

**T.C.  
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SELİN CAN**

***Allium cepa* KÖK UCU HÜCRELERİNDE SALİSİLİK ASİT  
TÜREVLERİNİN SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman: Prof. Dr. Halil Erhan EROĞLU**

**YOZGAT - 2021  
10407878**

**T.C.  
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SELİN CAN**

***Allium cepa* KÖK UCU HÜCRELERİNDE SALİSİLİK ASİT  
TÜREVLERİNİN SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman: Prof. Dr. Halil Erhan EROĞLU**

**YOZGAT – 2021  
10407878**

## TEZ PEFYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



**SELİN CAN**  
**25 Haziran 2021**

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ ONAY SAYFASI .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ÖZET .....	vi
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	viii
RESİM LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. <i>Allium</i> Test Sistemi .....	3
2.1.1. Mitotik İndeks (MI).....	4
2.1.2. Mikronükleus (MN).....	4
2.1.3. Kromozom Aberrasyonları (KA) .....	5
2.1.4. <i>Allium</i> Testinin Avantajları ve Diğer Testlerle Karşılaştırılması .....	6
2.1.5. <i>Allium</i> Testi ile Yapılan Çalışmalar .....	6
2.2. Salisilik Asit .....	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal .....	13
3.2. Çözelti ve Boyaların Hazırlanışı .....	13
3.3. <i>Allium</i> Test Sistemi .....	13
3.4. Mikroskopik Değerlendirme .....	16
3.5. İstatistiksel Analiz .....	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	18
4.1. Mitotik İndeks Bulguları .....	18
4.3. Kromozom Anomali Bulguları .....	23
5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER .....	31
6. KAYNAKLAR .....	34
7. BENZERLİK VE İNTİHAL RAPORU .....	41
8. ÖZGEÇMİŞ .....	42

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### ***Allium cepa* KÖK UCU HÜCRELERİNDE SALİSİLİK ASİT TÜREVLERİNİN SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

SELİN CAN

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. HALİL ERHAN EROĞLU

Günümüzde kimyasalların sürekli devam eden üretimleri ve çevreye salınmaları bu maddelerin muhtemel sitotoksik ve genotoksik etkilerini belirlemesinin önemini arttırmaktadır. Biyolojik aktivite potansiyelleri geniş bir spektrumda değişkenlik gösteren salisilik asit türevleri; özellikle tıp ve eczacılık olmak üzere tarım ve diğer birçok alanda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu bileşikler hem yaygın kullanımları hem de çeşitlilikleri nedeniyle biyolojik sistemde önemli bir döngüye sahiptir. Bu çalışmada, iki salisilik asit türevinin (SA-1 ve SA-2) muhtemel sitotoksik ve genotoksik etkileri, *Allium* test sistemi kullanılarak beş farklı konsantrasyonda (6.25, 12.5, 25, 50 ve 100 µM) araştırılmıştır. *A. cepa* hücrelerinde, artan konsantrasyonlara bağlı olarak mitotik indekste azalma ve sitotoksik etki tespit edildi. Ayrıca artan konsantrasyonlar, köprü, yapışkanlık, c-mitoz, anafaz lagging, vragrant kromozom, binükleat hücre ve kutup kusuru (multipolar ve diagonal anafaz) gibi kromozom anomalilerini indükleyerek genotoksik etkilere neden oldu. Sonuçlara göre 50 ve 100 uM'lık konsantrasyonlar EC50'dir (p<0.05). Sonuç olarak, bu çalışmada, potansiyel olarak tıp ve eczacılıkta kullanılan salisilik asit türevinin, canlı yapılarda genotoksik ve sitotoksik etkilere neden olabileceği vurgulanmaktadır.

2021, 42 SAYFA

**ANAHTAR KELİMELER:** Salisilik Asit, *Allium*, Mitotik İndeks, Kromozom Kusuru

## **ABSTRACT**

### **MASTER THESIS**

#### **DETERMINING OF CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF SALICYLIC ACID DERIVATIVES IN *ALLIUM CEPA* ROOT TIP CELLS**

**SELİN CAN**

**YOZGAT BOZOK UNIVERSITY  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES**

**BIOLOGY DEPARTMENT**

**SUPERVISOR: PROF. DR. HALİL ERHAN EROĞLU**

Today, the continuous production of chemicals and their release to the environment increase the importance of determining the possible cytotoxic and genotoxic effects of these substances. Salicylic acid derivatives with a wide spectrum of biological activity potentials are frequently used in agriculture and many other fields, especially medicine and pharmacy. These compounds have an important cycle in the biological system due to both their widespread use and variations. In this study, possible cytotoxic and genotoxic effects of two salicylic acid derivatives (SA-1 and SA-2) were investigated at five different concentrations (6.25, 12.5, 25, 50, and 100  $\mu\text{M}$ ) using the *Allium* test system. In *A. cepa* cells, a decrease in mitotic index and cytotoxic effect were detected due to increasing concentrations. In addition, increased concentrations induced genotoxic effects by inducing chromosomal abnormalities such as bridging, stickiness, c-mitosis, anaphase lagging, vagrant chromosome, binucleate cell and polar defect (multipolar and diagonal anaphase). According to the results, concentrations of 50 and 100  $\mu\text{M}$  are EC50 ( $p < 0.05$ ). In conclusion, in this study, it is emphasized that salicylic acid derivative, which is potentially used in medicine and pharmacy, may cause genotoxic and cytotoxic effects in living structures.

2021, 42 PAGE

**KEYWORDS:** Salicylic Acid, *Allium*, Mitotic Index, Chromosome Aberration

## TEŞEKKÜR

Tez alıőması ve yazımı boyunca yardımlarını esirgemeyip hep yanımda olan baőtta Prof. Dr. Halil Erhan EROĐLU'na, bu sůrete maddi manevi desteğini her zaman hissettiğim annem Selma CAN'a, her Őekilde yanımda olan arkadaőlarımı Reyhan ERASLAN, Beyza ÖZDEMİR, Bůőra SAYGIN, Nisa GŐMŐŐ, Emre YAĐCI ve Mustafa RŐNVEREN'e içtenlikle teőekkőr ederim.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
SA-1	: Salisilik Asit Türevi 1
SA-2	: Salisilik Asit Türevi 2
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
FISH	: Floresan In Situ Hibridizasyon
HCl	: Hidroklorik Asit
KA	: Kromozom Aberrasyonu
MI	: Mitotik İndeks
MN	: Mikronükleus
NOR	: Nükleolar Organize Edici Bölgeler
SCE	: Kardeş Kromatid Değişimi
$2n$	: Diploid Kromozom Sayısı

## RESİMLER LİSTESİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Resim 3.1.</b> <i>Allium cepa</i> kök uçlarının SA türevleri içerisinde bekletilmesi.....	10
<b>Resim 3.2.</b> <i>Allium cepa</i> kök uçlarının alkol içerisinde saklanması.....	11
<b>Resim 3.3.</b> <i>Allium cepa</i> kök uçlarını boyama işlemi.....	12
<b>Resim 3.4.</b> <i>Allium cepa</i> kök uçlarının preparat işlemi.....	14
<b>Resim 3.5.</b> <i>Allium cepa</i> kök uçlarının mikroskopta incelenmesi.....	14
<b>Resim 4.1.</b> Mitoz bölünme aşamaları. A-Profaz, B-Metafaz, C-Anafaz, D-Telofaz.....	16
<b>Resim 4.2.</b> Mitoz bölünme aşamaları. A-Profaz, B-Metafaz, C-Anafaz, D-Telofaz.....	18
<b>Resim 4.3.</b> Kromozomal kusurlar. A-Köprü, B-Anafazda geri kalma.....	24
<b>Resim 4.4.</b> Kromozomal kusurlar. Yapışkanlık.....	24
<b>Resim 4.5.</b> Kromozomal kusurlar. C-Mitoz.....	25
<b>Resim 4.6.</b> Kromozomal kusurlar. Vagrant kromozom.....	25
<b>Resim 4.7.</b> Kromozomal kusurlar. A-Binükleat hücre, B-Kromozom kaybı.....	26
<b>Resim 4.8.</b> Kromozomal kusurlar. Kutup kusuru.....	26

## TABLÖLAR LİSTESİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Tablo 4.1.</b> <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde SA-1 mitotik indeks sonuçları.....	17
<b>Tablo 4.2.</b> <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde SA-2 mitotik indeks sonuçları.....	19
<b>Tablo 4.3.</b> <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde SA-1 kromozom anomali verileri.....	21
<b>Tablo 4.4.</b> <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerinde SA-2 kromozom anomali verileri.....	23



## ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.2.1. SA açık formülü.....	7
Şekil 2.2.2. Bitkilerde salisilik asit biyosentezinin metabolik yolu .....	8
Şekil 3.1.1. Salisilik asit türevlerinin molekül yapıları.....	8
Şekil 4.1. <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde SA-1 mitotik indeks ortalamaları.....	18
Şekil 4.2. <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde SA-2 mitotik indeks ortalamaları.....	20
Şekil 4.3. <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde SA-1 kromozom anomali veri ortalamaları.....	22
Şekil 4.4. <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde SA-2 kromozom anomali veri ortalamaları.....	22

# 1. GİRİŞ

Tehlikeli kimyasalların çevreye artan şekilde boşaltılması, doğal ekosistemlerin dengesini etkilemiş ve sonuç olarak çeşitli araştırmacıların ve devlet kurumlarının dikkatini canlı organizmaların sağlığına çekmiştir.

Kimyasal ajanların maruz kalan organizmalara verdiği zararlar arasında, genotoksik ve mutajenik etkilerin, genetik hasara yol açma kapasitesi nedeniyle endişe verici olduğu gösterilmiştir, bu da çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilir ve gelecek nesilleri de etkileyebilir, çünkü bu değişiklikler kalıtsal olabilir (Ribeiro, 2003). Bu nedenle, çevresel kaliteyi sağlamak için DNA ile reaksiyona giren bileşiklerin tanımlanması gerekliliği, geniş bir organizma yelpazesinde çeşitli genotoksikite ve mutajenite deneylerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Houk, 1992).

Test sistemleri biyolojik özelliklere göre gruplara ayrılmıştır. Kullanılan sistem ve bunların genetik uç noktaları tespit edilmiştir. Prokaryotlarla yapılan biyoanalizler, gen mutasyonunu ve birincil DNA hasarlarını indükleyen ajanların tespitini sağlar. Öte yandan ökaryotlarla yapılan analizler, gen mutasyonlarından kromozom hasarlarına ve anöploidilere kadar değişen daha büyük bir hasar kapsamının tespit edilmesini sağlar (Houk, 1992).

Çevresel kirleticileri değerlendirmek için izleme çalışmalarında sıklıkla kullanılan yüksek bitkiler, onları mükemmel genetik modeller yapan özelliklere sahiptir. Bununla birlikte, bu özellik yalnızca farklı ortamlarda mutajenleri tespit etme duyarlılığından değil, aynı zamanda birkaç genetik son noktayı değerlendirme olasılığından da kaynaklanmaktadır. Genetik uç noktalar; yapraklar, kökler ve polen gibi farklı organ ve dokulardaki nokta mutasyonlarından kromozom sapmalarına kadar uzanır (Grant, 1994).

Günümüzde, çevresel kontaminasyonu değerlendirmek için en sık kullanılan yüksek bitkiler; *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Zea mays*, *Tradescantia*, *Nicotiana tabacum*, *Crepis capillaris* ve *Hordeum vulgare* şeklinde sıralanabilir (Grant, 1994). Bu türler arasında *A. cepa*, büyük ve az sayıda ( $2n = 16$ ) kromozomlara sahip olması gibi önemli avantajlara sahiptir. Ayrıca, bu test sistemi çevresel kimyasalların tespitinde yüksek hassasiyet göstermektedir (Fiskesjö, 1985). *A. cepa*'nın bir test sistemi olarak kullanılması; kolşisin kullanımına bağlı olarak mitotik iğdeki bozuklukları gösterilmesi ile Levan (1938) tarafından önerilmiştir (Levan, 1938).

Genotoksik ve sitotoksik potansiyeli tespit etmek için bir yaygın olarak *A. cepa* testinin kullanılmasına dayalı olarak, bu çalışma salisilik asit türevinin sitotoksik ve genotoksik etkisinin değerlendirilmesindeki etkinliği hakkında bir inceleme sunmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Allium* Test Sistemi

*A. cepa*'nın bir test sistemi olarak kullanılması; kolşisin kullanımına bağlı olarak mitotik iğdeki bozuklukları gösterilmesi ile Levan (1938) tarafından önerilmiştir (Levan, 1938). Daha sonra yine Levan (1945) tarafından, farklı organik tuz çözeltilerinin, *A. cepa* meristematik kök hücrelerinde çeşitli kromozomal anomalileri indüklediği gösterilmiştir (Levan, 1945). O zamandan beri, *A. cepa* testinde kimyasalların daha kapsamlı bir değerlendirmesini mümkün kılmak için birçok modifikasyonlar yapılmıştır (Fiskesjö, 1985; Grant, 1982; Rank, 2003).

*A. cepa* testinde ilk modifikasyon, onu çevresel izleme için bir test organizması yapmak amacıyla Fiskesjö (1985) tarafından yapılmıştır. Bu amaç için yazar, hem suda çözünür hem de çözünmez bileşiklerin değerlendirilmesine ve karmaşık karışımların etkilerinin değerlendirilmesine izin veren modifikasyonlar önermiştir. Daha sonra Rank ve Nielsen (1993), test için yeni modifikasyonlar önerdi ve bu da karmaşık karışımları analiz etmeyi daha da verimli hale getirdi. Bununla birlikte, yazarlar tarafından önerilen tüm değişiklikler, potansiyel olarak genotoksik ajanları tespit eden kromozomal kusurların değerlendirilmesi ile ilgiliydi. Ma ve ark., (1995), çevresel kirleticilere maruz kalan *A. cepa* kök hücrelerinde mikronükleus (MN) indüksiyonunun gözlemlenmesinden kaynaklanan mutajenik etkileri değerlendirmek için test modifikasyonları önerdi.

Hücre döngüsü sırasında hem fragmanlar hem de tüm kromozomlar ana çekirdeğe dahil edilemediğinden; fragmanlar ve kromozom kayıpları gibi kromozomal kusurların mikronükleer hücrelere neden olabileceği bilinmektedir (Fenech, 2002). Bu nedenle değerlendirilebilir tüm parametreler arasında, MN sitolojik hasarların en etkili ve en basit göstergesidir, bu da çevresel kontaminasyonu değerlendirmek için bu parametrenin analizini daha verimli hale getirir (Ma ve ark.,1995) Yine de Rank ve Nielsen (1997) yukarıdaki yazarlardan farklı bir görüş sunmuşlardır, çünkü onlar için kromozomal kusurların bir son nokta olarak değerlendirilmesi sadece genotoksik etkileri tespit etmek için değil, aynı zamanda test edilen ajanların etki mekanizmalarını değerlendirmek için de geçerlidir. Bu nedenle, kromozom aberrasyon (KA) analizi, test edilen ajanların genotoksik etkilerini tahmin etmenin yanı sıra, bunların klastojenik ve anöjenik etkilerinin de değerlendirilmesini sağlar.

Her iki analiz de (meristematik hücrelerde KA ve MN ve *A. cepa* F1 hücrelerinde MN), DNA üzerindeki doğrudan etkiyi belirleyen en önemli göstergeler olarak kabul edilmiştir. Leme ve Marin-Morales (2008), *A. cepa* meristematik hücrelerindeki MN ile birlikte CA analizi, bu türdeki F1 hücrelerinde MN analizi kadar güvenilir olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, *A. cepa*'daki CA analizinin daha avantajlı olduğu görülmüştür, çünkü birçok yazar, DNA üzerindeki test edilen ajanların etki mekanizmalarını araştırmak için bunun etkinliğini göstermiştir, bu da bu tür ajanların teşvik ettiği etkilerin daha iyi anlaşılmasını sağlar (Matsumoto ve ark., 2006; Fernandes ve ark., 2007).

*Allium cepa* testi farklı genetik parametrelerin değerlendirilmesini sağlar. Aşağıda, bu test sistemi tarafından analiz edilmesi muhtemel parametreler verilmiştir.

### **2.1.1. Mitotik İndeks (MI)**

Hücre döngüsündeki bölünen hücrelerin toplam sayısı ile karakterize edilen mitotik indeks (MI), çeşitli ajanların sitotoksitesini değerlendirmek için bir parametre olarak kullanılmıştır. Bir ajanın sitotoksitesini seviyeleri, MI oranlarındaki artış veya azalma ile belirlenebilir (Fernandes ve ark., 2007). Hoshina (2002), negatif kontrolden önemli ölçüde düşük MI oranlarının, maruz kalan organizmaların büyümesi ve gelişmesindeki kimyasal etkiden kaynaklanan değişiklikleri gösterdiğini belirtmiştir. Öte yandan, negatif kontrolden daha yüksek MI oranları, hücre bölünmesindeki bir artışın sonucudur. Bu artış hücrelere zararlı olabilir, bu da bozuk hücre çoğalmasına ve hatta tümör dokularının oluşumuna yol açabilir.

Bununla birlikte, MI'deki azalma ve artış, özellikle toksik ve sitotoksik potansiyel sunan kirletici maddelerin değerlendirilmesi için çevre kirliliğinin izlenmesinde önemli göstergelerdir (Hoshina,2002). *A. cepa* meristematik hücrelerinde MI oranlarının azalmasının, çevrede sitotoksik ajanların varlığını belirlemede güvenilir bir yöntem olarak kabul edilebileceği ve bu nedenle kirlilik seviyelerini tahmin etmek için hassas bir test olarak düşünülebileceği gösterilmiştir (Smaka-Kincl ve ark., 1996). Birçok çalışmada sitotoksitesiyi saptamak için MI değerlendirmesi kullanılmış ve çoğu önerilen analizlere tatmin edici sonuçlar vermiştir (Leme ve ark., 2008; Fernandes ve ark., 2007; Smaka-Kincl ve ark., 1996; Seth ve ark., 2008).

### **2.1.2. Mikronükleus (MN)**

MN, birçok yazar tarafından, kimyasallar tarafından indüklenen mutajenik etkiyi analiz etmek için en etkili ve en basit parametre olarak kabul edilmiştir. Bunun nedeni,

MN'nin ebeveyn hücrelerde zarar görmemesi veya onarılmaması, ana çekirdeğe benzer bir yapı olarak ancak küçültülmüş boyutta yavru hücrelerde kolayca gözlemlenmesidir (Ribeiro, 2003). Böylece MN, kromozom kırılmaları ve kayıpları gibi bazı KA'nın gelişiminden kaynaklanır. Dahası MN, poliploidizasyon gibi farklı süreçlerden de türemiş olabilir. Poliploidizasyon, ploidin normal koşullarını eski haline getirme girişiminde ana çekirdeğin DNA'sının aşılmasının ortadan kaldırılmasından kaynaklanır (Fernandes ve ark., 2007).

*A. cepa* testinde MN değerlendirmesi bu türün hem meristematik hem de F1 kök hücrelerinde yapılabilir. Meristematik hücrelerde MN analizi, genellikle yapılması daha uzun süren KA ile gerçekleştirilir. Bununla birlikte, her iki analizin de çevresel mutajenleri tespit etmek için hassas olduğu gösterilmiştir (Leme ve ark., 2008). MN analizi, mutajenik etkilerin değerlendirilmesinin yanı sıra, kimyasal ajanların etki mekanizmalarının da araştırılmasını sağlar. Leme ve ark. (2008) göre, MN boyutu *A. cepa*'daki klastojenik ve anöjenik etkileri değerlendirmek için etkili bir parametre olabilir, çünkü bu türler büyük ve az sayıda kromozomla ( $2n = 16$ ) kromozomal boyutla ilişkili olarak homojen bir simetrik karyotip sunar. Bu nedenle, büyük MN, bir kromozom kaybından kaynaklanan anöjenik bir etkiyi gösterirken, küçük MN, kromozom kırılmasından kaynaklanan bir klastojenik etkiyi gösterir. Bununla birlikte, analizi daha güvenilir ve doğru hale getirmek için kromozomal bantlama (C-bantlama ve NOR) ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) gibi diğer sitogenetik teknikler uygulanmalıdır.

### **2.1.3. Kromozom Aberrasyonları (KA)**

KA, hem kendiliğinden hem de fiziksel veya kimyasal ajanlara maruz kalmanın bir sonucu olarak ortaya çıkabilen, kromozomal yapıdaki veya toplam kromozom sayısındaki değişikliklerle karakterizedir (Russel, 2002). Yapısal kromozomal değişiklikler, DNA kırılmaları, DNA sentezinin engellenmesi ve değiştirilmiş DNA'nın kopyalanması gibi birkaç faktör tarafından tetiklenebilir. Anöploidi ve poliploidi gibi sayısal KA, kendiliğinden veya anöjenik ajanların etkisiyle meydana gelebilen anormal kromozom segregasyonunun sonucudur (Albertini ve ark., 2000).

*A. cepa* testi ile kromozom anormalliklerini değerlendirmek için, hücre bölünmesinin farklı aşamalarında (profaz, metafaz, anafaz ve telofaz) KA'in farklı tipleri değerlendirilir. Bununla birlikte, hücre bölünmesi aşamaları ve bunların olası anormallikleri hakkında doğru bir bilgi gerektirdiğinden, bu analizin gerçekleştirilmesi kolay değildir. Bu sorunlu konu

nedeniyle Rank ve Nielsen (1993), sitoloji alanında çalışmayan bilim adamları için CA analizini kolaylaştırmak için *A. cepa* testini modifiye etmişlerdir. Bu nedenle, bu yazarlar anormalliklerin analizini yalnızca anafaz ve telofazda önermişlerdir. Daha sonra, Rank (2003), anafazlarda ve telofazlarda KA analizine dayalı olarak *Allium* testini açıklayan başka bir çalışma yayınlamıştır.

Bununla birlikte, ilk başta Fiskesjö (1985) tarafından önerilen hücre döngüsünün tüm aşamalarında farklı KA türlerinin analizi, test edilen ajanların eylemlerinin daha iyi araştırılmasını teşvik ettiği için daha kapsamlı ve doğru bir değerlendirme sağlar. Ayrıca test organizmasının DNA'sı üzerindeki klastojenik ve/veya anöjenik etkileri ve hatta olası gelişimleri üzerinde de kapsamlı ve doğru bir değerlendirme sağlar (Leme ve ark., 2008; Fernandes ve ark., 2007; Bolle ve ark., 2004; Kuras ve ark., 2006). Basit bir şekilde, kromozom köprüleri ve kırılmaları gibi KA, klastojenik bir etkinin göstergeleridir, oysa kromozom kayıpları, gecikmeler, yapışma, çok kutupluluk ve C-metafazları anöjenik etkilerden kaynaklanır.

#### **2.1.4. *Allium* Testinin Avantajları ve Diğer Testlerle Karşılaştırılması**

*Allium* testi, düşük maliyetli ve kolay kullanımlı bir test olmasından dolayı, çevresel izlemede kullanılan diğer kısa vadeli testlere göre bazı avantajlar sunmaktadır (Rank, 2003; Rank ve Nielsen, 1993; Rank ve Nielsen, 1994; Fatima ve Ahmad, 2006). *Allium* testinin avantajlarından biri, test örneğinin ön muamele edilmesine gerek kalmadan, doğrudan kompleks karışımlara test organizmasının maruz kalmasını mümkün kılmasıdır. Test numunesinin ön muamelesine Ames testi gibi bazı biyoanalizleri gerçekleştirmek için gerekli olan numunelerin ekstraksiyon ve konsantrasyon işlemleri örnek olarak verilebilir (Rank, 2003; Rank ve Nielsen, 1993).

Bu test sisteminin diğer bir avantajı da, promotagen değerlendirmeleri için gerekli olan bir oksidaz enzim sisteminin varlığıdır (Fiskesjö, 1985). Bu nedenle, diğer testler bazı karışımların eklenmesini gerektirir. *A. cepa* promotajenleri, bu kontaminant sınıfını değerlendirmek için eksojen metabolik sistem eklenmeksizin mutajenlerin aktive edilmesinde metabolik kapasite sunar (Fatima ve Ahmad, 2006).

#### **2.1.5. *Allium* Testi ile Yapılan Çalışmalar**

*Allium* testi, çevremizdeki birçok kimyasalın toksik potansiyelini tespit etmek için kullanılmış ve elde edilen sonuçlar oldukça güvenilir bulunmuştur.

Fiskesjö (1981) bakır, lityum, civa, kadmiyum, nikel, alüminyum, berilyum, mangan gibi farklı metal iyonları ile yaptığı çalışmada bunlardan bazılarının KA'yı indüklediğini gösterdi. Bu anomalilere bir örnek olarak nikel atipik bir c-mitoza neden olmuştur ve en çok gözlenen anormallikler de c-mitoz ile yapışkan kromozom durumudur. Sulu çözelti içinde hazırlanan %10, %75 ve %100 konsantrasyonlarda bakır madeni atıklarının sitogenetik etkilerini değerlendirmek için *A. cepa* kök hücrelerinde KA testi kullanılmış ve %100 konsantrasyonun en yüksek sitotoksitesiyi (kromozom kırılmaları, geri kalma, köprü ve yapışkanlık) sunması nedeniyle MI inhibisyonu ile doza bağımlı bir ilişki gösterilmiştir (İnceer ve ark., 2000). Ağır metallerin genotoksik etkilerini değerlendirildiği çalışmalarda, *A. cepa* köklerinin F1 hücrelerinde KA ve MN testi için  $Cd^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  iyonları pozitif sonuçlar vermiştir (Borboa ve La Torre, 1996; Steinkellner ve ark., 1998).

Yi ve ark. (2007) arseniğin genotoksitesisini değerlendirdikleri çalışmada, *A. cepa* bitkisinin hem meristematik hem de F1 hücrelerindeki MN için bu metal için pozitif sonuçlar rapor etmişlerdir. Bir üre herbisiti olan diuronun zararlı etkilerini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada, bu ürünün farklı konsantrasyonlarına maruz kalan *A. cepa* meristematik hücrelerde sitotoksik ve genotoksik etkiler bildirilmiştir. Yazarlar ayrıca diuronun mikrotübüllerin tübülün alt birimlerinin polimerizasyonunu engelleyerek mitotik değişikliklere neden olduğunu da göstermişlerdir (Chauhan ve ark., 1998). Chauhan ve ark. (1999) iki piretroid insektisit, sipermetrin ve fenvaleratın ticari formülasyonlarının sitogenetik etkilerini değerlendirmek için *A. cepa* testini uygulamışlar ve her iki insektisit de MI inhibisyonunu ve KA'nın indüklenmesini ve iki çekirdekli ve mikro çekirdekli hücreler gibi diğer anormallikleri önemli ölçüde ve doza bağlı bir şekilde desteklediğini göstermişlerdir.

Bolle ve ark., (2004), *A. cepa* testi ile atrazin herbisitinin genotoksitesisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada pozitif KA sonuçları ve MI inhibisyonu göstermişlerdir. Ek olarak, bu çalışma, önemli bir kromozom kırılma sıklığının varlığı nedeniyle atrazini klastojenik bir ajan olarak nitelendirmiştir. Üre herbisitlerin (izoproturon veya diuron) sentetik bir piretroid insektisit (deltametrin) ile karışımlarının sitogenetik etkilerini değerlendirildiği bir çalışmada, *A. cepa* meristematik hücrelerinde KA testi uygulanmış ve test edilen karışımların bazı konsantrasyonlarında önemli kromozom kırılma indüksiyonu ve mitotik sapmalar gözlenmiştir (Chauhan ve Gupta, 2005). Srivastava ve Mishra (2009), atrazin ticari formülasyonuna maruz bırakılan *A. cepa* meristematik hücrelerinde anlamlı ve doza bağlı bir şekilde MI inhibisyonu ve KA ve MN indüksiyonu

bildirmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, atrazin bitkilerde genotoksik etkilere neden olabileceğini göstermiş ve *A. cepa* test sisteminin bu değerlendirme için uygun olduğunu göstermiştir.

Rank ve Nielsen (1994), endüstriyel atık sularındaki kirleticileri saptamak için *A. cepa* testinin duyarlılığını değerlendiren bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda benzene maruz kalan *A. cepa* kökleri için pozitif KA sonuçları göstermişlerdir. Odeigah ve ark., (1997), Nijerya petrol sahası atıklarının genotoksik etkisini değerlendirmek için *A. cepa* test sisteminde KA testini uygulamışlar ve örneğin birkaç dilüsyonunu gerçekleştirdikten sonra bile, analiz edilen atık suyun *A. cepa* meristematik kök hücrelerinde KA'yı indükleyebildiğini göstermişlerdir. Sudhakar ve ark., (2001) ipek boyama endüstrisi atıklarının genotoksik potansiyelini değerlendirmek için *A. cepa*'da KA testini uygulamışlar ve ipek boyama endüstrisi atıklarının mutajenik bir potansiyel sunduğunu göstererek, test edilen atık suya maruz kalan köklerde MI inhibisyonu ve çeşitli mitotik anormalliklerin indüklendiğini bildirmişlerdir. *A. cepa* testi ile tekstil endüstrisinin ham atıklarının genotoksitesini çalışmasında, atık suyun farklı konsantrasyonlarının KA seviyelerinin indüklenmesini sağladığı gözlemlenmiş ve çalışma sonuçları, test edilen endüstriyel atık suyun siyah boyasında bulunan bazı azo boyaların ve aromatik aminlerin varlığıyla ilişkilendirilmiştir (Carita' ve Marin-Morales, 2008).

El-Shahaby ve ark., (2003), Mısır'ın Sandub bölgesinde toplanan endüstriyel atıkların genotoksitesini değerlendirmek için *A. cepa*'da KA ve MN testini uygulamışlardır. Toplanan tüm su numuneleri için yüksek genotoksitesite rapor edilmiş ve bu durumun numunelerde kimyasal analiz ile tespit edilen bazı ağır metallerin (Pb, Zn, Co, Cd ve Cu) varlığına bağlı olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca yazarlar, atık sudaki mutajenleri tespit etme duyarlılığı nedeniyle *A. cepa*'daki KA ve MN testlerinin su kirliliği biyolojik izlemesi için önerildiği sonucuna varmışlardır. Grover ve Kaur (1999), atık su ve endüstriyel atık su numunelerinin genotoksitesinin değerlendirilmesinde, *A. cepa* meristematik kök hücrelerinde MN indüksiyonu ve anormal anafazların pozitif sonuçlarını bildirmişlerdir. Smaka-Kincl ve ark., (1996) endüstriyel ve kentsel bir bölgenin atık sularının, yüzey sularının ve yeraltı sularının genotoksik potansiyelini değerlendirmek için yaptıkları bir çalışmada *A. cepa* testinin su kalitesini değerlendirmek için hassas bir test olduğunu göstermişlerdir.

Rank ve Nielsen (1998), kentsel ve endüstriyel kanalizasyondan etkilenen belediye arıtma istasyonlarından gelen çamurda bulunan kirleticilerin genotoksitesini saptamak için

*A. cepa* testinin düşük duyarlılığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Carita' (2007) güneydoğu Brezilya'da bulunan farklı kentsel kanalizasyon arıtma istasyonlarından gelen çamuru incelediğinde, çamurun genotoksik ve mutajenik potansiyellerini değerlendirmek için *A. cepa* testinin bir duyarlılığını rapor etmiştir. Bunlar arasındaki farklı tepkilerin, test numunelerinin hazırlanmasıyla ilgili olabileceği belirtilmiştir. Örneğin, kullanılan prosedüre bağlı olarak, bazı kimyasalların kaybolabileceği veya ham maddede tutulabileceği gibi (Leme ve Marin Morales, 2008).

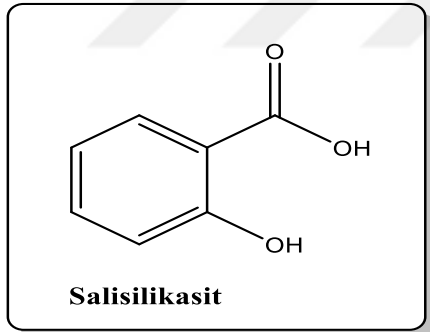
Tkalec ve ark., (2009), radyofrekans elektromanyetik alanların (RF-EMF) maruz kalma etkilerini değerlendirmek için *A. cepa* meristematik hücrelerinde KA testi uygulamışlar ve belirli koşullar altında radyofrekans radyasyonuna maruz kalmanın, *A. cepa* kök uçlarında MI ve mitotik anormalliklerde önemli bir artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, gözlemlenen etkilerin, alan gücü, modülasyon ve maruz kalma süresi gibi diğer parametrelerin yanı sıra kullanılan alan frekansları ile açıkça ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bunun dışında, RF-EMF'nin sitogenetik etkilerinin, tespit edilen başlıca anormallikler gecikmeli kromozomlar, vagrant kromozomlar, bozulmuş anafazlar ve kromozom yapışkanlığı olduğundan, mitotik iğ bozukluğu nedeniyle olabileceğini göstermişlerdir.

Chakraborty ve ark., (2009), Hindistan'ın bir bölgesinde bulunan bir termoelektrik santralden elde edilen uçucu kömür külünün genotoksitesini değerlendirmek için *A. cepa* test sistemini kullanmışlar ve çalışmada %5, %10, %25, %50, %75 ve %100 test konsantrasyonlarını elde etmek için uçucu kül numunesini ticari kumla farklı oranlarda karıştırmışlardır. %100 konsantrasyon için sitotoksik etkiler rapor edilmiş ve %10, %25 ve %100 konsantrasyonlarda iki çekirdekli hücrelerin önemli değerlerinin indüksiyonu gözlemlenmiştir. Uçucu kül örneğinde kimyasal analiz ile ağır metaller çinko, kurşun, bakır, nikel, kadmiyum ve arsenik tespit edilmiştir ve yazarlara göre bunlar gözlenen etkilerle ilişkili olabilir. Souza ve ark., (2009), bir petrol rafinerisinin arazi çiftliğinin laboratuvar koşulları altında bir hidrokarbon biyobozunma testinin verimliliğini değerlendirmek için *A. cepa* testini uygulamışlar ve ham arazi numunesinin, muhtemelen petrol hidrokarbonları ve baryum, krom, nikel, kuşun gibi ağır metallerin varlığından dolayı *A. cepa* köklerinin meristematik hücrelerinde güçlü klastojenik ve mutajenik etkilere neden olduğunu göstermişlerdir.

## 2.2. Salisilik Asit ve türevleri

Amerikalı yerli insanlar ve eski Yunanlı insanların, söğüt ağacındaki yaprak ve kabukların ağrılara iyi geldiğini ateş düşürücü olarak kullanıldığını bilmekteydiler (Hayat ve Ahmad, 2007). Söğüt anlamına gelen Latince Salix sözcüğünden adını alan salisilik asit adı 1838`de ilk olarak Raffaele Piria tarafından kullanılmıştır (Raskin, 1995). Salisin ile salisilik alkol glikozid formunda ilk kez 1828`de söğüt kabuğundan izole edilmiştir (Hayat ve Ahmad, 2007). Sentetik ve asetil salisilik asit ilk kez ticari amaçlı 1874`te Almanya`da Bayer şirketi tarafından üretilmiştir. Asetil salisilik asidin ticari ismi olan aspirin ilk kez 1898`de üretilip günümüzde hala birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Raskin, 1995). Bir hidroksil grubu veya fonksiyonel türevini taşıyan aromatik halka içeren bitki fenoliklerinin bir grubudur.

Bitkilerde salisilik asidin diğer birçok fenolik birleşikler gibi; bitki büyümesinde, bitki gelişiminde ve diğer organizmalarla etkileşiminde önemli rol oynamaktadır (Harborne, 1980). Salisilik asit (SA) yüksek bitkiler ve bazı mikroorganizmalarda bulunan sekonder bir metabolit olup (White, 1979); kimyasal formülü  $C_7H_6O_3$  olan salisilik asit bileşiğinin kristal yapıda açık formülü Şekil 2.1`deki gibidir (Raskin, 1995).

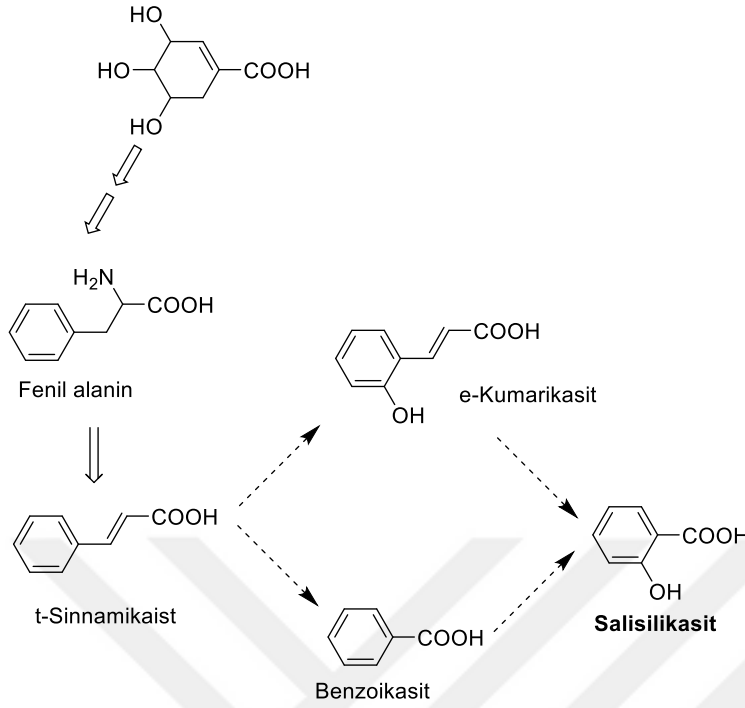


### Şekil 2.2.1. SA açık formülü

Bitkilerde salisilik asit (SA) oluşumu ile ilgili iki metabolik yolun bulunduğu ileri sürülmektedir (Davies, 1995).

Bu yolların; salisilik asidin  $\beta$ -oksidasyon ve ortohidroksilasyon reaksiyonlarının oluşum sıralarındaki birbirlerinden farklılıkları ile ortaya çıkmıştır (Yalpani ve ark., 1991).

Sağlıklı bitkilerde salisilik asidin (SA) yaygın olan biyosentez yolu; Sinamik asit - Benzoik asit – salisilik asit şeklinde gerçekleşmektedir (Dursun, 2012).



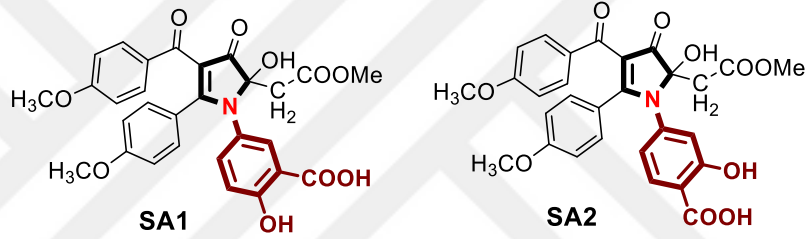
**Şekil 2.2.2. Bitkilerde salisilik asit biyosentezinin metabolik yolu (Dursun, 2012)**

Salisilik asidin (SA) kimyasal adı fenol-2-karboksilik asit veya 2-hidroksibenzoik asittir. Alkol, eter, su, aseton ve benzende daha çok çözünür, kloroformda çözünürlüğü daha azdır. Çoğunlukla siğil, kepek, akne ve benzeri rahatsızlıklarda tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Birçok bitkide doğal olarak bulunmakta olan salisilik asit (SA) inflamasyonu azaltmasının yanında damarda sertleşmeyi ve daralmayı engelleyici özelliği ile bilinir (Anonim, 2019).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Çalışma kapsamında sitotoksik ve genotoksik etkileri belirlenecek olan salisilik asit türevlerinin (SA-1,SA-2) dizaynı ve sentezi, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet GÜMÜŞ'ün Yürütücüsü olduğu Yozgat Bozok Üniversitesi BAP Birim tarafından desteklenen 6602a-ASYO/19-341 kodlu proje kapsamında, Organik Kimya Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1.1). Diğer temel test materyali olan *Allium cepa*; bazı önemli avantajlarından dolayı test sistemi materyali olarak kullanılmaktadır. Bunlar: (i) kolay ve ucuz bir şekilde temin edilebilmesi, (ii) hızlı bir şekilde çimlenmesi ve yüksek oranda mitotik hücre elde edilebilme potansiyeli, (iii) az sayıda ( $2n = 16$ ) ve büyük kromozomlara sahip olması.



Şekil 3.1.1. Salisilik asit türevlerinin molekül yapıları

#### 3.2. Çözelti ve Boyaların Hazırlanışı

%70'lik Etil Alkol: 72,9 mL etil alkol (%96) + 100 mL saf su

1 N HCl Çözeltisi: 2,1 mL saf su + 22,9 mL HCl (%37)

%45'lik Glasiyal Asetik Asit: 45 mL glasiyal asetik asit (%100) + 55 mL saf su

Aseto-Orsein Boyası: 45 ml glasiyal asetik asit üzerine 55 ml saf su ilave edilerek karışım yavaşça kaynatılır. Karışıma 2 g orsein eklenerek 30 dk karıştırılır. Hazırlanan boya ağzı iyice kapatılmış bir şişe içerisinde karanlık bir yerde muhafaza edilir.

#### 3.3. *Allium* Test Sistemi

*Allium* test sistemi herhangi bir kimyasal maddenin soğan kök ucu hücrelerinde MI ve KA oranlarını tespit etmek için kullanılan bir test sistemidir. *Allium cepa*'da bir tam mitotik hücre döngüsü 24 saatte tamamlanmaktadır. Bu nedenle salisilik asit türevi uygulama süreleri 24, 48 ve 72 h olarak belirlenmiştir. Çimlendirme aşamasında, *A. cepa* soğanları, oda sıcaklığında yaklaşık 1 cm uzunluğa ulaşana kadar test tüplerinde

çimlendirildi (Şekil 3.1). Daha sonra farklı tüplere alınan kök uçları fiksatif çözeltisinde (etil alkol-glasial asetik asit, 3:1) tespit edildi. Son olarak kök uçları %70'lik alkol içerisinde alınarak preparasyon aşamasına kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edildi (Şekil 3.2).

Preparasyon aşaması için, kök uçları %70'lik alkolden alınarak 1N HCl çözeltisi içerisinde 60°C'de 8-10 dakika sıcak hidroliz işlemine tabi tutuldu. Sıcak hidroliz işleminden sonra kök uçları iki kez beşer dakika süreyle saf su içerisinde bekletilerek asitin etkisi seyreltildi. Boyama aşamasında, kök uçları aseto-orsein boyası ile iki saat boyandı (Şekil 3.3). Boyama sonunda kök uçlarının büyüme meristemlerinin koyu viyole renginde olan kısımları jilet ile kesilerek lam üzerine alındı ve pirinç çubuk ile ezilerek çok küçük parçalara ayrıldı. Daha sonra lamel ile kapatılarak hazır hâle getirilen preparatlara, bir kurşun kalemin arkası ile hafif hafif vurularak hücrelerin preparat içinde daha iyi dağılması ve yassılaştırılarak hücre içerisindeki tüm kromozomların aynı düzleme gelmesi sağlandı. Daha sonra preparat kurutma kâğıdı arasına alınarak preparata bir elin başparmağı ile kuvvetle bastırılarak bu şekilde ezme preparat tekniği ile preparatlar incelemeye hazır hâle getirildi (Şekil 3.4).



**Resim 3.1.** *Allium cepa* kök uçlarının SA türevleri içerisinde bekletilmesi



**Resim 3.2. *Allium cepa* kök uçlarının alkol içerisinde saklanması**



**Resim 3.3. *Allium cepa* kök uçlarını boyama işlemi**



**Resim 3.4. *Allium cepa* kök uçlarının preparat işlemi**

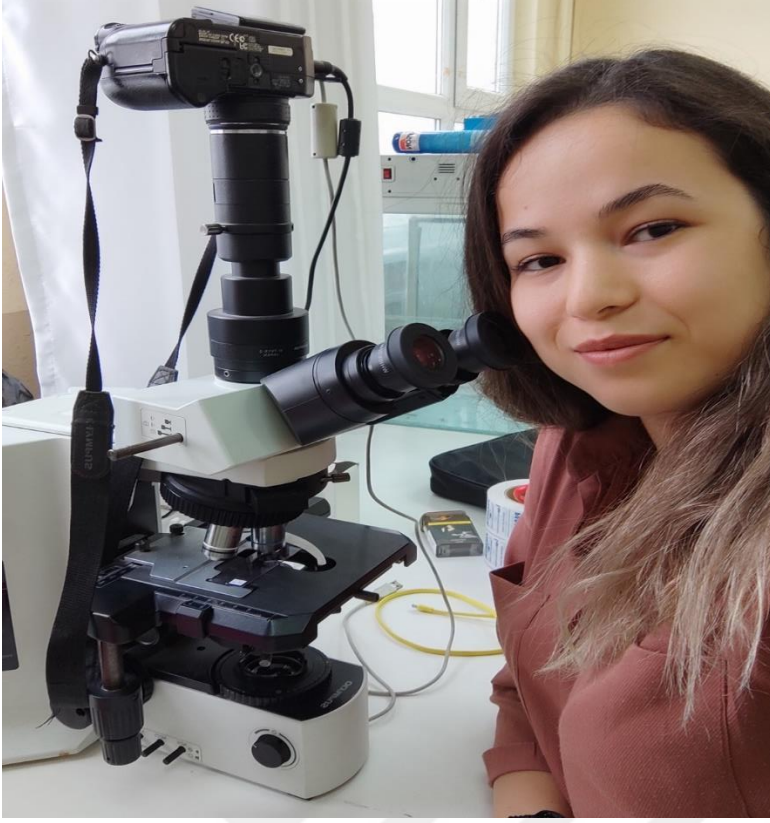
### **3.4. Mikroskopik Değerlendirme**

MI değerinin belirlenmesinde, her konsantrasyon ve kontrol grubu için toplam 3000 hücre içerisindeki mitoz bölünmeye giren hücreler sayıldı (Şekil 3.5). MI aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$MI = (\text{Mitoz bölünme geçiren hücre sayısı} / \text{Toplam hücre sayısı}) \times 100$$

Kromozomal kusurların belirlenmesinde her konsantrasyon ve kontrol grubu için toplam 1500 hücre analiz edildi. CA yüzdesi izleyen formül ile hesaplandı:

$$KA (\%) = (\text{Toplam kromozomal kusur sayısı} / \text{Toplam hücre sayısı}) \times 100$$



**Resim 3.5. *Allium cepa* kök uçlarının mikroskofta incelenmesi**

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Veriler MS-Excel yazılımında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile hesaplandı ve gruplar arası farklılıklar Tukey testi ( $p < 0.05$ ) ile belirlendi.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

*Allium* testi kapsamında soğan kök ucu hücreleri salisilik asit türevinin beş farklı konsantrasyonu (6.25, 12.5, 25, 50 ve 100  $\mu$ M) ile 24, 48 ve 72 saat zaman periyotlarında muamele edilmiştir. Daha sonra mikroskopik incelemeler, gerekli hücre sayımları ve hesaplamaları ile salisilik asit türevinin MI ve CA parametreleri üzerindeki etkileri belirlenmiştir.

### 4.1. Mitotik İndeks Bulguları

*Allium* kök ucu hücrelerine 24, 48 ve 72 saat zaman periyotlarında uygulanan SA-1 konsantrasyonları ve kontrol grubuna ait mitoz bölünme aşamaları ve MI verileri Resim 4.1, Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’de verilmiştir. *A. cepa* hücrelerinde, artan konsantrasyonlara bağlı olarak MI değerlerinde azalma ve sitotoksik etki tespit edilmiştir.

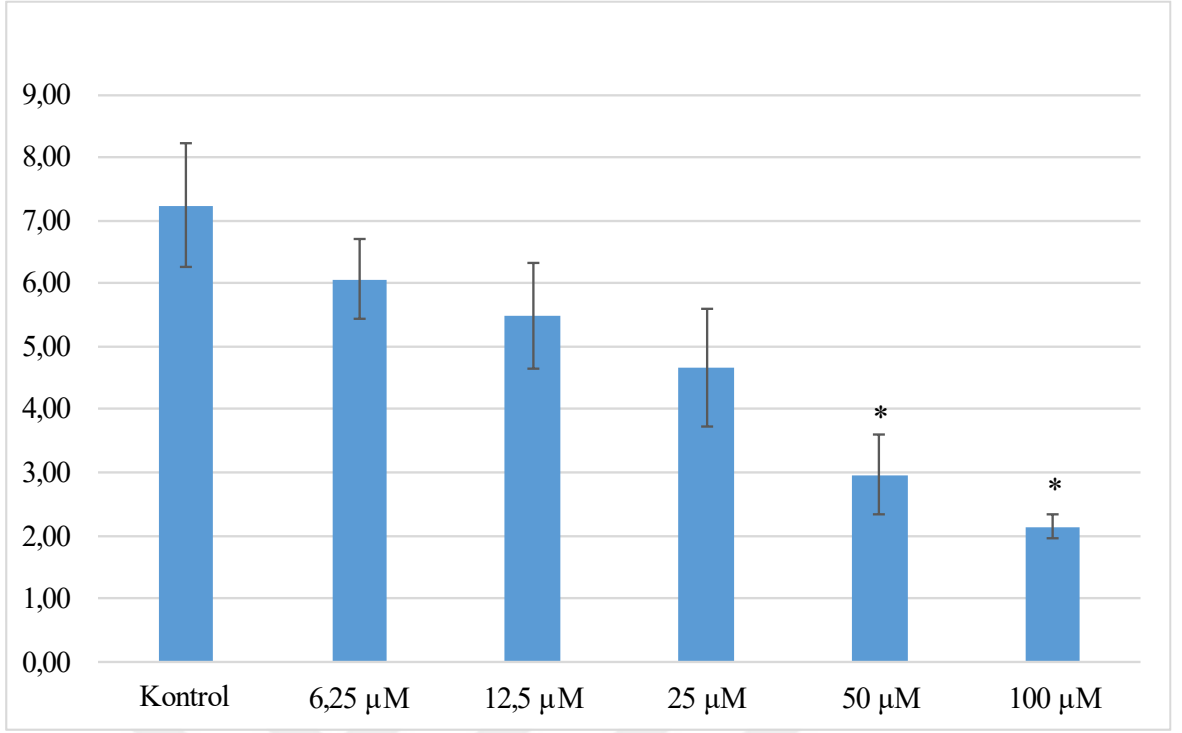


**Resim 4.1. Mitoz bölünme aşamaları. A-Profaz, B-Metafaz, C-Anafaz, D-Telofaz.**

**Tablo 4.1. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde SA-1 mitotik indeks sonuçları**

<b>Dozlar (<math>\mu\text{M}</math>)</b>	<b>Profaz</b>	<b>Metafaz</b>	<b>Anafaz</b>	<b>Telofaz</b>	<b>Toplam Hücre</b>	<b>Mitotik İndeks</b>
Kontrol	113	40	29	67	3000	8.30
6.25 (24h)	101	26	21	56	3000	6.80
12.5 (24h)	65	42	22	59	3000	6.27
25.0 (24h)	95	24	20	33	3000	5.73
50.0 (24h)	57	25	4	15	3000	3.37*
100 (24h)	39	10	3	16	3000	2.27*
Kontrol	102	72	8	10	3000	6.40
6.25 (48h)	95	58	5	11	3000	5.67
12.5 (48h)	80	53	16	21	3000	5.63
25.0 (48h)	59	52	3	14	3000	4.27
50.0 (48h)	36	52	2	8	3000	3.27*
100 (48h)	37	25	3	2	3000	2.23*
Kontrol	108	77	5	21	3000	7.03
6.25 (72h)	98	60	3	11	3000	5.73
12.5 (72h)	66	62	4	6	3000	4.60
25.0 (72h)	57	59	2	2	3000	4.00
50.0 (72h)	29	31	1	6	3000	2.23*
100 (72h)	32	20	2	4	3000	1.93*

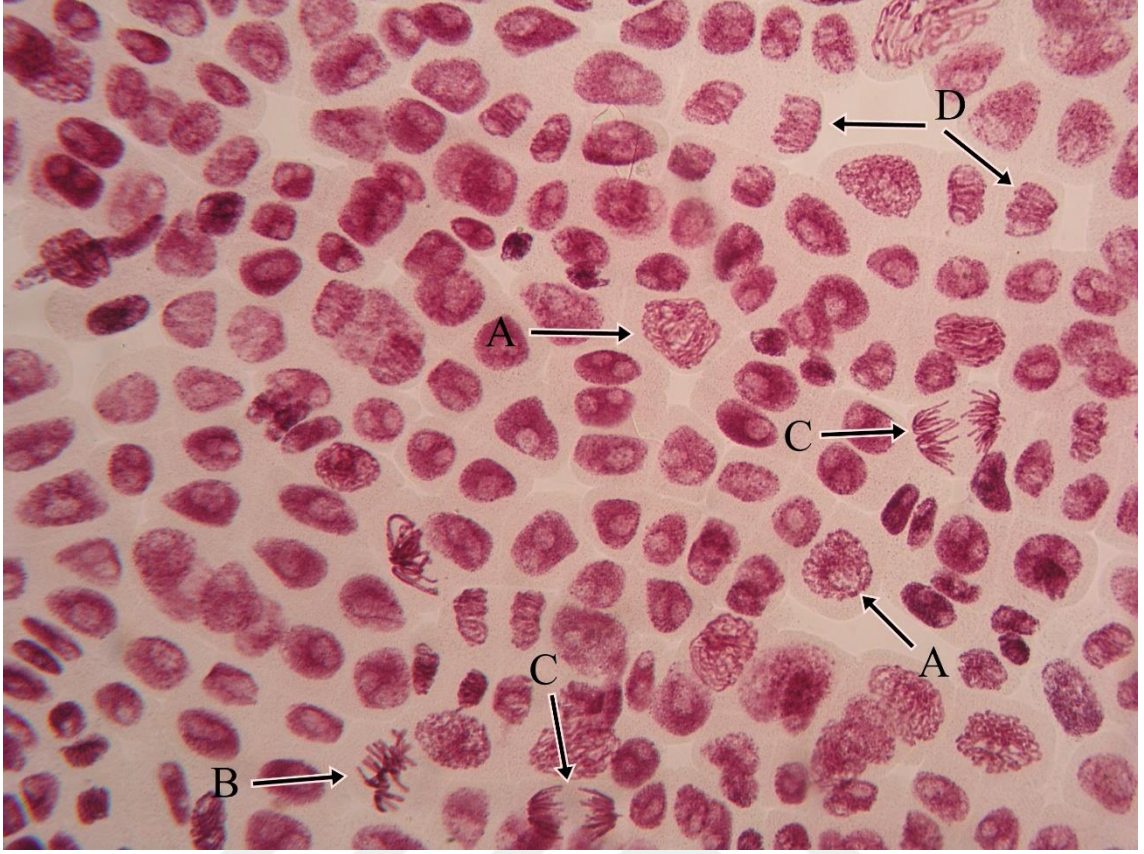
\*  $p < 0.05$



\*  $p < 0.05$

**Şekil 4.1. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde SA-1 mitotik indeks ortalamaları**

*Allium* kök ucu hücrelerine 24, 48 ve 72 saat zaman periyotlarında uygulanan SA-2 konsantrasyonları ve kontrol grubuna ait mitoz bölünme aşamaları ve MI verileri Resim 4.2, Tablo 4.2 ve Şekil 4.2’de verilmiştir. *A. cepa* hücrelerinde, artan konsantrasyonlara bağlı olarak MI değerlerinde azalma ve sitotoksik etki tespit edilmiştir.

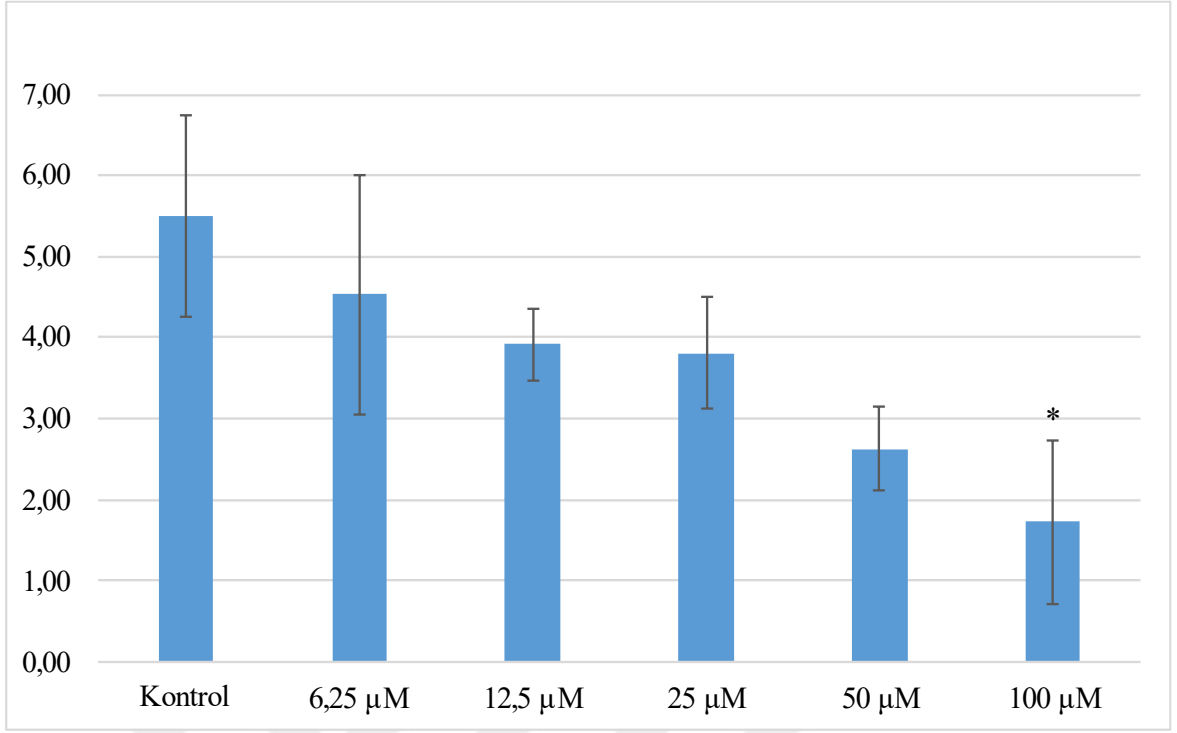


**Resim 4.2. Mitoz bölünme aşamaları. A-Profaz, B-Metafaz, C-Anafaz, D-Telofaz**

**Tablo 4.2. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde SA-2 mitotik indeks sonuçları**

<b>Dozlar (<math>\mu\text{M}</math>)</b>	<b>Profaz</b>	<b>Metafaz</b>	<b>Anafaz</b>	<b>Telofaz</b>	<b>Toplam Hücre</b>	<b>Mitotik İndeks</b>
Kontrol	114	51	16	26	3000	6.90
6.25 (24h)	94	36	29	27	3000	6.20
12.5 (24h)	75	38	13	7	3000	4.43
25.0 (24h)	74	28	21	14	3000	4.57
50.0 (24h)	54	10	9	11	3000	2.80 *
100 (24h)	47	19	6	9	3000	2.70 *
Kontrol	51	42	33	26	3000	5.07
6.25 (48h)	21	37	31	13	3000	3.40
12.5 (48h)	36	28	17	29	3000	3.67
25.0 (48h)	35	21	26	14	3000	3.20
50.0 (48h)	39	32	11	9	3000	3.03
100 (48h)	36	8	3	7	3000	1.80 *
Kontrol	72	54	4	6	3000	4.53
6.25 (72h)	67	32	15	6	3000	4.00
12.5 (72h)	55	31	18	5	3000	3.63
25.0 (72h)	51	38	15	6	3000	3.67
50.0 (72h)	29	16	11	5	3000	2.03
100 (72h)	11	7	1	1	3000	0.67 *

\*  $p < 0.05$



\*  $p < 0.05$

**Şekil 4.2. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde SA-2 mitotik indeks ortalamaları**

### 4.3. Kromozom Anomali Bulguları

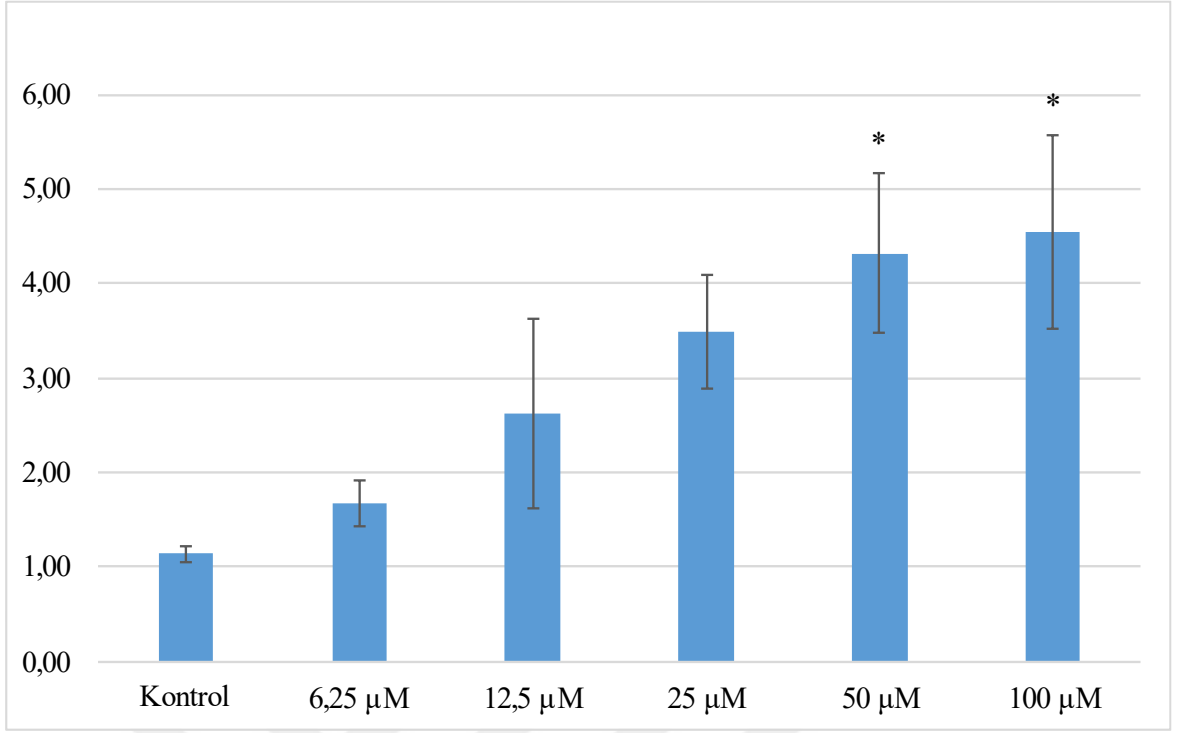
*Allium* kök ucu hücrelerine 24, 48 ve 72 saat zaman periyotlarında uygulanan SA-1 konsantrasyonları ve kontrol grubuna ait kromozomal kusurlar ve KA verileri Tablo 4.3’de verilmiştir. *A. cepa* hücrelerinde, SA-1 artan konsantrasyonlar; köprü (Şekil 4.3), yapışkanlık (Şekil 4.4), c-mitoz (Şekil 4.5), anafaz lagging (Şekil 4.3), vagrant kromozom (Şekil 4.6), binükleat hücre (Şekil 4.7), kutup kusuru (multipolar ve diagonal anafaz) (Şekil 4.8) ve kromozom kaybı (Şekil 4.7) gibi kromozom anomalilerini indükleyerek genotoksik potansiyel göstermiştir.

*Allium* kök ucu hücrelerine 24, 48 ve 72 saat zaman periyotlarında uygulanan SA-2 konsantrasyonları ve kontrol grubuna ait kromozomal kusurlar ve KA verileri Tablo 4.4’de verilmiştir. *A. cepa* hücrelerinde, SA-2 artan konsantrasyonlar; köprü (Şekil 4.3), yapışkanlık (Şekil 4.4), c-mitoz (Şekil 4.5), anafaz lagging (Şekil 4.3), vagrant kromozom (Şekil 4.6), binükleat hücre (Şekil 4.7), kutup kusuru (multipolar ve diagonal anafaz) (Şekil 4.8) ve kromozom kaybı (Şekil 4.7) gibi kromozom anomalilerini indükleyerek genotoksik potansiyel göstermiştir.

**Tablo 4.3. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde SA-1 kromozom anomali verileri**

<b>Dozlar</b> <b>(<math>\mu</math>M)</b>	<b>KÖ</b>	<b>YK</b>	<b>CM</b>	<b>AG</b>	<b>VK</b>	<b>BN</b>	<b>KK</b>	<b>KL</b>	<b>Toplam</b> <b>Hücre</b>	<b>KA</b>
Kontrol	5	9	5	1	2	8	1	1	3000	1.07
6.25 (24h)	8	14	6	0	4	14	2	0	3000	1.60
12.5 (24h)	0	19	13	0	0	18	1	1	3000	1.73
25.0 (24h)	5	25	22	3	8	21	1	0	3000	2.83
50.0 (24h)	2	30	41	3	3	19	2	3	3000	3.43*
100 (24h)	3	30	21	0	18	29	1	3	3000	3.50*
Kontrol	3	10	8	1	2	7	1	2	3000	1.13
6.25 (48h)	4	14	15	0	3	18	0	4	3000	1.93
12.5 (48h)	3	27	36	2	7	32	0	4	3000	3.70
25.0 (48h)	6	25	29	2	11	27	2	7	3000	3.63
50.0 (48h)	36	27	7	4	29	16	5	8	3000	4.40*
100 (48h)	4	41	36	0	10	36	0	12	3000	4.63*
Kontrol	8	11	3	0	13	0	2	0	3000	1.23
6.25 (72h)	0	20	7	1	10	4	1	1	3000	1.47
12.5 (72h)	2	25	9	0	13	16	1	7	3000	2.43
25.0 (72h)	25	25	11	0	31	15	11	2	3000	4.00
50.0 (72h)	32	35	11	2	42	26	6	0	3000	5.13*
100 (72h)	31	45	21	3	37	10	17	2	3000	5.53*

Kısaltmalar: köprü (KÖ), yapışkanlık (YK), c-mitoz (CM), anafazda geri kalma (AG), vagrant kromozom (VK), binükleat hücre (BN), kutup kusuru (KK), kromozom kaybı/loss (KL), \*  $p < 0.05$ .



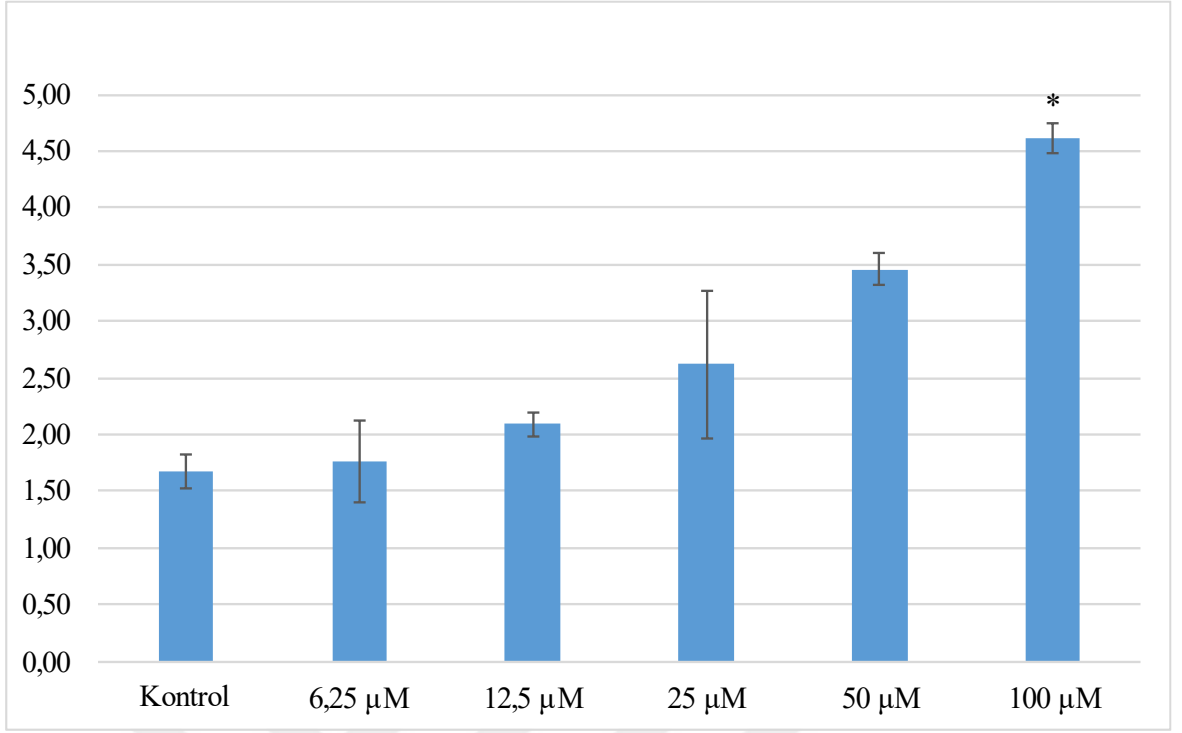
\*  $p < 0.05$

**Şekil 4.3. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde SA-1 kromozom anomali veri ortalamaları**

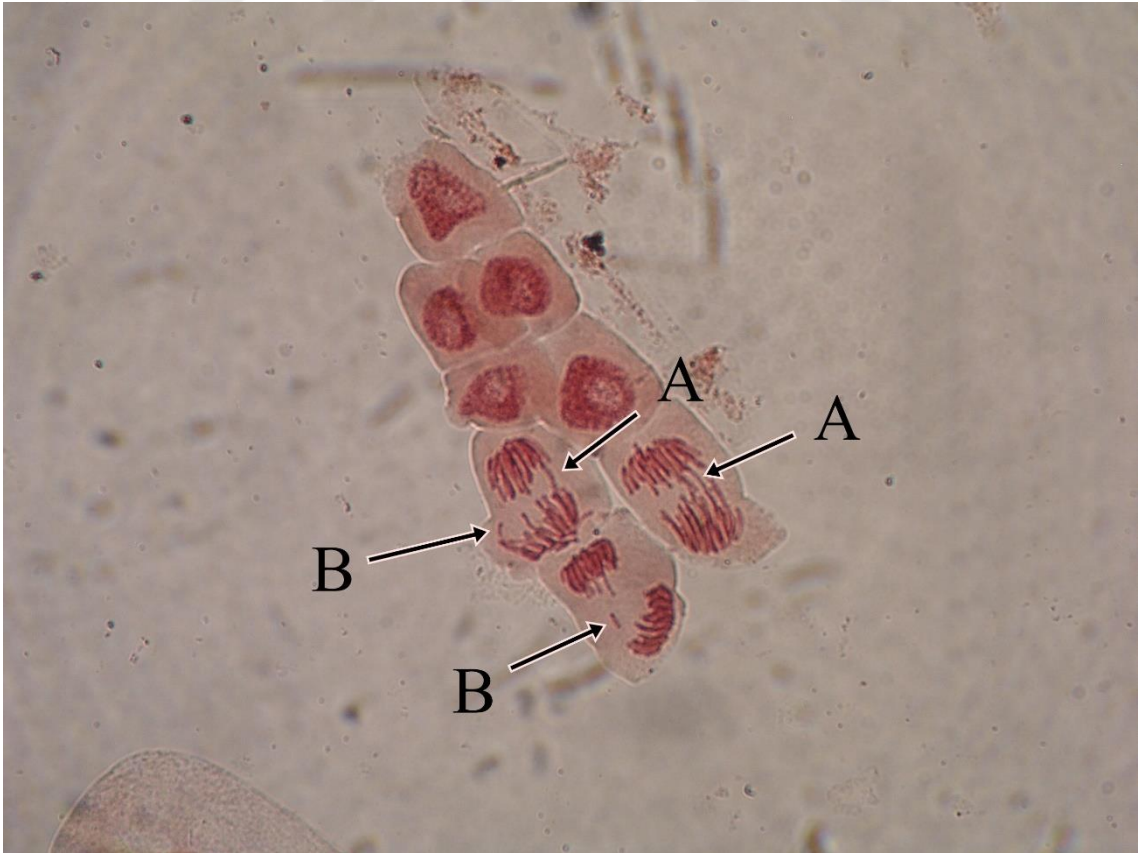
**Tablo 4.4. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde SA-2 kromozom anomali verileri**

<b>Dozlar</b> <b>(<math>\mu</math>M)</b>	<b>KÖ</b>	<b>YK</b>	<b>CM</b>	<b>AG</b>	<b>VK</b>	<b>BN</b>	<b>KK</b>	<b>KL</b>	<b>Toplam</b> <b>Hücre</b>	<b>KA</b>
Kontrol	8	9	5	4	8	4	6	2	3000	1.53
6.25 (24h)	4	9	4	1	16	5	10	1	3000	1.67
12.5 (24h)	22	17	2	2	13	1	7	1	3000	2.17
25.0 (24h)	2	11	7	2	21	6	7	1	3000	1.90
50.0 (24h)	27	12	8	2	38	1	17	2	3000	3.57*
100 (24h)	23	25	11	9	47	6	7	8	3000	4.53*
Kontrol	16	11	7	4	7	1	2	2	3000	1.67
6.25 (48h)	13	7	4	0	16	0	3	1	3000	1.47
12.5 (48h)	18	10	9	5	11	3	2	1	3000	1.97
25.0 (48h)	21	19	12	6	14	3	6	3	3000	2.80
50.0 (48h)	18	20	10	1	39	1	13	3	3000	3.50
100 (48h)	28	25	21	6	32	6	12	7	3000	4.57*
Kontrol	5	14	6	4	14	6	3	3	3000	1.83
6.25 (72h)	8	21	8	5	11	1	6	5	3000	2.17
12.5 (72h)	17	11	10	4	15	2	4	1	3000	2.13
25.0 (72h)	14	28	20	8	9	7	3	6	3000	3.17
50.0 (72h)	21	25	16	8	9	7	8	5	3000	3.30
100 (72h)	29	32	23	14	14	11	12	8	3000	4.77*

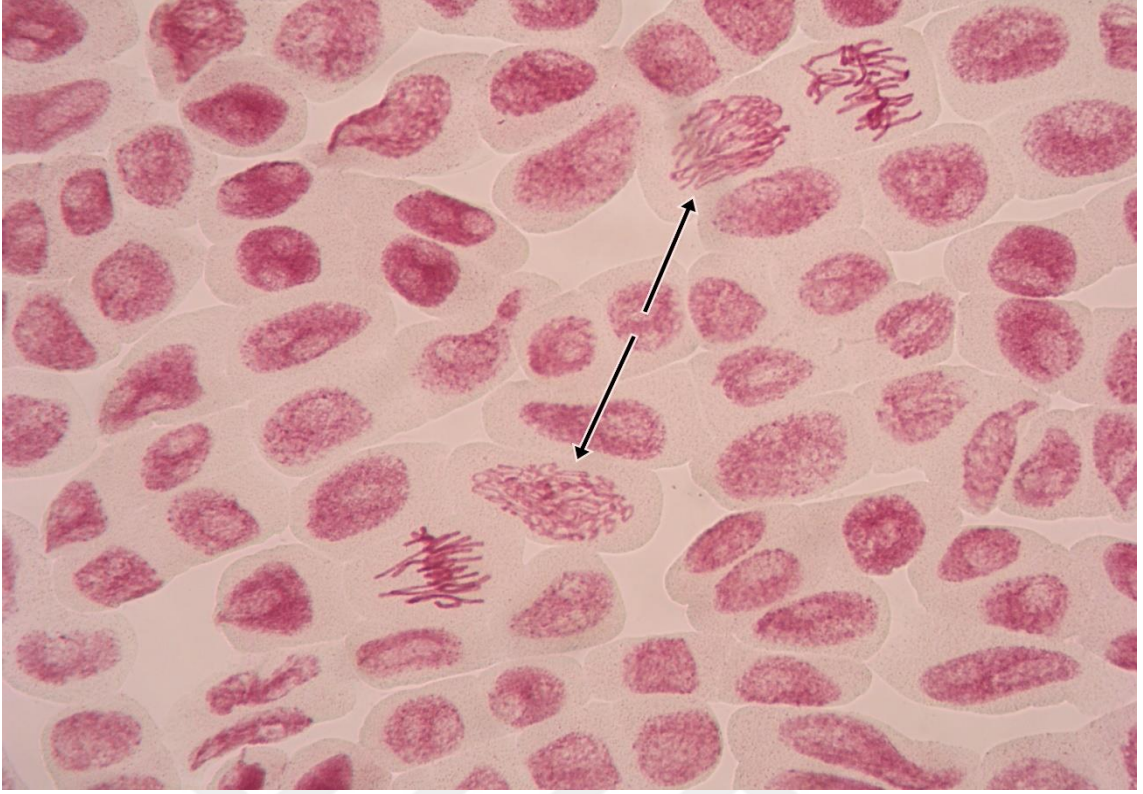
\*  $p < 0.05$



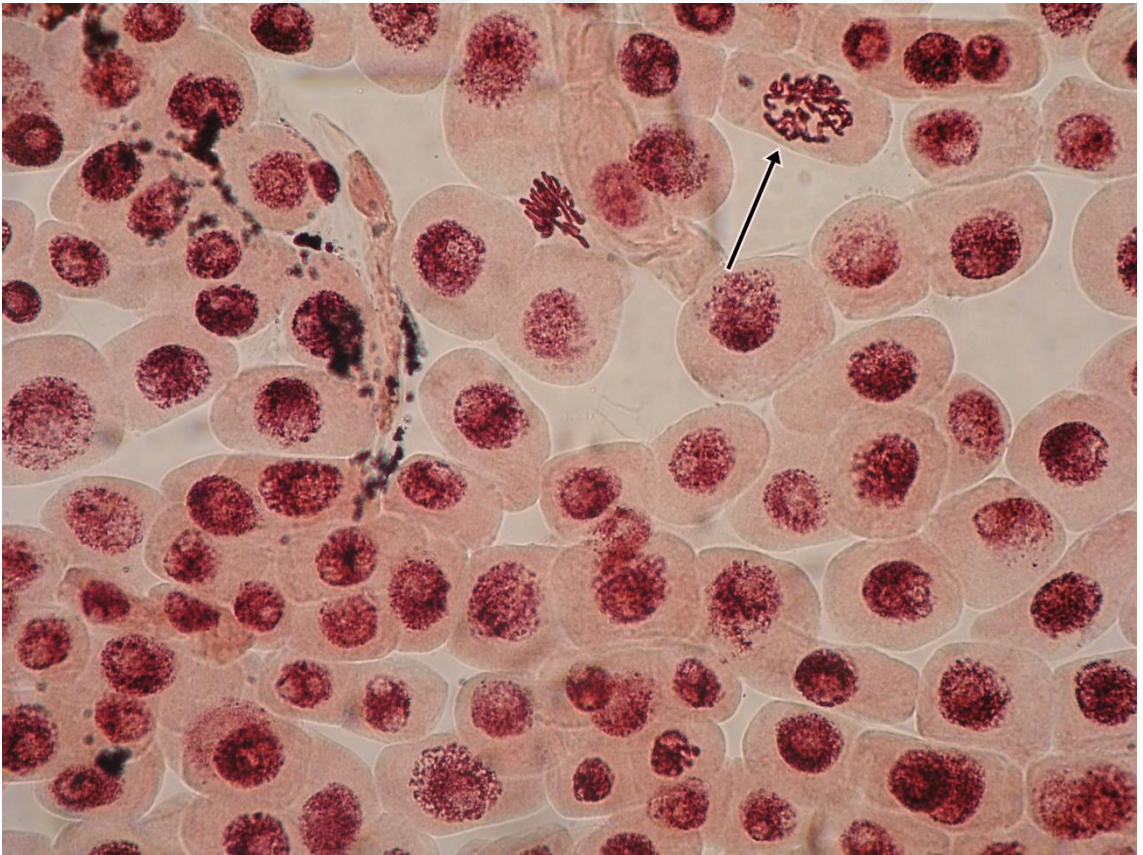
Şekil 4.4. *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde SA-2 kromozom anomali veri ortalamaları



Resim 4.3. Kromozomal kusurlar. A-Köprü, B-Anafazda geri kalma



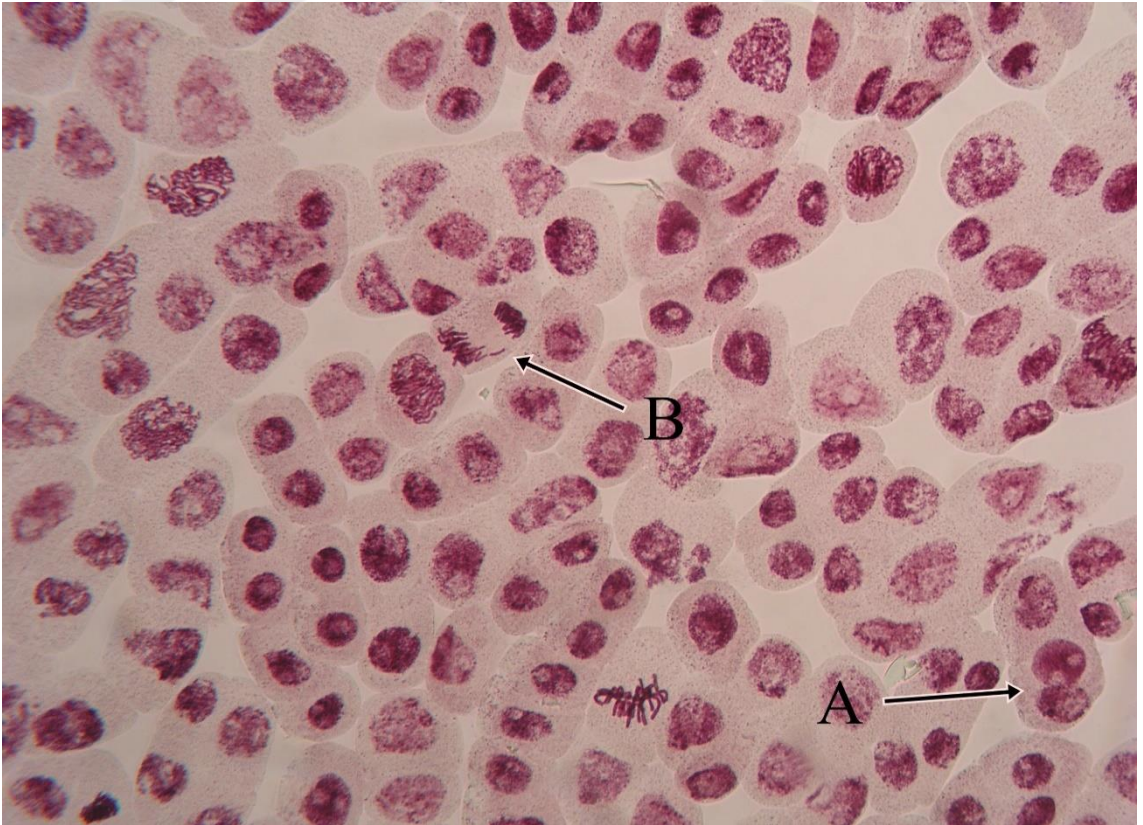
**Resim 4.4. Kromozomal kusurlar. Yapışkanlık**



**Resim 4.5. Kromozomal kusurlar. C-Mitoz**



**Resim 4.6. Kromozomal kusurlar. Vagrant kromozom**



**Resim 4.7. Kromozomal kusurlar. A-Binükleat hücre, B-Kromozom kaybı.**



**Resim 4.8. Kromozomal kusurlar. Kutup kusuru**

## 5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

MI, hücre döngüsündeki mitoz bölünme aşamasındaki hücrelerin bir oranıdır ve hücre proliferasyonunun bir göstergesidir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman daha düşük MI oranları, kimyasala maruz kalan organizmanın büyümesi ve gelişmesi üzerindeki sitotoksik potansiyel olarak kimyasalın etkisini ifade edebilir. Çalışma sonuçlarına göre, MI oranları kontrol grubuna göre oldukça düşüktür ve bu durum kromozomal kusurları indükleyebilir. Özellikle 50 ve 100 µM konsantrasyonlardaki düşük MI değerleri istatistiksel olarak anlamlıdır ve muhtemel sitotoksik potansiyele işaret etmektedir.

Literatürde farklı SA uygulamalarının bitki büyüme ve verimi gibi özellikleri üzerine etkilerini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. MI değerlerinde gözlenen önemli azalma oranları bitki büyümesi üzerinde de etkili olacaktır. Bu nedenle aşağıda özetlenen çalışmalar MI verileri ile ilişkilendirilebilir. Culpan ve Arslan tarafından yapılan bir çalışmada, Tekirdağ ekolojik şartlarında 2014 ve 2015 yetiştirme periyodunda aspir bitkisine SA uygulaması yapılmıştır ve tohum verimi ile bazı özellikleri incelenmiştir. Sonuçlar bütün olarak incelendiğinde, SA dozlarının tane verimi ve verim ögeleri üzerine olumlu bir etkisi olmadığı, ancak protein oranına olumlu bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle düşük dozlarda SA'nın tohum protein oranını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı gözlemlenmiştir (Culpan ve Arslan, 2018).

Hess tarafından SA ile yapılan bir araştırmanın sonucunda, SA'nın kavak, ıhlamur, akçağaç gibi bazı odunlu türlerin çeliklerinde tek başına ya da oksinlerle birlikte kullanıldığı zaman; çelik başına kök sayısını, kök uzunluğunu ve köklenmiş çelik sayısını önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, SA'nın köklenme için geçen süreyi kısalttığı da gözlemlenmiştir (Hess, 1962).

Özdüven tarafından yapılan bir çalışmada, kabak meyvelerinin kuru madde içerikleri değerlendirildiği zaman, geç ekilen ve %50 kısıtlı sulama yapılan bitkilerin kuru madde miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. SA uygulamalarına bakıldığında T1+Y1 uygulaması her iki yılda da kontrole nazaran daha yüksek değerler verdiği gözlemlenmiştir. SA uygulamalarının kuru madde miktarında artışa sebep olduğu elde edilen sonuçlar arasındadır. Bu çalışma sonunda uygulaması pratik, kolay ve ucuz olan, çevreye bir zararı olmayan SA'nın verim ve verimle ilişkisi olan bazı değerleri arttırmak için kullanılması önerilmiştir (Özdüven, 2016).

Kromozomal kusurlar, çevresel kirleticilerin ve kimyasal maddelerin muhtemel genotoksik etkilerinin tespit edilmesinde oldukça etkili bir parametredir ve kimyasalların genotoksik potansiyelleri ile ilgili oldukça önemli veriler ortaya koyar (Ping ve ark., 2012). Salisilik asit türevi uygulaması sonucu, soğan kök ucu hücrelerinde en çok gözlenen kromozomal kusurlar, yapışkan kromozom ve c-mitoz olarak belirlenmiştir. Bu kromozomal kusurlar, salisilik asit türevinin iğ iplik oluşumlarını engellemesi sonucu ve buna bağlı olarak mitotik bölünmede bozulmuş evrelerin oluşması sonucu kaynaklanıyor olabilir. C-mitoz ve bu çalışmada yine oldukça fazla gözlemlenen vagrant kromozomların anöploidi mekanizmasının önemli muhtemel kaynakları oldukları rapor edilmiştir (Leme ve ark., 2009). Yine aynı araştırmacılar, çalışmamızda da oldukça fazla gözlemlenen anafaz/telofaz köprülerinin kromozomal kırıklara ve klastojenik etkiye sebep olduğunu bildirmişlerdir (Leme ve ark., 2009). Ayrıca, yapışkanlık ve anafaz köprüleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ve yapışkanlığın anafaz köprülerine neden olduğunu bildiren çalışmalarda; yapışkan kromozomların anafaz köprülerine bağlı kaldıkları ve hücre ölümüne kadar götürebilen çok yüksek bir genotoksik etkiye sahip oldukları rapor edilmiştir (Ribeiro, 2003; Kabarity ve ark., 1974). Sonuçlarımıza göre, yapışkanlık ve köprü oluşumları arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır. Poliploidinin yüksek oranı ve poliploid hücre sayısında artış, iğ iplik aparatının işlev mekanizmasını etkileyen faktörlerden olan c-mitoz ve vagrant kromozomların yüksek oranlarında artış gösterebilir (Odeigah ve ark., 1997). Bu çalışmada, özellikle yüksek konsantrasyonlarda yüksek oranlarda c-mitoz ve vagrant kromozomlar gözlemlenmesine rağmen, rapor edilen görüşe zıt olarak poliploid hücrelerin sayısı oldukça düşüktür.

Literatürde salisilik asit türevlerinin sitotoksik ve genotoksik potansiyellerinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Giri ve ark. (1996), farelerin kemik iliği hücrelerinde altı salisilik asit türevi için in vivo kardeş kromatid değişimi (SCE) ve KA testini uygulamışlardır. Bu çalışmada asetil salisilik asit (aspirin), salisilik asit, salisilamid, sodyum salisilat, diflunisal ve niklosamid olmak üzere altı salisilik asit türevi kullanılmıştır. Test edilen bu altı salisilik asit türevinden yalnızca diflunisal ve niklosamid, hem SCE hem de KA testlerinde genotoksik etki göstermiştir. Asetil salisilik asit ve sodyum salisilat ise, yalnızca en yüksek konsantrasyonda zayıf genotoksikite göstermiştir. Pawar ve ark. (2009), asetilsalisilik asit ve tiosalisilik asitin, kemik iliği hücrelerinde comet parametrelerinde ve periferik kandaki mikronükleatlı retikülositlerde azalma ile anti-genotoksik potansiyelini göstermişlerdir. L5178Y fare lenfoma hücreleri, salisilik asitin metabolik aktivasyonlu ve

metabolik aktivasyonsuz genotoksisitesini değerlendirmek için kullanılmış ve 1400 µg/ml'ye kadar MI, hücre döngüsündeki mitoz bölünme aşamasındaki hücrelerin bir oranıdır ve hücre proliferasyonunun bir göstergesidir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman daha düşük MI oranları, kimyasala maruz kalan organizmanın büyümesi ve gelişmesi üzerindeki sitotoksik potansiyel olarak kimyasalın etkisini ifade edebilir. Çalışma sonuçlarına göre, MI oranları kontrol grubuna göre oldukça düşüktür ve bu durum kromozomal kusurları indükleyebilir. Özellikle 50 ve 100 µM konsantrasyonlardaki düşük MI değerleri istatistiksel olarak anlamlıdır ve muhtemel sitotoksik potansiyele işaret etmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada salisilik asit türevinin artan konsantrasyonlara bağlı olarak hücre döngüsü proliferasyonu üzerinde olumsuz etkileri olduğu ve birçok ve farklı tipte kromozomal kusurlara neden olduğu tespit edilmiştir. Salisilik asit, *Allium* kök uçlarında köprü, yapışkanlık, C-mitoz, anafazda geri kalma vagrant kromozom, binükleat hücre, kutup kusuru ve kromozom kaybı gibi kromozomal kusurları indükledi. Salisilik asit türevinin yüksek konsantrasyonlarda muhtemel genotoksik ve sitotoksik potansiyele sahiptir.

## KAYNAKLAR

- Akinboro, A. and Bakare, A.A. (2007). Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 470–475.
- Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemmink, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norppa, H., Shuker, D.E., Tice, R., Water, M.D. and Aitio, A. (2002). IPCS guideline for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans, International Programme on Chemical Safety. *Mutation Research*, 463, 111–172.
- Anonymous. (2019). International diabetes federation 9th-edition. <https://idf.org/>.
- Ateeq, B., Adul-Farrah, M., Ali, M.N. and Ahmad, W. (2002). Clastogenicity of pentachlorophenol, 2-4-D and butachlor evaluated by *Allium rot* tip test. *Mutation Research*, 514, 105–113.
- Bolle, P., Mastrangelo, S., Tucci, P. and Evandri, M.G. (2004). Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 43, 137–141.
- Borboa, L. and De La Torre, C. (1996). The genotoxicity of Zii(II) and Cd(II) in *Allium cepa* root meristematic cells. *New Phytologist*, 134, 481–486.
- Carita, R. (2007). Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico de amostras de lodos provenientes de estações de tratamento de esgotos de grandes centros urbanos do estado de São Paulo, pela metodologia de aberrações cromossômicas em *Allium cepa*, Trabalho de Conclusão (Bacharel e Licenciatura – Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP, 63 p.
- Chakraborty, R., Mukherjee, A.K. and Mukherjee, A. (2009). Evaluation of genotoxicity of coal fly ash in *Allium cepa* root cells by combining comet assay with the *Allium* test. *Environmental Monitoring and Assessment*, 153, 351–357.
- Carita, R. and Marin-Morales, M.A. (2008). Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. *Chemosphere*, 72, 722–725.

- Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N., Sundararaman, V. and Gupta, S.K. (1998). Diuron-induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 62, 152–163.
- Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N. and Gupta, S.K. (1999). Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Environmental and Experimental Botany*, 42, 181–189.
- Chauhan, L.K.S. and Gupta, S.K. (2005). Combined cytogenetic and ultrastructural effects of substituted urea herbicides and synthetic pyrethroid insecticide on the root meristem cells of *Allium cepa*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 82, 27–35.
- Culpan, E. and Arslan B. (2018). Salisilik asit uygulamasının aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerinin verim ve bazı kalite özelliklerine etkisinin araştırılması. *Akademik Ziraat Dergisi*, 7(2), 173–178.
- Davies, P.J. (1995). *Salicylic Acid, Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. London: Klower Acad. Pub.
- Dursun, B. (2012). *Salisilik Asit Uygulanmış Nohut Fidelerinde Kadmiyumun Yarattığı Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler*. (yüksek lisans tezi), Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- El-Shahaby, O.A., Abdel Migid, H.M., Soliman, M.I. and Mashaly, I.A. (2003). Genotoxicity screening of industrial wastewater using the *Allium cepa* chromosome aberration assay. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6, 23–28.
- European Chemicals Agency (ECHA), Registration, Evaluation, Authorization, and Restriction of Chemical Substances (REACH) Dossier, Methyl Salicylate, <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/2227>.
- European Chemicals Agency (ECHA), Registration, Evaluation, Authorization, and Restriction of Chemical Substances (REACH) Dossier, Sodium Salicylate, <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13593>.
- Fatima, R.A. and Ahmad, M. (2006). Genotoxicity of industrial wastewaters obtained from two different pollution sources in northern India: a comparison of three bioassays. *Mutation Research*, 609, 81–91.
- Fenech, M. (2002). Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*, 411–416.

- Feretti, D., Zerbini, I., Ceretti, E., Villarini, M., Zani, C., Moretti, M., Fatigoni, C., Orizio, G., Donato, F. and Monarca, S. (2008). Evaluation of chlorite and chlorate genotoxicity using plant bioassays and in vitro DNA damage tests. *Water Research*, 42, 4075–4082.
- Fernandes, T.C.C., Mazzeo, D.E.C. and Marin-Morales, M.A. (2007). Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, 252–259.
- Fiskesjö, G. (1981). *Allium* test on copper in drinking water. *Vatten*, 37, 232–240
- Fiskesjö, G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102, 99–112.
- Giri, A.K., Adhikari, N. and Khan, K.A. (1996). Comparative genotoxicity of six salicylic acid derivatives in bone marrow cells of mice. *Mutation Research*, 370, 1–9.
- Grant, W.F. (1982). Chromosome aberration assays in *Allium*. *Mutation Research*, 99, 273–291.
- Grant, W.F. (1994). The present status of higher plant bioassays for detection of environmental mutagens. *Mutation Research*, 310, 175–185.
- Grover, I.S. and Kaur, S. (1999). Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays. *Mutation Research*, 426, 183–188.
- Harborne, J.B. (1980). Plant phenolics. Bell, E.A., and Charlwood, B.V (Ed.). *Secondary Plant Products*, 329–402, Berlin: Springer Verlag.
- Hayat S. and Ahmad A. (2007). *Salicylic acid: A Plant Hormone*. 1-14, Berlin: Springer Verlag.
- Hess, C.E. (1962). Characterization of The Rooting Cofactors Extracted from *Hedera helix* L. and *Hibiscus rosa-sinensis* L. *Poc. 16th Inter. Hort. Cong.*, 382-388.
- Hoshina, M.M., Avaliação da possível contaminação das águas do Ribeirão Claro - município de Rio Claro, pertencente à bacia do rio Corumbataí, por meio de testes de mutagenicidade em *Allium cepa*, Trabalho de conclusão (Bacharel e Licenciatura - Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 52, 2002.

- Houk, V.S. (1992). The genotoxicity of industrial wastes and effluents a review. *Mutation Research*, 277, 91–138.
- Inceer, H., Beyazoğlu, O. and Ergul, H.A. (2000). Cytogenetic effects of wastes of copper mine on root tip cells of *Allium cepa* L. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3, 376–377.
- Kabarity, A., El-Bayoumi, A. and Habib, A. (1974). Effect of morphine sulphate on mitosis of *Allium cepa* L. root tips. *Biologia Plantarum*, 16, 275–282.
- Kuras, M., Nowakowska, J., Liwinska E.S., Pilarski, R., Ilasz, R., Tykarska, T., Zobel, A. and Gulewicz, K. (2006). Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 211–221.
- Leme, D.M., Angelis, D.F. and Marin-Morales, M.A. (2008). Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. *Aquatic Toxicology*, 88, 214–219.
- Leme, D.M. and Marin-Morales, M.A. (2008). Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water-a case study. *Mutation Research*, 650, 80–86.
- Leme, D.M. and Marin-Morales, M.A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, 682, 71–81.
- Levan, A. (1938). The effect of colchicines in root mitosis in *Allium*. *Hereditas*, 24, 471–486.
- Levan, A. (1945). Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. *Nature*, 156, 751–752.
- Ma, T.H., Xu, Z., Xu, C., McConnell, H., Rabago, E.V., Arreola, G.A. and Zhang, H. (1995). The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutation Research*, 334, 185–195.
- Matsumoto, S.T., Mantovani, M.S., Malagutti, M.I.A., Dias, A.L., Fonseca, I.C. and Marin-Morales, M.A. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 148–158.

- Migid, A.H.M., Azab, Y.A. and Ibrahim, W.M. (2007). Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66, 57–64.
- Odeigah, P.G.C., Nurudeen, O. and Amund, O.O. (1997). Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. *Hereditas*, 126, 161–167.
- Özdüven, F.F. (2016). *Salisilik Asit Uygulamalarının Farklı Sulama Seviyelerinde Yetiştirilen Yazlık Kabakta (Cucurbita pepo L.) Bitki Gelişimi ve Verime Etkileri*. (doktora tezi), Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- Pawar, A.A., Vikram, A., Tripathi, D.N., Padmanabhan, S., Ramarao, P. and Jena, G. (2009). Modulation of Mitomycin C-induced genotoxicity by acetyl- and thio-analogues of salicylic acid. *In Vivo*, 23, 303–307.
- Ping, K., Darah, Y.I., Yusuf, U.K., Yeng, C. and Sasidharan, S. (2012). Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: an *Allium cepa* assay. *Molecules*, 17, 7782–7791.
- Rank, J., Jensen, A.G., Skov, B., Pedersen, L.H. and Jensen, K. (1993). Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, *Salmonella* mutagenicity test, and *Allium* anaphase-telophase test. *Mutation Research*, 300, 29–36.
- Rank, J. and Nielsen, M.H. (1993). A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. *Hereditas*, 18, 49–53.
- Rank, J. and Nielsen, M.H. (1994). Evaluation of the *Allium* anaphase–telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. *Mutation Research*, 312, 17–24.
- Rank, J. and Nielsen, M.H. (1997). *Allium cepa* anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methanesulfonate. *Mutation Research*, 390, 121–127.
- Rank, J. and Nielsen, M.H., (1998). Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase–telophase chromosome aberration assay. *Mutation Research*, 418, 113–119.
- Rank, J. (2003). The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Ekologija*, 38–42.

- Raskin, I. (1995). Salicylic Acid. Davies, P (Ed.), *Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, 188–205, London: Kluwer Acad. Pub.
- Ribeiro, L.R. (2003). Teste do micronu'cleo em medula o' ssea de roedores in vivo. Ribeiro, L.R., Salvadori, D.M.F. and Marques, E.K (Ed.), *Mutagenese Ambiental*, 201–219, Ulbra, Canoas.
- Russel, P.J. (2002). Chromosomal mutation: Cummings, B (Ed.). *Genetics*, 595–621, San Francisco: Pearson Education Inc.
- Seth, C.S., Misra, V., Chauhan, L.K.S. and Singh, R.R. (2008). Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and comet assay approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(3), 711-716.
- Steinkellner, H., Mun-Sik, K., Helma, C., Ecker, S., Ma, T.-H., Horak, O., Kundi, M. and Knasmüller, S. (1998). Genotoxicity effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 31, 183–191.
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M. and Toman, M.J. (1996). The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. *Mutation Research*, 368, 171–179.
- Souza, T.S., Hencklein, F.A., Angelis, D.F., Goncalves R.A. and Fontanetti, C.S. (2009). The *Allium cepa* bioassay to evaluate landfarming soil, before and after the addition of rice hulls to accelerate organic pollutants biodegradation, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(5), 1363–1368
- Srivastava, K. and Mishra, K.K. (2009). Cytogenetic effects of commercially formulated atrazine on the somatic cells of *Allium cepa* and *Vicia faba*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93, 8–12.
- Sudhakar, R., Ninge Gowda, K.N. and Venu, G. (2001). Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*. *Cytologia*, 66, 235–239.
- Tkalec, M., Malaric, K., Paylica, M., Peyalek-Kozlina and B. Vidakovic-Cifrek, Z. (2009). Effects of radiofrequency electromagnetic fields on seed germination and root meristematic cells of *Allium cepa* L. *Mutation Research*, 672, 76–81.
- Türkoğlu, S. (2007). Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. *Mutation Research*, 626, 4–14.

- White, R.F. (1979). Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology*, 99, 410–412.
- Yalpani, N., Silverma, P., Wilson, T.M.A., Kleier, D.A. and Raskin, I. (1991). Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis-related proteins in virus infected tobacco. *The Plant Cell*, 3, 809–818.
- Yi, H., Wu, L. and Jiang, L. (2007). Genotoxicity of arsenic evaluated by *Allium*-root micronucleus assay. *Science of the Total Environment*, 308, 232–236.



# BENZERLİK VE İNTİHAL RAPORU

T.C. YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI BENZERLİK VE İNTİHAL RAPORU

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

## **Allium cepa Kök Ucu Hücrelerinde Salisilik Asit Türevlerinin Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi**

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümden ve sonuç bölümünden oluşan toplam .... Sayfalık kısmına ilişkin .../.../... tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre tezimin benzerlik oranı %.....'tür.

### UYGULANAN FİLTRELEMELER

- ONAY SAYFASI HARİÇ,
- ÖNSÖZ HARİÇ,
- İÇİNDEKİLER HARİÇ,
- SİMGELER VE KISALTMALAR HARİÇ,
- KAYNAKLAR HARİÇ,
- ÖZGEÇMİŞ HARİÇ,
- TEZDEN ÇIKAN YAYIN/YAYINLAR HARİÇ,
- ALINTILAR HARİÇ/DAHİL,
- BEŞ (5) KELİMEDEN DAHA AZ ÖRTÜŞME İÇEREN METİN KISIMLARI HARİÇ (LIMIT MATCH SIZE TO 5 WORDS) PROGRAM MENÜSÜNDE BULUNAN DİĞER FİLTRELEME SEÇENEKLERİ RAPORLAMAYA DAHİL EDİLMEZ.

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ TEZ ÇALIŞMASI BENZERLİK RAPORU ALINMASI VE KULLANILMASI UYGULAMA ESASLARINI İNCELEDİM VE BU UYGULAMA ESASLARINDA BELİRTİLEN AZAMI BENZERLİK ORANLARINA GÖRE TEZ ÇALIŞMAMIN HERHANGİ BİR İNTİHAL İÇERMEDİĞİNİ, AKSİNİN TESPİT EDİLECEĞİ MUHTEMEL DURUMDA DOĞABİLECEK HER TÜRLÜ HUKUKİ SORUMLULUĞU KABUL ETTİĞİMİ VE YUKARIDA VERMİŞ OLDUĞUM BİLGİLERİN DOĞRU OLDUĞUNU BEYAN EDERİM.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

.../.../.... İmza

Adı Soyadı: Selin CAN

Öğrenci No: 70110319004

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı:

Statüsü: Y. Lisans Doktora Bütünleşik Doktora

DANIŞMAN ONAY UYGUNDUR.

(Unvanı, Adı Soyadı, İmza)