*Allium cepa*L. Kök Ucu Hücrelerinde Diazinon Toksisitesinin Araştırılması

Umut BIÇAKCI¹, Kültiğin ÇAVUŞOĞLU¹, Kürşad YAPAR², Ali ACAR³, Emine YALÇIN¹

ÖZET: Günümüzde tarımsal üretimi ve verimi arttırmada kimyasal içerikli tarım ilacı (*pestisit*) kullanımı oldukça artmıştır. Bu artış ciddi çevre ve sağlık sorunlarını da beraberinde getirmektedir. Bu çalışmada, tarım alanlarında zararlı böceklerle mücadelede kullanılan bir insektisit olan Diazinonun toksik etkileri *Allium cepa* L. test materyali kullanılarak araştırılmıştır. Köklenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı ve anatomik hasarlar toksisitenin fizyolojik indikatörleri, mitotik indeks (MI), kromozomal anormallik ve mikronukleus (MN) sıklığı ise toksisitenin *sitogenetik* indikatörleri olarak kullanılmıştır. *A. cepa* L. başları bir kontrol ve üç Diazinonun uygulama gurubu olmak üzere toplam dört gruba ayrılmıştır. 72 saat süresince kontrol grubundaki örnekler çeşme suyu, uygulama grubundaki örnekler ise Diazinon'un 50, 250 ve 500 mg L⁻¹ dozlarıyla muamele edilmişlerdir. Sonuçta, Diazinon uygulamasının doza bağlı olarak köklenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık kazanımı ve MI oranını azalttığı, kromozomal anormallik, MN ve anatomik hasar sayılarını ise arttırdığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, tarım sektöründe kullanılan Diazinon'un yüksek dozlarda toksisiteye neden olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Diazinon, fizyoloji, kromozomal anormallik, mikronukleus (MN), sitogenetik

The Investigation of Diazinon Toxicity in Root Tip Cells of *Allium cepa*(Onion) L.

ABSTRACT: In recent years, agricultural production and productivity using chemical pesticides have increased considerably. This increase is not without its concomitant environmental and health problems. In this study, the toxic effect of Diazinon in insecticides used the combat pests in agricultural areas, have been investigated using *Allium cepa* L. test material. The percentage of germination, root length, weight increase and anatomical damages as physiological indicators of toxicity, mitotic index (MI), chromosomal aberrations and micronuclei (MN), were used as the cytogenetic indicators of toxicity. The *A. cepa* L. heads were divided into four groups, comprising control group and the other as Diazinon treatment group. Seeds in the control group were treated with tap water for 72 hours, whereas seeds in the Diazinon treatment group were treated with 50, 250 and 500 mg L⁻¹ doses. As a result, depending on the Diazinon doses, decrease in dose dependent germination percentage, root length, weight increase and MI toxicity have been observed, whereas increase in numbers of chromosomal aberrations, MN and anatomical damage have observed. As a result, it is shown that Diazinon used in agriculture may cause toxicity at high doses.

Keywords: Chromosomal aberration, cytogenetic, diazinon, micronuclei (MN), physiology

¹ Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji, Giresun, Türkiye

² Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Giresun, Türkiye

³ Giresun Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Giresun, Türkiye
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Kültiğin ÇAVUŞOĞLU, kultigincavusoglu@mynet.com

GİRİŞ

Günümüzde dünyanın karşı karşıya kaldığı en büyük problemlerin başında beslenme sorunu gelmektedir. Dünya nüfusu hızla artmakta fakat bu nüfusu besleyecek tarım alanlarının sayısı ise her geçen gün azalmaktadır. Hal böyle olunca da, birim alandan en yüksek verim almak kaçınılmaz olmaktadır. Bu nedenle, tarım sektöründe bu iç açıcı olmayan durumun çözümü olarak pestisitlere kurtarıcı gözüyle bakılmaktadır (Karakaya ve Boyraz, 1992).

Tarımsal uygulamalarda hastalık ve zararlılarla mücadelede gerek uygulama kolaylığı

gerekse sonuçlarının daha kısa sürede alınması nedeniyle pestisit kullanımını her geçen gün artmaktadır (Kayış, 2010). Pestisitler, tarım ürünlerine zarar veren mikroorganizmaları, hastalık etmenlerini ve yabancı otları yok etmek amacıyla kullanılan biyolojik olarak aktif kimyasallardır (Ekebas et al., 2000). Pestisitlerin tarım alanlarında bilinçsiz ve yoğun miktarlarda kullanılması, toksik maddelerin toprak ve suda birikmesine sebep olurken; bunlarla beslenen canlıların vücuduna çeşitli yollarla (deri, solunum ve ağız yoluyla) girerek sağlık açısından da ciddi risk oluşturmaktadır (Vural, 1996). Bu durum çevre kirliliğine sebep olabildiği gibi, insan başta olmak üzere canlılar için kronik zehirlenmelere, sinir sistemi hasarlarına, enzim faaliyetlerinin engellenmesine ve hücre zar yapısının bozulmasına neden olmaktadır (Çakır ve Yamanel, 2005). Pestisitler; fiziksel yapılarına, formülasyonlarına ve etki ettikleri zararlı gruplarına vb. birçok şekilde sınıflandırılmaktadırlar. En yaygın kullanılanı ise etkili oldukları zararlı gruplarına göre herbisitler, insektisitler, akarisitler yapılan sınıflandırmadır. İnsektisitler modern tarımda zararlı böcekleri kontrol altında tutmak için kullanılan kimyasallardır (Gözütok, 2016).

Diazinon(O,O-Diethyl O-[4-methyl-6-(propan-2-yl)pyrimidin-2-yl] phosphorothioate, INN-Dimpylate- $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$)zararlı **böceklerle** karşı kullanılan birçok tarım ilacının ana etken maddesi olan bir insektisittir. Tarımsal ürünlerin böceklerden korunması amacıyla kullanılır. Diazinon asetilkolinesteraz aktivitesini inhibe eden geniş spektrumlu organofosfat yapıda bir insektisittir (Sarabia et al., 2009).

Bu çalışmada, zararlı böceklerle mücadelede kullanılan Diazinon insektisinin toksik etkileri *A. cepa*

L. test materyali kullanılarak araştırılmıştır. Sitotoksik etkilerin belirlenmesinde, *A. cepa* L. test materyalinin kullanımı kolay uygulanabilirlik, düşük maliyet, hızlı sonuç ve basit yöntem avantajları sunmaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kök Uçlarının Hazırlanması

Bu çalışmada araştırma materyali olarak eşit büyüklükte *Allium cepa* L. başları kullanılmıştır. Örnekler bir kontrol ve üç uygulama grubu olmak üzere toplam dört gruba ayrılmış, örnekler 85x100 çapında steril beherlerde oda sıcaklığında 72 saat köklenmeye tabii tutulmuştur. Diazinon toksisite çalışmaları, daha çok hayvanlar ve insanlar üzerindeki etkileri konusunda yoğunlaşmıştır.

Diazinonun bitkiler üzerine toksik etkileri henüz araştırılmamıştır. Literatürde farklı canlılar için diazinon LD₅₀ değeri 40-1250 mg/kg doz aralığında belirlenmiştir (WHO, 1998). Bu noktadan hareketle bu çalışmada diazinonun 50, 250 ve 500 mg L⁻¹ dozları toksisite açısından değerlendirilmiş ve Grup I (kontrol grubu) çeşme suyu ile Grup II, 50 mg L⁻¹ Diazinon ile;Grup III, 250 mg L⁻¹ Diazinon ile Grup IV ise 500 mg L⁻¹Diazinon ile muamele edilmiştir.

Köklenen örneklerin kurumaması amacıyla, grupların su ve Diazinon seviyeleri günlük olarak kontrol edilerek, gerekli ilaveler yapılmıştır. Uygulama periyodu sonunda kök uçları dH₂O ile yıkanmış ve sitogenetik analizler için hazır hale getirilmiştir (Wei, 2004).

Kök Uzunluğu, Ağırlık Artışı ve Köklenme Yüzdesinin Belirlenmesi

Diazinonun kök uzunluğu üzerine etkisi, radikula oluşumu baz alınarak köklenme sonrası her bir gruba ait kök uzunluklarının milimetrik cetvel yardımıyla ölçülmesiyle, ağırlık artışı üzerine etkisi ise Diazinon uygulama öncesinde ve sonrasında soğan başlarının duyarlı hassas terazi ile tartımı sonucunda tespit edilmiştir.

Kök uzunluğu ve ağırlık artışındaki değişimler, *Allium cepa* L.'de Diazinonun büyüme üzerine etkisini belirlemek amacıyla incelenmiştir.

Kromozomal Anormallikler, Mitotik İndeks (MI) ve Mikronukleus (MN) Analizi

Diazinon uygulaması sonrasında kromozomal hasarların tespit edilmesi amacıyla, her bir gruba ait kök uçları 1 cm uzunluğunda kesilmiş, 2 saat boyunca “Clarke” fiksatorü ile (3:etanol/1:glasial asetik asit) fiksasyona tabii tutulmuştur. Fiksasyon sonrasında 15 dakika %96’lık etanolde yıkanan örnekler, +4 °C’de %70’lik etanolde saklanmıştır.

Preparat hazırlamak için, kök uçları 60 °C’de 17 dakika 1NHCl içerisinde hidrolize edilmiş, 30 dakika %45’lik asetik asit içerisinde bekletilmiştir. Son olarak ise, kök uçları 24 saat aseto-karmin ile boyanmış,

%45’lik asetik asitte ezilmiş ve binoküler araştırma mikroskobu altında X500 büyütmede fotoğraflanmıştır (Staykova et al., 2005).

MN sıklığını tespit etmek için ise, her bir uygulama grubunda toplamda 1000 hücre sayılmış, MN içeren hücreler araştırma mikroskobu altında belirlenerek X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır. MN tespitinde Fenech ve ark. (2003)’nın kriterleri dikkate alınmıştır.

Mitotik indeksi (MI) belirlemek amacıyla, hazırlanan preparatlardan her gruba ait 1000 hücre sayılmış ve mitotik giren hücrelerin yüzdesi aşağıdaki “Eşitlik 2” kullanılarak belirlenmiştir.

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

Anatomik Değişimlerin Belirlenmesi

Anatomik hasarın belirlenmesi amacıyla, 72 saat süresince 50, 250 ve 500 mg/L dozlarında Diazinon ile muamele edilen gruplarda kök uçlarından enine kesitler alınarak, metilen mavisi ile boyanmış, entellen yardımıyla daimi preparat haline getirilerek, araştırma mikroskobu altında X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS for Windows V 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 2013) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. “One-way

ANOVA” ve “Duncan” testleri ile gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar değerlendirilmiş, veriler ortalama $\pm$ SD olarak verilmiş ve P değeri 0.05’den küçük olması durumunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Diazinonun *A. cepa*’da köklenme yüzdesi, ağırlık kazanımı, kök uzunluğu, mitotik indeks (MI), anatomik hasarlar, mikronukleus (MN) ve kromozomal hasar sıklığı üzerine etkileri Çizelge 1, Çizelge 2, Şekil 1, Şekil 2 ve Şekil 3’te verilmiştir.

Çizelge 1. Diazinon uygulamasının köklenme yüzdesi, kök uzunluğu, başlarda ağırlık artışı ve kök ucunda Mikronukleus oluşumu üzerine etkileri

Gruplar	Köklenme yüzdesi	Ortalama kök uzunluğu (cm)	Ortalama ağırlık artışı (g)	Ortalama (MN)
Grup I	98	10.86 $\pm$ 2.50 ^a	+11.42	0.30 $\pm$ 0.48 ^d
Grup II	80	8.78 $\pm$ 1.25 ^b	+ 9.06	10.80 $\pm$ 3.05 ^c
Grup III	56	5.82 $\pm$ 1.51 ^c	+ 3.73	24.30 $\pm$ 4.27 ^b
Grup IV	30	2.62 $\pm$ 0.96 ^d	+ 1.12	46.30 $\pm$ 6.13 ^a

* Grup I: Kontrol, Grup II: 50 mg L⁻¹Diazinon, Grup III: 250 mg L⁻¹Diazinon, Grup IV: 500 mg L⁻¹Diazinon.

Diazinonun köklenme yüzdesi üzerine etkisi Çizelge 1’de verilmiştir. En yüksek köklenme yüzdesi kontrol grubunda, en düşük köklenme yüzdesi ise Diazinonun 500 mg L⁻¹ dozu ile muamele edilen Grup IV’de belirlenmiştir. Kontrol grubunda % 98,

Diazinonun 50, 250 ve 500mg L⁻¹’lik uygulama gruplarında ise sırasıyla %80, %56 ve %30 oranında köklenme yüzdesi tespit edilmiştir. Sonuç olarak, köklenme yüzdesi Diazinon dozuna bağlı olarak azalmıştır.

Şekil 1. Farklı dozlardaki Diazinon uygulamasının kök uzunluğuna etkileri (Grup I: Kontrol, Grup II: 50 mg L⁻¹ Diazinon, Grup III: 250 mg L⁻¹ Diazinon, Grup IV: 500 mg L⁻¹ Diazinon).

Diazinonun *A. cepa*’da kök uzunluğu üzerine etkileri Şekil 1 ve Çizelge1’de gösterilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi maksimum kök uzunluğu kontrol grubunda elde edilirken, en düşük kök uzunluğu oranı 500 mg L⁻¹Diazinon uygulanan Grup IV’de tespit edilmiştir. Kontrol grubunda belirlenen kök uzunluğu ortalama 10.86 cm iken, Grup II’de ortalama 8.78 cm, Grup III’de ortalama 5.82 cm ve Grup IV’de ise ortalama 2.62 cm olarak tespit edilmiştir. Gruplarda, kök uzunluğu açısından belirlenen bu farklılıkların istatistiksel açıdan da anlamlı olduğu gözlenmiştir (P<0.05). Sonuç olarak, Diazinon dozunun artmasıyla kök uzunluğunun azaldığı, bu azalmanın ise doza bağlı olarak gerçekleştiği saptanmıştır.

A.cepae’da Diazinon’un ağırlık artışı üzerine etkileri incelenmiş ve sonuçlar Çizelge1’de verilmiştir. Çizelgedeki sonuçlardan da görüldüğü gibi, 72. saatin sonunda maksimum ağırlık artışı kontrol grubuna ait örneklerde, minimum ağırlık artışı ise 500 mg/L Diazinon uygulanan Grup IV’de ölçülmüştür.

Ağırlık artışı kontrol grubunda ortalama 11.42 g olarak belirlenirken 50, 250 ve 500 mg L⁻¹dozlarında Diazinon uygulanan gruplarda ise sırasıyla ortalama 9.06 g, 3.73 g ve 1.12 g’lık ağırlık artışı ölçülmüştür. Gruplar arasında gözlenen bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu da saptanmıştır (P<0.05). Sonuç olarak, Diazinonun dozunun artmasıyla birlikte ağırlık artışının azaldığı, bu azalmanın ise doza bağlı olarak gerçekleştiği saptanmıştır.

A. cepa L. kök ucu hücrelerinde Diazinon tarafından teşvik edilen mikronukleus (MN) varlığı ve sıklığı Şekil 2 ile Çizelge1’de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 0.30 oranında MN oluşumuna rastlanırken, Diazinon uygulanan Grup II’de 10.80, Grup III’de 24.30, Grup IV’de ise 46.30 oranında MN sıklığı tespit edilmiştir. Gruplar arasında gözlenen MN sıklığı farklarının istatistiksel açıdan önemli olduğu da belirlenmiştir (P<0.05). Sonuç olarak, Diazinon dozunun artmasıyla MN sıklığının arttığı, bu artışın ise doza bağlı olarak gerçekleştiği saptanmıştır.

Şekil 2. Diazinon uygulaması tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar(a: MN, b: yapışkan kromozom, c: C-mitoz, d: kromozom köprüsü, e: kromatinin eşit olmayan dağılımı, f: fragment). Boyama: aseto-karmin, Büyütme: 500X.

Çizelge 2. Diazinon uygulamasının teşvik ettiği kromozomal hasarlar ve Mitotik İndeks (MI) Üzerine Etkisi

Gruplar	FRG	YK	KK	KED	CM	MI Yüzde (%)
Grup I	0.00±0.00 ^d	0.20±0.42 ^d	0.00±0.00 ^d	0.30±0.48 ^d	0.10±0.32 ^d	8.99
Grup II	11.20±2.74 ^c	9.50±1.78 ^c	7.00±1.70 ^c	4.70±1.70 ^c	2.50±1.27 ^c	7.88
Grup III	29.10±5.02 ^b	20.50±3.06 ^b	15.40±3.03 ^b	12.40±3.17 ^b	7.70±2.36 ^b	6.00
Grup IV	52.70±4.74 ^a	35.00±3.06 ^a	25.90±3.51 ^a	19.80±3.65 ^a	11.10±4.15 ^a	4.62

* Grup I: Kontrol, Grup II: 50 mg L⁻¹Diazinon, Grup III: 250 mg L⁻¹Diazinon, Grup IV: 500 mg L⁻¹Diazinon. Aynı sütunda birbirinden farklı harfler ile ifade edilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0.05). FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, KK: kromozom köprüsü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, CM: c-mitoz.

Diazinon uygulaması sonrasında *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozomal hasarlar ve sayıları Şekil 2 ve Çizelge 2’de gösterilmiştir. Mikroskopik gözlemler sonucunda sırasıyla fragment>yapışkan kromozom>kromozom köprüsü>kromatinin eşit olmayan dağılımı>c-mitoz şeklinde hasarlar belirlenmiştir. Diazinonun kromozomlar üzerine en büyük etkisi fragment oluşumu şeklindedir. Kontrol grubunda birkaç yapışkan kromozom, kromozomun eşit olmayan dağılımı ve c-mitoz dışında herhangi bir kromozomal hasara rastlanılmazken, Diazinon uygulama gruplarında, farklı düzeyde ve farklı tipte kromozomal hasara rastlanılmıştır. Diazinonun dozunun artmasıyla kromozomal hasar düzeyinin arttığı, bu artışın doza bağımlı olarak gerçekleştiği ve

gruplar arasındaki farklılıkların ise istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05).

Bölünen hücrelerin sayısını gösteren mitotik indeks (MI) değerleri Çizelge 2’de verilmiştir. En yüksek MI yüzdesi kontrol grubunda, en düşük ise 500 mg L⁻¹ dozunda Diazinon ile muamele edilen Grup IV’de sayılmıştır. Kontrol grubunda % 8.99, Diazinon uygulama gruplarında ise sırasıyla % 7.88, % 6.00 ve % 4.62 oranında MI belirlenmiştir.

Gruplar arasında belirlenen bu MI farklılıklarının ise istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05). Sonuçta, Diazinon dozunun artması ile MI oranının azaldığı ve iki parametre arasında ters bir orantının varlığı tespit edilmiştir.

Şekil 3. Diazinon uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşkil ettiği anatomik hasarlar (a: kontrol grubu hücre çekirdeği, b: kontrol grubu iletim dokusu, c: yassılaşmış hücre çekirdeği, d: hücre deformasyonu, e: belirgin olmayan iletim doku, f: korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, g: iletim dokuda bazı maddelerin birikimi, h: nekroz). Boyama: metilen mavisi. Büyütme: 500X.

Diazinon uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşkil ettiği anatomik hasarlar Şekil 3’de gösterilmiştir. Mikroskopik incelemeler sonucunda kontrol grubunda her hangi bir anatomik hasara rastlanmazken, Diazinon uygulama gruplarında ise Diazinon’un artan dozuna bağlı olarak, sayıları değişmekle beraber yassılaşmış hücre çekirdeği, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma, iletim dokuda bazı maddelerin birikimi ve nekroz şeklinde anatomik hasarlar gözlenmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada, Diazinon’un *A. cepa* L. başlarında meydana getirdiği fizyolojik ve sitogenetik etkiler araştırılmıştır. Fizyolojik etkiler; köklenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı ve anatomik hasarların tespiti ile sitogenetik etkiler ise; mikronukleus (MN) sıklığı, kromozomal hasar ve mitotik (MI) indeks sayılarının belirlenmesiyle araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, Diazinon dozu ile köklenme yüzdesi arasında ters bir orantı olduğu tespit edilmiştir. En yüksek köklenme yüzdesi kontrol grubunda, en düşük ise Diazinonun 500mg L⁻¹dozu ile muamele edilen Grup IV’de görülmüştür. Literatürde kimyasal ajan ve ağır metal iyonlarının köklenme oranı üzerine etkileri konusunda gerçekleştirilmiş, benzer tarzda

pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Teker ve Çavuşoğlu (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 50 ve 100 mg L⁻¹ dozlarında 1,4 Dioksan uygulamasının her iki dozda da köklenme yüzdesini azalttığı, söz konusu azalışın 100 mg L⁻¹dozunda daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Yine Çavuşoğlu ve ark. (2008) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzda bir başka çalışmada ise, *Vicia faba* L. kök ucu hücrelerinde Fenol’ün farklı konsantrasyonları tarafından teşvik edilen sitotoksikite araştırılmış, sonuçta artan fenol dozuna bağlı olarak köklenme yüzdesinin azaldığı belirlenmiştir. Diazinonun bir diğer etkisi ise kök uzunluğu üzerine olmuştur. Diazinon dozundaki artışla birlikte kök uzunluğunun azaldığı belirlenmiştir. En fazla kök uzunluğu kontrol grubunda, en az ise 500 mg L⁻¹dozunda Diazinon ile muamele edilen Grup IV’de ölçülmüştür. Literatürde Diazinonun kök uzunluğu üzerine etkileri konusunda kapsamlı bir çalışma bulunmamasına rağmen, diğer kimyasal ajanlar ile ağır metal iyonlarının etkileri konusunda gerçekleştirilmiş pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin Soykan ve Koca (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Dichlorvos (DDVP) insektisitinin 2 ml L⁻¹, 4 ml L⁻¹ ve 6 ml L⁻¹ dozlarının *A. cepa* kök uzunluğu üzerine etkileri araştırılmış ve DDVP dozuna bağlı olarak kök uzunluğunun azaldığı rapor edilmiştir. Kıran ve Şahin (2005) kurşun (PbCl₂) uygulamasının mercimek (*Lens culinaris* Medik)’de

kök büyümesinin kontrol grubuna göre azaldığını belirlemişlerdir. Diazinonun ağırlık artışı üzerinde de toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. 72 saat'lik uygulama periyodu sonunda en fazla ağırlık artışı kontrol grubunda, en düşük ise Diazinon'un 500 mg L⁻¹dozu ile muamele edilen Grup IV'de ölçülmüştür. Literatürde ağırlık artışı üzerine Diazinon etkileri konusunda olmasa da, diğer kimyasal ajanlar ve ağır metal iyonları ile gerçekleştirilmiş benzer tarzda pek çok çalışma bulunmaktadır. Çavuşoğlu ve ark. (2011) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Glifosat'ın *Allium cepa* L.'de ağırlık artışı üzerine etkileri araştırılmış, uygulanan Glifosat dozuna bağlı olarak ağırlık artışının azaldığı belirlenmiştir. Öztürk (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Imazethapyr herbisitinin *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkileri araştırılmış, Imazethapyr'in tüm dozlarında mitotik indeks (MI) değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı, ayrıca kalgın kromozom, bozulmuş anafaz-telofaz, yapışıklık, anafaz köprüsü, prometafaz, c-metfaz, poliploidi ve binükler hücre şeklinde kromozomal hasarların oluşumu gözlenmiştir. Liu ve ark. (1992) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise, Krom nitrat ve Potasyum dikromat bileşiklerinin farklı dozlarının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde MI üzerine etkileri araştırılmış, her iki bileşiğinde hücre bölünmesini inhibe ederek, MI değerini azalttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada, Diazinonun genotoksik etkileri mikronukleus (MN) sıklığı, kromozomal hasar ve mitotik indeks (MI) sayıları tespit edilerek değerlendirilmiştir. Sonuçta, Diazinon dozundaki artışla bağlı olarak MI oranının azaldığı, MN sıklığı ve kromozomal hasarların arttığı belirlenmiştir. Mitotik indeks, hücre çoğalmasının ve büyümenin bir ifadesidir. Bu çalışmada mitotik indeksin azalması, diazinonun hücre çoğalması ve büyümeyi olumsuz etkilediğinin bir göstergesidir. Diazinon uygulamasının fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, kromatinin eşit olmayan dağılımı ve c-mitoz şeklinde kromozomal hasarlara neden olduğu belirlenmiştir.

Diazinon uygulamasının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde anatomik etkilerine bakıldığında, yassılaştırmış hücre çekirdeği, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, korteks hücre

çeperlerinde kalınlaşma, iletim dokuda bazı maddelerin birikimi ve nekroz şeklinde anatomik hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Söz konusu hasarların sayısı uygulanan Diazinon dozuna bağlı olarak artmıştır. Literatürde Diazinon'un kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik etkiler ile ilgili gerçekleştirilmiş başka bir çalışma bulunmadığından, elde edilen sonuçlar diğer kimyasal ajanlarla gerçekleştirilen benzer tarzdaki çalışmaların verileri ile tartışılmıştır. Örneğin; Acar ve ark. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Paraquat herbisitinin *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik değişimler araştırılmış, sonuçta Paraquat uygulamasının kök ucu hücrelerinde yassılaştırmış hücre çekirdeği, nekroz, belirgin olmayan iletim doku, iletim dokusunda bazı maddelerin birikimi ve hücre deformasyonu şeklinde anatomik hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Aybeke ve ark. (2000) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, zeytinyağı fabrikası atık suyunun *T. aestivum* L.(buğday) kök uçlarında teşvik ettiği sitotoksik ve mutajenik etkileri incelenmiş, atık suyun farklı konsantrasyonlarıyla muamele edilen örneklerde mitotik anormalliklerin sayısı ile çok nükleuslu veya parçalanmış nükleuslu hücre sayısında belirgin bir artış rapor edilmiştir.

Sonuç olarak, özellikle Avrupa Birliği Ülkelerinde yasaklanmış olmasına rağmen, gelişmekte olan ülkelerde tarım alanlarındaki zararlı böceklerle mücadelede hala kullanılmaya devam eden Diazinonun belli bir doz seviyesine ulaştığında, toksik etkilere neden olabildiği *A. cepa* L. test materyali kullanılarak bir kez daha gözler önüne serilmeye çalışılmıştır. Bu nedenle, söz konusu kimyasalın kullanımından vazgeçilmesi, kullanılmasının zaruri olduğu durumlarda ise mutlaka hedef organizma dışındaki organizmalara toksik etki göstermeyecek uygun doz seviyelerinin belirlenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmamızı FEN-BAP-C-200515-13 nolu proje ile destekleyen, Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler (BAP) Birimi Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Acar A, Çavuşoğlu K, Türkmen Z, Çavuşoğlu K, Yalçın E, 2015. The investigation of genotoxic, physiological and anatomical effects of Paraquath herbicide on *Allium cepa* L. *Cytologia*, 80 (3): 343-351.
- Aybeke M, Olgun G, Sidal U, Kolonkaya D, 2000. Zeytinyağı fabrikası atık suyunun buğday (*Triticum aestivum* L.) kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünme ve total protein miktarı üzerine etkisi. *Turkish Journal of Biology*, 24: 127-140.
- Çakır S, Yamanel S, 2005. Böceklerde insektisitlere direnç. *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, 6 (1): 21-29.
- Çavuşoğlu K, Yalçın E, Dönmez S, Kaymaz K, Özdemir G, Özgörür Z, Balcı D, Aslan B, Çakır M, 2008. *Vicia faba* L. (Fabaceae) kök ucu hücrelerinde fenol tarafından teşvik edilen sitotoksitenin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Dergisi (e-Dergi)*, 3(2): 139-148.
- Demirtaş G, Çavuşoğlu K, Yalçın E, 2015. Anatomic, physiological and cytogenetic changes in *Allium cepa* L. induced by Diniconazole. *Cytologia*, 80 (1): 51-57.
- Ekebaş S, Çakır S, Ertuğrul O, Kence A, 2000. The detection of mutagenic activity of some chemicals (Azamethypos, Dichlorvos, Methylparathion, Aflatoxin B1) by the smart test in *Drosophila melanogaster*. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24 (6): 563-569.
- Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E, 2003. Human Micronucleus project. HUMN Project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*, 534(1-2): 65-75.
- Gözütok C, 2016. İnsektisitlerin canlılara etkisi. <http://www.kimyasalgelismeler.com/sektörler/tarim-ve-gida-teknolojileri/insektisitler-canlilara-etkisi.html>. (Erişim tarihi: 20 Haziran, 2016).
- Karakaya M, Boyraz N, 1992. Gıda kirlenmesinde pestisitler ve korunma yolları. *Çevre Dergisi*, 1 (4): 11-15.
- Kayış T, 2010. Diazinon'un subletale konsantrasyonlarının *Pimpla tenebriosa* L.'nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 102 s.
- Kıran Y, Şahin A, 2005. Kurşunun *Lens culinaris* Medik. tohumlarının çimlenmesi, kök gelişimi ve kök ucu hücreleri üzerindeki mitotik etkileri. *Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18(1): 17-25.
- Lui D, Jiang W, Li M, 1992. Effect of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. *Hereditas*, 117: 23-29.
- Öztürk NS, 2013. İmazethapyr herbisitinin *Allium cepa* L. kök meristem hücreleri üzerine sitogenetik etkileri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 66 s.
- Sarabia L, Maurer I, Bustos-Obregon V, 2009. Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 938-942.
- Soykan H, Koca S, 2007. Dichlorvos'un (DDVP) *Allium cepa* L. kök ucu meristem hücrelerinde mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkileri. *Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 18 s.
- Staykova TA, Ivanova EN, Velcheva IG, 2005. Cytogenetic effect of heavy metal and cyanide in contaminated waters from the region of South West Bulgaria. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 4: 41-46.
- Teker D, Çavuşoğlu K, 2013. *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae) kök ucu hücrelerinde 1,4 Dioksan tarafından teşvik edilen sitotoksitenin belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3 (3): 31-40.
- Vural N, 1996. Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*. Ankara, Türkiye. 416 s.
- Wei QX, 2004. Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science*, 5: 1570-1576.
- World Health Organization, United Nations Environment Programme, International Labour Organisation, Environmental Health Criteria 198, Diazinon, prepared by K. Barabás, Geneva, 1998.