

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ALLIUM CEPA* L.'DA BİR KARBAMAT İNSEKTİSİT
METİOKARB'IN TOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emine TÜTÜNCÜ

Enstitü Anabilim Dalı : Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Şubat 2019

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALLIUM CEPA L.'DA BİR KARBAMAT İNSEKTİSİT
METİOKARB'IN TOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

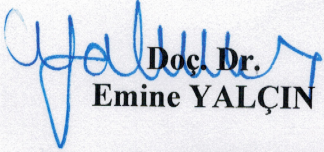
Emine TÜTÜNCÜ

Enstitü Anabilim Dalı

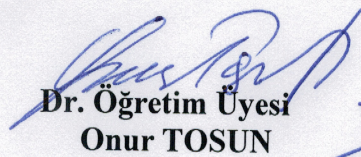
:

Biyoloji Anabilim Dalı

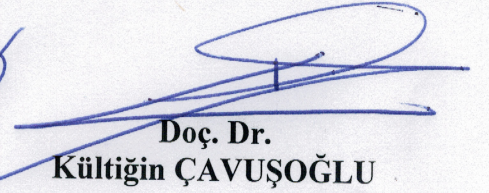
Bu tez 06/02/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.


Doç. Dr.
Emine YALÇIN

Jüri Başkanı


Dr. Öğretim Üyesi
Onur TOSUN

Üye


Doç. Dr.
Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Üye

**Doç. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü**

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Emine TÖTÖNCÖ

06/02/2019

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında hoşgörüsünü esirgemedi desteklerini gösteren, eğitimim için gerekli tüm bilgi ve becerileri kazanmamda engin bilgi ve tecrübelerinin yanı sıra manevi desteğini de eksik etmeyen Giresun Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU'na;

Akademik başarı kadar çalışma ahlakının da önemini aşıl原因 Sayın Doç. Dr. Emine Yalçın'a; tez çalışmamın laboratuvar aşamasında katkıları bulunan Prof. Dr. Kürşad YAPAR'a ve Öğr. Gör. Dr. Ali ACAR'a;

Eğitimim sırasında ellerini her daim omuzumda hissettiğim, maddi manevi desteklerini hiç esirgemeyen sevgili anneme ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	V
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1. Pestisitler	2
2.2. Karbamatlar	4
2.2.1. Metiokarb	5
2.3. <i>Allium cepa</i> Testi	7
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM	10
3.1. Test Materyali ve Uygulama Dozları.....	10
3.2. Fizyolojik Parametrelerin Ölçümü.....	10
3.3. Kromozomal Hasar, MI ve MN Analizleri	10
3.4. İstatiksel Analiz	11
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI	12
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	17
KAYNAKLAR	20
ÖZGEÇMİŞ	24

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

LD50	: Test hayvanlarının yarısını öldürmek için gerekli doz
USEPA	: ABD Çevre Koruma Ajansı
CA	: Kromozomal Anormallik
MI	: Mitotik indeks
MN	: Mikronükleus



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması	3
Şekil 2.2. <i>A. cepa</i> kromozom karyotipi	8
Şekil 4.1. Metiokarb'ın kök uzunluğuna etkisi	12
Şekil 4.2. Metiokarb'ın teşvik ettiği kromozomal hasarlar	15



TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Metiokarbın kimyasal yapısı ve özellikleri	5
Tablo 2.2. Metiokarb'ın kullanıldığı bitki türleri ve etki ettiği hedef organizmalar	6
Tablo 4.1. Metiokarb dozlarının çimlenme üzerine etkisi	13
Tablo 4.2. Metiokarb dozlarının kök uzunluğuna etkisi	13
Tablo 4.3. Metiokarb dozlarının ağırlık artışı üzerine etkisi.....	14
Tablo 4.4. Metiokarb dozlarının mikronukleus oluşumuna etkisi.....	14
Tablo 4.5. Metiokarb dozlarının teşvik ettiği kromozomal hasarlar	15
Tablo 4.6. Metiokarb dozlarının mitotik indeks (MI) üzerine etkisi.....	16

***ALLIUM CEPA* L.'DA BİR KARBAMAT İNSEKTİSİT METİOKARB'IN TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışmada, Methiokarb insektisitinin toksik etkileri *Allium cepa* L. test materyali kullanılarak incelenmiştir. Çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ölçümü ve ağırlık artışı parametreleri ile fizyolojik etkiler; mikronükleus (MN) sıklığı, kromozom hasarı ve mitotik indeks (MI) parametreleri ile siyogenetik etkiler incelenmiştir. Bu amaçla *A. cepa* bulbları bir (kontrol) ve üç (3) uygulama olmak üzere dört (4) gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki bulblar musluk suyu, uygulama grubundaki bulblarlar ise 72 saat boyunca 2.5 mg L⁻¹, 5.0 mg L⁻¹ ve 7.5 mg L⁻¹ Methiokarb ile muamele edilmiştir. Sonuç olarak Methiokarb uygulaması, kontrol grubuna göre fizyolojik parametrelerde azalmaya neden olmuştur. 7.5 mg L⁻¹ Metiocarb dozuna maruz kalan bulblarlarda, çimlenme yüzdesi kontrol grubuna göre % 64, kök uzunluğu % 29 ve ağırlık artışı % 21 oranında azalmıştır. Methiokarb uygulaması MN ve kromozomal hasar sayısında artışa ve MI'da azalmaya neden olmuştur. 7.5 mg L⁻¹ Methiokarb 'a maruz kalan kök hücrelerdeki MN sayısı, kontrol grubuna göre 172 kat artmış ve MI değeri 1.69 kat azalmıştır. Metiocarb uygulanan gruplarda fragment, yapışkan kromozom, köprü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve vagrant kromozom gibi kromozomal hasarlar tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Methiokarb'ın toksik etkilere neden olduğu ve *A. cepa* test materyalinin bu toksisiteyi değerlendirmek için kullanışlı bir biyoindikatör olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Allium cepa* L., Fizyoloji, Genotoksisite, Metiokarb

INVESTIGATION OF THE TOXIC EFFECTS OF A CARBAMATE INSECTICIDE METHIOCARB IN *ALLIUM CEPA* L.

SUMMARY

In this study, the toxic effects of Methiocarb insecticide were investigated in *Allium cepa* L. test material. Physiological effects were investigated with germination percentage, root length measurement and weight gain parameters; Cytogenetic effects were analyzed with micronucleus (MN), chromosomal damage and mitotic index (MI). For this aim, *A. cepa* L. bulbs were divided into four (4) groups, one (control) and three (3) applications; the bulbs in the control group were tap water; the bulbs in the application group were treated with 2.5 mg L⁻¹, 5.0 mg L⁻¹ ve 7.5 mg L⁻¹ doses of Methiocarb for 72 hours. In conclusion, Methiocarb administration caused a decrease in physiological parameters compared to the control group. In bulbs exposed to a dose of 7.5 mg L⁻¹ of Methiocarb, the germination percentage decreased by 64%, root length by 29% and weight gain by 21% compared to the control group. Methiocarb administration caused an increase in the number of MN and chromosomal damage and a decrease in MI. The number of MN in the root cells exposed to 7.5 mg L⁻¹ of Methiocarb was increased 172-times compared to the control group and the MI value decreased by 1.69-times. Methiocarb administration has promoted chromosomal damage such as fragment, sticky chromosome, bridge, unequal distribution of chromatin and vagrant chromosome in root tip cells. As a result, Methiocarb caused toxic effects, and *A. cepa* L. test material was found to be a useful bio-indicator for monitoring these effects.

Keywords: *Allium cepa* L., Physiology, Genotoxicity, Methiocarb.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Gün geçtikçe artan dünya nüfusu beraberinde besin ihtiyacını da arttırmıştır. Bu durum aynı ekili alanlardan daha fazla ürün elde edilmesi gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte elde edilen üründe verimin artırılması ve ürün kayıplarının azaltılması da artan besin ihtiyacına karşı çözümler arasında yer almıştır. Tarım alanlarında bitkinin ihtiyaç duyduğu, bitki besin elementlerinin de toprakta korunması ürün veriminin artırmanın başlıca yollarındandır. Kültürel uygulamaların da düzenli bir şekilde yapılamamasıyla birlikte insanların pestisitleri kullanması kaçınılmaz hale gelmiştir. Tüm bu ihtiyaçları karşılamak için pestisit olarak adlandırılan kimyasal maddeler kullanılmaya başlanmış ve bu sayede tarımsal ürünlerde üretim büyük oranda artmış, kayıplar ise azalmıştır. Pestisitler böcek, yabani otlar, mantar ve çeşitli zararlılar gibi istenmeyen hedef organizmaların üremesini, çoğalmasını, bitkiye zarar vermesini önleyen kimyasal maddelerdir. Ekonomik üretimi, kolay erişimi ve uygulanabilirliği pestisitlere olan ilgiyi arttırmıştır. İdeal bir pestisit, sadece hedef organizma üzerinde etki göstermeli, çevrede birikme özelliğine sahip olmamalı ve ekolojik sistemden kaybolabilmelidir. Pestisit olarak kullanılan kimyasal maddelerin çevre ve insan sağlığına toksik etki oluşturmaması için içeriğinin ve kullanım dozunun iyi bilinmesi gerekmektedir. Pestisitler, kullanım alanlarından çevreye, hayvanlara ve bitkilere hızlı bir şekilde kontamine olmakta ve tehdit edici boyutlara ulaşmaktadır. Kullanılan aşırı dozda pestisitler kalıntı problemine de sebep olmaktadır. Bu kalıntılar insan vücudunda yıllar boyunca birikerek bir takım fiziksel rahatsızlıklar oluşmasına yol açmaktadır [1,2]. Bu konuda yapılan çalışmalarda her yıl yaklaşık olarak 2.5-3 milyon insanın pestisit maruziyeti sonucunda ortaya çıkan rakatsızlıklar nedeniyle hayatını kaybettiği belirlenmiştir. Bu nedenle pestisitlerin hedef olmayan organizmalar üzerine etkileri konusundaki çalışmalara ağırlık verilmeli ve detaylı incelemeler yapılmalıdır.

Bu çalışmada da çeşitli zararlılara karşı kullanılan Methiokarb pestisinin toksik etkileri fizyolojik ve sitogenetik açıdan *Allium cepa* L. test materyali kullanılarak incelenmiştir.

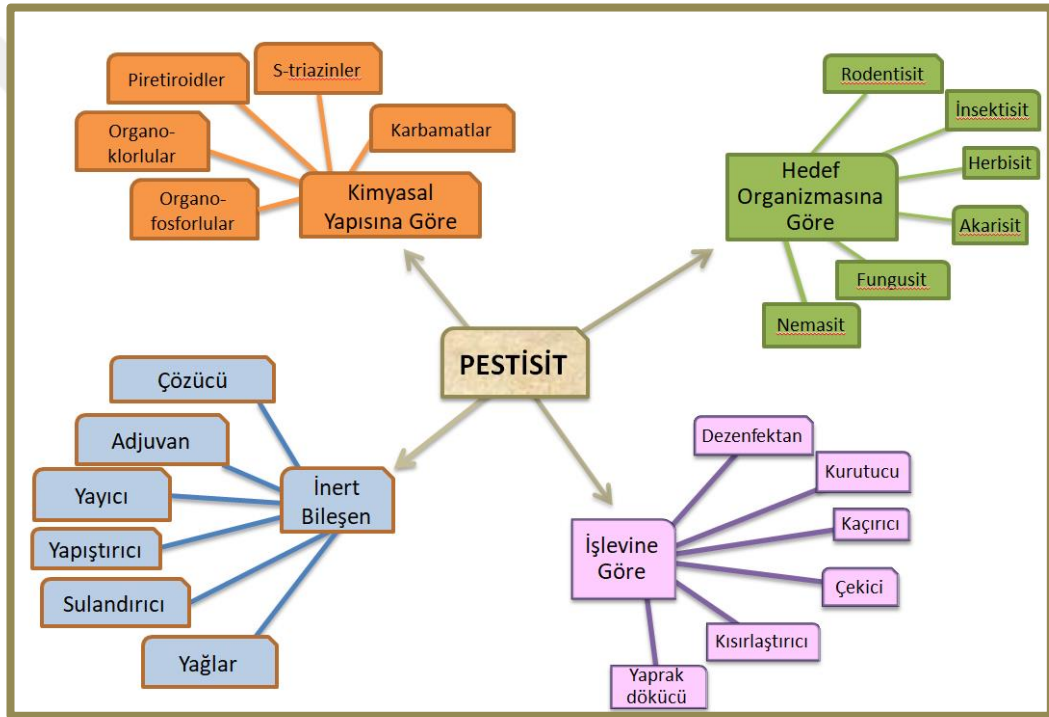
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Pestisitler

Pestisitler, tarımsal zararlılar, hastalıklar ve yabani otlara karşı oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bununla birlikte birçok iç ve dış parazite karşı hayvansal üretim sürecinde ve halk sağlığı amaçlı olarak karasinek ve sivrisinekle mücadelede de kullanılmaktadırlar. Pestisitlerin formülasyonlarında aktif maddeye ek olarak birçok yardımcı madde de yer almaktadır. Bu yardımcı maddeler; sıvı ve katı taşıyıcılar, eritkenler, etki artırıcı ve güvenlik artırıcı maddelerdir. Pestisitler, hedef organizmalarda farklı kompleks yapıda etki mekanizmalarına sahiptir ve oluşan toksik etki biyokimyasal bir süreç sonunda ortaya çıkmaktadır. Pestisitler, tek bir doz uygulandığında kısa sürede ortaya çıkan akut etki ve uzun bir süre öldürücü olmayan dozdaki tekrar eden uygulamalarda ortaya çıkan kronik etki olmak üzere iki farklı toksik etki oluşturmaktadır. Akut toksisitenin ölçüsü LD₅₀ değeri olarak adlandırılmaktadır. Bu değer populasyonun % 50'sinde ölüme neden olan doz olarak tanımlanmaktadır [1].

Pestisitler çok çeşitli sınıflandırmaya tabii tutulmaktadır (Şekil 2.1). Yapısına, hedef ettiği organizmaya, işlevine ve tehlike boyutuna göre çok çeşitli sınıflandırma mevcuttur. Fakat yaygın olarak kullanılan ve en bilinen sınıflandırma tipi hedefledikleri organizmalara göre yapılan sınıflandırmadır. Buna göre pestisitler herbisitler, insektisitler, fungusitler, akarisitler, nematisitler, rodentisitler, mollusitler gibi çeşitli sınıflara ayrılmaktadır. İnsektisitler; böcek ve haşerelere karşı kullanılan ilaçlar olup üretici tarafından en fazla ihtiyaç duyulan ve en fazla kullanılan pestisitlerdir. Bitkiye en fazla zarar veren etkenlerin başında onunla beslenen böcek ve haşereler gelmektedir. Bitkileri bu zararlılardan korumak için insektisitlerden yararlanılmaktadır. Bu korumanın hedef organizmaya verdiği zarar; öldürücü, kaçırıcı ya da kısırlaştırıcı olarak değişebildiği gibi canlı organizmada bıraktığı kalıntı da buna paralel olarak çeşitli problemleri de beraberinde getirmektedir. Herbisitler, bitkiyi diğer bitkilerin zararlarından koruyarak bitkinin verimini ve sağlığını korumayı amaçlamaktadır. Aynı yetiştirme ortamında bulunan bitkiler topraktan aldıkları besin ve aynı büyüme ortamını paylaşma konusunda rekabet

içinde oldukları için diğer ot ve çalı tarzı bitkilerin elimine edilmesi gerekmektedir. Herbisitler, kurutucu, öldürücü veya büyümeyi engelleyeceği bir etki oluşturarak yabancı otlara zarar vermektedir. Nematisitler nematodlara karşı kullanılan, fungusitler ise patojenik fungusların çeşitli hayati fonksiyonlarını engelleyen pestisit türleridir [2, 3]. Rodentisitler kemirgenlere karşı daha çok tarla, ev ve bitki depolama ambarlarında kullanılan kimyasallardır. Toksisitesi yüksek olan bu kimyasallar ölümle sonuçlanabilen vakalara neden olabilmektedirler. Akarisitler ise tarım alanlarında Akari alt sınıfına ait zararlılara karşı kullanılan pestisit grubudur [4, 5].



Şekil 2.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması [6]

Pestisitler, hedef organizmaları ile beslenen ya da temas halinde olan diğer canlılara kontamine olmakta ve kalıntı olarak bir üst basamağa aktarılmaktadır. Bir üst basamakta biyolojik mekanizmaların çalışmasını etkilemekte ve nörolojik, fizyolojik, genetik bozukluklara neden olmaktadır. Bu toksik etki bilinçsizce ve çok fazla kullanılan pestisitlerin uygulamalarını kısıtlayan en önemli faktördür. Pestisitlerin toksik etkinin aydınlatılması ve zararsız uygulama dozunun belirlenmesi için yapılan

alışmalar gün geçtikçe önem kazanmakta ve pestisit çeşitliliği düşünüldüğünde bu tür çalışmaların yetersiz olduğu düşünülmektedir [7].

2.2. Karbamatlar

Karbamatlar, karbamik asidin bir türevidir. Karbamat yapıdaki bileşiklerin suda çözünürlükleri ve buhar başınları düşüktür. Oda sıcaklığında buharlaşarak havaya dağılabilmekte ve sucul ortamlarda ışık absorblayarak paralanmaktadırlar. Toprağa uygulanan karbamatların ise metabolik parçalanmasında ilk olarak hidroliz meydana gelmektedir. Karbamik asit esterleri kolinerjik aktivitelerinden dolayı farmakoloji alanında kullanılmaktadır. Bunlardan en çok kullanılanlar, doğal bir bitki türevi olan phsostigmin ve bundan daha dayanıklı özellikteki prostigmindir. Söz konusu bileşikler yapı olarak asetilkoline benzemektedir ve böceklerde kolinesteraz enzim aktivitesini inhibe etmektedir [8]. Bu grupta yer alan insektisitler hedef organizmanın yanı sıra diğer hayvanlar ve insanlar üzerinde de toksik etki göstermektedir. İnsanlarda solunum ve santral sistemi anormallikleri toksik etkilerinin başında gelmektedir. İnsanlarda karbamat grubu insektisitlerle zehirlenme başlıca asetilkolinesteraz inhibisyonu yolu ile gerçekleşmektedir. Fakat bu inhibisyon reversibldir ve bu nedenle toksik etki diğer pestisitlere kıyasla düşük seyretmektedir. Ayrıca biyotransformasyon ve detoksifikasyon mekanizmaları ile de toksik etkileri azaltılmaktadır. Karbamik asit esterlerinden kaynaklanan zehirlenmelerde gözlenen belirtiler; göz yaşarması, tükürük salgısının artması, miyozis, konvülziyon, göz bebeklerinde küçülme, yüksek derecede sarsıntılar ve ölüm olarak sayılabilmektedir. Akut zehirlenme durumunda belirtiler 1 saat içerinde ortaya çıkmaktadır. Tüm detoksifikasyon ve zayıf mutajenik etkilerine rağmen, zayıf asidik ortamlarda nitritlerle etkileşen Karbamatlar, mutajen ve kanserojen nitroz türevlerine dönüşerek toksisiteye sebep olmaktadır [9].

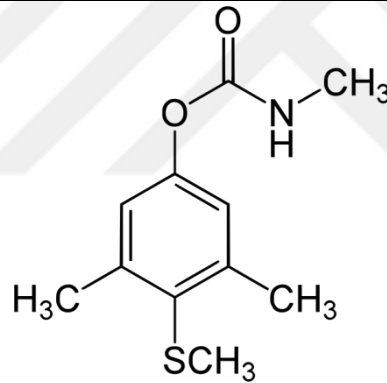
Karbamatlı bileşikler grubunda yer alan kimyasallar, böceklerde de kolinesteraz enzimini inhibe ederek mide zehirlenmeleri ve ölümlere sebep olmaktadır. Herbisit ve fungusit özellikteki karbamat bileşiklerinin asetilkolin inhibisyonu özelliği bulunmamaktadır. Bu özellikteki herbisitler fotosentez ya da karbonhidrat metabolizmasına etki ederek yabani otların ölmesine sebep olmaktadır [9].

Metiokarb, karbamat yapıda ve asetilkolin esterazı geri dönüşümlü olarak inhibe etmektedir. 1960'lardan beri bir kuş kovucu, insektisit, akarisit ve mollusisid olarak kullanılan bir pestisittir [10,11].

2.2.1. Metiokarb

Metiokarb [3,5-dimethyl-4-(methylthio)], tek olarak ya da metaldehid ile birlikte tarım sektöründe yaygın olarak kullanılan bir karbamat mollusisittir. Merkattodimether, metmerkapturon ve mesurol isimleriyle de adlandırılmaktadır. Kimyasal formülü $C_{11}H_{15}NO_2S$ 'dir ve moleküler ağırlığı 225.312 gr'dır. 1.25 g cm^{-3} yoğunluğa sahip olan metiokarbın erime ısısı 118.5°C 'dir ve kimyasal yapısı ile diğer kimyasal özellikleri Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Metiokarbın kimyasal yapısı ve özellikleri



Kimyasal Formülü	$C_{11}H_{15}NO_2S$
Moleküler Ağırlığı	225.312
Yoğunluk	1.25 g cm^{-3}
Erime Noktası	118.5°C
Kaynama Noktası	311°C
Suda Çözünürlüğü	0.027 g L^{-1}
Renk	Renksiz kristalik yapı

Metiokarb, 1960 yılından beri, insanlarda ve hayvanlarda doğrudan hastalığa neden olan, ekinleri, gıda ve tekstil ürünlerini yok eden böceklerle mücadelede kullanılmaktadır. Ayırıştırmak için ısıtıldığında oldukça zehirli olan kükürt oksit ve azot oksit dumanı açığa çıkmaktadır. Metiokarb farklı hedef organizmalara karşı toksin olarak da kullanılmaktadır. Salyangozlara, böceklerle, kemirgenlere karşı mücadele kullanılmakta ve kuş kovucu özelliğinden de faydalanılmaktadır [12,13]. Bir mollusisid olarak *Eobania vermiculata*'ya karşı yüksek dozda oldukça etkili olduğu ve salyangozlar için LD₅₀ değerinin 414 µg olduğu belirtilmektedir [14]. Bir çalışmada kuşların istilasını önlemek amacıyla *Quelea* tohumlarına Metiokarb uygulanmış, kuş kovucu olarak metiokarbın etkili olduğu bildirilmiştir [15]. Özellikle Karadeniz bölgesinde Fındık kurduna karşı mücadele sıkça kullanılan metiokarb, pek çok fındık zararlılarına karşı ve diğer bazı bitkilerdeki hastalık etmenlerine karşı mücadelede de kullanılmaktadır (Tablo 2. 2).

Tablo 2.2. Metiokarb'ın kullanıldığı bitki türleri ve etki ettiği hedef organizmalar (16)	
Bitki	Hedef organizmalar
Karanfil	Çiçek tripsi (<i>Frankliniella intonsa</i>)
Şeker pancarı	Toprakaltı zararlıları (<i>Collembola</i> spp., <i>Blaniulus</i> spp. <i>Agriodes</i> spp.)
Fındık	Fındık Kurdu (<i>Balaninus nucum</i>)
	Fındık Kokarcası (<i>Palomena prasina</i>)
	Kır Tırtılı (<i>Lymantria dispar</i>)
	Kızılağaç böceği (<i>Agelastica alni</i>)
	Fındık teke böceği (<i>Oberea linearis</i>)

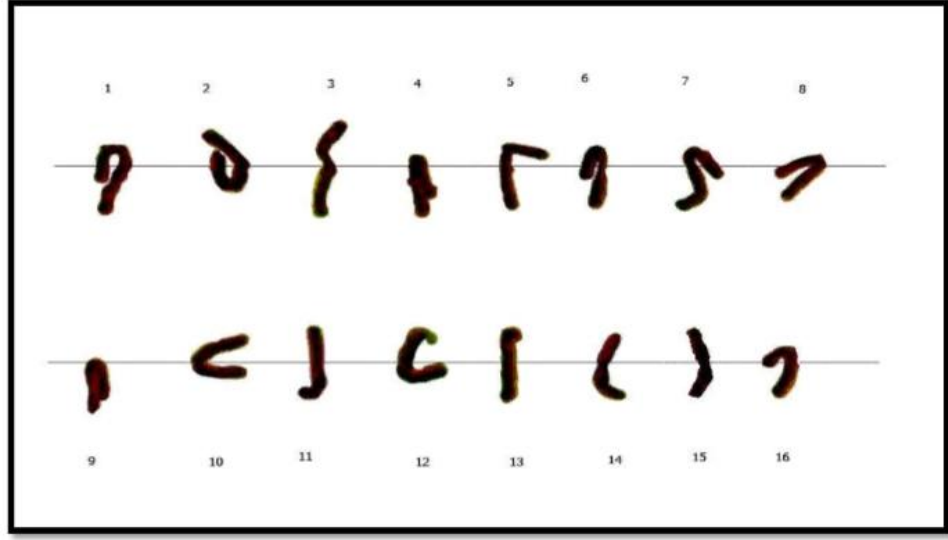
Metiokarbın karbamat grubunun metabolik parçalanması sonucunda metilkarbamik asit ortaya çıkmakta ve bu ara ürün asetilkolinesteraza bağlanarak enzim inhibisyonuna neden olmaktadır. Asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin inhibisyonu ise impuls iletimini olumsuz yönde etkilemektedir. Kolinerjik etkilerine ek olarak, Methiokarb'ın östrojen, antiandrojen ve aromataz inhibitörü olarak işlev gören bir endokrin bozucu olduğu da rapor edilmektedir. Kontaminasyon sonucunda

Metiokarbın insanlarda nikotinik ve muskarinik aktiviteye sahip olduğu ve kontaminasyon sonucunda depresyon, diyare, dispne, amaçsız göç, ataksi, pulmoner ödeme bağlı ölüme neden olduğu da belirtilmektedir [17-19].

Boran ve ark. (2007) Metiokarb'ın 0.7 mg L⁻¹ ile 28.0 mg L⁻¹ arasındaki dozlarının *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. ve *Poecilia reticulata* Guppy. balıklarında akut toksisiteye neden olduğunu ve bu toksisitenin *O. mykiss*'da *P. reticulata*'ya göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir [20]. Metiokarb uygulaması sonucunda balıklarda mortalite insidansında artış rapor edilmiştir. Metiokarbın solunma yoluyla kontaminasyonu mukoza zarında hasara neden olabilmektedir. Ayrıca su yaşamı için de oldukça zehirli bir kimyasaldır. Metiokarb maruziyetinin diğer yan etkileri arasında ise aşırı terleme, spontan defekasyon ve spontan idrara çıkma, artmış salivasyon, baş ağrısı, lakrimasyon, konvulsiyonlar, zihinsel karışıklık, bilinç kaybı, halsizlik ve koma sayılabilir [21]. Özden ve ark. (2013) Metiokarb uygulamasının Wistar ratlarda karaciğer ve böbrek MDA ve Glutasyon seviyeleri ile Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutasyon Peroksidaz aktivitelerinde önemli artışlara neden olduğunu bildirmişlerdir [22].

2.3. *Allium cepa* testi

Yüksek yapılı bitkiler pestisit gibi çeşitli kimyasalların toksisitesinde biyoindikatör olarak kullanılmaktadır. Bitkilerin biyoindikatör olarak kullanımı, Birleşmiş Milletler Çevre Programı ve ABD Çevre Koruma Ajansı'nın (USEPA) uluslararası programlar tarafından standartlaştırılmıştır [23, 24]. USEPA ve Dünya Sağlık Örgütü, bu biyoanalizlerden elde edilen verilerin genotoksitenin belirlenmesinde etkili ve güvenilir olduğunu kabul etmektedir [25]. *A. cepa* testi toksisitenin belirlenmesinde uygulanan yaygın bir yöntemdir. *A. cepa*, monosentrik kromozomlu diploid (2n=16) bir genomuna sahiptir. Kromozomlar oldukça büyük ve karyomorfolojik değişikliklerin saptanması için kullanışlıdır. Kromozomlar metasentrik, submetasentrik ve subtelosentrik olarak yapısal farklılık göstermektedir (Şekil 2.2). *A. cepa*, toksik ajanların fizyolojik, sitotoksik, genotoksik, klastojenik ve aneugenik etkilerinin saptanmasında oldukça kullanışlıdır [26, 27].



Şekil 2.2. *A. cepa* kromozom karyotipi [28]

A. cepa testi hızlı çimlenme ve kök uzaması sayesinde pek çok analize imkân sağlamaktadır. Çeşitli maddelerin toksisitesini değerlendirmek için çimlenme ve kök büyümesi ile ilgili parametrelerin kullanımı oldukça önemlidir. Çünkü çimlenme ile ilgili veriler bileşiklerin öldürücü etkilerini değerlendirmede kullanılabilir. Bununla birlikte çimlenme veya kök büyümesindeki gecikme sub-letal dozlar hakkında bilgi sağlamaktadır [29]. Kök büyümesi analizleri ile büyümenin %50 inhibisyonunun olduğu konsantrasyon (IC_{50}) belirlenebilmekte ve kontrol grubu ile kıyaslanarak toksisitenin derecesi tahmin edilebilmektedir. Bunlar dışında *A. cepa*'da Mitotik indeks (MI), Mikronukleus (MN), Kromozomal anormallikler (CA) de kullanılan ana biyoindikatör parametreleridir. Bitkilerde organların büyümesi, sürekli hücre bölünmesi ile ilişkili olduğundan kök büyümesi, MI'daki artışla bağlantılıdır [30]. MI, hücre çoğalması hakkında bilgi vermekte ve mitoz bölünmedeki hücre sayısı ile toplam hücre sayısının oranını ifade etmektedir. Böylece, dokulardaki yoğun mitotik bölgelerin belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Kök ucundaki meristematik bölgelerde aktif çoğalma gerçekleşmekte ve MI oranları yüksek çıkmaktadır. Özellikle *A. cepa* kök ucu hücreleri MI oranları toksik etkiden ciddi şekilde etkilenmekte ve kimyasal ajanların toksisitesinin belirlenmesinde güvenilir sonuçlar sağlamaktadır [31,32]. *A. cepa*'da genetik hasarın belirlenmesi ilk defa Levan tarafından, 1938 yılında kolşisin etkisiyle oluşan mitotik bozulmaların

gözlenmesi ile gerçekleşmiştir. *A. cepa* ile pek çok sitotoksiste ve genotoksiste testleri gerçekleştirilmiştir ve bu sonuçlar diğer toksiste testleri ile de karşılaştırılmıştır [33]. Rank ve Nielson (1994), kemirgenler ve *A. cepa* ile gerçekleştirdikleri kanserojenik testlerde %82 korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir [34]. Vicentini ve ark. (2001) sitotoksiste ile genotoksiste tayininde *A. cepa* testinin güvenilir bir test olduğu belirtmişlerdir [35]. *A. cepa* testi kimyasallar tarafından indüklenen ve hasar sonucu ortaya çıkan MN oluşumlarının da kolaylıkla belirlenmesinde kullanılmaktadır [36]. Bir hücrede MN varlığı ve frekansı toksistenin önemli bir indikatörüdür. MN'ler kromozom aberasyonu, poliploidizasyon sonrası kromozomların yeniden düzenlenmesi, kromozom kırığı yâda iğ ipliği hatalarından kaynaklanmaktadır [37]. MN frekansı ve büyüklüğü toksik etki hakkında bilgi sağlamaktadır. Küçük MN oluşumları anojenik etkiye, büyük MN oluşumları ise klastojenik etkiye işaret etmektedir. Anojenik etki sonucu oluşan sentromer bölünme hataları, iğ iplikçik hasarları küçük yapıda MN oluşumları ile klastojenik etki sonucunda oluşan kromozom kırıkları ise daha büyük MN oluşumları ile sonuçlanmaktadır [38, 39]. Klastojenik ve anojenik kimyasalların etkileri CA analizleri ile daha da detaylandırılmaktadır. Kromozom köprüleri ve kromozom kırıkları klastojenik etkiyi karakterize eden en belirgin CA'lardır. Kalın kromozom, kromozom kaybı, C-metafaz, kromozom yapışkanlığı ve çok kutuplu bölünmeler ise aneugenik ajanlar tarafından indüklenmektedir [40]. Her bir kromozom hasarı *A. cepa* testi ile rahatlıkla ayırt edilebilir ve bir ajanın toksiste mekanizması rahatlıkla aydınlatılabilmektedir.

Bu bilgiler ışığında, çalışma kapsamında Türkiye'de tarım alanlarında özellikle fındık kurdu (*Curculio nucum* L.), fındık kokarcası (*P. prasina*), kırtırtılı (*L. dispar*), kızıl ağaç böceği (*A. alni*), fındık tekeböceği (*O. linearis*), çiçek tripsi (*F. intonsa*) ve toprakaltı zararlıları (*Collembola* spp., *Blaniulus* spp. *Agriodes* spp.) ile mücadelede yaygın olarak kullanılan Metiokarb mollusitinin toksik etkileri *A. cepa* testi kullanılarak belirlenmiştir. Toksik etkiler fizyolojik ve sitogenetik açıdan değerlendirilmiştir. Fizyolojik etkiler çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı parametreleri ile araştırılmıştır. Sitogenetik etkiler ise MI, MN ve kromozomal anormallik parametreleri ile incelenmiştir.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Test Materyali ve Uygulama Dozları

Kimyasal ajan olarak Metiokarb, test materyali olarak ise eşit büyüklükteki *A. cepa* bulbları kullanılmıştır. Bulblar 1 kontrol ve 3 uygulama olacak şekilde dört (4) gruba ayrılmış, kontrol grubuna ait bulblar çeşme suyu, Metiokarb uygulama grubundaki bulblar ise 2.5 mg L⁻¹, 5.0 mg L⁻¹ ve 7.5 mg L⁻¹ Metiokarb dozlarıyla, 24 °C’de 72 saat süresince çimlendirilmiştir.

3.2. Fizyolojik Parametrelerin Ölçümü

Bulbların kök uzunlukları radikula oluşumu esas alınarak milimetrik cetvel, ağırlık kazanımları ise hassas terazi ile ölçülmüştür. Ağırlık değişimleri; Metiokarb uygulaması öncesi ve sonrasında belirlenen ağırlıkların farkı alınarak hesaplanmıştır. Çimlenme yüzdesi ise Eşitlik 1 yardımıyla tespit edilmiştir [41].

$$\text{Çimlenme yüzdesi (\%)} = \frac{\text{Çimlenen Bulb Sayısı}}{\text{Toplam Bulb Sayısı}} \times 100 \quad (1)$$

3.3. Kromozomal Hasar, MI ve MN Analizleri

Kök uçları yaklaşık 1-2 cm uzunluğunda kesilmiş, 2 saat “Clarke” fiksatoründe (3:etanol / 1:glasiyal asetik asit) fikse edilmiş, 15 dakika %96’lık etanol’de yıkanmış ve deneysel işlemlere kadar %70’lik etanolde +4 °C’de bekletilmiştir.

Daimi preparasyon için kök uçları 60 °C’de 17 dakika 1N HCl’de hidrolize edilmiş, 30 dakika %45’lik asetik asitte bekletilmiş, 24 saat asetokarmin’de boyanmış, %45’lik asetik asitte ezilerek, araştırma mikroskopunda X200 büyütmede sayılmış ve X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır [42].

Mikronükleus (MN) sıklığı için her bir uygulama grubunda toplam 1000 hücre sayılmış, MN’li hücreler mikroskop altında belirlenerek X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır.

MN belirlenmesinde Fenech ve ark. (2003)’nın kriterleri esas alınmıştır. Buna göre:

- i. MN, hücre nükleusunun 1/3'ü yâda daha küçük olmalıdır,
- ii. MN, yuvarlak yâda oval olmalıdır,
- iii. MN zarı, hücre nükleusundan net bir şekilde ayırt edilebilmelidir.

Mitotik indeks (MI), her bir grup için 10.000 hücre sayılarak, Eşitlik 2 yardımıyla hesaplanmıştır [43].

$$\text{Mitotik İndeks (MI)} = \frac{\text{Mitoza Girmiş Hücre}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100 \quad (2)$$

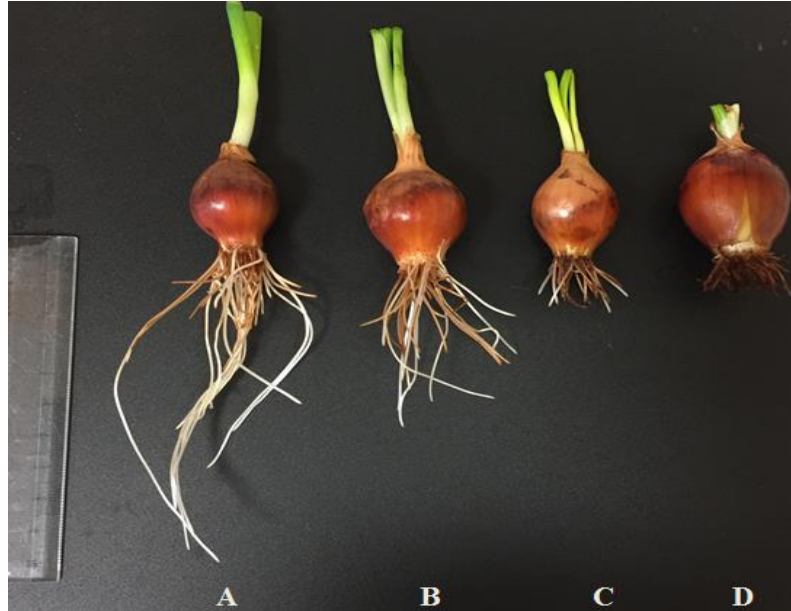
3.4.İstatiksel Analiz

İstatiksel analizler “IBM SPSS Statistics 22” paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verileri ortalama $\pm$ SD (standart sapma) şeklinde gösterilmiştir. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem One-way ANOVA ve Duncan testi ile belirlenmiş, p değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Metiokarb uygulamasının çimlenme üzerine etkisi Tablo 4.1’de gösterilmiştir. En fazla çimlenme %97’lik oranla kontrol grubunda, en düşük çimlenme yüzdesi ise Metiokarb’ın 7.5 mg L⁻¹ dozuyla muamele edilen grupta gözlenmiştir. Uygulanan Metiokarb dozunun artması ile çimlenme yüzdesinin azaldığı belirlenmiştir. Grup IV’de çimlenme yüzdesinin kontrol grubuna oranla yaklaşık 2.9 kat azaldığı belirlenmiştir.

Metiokarb uygulamasının kök uzunluğuna etkisi Tablo 4.2 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir. En fazla kök uzaması ortalama 14.36 cm ile kontrol grubunda (Grup I), en az ise ortalama 4.15 cm ile Metiokarb’ın 7.5 mg L⁻¹ dozuyla muamele edilen Grup IV’de ölçülmüştür. Kontrol grubuna göre kök uzunluğu, Metiokarb ile muamele edilen gruplardan Grup II’de 2.62 cm, Grup III’de 7.19 cm ve Grup IV’de ise 10.21 cm azalmış, bu azalışlarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu (p<0.05) tespit edilmiştir. Kök uzunluğu ile uygulanan doz arasında ters orantılı bir değişim olduğu, uygulanan Metiokarb dozunun artması ile kök uzunluğunun azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Metiokarb’ın kök uzunluğuna etkisi (A: kontrol, B: 2.5 mg L⁻¹ Metiokarb, C: 5.0 mg L⁻¹ Metiokarb, D: 7.5 mg L⁻¹ Metiokarb)

Tablo 4.1. Metiokarb dozlarının çimlenme üzerine etkisi

Gruplar	Bulb Sayısı	Çimlenen bulb sayısı	Çimlenmeyen bulb sayısı	Çimlenme yüzdesi (%)
Grup I	30	29	1	97
Grup II	30	24	6	80
Grup III	30	17	13	57
Grup IV	30	10	20	33

Tablo 4.2. Metiokarb dozlarının kök uzunluğuna (cm) etkisi

Gruplar	Minimum kök uzunluğu	Maksimum kök uzunluğu	Ortalama kök uzunluğu
Grup I	10,40	16,40	14,36±2,00 ^a
Grup II	8,90	14,80	11,74±2,14 ^b
Grup III	5,30	10,40	7,17±1,72 ^c
Grup IV	2,70	6,50	4,15±1,10 ^d

Grup I: Kontrol, Grup II: 2.5 mg L⁻¹ Metiokarb, Grup III: 5.0 mg mg L⁻¹ Metiokarb, Grup IV: 7.5 mg mg L⁻¹ Metiokarb. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "One-Way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05).

Metiokarb uygulamasının bulb ağırlığına etkisi Tablo 4.3'de gösterilmiştir. En fazla ağırlık artışı ortalama 10.35 g ile kontrol grubunda (Grup I), en az ise ortalama 2.19 g ile Metiokarb'ın 7.5 mg L⁻¹ dozuyla muamele edilen Grup IV'de belirlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla, bulb ağırlığı Grup II'de 2.7 g, Grup III'de 5.94 ve Grup IV'de ise 8.16 g azalış göstermiş, bu azalışlarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu (P<0.05) tespit edilmiştir.

Metiokarb uygulamasının MN oluşumuna etkisi Tablo 4.4 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. En az MN oluşumu ortalama 0.3'lik oranla kontrol grubunda (Grup I), en fazla ise ortalama 51.50'lik oranla Metiokarb'ın 7.5 mg L⁻¹ dozuyla muamele edilen Grup IV'de gözlenmiştir. Grup IV'de MN sayısı, Grup II'ye oranla 4.2 kat ve Grup III oranla ise 1.9 kat artış göstermiş, bu artışlarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu (p<0.05) belirlenmiştir.

Tablo 4.3. Metiokarb dozlarının ağırlık artışı üzerine (g) etkisi

Gruplar	Başlangıç ağırlık	Son ağırlık	Ağırlık Artışı
Grup I	4,62±0,52 ^e	14,97±1,62 ^a	+10,35
Grup II	4,54±0,57 ^e	12,19±1,56 ^b	+ 7,65
Grup III	4,67±0,43 ^e	9,08±1,36 ^c	+ 4,41
Grup IV	4,62±0,59 ^e	6,81±1,01 ^d	+ 2,19

Tablo 4.4. Metiokarb dozlarının mikronukleus (MN) oluşumuna etkisi

Gruplar	Minimum MN	Maksimum MN	Ortalama MN
Grup I	0	1	0,30±0,48 ^d
Grup II	8	17	12,20±3,39 ^c
Grup III	20	35	27,10±4,93 ^b
Grup IV	45	58	51,50±4,38 ^a

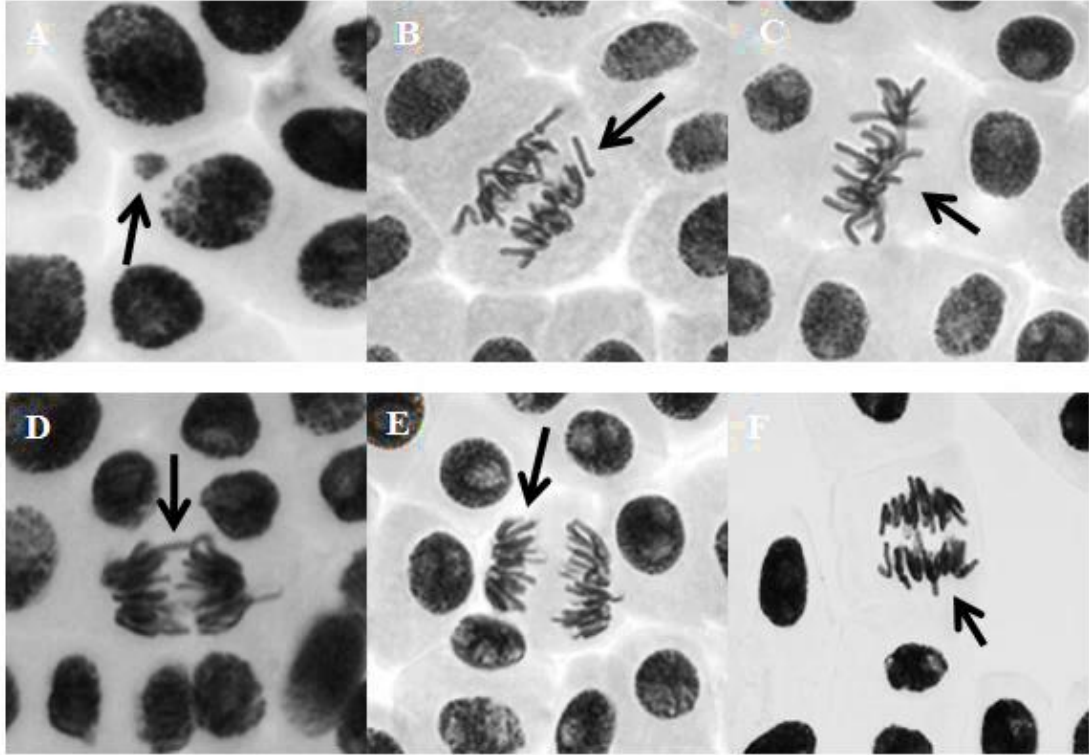
Grup I: Kontrol, Grup II: 2.5 mg L⁻¹ Metiokarb, Grup III: 5.0 mg mg L⁻¹ Metiokarb, Grup IV: 7.5 mg mg L⁻¹ Metiokarb. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=10). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "One-Way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05). MN analizi için toplam 1000 hücre sayılmıştır

Metiokarb uygulamasının teşvik ettiği kromozomal hasarlar Tablo 4.5 ile Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Kontrol grubu (Grup I) kök uçlarında sadece birkaç yapışkan kromozom hasarı gözlenirken, Metiokarb uygulanan gruplarda ise Metiokarb dozuna bağlı olarak kromozomal hasarların oranında artış tespit edilmiştir. Mikroskopik gözlemler sonucunda, Metiokarb uygulanan gruplarda, oranları farklılık göstermekle birlikte, sırasıyla *fragment* > *yapışkan kromozom* > *köprü* > *kromatinin eşit olmayan dağılımı* > *vagrant kromozom* şeklinde kromozomal hasarlar gözlenmiştir. Kontrol grubuna oranla, Metiokarb uygulama gruplarında gözlenen kromozomal hasar sayılarındaki bu artışların ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu (p<0.05) belirlenmiştir.

Tablo 4.5. Metiokarb dozlarının teşvik ettiği kromozomal hasarlar

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
FRG	0,00±0,00 ^d	19,50±2,91 ^c	41,40±4,35 ^b	64,00±6,34 ^a
YK	0,20±0,42 ^d	15,90±3,28 ^c	32,60±3,63 ^b	50,40±5,46 ^a
K	0,00±0,00 ^d	12,00±2,00 ^c	22,20±3,61 ^b	39,70±3,23 ^a
KED	0,00±0,00 ^d	10,10±1,45 ^c	17,40±3,75 ^b	30,20±3,49 ^a
VK	0,00±0,00 ^d	6,70±2,00 ^c	11,40±2,22 ^b	17,50±2,80 ^a

*Grup I: Kontrol, Grup II: 2.5 mg L⁻¹ Metiokarb, Grup III: 5.0 mg L⁻¹ Metiokarb, Grup IV: 7.5 mg/L Metiokarb. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 10). Kromozomal hasarlar içintoplamda ise 1.000 hücre analiz edildi. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05). FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, K: köprü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, VK: vagrant kromozom.



Şekil 4.2. Metiokarb'ın teşvik ettiği kromozomal hasarlar (A: MN, B: fragment, C: yapışkan kromozom, D: köprü, E: kromatinin eşit olmayan dağılımı, F: vagrant kromozom)

Metiokarb uygulamasının bölünen hücrelerin oranını gösteren MI üzerine etkisi Tablo 4. 6'da gösterilmiştir. En fazla MI %8.51'lık oranla kontrol grubunda, en az ise % 5.02'lık oranla Metiokarb'ın 7.5 mg L⁻¹ dozuyla muamele edilen Grup IV'de tespit edilmiştir. Kontrol grubuna oranla MI Grup II'de 1.15, Grup III'de 1.33 ve Grup IV'de ise 1.69 kat azalmış, bu azalışlarında istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.6. Metiokarb dozlarının mitotik indeks (MI) üzerine etkisi

Gruplar	Hücre sayısı	MI	% MI
Grup I	10.000	851,30±24,58 ^a	8.51
Grup II	10.000	742,20±21,03 ^b	7.42
Grup III	10.000	642,50±30,42 ^c	6.42
Grup IV	10.000	502,70±31,71 ^d	5.03

*Grup I: Kontrol, Grup II: 2.5 mg L⁻¹ Metiokarb, Grup III: 5.0 mg L⁻¹ Metiokarb, Grup IV: 7.5 mg L⁻¹ Metiokarb. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterilmiştir (n=10). MI için, her bir gruptaki her bir kök ucunda 1.000 hücre, toplamda ise 10.000 hücre analiz edilmiştir. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "One-Way" ANOVA varyans analizi kullanılarak belirlenmiştir. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05).

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Pestisitler tarımda daha fazla ürün elde edebilmek amacıyla kullanılmaktadır. Hedef organizmalar üzerindeki toksik etkileri ürün miktarında artışına yol açmakta fakat pek çok sorunu da beraberinde getirmektedir. Üründeki pestisit kalıntısı çözülmesi gereken en önemli problemlerdendir. Bunun yanında ürün kalitesinde de değişimler gözlenebilmektedir. Pestisitler hedefledikleri organizmalar dışındaki canlılarda da toksisiteye neden olmaktadır. Bu nedenle her bir pestisit kullanıma sunulmadan önce hedef dışı organizmalarda da test edilmeli ve doz-toksisite ilişkisi aydınlatılmalıdır. Özellikle kontaminasyon yoluyla insanlar dahil pek çok canlıya ulaşabilen pestisitlerin ökaryotik canlı sistemlerdeki etkileri detaylı olarak incelenmelidir.

Bu çalışmada tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan Metiokarb mollusitinin toksik etkileri fizyolojik ve sitogenetik parametreler kullanılarak, *A. cepa* test materyalinde araştırılmıştır. Metiokarb özellikle Karadeniz bölgesinde fındık zararlılarına karşı yoğun olarak kullanılmaktadır. Toprakta birikimi, yağmur suları ile denize ve ırmaklara ulaşması bu pestisitinin diğer canlılara da kontamine olmasına neden olabilmektedir. Bu amaçla Metiokarbın hedef dışı organizmalarda özellikle ökaryotik sistemlerde etkileri detaylı araştırılmalıdır. Bu kapsamda çalışmamızda Metiokarb'ın hedef dışı organizmalardaki toksik etkileri ökaryotik canlı olan *A. cepa* ile test edilmiştir. *A. cepa* testi toksisitenin multiparametreliliği incelenmesine olanak tanımaktadır. Metiokarbın toksik etkileri fizyolojik, sitotoksik ve genotoksik açıdan değerlendirilmiştir. Fizyolojik etkiler çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı ile belirlenirken sitotoksik etkiler bir hücredeki proliferasyonun göstergesi olan MI değeri ile araştırılmıştır. Metiokarbın genotoksik etkileri MN sıklığı, kromozomal anormallik sıklığı ve tipleri araştırılarak belirlenmiştir. Sitotoksik etkiler ve genotoksik etkiler ise sitogenetik etkiler başlığı altında birleştirilerek incelenmiştir.

Metiokarb uygulaması, fizyolojik parametrelerde doza bağlı olarak ciddi azalmalara sebep olmuştur. Metiokarbın çimlenme oranında önemli derecede toksisiteye neden olmuş, en fazla çimlenme %97'lik oranla kontrol grubunda, en düşük çimlenme yüzdesi ise Metiokarb'ın 7.5 mg L⁻¹ dozuyla muamele edilen grupta %33 olarak gözlenmiştir. Kök uzunluğu çimlenmeyi gösteren önemli bir parametredir. Kök uzaması da Metiokarb toksisitesinden etkilenmiştir ve Metiokarb dozunun artması ile

kök uzunluğunun azaldığı belirlenmiştir. Kontrol grubunda kök uzunluğu 14.36 cm olarak tespit edilmiş, Metiokarb uygulanan Grup II'de kök uzunluğu 2.62 cm, Grup III'de 7.19 cm ve Grup IV'de ise 10.21 cm azalmıştır. Fizyolojik parametrelerden ağırlık kazanımı kök uzaması ve çimlenme ile ilişkilidir. Bu parametrelerde anormallik olması ağırlık kazanımını da etkilemektedir. 10.35 g ağırlık artışı gözlenen kontrol grubuna kıyasla, bulb ağırlığı Grup II'de 2.7 g, Grup III'de 5.94 ve Grup IV'de ise 8.16 g azalış göstermiştir.

Literatürde Metiokarb ile ilgili olmasa da, diğer pestisitlerin *A. cepa*'da fizyolojik parametreler üzerine etkilerini araştıran çalışmalar mevcuttur. Çavuşoğlu ve ark. (2012) Tiyametoksam insektisinin 100, 250 ve 500 mg kg⁻¹ dozlarının *A. cepa* tohum fizyolojisine etkileri araştırmışlar, sonuçta Tiyametoksam uygulamasının, doz artışına bağlı olarak çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve tohum ağırlığında azalmalara neden olduğunu rapor etmişlerdir [44]. Demirtaş ve ark. (2014) ise Dinikanazol herbisitinin farklı dozlarının (20,50 ve 100 ppm) *A. cepa* tohum çimlenmesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı üzerine etkilerini araştırmışlar, sonuçta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, uygulanan Dinikanazol dozuna bağlı olarak, araştırılan fizyolojik parametrelerde azalma tespit edilmiş, bu azalma, Dinikanazol'un 100 ppm dozunda çimlenme yüzdesi için yaklaşık %56 ve ağırlık kazanımı için ise %20 olarak belirlenmiştir [45]. Acar ve ark. (2015) ise benzer bir çalışmada, Paraquat herbisitinin 10, 50 ve 100 ppm dozlarının *A. cepa* tohumlarının fizyolojisi üzerine etkilerini araştırmış, sonuçta Paraquat'ın tohum çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık kazanımında doz artışına paralel bir azalmaya neden olduğunu gözlemlemişlerdir [46].

Metiokarb uygulaması *A. cepa* kök ucu hücrelerinde sitogenetik etkilere de neden olmuştur. Metiokarb dozuna bağlı olarak kromozomal hasar ve MN sayılarında artış, bölünen hücrelerin sayısını gösteren MI yüzdesinde ise azalma tespit edilmiştir. Metiokarb uygulanan gruplarda fragment, yapışkan kromozom, köprü, kromatinin eşit olmayan dağılımı, vagrant kromozom şeklinde kromozomal hasarlar gözlenmiştir. Literatürde metiokarb ile ilgili çalışmalar henüz yetersiz düzeydir. Fakat Metiokarb gibi karbamat yapıda diğer bileşiklerle ve pek çok pestisit ile yapılmış toksisite çalışmaları mevcuttur. Günter ve arkadaşları (2014) karbamat yapıda bir herbisit uyguladıkları *Allium cepa* ve *Hordeum vulgare*'de iğ ipliklerinin

inhibe olduğunu, kromozomal düzensizliklerin oluştuğunu, mitoz bölünmede gecikmeler gözlemlendiğini rapor etmişlerdir [47]. Dragoeva ve ark. (2012) Oksiflorfen herbisitinin 1.2 ml L⁻¹, 0.6 ml L⁻¹ and 0.3 ml L⁻¹ dozlarının *A. cepa*'da genotoksik etkilerini araştırmışlar, sonuçta Oksiflorfen'in MI'de azalmaya, fragment, vagrant kromozom, multiple anafaz, iğ ipliği hasarı gibi kromozomal hasarların sayısında artış ile interfazda MN oluşumuna neden olduğunu rapor etmişlerdir [48]. Gogoi ve ark. (2016) ise Malathion'un %0.1 ila %0.9 arasındaki konsantrasyonlarının *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik bölünmenin baskılanarak MI'in azalmasına, iğ ipliği oluşumunun engellenmesine, kromozom büzülmelerinin ve kromozom eşleşme kusurlarının oluşmasına neden olduğunu tespit etmişlerdir [49]. Topçu ve ark. (2013) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir çalışmada ise Dursban 4 insektisitinin üç farklı konsantrasyonunun (600, 1200 ve 1800 ppm) *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki genotoksik etkileri araştırılmış, sonuçta Dursban 4 uygulamasının doza bağlı olarak MI azalttığı, MN sayısını arttırdığı, fragment, köprü ve yapışkan kromozom şeklinde hasar oluşumunu teşvik ettiği belirlenmiştir [50].

Sonuç olarak, tarım alanlarında zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılan Metiokarb'ın doza bağlı olarak toksik etkiler meydana getirdiği, *A. cepa* test materyalinin ise bu etkilerin gözlenmesinde güvenilir bir indikatör olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, zararlılarla mücadelede mümkün olduğunca biyolojik mücadelenin tercih edilmesi, kimyasal içerikli pestisit kullanımından kaçınılması ya da kullanımının zaruri olduğu durumlarda ise hedef olmayan organizmalarda en az toksisiteye neden olacak, uygun doz düzeylerinin belirlenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Beumont P., Pesticides, Europe and the environment : A Review. Pesticide News, 16, 12-15, 1992.
- [2] Courshee R.J., Some aspects of the application of insecticides. Ann. Rev.Ent., 5, 327-352., 1960.
- [3] Delp C.J., Fungicidal control of plant disease: modes of action and fungal resistance. 3rd International Conference on Plant Protection in the Tropics, Malaysia, Volume III, (pp. 99-104). 1990.
- [4] Van de Vrie M., McMurtry J.A., Huffaker C.B., Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: A review. III. Biology, ecology and pest status and host-plant relations of tetranychids. Hilgardia, 41 (13), 343-432, 1972.
- [5] Hoy M.A., Agricultural Acarology: Introduction to Integrated Mite Management. CRC Press, Boca Raton, 410, 2011.
- [6] Çağatay G., Çobanoğlu Z., Pestisitler, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara, 52, 1997.
- [7] İnək E., Çobanoğlu S., Akarisitler ve etki mekanizmaları. Türk. Entomol. Bül., 6(4), 371-382, 2016.
- [8] Morais S., Dias E., de Lourdes Pereira M., Carbamates: Human exposure and health effects. In: The Impact of Pesticides. 1st ed. Academy Publish. Org. 21-38, 2012.
- [9] Casida J.E., Augustinsson K.B., Jonsson G., Stability, toxicity and action mechanism with esterases of certain carbamate insecticides. Ibid., 53(2), 205-212, 1960.
- [10] United States Environmental Protection Agency (EPA). EPA. Prevention, pesticides and toxic substances: Methiocarb. 2013.
- [11] Unger T.A., Pesticide synthesis handbook. Park Ridge, N.J.: Noyes Publications. 86, 1996.
- [12] Herron G.A., Rophail J., Gullick G.C., Laboratory-Based, Insecticide efficacy studies on field-collected *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) and implications for its management in Australia. Aust. J. Entomol., 35(2), 161-164, 2007.
- [13] Radwan M.A., Essawy, A.E., Abdelmequied N.E., Hamed S.S., Ahmed A.E., Biochemical and histochemical studies on the digestive gland of *Eobania vermiculata* snails treated with carbamate pesticides. Pestic. Biochem. Physiol., 90(3), 154-167, 2008.
- [14] Shumake S.A., Gaddis Stanley E., Schafer E.W., Behavioral response of quelea to Methiocarb (MCSUROL). Bird Control Seminars Proceedings. 1976.
- [15] TARKİM Bitki Koruma Kataloğu, Copyright @ 2016 Tarkim Bitki Koruma Sanayi ve Ticaret A.Ş. <http://www.tarkimbk.com.tr/tr/urunler-detay/efdal-metcar-500-wp/>. Erişim tarihi 15.05.2018.

- [16] Raun A., Helle V., Anne M., Hoj R., Thomas G., Irene M., Cecilie E., Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 179(1), 1-12, 2002.
- [17] Wheeler L., Strother A., In vitro metabolism of the N-methylcarbamates, Zectran and Mesurol, by liver, kidney and blood of dogs and rats. *J Pharmacol. Exp. Therapeut.*, 178(2), 371-82, 1971.
- [18] Wheeler L., Strother A., Placental transfer, excretion, and disposition of [14C] Zectran and [14C] Mesurol in maternal and fetal rat tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 30(2), 163–174, 1974.
- [19] Willems P.W.J.M., Geursen-Reitsma A.M., Van Joost T., Allergic contact dermatitis due to methiocarb (Mesurol). *Contact Derm.*, 36, 270-271, 1997.
- [20] Boran M., Altınok İ., Çapkın E., Karaçam H., Biçer V., Acute toxicity of carbaryl, methiocarb, and carbosulfan to the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Guppy (*Poecilia reticulata*). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 31(1), 39-45, 2007.
- [21] Thierauf A., Gnann H., Bohnert M., Vennemann B., Auwärter V., Weinmann W., Suicidal poisoning with mercaptodimethur–morphological findings and toxicological analysis. *Int. J. Legal Med.*, 123(4), 327-331, 2009.
- [22] Özden S., Bolkent S., Gezgin-Oktayoglu, Arda-Pirincci P., Karatug A., Alpertunga B., Effects of taurine and vitamin E on lipid Peroxidation, antioxidant system and Histological changes in wistar rat liver and Kidney after short-term exposure of methiocarb. *J. Fac. Pharm. Istanbul*, 42(2), 83-102, 2012.
- [23] Ma T.H., Cabrera G.L., Owens E., Genotoxic agents detected by plant bioassays. *Rev. Environ. Health*, 20 (1), 1-14, 2005.
- [24] Ma T.H., Xu Z., Xu C., Mc Connell H., Rabago E.V., Arreola G.A., Zhang H., The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutat. Res.*, 334, 185-195, 1995.
- [25] Palmieri M.J., Andrade-Vieira L.F., Trento M.V.C., Eleutério M.W.F., Luber J., Davide L.C., Marcussi S., Cytogenotoxic effects of spent pot liner (SPL) and its main components on human leukocytes and meristematic cells of *Allium cepa*. *Water Air Soil Poll.*, 227, 1-10, 2016.
- [26] Firbas P., A survey of *Allium cepa* L. chromosome damage in Slovenian environmental water, soil, and rainfall samples. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol.*, 2 (1), 62-83, 2015.
- [27] Firbas P., Amon T., Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. *Caryologia*, 67(1):25-35. 2014.
- [28] Awe E.T., Akpan U.U., Cytological study of *Allium cepa* and *Allium sativum* *Actasatech*, 9(1), 113-120, 2017.
- [29] Solange B.T., Haywood D. L., Bioindicator of genotoxicity: The *Allium cepa* Test. *Environ. Contam.*, 138-156, 2012.
- [30] Silveira G.L., Lima M.G.F., Dos Reis G.B., Palmieri M.J., Andrade-Vieira L.F., Toxic effects of environmental pollutants: comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. *Chemosphere*, 178, 359-367, 2017.

- [31] Darbelley N., Driss-Ecole D., Perbal G., Elongation and mitotic activity of cortical cells in lentil roots grown in microgravity. *Plant Physiol. Bioch.*, 27, 341-347, 1989.
- [32] Driss-Ecole D., Schoevaert D., Noin M., Perbal G., Densitometric analysis of nuclear DNA content in lentil roots grown in space. *The Cell*, 81, 59-64, 1994.
- [33] Levan A., The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*. *Hereditas*, 24, 471-486, 1938.
- [34] Rank J., Nielsen M.H., Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. *Mutat. Res.*, 312, 17-24, 1994.
- [35] Vicentini V.E.P., Camparoto M.L., Teixeira R.O., Mantovani M.S., *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.: Medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. *Acta Sci.*, 23, 593-598, 2001.
- [36] Vanparys P., Vermeiren F., Sysmans M., Temmerman R., The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. *Mutat. Res.*, 244, 95-103, 1990.
- [37] Fernandes T.C.C., Mazzeo E.C., Marin-Morales M.A., Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 88, 252-259, 2007.
- [38] Von Ledebur M., Schmid W., The micronucleus test: Methodological aspects. *Mutat. Res.*, 19(1), 109-117, 1973.
- [39] Högstedt B., Karlsson A., The size of micronuclei in human lymphocytes varies according to inducing agent used. *Mutat. Res.*, 156(3), 229-32, 1985.
- [40] Sharma C.B.S.R., Panneerselvan N., Ma T-H., Genetic toxicology of pesticides in higher plant systems. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 9(5), 409-442, 1990.
- [41] Atik M., Karagüzel O., Ersoy S., Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(2), 203-210, 2007.
- [42] Staykova T.A., Ivanova E.N., Velcheva I.G., Cytogenetic effect of heavy metal and cyanide in contaminated waters from the region of southwest Bulgaria. *J. Cell Mol. Biol.*, 4, 41-46, 2005.
- [43] Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S., Zeiger E., Human Micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat. Res./Gen. Tox. En.*, 534(1), 65-75, 2003.
- [44] Çavuşoğlu K., Yalçın E., Türkmen Z., Yapar K., Sağır S., Physiological, anatomical, biochemical, and cytogenetic effects of thiamethoxam treatment on *Allium cepa* (Amaryllidaceae) L. *Environ. Toxicol.*, 27(11), 635-643, (2012).
- [45] Demirtaş G., Çavusoglu K., Yalçın E., Anatomic, physiologic and cytogenetic changes in *Allium cepa* L. induced by diniconazole. *Cytologia*, 80(1), 51-57, 2015.

- [46] Acar A., Çavuşoğlu K., Türkmen Z., Çavuşoğlu K., Yalçın E., The investigation of genotoxic, physiological and anatomical effects of paraquat herbicide on *Allium cepa* L. Cytologia, 80(3), 343-351, 2015.
- [47] Günter E., Nasta A., Investigations on the effects of a carbamate herbicide and colchicine on mitosis of *Allium cepa* and *Hordeum vulgare*. Theor. Appl. Genet., 42, 310-313, 2014.
- [48] Dragoeva A., Koleva V., Hasanova N., Slanev S., Cytotoxic and genotoxic effects of diphenyl-ether herbicide GOAL (Oxyfluoren) using the *Allium cepa* test. Res. J. Mut., 2, 1-9, 2012.
- [49] Gogoi P., Das S., Das S., Khan M.Z.A., Effect of organophosphorus insecticide, malathion on the division of meristems of *Allium cepa* L. Int. J. Pure App. Biosci., 4 (4), 114-122, 2016.
- [50] Topcu S., Yılmaz F., Ergene A., Tan S., *Allium cepa*'da dursban 4'ün genotoksik etkileri. Hacettepe J. Biol. Chem., 41(1), 21-27, 2013.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, Orta ve Lise eğitimini İstanbul'da tamamladı. 2006 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2012 yılında mezun oldu. 2017 yılında Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında başladığı Yüksek Lisans eğitimini Şubat 2019 yılında tamamladı. Yabancı Dili İngilizcedir.

