişiklikler saptanmıştır (Dattiola ve ark., 2005).

İnsan T lenfositlerine 1mV/m 'den fazla şiddette 30 ns'den az bir zaman elektrik alan uygulandığında membranın porlarının açıldığı ve sitosolde kalsiyum iyon konsantrasyonunun arttığı tespit edilmiştir (Thomas Vernier ve ark., 2003).

Küçük şiddetli, sabit elektrik alanlar hücre hareketlerini ve gelişimini etkilemektedir. Örneğin iyon nakleden bir epitelyumdaki yaranın kenarında hemen endojen büyük bir elektrik alan oluşturulur. Bu da birçok hücrenin çapının artmasına ve genişlemesine yol açar (Robinson ve Messerli, 2003).

Günümüzde tüm hücre membranlarının her iki tarafında da potasyum, sodyum, klor ve kalsiyum iyonları başta olmak üzere çok sayıda serbest iyon olduğu çok iyi bilinmektedir. Bu iyonlar sinyal transdüksiyon işlemlerinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Dıştan darbeli elektrik ya da manyetik alan uygulaması her bir iyonunda titreme hareketine sebep olmaktadır. İyonların titreme gücü kritik bir değeri aşınca, iyonlar elektriğe hassas iyon kanalının açılması için sahte bir sinyal

vermektedir. Bu yolla plazma membranının elektrokimyasal dengesi, buna bağılı olarak ta tüm hücre fonksiyonları bozulmaktadır (Panagopaulos ve ark., 2002).

Paramecium tetraurelia'ya 72-Hz darbeleri manyetik alan verildiğinde membrandaki lipit tabakalarının akışkanlığının azalmasına bağılı olarak membran akışkanlığının da bozulduğu görülmüştür. Manyetik alan nedeniyle membran potansiyelinin ve hücre tepkilerinin değiştiği saptanmıştır (Dihel ve ark., 1985).

Vicia faba ve *Zea mays* köklerine 60-Hz frekansında çeşitli şiddetlerde elektromanyetik alan uygulanmış ve uygulama şiddetinin artışına paralel olarak köklerin büyüme oranlarında azalmalar gözlenmiştir. Köklerin büyümesindeki azalmanın, elektromanyetik alan kaynaklı membran potansiyel farkındaki değişim ile ilişkili olduğu görülmüştür. Mısırın mebran potansiyeli için eşik şiddetinin 2,5 mV, baklanın ise 2,4 mV olduğu görülmüştür. Bu değerlerden fazla membran potansiyel farkı oluştuğunda her mV için mısır köklerinin büyümesi %9; bakla köklerinin büyümesi %19 azalmaktadır (Brayman ve ark., 1990).

Bir prokaryot olan *Propionibacterium acnes*'e 30 dakika, 50-Hz elektrik alan verildiğinde hücre canlılığında %50 azalma görülmüştür. 950 V/m şiddetinde elektrik alan verildiğinde ise hücrelerin hayatta kalma oranının %0,2'den bile az olduğu saptanmıştır (Ramstad ve ark., 2000).

Vicia faba fideleri 50-Hz, 10 μ T elektromanyetik alana 40 dakika maruz bırakıldığında köklerin işaretli aminoasitleri alımında bir artış gözlenmiştir. 50-Hz, 100 μ T'lik alana maruz kalan köklerde ise aminoasit alımı azalmıştır. 50 ya da 60-Hz frekansında, 10 ve 100 μ T'lik elektromanyetik alanlar iyon hareketini etkileyip, kök uçlarındaki membran taşıma işlemlerini değiştirmektedir (Stange ve ark., 2002).

Gıdaların sterilizasyonunda 50-Hz frekanslı, 10–24 kV şiddetinde elektrik alan uygulanmıştır. Bu alanın mikroorganizmaların sitoplazmik membranlarındaki porların şeklini bozan öldürücü bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir (Sato ve ark., 2001).

Zea mays L.'nin kök uçlarına 60-Hz, 220 V/m elektrik alan verilmiştir. Uygulanan alan hücre uzaması için gerekli olan ve plazma membranı H^+ -ATPaz'ın görev aldığı, protoplasttan hidrojen iyonunun salınışını net olarak inhibe etmiştir (Brayman ve Miller, 1990).

Düşük frekanslı elektromanyetik alanlar bağışıklık sistemi hücrelerine uygulandığında hücre tepkilerinde değişiklikler olduğu saptanmıştır. İmmun sistem

üzerinde alan etkilerinin oluşmasının, kalsiyum iyonlarının hücre membranını etkilemesinin sonucu olduğu kabul edilmektedir (Walleczek ve ark., 1992).

Siyah, tatlı Meksika mısırı hücrelerine darbeli elektrik alan uygulandığında membran permeabilize olmaktadır. Permeabilizasyon elektrik alanının şiddeti ve süresine bağlıdır. Permeabilizasyon ile doğru orantılı olarak hücrelerde canlılık kaybı söz konusudur (Sabri ve ark., 1996).

Membran Na-K-ATPaz enzimindeki elektromanyetik alan kaynaklı değişim, enzim ve elektromanyetik alanların doğrudan etkileşimi ile açıklanmıştır (Blank ve Goodman, 1997).

Hücrelerde, hücre zarlarının birbirine yapışması, hücre zarlarının bozulması, Ca-ATPaz ve Na-K-ATPaz enzimlerinin bozulması elektromanyetik alanların etkileri arasında düşünülmektedir (<http://tr.wikipedia.org>).

Darbeli elektrik alan şiddeti ve süresinin membran permeabilitesine etki ettiği saptanmıştır. Permeabilize olmuş iki hücrenin temas eden yüzeyleri birleşebilmektedir. Bu sayede hücre yüzeyindeki kusurlarda da birleşme olabilmektedir. Kusur bölgelerinde dış kökenli elektrik alan kaynaklı membran yapısının yeniden organize olduğu kabul edilir. Alanın şiddeti ve süresi permeabilizasyonu teşvik eder (Teissie ve Ramos, 1998).

Kısa süreli darbeli manyetik alana maruz kalan hücre membranında (ya da yapay lipid membranında) elektriksel bozulma meydana gelir. Hücre membranının permeabilitesi artar. Hücrenin fonksiyonları değişir (Zimmermann ve ark., 2003).

Kısa süreli, yüksek şiddetli (300 kV/cm'den fazla) darbeli manyetik alan insan hücrelerine uygulanmıştır. Uygulama süresi 10-300 ns olduğunda darbeli manyetik alanın hücre membranını ve hücre fonksiyonlarını değiştirdiği, uygulama süresi 10 dakikaya kadar uzatıldığında manyetik alanın apoptosise neden olduğu saptanmıştır (Beebe ve ark., 2003).

Darbeli elektrik alan hücrelere uygulandıktan sonra makromoleküllerin adsorbsiyonu ve hücre içine alımı artmaktadır. Bu olay spesifik ve spesifik olmayan bağlayıcıların kapasitesindeki düşük şiddetteki elektrik alandan kaynaklanan artışa bağlanmaktadır. BOS şeklinde kısaltılan bovine (sığır) serum albumin adlı maddenin 20 V/cm şiddetli alanda spesifik bağlanması kontrolden 6,5–7,4 kat fazladır. Spesifik olmayan bağlanma ise kontrolden 3,4–5,2 kat fazladır. Bağlanmadaki bu artış geri dönüşümlüdür (Antov ve ark., 2005).

Taxus chinensis'in kültür hücrelerine 50-Hz, 10 V/m darbeleri elektrik alan uygulandığında 30 dakika içinde bir sekonder metabolit olan taxuyunnanine C (T_c)'nin hücre dışı birikiminde önemli artış saptanmıştır. Darbeleri elektrik alanın bitki kültür hücrelerinde sekonder metabolit biyosentezini uyaran yeni bir abiyotik güç olduğu düşünülmektedir (Ye ve ark., 2004).

Şiddeti 27–37 μ T arasında olan doğru akımlı statik manyetik alanlar ile 7 ve 72-Hz frekanslı 13 ve 114 μ T arasında şiddete sahip alternatif akımlı elektromanyetik alanlar hücrelere uygulanarak kalsiyum akışı izlenmiştir. Bunun için radyoaktif kalsiyum (^{45}Ca) kullanılmıştır. Doğru akımlı statik alanın ve alternatif akımlı elektromanyetik alanın hücre membranındaki kalsiyum iyonu kanal proteinlerini doğrudan etkilediği gözlenmiştir (Baureus Koch ve ark., 2003).

38 μ T şiddetinde, 15 ve 45-Hz frekansında elektromanyetik alana maruz kalan beyin dokusunun kalsiyum iyonlarının akışında değişiklik olduğu gözlenmiştir. 1 ve 30-Hz frekansa maruz kalan dokuda ise böyle bir etki gözlenmemiştir. 15-Hz frekansındaki alanın kalsiyum iyonları üzerindeki etkisi, alan şiddeti 38 μ T'den 19 μ T'ye düşürüldüğünde ortadan kalkmıştır. 30-Hz frekanslı 38 μ T şiddetindeki alan beyin dokusunun kalsiyum iyonlarına etki etmezken, şiddet 76 μ T'ye çıkartıldığında kalsiyum iyonlarının akışında değişikliklere sebep olmaktadır. Alan şiddetinin ve de frekansının biyolojik etkilerin oluşumunda önemli bir role sahip olduğu ortaya konmuştur (Blackman ve ark., 1985).

Plazma membranı yüksek oranda karşı koyucu, sitosol ise iletici olduğundan 1 MHz'den az sıklıktaki alternatif akımlı elektrik alanlar hücrenin içine giremezler. Bu yüzden alternatif akımlı elektrik alan kaynaklı sitoplazmik kalsiyum iyonu artışı plazma membranı seviyesindeki hücresel olaylar tarafından gerçekleştirilmektedir. Elektrik alanın proteinlerde konformasyonel değişikliklere sebep olduğu gözlenmiştir. Ekzogen elektrik alana maruz kalan proteinlerde yapısal değişiklikler olmuştur. 1 ya da 10-Hz frekanslı elektrik alan insan hepatoma hücrelerine (Hep3B) uygulanmış ve 30 dakika içinde sitoplazmadaki kalsiyum iyonları konsantrasyonu 50 nM'den 200 nM'ye kadar artmıştır. Sitoplazmadaki kalsiyum iyonlarının artışı, plazma membranından kalsiyum iyonlarının hücre içine doğru akmasından kaynaklanmaktadır. Alternatif akımlı elektrik alan bir plazma membran reseptörü olan fosfolipaz C (PLC) 'nin aktivasyonunu sağlar. PLC aktivasyonu da inositol trifosfat'ın (ITP) üretimine sebep olur. ITP hücre içi reseptörüne bağlanarak endoplazmik retikulum'dan kalsiyum iyonlarının salınmasını sağlar. Bu “kalsiyum

tetikleyicinin” sitosol içine biraz daha kalsiyum iyonu girişine izin veren diğer iyon kanallarını aktive ettiği gözlenmiştir (Cho ve ark., 1999).

Kalsiyum iyonlarının endoplazmik retikulumdan temel salınma işlemi inositol 1, 4, 5-trifosfat’ın (ITP) bir parçası olan kanallar sayesinde gerçekleşmektedir. Bunlara ITP reseptörleri denmektedir (Schuster ve ark., 2002).

Ayrıca Hep3B hücrelerinde alternatif akımlı elektrik alanın mikrofilamentlerin yeniden düzenlenmesine sebep olduğu görülmüştür. Mikrofilament yapılarının yeniden düzenlenmesi hücre morfolojisinde değişikliklere yol açmaktadır. Bu sayede hücre yüzeyinde bulunan kalsiyum iyonlarını geçiren kanalların aktivasyonu gerçekleşir (Cho ve ark., 1999).

6 G’lik doğru akımlı manyetik alan insan U 937 hücrelerine verildiğinde, kalsiyum iyonlarının hücre dışı ortamdan hücre içine geçişinin arttığı görülmüştür. Sitosol içine geçen kalsiyum iyonlarındaki artış uygulanan alanın şiddetine bağlıdır. Hücre içi kalsiyum iyonlarının artışı hızlı ve geri dönüşümlü bir olaydır. Kalsiyum iyonlarının sitosole geçişi koruyucu bir etki ortamı oluşturur. Manyetik alanın kalsiyum iyonlarının akışını değiştirme yeteneği apoptosis kaynaklı stres ortamını azaltmaktadır (Fanelli ve ark., 1999).

Pisum sativum ve *Zea mays* fidelerinde kök şapkasına doğrudan 10 ya da 20 milimolar kalsiyum iyonu uygulanmasının kök uzamasını önemli ölçüde uyardığı görülmüştür (Takahashi ve ark., 1992).

Kalsiyum iyonlarının 50–60-Hz frekanslı elektromanyetik alana maruz kalan nöroblastoma hücrelerini koruduğu saptanmıştır. Hücreler normal bir şekilde elektromanyetik etkiye karşı korunur. Patolojiler ise hücre içi kalsiyum iyonu düzenlenimi ya da potasyum kanallarının aktivasyonu kusurlu olduğunda oluşur (Tonini ve ark., 2001).

Ladin fideleri üzerinde kalsiyum iyonunun etkisini görmek için 105 μ T şiddetinde, 50-Hz frekansında elektromanyetik alan uygulaması yapılmıştır. Tohumlar eşzamanlı olarak deiyonize su ve 0,25 mM kalsiyum, deiyonize su ve 0,5 mM kalsiyum, deiyonize su ve 5mM kalsiyum ve de musluk suyu ile (1,7 mM kalsiyum) sulandıktan sonra alan uygulaması gerçekleştirilmiştir. 0,25 mM ve 0,5 mM kalsiyum içeren su ile sulanıp, alan uygulamasına maruz kalan tohumların gelişiminde aksaklıklar görülmesi, kalsiyumun elektromanyetik alana karşı tohumları koruduğunu düşündürmüştür (Ruzic ve Jerman, 1998).

Endojen elektrik alan hücre uçlarında, kutuplaşmış büyümeye sebep olmaktadır. Absorbe edici büyüyen uç dokular üzerinde yapılan kapsamlı çalışmalarda uçlarda bölgesel olarak bulunan kalsiyum tarafından akımın bir parçasının taşındığı saptanmıştır. Kutuplaşmış büyümeyi sürdürmeden sorumlu olanın kalsiyum konsantrasyonundaki hücre ucu ve tabanı arasındaki fark olduğu düşünülmektedir (Cooke ve Racusen, 1986).

Saccharomyces cerevisiae'ye 60-Hz frekansında, 1mT şiddetinde elektromanyetik alan tek başına ve çeşitli UV ışınlarıyla birlikte uygulanmıştır. Alan uygulamasının mutasyon ve gen değişimine yol açmadığı görülmüştür (Ager ve ark., 1992).

Büyüyen *E.coli* hücrelerine 1 ve 3 kV/m şiddetinde, 1-Hz frekansında elektromanyetik alan uygulandığında elektromanyetik alanın kendiliğinden mutasyonu arttırmadığı, DNA onarımına neden olmadığı, UV ışığın mutagenik etkilerini arttırmadığı saptanmıştır (Chahal ve ark., 1993).

İnsan lökemiya HL-60 hücrelerine kültür ortamında 60-Hz frekansında, 10 G'lik elektromanyetik alan uygulandığında hücrelerin transkripsiyon oranında bir artış yaşanmıştır. 30–120 dakikada %50–60 oranında meydana gelen bu artış, 18 saatten sonra bazal seviyeye düşmüştür (Greene ve ark., 2004).

Elektromanyetik alan, DNA'daki hareketli elektronlar ile doğrudan etkileşime geçerek gen aktivasyonuna neden olabilmektedir. Elektromanyetik alanın transkripsiyonu uyarma mekanizması çizgili kaslardaki işlemler ile ilgili olabilmektedir (Blank ve Goodman, 1997).

25 mV/cm'den 20 V/cm'ye kadar değişen kuvvetlerde, 1-Hz'den 12-Hz'ye kadar değişen frekanslarda, 1'den 60 dakikaya kadar değişen sürelerde insan hepatoma hücrelerine (Hep3B) alternatif akımlı elektrik alan uygulanmıştır. Kontrol hücrelerinde sitoplazmik mikrofilamentlerin hücrenin boylamsal eksenine boyunca paralel şeritler halinde dizildiği görülmüştür. Alternatif akımlı elektrik alana maruz kalan hücrelerde uygulanan alanın frekansına bağlı olarak mikrofilament yapısında değişiklikler oluşmuştur. 1 ya da 10-Hz alternatif akımlı alanda mikrofilamentlerin yeniden düzenlenimi oluşan yamaları ortadan kaldırmaya yöneliktir. Zıttı olarak 20–120-Hz'lik alternatif akımlı alana maruz kalan hücrelerdeki mikrofilament yapılarının kontrol hücrelerindeki farklı olmadığı görülmüştür. 1-Hz frekanslı, 20 V/cm'lik elektromanyetik alana maruz kalan hücrelerdeki mikrofilament yeniden düzenlenimi için karakteristik zaman yaklaşık 5 dakikadır. Alternatif akımlı

elektromanyetik alan uygulaması hücre iskeletinin ve reseptörlerin yeniden düzenlenmesine sebep olmaktadır (Cho ve ark., 1996).

Düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik etkilerinin altında yatan moleküler mekanizma, hücre yüzey reseptörlerinin fiziksel durumundaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Bu durum Transferrin (TFR) ve düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörlerinde (LDL-R) araştırılmıştır. 3–23 V/cm alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulandığında, her iki reseptörün yeniden düzenlenmesinde 1 ve 10-Hz frekanslarının önemli olduğu saptanmıştır. 1-Hz frekansında, 23 V/cm şiddetinde elektromanyetik alanın 15 dakika uygulanması, bölgesel TFR yoğunluğunda iki katlık bir artışa sebep olmuştur (Cho Thatte ve ark., 1994).

Pisum sativum L. köklerine 60-Hz, 430 V/m elektrik alan uygulandığında kök büyüme oranı azalmıştır. Ayrıca bu uygulama mitotik hücre sayısında azalmaya, hücre döngüsü süresinde ise artışa neden olmuştur. İlk 2 saat içinde mitotik indekste önemli bir etki gözlenmemiştir. Uygulama başladıktan 4 saat sonra mitotik indeksin kontrole göre yaklaşık %55 oranında azaldığı görülmüştür. Kökler 2 gün boyunca 430 V/m şiddetindeki alana maruz kaldıklarında kök büyüme oranı yaklaşık %40 oranında azalmıştır. 490 V/m şiddetindeki elektrik alan ise kök büyümesini tamamen durdurmuştur (Robertson ve ark., 1981).

Pisum sativum L. köklerine 60-Hz, 150-350 V/m şiddetlerinde elektrik alan uygulanmıştır. 150 V/m şiddetindeki alan uygulamasından mitotik indeks ve kök büyüme oranı etkilenmemiştir. 350 V/m şiddetinde alan uygulandığında ise hem mitotik indeks hem de kök büyüme oranında gerileme saptanmıştır. Bu durumun elektrik alan uygulaması sonucu plazma membranının özelliklerindeki değişmeden kaynaklandığı düşünülmektedir (Miller ve ark., 1983).

75-Hz, 2 G manyetik alan *Physarum polycephalum* kültürüne uygulandığında hücrelerin mitotik döngülerinin kontrole kıyasla daha uzun olduğu gözlenmiştir (Greenebaum ve ark., 1982).

60-Hz, 3,4-8,8 mT (AC) ve 2,5-6,5 mT (DC) değerleri arasında uygulanan manyetik alanların erken embriyonik gelişim aşamasındaki, deniz kestanesi embriyosunun hücre döngüsünde değişiklikler yaptığı saptanmıştır. Birinci ve ikinci hücre bölünmeleri AC ve DC manyetik alan yüzünden uzamıştır. Alan uygulamasının mitoza başlamayı geciktirdiği, ayrıca uygulamanın süresinin de gecikmeye etki ettiği belirlenmiştir (Levin ve Ernst, 1995).

Vasküler endotelyum hücreleri kültürüne 72 saatten fazla 50 ve 100 mV/ mm şiddetinde elektrik alan uygulandığında hücre bölünmesinde bir değişme olmadığı saptanmıştır. Ama 200 mV/mm şiddetindeki alan aynı hücre kültürüne uygulandığında hücre sayısında ve mitotik indekste önemli bir azalma belirlenmiştir. Elektrik alan kaynaklı vaküler endotelyum hücre bölünmesindeki azalma, apoptosis artışından dolayı değildir. Çünkü 20 µM apoptosis inhibitörü (Z-VAD-FMK) uygulandığında da aynı etkiler görülmektedir. Elektrik alandan kaynaklanan bu tepkiler hücrenin G₁ fazından S fazına geçişiyle ilgilidir. Elektrik alanın G₁ fazındaki spesifik siklin E şifrelenmesini engellediği saptanmıştır. Sonuçta elektrik alan vasküler hücre bölünmesini hücre döngüsünün G₁ fazını etkileyerek azaltmaktadır (Wank ve ark., 2003).

10000 G'lik bir statik manyetik alanda, *Vicia faba* kök ucu hücrelerinde mitotik indekste önemli bir etki gözlenmemiştir (Lisnens ve Smeets, 1978).

Vicia faba fideleri 3 gün boyunca 0-Hz (DC), 5 µT; 50 Hz, 1,5 µT; 60 Hz, 1,5 µT ve 75 Hz, 1,5 µT manyetik alanlara maruz kalmıştır. Alternatif akımlı elektromanyetik alan kullanılan tüm denemelerde mitoz bölünmenin her evresinin tekrarlanma sıklığının farklı olduğu görülmüştür. Doğru akımlı statik manyetik alanda ise profaz ve metafaz evrelerinin tekrarlanma sıklığında farklar görülmüş olmasına rağmen, anafaz ve telofaz evrelerinde kontrole göre önemli farklar saptanamamıştır.

Her iki akımda da bölünen hücrelerinin çoğunun profazda, en az kısmının da anafazda olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca manyetik alan uygulamaları kromozom veya kromatit kırılmalarında artışa neden olmamıştır. Mitoz bölünme evrelerinde manyetik alan uygulamasına bağlı kromozom kırılmaları görülmemiştir (Rapley ve ark., 1998).

BÖLÜM III

TEZ ÇALIŞMALARI

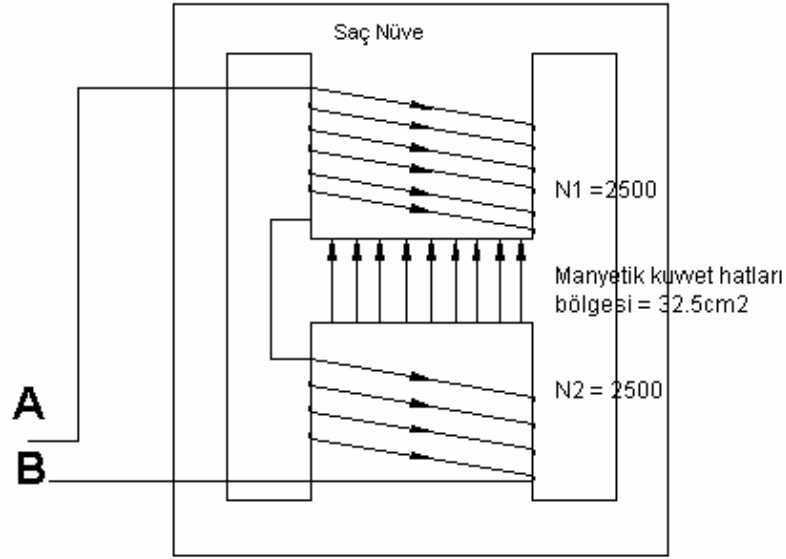
III.1. ARAŞTIRMA MATERYALI

Deney materyali olarak seçilen mercimek tohumları *Lens culinars* Medik. cv. (Sultan) Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

III.2. ARAŞTIRMA YÖNTEMLERİ

III.2.1. Manyetik Alan

Çalışmada kontrol grubu, alternatif akımlı elektromanyetik alan grubu ve doğru akımlı statik manyetik alan grubu olmak üzere üç grup kullanılmıştır. Her grup için 3, 6 ve 12 saatlik uygulamalar yapılmış ve yapılan deneyler Tablo III.2.1.1'de gösterilmiştir. Alternatif akımlı elektromanyetik alanda 2,25 μWb ve 3,86 μWb olmak üzere iki şiddet denenmiştir. Doğru akımlı statik manyetik alanda ise 300 G ve 600 G şiddetlerinde uygulamalar yapılmış, buna ek olarak 1000 G'lik şiddetin 3 saatlik uygulaması denenmiştir. Bu şiddetler ve süreler ön çalışmalarda uygun sonuçlar verdiği için seçilmiştir. Şekil III.2.1.1.'de manyetik alanın nasıl oluşturulduğu görülmektedir.



- 1) Alternatif gerilim uygulandığında :
Elektromanyetik alan (frekans 50 Hz olduğu için saniyede 50 defa yön değiştirmektedir)
- 2) Doğru gerilim uygulandığında statik manyetik alan.

Şekil III.2.1.1: Elektromanyetik ve statik manyetik alanının elde edildiği devre

Şekildeki A ve B noktalarından akım verilerek, manyetik alan kuvvet hatları oluşturulmuştur. Laboratuar koşullarında çimlendirilen mercimek tohumları manyetik alan kuvvet bölgesine belirli süreler için yerleştirilmiştir.

Tablo III.2.1.1: Çalışmada yapılan deneyler

Gruplar	Uygulama	Uygulanan şiddet	Uygulanan süre
1. Grup	Kontrol	–	3 saat
			6saat
			12 saat
2. Grup	AC Elektromanyetik Alan	2,25 μ Wb	3 saat
			6saat
			12 saat
		3,86 μ Wb	3 saat
			6saat
			12 saat
3. Grup	DC Statik Manyetik Alan	300 G (97,5 μ Wb)	3 saat
			6saat
			12 saat
		600 G (195 μ Wb)	3 saat
			6saat
			12 saat
		1000 G (325 μ Wb)	3 saat

III.2.2. Mercimek Tohumlarının Sterilizasyonu ve Çimlendirilmesi

Bu çalışmada mercimek tohumları (*Lens culinaris* Medik.) kullanılmıştır. Her deney grubu için otuz adet tohum seçilmiş ve yüzey sterilizasyonu ile steril edilmiştir. Yüzey sterilizasyonu için tohumlar önce %1'lik Sodyum Hipoklorit çözeltisi içeren musluk suyunda beş dakika bekletilmiş, sonra musluk suyu ile yıkanmış ve distile su içine alınmıştır. Tohumlar distile su içinde şişmeleri için sekiz saat bekletilmiştir. Şişen tohumlar, 9 cm'lik petri kaplarında, oda ısısında, nemlendirilmiş filtre kağıtları üzerinde 3 gün çimlendirilmiştir.

III.2.3. Sitolojik Yöntemler

III.2.3.1. Köklerin Fikse Edilmesi ve Saklanması

Mercimek tohumlarının nemli filtre kağıdı ile kaplı petri kaplarında 3 gün çimlenmesiyle oluşan 1–1,5 cm uzunluğundaki primer kökler, taze olarak hazırlanmış, 1 kısım asetik asit:3 kısım absolu alkol içeren (1:3 v/v) asetik alkol fiksatifinde bir gece bekletildikten sonra, %96'lık alkol içinde üçer kez, %70'lik alkol içinde bir kez yıkanarak, %70'lik alkolde +4 °C' de buzdolabında saklanmıştır.

III.2.3.2. Ezme Preparasyon Yöntemi

Yapılan ezme preparatlar mitotik indeks hesabı için gerekli hücre sayımlarının yapılmasında ve anormal bölünme geçiren hücrelerin görüntülenmesinde kullanılmıştır.

Buzdolabında %70'lik alkol içinde saklanan primer kök uçları ½ cm uzunluğunda kesilerek 60 °C'de, 1N HCl'de 12 dakika hidroliz edilmiştir. Sonra kök uçları basik fuksine alınmış ve 1,5 – 2 saat karanlıkta bırakılmıştır. Kök uçları, lamın üstüne damlatılan % 2'lik aseto-orsein içinde, lamele uygulanan hafif darbeler yardımıyla dokunun yayılması sağlanarak ezilmiştir. Hazırlanan her preparatta on

bölgenin sayılması ile toplamda yaklaşık 5000 hücre sayılarak mitotik indeks ve bozukluk gösteren hücreler hesaplanmıştır. Mitotik indeks, bölünen hücre sayısının toplam hücre sayısına oranının 100 ile çarpılması ile bulunmuştur. Standart hatalar hesaplanarak sonuçlar tablolar ile gösterilmiştir. İncelenen preparatlar Olympus BH-2 araştırma mikroskobunda x4'lük ve x100'lük objektifte incelenmiştir. Evolution LC renkli kamera ve Image pro-express yazılımı yardımıyla dijital olarak fotoğraflanmıştır.

III.2.3.3. Daimi Preparasyon Yöntemi

Köklerin morfolojik yapılarının ve uygulamalara bağlı olarak köklerdeki kalsiyum iyonu dağılımındaki değişmelerin görüntülenmesi için daimi preparatlar kullanılmıştır. Kök ucu hücrelerinde kalsiyum dağılımını görmek için Alizarin Red S (pH 4,2) boyaması yapılmıştır (McGee-Russel, 1958).

Fikse edilen mercimek köklerini parafine gömmek için şu yöntem uygulanmıştır.

Dokudan suyun alınması

% 70 alkolde saklanan materyal yükselen alkol serilerinden geçirilmiştir.

%80 30 dakika

%96 30 dakika

%100 30 dakika

%100 30 dakika

Dokunun Şeffaflaştırılması

Materyalin suyu etil alkolle alındıktan sonra doku ksilol ile şeffaflaştırılmıştır.

2 kısım Absolü alkol:1 kısım Ksilol 30 dk

1 kısım Absolü alkol:1 kısım Ksilol 30 dk

1 kısım Absolü alkol:2 kısım Ksilol 30 dk

Ksilol 30 dk

Ksilol 30 dk

Ksilol 30dk

Parafin İnfiltrasyonu

56⁰C'de erimiş olan parafin, materyalin bulunduğu şişelere, 1 kısım ksilol: 1 kısım parafin olacak şekilde bir gece bırakılmıştır. 24 saat sonra etüvde eritilmiş olan saf parafin ile değiştirilmiştir. Bu işlem 24 saat ara ile 2 kez tekrarlanmıştır.

Bu işlem sonunda materyal parafin bloklara gömülmüştür. Bu bloklardan mikrotomla 8µ kalınlığında kesitler alınmıştır. Albümin mayer sürülmüş lamlara alınan kesitler 1 gece 56⁰C'ye ayarlanmış ısıtma tablası üzerinde tutulmuştur. Preparatlar daha sonra aşağıdaki işlemlerden geçirilmiştir.

Ksilol	10 dk
Ksilol	10 dk
2 kısım ksilol:1 kısım absolü alkol	10 dk.
1 kısım ksilol:1 kısım absolü alkol	10 dk
1 kısım ksilol:2 kısım absolü alkol	10 dk.
Absolü alkol (%100)	10 dk.
Absolü alkol	10 dk
% 96 etil alkol	10 dk
% 80 etil alkol	10 dk
% 70 etil alkol	10 dk
% 50 etil alkol	10 dk
% 35 etil alkol	10 dk
Distile su	10 dk
Alizarin Red S	5 dk
Aseton	hızlıca geçirilir
Aseton+Ksilol	hızlıca geçirilir
Ksilol	

Preparatlar ksilolden geçirildikten sonra entellan ile kapatılmıştır. Kuruyan preparatlar daha sonra Olympus BH-2 araştırma mikroskobunda x4'lük ve x100'lük objektifte incelenmiştir. Kırmızıya boyanma sitoplazmik kalsiyumun göstergesidir. İncelen preparatlar Evolution LC renkli kamera ve Image pro-express yazılımı yardımıyla dijital olarak fotoğraflanmıştır.

BÖLÜM IV

SONUÇLAR

Mercimek tohumlarının alternatif akımlı elektromanyetik alana ve doğru akımlı statik manyetik alana farklı şiddet ve sürelerde maruz bırakılmasıyla gerçekleştirilen bu çalışmanın sonuçları üç grupta değerlendirilmiştir.

IV.1. ALTERNATİF AKIMLI ELEKTROMANYETİK ALANIN VE DOĞRU AKIMLI STATİK MANYETİK ALANIN *Lens culinaris* Medik. KÖKLERİNİN MORFOLOJİSİNE ETKİLERİ

Mercimek tohumları 3 gün laboratuvar şartlarında çimlendirildikten sonra manyetik alana maruz bırakılmış ve kök morfolojisinde çok büyük değişikliklerin olmadığı gözlenmiştir. Manyetik alana maruz bırakılmış köklerde gözlenen en önemli değişiklik kök uçlarındaki incelmelerdir. Kök uçlarının 3 mm gerisinden alınan enine kesitlerde bazı köklerin çapının daha dar olduğu görülmüştür. Her uygulama için otuz tohum kullanılmıştır.

Binoküler mikroskop ile kök uçlarının 3 mm gerisinden alınan enine kesitlerde ölçülen çap değerleri kaydedilmiş ve toplanarak otuza bölünmüştür. Her uygulama için otuz primer kök ucunun ortalama çap değerleri hesaplanmış ve değerler Tablo IV.1.1’de verilmiştir.

Tablo IV.1.1: Alternatif akımlı elektromanyetik ve doğru akımlı statik manyetik alanların etkisindeki *Lens culinaris* (mercimek) primer kök uçlarının 3 mm gerisinden alınan enine kesitlerin ortalama çap değerleri.

Uygulama → Zaman ↓	Kontrol	Alternatif akım		Doğru akım		
		2,25 μWb	3,86 μWb	300 G	600 G	1000 G
3 saat	1400μm ±0,0	1360μm ±0,13	1300μm ±0,20	1320μm ±0,18	1300μm ±0,20	1200μm ±0,26
6 saat	1400μm ±0,0	1340μm ±0,16	1280μm ±0,21	1320μm ±0,18	1300μm ±0,21	1160μm ±0,27
12 saat	1400μm ±0,0	1340μm ±0,16	1240μm ±0,24	1300μm ±0,20	1240μm ±0,24	1160μm ±0,27

Primer köklerde saptanan inceltme Şekil IV.2.5.2.'de görülmektedir. Bazı köklerin ise uç kısımlarında şişme gözlenmiştir. Köklerde şişme 1000 G şiddetindeki doğru akımlı statik manyetik alanın 6 ve 12 saatlik uygulamalarında gözlenmiştir. Bu uygulamalardan sonra köklerin büyük bir kısmı yanmıştır. Yanmayan sağlıklı köklerin bazılarında köklerin kontrole göre daha kalın olduğu Şekil IV.2.5.6'daki 1000 G, 6 saatlik uygulamada görülmektedir. Şekil IV.2.5.3.'deki 3,86 μWb, 12 saatlik uygulamada ise köklerin morfolojisinde meydana gelen değişim görülmektedir.

IV.2. ALTERNATİF AKIMLI ELEKTROMANYETİK ALANIN VE DOĞRU AKIMLI STATİK MANYETİK ALANIN *Lens culinaris* Medik. KÖK UCU HÜCRELERİNDE SİTOLOJİK ETKİLERİ

İki tip manyetik alanın kök uçlarındaki sitolojik etkileri ışık mikroskobu düzeyinde; hücrelerin şekli, sitoplazmalarının görünümü, nukleus şekli ve sayısı, vakuolleşme özellikleri, mitotik indeks ve kromozom davranışları göz önüne alınarak incelenmiştir.

IV.2.1. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın *Lens culinaris* Medik. Kök Ucu Hücrelerinin Sitoplazmalarına Etkileri

Alternatif akımlı elektromanyetik alan ve doğru akımlı statik manyetik alan uygulamalarından sonra kök ucu hücrelerinin sitoplazmalarında bazı anormallikler gözlenmiştir. Bunlar arasında; sitoplazma zarının bozulması, sitoplazmada aşırı vakuol oluşumu, hücre boyutlarındaki farklılıklar yer almaktadır. Alternatif akım kullanılan en düşük şiddetli 2,25 μWb 'nin en kısa süreli uygulaması olan 3 saatlik uygulama ile en uzun süreli uygulaması olan 12 saatlik uygulama arasında anormallik oranlarının gittikçe arttığı görülmektedir. Aynı durum alternatif akımın kullanıldığı en yüksek şiddet olan 3,86 μWb 'lik uygulamalarda da görülmektedir. Örneğin plazma zarında bozulma 2,25 μWb , 3 saatte %4,3 iken; aynı şiddetin 6 saatlik uygulamasında %5,6; 12 saatlik uygulamasında ise %5,7'dir. 3,86 μWb , 3 saatte aynı anormallik %10,7; 6 saatte %12,6 ve 12 saatte %14,9 olarak saptanmıştır (Şekil IV.2.4.6). Doğru akımın kullanıldığı en düşük şiddetli uygulama olan 300 G, 3 saatte plazma zarında bozulma %5,2; aynı şiddetin 6 saatinde %5,4 ve 12 saatinde ise % 5,9'dur. 600 G, 3 saatte %10,4; 600 G, 6 saatte %12,1; 12 saatte %14,1 en yüksek şiddetli 1000 G, 3 saatlik uygulamada ise %16,8 oranında plazma zarında bozulma saptanmıştır (Şekil IV.2.4.15.). Doğru akımlı uygulamalarda da alternatif akımlı uygulamalardaki gibi şiddet ve süre artışı ile plazma zarında bozukluk görülen hücre sayısı artmıştır.

Hücre boyutlarında da bazı farklılıklar belirlenmiştir. Bazı hücrelerin çok uzun ve ince olduğu, bazı hücrelerin ise en ve boylarının arttığı görülmüştür. Kontrol kök meristematik hücrelerinin boyları yaklaşık 14-17 μm , enleri 12-15 μm olarak saptanmıştır. İnce uzun hücrelerin yaklaşık olarak boyları 43-46 μm , enleri ise 6-9 μm olarak ölçülmüştür (Şekil IV 2.4.10 ve Şekil 2.4.11). Bazı hücrelerin ise yaklaşık olarak boylarının 33-37 μm , enlerinin 25-28 μm olduğu belirlenmiştir (Şekil IV 2.4.11). Farklı hücre boyutlarına sahip hücreler alternatif akımın kullanıldığı uygulamalardan 2,25 μWb , 3 saatte %6,2; 2,25 μWb , 6 saatte %8; 2,25 μWb , 12 saatte %10,6; 3,86 μWb , 3 saatte %11,5; 3,86 μWb , 6 saatte %12,1; 3,86 μWb , 12 saatte %13,5 oranında görülmüştür. Aynı anormallik doğru akımın kullanıldığı

uygulamalardan 300 G, 3 saatte %6,9; 300 G, 6 saatte %7,2; 300 G, 12 saatte %8,1; 600 G, 3 saatte %11,3; 600 G, 6 saatte %11,9; 600 G, 12 saatte %13,2; 1000 G, 3 saatte %15,8 oranında saptanmıştır. Anormal şekilli hücelere en fazla %15,8 ile doğru akımlı statik manyetik alanın en şiddetli uygulamasında rastlanmıştır. En az ise %6,2 oranında alternatif akımlı elektromanyetik alanın en düşük şiddetli uygulamasında görülmüştür. Buna rağmen doğru akımlı statik manyetik alanın en düşük şiddetli uygulaması olan 300 G, 3 saatteki anormal şekilli hücrelerin oranı, alternatif akımlı elektromanyetik alanın en düşük şiddetli uygulaması olan 2,25 μ Wb, 3 saatteki anormal şekilli hücrelerin oranından çok farklı değildir.

Sitoplazmada aşırı vakuolleşme her uygulamada görülmüştür (Şekil IV.2.4.5.). En düşük şiddetli uygulamalardaki aşırı vakuolleşme oranları karşılaştırıldığında en az vakuolleşmenin alternatif akımın kullanıldığı uygulamalarda görüldüğü saptanmıştır. Örneğin 2,25 μ Wb, 3 saatteki sitoplazmada aşırı vakuolleşme oranı %6,5 iken; 300 G, 3 saatte aynı anormallik %8,8 olarak gözlenmiştir. Sitoplazmasında en fazla vakuolleşmeye rastlanan hücreler ise %21 oranıyla 1000 G, 3 saatlik uygulamaya maruz kalan hücrelerdir. Sitoplazmik bozukluklar ve mitotik bölünme anormallikleri Tablo IV.2.4.1 ve Tablo IV.2.4.2’de verilmiştir.

IV.2.2. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın *Lens culinaris* Medik. Kök Ucu Hücrelerinde Mitotik İndekse Etkileri

Bölünmenin aktif olduğu primer kök uçlarına Feulgen ezme tekniği uygulanarak, hücrelerin mitotik bölünme sıklığı incelenmiştir. Yapılan preparatlarda bölünen hücrelerin sayısının, gözlenen toplam hücre sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla mitotik indeks hesaplanmıştır. Manyetik alan uygulamalarının mitotik indekse % etkileri Tablo IV.2.2.1’de ve Şekil IV.2.2.1 ile Şekil IV.2.2.2’de, uygulamalar sonunda mitotik indeksin kontrole göre azalma yüzdeleri Tablo IV.2.2.2’de verilmiştir.

Tablo IV.2.2.1: Mercimek kök hücrelerinde alternatif akımlı elektromanyetik alanın ve doğru akımlı statik manyetik alanın mitotik indekse etkisi(%).

Uygulama (%) → Zaman	Kontrol	Alternatif akım		Doğru akım		
		2,25μWb	3,86μWb	300 G	600 G	1000G
3 saat	47,6± 0,13	41,84± 0,26	19,9± 0,14	27,53± 0,16	19,56± 0,15	0 ± 0
6 saat	47,9± 0,09	37,71± 0,09	17,48± 0,16	25,14± 0,09	16,83± 0,09	-
12 saat	48,1± 0,14	32,79± 0,17	12,5± 0,14	21,79± 0,09	10,26± 0,15	-

50-Hz alternatif akımlı elektromanyetik alanın en düşük şiddet ve en kısa süreli uygulaması olan 2,25 μWb, 3 saatte mitotik indeks, %41,84 ile kontrole göre en az azalma oranına sahiptir. Aynı şiddette uygulama süresi artırıldıkça mitotik indekste azalma görülmüştür. Bu şiddetin 6 saatlik uygulamasında mitotik indeks %37,71; 12 saatlik uygulamasında ise %32,79 olarak hesaplanmıştır. 2,25 μWb’lik şiddetin 3, 6 ve 12 saatlik uygulamalarının kontrole göre % azalmaları sırasıyla 12,1; 21,2 ve 31,8 olarak saptanmıştır. Mitotik indekse en az etki eden şiddet 2,25 μWb’dir.

50-Hz alternatif akımlı elektromanyetik alanın en yüksek şiddetti 3,86 μWb’dir. Bu şiddetin 3 saatlik uygulamasında mitotik indeks %19,9; 6 saatlik uygulamasında %17,48; 12 saatlik uygulamasında ise %12,5 olarak hesaplanmıştır. Hücrelerin elektromanyetik alanda kaldıkları süre arttıkça mitotik bölünme sıklıkları azalmıştır. Bu uygulamaların kontrole göre % azalmaları sırasıyla 58,1; 63,5 ve 74 olarak belirlenmiştir. Alternatif akımlı uygulamalarda iki şiddet uygulanmış, 2,25 μWb’lik şiddetin 3 saatlik uygulamasında mitotik indeks %41,84; 3,86 μWb’lik şiddetin 3 saatlik uygulamasında mitotik indeks %12,5 olarak saptanmıştır.

Doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasında 300 G, 600 G ve 1000 G olarak üç farklı şiddet kullanılmıştır. Her şiddetin alternatif akımlı uygulamalardaki gibi 3, 6 ve 12 saatlik uygulamaları yapılmıştır. 300 G, 3 saatlik uygulamada

hesaplanan mitotik indeks %27,53'tür. Mitotik indeks 2,25 μWb , 3 saatte ise %41,84'tür. Doğru akımlı statik manyetik alanın en düşük şiddetinde mitotik indeks kontrole göre %42,2 azalırken, alternatif akımlı elektromanyetik alanın en düşük şiddetinde mitotik indeks kontrole göre %12,1 oranında azalmıştır. 300 G, 6 saatte mitotik indeks %25,14; 12 saatte ise %21,79 olarak hesaplanmıştır. Bu uygulamaların kontrole göre % azalmaları 47,5 ve 54,6'dır.

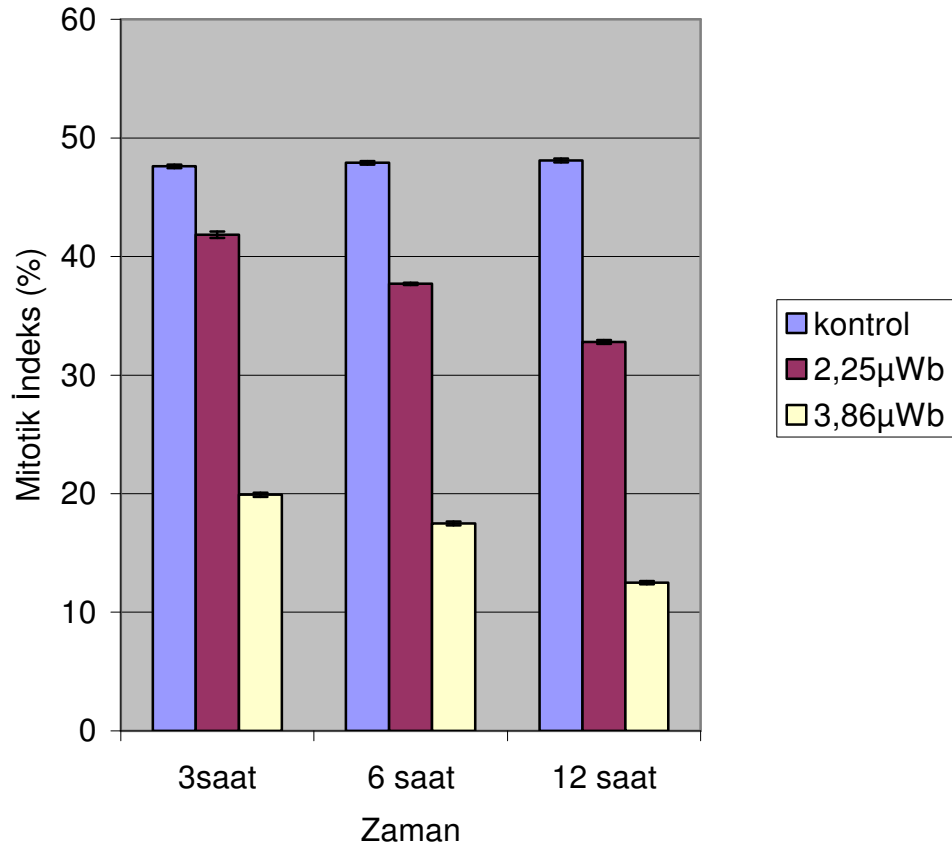
Mitotik bölünme sıklığı 600 G, 3 saatte 19,56; 600 G, 6 saatte 16,83 ve 600 G, 12 saatte 10,26 olarak tespit edilmiştir. Bu uygulamaların kontrolle kıyaslandığında mitotik bölünme sıklığındaki azalmaları sırasıyla %59, %64,8 ve %78,6 olarak hesaplanmıştır. 600 G, 12 saatte mitotik indeks kontrole göre %78,6 oranında azalırken, 3,86 μWb , 12 saatte mitotik indeks kontrole göre %74 azalmıştır.

1000 G, 3 saatte ise mitotik indeks sıfırlanmış, mitoz bölünme görülmemiştir. 1000 G'lik şiddetin 6 ve 12 saatlik uygulamalarında da mitotik indeks sıfırdır. Doğru akımlı uygulamalarda da alternatif akımlı uygulamalardaki gibi alan şiddeti arttıkça mitotik indeks azalmıştır. Ayrıca mitotik bölünme sıklığının süre ile ters orantılı olduğu bir kez daha görülmüştür.

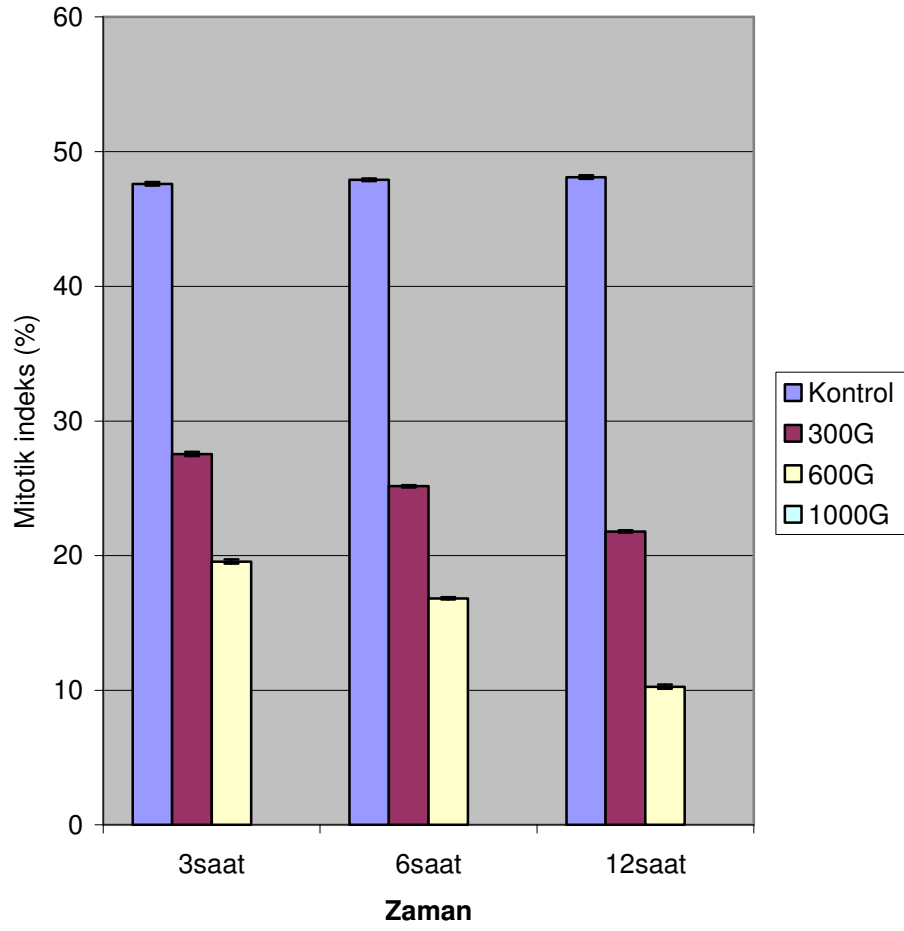
Tablo IV.2.2.2: Uygulamaların kontrole göre mitotik indeks azalma yüzdeleri.

Uygulama (%) → Zaman ↓	Alternatif akım		Doğru akım		
	2,25 μWb	3,86 μWb	300 G	600 G	1000 G
3 saat	12,1	58,1	42,2	59	100
6 saat	21,2	63,5	47,5	64,8	-
12 saat	31,82	74	54,6	78,6	-

Şekil IV.2.2.1: Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın Mercimek Kök Ucu Hücrelerinde Mitotik İndekse Etkisi



Şekil IV.2.2.2: Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın Mercimek Kök Ucu Hücrelerinde Mitotik İndekse Etkisi



IV.2.3. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın *Lens culinaris* Medik. Kök Ucu Hücrelerinde Mitoz Bölünme Evrelerindeki Hücrelerin Sayılarına Etkileri

Kök uçlarına yapılan ezme preparatlarda kontrol grubundaki, Alternatif akımlı elektromanyetik alan ve doğru akımlı statik manyetik alan grubundaki, interfaz ve bölünme evrelerindeki hücrelerin sayıları hesaplanmış ve değerler Tablo IV.2.3.1’de verilmiştir. Bölünme halindeki hücrelerin en fazla profaz safhasında olduğu, en az ise anafaz safhasında olduğu saptanmıştır. Her uygulamada hücrelerin, mitoz bölünmenin profaz evresinden sonra en çok telofaz evresinde, daha sonra metafaz evresinde, en az ise anafaz evresinde oldukları gözlenmiştir.

Tablo IV.2.3.1: Mercimek kök ucu hücrelerinde alternatif akımlı elektromanyetik alanın ve doğru akımlı statik manyetik alanın mitoz bölünme evrelerine etkisi.

Mitoz bölünme evreleri		→	Profaz (%)	Metafaz(%)	Anafaz(%)	Telofaz(%)
Uygulamalar		↓				
Kontrol			17 ± 0,15	12,2 ± 0,09	3,6 ± 0,09	14,8 ± 0,13
Alternatif akımlı elektromanyetik alan (AC)	2,25μWb, 3 saat		15 ± 0,13	11,7 ± 0,15	3 ± 0,09	12 ± 0,15
	2,25μWb, 6 saat		13,6 ± 0,15	10,2 ± 0,13	2,9 ± 0,16	10,9 ± 0,13
	2,25μWb, 12saat		12,6 ± 0,13	8,8 ± 0,13	1,4 ± 0,09	10 ± 0,13
	3,86μWb, 3saat		9 ± 0,13	2,4 ± 0,15	1 ± 0,15	7,3 ± 0,15
	3,86μWb, 6saat		8 ± 0,13	2 ± 0,09	0,8 ± 0,15	6,6 ± 0,13
	3,86μWb, 12 saat		6 ± 0,15	1,2 ± 0,15	0,3 ± 0,15	4,8 ± 0,15
Doğru akımlı statik manyetik alan (DC)	300 G, 3 saat		11 ± 0,23	4,6 ± 0,15	2 ± 0,14	10 ± 0,13
	300 G, 6 saat		9,9 ± 0,16	4,1 ± 0,14	1,6 ± 0,13	9,4 ± 0,13
	300 G, 12 saat		8,5 ± 0,15	3,9 ± 0,13	1,3 ± 0,13	7,9 ± 0,16
	600 G, 3 saat		7,6 ± 0,17	3,5 ± 0,13	1,1 ± 0,15	7,2 ± 0,15
	600 G, 6 saat		6,3 ± 0,22	2,9 ± 0,13	0,9 ± 0,13	6,3 ± 0,17
	600 G, 12 saat		5 ± 0,15	1,0 ± 0,13	0,3 ± 0,15	3,8 ± 0,09
	1000 G, 3 saat		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

IV.2.4. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın *Lens culinaris* Medik. Kök Ucu Hücrelerindeki Kromozom Davranışlarına Etkileri

Alternatif akımlı elektromanyetik alana ve doğru akımlı statik manyetik alana maruz kalan mercimek kök ucu hücrelerinin mitotik evrelerinde anormallikler görülmüştür. Bu anormallikler Tablo IV.2.4.1 ve Tablo IV.2.4.2’de verilmiştir.

Kontrol gruplarında anormal bölünme evrelerine rastlanmazken diğer uygulamalarda bazı anormallikler gözlenmiştir. Bu anormallikler arasında; metafazda kromozomların aşırı kontrakte olması, telofazda kromozom köprüsü oluşumu, iki nukleuslu hücreler, mikronukleus oluşumu, c-mitoz, geç çekilen kromozomlar, kromozom fragmentleri, iğ ipliklerinin farklı oriyantasyonu yer almaktadır.

Ayrıca nukleus şekillerinde ve boyutlarında düzensizlikler, nukleus zarının parçalanması gibi anormallikler de gözlenmiştir.

Metafazda kromozomların aşırı kontrakte olması 1000 G, 3saatlik uygulama dışında tüm uygulamalarda görülmektedir (Şekil IV.2.4.3.). Bu anormalliğin alternatif akımlı elektromanyetik alanın en düşük şiddetli uygulamalarında, doğru akımlı statik manyetik alanın en düşük şiddetli uygulamalarına göre daha az görüldüğü saptanmıştır. Buna karşılık aynı anormallik alternatif akımlı elektromanyetik alanın en yüksek şiddetli uygulamalarında, doğru akımlı statik manyetik alanın 600 G’lik şiddetteki uygulamalarına göre biraz daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Telofazda kromozom köprüsü sadece 300 G, 3 saatte görülmüştür (Şekil IV.2.4.9.). Alternatif akımın kullanıldığı uygulamalarda köprü görülmemiştir.

C-mitoz ise sadece 2,25 μ Wb, 12 saatlik uygulamada gözlenmiştir (Şekil IV.2.4.4.). Doğru akım kullanılan uygulamaların hiçbirinde c-mitoz görülmemesinden dolayı, c-mitoz alternatif akımlı uygulamalardan 2,25 μ Wb, 12 saatte görülen bir anormallik olarak karşımıza çıkmaktadır.

Geç çekilen kromozomlara 1000 G, 3 saatlik uygulama dışındaki tüm uygulamalarda rastlanmıştır (Şekil IV.2.4.2. ve Şekil IV.2.4.14.). Bu anormalliğin doğru akımlı statik manyetik alan uygulamalarında daha çok ortaya çıktığı saptanmıştır. 600 G, 3saatte %0,08; 6 saatte %0,1; 12 saatte %0,1 oranlarında

görülürken; 3,86 μ Wb, 3 saatte %0,07; 6 saatte %0,07; 12 saatte ise %0,1 oranlarında görülmüştür.

Kromozom fragmentleri ise sadece 2,25 μ Wb'nin, 3,86 μ Wb'nin ve 600 G'nin 12 saatlik uygulamalarında gözlenmiştir. En fazla kromozom fragmentine 600 G, 12 saatte rastlanmıştır.

İki nukleuslu hücre 2,25 μ Wb'nin ve 3,86 μ Wb'nin 3 saatlik uygulamasında gözlenmezken, bu şiddetlerin 6 ve 12 saatlik uygulamalarında artan oranlarda gözlenmiştir. Doğru akımlı uygulamalardan sadece 300 G, 3 saatte ve 300 G, 12 saatte gözlenmiştir. İki nukleuslu hücrelere en fazla 3,86 μ Wb 12 saatte rastlanmıştır. 300 G, 3 saatte iki nukleuslu bir hücrede metafaz (Şekil IV.2.4.8.), 300 G, 12 saatte ise iki nukleuslu hücrede profaz görülmüştür.

Mikronukleus oluşumu 2,25 μ Wb şiddetindeki tüm uygulamalarda görülürken; 3,86 μ Wb şiddetinde 12 saatlik uygulamada gözlenmiştir. Doğru akımın kullanıldığı uygulamalardan sadece 600 G, 6 saatlik ve 600 G, 12 saatlik uygulamalarda mikronukleus oluşumu görülmüştür (Şekil IV.2.4.13.).

İğ oriyantasyonu farklılığı 2,25 μ Wb ve 3,86 μ Wb ile 600 G'de saptanmıştır. 2,25 μ Wb, 12 saatte %0,1; 3,86 μ Wb, 6 saatte %0,04; 3,86 μ Wb 12 saatte %0,08; 600 G, 3 saatte %0,04; 600 G, 12 saatte %0,02 oranlarında iğ oriyantasyonu farklılığı gözlenmiştir (Şekil IV.2.4.7 ve Şekil IV.2.4.12.).

1000 G'de mitotik indeks sıfır olduğu için bölünme anormallikleri gözlenmemiştir.

Uygulamalarda görülen anormallikler arasında benzerlikler olsa da, bazı anormalliklere sadece bir uygulamada rastlanması her uygulamanın kendine ait bir karakteristiği olduğunu ortaya koymaktadır.

Örneğin c-mitoz alternatif akımın kullanıldığı uygulamalara ait bir anormallikken, kromozom köprüsü doğru akımın kullanıldığı uygulamalara ait bir anormalliktir. İki nukleuslu hücreler ile iğ oriyantasyonu farklılığı olan hücreler alternatif akımın kullanıldığı uygulamalarda fazladır. Buna karşılık doğru akımın kullanıldığı uygulamalarda mikronukleuslu hücre sayısı fazladır.

Tablo IV.2.4.1: Alternatif akımlı (AC) elektromanyetik alan uygulamalarında görülen anormalliklerin yüzdeleri (%)

Uygulamalar	2,25μWb (AC)			3,86μW b (AC)		
Süre(saat)	3 saat	6 saat	12 saat	3 saat	6 saat	12 saat
Toplam hücre sayısı	4998	5000	4999	5004	5001	4997
Sitoplazmik bozukluklar	6,5	8,4	12,4	12,9	14,4	16
Plazma zarı bozulması	4,3	5,6	5,7	10,7	12,6	14,9
Nukleus zarı bozulması	0,02	0,04	0,06	0,08	0,9	0,1
Kromazomlarda aşırı kontraksiyon	0,4	0,5	0,7	0,9	1	1,1
c-mitoz	-	-	0,2	-	-	-
Geç çekilen kromozom	0,04	0,06	0,06	0,07	0,07	0,1
Kromozom fragmentleri	-	-	0,02	-	-	0,02
Kromozom köprüsü	-	-	-	-	-	-
İki nukleuslu hücre	-	0,04	0,12	-	0,04	0,1
Mikronukleuslu hücre	0,02	0,02	0,06	-	-	0,02
Toplam anormallikler	11,04	14,66	19,32	24,65	28,2	32,34

Tablo IV.2.4.2: Doğru akımlı (DC) statik manyetik alan uygulamalarında görülen anormalliklerin yüzdeleri (%)

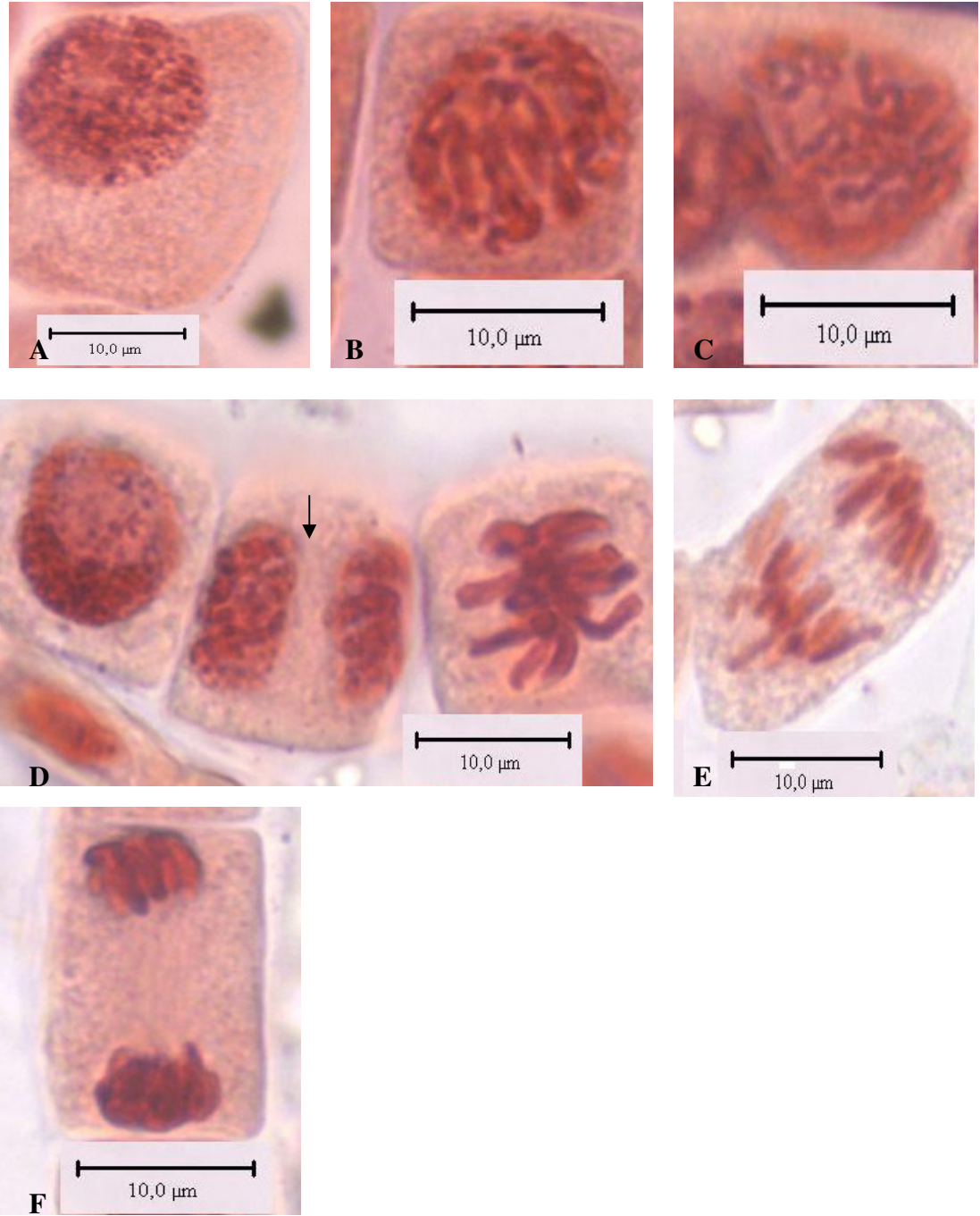
Uygulamalar	300G (DC)			600G (DC)			1000G (DC)
Süre(saat)	3 saat	6 saat	12 saat	3 saat	6 saat	12 saat	3 saat
Toplam hücre sayısı	5001	5000	4998	4999	5000	5003	4998
Sitoplazmik bozukluklar	8,8	9,3	9,7	12,7	13,7	15,8	21
Plazma zarının bozulması	5,2	5,4	5,9	10,4	12,1	14,1	16,8
Nukleus zarının bozulması	0,04	0,04	0,06	0,06	0,06	0,2	0,5
Kromozomlarda aşırı kontraksiyon	0,6	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9	-
c-mitoz	-	-	-	-	-	-	-
Geç çekilen kromozom	0,04	0,04	0,06	0,08	0,1	0,1	-
Kromozom fragmentleri	-	-	-	-	-	0,04	-
Kromozom köprüsü	0,02	-	-	-	-	-	-
İki nukleuslu hücre	0,04	-	0,02	-	-	-	-
Mikronukleuslu hücre	-	-	-	-	0,04	0,1	-
Toplam anormallikler	14,74	15,48	16,54	24,04	26,9	31,24	38,3

IV.2.5. Alternatif Akımlı Elektromanyetik Alanın ve Doğru Akımlı Statik Manyetik Alanın *Lens culinaris* Medik. Kök Ucu Hücrelerinde Sitoplazmik Kalsiyum Dağılımına Etkileri

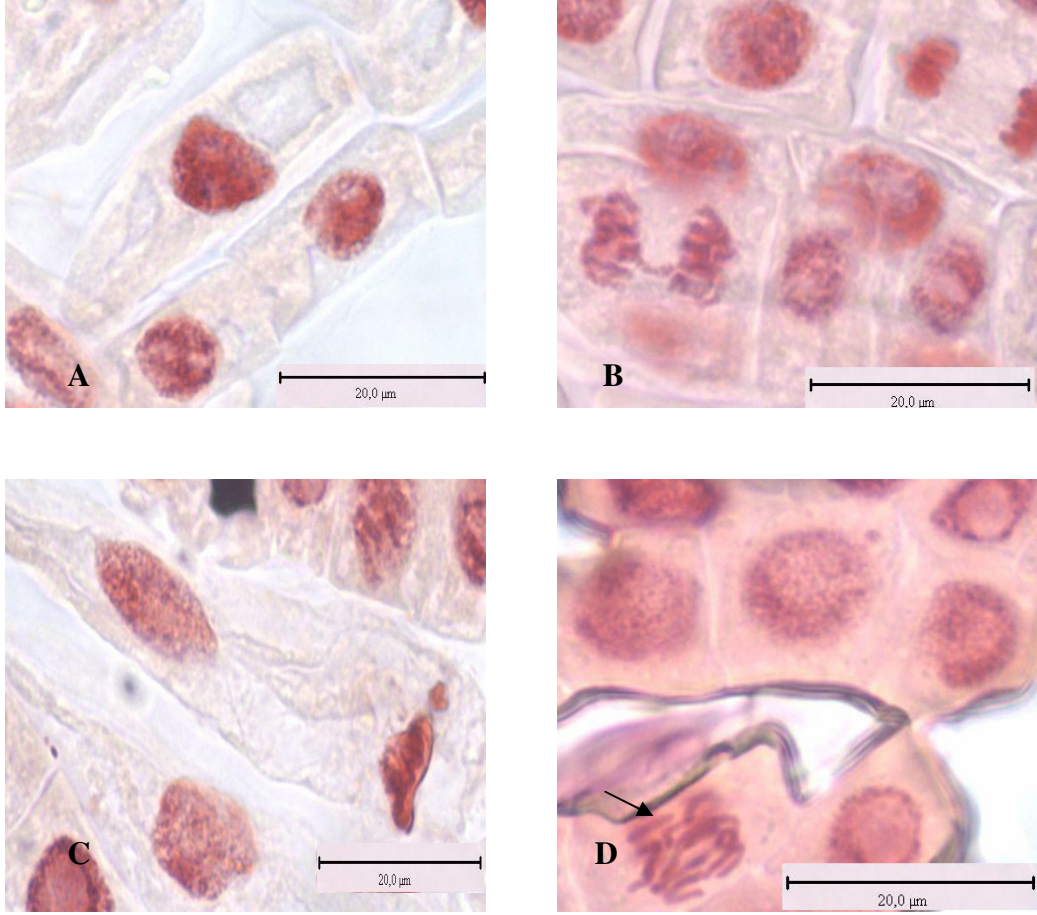
Alan uygulaması nedeniyle hücrelerdeki sitoplazmik kalsiyum dağılımında değişme olup olmadığını saptamak için primer kökler parafine gömülmüş ve kesitler alınarak incelenmiştir. Alternatif akımlı elektromanyetik alan ve doğru akımlı statik manyetik alan uygulanan tüm gruptaki sitoplazmik kalsiyum belirlenmesi için %2'lik Alizarin Red S (pH 4,2) boyaması uygulanmıştır.

Köklerin morfolojik görüntülerinden anlaşılabileceği gibi kırmızı renkte boyanmanın fazla olması kalsiyumun fazla olduğunu göstermektedir (Şekil IV.2.5.1., Şekil IV.2.5.2., Şekil IV.2.5.3., Şekil IV.2.5.4., Şekil IV.2.5.5. ve Şekil IV.2.5.6.). En az boyanma alternatif akımlı elektromanyetik alanın 2,25 μ Wb, 3 saatlik uygulamasında gözlenmektedir. Aynı şiddetin 6 ve 12 saatlik uygulamalarında boyanma artmaktadır. 3,86 μ Wb şiddetinde de süre artışıyla boyanma artmış ve bu uygulamadaki kökler daha düşük şiddetli 2,25 μ Wb'lik uygulamalardaki köklerden daha fazla boyanmıştır (Şekil IV.2.5.7., Şekil IV.2.5.8 ve Şekil IV.2.5.9.).

Doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasına maruz kalan köklerin de şiddet ve süre arttıkça daha koyu görüldüğü saptanmıştır. Hücresel kesitlerdeki kalsiyum boyanmaları da incelendiğinde kalsiyumun şiddet ve süreye bağlı olarak arttığı; en az boyanmanın 2,25 μ Wb, 3 saatte, en fazla boyanmanın ise 1000 G, 12 saatte olduğu saptanmıştır (Şekil IV.2.5.10., Şekil IV.2.5.11. ve Şekil IV.2.5.12.).

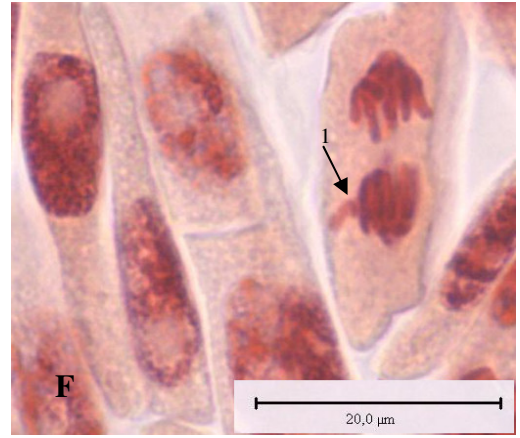
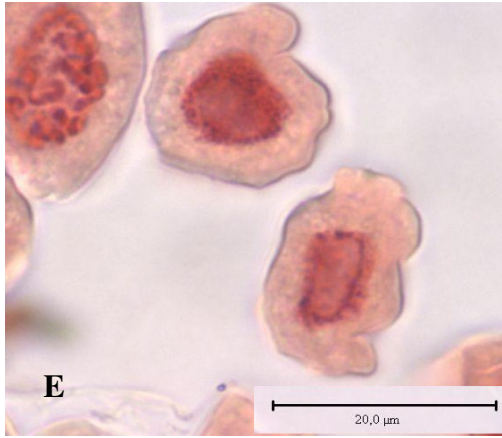
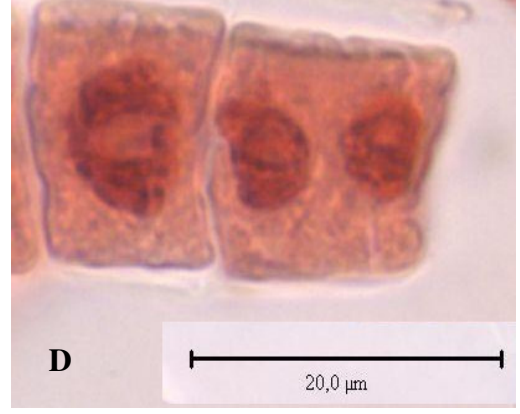
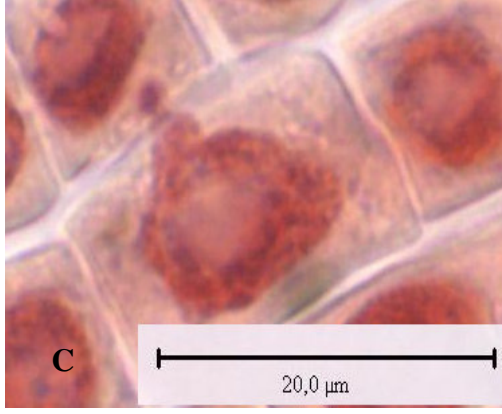
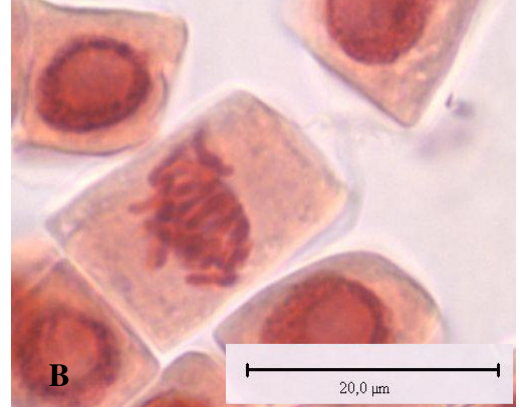
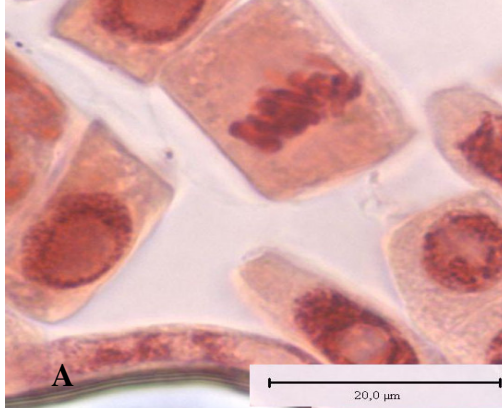


Şekil IV.2.4.1: Mercimek kök uçlarında; A. interfaz; B ve C. profaz; D. metafaz, telofaz sonu (okla gösterilmiştir); E. anafaz; F. telofaz.



Şekil IV.2.4.2: Mercimek kök uçlarında 2,25 μ Wb, 3 saat alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.

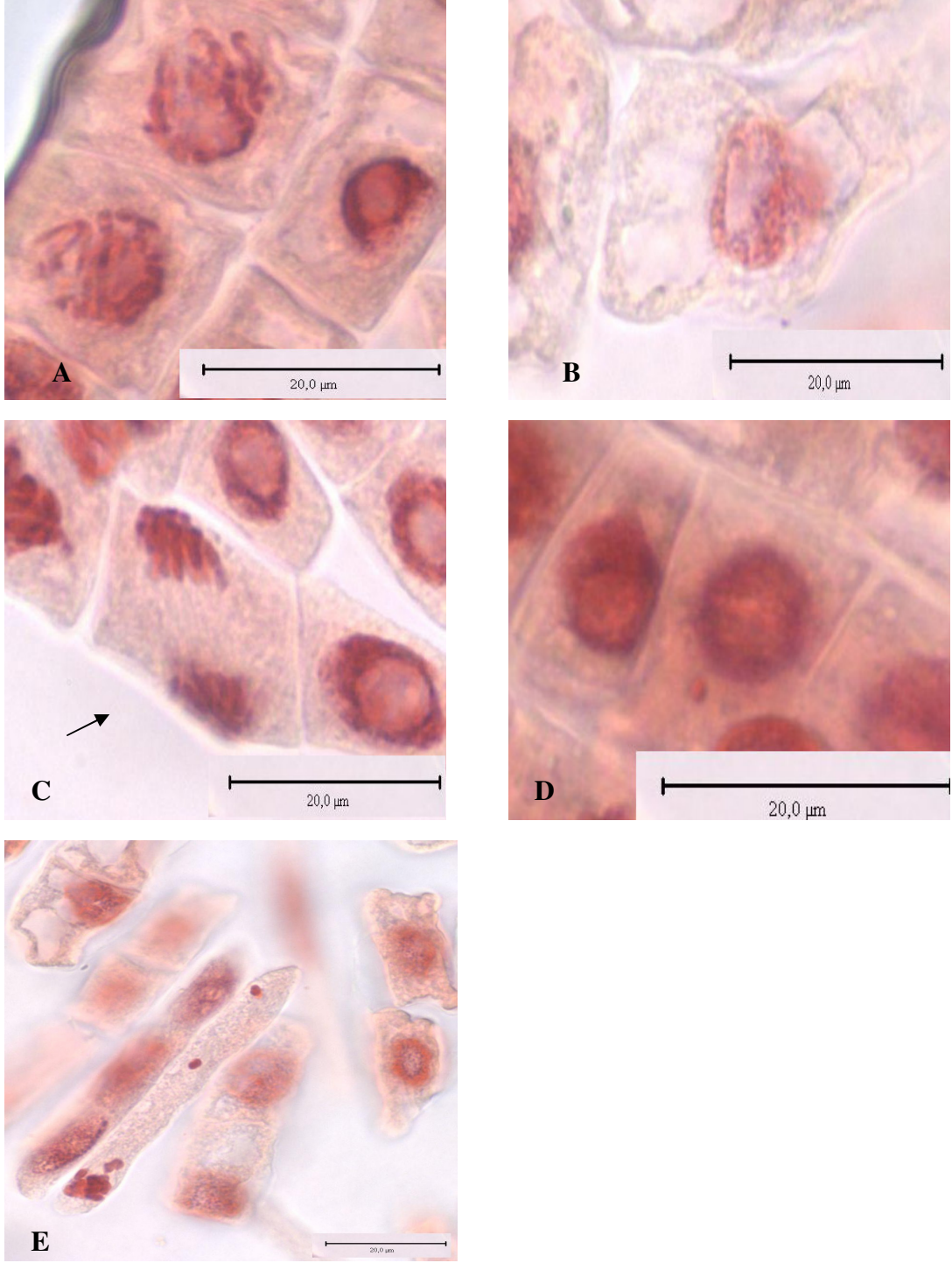
A. sitoplazmada vakuolleşme; B. kutuplara geç çekilen kromozom; C. mikronukleus; D. mikronukleus, anormal anafaz (okla gösterilmiştir).



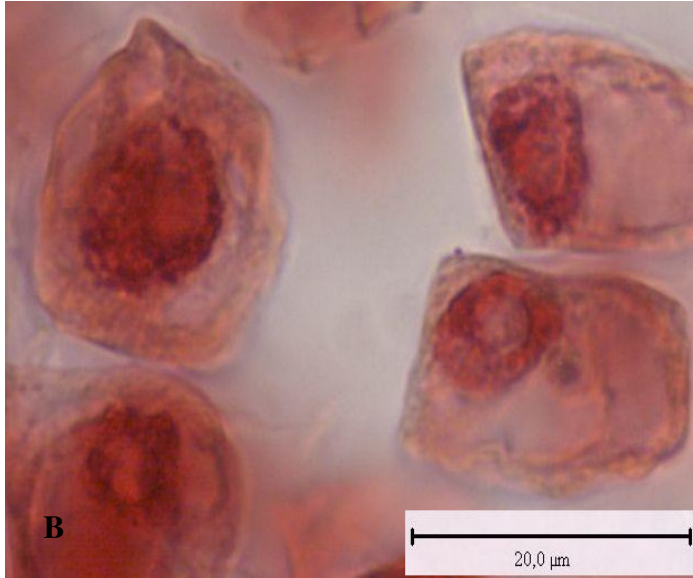
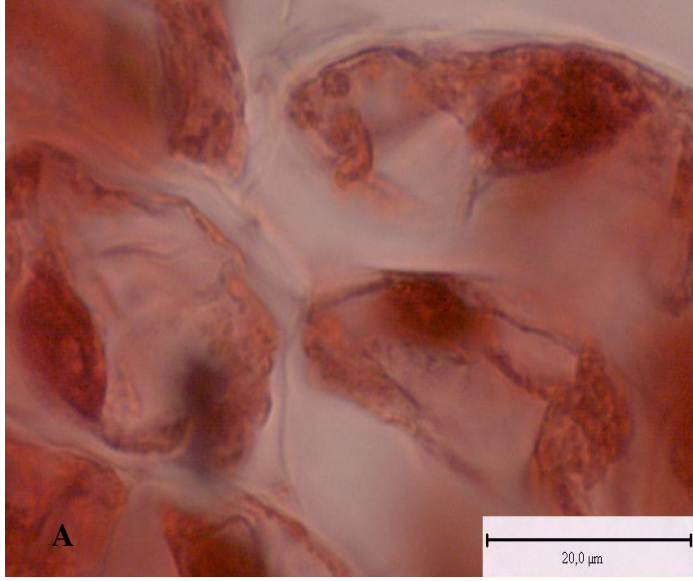
Şekil IV.2.4.3: Mercimek kök uçlarında 2,25 μ Wb, 6 saat alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.

A. metafazda aşırı kontrakte olmuş kromozomlar; B. geç çekilen kromozom;

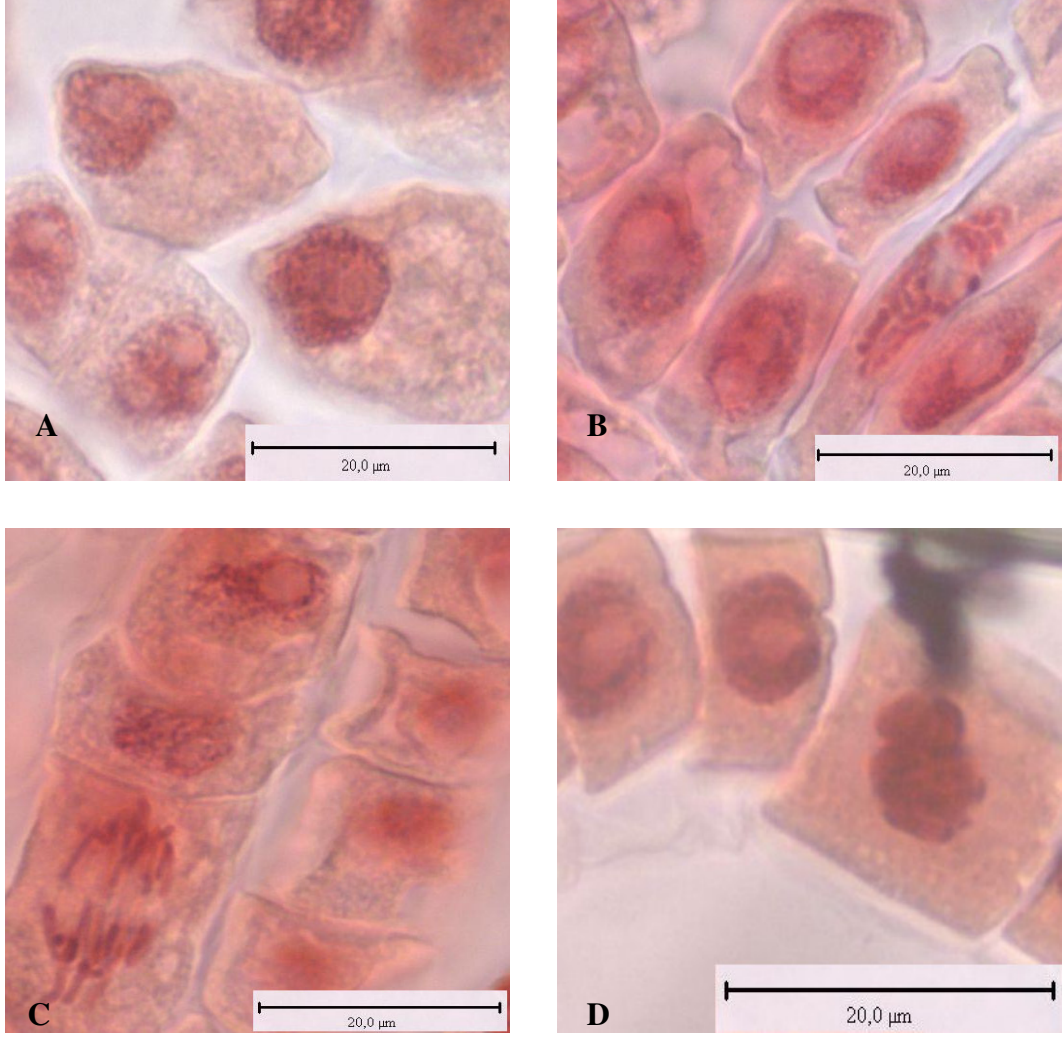
C. mikronukleus; D. iki nukleuslu hücre; E. plazma zarı bozulması; F. anormal şekilli hücre, anormal anafaz (okla gösterilmiştir).



Şekil IV.2.4.4: Mercimek kök uçlarında 2,25 μ Wb, 12 saat alternatif akımlı elektromayetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.
A ve B. sitoplazmada vakuolleşme; C. nukleoplazmada vakuolleşme ve telofazda iğ oriyantasyonu farklılığı (okla gösterilmiştir), D. mikronukleus; E. c-mitoz.

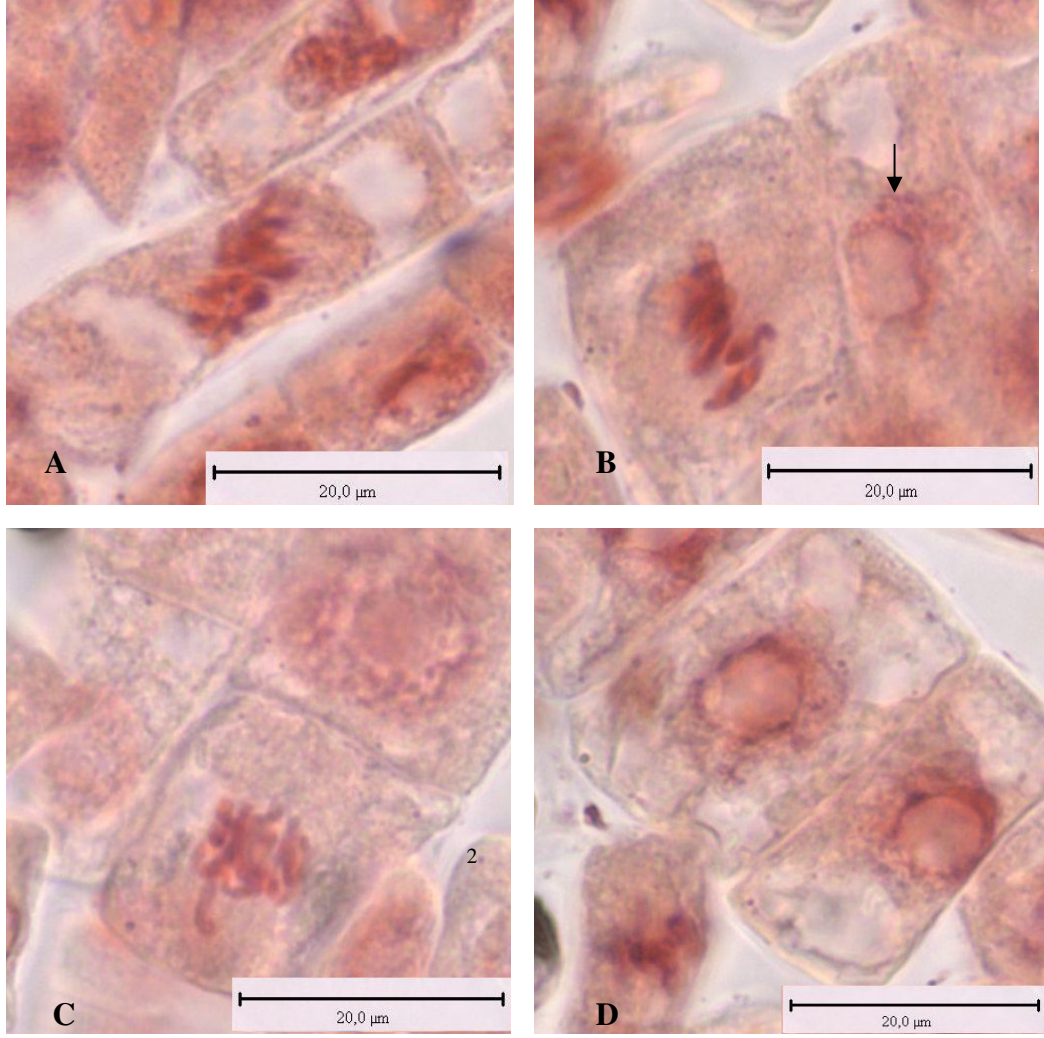


Şekil IV.2.4.5: Mercimek kök uçlarında 3,86 μWb , 3 saat alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.
A ve B. sitoplazmada vakuolleşme.

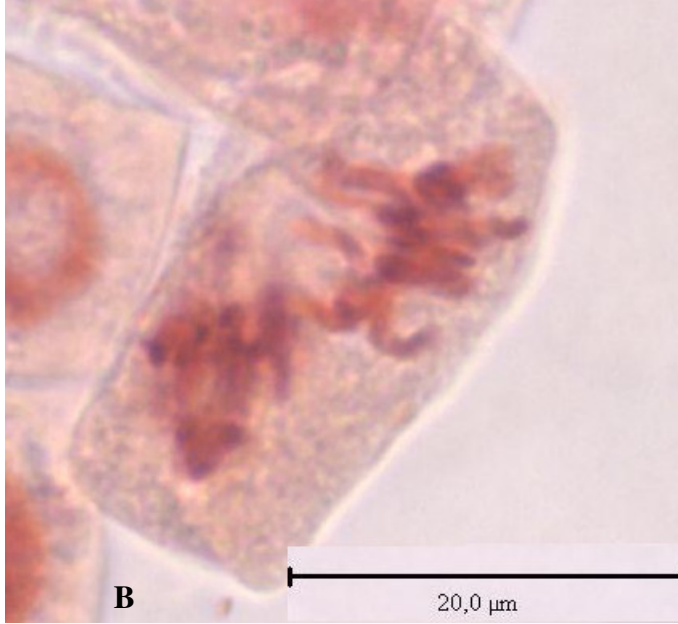


Şekil IV.2.4.6: Mercimek kök uçlarında $3,86 \mu\text{Wb}$, 6 saat alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.

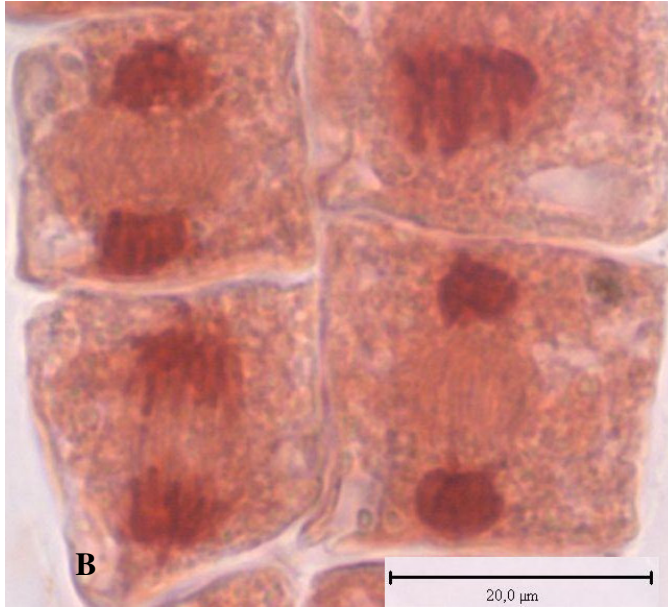
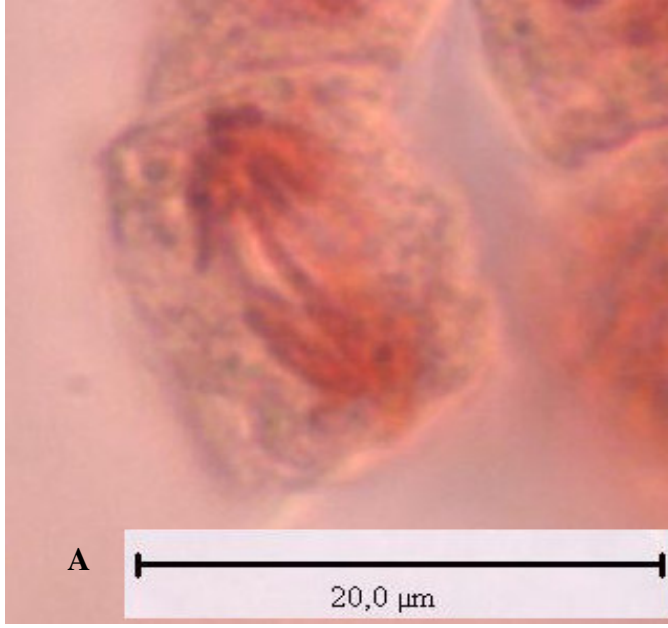
A-D. sitoplazmada vakuolleşme, plazma zarında bozulma ve anormal şekilli nukleuslar.



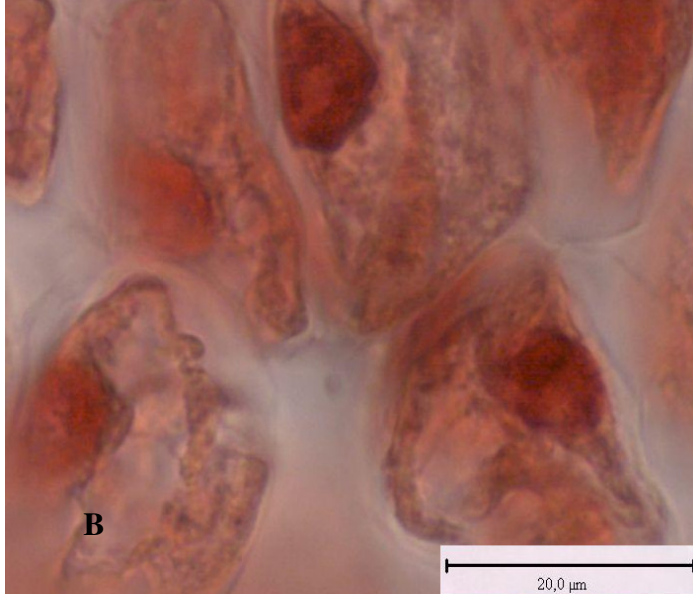
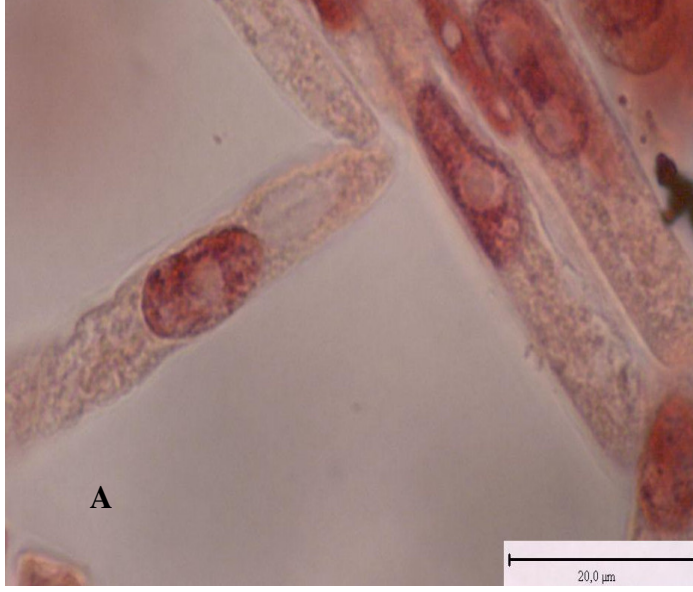
Şekil IV.2.4.7: Mercimek kök uçlarında 3,86 μWb , 12 saat alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler. A.metafazda iğ orientasyonu farklılığı; B. metafaz düzensizliği ve nukleusta parçalanma (okla gösterilmiştir); C ve D.sitoplazmada vakuolleşme.



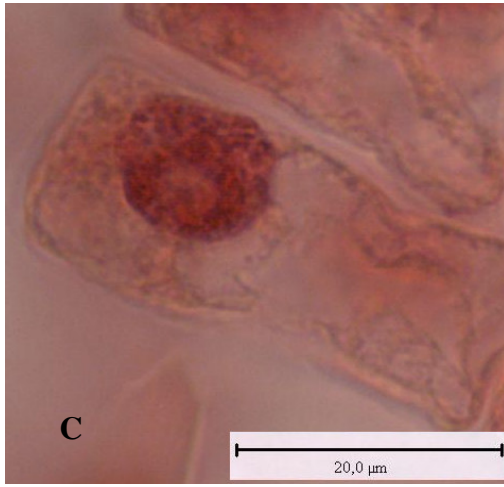
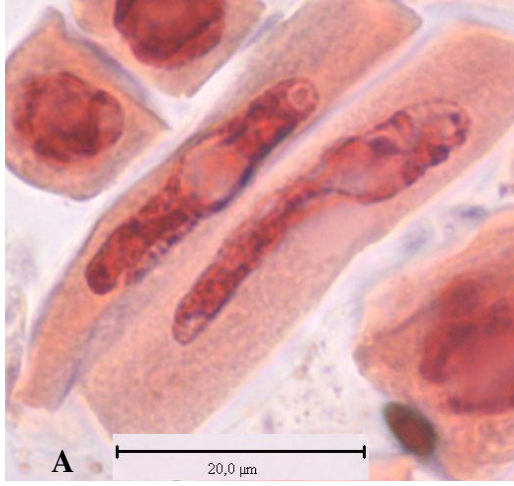
Şekil IV.2.4.8: Mercimek kök uçlarında 300 G, 3 saat doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.
A. iki nukleuslu hücre; B. iki nukleuslu hücrede metafaz.



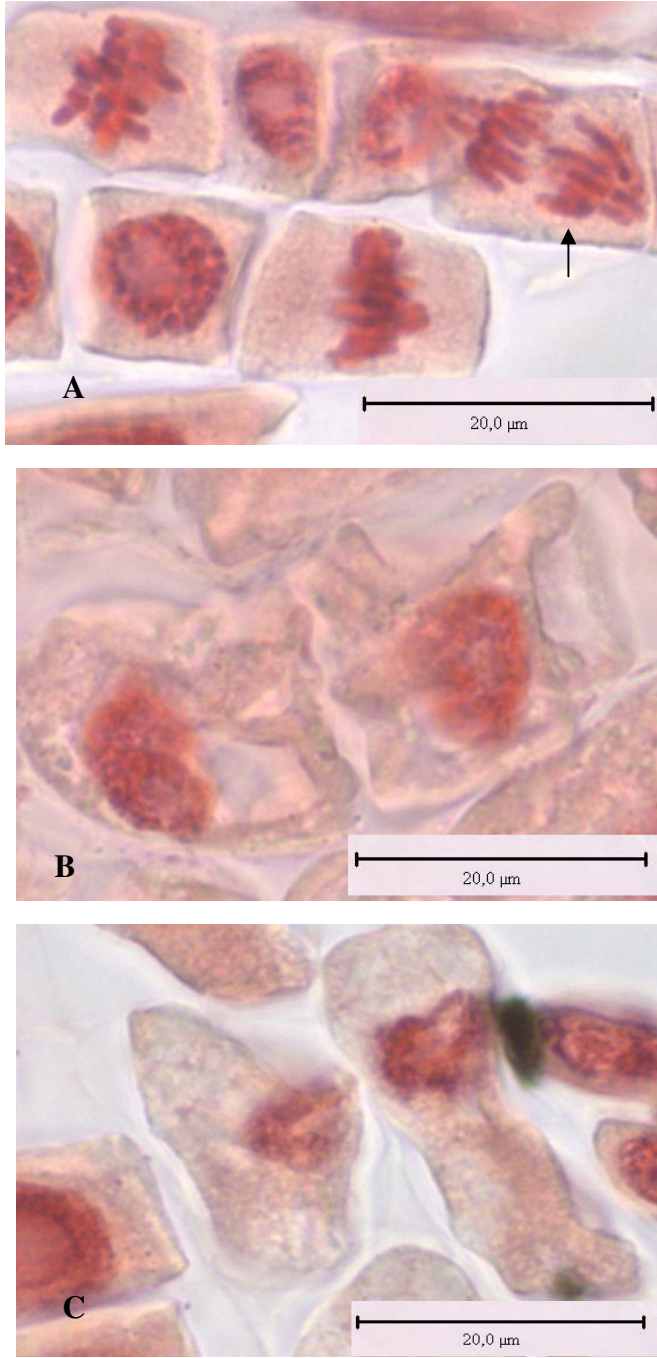
Şekil IV.2.4.9: Mercimek kök uçlarında 300 G, 3 saat doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.
A. telofazda kromozom köprüsü; B. sitoplazmada vakuolleşme.



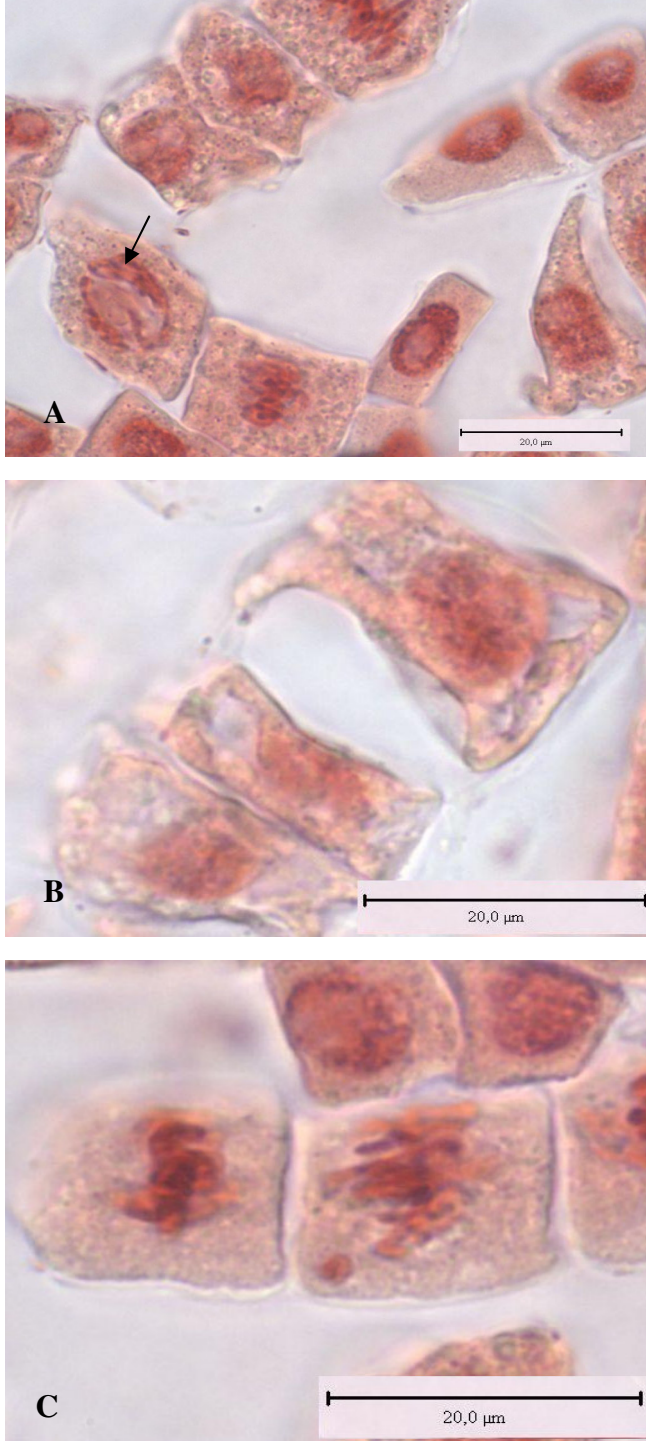
Şekil IV.2.4.10: Mercimek kök uçlarında 300 G, 6 saat doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler. A ve B. sitoplazmada vakuolleşme.



Şekil IV.2.4.11: Mercimek kök uçlarında 300 G, 12 saat doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.
A.nukleoplazmada vakuolleşme ve nukleus şeklinde anormallikler; B ve C.sitoplazmada vakuolleşme;
D.iki nukleuslu hücrede profaz.

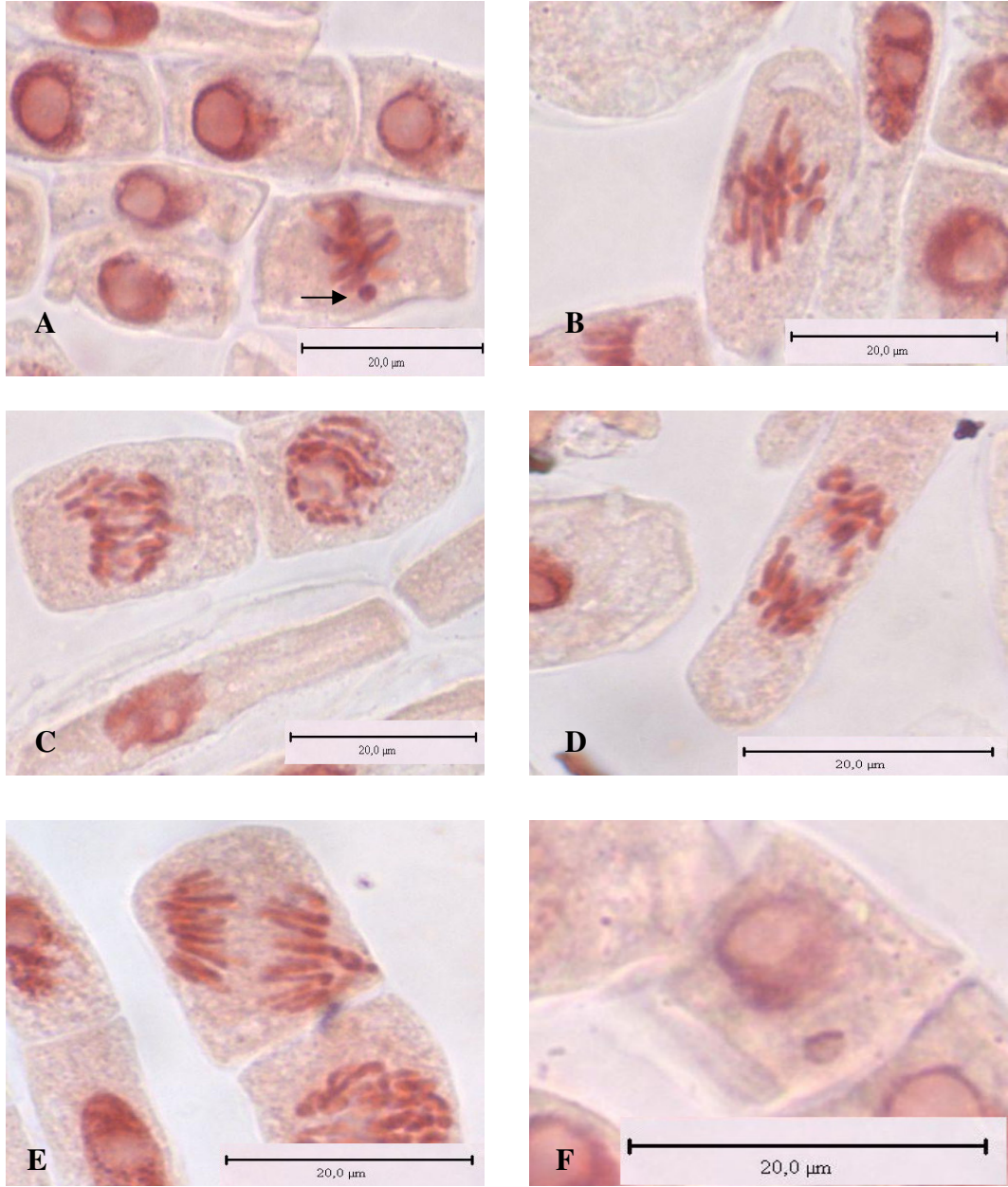


Şekil IV.2.4.12: Mercimek kök uçlarında 600 G, 3 saat doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.
A.metafazda kromozomlarda aşırı kontraksiyon ve anafazda iğ oriyantasyonu farklılığı (okla gösterilmiştir); B ve C. sitoplazmada vakuolleşme, plazma zarında bozukluk ve nukleus şeklinde anormallik.

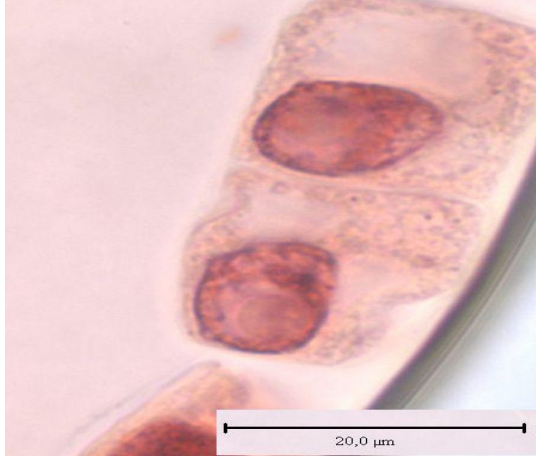


Şekil IV.2.4.13: Mercimek kök uçlarında 600 G, 6 saat doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.

A ve B. hücrede şekil bozukluğu, sitoplazmada vakuolleşme ve yarık oluşumu (okla gösterilmiştir); C. metafazda mikronukleus.



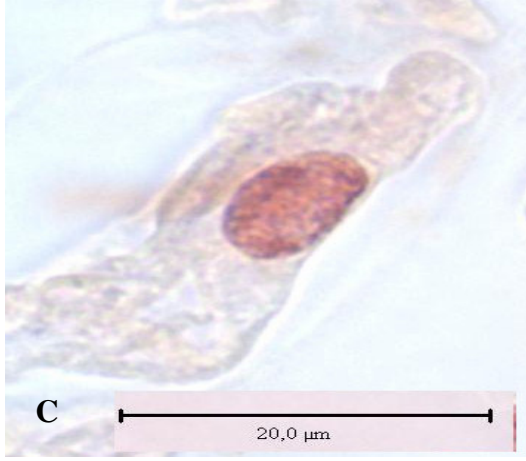
Şekil IV.2.4.14: Mercimek kök uçlarında 600 G, 12 saat doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler. A. parçalanmış nukleus ve metafazda mikronukleus (okla gösterilmiştir); B. anormal metafaz; C ve D. anormal anafaz; E. iğ oriyantasyonu farklılığı; F. mikronukleus.



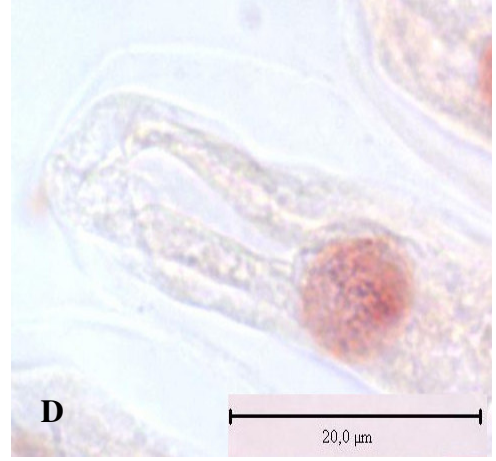
A



B



C

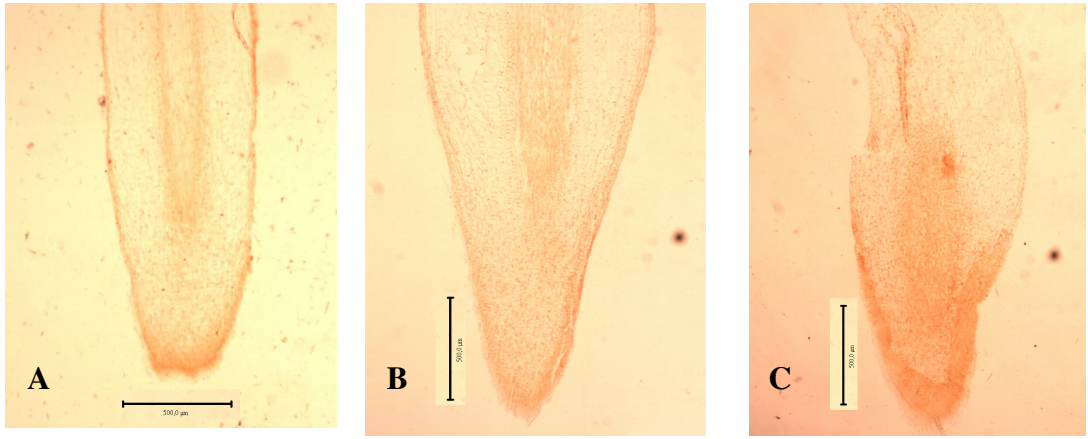


D

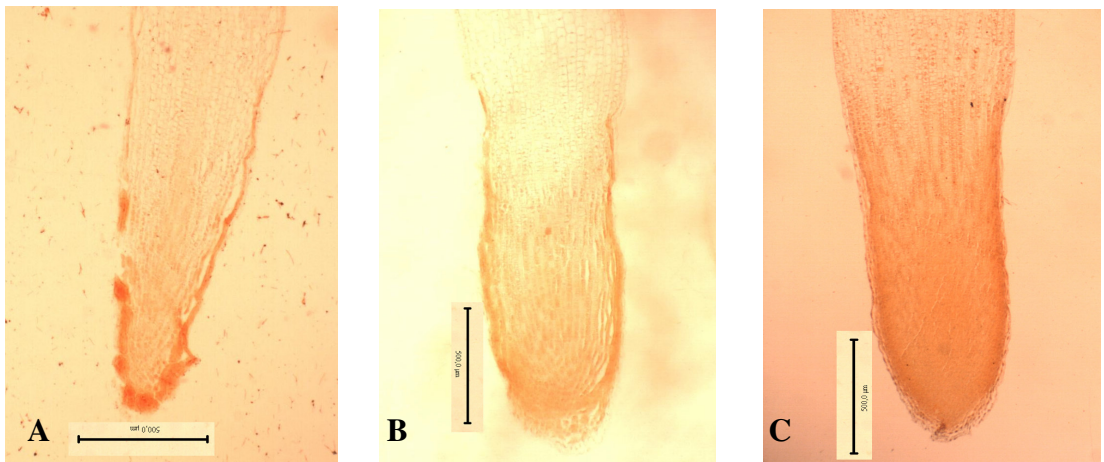
Şekil IV.2.4.15: Mercimek kök uçlarında 1000 G, 3 saat doğru akımlı statik manyetik alan uygulamasından sonra gözlenen anormallikler.
A. sitoplazmada vakuolleşme; B. nukleoplazmada vakuolleşme; C ve D. plazma zarında bozukluk.



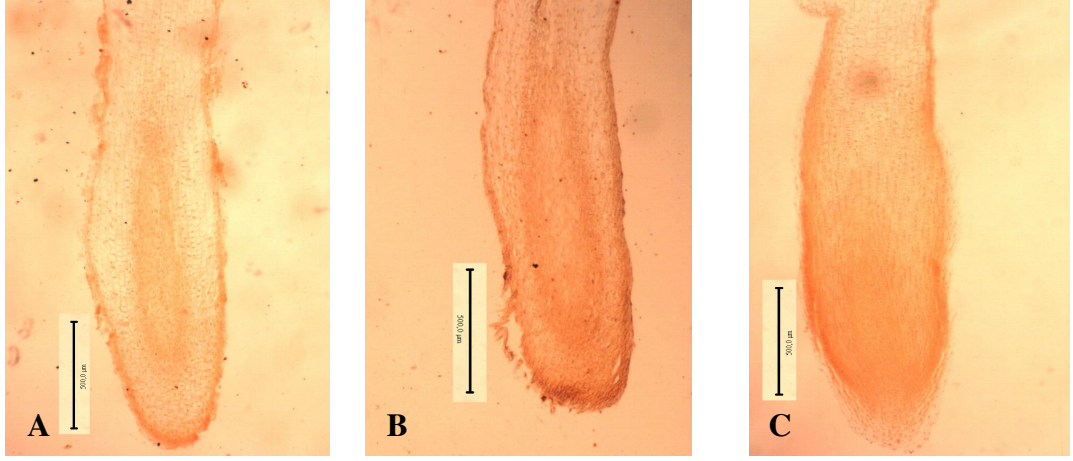
Şekil IV.2.5.1: Alizarin Red S ile boyanmış mercimek kökü (kontrol).



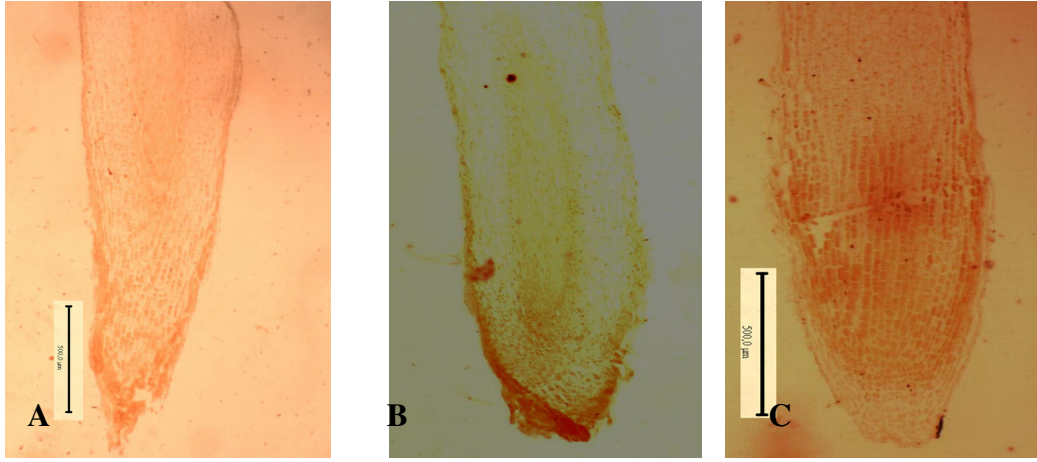
Şekil IV.2.5.2: Alizarin Red S ile boyanmış alternatif akım muameleli mercimek kökleri A. 2,25 μ Wb, 3 saat, B. 2,25 μ Wb , 6 saat, C. 2,25 μ Wb, 12 saat.



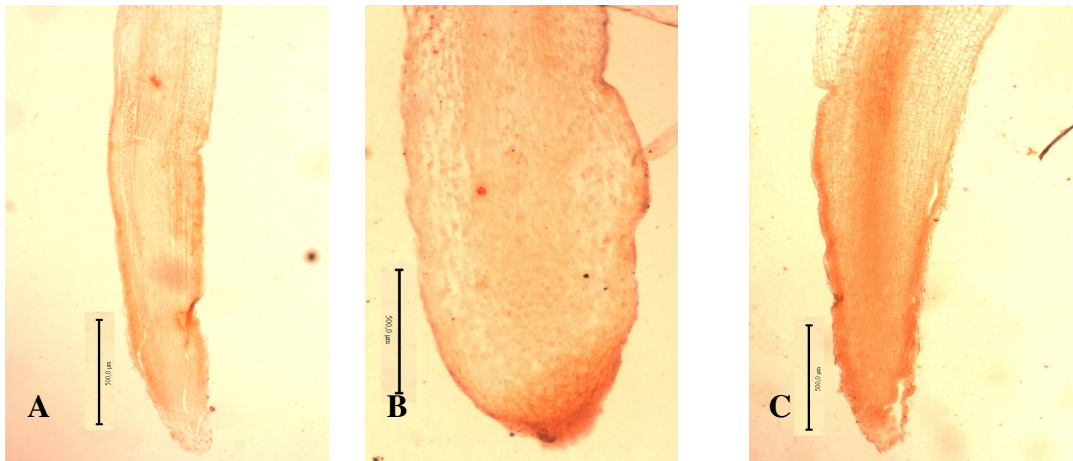
Şekil IV.2.5.3: Alizarin Red S ile boyanmış alternatif akım muameleli mercimek kökleri A. 3,86 μ Wb, 3 saat, B. 3,86 μ Wb , 6 saat, C. 3,86 μ Wb, 12 saat.



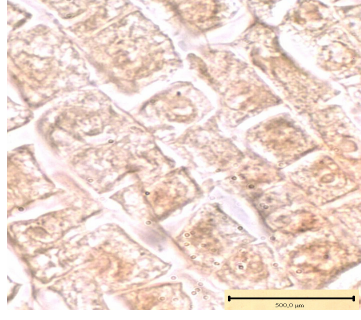
Şekil IV.2.5.4: Alizarin Red S ile boyanmış doğru akım muameleli mercimek kökleri A. 300 G, 3 saat, B. 300 G, 6 saat, C. 300 G, 12 saat.



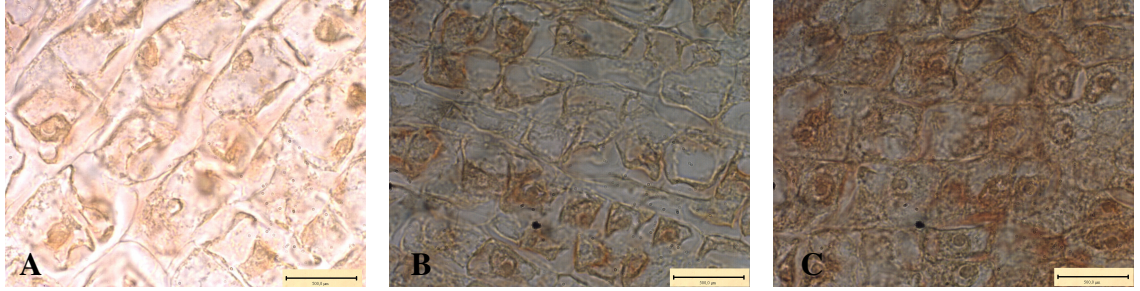
Şekil IV.2.5.5: Alizarin Red S ile boyanmış doğru akım muameleli mercimek kökleri A. 600 G, 3 saat, B. 600 G, 6 saat, C. 600 G, 12 saat.



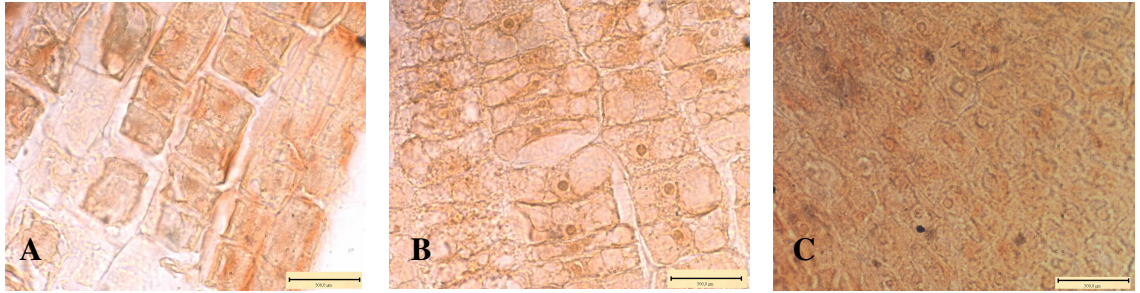
Şekil IV.2.5.6: Alizarin Red S ile boyanmış doğru akım muameleli mercimek kökleri A. 1000 G, 3 saat, B. 1000 G, 6 saat, C. 1000 G, 12 saat.



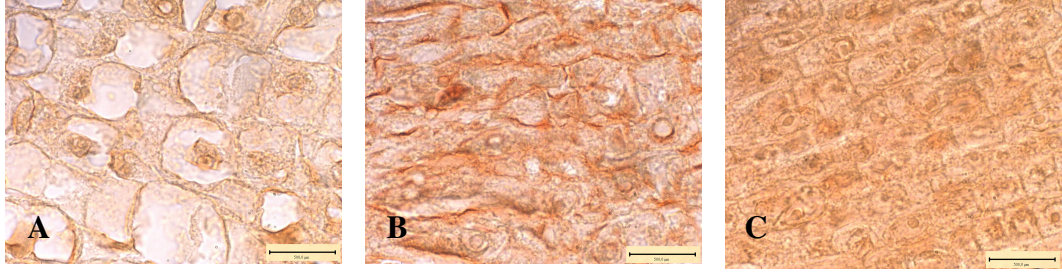
Şekil IV.2.5.7: Alizarin Red S ile boyanan mercimek kök ucu hücreleri (kontrol).



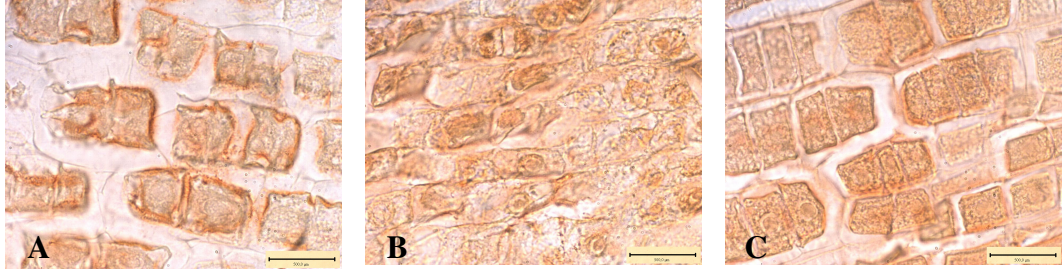
Şekil IV.2.5.8: Alizarin Red S ile boyanan alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulanmış mercimek kök ucu hücreleri A. 2,25 μ Wb, 3 saat, B. 2,25 μ Wb, 6 saat, C. 2,25 μ Wb, 12 saat.



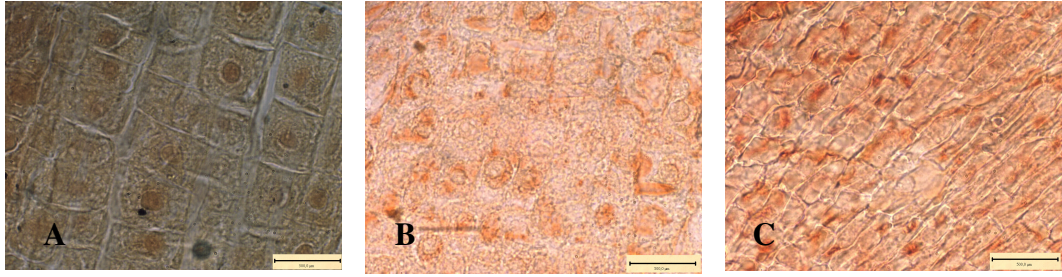
Şekil IV.2.5.9: A Alizarin Red S ile boyanan alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulanmış mercimek kök ucu hücreleri A. 3,86 μ Wb, 3 saat, B. 3,86 μ Wb, 6 saat, C. 3,86 μ Wb, 12 saat.



Şekil IV.2.5.10: Alizarin Red S ile boyanan doğru akımlı statik manyetik alan uygulanmış mercimek kök ucu hücreleri A. 300 G, 3 saat, B. 300 G, 6 saat, C. 300 G, 12 saat.



Şekil IV.2.5.11: Alizarin Red S ile boyanan doğru akımlı statik manyetik alan uygulanmış mercimek kök ucu hücreleri A. 600 G, 3 saat, B. 600 G, 6 saat, C. 600 G, 12 saat.



Şekil IV.2.5.12: Alizarin Red S ile boyanan doğru akımlı statik manyetik alan uygulanmış mercimek kök ucu hücreleri A. 1000 G, 3 saat, B. 1000 G, 6 saat, C. 1000 G, 12 saat.

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE DEĞERLENDİRMELER

Bu çalışmada 50-Hz frekansında alternatif akımlı elektromanyetik alan ve doğru akımlı statik manyetik alanın, mercimek kök ucu hücrelerine sitotoksik etkileri incelenmiştir. Alternatif akımlı elektromanyetik alanda 2,25 μWb ve 3,86 μWb 'lik şiddetlerin 3, 6 ve 12 saatlik uygulamaları yapılmıştır. Doğru akımlı statik manyetik alanda ise 300 G ve 600 G'lik şiddetlerin 3, 6 ve 12 saatlik uygulamaları ile 1000 G'lik şiddetin mitoz bölünme sıfırlandığı için sadece 3 saatlik uygulaması yapılmıştır.

2003 yılında Wank ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, elektrik alan nedeniyle hücrelerin mitotik indeksinde azalma saptamışlardır. Araştırmacılar vasküler endotelyum hücreleri kültürüne, 72 saatten fazla 50 ve 100 mV/mm şiddetinde elektrik alan uygulandığında hücre bölünmesinde bir değişme olmadığını saptamışlardır. Ama 200 mV/mm şiddetindeki alan aynı hücre kültürüne uygulandığında hücre sayısında ve mitotik indekste önemli bir azalma belirlenmiştir. Elektrik alan kaynaklı vaküler endotelyum hücre bölünmesindeki azalma, apoptosis artışından dolayı değildir. Çünkü 20 μM apoptosis inhibitörü (Z-VAD-FMK) uygulandığında da aynı etkiler görülmektedir. Elektrik alandan kaynaklanan bu tepkiler hücrenin G_1 fazından S fazına geçişiyle ilgilidir. Elektrik alanın G_1 fazındaki spesifik siklin E şifrelenmesini engellediği saptanmıştır. Sonuçta araştırmacılar elektrik alanın vasküler hücre bölünmesini hücre döngüsünün G_1 fazını etkileyerek azalttığı sonucuna varmışlardır.

Inoue ve arkadaşları (1985), 60-Hz frekansında, 290 ve 360 V/m şiddetinde elektrik alana maruz kalan *Vicia faba* L. köklerinin büyüme oranında ve mitotik indeksinde azalma saptamışlardır.

Robertson ve arkadaşları (1981), *Pisum sativum* L. köklerine 60-Hz, 430 V/m elektrik alan uygulandığında kök büyüme oranı ve mitotik indeksin azaldığını görmüşlerdir. 4 saatlik uygulama sonunda mitotik indeksin kontrole göre yaklaşık %55 oranında azaldığını belirlemişlerdir. Köklerin 2 gün boyunca 430 V/m şiddetindeki alana maruz kaldıklarında kök büyüme oranının yaklaşık %40 oranında azaldığını, 490 V/m şiddetindeki elektrik alanın ise kök büyümesini tamamen durdurduğunu saptamışlardır.

Greenebaum ve arkadaşları (1982), 75-Hz, 2 G'lik manyetik alanı *Physarum poycephalum* kültürüne uygulamışlar ve hücrelerin mitotik döngülerinin kontrole kıyasla daha uzun olduğunu gözlemişlerdir.

Levin ve arkadaşları (1995), yaptıkları çalışmada 60-Hz 3,4-8,8 μ T (AC) ve 2,5-6-5 μ T (DC) değerleri arasında uygulanan manyetik alanların erken embriyonik gelişim aşamasındaki, deniz kestanesi embriyosunun hücre döngüsünde değişiklikler yaptığını saptamışlardır. Birinci ve ikinci hücre bölünmeleri AC ve DC manyetik alan yüzünden uzamıştır. Alan uygulamasının mitozu başlamayı geciktirdiğini, ayrıca uygulamanın süresinin de gecikmeye etki ettiğini belirlemişlerdir.

Zhang ve arkadaşları (1998), doğru akımlı statik manyetik alanın 10000 G'lik uygulamasında, *Vicia faba* kök ucu hücrelerinde mitotik indekste önemli bir etki gözlememişlerdir.

Bu çalışmada *Lens culinaris* Medik. kök ucu hücrelerine uygulanan alternatif akımlı elektromanyetik alanın ve doğru akımlı statik manyetik alanın şiddet ve uygulama süreleri arttıkça mitotik indeks azalmıştır. 1000G'lik statik manyetik alan uygulandığında mitotik indeksin sıfır olduğu görülmüştür.

Rapley ve arkadaşları (1998), *Vicia faba* fideleri ile yaptıkları çalışmada hem doğru akımlı statik manyetik alanın, hem alternatif akımlı elektromanyetik alanın mitotik indeks üzerine etki ettiğini saptamışlardır. *Vicia faba* fideleri 3 gün boyunca 0 Hz (DC), 5 μ T; 50-Hz, 1,5 μ T; 60-Hz, 1,5 μ T ve 75-Hz, 1,5 μ T manyetik alanlara maruz bırakılmıştır. Alternatif akımlı elektromanyetik alan kullanılan tüm denemelerde mitoz bölünmenin her evresinin tekrarlanma sıklığının farklı olduğu görülmüştür. Doğru akımlı statik manyetik alan uygulamalarında ise profaz ve

metafaz evrelerinin tekrarlanma sıklığında farklar görülmüş olmasına rağmen, anafaz ve telofaz evrelerinde kontrole göre önemli farklar saptanamamıştır.

Çalışmamızda, alternatif akımın ve doğru akımın kullanıldığı her uygulamada *Lens culinaris* Medik. kök ucu hücrelerinin en fazla mitoz bölünmenin profaz safhasında, en az ise anafaz safhasında olduğu gözlenmiştir. Ayrıca her uygulama bölünme evrelerinin tümüne etki etmiştir.

Brulfert ve arkadaşları (1985), 48 saat boyunca 430 V/m, 60-Hz elektrik alana maruz bırakılan *Pisum sativum* köklerini incelemişler ve elektrik alana maruz kalan köklerin uzunluğunun kontrol grubuna göre %44 azaldığını görmüşler.

Çalışmamızda alternatif akımlı elektromanyetik alan ve doğru akımlı statik manyetik alan uygulamaları 3 gün laboratuvar şartlarında çimlenen tohumlara uygulandığı için alan uygulamasının kök uzunluğuna olan etkisi incelenememiştir. Buna rağmen önceki yıllarda yapılan çalışmalar göz önüne alındığında, kök uzunluğundaki azalmanın sebeplerinden birinin bizimde çalışmamızda saptadığımız mitoz bölünme sıklığındaki azalma olduğu akla gelmektedir.

Inoeu ve arkadaşları (1985), sulu inorganik besi ortamında 60-Hz, 360 V/m elektrik alana maruz kalan on iki bitki türünün köklerinin büyüme oranlarını ve hücre çaplarını incelemişlerdir. Elektrik alana bitkilerin gösterdiği tepkiler kök büyüme oranlarındaki azalma ve hücre büyüklüğündeki artış şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Robinson ve Messerli (2003), sabit elektrik alanların hücre hareketlerini ve gelişimini etkilediği sonucuna varmışlardır. İyon nakleden bir epitelyumdaki yaranın kenarında hemen endojen büyük bir elektrik alan oluşturulduğunu, bunun da birçok hücrenin çapının artmasına ve genişlemesine yol açtığını görmüşlerdir.

Bu çalışmada alternatif ve doğru akımın kullanıldığı uygulamaların tamamında bozuk şekilli hücreler görülmüştür. Uygulamada kullanılan şiddet ve süre arttıkça, şekil bozukluğu görülen hücrelerin sayısı da artmıştır. Hücrelerde görülen şekil bozuklukları arasında araştırmacıların bulduğu gibi hücrenin çapının artması ve genişlemesinin dışında, hücrelerin aşırı uzaması da yer almaktadır.

Bozuk şekilli hücreler alternatif akımlı uygulamalardan 2,25 μ Wb, 3 saatte %6,2; 2,25 μ Wb, 6 saatte %8; 2,25 μ Wb, 12 saatte %10,6; 3,86 μ Wb, 3 saatte %11,5; 3,86 μ Wb, 6 saatte %12,1; 3,86 μ Wb, 12 saatte %13,5 oranında görülmüştür. Aynı anormallik doğru akımlı uygulamalardan 300 G, 3 saatte %6,9; 300 G, 6 saatte %7,2; 300 G, 12 saatte %8,1; 600 G, 3 saatte %11,3; 600 G, 6 saatte %11,9; 600 G, 12 saatte %13,2; 1000 G, 3 saatte %15,8 oranında saptanmıştır.

Bozuk şekilli hücrelerin büyük çoğunluğunda nukleus şekillerinin de bozuk olduğu gözlenmiştir. Aşırı uzun bir hücrenin nukleusu, hücre şekline paralel davranarak uzamıştır. Çapı büyük olan hücrelerin ise nukleusları büyük olmaktadır. Aynı zamanda bu nukleusların bir kısmının girintili çıkıntılı şekle sahip olduğu ve hücrenin bir kenarına itildiği gözlenmiştir.

Nukleusların hücrenin kenarına itimesinin sebebinin, bu hücrelerin sitoplazmalarında aşırı miktarda ve büyüklükte görülen vakuoller olduğu düşünülmektedir. Vakuolleşmeye bağlı olarak nukleusların yeri de değişmektedir.

Alternatif akımlı ve doğru akımlı uygulamaların hepsinde nukleoplazmada vakuolleşme gözlenmiştir. Gözlenen vakuollü nukleus sayısı, uygulanan şiddet ve süre arttıkça fazlalaşmıştır. Nukleoplazmada vakuoller en az alternatif akımın kullanıldığı 2,25µWb, 3 saatlik uygulamada, en fazla doğru akımın kullanıldığı 1000 G, 3 saatlik uygulamada görülmüştür.

Rapley ve arkadaşları (1998), kromozom kırılmalarında manyetik alan uygulamasına bağlı olarak bir artış olmadığını saptamışlardır. Mitoz bölünme evrelerinde manyetik alan uygulamasına bağlı kromozom kırılmalarında artış gözlememişlerdir.

Çalışmamızda alternatif akımın kullanıldığı 2,25 µWb, 12 saatlik ve 3,86 µWb, 12 saatlik uygulamalarda % 0,02 oranında; doğru akımın kullanıldığı 600 G, 12 saatlik uygulamada ise %0,04 oranında kırılma görülmüştür. Dikkat çeken nokta kırılmaların sadece en uzun süreli, 12 saatlik uygulamalarda ve çok düşük oranlarda görülmesidir.

Lilium henryi L.'nin anterleri 5000 G statik manyetik alanda 4 saat tutulduktan hemen sonra, polen ana hücrelerindeki mayoz bölünmede anafaz I ve telofaz I'de birkaç önemli anormallik gözlenmiştir. Manyetik uygulamadan 18-24 saat sonra sapmalar daha fazlalaşmıştır. Linskens ve Smeets (1978), mayoz bölünmede görülen bu düzensizliklerin DNA ve bazik kromozomal proteinlerin manyetik alandan etkilenmelerinin bir sonucu olduğunu saptamışlardır.

Lens culinaris Medik. kök ucu hücrelerinde sadece 300 G, 3 saatlik uygulamada bir telofaz evresinde köprü gözlenmiştir. Anafaz düzensizliklerinin ise doğru akımlı uygulamalarda ve alternatif akımlı uygulamalarda şiddet ve süre artışına paralel olarak arttığı gözlenmiştir.

İki nukleuslu hücreler doğru akımın kullanıldığı uygulamalardan sadece 300 G’de, alternatif akımın kullanıldığı uygulamalardan 2,25 μ Wb, 6 saat ve 2,25 μ Wb, 12 saat ile 3,86 μ Wb, 6 saat ve 3,86 μ Wb, 12 saatte görülmüştür.

Mikronukleus oluşumu 2,25 μ Wb’lik uygulamaların hepsinde bulunmuştur. 3,86 μ Wb’de ise 12 saatlik uygulamada gözlenmiştir.

Doğru akımın kullanıldığı 600 G’lik şiddette 6 ve 12 saatlik uygulamalarda görülen mikronukleus oluşumu, 300 G ve 1000 G’de saptanmamıştır.

2,25 μ Wb ve 3,86 μ Wb ile 600 G’de iğ oriyantasyonu farklılığı saptanmıştır. 2,25 μ Wb, 12 saatte %0,1, 3,86 μ Wb, 6 saatte %0,04, 3,86 μ Wb, 12 saatte %0,08, 600 G, 3 saatte %0,04, 600 G, 12 saatte %0,02 oranlarında iğ oriyantasyonu bozukluğu gözlenmiştir.

c- mitoz ise sadece alternatif akımın kullanıldığı bir uygulama olan 2,25 μ Wb, 12 saatte saptanmıştır. Bu anormalliğin oluşma sebebinin iğ inhibitörü olduğu düşünülür. İğ ipliklerinin oluşmaması kromozomların kutuplara çekilmesini engellemiştir. Uygulamaların karakteristiğine bağlı olarak, görülen anormalliklerde de farklılıklar vardır.

Tkalec ve arkadaşları (2005), *Lemna minor* L. üzerinde yaptıkları çalışmada, radyofrekanslı elektromanyetik alanların bitkideki etkilerinin alanın karakteristiğine bağlı olduğunu saptamışlardır.

Uygulamaların tümünde görülen anormallikler arasında sitoplazmik bozukluklar, plazma zarının bozulması ve nukleus zarının parçalanması yer almaktadır. Tablo IV.2.4.1 ve Tablo IV.2.4.2’de görüldüğü gibi uygulamaların hepsinde anormalliklerin tümü gözlenmemiştir. Yani c-mitoz, iki nukleuslu hücre gibi bazı anormallikler uygulanan alanın karakteristiğine bağlı olarak ortaya çıkmıştır.

Çalışmada gözlenen plazma ve nukleus zarlarının bozulmalarının nedeni manyetik alanın sebep olduğu sitoplazmik kalsiyum iyonlarındaki artış olabileceği düşünülmektedir. Dış kökenli manyetik alanın sitoplazma zarındaki kanal proteinlerini etkilediği bilinmektedir.

Thomas ve arkadaşları (2003), insan T lenfositlerine 1mV/m’den fazla şiddette, 30 ns’den az bir zaman elektrik alan uygulandığında membran porlarının açıldığını ve sitosolde kalsiyum iyon konsantrasyonunun arttığını tespit etmişlerdir.

Baureus Koch ve arkadaşları (2003), şiddeti 27–37 μ T arasında olan doğru akımlı statik manyetik alanlar ile 7 ve 72-Hz frekanslı, 13 ve 114 μ T arasında şiddete

sahip alternatif akımlı elektromanyetik alanları bitki hücrelerine uygulayarak kalsiyum akışını izlemişlerdir. Bunun için radyoaktif kalsiyum (^{45}Ca) kullanılmıştır. Doğru akımlı statik manyetik alanın ve alternatif akımlı elektromanyetik alanın hücre membranındaki kalsiyum iyonu kanal proteinlerini doğrudan etkilediği gözlenmiştir.

Cho ve arkadaşları (1999), 1 ve 10-Hz frekanslı elektrik alanın insan hepatoma hücrelerine (Hep3B) uygulandıktan sonra 30 dakika içinde, sitoplazmadaki kalsiyum iyonları konsantrasyonunun 50 nM' den 200 nM' ye kadar arttığını saptamıştır. Sitoplazmadaki kalsiyum iyonlarının artışı, plazma membranından kalsiyum iyonlarının içeriye doğru akmasından kaynaklanmaktadır. Alternatif akımlı elektrik alan bir plazma membran reseptörü olan fosfolipaz C (PLC) 'nin aktivasyonunu sağlar. PLC aktivasyonu da inositol trifosfat'ın (ITP) üretimine sebep olur. ITP hücre içi reseptörüne bağlanarak endoplazmik retikulum'dan kalsiyum iyonlarının salınmasını sağlar. Bu "kalsiyum tetikleyicinin" sitosol içine biraz daha kalsiyum iyonu girişine izin veren diğer iyon kanallarını aktive ettiği gözlenmiştir.

Schuster ve arkadaşları (2002), kalsiyum iyonlarının endoplazmik retikulumdan temel salınma işleminin inositol 1, 4, 5-trifosfat'ın (ITP) bir parçası olan kanallar sayesinde gerçekleştiğini saptamışlardır. Bunlara ITP reseptörleri denmektedir. Alternatif akımlı elektrik alanın proteinlerde konformasyonel değişikliklere sebep olduğu gözlenmiştir. Ekzogen kökenli elektrik alana maruz kalan proteinlerde yapısal değişiklikler olduğu görülmüştür.

Cho ve arkadaşları (1999), Hep3B hücrelerinde alternatif akımlı elektrik alanın mikofilamentlerin yeniden düzenlenmesine sebep olduğunu görmüşlerdir. Mikofilament yapılarının yeniden düzenlenmesi hücre morfolojisinde değişikliklere yol açmaktadır. Bu sayede hücre yüzeyinde bulunan kalsiyum iyonlarını geçiren kanalların aktivasyonu gerçekleşmektedir.

Cho ve arkadaşları (1996), 1 Hz frekanslı, 20 V/cm' lik elektromanyetik alana maruz kalan Hep3B hücrelerdeki mikofilament yeniden düzenlenimi için karakteristik zamanın yaklaşık 5 dakika olduğunu saptamışlardır. Alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulamasının, hücre iskeletinin ve reseptörlerinin yeniden düzenlenmesine sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Cho ve arkadaşları (1994), düşük frekanslı elektromanyetik alanların biyolojik etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmanın, hücre yüzey reseptörlerinin fiziksel durumundaki değişikliklerden kaynaklandığını tespit etmişlerdir. Bu durum Transferrin (TFR) ve düşük yoğunluklu lipoprotein

reseptörlerinde (LDL–R) araştırılmıştır. 3–23 V/cm alternatif akımlı elektromanyetik alan uygulandığında her iki reseptörün yeniden düzenlenmesinde 1 ve 10-Hz frekanslarının önemli olduğu saptanmıştır. 1-Hz frekansında, 23 V/cm şiddetinde manyetik alanın 15 dakika uygulanması, bölgesel TFR yoğunluğunda iki katlık bir artışa sebep olmuştur.

Çalışmamız sırasında uyguladığımız 50-Hz frekanslı, alternatif akımlı elektromanyetik alan ve doğru akımlı statik manyetik alan sitoplazmadaki kalsiyum iyonlarını artırmaktadır. *Lens culinaris* Medik. primer köklerine yapılan sitokimyasal kalsiyum tayininden elde ettiğimiz sonuçlar, bu konuda yapılan diğer çalışmaları destekler niteliktedir. Alınan parafin kesitlerden kontrol grubunda sitoplazmanın %2’lik Alizarin Red S boyası ile çok boyanmaması sitoplazmik kalsiyum iyonlarının fazla olmadığını göstermektedir. Buna karşın diğer uygulamalarda sitoplazma daha çok boyanmakta ve sitoplazmadaki kalsiyum iyonlarının arttığı görülmektedir. Kalsiyum iyonlarının artışı ise manyetik alanın sitotoksik etkisine bağlı, sitoplazma zarındaki bozulmadan kaynaklanabilmektedir. İlgili literatürler ışığında plazma zarındaki ve endoplazmik retikulum zarındaki reseptör proteinlerin manyetik alan ile aktive olduğu, bunun sonucunda kalsiyum iyonlarının hücre dışından sitoplazmaya ve endoplazmik retikulumdan sitoplazmaya geçişine izin verdiği düşünülmektedir.

Çalışmamız sonucunda;

1. *Lens culinaris* Medik. kök ucu hücrelerinde alternatif akımlı elektromanyetik alanın ve doğru akımlı statik manyetik alanın mitoz bölünme sıklığını azalttığı, 1000 G’lik statik manyetik alan uygulamasının ise tamamen durdurduğu,
2. Plazma membranını bozduğu, sitoplazma ve nukleoplazmada aşırı vakuolleşmeye neden olduğu, kromozomal anormalliklere yol açtığı,
3. Sitoplazmik kalsiyum dağılımına etki ettiği saptanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1]. Penuelas, J.; Llusia, J.; Martinez, B.; Fontcuberta, J.: “Diamagnetic Susceptibility and Root Growth Responses to Magnetic Fields in *Lens culinaris*, *Glycine soja*, and *Triticum aestivum*”, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23 (2004): 97-112.
- [2]. Kocaçalışkan, İ.: “Bitki Fizyolojisi”, Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya, Türkiye, (2004): 328-340.
- [3]. Linskens, H.F.; Smeets, P.S.G.M.: “Influence of High Magnetic Fields on Meiosis” *Separatum Experientia*, 34 (1978): 42.
- [4]. Tkalec, M.; Malaric, K.; Pevalek-Kozlina, B.: “Influence of 400, 900 and 1900 MHz Electromagnetic Fields on *Lemna minor* Growth and Peroxidase Activity”, *Bioelectromagnetics*, 26 (2005): 185-193.
- [5]. Walleczek J.: “Electromagnetic Field Effects on Cells of the Immune System The Role of Calcium Signaling”, *FASEB Journal*, 6 (13) (1992): 3177-3185.
- [6]. Kıymaç, K.: “Temel Elektrik Mühendisliği”, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayın No: 135, Ankara, Türkiye, (1982): 559-579.
- [7]. Lacy-Hulbert, A.; Metcalfe, C.J.; Hesketh, R.: “Biological Responses to Electromagnetic Fields”, *The Faseb Journal* 12 (1998): 395-420.
- [8]. Soja, G.; Kunsch, B.; Gerzabek, M.; Reichenauer, T.; Soja, A.-M.; Rippar, G.; Bolhar-Nordenkamp, H.R.: “Growth and Yield of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Corn (*Zea mays* L.) Near a High Voltage Transmission Line”, *Bioelectromagnetics*, 24 (2003): 91-102.
- [9]. Wolverson, C.; Mullen J.L.; Aizawa, S.; Yoshizaki, I.; Kamigaichi, S.; Mukai, T.; Shimazu, T.; Fukui, K.; Evans, M.L.; Ishikawa, H.: “Inhibition of Root Elongation in Microgravity by an Applied Electric Field”, *Biol.Sci.Space.*, 14 (2) (2000): 58-63.

- [10]. Brulfert, A.; Miller, M.W.; Robertson, D.; Dooley, D.A.; Economou, P.; “A Cytohistological Analysis of Roots Whose Growth is Affected by a 60-Hz Electric Field”, *Bioelectromagnetics*, 6 (3) (1985): 283-291.
- [11]. Ruzic, R.; Jerman, I.; Jeglic, A.; Fefer, D.: “Electromagnetic Stimulation of Buds of *Castanea sativa*, Mill in Tissue Culture”, *Electro-and Magnetobiology*, 11(2) (1992): 145-153.
- [12]. Robinson, K.R.; Messerli, M.A.: “Left/Right, Up/Down: The Role of Endogenous Electrical Fields as Directional Signals in Development, Repair and Invasion”, *BioEssays*, 25 (2003): 759-766.
- [13]. Brayman, A.A.; Miller, M.W.; Cox, C.: “Effects of 60-Hz Electric Fields on Cellular Elongation and Radial Expansion Growth in Cucurbit Roots”, *Bioelectromagnetics*, 8 (1) (1987): 57-72.
- [14]. Takahashi, N.; Yamazaki, Y.; Kobayashi, A.; Higashitani, A.; Takahashi, H.: “Hydrotropism Interacts With Gravitropism by Degrading Amyloplasts in Seedling Roots of *Arabidopsis* and *Radish*”, *Plant Physiology*, 132 (2003): 805-810.
- [15]. Hirota, N.; Nakagawa, J.; Kitazawa, K.: “Effects of a Magnetic Fields on the Germination of Plants”, *Journal of Applied Physics*, 85 (1999): 5717-5719.
- [16]. Rakosy-Tican, L.; Aurori, C.M.; Morariu, V.V.: “Influence of Near Null Magnetic Field on in Vitro Growth of Potato and Wild Solanum Species”, *Bioelectromagnetics*, 26 (2005): 548-557.
- [17]. Fischer, G.; Tausz, M.; Köck, M.; Gril, D.: “Effects of Weak $16\frac{2}{3}$ Hz Magnetic Fields on Growth Parameters of Young Sunflower and Wheat Seedlings”, *Bioelectromagnetics*, 25 (2004): 638-641.
- [18]. Dattilo, A.M.; Bracchini, L.; Loiselle, S.A.; Ovidi, E.; Tiezzi, A.; Rossi, C.: “Morphological Anomalies in Pollen Tubes of *Actinidia deliciosa* (kiwi) Exposed to 50-Hz Magnetic Field”, *Bioelectromagnetics*, 26 (2005): 153-156.
- [19]. Baureus Koch, C.L.M.; Sommarin, M.; Persson, B.R.R.; Salford, L.G.; Eberhardt, J.L.: “Interaction Between Weak Low Frequency Magnetic Fields and Cell Membranes”, *Bioelectromagnetics*, 24 (2003): 395-402.
- [20]. Vernier, T.P.; Sun, Y.; Marcu, L.; Salemi, S.; Craft, M.C.; Gundersen, A.M.: “Calcium Bursts Induced by Nanosecond Electric Pulses”, *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 310 (2003): 286-295.

- [21].Panagopoulus, J.D.; Karabarbounis, A.; Margaritis, L.H.: “Mechanism for Action of Electromagnetic Fields on Cells”, *Biochem. Biophys. Res. Commun* 298 (1) **(2002)**: 95-102.
- [22]. Stange, B.C.; Rowland, R.E.; Rapley, B.I.; Podd, J.V.: “ELF Magnetic Fields Increase Amino Acid Uptake Into *Vicia faba* L. Roots and Ion Movement Across the Plasma Membrane”, *Bioelectromagnetics*, 23 **(2002)**: 347-354.
- [23]. Sato, Masayuki.; Ishida, M.N.; Sugiarto, A.T.; Ohshima, T.; Taniguchi, H.: “High-Efficiency Sterilizer by High-Voltage Pulse Using Concentrated-Field Electrode System”, *IEEE Transactions on Industry Applications*, 37(6) **(2001)**:1646-1651.
- [24]. Teissie, J.; Ramos, C.: “Correlation Between Electric Field Pulse Induced Long-Lived Permeabilization and Fusogenicity in Cell Membranes”, *Biophysical Journal* 74 (4) **(1998)**: 1889-1898.
- [25]. Sabri, N.; Pelissier, B.; Teissie, J.: “Electropermeabilization of Intact Maize Cells Induces an Oxidative Stress”, *European Journal of Biochemistry* 238 **(1996)**: 737-743.
- [26]. Blank, M.; Goodman, R.. “Do Electromagnetic Fields Interact Directly With DNA?”, *Bioelectromagnetics*, 18 (2) **(1997)**: 111-115.
- [27]. Brayman, A.A.; Miller, M.W.; “60-Hz Electric Fields Exposure Inhibits Net Apparent H (+)-Ion Excretion From Excised Roots of *Zea mays* L.”, *Radiation Research*, 123 (1) **(1990)**: 22-31.
- [28]. Antov, Y.; Barbul, A.; Mantsur, H.; Korenstein, R.: “Electroendocytosis: Exposure of Cell to Pulsed Low Electric Fields Enhances Adsorption and Uptake of Macromolecules”, *Biophysical Journal*, 88 **(2005)**: 2206-2223.
- [29]. Ye, H.; Huang, L.; Chen, S.; Zhong, J.: “Pulsed Electric Field Stimulates Plant Secondary Metabolism in Suspension Cultures of *Taxus chinensis*”, *Biotechnology and Bioengineering* 88 (6) **(2004)**: 780-788.
- [30]. Cho, M.R.; Thatte, H.S.; Silvia, M.T.; Golan, D.E.: “Transmembrane Calcium Influx Induced by Ac Electric Fields”, *FASEB Journal*, 13 **(1999)**: 677-683.
- [31]. Schuster, S.; Marhl, M.; Höfer, T.: “Modelling of Simple and Complex Calcium Oscillations”, *Eur.J.Biochem.*, 269 **(2002)**: 1333-1355.
- [32]. Fanelli, C.; Coppola, S.; Barone, R.; Colussi, C.; Gualandı, G.; Volpe, P.; Ghıbellı, L.: “Magnetic Fields Increase Cell Survival by Inhibiting Apoptosis Via Modulation of Ca⁺² Influx”, *FASEB Journal*, 13 **(1999)**: 95-102.

- [33]. Tonini, R.; Baroni, M.D.; Masala, E.; Micheletti, M.; Ferroni, A.; Mazzanti, M.: "Calcium Protects Differentiating Neuroblastoma Cell During 50-Hz Electromagnetic Radiation", *Biophys. Journal*, 81 (2001): 2580-2589.
- [34]. Cooke, T.J.; Racusen, R.H.: "The Role of Electrical Phenomena in Tip Growth, With Special Reference to the Developmental Plasticity of Filamentous Fern Gametophytes", *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 40 (1986): 307-328.
- [35]. Chahal, R.; Craig, D.Q.M.; Pinney, R.J.: "Investigation of Potential Genotoxic Effects of Low Frequency Electromagnetic Fields on Escherichia-Coli", *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 45 (1) (1993): 30-33.
- [36]. Cho, M.R.; Thatte, H.S.; Lee, R.C.; Golan, D.E.: "Reorganization of Microfilament Structure Induced by AC Electric Fields", *FASEB Journal*, 10 (1996): 1552-1558.
- [37]. Cho, M.R.; Thatte, H.S.; Lee, R.C.; Golan, D.E.: "Induced Redistribution of Cell Surface Receptors by Alternating Current Electric Fields", *FASEB Journal*, 8 (1994): 771-776.
- [38]. Wang, E.; Yin, Y.; Zhao, M.; Forrester, J.V.; McCaig, C.D.: "Physiological Electric Fields Control the G₁/S Phase Cell Cycle Checkpoint to Inhibit Endothelial Cell Proliferation", *FASEB Journal*, 17 (3) (2003): 458-460.
- [39]. Rapley, B.I.; Rowland, R.E.; Page, W.H.; Podd, J.V.: "Influence of Extremely Low Frequency Magnetic Fields on Chromosomes and the Mitotic Cycle in *Vicia faba* L. the Broad Bean", *Bioelectromagnetics*, 19 (1998): 152-161.
- [40]. McGee-Russel, S.M.: "Histochemical Methods for Calcium" *J. Histochemistry* 6 (1958): 22-42.
- [41]. Inoue, M.; Miller, M.W.; Cox, C.; Carstesen, E.L.: "Growth Rate and Mitotic Index Analysis of *Vicia faba* L. Roots Exposed to 60-Hz Electric Fields", *Bioelectromagnetics*, 6 (3) (1985): 293-303.
- [42]. Miller, M.W.; Dooley, D.A.; Cox, C.; Carstensen E.L.: "On the Mechanism of 60-Hz Electric Field Induced Effects in *Pisum sativum* L. Roots: Vertical Field Exposures", *Radiat. Environ. Biophys.*, 22 (4) (1983): 293-302.
- [43]. Robertson, D.; Miller, M.W.; Cox, C.; Davis, H.T.: "Inhibition and Recovery of Growth Processes in Roots of *Pisum sativum* L. Exposed to 60-Hz Electric Field", *Bioelectromagnetics*, 2(4) (1981): 329-340.
- [44]. Inoue, M.; Miller, M.W.; Carstensen E.L.; Brayman A.A.: "The Relationship Between Sensitivity to 60-Hz Electric Fields and Induced Transmembrane

- Potentials in Plants Root Cells”, *Radiat. Environ. Biophys.*, 24 (4) (1985): 303-314.
- [45]. Brayman, A.A.; Miller, M.W.: “Induction of ELF Transmembrane Potentials in Relation to Power-Frequency Electric Field Bioeffects in a Plant Root Model System.I.Relationship Between Applied Field Strength and Cucurbitaceous Root Growth Rates”, *Radiat. Environ. Biophys.*, 25 (2) (1986): 141-149.
- [46]. Levin, M.; Ernst, S.G.: “Applied AC and DC Magnetic Fields Cause Alterations in the Mitotic Cycle of Early Sea Urchin Embryos”, *Bioelectromagnetics*, 16 (4) (1995): 231-240.
- [47]. Yu, F.; Driss-Ecole, D.; Rembur, J.; Legue, V.; Perbal, G.: “Effect of Microgravity on the Cell Cycle in the Lentil Root”, *Physiol. Plant*, 105 (1) (1999): 171-178.
- [48]. Ramstand, S.; Futsaether, C.M.; Johnsson, A.: “Effects of 50-Hz Electric Currents and Magnetic Fields on the Prokaryote *Propionibacterium acnes*”, *Bioelectromagnetics*, 21 (4) (2000): 302-311.
- [49]. Takahashi, H.; Scott, T.K.; Suge, H.: “Stimulation of Root Elongation and Curvature by Calcium”, *Plant Physiol.*, 98 (1992): 246-252.
- [50]. Greenebaum, B.; Goodman, F.M.; Maron, M.T.: “Magnetic Field Effects on Mitotic Cycle Length in Physarum”, *Eur. J. Cell Biol.*, 27 (2) (1982): 156-160.
- [51]. Dihel, L.E.; Smith-Sonneborn, J.; Middaugh C.R.: “Effects of an Extremely Low Frequency Electromagnetic Field on the Cell Division Rate and Plasma Membrane of *Paramecium tetraurelia*”, *Bioelectromagnetics*, 6 (1) (1985): 61-71.
- [52]. Brayman, A.A.; Megumi, T.; Miller, M.W.: “Proportionality of ELF Electric Field-Induced Growth Inhibition to Induced Membrane Potential in *Zea mays* and *Vicia faba* Roots”, *Radiat. Environ. Biophys.*, 29 (2) (1990): 129-141.
- [53]. Greene, J.J.; Skowronski, J.W.; Mullins, M.; Nardone, M.R.; Penafiel, M.; Meister, R.: “Delineation of Electric and Magnetic Field Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Radiation on Transcription”, *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 174 (2) (1991): 742-749.
- [54]. Ruzic, R.; Jerman, I.: “Influence of Ca^{+2} in Biological Effects of Direct and Indirect ELF Magnetic Field Stimulation”, *Electro-Magnetobiol.*, 17 (2) (1998): 203-214.

- [55]. Blackman, C.F.; Benane,S.G.; Robinowitz, J.R.; House, D.E.; Joines, W.T.: “A Role for the Magnetic Field in the Radiation-Induced Efflux of Calcium Ions From Brain Tissue in Vitro”, ”, *Bioelectromagnetics*, 6 (4) (**1985**): 327-337.
- [56]. Beebe, J.S.; Fox, M.P.; Rec, J.L.; Willis, K.L.; Karl, H.: “Nanosecond, High-Intensity Pulsed Electric Fields Induce Apoptosis in Human Cells”, *FASEB Journal*,17 (**2003**): 1493-1495.
- [57]. Zimmermann, U.; Scheurich, P.; Pilwat, G.; Benz, R.: “Cells With Manipulated Functions: New Perspectives for Cell Biology, Medicine and Technology”, *Angewandte Chemie International Edition in English*, 20 (4) (**2003**): 325-344.
- [58]. Ager, D.D.; Radul, J.A.: “Effect of 60-Hz Magnetic Fields on Ultraviolet Light-Induced Mutation and Mitotic Recombination in *Saccharomyces-Cerevisiae*”, *Mutation Research*, 283 (4) (**1992**): 279-286.
- [59]. www.inonu.edu.tr (Eriřim tarihi: Ocak **2006**).
- [60]. www.antrak.org.tr (Eriřim tarihi: Ocak **2006**).
- [61]. <http://tr.wikipedia.org.tr> (Eriřim tarihi: řubat **2006**).

ÖZGEÇMİŞ

1981 Tekirdağ doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Tekirdağ'da tamamladım. 1998 yılında Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği'nde lisans öğrenimime başladım. 2003 yılında bölüm birincisi olarak mezun oldum. Aynı yıl biyoloji öğretmeni olarak Bitlis Lisesi'ne atandım. Yine aynı yıl Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisansa kabul edildim. Halen Küçükyalı Rezan Has Lisesi'nde biyoloji öğretmenliği yapmaktayım.