

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

**BAZI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE PESTİSİTLERİN MUTAJENİK
REKOMBİNOJENİK VE PROMOTER (KANSER İLERLETİCİ) ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Asuman KARADENİZ

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ARALIK 2006

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

**BAZI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE PESTİSİTLERİN MUTAJENİK
REKOMBİNOJENİK VE PROMOTER (KANSER İLERLETİCİ) ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Asuman KARADENİZ

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez / / Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU.....
(Danışman)

Doç. Dr. Burhan SAVAŞ.....

Doç. Dr. Bülent KAYA.....

.....

.....

.....

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

**BAZI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE PESTİSİTLERİN
MUTAJENİK REKOMBİNOJENİK VE PROMOTER (KANSER İLERLETİCİ)
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Asuman KARADENİZ

DOKTORA TEZİ

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

2006

**BAZI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE PESTİSİTLERİN
MUTAJENİK REKOMBİNOJENİK VE PROMOTER (KANSER İLERLETİCİ)
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Asuman KARADENİZ

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez 2003.03.0121.010 proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.**

2006

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

**BAZI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE PESTİSİTLERİN
MUTAJENİK REKOMBİNOJENİK VE PROMOTER (KANSER İLERLETİCİ)
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Asuman KARADENİZ

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez/....../..... Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU.....
(Danışman)
Prof. Dr. Serpil ÜNYAYAR.....
Doç. Dr. Burhan SAVAŞ.....
Doç Dr. Hakan Ş. BOZCUK.....
Doç. Dr. Bülent KAYA.....

ÖZET

BAZI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE PESTİSİTLERİN MUTAJENİK REKOMBİNOJENİK VE PROMOTER (KANSER İLERLETİCİ) ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Asuman KARADENİZ

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU
Aralık 2006, 129 sayfa

Bu çalışmada, canlılarda doğal olarak sentezlendiği bilinen bir bitki büyüme düzenleyicisi olan IAA'nın sentetik formu ve Antalya yöresi tarımında en çok kullanılan sentetik bitki büyüme düzenleyicilerinden biri olan BNOA ile yaygın olarak kullanılan fungusitlerden Siprodinil ile Fludioksonil ve herbisitlerden Fluazifop-p-bütül ile Fenoksaprop-p-etil'in değişik konsantrasyonlarda mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin olup olmadığı, eğer mutajenik ve/veya rekombinojenik etkinlik gösteriyorlarsa bu etkiyi doğrudan mı yoksa biyoaktivasyonla mı gösterdikleri *Drosophila melanogaster* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testiyle, ayrıca bunların promotör (kanser ilerletici) etkilerinin olup olmadığı tripan mavisi ve MTT testleriyle HEK293 hücrelerinin yaşayabilirliği ve çoğalabilirliği esasına göre araştırılmıştır.

Drosophila kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için, genomlarında çekinik flare ve çoklu kanat kılı (mwh) genlerini taşıyan üçüncü evre transheterozigot larvalar söz konusu bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerle kronik olarak beslenmiştir. Söz konusu maddelerin genotoksik etkileri, larvaların kanat imajinal disk hücrelerinde meydana gelen genetik değişimler (nokta mutasyon, parça kopması, ayrılmama, rekombinasyon) sonucu kanatlarda oluşan küçük ve büyük tek tip, ikiz, mwh ve toplam mutant klonlar şeklinde değerlendirilmiştir.

Tripan mavisi ve MTT testleri için, kanserleşmenin erken evresinde bulunan HEK293 hücreleri söz konusu bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin DMEM'li çözeltileriyle 8 günlük inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda, tripan mavisi testinde, canlı ve ölü hücreler ışık mikroskopunda sayılarak canlı hücre yüzdeleri belirlenmiştir. MTT testinde ise, canlılık oranı, tetrazolyum boyasının canlı hücrelerdeki mitokondrial bir enzim olan süksinat dehidrogenazla verdiği tepkimeler sonucunda indirgenmesiyle oluşan formazan maddesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesi esasına göre saptanmıştır.

Çalışmanın sonucunda, uygulanan tüm konsantrasyonlarda IAA ve BNOA'nın ve metabolitlerinin *D. melanogaster*'de mutajenik ve rekombinojenik olmadığı ve hücre kültüründe hücre çoğalabilirliği (kanser ilerletici) üzerine etkilerinin olmadığı belirlenmiştir. Ancak hücre yaşayabilirliğiyle ilgili olarak tripan mavisi ve MTT testlerinde, IAA ve BNOA'nın uygulanan en yüksek konsantrasyonları olan 0,5

mg/ml'de (IAA için molar eşdeğeri=2,853 mM, BNOA için molar eşdeğeri=2,472 mM) hücre öldürücü etkisinin bulunduğu gözlenmiştir.

Siprodinil'in, 10 mM'da kendisinin rekombinojenik, 1 mM'da ise metabolitlerinin mutajenik etki gösterdiği, uygulanan tüm konsantrasyonlarda hücre çoğalabilirliğine etki göstermediği ancak hücre yaşayabilirliği ile ilgili olarak 150 µM'da hücre öldürücü etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Fludioksonil'in, 2 mM hariç uygulanan tüm konsantrasyonlarda hem kendisi hem de metabolitleri mutajenik ve rekombinojenik etki göstermezken, en yüksek konsantrasyonu olan 2 mM'da kendisinin rekombinojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca Fludioksonil'in, hücre çoğalabilirliğine etki göstermediği ancak hücre yaşayabilirliği ile ilgili olarak 180 µM'da hücre öldürücü etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Fluazifop-p-bütül'in, 5 mM hariç uygulanan tüm konsantrasyonlarda hem kendisi hem de metabolitleri mutajenik ve rekombinojenik etki göstermezken, en yüksek konsantrasyonu olan 5 mM'da metabolitlerinin rekombinojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca Fluazifop-p-bütül'in, hücre çoğalabilirliğine etki göstermediği ancak hücre yaşayabilirliği ile ilgili olarak 653 µM'da hücre öldürücü etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Fenoksaprop-p-etil'in, 0,05, 0,5 ve 1 mM hariç uygulanan tüm konsantrasyonlarda hem kendisi hem de metabolitleri mutajenik ve rekombinojenik etki göstermezken, metabolitlerinin 0,05 mM'da mutajenik, 0,5 ve 1 mM'da rekombinojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca Fenoksaprop-p-etil'in, hücre çoğalabilirliğine etki göstermediği ancak hücre yaşayabilirliği ile ilgili olarak 180 µM'da hücre öldürücü etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bitki büyüme düzenleyicisi, pestisit, *Drosophila melanogaster*, somatik mutasyon ve rekombinasyon testi, mutajenite, rekombinojenite, HEK293 hücre dizisi, tripan mavisi testi, MTT testi, karsinojenite

Jüri: Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU.....
Prof. Dr. Serpil ÜNYAYAR.....
Prof. Dr. Burhan SAVAŞ.....
Doç Dr. Hakan Ş. BOZCUK.....
Doç. Dr. Bülent KAYA.....

ABSTRACT

INVESTIGATIONS OF MUTAGENIC, RECOMBINOGENIC AND CANCER PROMOTER EFFECTS OF SOME PLANT GROWTH REGULATORS AND PESTICIDES

Asuman KARADENİZ

Ph.D. in Biology

Adviser: Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU

December 2006, 129 pages

In this study, mutagenic and recombinogenic effects of IAA, a plant growth regulator, naturally synthesized in plants but produced synthetically, and BNOA, a synthetic plant growth regulator, fungicides Cyprodinil, Fludioxonil and herbicides Fluazyfop-p-butyl and Fenoxaprop-p-ethyl, widely used in the agricultural regions of Antalya province have been investigated by wing somatic mutation and recombination test (SMART), and cancer promoter effects (viability and proliferation rates) of these substances were investigated by the tripan blue exclusion assay and MTT test.

In SMART test, 3-day-old larvae trans-heterozygous for the third chromosome recessive markers flare (flr^3) and multiple wing hair (mwh) were reared using the medium containing different concentrations of such plant growth regulators and pesticides. The effects of these substances were evaluated according to genetic changes (point mutation, deletion, non-disjunction, recombination) in wing imaginal disc cells that lead to the formation of mutant trichomes. Classification was based on the categories (small single spot, large single spot, twin spot, multiple wing hair and total spot) developed by Graf et al. (1984).

For the tripan blue exclusion and MTT assays, early-stage HEK293 cells were incubated with plant growth regulator and pesticide solutions prepared with DMEM, for 8 days. At the end of the incubation period, alive and dead cells were counted by using light microscope for the tripan blue exclusion assay, and viability rates were determined spectroscopically for the MTT test.

The results demonstrated that, neither IAA nor BNOA were mutagenic or recombinogenic on the wing cells of *Drosophila*. However, both IAA and BNOA decreased cell viability at the highest concentration, 0.5 mg/ml, tested (molar equivalent for IAA =2,853 mM, molar equivalent for BNOA=2,472 mM).

Cyprodinil was found to be recombinogenic at 10 mM concentration and its metabolites were found mutagenic at 1 mM concentration. The pesticide was found ineffective on the proliferation rate of the HEK293 cells but decreased cell viability at the highest concentration tested (150 μ M).

Fludioxonil was found to be recombinogenic at 2 mM concentration. It was also found ineffective on the proliferation rate of the HEK293 cells but decreased cell viability at the highest concentration tested (180 µM).

Metabolites of Fluazifop-p-butyl were found to be recombinogenic at 5 mM concentration. It was ineffective on the proliferation rate of the HEK293 cells but decreased cell viability at the highest concentration tested (653 µM).

Metabolites of Fenoxaprop-p-ethyl were found to be mutagen at 0,05 mM, and recombinogenic at 0,5 and 1 mM concentrations. It was also found ineffective on the proliferation rate of the HEK293 cells but decreased cell viability at the highest concentration tested (180 µM).

Key Words: Plant growth regulators, pesticides, *Drosophila melanogaster*, somatic mutation and recombination test, mutagenity, recombinogenity, HEK293 cell line, trypan blue exclusion assay, MTT test, carcinogenity

Committee: Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU.....
Prof. Dr. Serpil ÜNYAYAR.....
Prof. Dr. Burhan SAVAŞ
Assoc. Prof. Dr. Hakan Ş. BOZCUK.....
Assoc. Prof. Dr. Bülent KAYA.....

ÖNSÖZ

Tarımda ürün verimini artırmak amacıyla çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin kullanıldığı bilinmektedir. Ancak bu maddelerin çevre ve insan sağlığını olumsuz yönde etkilediği de bir gerçektir. Her geçen gün yenileri üretilerek piyasaya sürülen bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin canlılar üzerindeki zararlı etkileri birçok araştırmacı tarafından belirlenmeye çalışılmaktadır. Bilim adamları, araştırmaları sonucunda elde ettikleri bulgular ışığında bu maddelerin bilinçli kullanımını konusunda ilgilileri bilgilendirmeye çalışmaktadırlar.

Çağımızın vebası olan kanser her geçen gün daha çok canlıyı etkileyerek bir çığ gibi büyümektedir. Kanserın nedenlerinden birisi de çevre kirliliğine de yol açan pestisitler ve tarımda kullanılan diğer maddelerdir. Kanser, başka şekillerde ortaya çıkabildiği gibi mutasyon ve rekombinasyon yoluyla da meydana gelebilmektedir. Dolayısıyla mutasyon, rekombinasyon ve kanser arasında sıkı bir ilişki vardır. Mutasyon veya rekombinasyona yol açan kimyasalların belirlenmesinde en yaygın kullanılan testlerden birisi de *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi olan SMART'tır. SMART testinde, son yıllarda genetik çalışmaların vazgeçilmez materyali ve insan gibi ökaryotik bir organizma olan meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) kullanılmaktadır. Son yıllarda karsinogenez çalışmalarına yön veren tekniklerden biri ise hücre kültürü tekniğidir. Karsinojenite çalışmalarında ise embriyonik dönemde izole edilerek ölümsüzleştirilmiş ve karsinogenezin erken evresinde bulunan insan böbrek hücre dizisi kullanılmıştır. Çalışmamız, sözkonusu bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin etkilerinin hem doğrudan canlı üzerinde (*in vivo*) hem de kültür ortamında (*in vitro*) denenebilmesine olanak sağladığı için de ayrıca önemlidir.

Çalışmamız sonucunda elde edilen bulguların, özellikle yöremizde sebze-meyve üreticileri ve halkımız için aydınlatıcı olacağına ve bilim dünyasına katkı getireceğine inanılmaktadır.

Bana bu konuda çalışma olanağı sağlayan, tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın yürütülmesi sırasında her konuda en içten ilgi, yardım ve desteğini gördüğüm Akademik Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU'na (Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü), hücre kültürü ve *Drosophila melanogaster*'de mutajenite ve rekombinojenite çalışmalarında en içten ilgi, yardım ve desteklerini gördüğüm Tez İzleme Komitesi Üyeleri Hocalarım Sayın Doç. Dr. Burhan SAVAŞ'a (Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Onkoloji Bilim Dalı), Sayın Doç. Dr. Bülent KAYA'ya (Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü), çalışmam sırasında bölüm olanaklarını sunan Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Hocam Sayın Prof. Dr. Hüseyin SÜMBÜL'e (Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü), *D. melanogaster* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi konusunda yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Serap KOCAOĞLU'na (Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü), hücre kültürü çalışmalarında malzemelerin temini ve laboratuvarında çalışma ortamı sağlanması konusunda yardımlarını esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Sayın Prof. Dr. Olcay YEĞİN ve laboratuvar çalışanlarına, MTT testiyle ilgili olarak spektrofotometrik ölçümler konusunda yardımcı olan Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Gen Tedavi Merkezi çalışanlarına, istatistiksel analizlerde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Mehmet Ziya FIRAT (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı) ve Sayın Arş. Gör. Sezgi ŞEREF GÜN'e (Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü), çalışmam sırasında emeği geçen Biyoloji Bölümü arkadaşlarıma, bu çalışmayı maddi olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (Proje No: 2003.03.0121.010) ve ayrıca tez çalışmamın başından beri maddi ve manevi varlığıyla her zaman destek olan sevgili ablam Şirin KARADENİZ'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL ve METOT.....	15
2.1. <i>D. melanogaster</i> Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Kullanılarak Mutajenite ve Rekombinojenitenin Belirlenmesi Çalışmaları.....	15
2.1.1. <i>D. melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü.....	15
2.1.2. Kullanılan hatların genetik yapısı.....	18
2.1.3. Deney grupları.....	23
2.1.4. <i>D. melanogaster</i> hatlarının kültürü.....	25
2.1.5. Çaprazlama için birey seçimi.....	25
2.1.6. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin uygulanması.....	26
2.1.7. Ergin bireylerin toplanması ve kanat preparatlarının hazırlanması.....	27
2.1.8. Kanat preparatlarının mikroskopik analizi.....	28
2.1.9. İstatistik analizler.....	29
2.2. Tripan Mavisi ve MTT Testi ile HEK293 Hücrelerinde Yaşayabilirliğin ve Çoğalabilirliğin Belirlenmesi Çalışmaları.....	31
2.2.1. HEK 293 hücre dizisi.....	31
2.2.2. Besiyeri hazırlanışı.....	32
2.2.3. Hücre besleme işlemleri.....	33
2.2.4. Thoma Lamı'nda sayım işlemleri.....	33
2.2.5. Tripsinleme işlemleri.....	34

2.2.6. Tripan mavisiyle ml'deki canlı ve ölü hücre sayılarının belirlenmesi.....	34
2.2.7. Bitki büyüme düzenleyicisi ve pestisit çözeltilerinin hazırlanması işlemleri	35
2.2.8. Tripan mavisi ve MTT ile hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliğinin belirlenmesi işlemleri.....	38
2.2.8.1. Tripan mavisi ile hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliğinin belirlenmesi işlemleri	38
2.2.8.2. MTT ile hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliğinin belirlenmesi işlemleri.....	39
2.2.9. HEK293 hücrelerinin c-kit boyasıyla boyanması işlemleri.....	41
2.2.10. Hücrelerin dondurularak saklanması işlemleri.....	43
2.2.11. İstatistik analizler.....	44
3. BULGULAR.....	45
3.1. <i>D. melanogaster</i> Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi	
Kullanılarak Mutajenite ve Rekombinojenitenin Belirlenmesi.....	45
3.1.1. Kontrol grupları.....	45
3.1.1.1. Distile su.....	45
3.1.1.2. Etil metan sülfonat (EMS).....	46
3.1.1.3. % 10'luk etil alkol + % 3'lük Triton X-100.....	46
3.1.2. Bitki büyüme düzenleyicileri.....	47
3.1.2.1. İndol-3-asetik asit (IAA).....	47
3.1.2.2. Beta naftoksi asetik asit (BNOA).....	55
3.1.3. Fungisitler.....	63
3.1.3.1. Siprodinil.....	63
3.1.3.2. Fludioksonil.....	71
3.1.4. Herbisitler.....	79
3.1.4.1. Fluazifop-p-bütil.....	79
3.1.4.2. Fenoksaprop-p-etil.....	87
3.2. Tripan Mavisi Testi ve MTT Testi ile Hücre Yaşayabilirliği ve Çoğalabilirliğinin Belirlenmesi.....	95
3.2.1. Kontrol grupları.....	100

3.2.2. Bitki büyüme düzenleyicileri.....	101
3.2.2.1. IAA.....	101
3.2.2.2. BNOA.....	103
3.2.3. Fungisitler.....	104
3.2.3.1. Siprodinil.....	104
3.2.3.2. Fludioksonil.....	105
3.2.4. Herbisitler.....	107
3.2.4.1. Fluazifop-p-bütül.....	107
3.2.4.2. Fenoksaprop-p-etil.....	108
4. TARTIŞMA.....	110
5. SONUÇ.....	117
6. KAYNAKLAR.....	119
ÖZGEÇMİŞ.....	129

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Bd ^s	<i>Serrat</i> kanat geni (Beaded <i>Serrate</i>)
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
<i>flr</i>	Flare
g	Gram
<i>g</i>	Nisbi santrifüj gücü
kg	Kilogram
l	Litre
LD	Ölümcül doz (Lethal Dose)
m	Çarpım Sabiti
mg	Miligram
ml	Mililitre
<i>mwh</i>	Çoklu Kanat Kılı (Multiple Wing Hair)
M	Molar
mM	Milimolar
μM	Mikromolar
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
nM	Nanomolar
pdf	Taşınabilir belge (Portable Document Format)
pH	Asitlik derecesi
ppm	Milyonda bir kısım madde (Parts Per Million)
rpm	Dakikadaki devir sayısı (Revolutions Per Minute)

Kısaltmalar

2,4-D	2,4-diklorofenoksi asetik asit
2,4,5-T	2,4,5-triklorofenoksi asetik asit
4-CPA	4-klorofenoksiasetik asit
BNOA	Beta-naftoksi asetik asit
CaNT	Sıçan hücre dizisi
CAS	Chemical Abstract Service
DIM	Diindol metan
<i>DIM</i>	Drosophila Instant Medium
DMEM	Dubelco'nun Değiştirilmiş Eagle Besiyeri
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
EMS	Etil metan sülfonat
EtOH	Etil Alkol
FBS	Fetal bovine serum
FCS	Fetal calf serum
GA ₃	Gibberellik asit ₃
HEK293	İnsan embriyonik böbrek hücre dizisi
HRP	Horsereadiş peroksidaz
HT29	İnsan kolon kanseri hücre dizisi
I3C	İndol-3-karbinol
IAA	İndol-3-asetik asit
IBA	İndol bütirik asit
MCF7	İnsan meme kanseri hücre dizisi
MDA-MB-231	İnsan meme kanseri hücre dizisi
MTT	Metil tiazolil tetrazolyum bromür
PBS	Phosphated buffer salt (Fosfatlanmış tampon tuzu)
Saos-2	İnsan kanser hücre dizisi
SF	Sülforafan
SMART	Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi

T47-D

İnsan kanser hücre dizisi

TCDD

2,3,7,8 tetra kloro dibenzo-p-dioksin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>D. melanogaster</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi.....	16
Şekil 2.2. <i>D. melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü.....	17
Şekil 2.3. Küçük tek tip <i>mwh</i> mutant klon.....	20
Şekil 2.4. Büyük tek tip <i>flr</i> mutant klon.....	20
Şekil 2.5. Büyük tek tip <i>mwh</i> mutant klon.....	21
Şekil 2.6. İkiz mutant klon.....	21
Şekil 2.7 Mutant kanat kılları.....	22
Şekil 2.8. Dengeleyici kromozom taşıyan ve taşımayan bireylerin kanat fenotipleri.....	22
Şekil 2.9. <i>D. melanogaster</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde kullanılan belirleyici genlerin üçüncü kromozom üzerindeki yerleşimleri.....	23
Şekil 2.10. Kanat sektörleri.....	28
Şekil 2.11. <i>mwh/flr</i> genotipindeki bireylerde görülebilecek genetik anormallikler.....	29
Şekil 2.12. HEK293 hücrelerinin inverted mikroskoptaki görüntüsü.....	32
Şekil 2.13. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler uygulanmış çok kuyucuklu kültür kabı (MTT eklendikten sonra).....	40
Şekil 2.14. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler uygulanmış çok kuyucuklu kültür kabı (MTT+DMSO eklendikten sonra).....	40
Şekil 2.15. c-kit boyasıyla boyanmış HEK293 hücrelerinin mikroskobik görüntüsü (20 x büyütme).....	42
Şekil 2.16. c-kit boyasıyla boyanmış HEK293 hücrelerinin mikroskobik görüntüsü (40 x büyütme).....	42
Şekil 3.1. IAA'nın normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (<i>mwh/flr³</i>) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi	51
Şekil 3.2. IAA'nın normal metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı (<i>mwh/TM3</i>) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	51
Şekil 3.3. IAA'nın yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (<i>mwh/flr³</i>) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	52

Şekil 3.4. IAA'nın yüksek metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	52
Şekil 3.5. BNOA'nın normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	59
Şekil 3.6. BNOA'nın normal metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	59
Şekil 3.7. BNOA'nın yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	60
Şekil 3.8. BNOA'nın yüksek metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımı'na etkisi.....	60
Şekil 3.9. Siprodinil'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	67
Şekil 3.10. Siprodinil'in normal metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	67
Şekil 3.11. Siprodinil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	68
Şekil 3.12. Siprodinil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	68
Şekil 3.13. Fludioksonil'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	75
Şekil 3.14. Fludioksonil'in normal metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	75
Şekil 3.15. Fludioksonil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	76
Şekil 3.16. Fludioksonil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	76
Şekil 3.17. Fluazifop-p-bütül'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	82
Şekil 3.18. Fluazifop-p-bütül'in normal metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	82
Şekil 3.19. Fluazifop-p-bütül'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	83

Şekil 3.20. Fluazifop-p-bütıl'in yüksek metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı (<i>mwh/TM3</i>) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	83
Şekil 3.21. Fenoksaprop-p-etil'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (<i>mwh/flr³</i>) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	91
Şekil 3.22. Fenoksaprop-p-etil'in normal metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı (<i>mwh/TM3</i>) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	91
Şekil 3.23. Fenoksaprop-p-etil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (<i>mwh/flr³</i>) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	92
Şekil 3.24. Fenoksaprop-p-etil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip <i>serrat</i> kanatlı (<i>mwh/TM3</i>) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi.....	92
Şekil 3.25. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler uygulanmış HEK293 hücrelerinin tripan mavisi testine göre canlı ve ölü hücre sayıları ile canlı hücre yüzdeleri.....	97
Şekil 3.26. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler uygulanmış HEK293 hücrelerinin MTT testine göre canlılık oranları.....	99

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin dahil oldukları kimyasal gruplar, katalog numaraları ya da CAS (Chemical Abstract Service) numaraları ve kimyasal yapıları.....	24
Çizelge 2.2. Orijinal ve alternatif hipotezlerin değerlendirilmesi.....	31
Çizelge 2.3. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin <i>D. melanogaster</i> 'de mutajenite ve rekombinojenite ve hücre kültüründe hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliği (kanseri ilerletici) üzerine etkilerinin belirlenmesinde kullanılan konsantrasyonları.....	37
Çizelge 3.1. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda IAA'nın <i>Drosophila melanogaster</i> 'in normal metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	49
Çizelge 3.2. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda IAA'nın <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	50
Çizelge 3.3. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda BNOA'nın <i>Drosophila melanogaster</i> 'in normal metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	57
Çizelge 3.4. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda BNOA'nın <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	58
Çizelge 3.5. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda Siprodinil'in <i>Drosophila melanogaster</i> 'in normal metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	65
Çizelge 3.6. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda Siprodinil'in <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	

etkileri.....	66
Çizelge 3.7. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda Fludioksonil'in <i>Drosophila melanogaster</i> 'in normal metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	73
Çizelge 3.8. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda Fludioksonil'in <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	74
Çizelge 3.9. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda Fluazifop-p-bütıl'in <i>Drosophila melanogaster</i> 'in normal metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	80
Çizelge 3.10. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda Fluazifop-p-bütıl'in <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	81
Çizelge 3.11. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda Fenoksaprop-p-etil'in <i>Drosophila melanogaster</i> 'in normal metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	89
Çizelge 3.12. Kontrol grupları ve değişik konsantrasyonlarda Fenoksaprop-p-etil'in <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve <i>serrat</i> kanatlı hatlarında somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri.....	90
Çizelge 3.13. Tripan mavisi testine göre bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	96
Çizelge 3.14. MTT testine göre bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	98
Çizelge 3.15. Tripan mavisi testine göre farklı konsantrasyonlarda DMEM + Etil alkol çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	100
Çizelge 3.16. MTT testine göre farklı konsantrasyonlarda DMEM + Etil alkol	

çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri	101
Çizelge 3.17. Tripan mavisi testine göre farklı konsantrasyonlarda IAA çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	102
Çizelge 3.18. MTT testine göre farklı konsantrasyonlarda IAA çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri	102
Çizelge 3.19. Tripan mavisi testine göre farklı konsantrasyonlarda BNOA çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	103
Çizelge 3.20. MTT testine göre farklı konsantrasyonlarda BNOA çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri	104
Çizelge 3.21. Tripan mavisi testine göre farklı konsantrasyonlarda Siprodinil çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	104
Çizelge 3.22. MTT testine göre farklı konsantrasyonlarda Siprodinil çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri	105
Çizelge 3.23. Tripan mavisi testine göre farklı konsantrasyonlarda Fludioksonil çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	106
Çizelge 3.24. MTT testine göre farklı konsantrasyonlarda Fludioksonil çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri	106
Çizelge 3.25. Tripan mavisi testine göre farklı konsantrasyonlarda Fluazifop-p-bütül çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	107
Çizelge 3.26. MTT testine göre farklı konsantrasyonlarda Fluazifop-p-bütül çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri	108
Çizelge 3.27. Tripan mavisi testine göre farklı konsantrasyonlarda Fenoksaprop-p-etil çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri.....	108
Çizelge 3.28. MTT testine göre farklı konsantrasyonlarda Fenoksaprop-p-etil çözeltilerinin HEK293 hücrelerinin canlılığına etkileri	109

1. GİRİŞ

Günümüzde ekonomisi tarıma dayanan, sınırlı tarım alanlarına ve artan nüfusa sahip ülkelerde ve ülkemizde daha fazla verim elde etmek için çeşitli kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Bunların içinde bitki büyüme maddeleri ve pestisitlerin son yıllarda giderek artan boyutlarda tarımda kullanıldığı bilinmektedir. Bu maddeler günümüzde tarım alanlarında özellikle seracılıkta verimi arttırmak amacıyla yaygın olarak kullanılırken, bilimsel denetimden yoksun, gelişigüzel ve aşırı dozlarda kullanıldığı ve bu maddelerin kalıntı etkilerinin olduğu da bilinmektedir (Topcuoğlu vd 1994). Ancak üretici, bu maddeleri ne kadar yüksek dozda kullanır ve ne kadar çok sayıda uygulama yaparsa o kadar iyi sonuç alacağı inancında olup, kalıntı etkilerinin canlı sağlığına, çevreye ve doğaya verdiği zararları aklı getirmemektedir. Oysa özellikle bitki büyüme maddeleri bilimsel olarak uygun dozda ve zamanda kullanıldığında, onlardan canlı sağlığına, çevreye ve doğaya zarar vermeden maksimum düzeyde yararlanılacağı da bir gerçektir.

Kimyasal maddelerin canlılarda yarattıkları zehirlenme gibi zararlı etkilerinden başka mutajenik etkileri nedeniyle gelecek kuşakların genetik sağlığını bozdukları ve kanser nedenlerinden birini oluşturdukları hakkında pek çok kanıt bulunmaktadır.

Mutasyon, genlerdeki kalıtsal değişikliklerdir, başka bir deyişle kalıtım maddesi ile dölden döle geçebilen herhangi bir değişikliktir. Genler çeşitli mutasyonel değişikliklere açıktır (Öğüş 1999).

Mutajenite ile karsinojenite arasında sıkı bir ilişki vardır. Lijinsky (1989)'nin bildirdiğine göre, McCann ve arkadaşları, *Salmonella* mutajenite testlerine göre karsinojen olduğu bilinen birtakım maddelerin % 70'inin aynı zamanda mutajen olduğunu belirtmektedirler. Ayrıca birçok mutajenin de karsinojen olduğu düşünülmektedir (Lijinsky 1989). Deoksiribonükleik asit (DNA)'te oluşan değişiklikler yalnız eşey hücrelerinde değil somatik hücrelerde de önemlidir. Somatik hücrelerde mutasyonlar metabolizmanın ya da hücre bölünmesinin kontrolünü bozarak, hastalıklara ve dejenerasyonlara neden olur (Öğüş 1999).

Kanser, hücrenin yapı ve fonksiyon bakımından normalden sapması, anormal şekilde ve gerçekte kendisinin bir yapıtaşı olduğu canlının aleyhine olacak biçimde çoğalma göstermesi ve kendisiyle hiçbir ilişkisi olmayan diğer doku ve organları işgal ederek o doku ve organların görevlerini engellemesidir. Genel anlamda kanser, vücuttaki her cins hücre veya dokudan köken alabilir. Elde edilen bulgular, kanserleşmenin tek bir hücreden başladığını ve zamanla yaygınlaştığını göstermektedir (Fırat ve Küçükü 1986).

Bitki büyüme maddelerinin önemli bir grubu olan oksinlerden indol-3-asetik asit (IAA)'ın bitki büyüme ve gelişimine olan etkilerinin yanı sıra diğer organizmalar üzerine etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar da vardır (Peck ve McKenney 1957, Kimura ve Young 1959, El-Mofty ve Sakr 1988, Üstün vd 1992). Yapılan bir çalışmada, Swiss-Albino farelerin (*Mus musculus* L.) karaciğer, böbrek ve beyin dokularında absisik asit (ABA), GA₃, IAA ve sitokin (zeatin)'in biriktiği saptanmıştır (Yavaş 1995, Yavaş vd 1997).

Sasagawa ve Matsushima (1991), *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 ve *Escherichia coli* WP2 uvrA/ pKM101 mutasyon testlerini kullanarak, S9 karışımı (sıçan karaciğerinin 9000 g'de santrifüjlenmesiyle elde edilen dökelti ve kofaktörleri içeren metabolik etkinlik sistemi) bulunan ve bulunmayan ortamlarda indol glukozinolatlardan türetilen 8 farklı indol bileşiğinin [indol-3-asetonitril, indol-3-karbinol (I3C), indol-3-asetamid, IAA, 3-metilindol, indol-3-aldehit, indol-3-karboksilik asit ve indol] mutajenitesini araştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, bu bileşiklerin hiçbiri nitrit bulunmayan besiyerinde mutajen bulunmazken pH 3'te nitrit uygulanmış ortamda mutajen etki göstermektedirler. Yine bu bileşikler S9 karışımının bulunmadığı nitrit uygulanmış besiyerinde mutajen etki gösterirken, S9 karışımının besiyerine eklenmesinin mutajeniteyi azalttığı görülmüştür. Bu da bize, nitritli bileşikler bulunan yiyeceklerin özellikle bitki büyüme maddelerince zengin bitkisel besinlerle birlikte alındığında kanseri teşvik edebileceği fikrini vermektedir.

Kappas (1983), *Aspergillus nidulans*'ta petri kabı testi ile bitki büyüme

maddelerinden IAA, indol-3-bütirik asit (IBA) ve kinetinin değişik konsantrasyonlardaki genetik etkinliğini incelemiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, IAA ve IBA somatik ayrımı büyük ölçüde arttırırken kinetin etkisiz kalmıştır. Metabolik etkinlik tekniğine göre besiyerine S9 karışımı eklendiğinde IAA ve IBA'nın somatik ayırım üzerindeki etkisinde 3-5 kat artış gözlenirken kinetin yine etkisiz kalmıştır.

Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) kullanılarak *Drosophila melanogaster*'in etil metan sülfonat (EMS) ile teşvik edilmiş mutant kanat benekleri üzerine IAA, gibberellik asit (GA₃) ve bir sitokinin olan kinetin etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, GA₃'ün EMS ile teşvik edilen bütün kanat beneklerini azalttığı, kinetin'in 10⁻³ M konsantrasyonu EMS ile teşvik edilen ikili beneklerin sayısını azaltırken, 10⁻⁴ M konsantrasyonunun beneklerin bütün tiplerinin sayısında artışa neden olduğu, aynı konsantrasyonlardaki IAA'nın değişken sonuçlar verdiği, 10⁻⁴ M IAA'nın ise yalnızca büyük tekli beneklerin sayısını azalttığı rapor edilmektedir (Yeşilada 2000). Ayrıca EMS ve gama ışınları uygulamasının sonucu olarak bazı kromozomal anormalliklerin ortaya çıktığı, bu mutajenlerin etkisinin GA₃ ve IAA uygulaması ile düzeldiği veya en azından azaldığı da bildirilmektedir (Yeşilada 2000). Bundan başka, söz konusu bitki büyüme maddelerinin EMS mutajenine benzer bir mekanizma ile farklı üreme hücresi evrelerinde çeşitli genetik hasarlara neden olabileceğinin akılda tutulması gerektiği de ifade edilmektedir (Yeşilada vd 1996).

I3C, brokoli, lahanaya ve diğer turpgiller ailesi üyelerinde doğal olarak oluşan bir oksin türevidir. Bir çalışmada, hamile sıçanların I3C'ye maruz kalmasının erkek döllerde üretimsel anormalliklere neden olduğu bildirilmektedir (Wilker vd 1996). Sprague-Dawley sıçanlarının 15 günlük hamile dişilerine tek oral dozda 2,3,7,8 tetrakloro dibenzo-p-dioksin (TCDD) (0,5, 1,0 veya 2,0 µg/kg) veya I3C (1,0 veya 100 mg/kg) uygulaması erkek döllerde üretimsel anormalliklere sebep olmuştur (Wilker vd 1996). Başka bir çalışmada, tümör oluşumunun en önemli uyarıcısının kolesterol + sığır yağı + I3C bileşimi olduğu gözlenmiştir (Pence vd 1996). Bu maddeler tümör oluşumunda birbirinin etkisini güçlendirmektedir. I3C'nin kanser başlatıcısı olabileceği düşünülmektedir (Pence vd 1996). Ayrıca, I3C'nin karaciğer ve tiroid bezi neoplastik gelişimini güçlendirebileceği de ileri sürülmektedir (Kim vd 1997). Başka bir çalışmada

da, diyetle alınan I3C'nin, hem rahim boynu kanserini hem de gırtlak papillomatozunu (kabarcıklar şeklinde bir çeşit doku büyümesi) teşvik ettiği bildirilmektedir (Chen vd 2001).

Yemek borusu kanserli hastaların normal ve yassı hücre karsinomlu dokularındaki IAA içeriğinin gaz kromatografisi/yüksek geri alınımı-seçici iyon ekranlı kütle spektroskopisi ile belirlendiği bir çalışmada, kanserli hücrelerdeki IAA içeriği normal komşu hücrelere göre yüksek bulunmuştur. IAA miktarı normal hücrelerde 90-390 ng/g taze ağırlık iken kanserli hücrelerde 1400-4700 ng/g taze ağırlıktır. Bu veriler, yassı hücre karsinomunun erken farklılaşma evresinde IAA üretildiğini göstermektedir. IAA artışının, yemek borusu kanser hücrelerinin çoğalmasının uyarılmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (Shimojo vd 1997).

IAA'nın mutajenite veya karsinojenitesine ilişkin etkilerinin yanı sıra IAA ve türevlerinin kanser tedavisinde de kullanılabilmesine ilişkin çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri, Folkes ve Wardman'ın (2001) IAA ve bazı türevlerinin oksidatif etkinliğiyle ilgili yaptıkları çalışmadır. Araştırmacılara göre, IAA ve bazı türevleri horseradiş peroksidaz (HRP) ile okside edilerek sitotoksik türlerine dönüşmektedir. IAA veya HRP tek başlarına toksik değildirler. Folkes ve arkadaşları (2002), V79 kobaylarının fibroblastları, insan MCF7 meme kanseri hücre dizisi, HT29 kolon kanseri hücre dizisi ve CaNT murin hücreleri ile kemirgen tümör hücre dizilerinde HRP tarafından IAA'dan 10 kat daha yavaş oksidize edilen 5-florindol-3-asetik asitin yer değişimi reaksiyonu göstermeyen indol bileşiklerinden çok daha toksik olduğunu bildirmektedirler. Bu araştırmacılar, kanser hücrelerine karşı toksisitenin tiyollerle, DNA ile veya diğer nükleofillerle birleşen 3-metilen-2-oksindol (veya analogları) oluşumundan kaynaklandığını da düşünmektedirler. Bu bulgular Wardman (2002) tarafından da desteklenmektedir. Rossiter (2002) adlı araştırmacı da, IAA metaboliti olan ve kanser tedavisinde kullanılan 3-metilen oksindolün de sitotoksik bir metabolit olduğunu ileri sürmektedir. 3-metilen oksindolün, alkilenmiş kanser ilaçlarının etkinliğini arttırmak suretiyle kanseri iyileştirmede kullanılabilceği de bildirilmektedir (Pettigrew vd 2001).

Elektron mikroskopik çalışmalar ve DNA parçalarının akım hücre sayar (flow sitometri) analizlerinin sonucuna göre, IAA'nın fotooksidasyon ürünlerinin apoptotik bir mekanizmayla hücre ölümünü uyardığı gözlenmiştir (Edwards vd 1999). Yine IAA/HRP kombinasyonunun kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili yapılan bir çalışmada, IAA/HRP kombinasyonunun gen hasarlarının iyileştirilmesinde iyonize radyasyon uygulamasının etkisini güçlendirdiği gösterilmiştir (Greco vd 2002). HRP genleri aktarılan hipoksik insan mesane tümör hücrelerine IAA uygulandığında kanserli hücrelerin öldüğü de gözlenmiştir (Greco vd 2000).

I3C ve onun dimeri olan 3,3'-diindol metan (DIM), özellikle Brassica cinsinde, brokolide, brüksel lahanasında ve lahanada bulunan ve birçok biyokimyasal etkinliği olan maddelerdir (Leong vd 2001, Hong vd 2002). I3C'nin ağızdan alınımının kanserojen madde uygulanmış kemiricilerde tümör büyümesini azalttığı bildirilmektedir. Ayrıca, I3C'nin asidik koşullarda midede hızla daha potansiyel bir bileşik olan DIM'a dönüşerek tümör önleyici etki gösterdiği de belirtilmektedir (Tou vd 2001). Dashwood (1998) adlı araştırmacı, I3C'nin kanser önleyici etkisine dikkat çekmektedir. Stresser ve arkadaşları da (1995), diyetle alınan I3C'nin kemirgenlerde ve alabalıkta kanserleşmeyi önlediğini bildirmektedirler. I3C'nin meme kanser hücrelerinde, DIM'ın ise rahim boynu kanser hücrelerinde *in vitro* apoptozu teşvik ettiği bildirilmektedir (Chen vd 2001). Bu araştırmacılar, hem I3C hem de DIM'ın bazı rahim boynu kanser hücre dizisinde *in vitro* DNA ipliği kırılımını teşvik ettiğini de bildirmektedirler. IAA varlığının, I3C gibi bir kanser önleyicisinin oluşumuyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (Shimojo vd 1997).

Tou ve arkadaşlarının (2001) yaptıkları bir çalışmada, dişi atimik (timus bezi çıkarılarak bağışıklık sistemi köreltilmiş) çıplak fareye aktarılabilen insan meme tümör hücrelerinin büyümesinde DIM'ın etkilerini gözlemişlerdir. Deri altına günde 100 µg enjekte edilen DIM'ın, tümör hacmini önemli derecede azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, metastaz sürecinde tümör hücrelerinin normal hücrelere yapışması, saldırganlığı ve onları öldürücülüğü üzerine DIM'ın etkileri araştırılmıştır. Yüksek ve zayıf metastatik östrojen reseptörlü hücre dizileri üzerine uygulanan 10 ve 50 µg DIM'ın, meme kanser hücrelerinin saldırganlığını önemli derecede engellediği rapor

edilmektedir. 10 mg üzeri konsantrasyonlarda DIM'in, östrojen reseptörleri yeterli (MCF-7) ve yetersiz (MDA-MB-231) insan meme kanser hücrelerinde konsantrasyona ve zamana bağlı olarak DNA sentezini ve hücre çoğalmasını engellediği gözlenmiştir (Hong vd 2002). Gamet-Payrastra ve arkadaşları (1998) tarafından yapılan bir çalışmada ise, glukobrassisin ve glukorafaninin hidrolizi sırasında ortaya çıkan sülforafan (SF) ve DIM'in düşük konsantrasyonlarda farklılaşmamış bağırsak HT29 hücrelerinin yaşayabilirliğini azaltırken, farklılaşmış CaCo₂ hücrelerinin yaşayabilirliğini etkilemediği gözlenmiştir. Leong ve arkadaşları (2001) da, DIM'in insan endometrial kanser hücreleri üzerine hücre öldürücü etkisi olduğunu bildirmektedir. Yine Ge ve arkadaşları (1996) yaptıkları bir çalışmada, DIM'in insan MCF-7, T47-D ve Saos-2 kanser hücrelerinin hepsinde doza bağlı büyüme engelleyicisi olduğunu gözlemişlerdir.

Günümüzde, tarımda kullanılan sentetik ticari bitki büyüme maddelerinin karsinojenik ve toksik etkilerinin bulunduğu bildirilirken, canlılarda (yüksek organizasyonlu bitki, mantar, yosun, yeşil alg) doğal olarak sentezlenen bitki büyüme maddelerinin karsinojenik ve toksik etkilerinin bulunmadığı ileri sürülmektedir (Peck ve McKenney 1957, Kimura ve Young 1959, El-Mofty ve Sakr 1988, Üstün vd 1992).

Oksinlerden bir sentetik bitki büyüme düzenleyicisi olan beta-naftoksi asetik asit (BNOA) ülkemizde özellikle yöremizde örtü altı sebze yetiştiriciliğinde özellikle domateste çiçek dökümünü önleyerek meyve bağlanmasını artırmak ve erken olgunlaşmayı teşvik etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Ertekin 1997). Antalya yöresi tarımında yaygın olarak kullanılan diğer bitki büyüme düzenleyicileri ise kloro fenoksi asetik asitler [2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D), 2,4,5-triklorofenoksi asetik asit (2,4,5-T), 4-klorofenoksiasetik asit (4-CPA) gibi]'dir. Kloro fenoksi asetik asitler hakkında oldukça fazla çalışma bulunmasına rağmen literatür bilgilerine göre BNOA'nın mutajenite rekombinojenite ve promotor (kanser başlatıcı) etkilerine ilişkin az sayıda çalışmaya rastlanılmıştır. Kloro fenoksi asetik asit grubu (2,4-D, 2,4,5-T) maddelerin başlıca akut toksik etkilerinin kas sistemi ve merkezi sinir sistemi üzerinde olduğu, yüksek konsantrasyonda hayvanların kaslarında zayıflık ve vücut hareketlerinde düzensizlik yaptığı, özellikle iskelet kasları, kalp kasları ve karaciğer üzerinde

harabiyete, böbrek yetmezliğine ve akciğerde su toplanmasına neden olduğu rapor edilmektedir (Şeker 2002). Bu maddeler ile akut zehirlenmelerde ölüm oranının yüksek olduğu, insanlarda da akut zehirlenme belirtilerinin hayvanlardakine benzediği ve bu maddelere maruz kalanlarda nörolojik bozuklukların ve klorakne denilen şiddetli bir deri hastalığının ortaya çıkabildiği de ifade edilmektedir (Şeker 2002). Yapılan bir çalışmada, farelere 2,4-D verilmiş ve farelerin karaciğer ve böbreklerinde şiddetli enfeksiyon bulguları saptanmıştır (Bucher 1990). Ayrıca, 2,4-D'nin fare, sıçan, tavşan gibi deney hayvanlarında ve insanlarda nörotoksik etkisinin olduğu ve beyinde biriktiği de bildirilmektedir (Heikki ve Pauli 1979). Kaya ve arkadaşları (1999), *Drosophila melanogaster* kanat spot testi kullanarak 2,4-D ve 4-CPA'nın somatik mutasyon ve rekombinasyon olaylarına göre genotoksikliğini araştırmışlardır. Üçüncü evrede bulunan transheterozigot larvalar çoklu kanat kılı (*mwh*) ve *flare* (*flr*) şeklindeki kanat tüylerini etkileyen iki çekinik mutasyonu belirleyebilmek için değişik konsantrasyonlarda bu kimyasallara maruz bırakılmışlardır. 2,4-D, 10 mM gibi yüksek bir konsantrasyonda spotların sıklığında istatistiksel olarak önemli fakat zayıf bir artışa sebep olmuştur. Tersine 4-CPA uygulaması söz konusu spotların sıklığında herhangi bir önemli artışa sebep olmamıştır. Heterozigot larvalar ne 2,4-D ne de 4-CPA'ya maruz bırakıldığında, *mwh/TM3* genotipindeki bireylerde spot frekansında herhangi bir artış görülmemiştir. Kloro fenoksi asetik asitlerin karsinogenitesine dair epidemiyolojik ve toksikolojik bir çalışmada ise 4-kloro-2-metil fenoksi asetik asit (MCPA) ve 2,4-D'nin belirli testlere göre hayvanlarda tümör oluşturmadığı ancak insanlar için daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği bildirilmektedir (Şeker 2002). Bu çalışmaların bazılarında kimyasalların kullanım sıklığına bağlı olarak yaygın olmayan kanserlerin riskinin arttığı gözlenmiştir. Araştırmacılar, daha fazla çalışmanın yapılması gerektiğini belirtmektedirler (Bond ve Rossbacher 1993).

BNOA, 2,4-D ve 4-CPA'nın domateslerde kalıntı analizlerinin yapıldığı bir çalışmada toplam 200 sera domatesi ile çalışılmış ve domateslerde BNOA kalıntısına rastlanılmamıştır (Gökmen 1998). Gökmen ve Acar (2000)'da, normal ve anormal olan yaklaşık 100 domateste 4-CPA, 2,4-D ve BNOA kalıntısı araştırdıkları bir çalışmada, sera domateslerinin sadece 4-CPA kalıntısı taşıdıkları, 2,4-D veya BNOA kalıntısı taşımadıklarını belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada da, BNOA'nın mutajenik etkinliği

Salmonella/memeli mikrozom testiyle belirlenmeye çalışılmıştır (Rashid ve Mumma 1986). Araştırmacılar, Aroklor pestisidi ile uyarılmış farelerdeki karaciğer mikrozomal ve sitozolik enzimlerinin varlığını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda BNOA'nın fare karaciğer mikrozomal ve sitozolik enzim aktivitelerinde bir artışa neden olmadığını belirlenmiştir. Ayrıca BNOA'nın bu test koşullarında herhangi bir mutajenik etki göstermediği de rapor edilmektedir (Rashid ve Mumma 1986).

İnsanlar ekip diktiklerini değil hastalık ve zararlılardan arta kalan mahsulü elde etmekte ve bunun bir kısmını da depolarda yine zararlılara kaptırmaktadırlar. Dünyada tarımı yapılan bitkilerde zararlılar, hastalıklar ve yabancı otlar nedeniyle hasattan önce ortaya çıkan ürün kaybı %35 olarak hesaplanmaktadır. Mücadele yapılmadığı zaman bazı ürünlerde bu kaybın iki kat artabileceği yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. Örneğin, ilaçlama yapılmadığı zaman elma iç kurdunun meyveleri %96,6 oranında kurtlandırarak hemen hemen tamamen dökülmesine neden olduğu; hububat alanlarında zararlı olan süne nedeniyle ise %5'in üzerinde emgili dane (zararlının meyve özsuğu ile beslenmesi durumunda oluşan dane) bulunan buğdaydan ekmek yapılamadığı araştırmalarla belirlenmiştir (Anonim 2002).

Fludioksonil (4-(2,2-difloro-1,3-benzodioksol-4-il)-1H-pirol-3-karbonitril), (fludioxonil) ve Siprodinil [4-siklopropil-6-metil-2-(fenilamino) pirimidin] (cyprodinil) adlı ilaçlar, Antalya yöresi tarımında özellikle domateste mantar hastalıklarına (elmada karaleke, kayısıda çiçek monilyası, bağda ve domateste kurşuni küfe (Aydınoglu vd 2002) karşı en yaygın kullanılan fungusit grubu pestisitlerdendir. Fludioksonil genellikle üzümde, çilekte ve bazı sebzelerde bulunan ve gri küf hastalığı etkeni mantarlar olan *Botrytis cinerea* (Forster ve Staub 1996, Rosslenbroich ve Stuebler 2000, Verdisson vd 2001, Frankart vd 2002) ve *Candida albicans* (Ochiai vd 2002) ile mücadelede kullanılmaktadır.

Anilinopirimidin grubu bir fungusit olan Siprodinil, elmada mavi ve gri küf etkenleri olan *Tapesia yallundae* ve *Tapesia acuformis* (Babij vd 2000), buğdaydaki *Erysiphe graminis f. sp. tritici*, arpadaki *Drechslera teres*, elmadaki *Venturia inequalis* (Knaufbeiter vd 1995) ve *Botrytis cinerea* mantarlarının (Hilber ve Schuepp 1996)

kontrolünde kullanılmakta ve bu bileşimin bakteri öldürücü etkisi bulunmamaktadır (Zhou vd 2002). Siprodinil'in, sitokrom P-450 monooksijenaz ya da diğer yıkım enzimlerine sahip mikroplar tarafından metabolize edildiği belirlenmiştir (Schocken vd 1997).

Antalya yöresi tarımında meyvelerde küf oluşumuyla mücadelede daha çok Siprodinil+Fludioksonil fungusitleri karışımının ticari formülasyonları kullanılmaktadır. Diğer taraftan, Siprodinil+Fludioksonil karışımının bitkiler üzerinde olumsuz etkilerinin olabileceğine ilişkin çalışmalar da vardır. Örneğin, Öztürk (2004), Siprodinil+Fludioksonil karışımının ticari formülasyonu olan Switch adlı ilacın belirli konsantrasyonlarda sera domateslerine uygulandığında bitkilerin stoma indeksleri, en-boy değerleri ve anormal stoma yüzdesinin artan doza bağlı olarak kontrole göre arttığını, anatomik olarak hücresel düzeyde anomaliler görüldüğünü bildirmektedir. Bu sonuçlara göre fungusit uygulamasının elde edilecek ürün miktarı üzerinde olumsuz bir etki oluşturabileceği fikri ileri sürülmektedir.

Çevre Koruma Ajansı (Environmental Protect Agency, EPA)'nın internet sayfasındaki (EPA, 1998) bilgilere göre; sıçan ve fare üzerinde yapılan kronik toksisite/karsinojenite testlerinde, erkeklerde 2000 ppm, dişilerde 5000 ppm dozlarına kadar Siprodinil'in herhangi bir karsinojenik etkisine rastlanılamamıştır. Farelerde, yan etkinin gözlemediği Siprodinil konsantrasyonu 2000 ppm (erkeklerde 212,4 mg/kg/gün) iken, yan etkinin gözlenmediği Siprodinil konsantrasyonu 150 ppm (erkeklerde 16.1 mg/kg/gün)'dir. Erkeklerde konsantrasyona bağlı olarak ekzokrin pankreasta odaksal ve çok odaklı hiperplazi meydana gelmektedir. Dişi tavşanlarda yan etkinin gözlemediği Siprodinil konsantrasyonu 400 mg/kg/gün iken, yan etkinin gözlenmediği Siprodinil konsantrasyonu 150 mg/kg/gün'dür. 400 mg/kg/gün Siprodinil uygulaması, vücut ağırlığı artışında azalışa neden olmaktadır. Cenin gelişimi ile ilgili yan etkinin gözlemediği 400 mg/kg/gün Siprodinil uygulaması, fazladan kaburgaya sahip, bir defada doğan yavruların sayısında önemsiz bir artışa neden olmaktadır. Sıçanlarda, yan etkinin gözlemediği Siprodinil konsantrasyonu 4000 ppm (326 mg/kg/gün) iken, yan etkinin gözlenmediği Siprodinil konsantrasyonu 1000 ppm (81 mg/kg/gün)'dir. 4000 ppm Siprodinil uygulaması, yavru ağırlığında azalmaya neden olmaktadır. Siprodinil'in

mutajenitesi ile ilgili olarak, hem prokaryotlarda (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*) hem de ökaryotlarda (Çin kobaylarının akciğer V79 hücreleri) nokta mutasyon testi, Çin kobaylarının ovaryum hücrelerinde (*in vitro*) ve fare kemik iliğinde (*in vivo*) kromozom hatası testi, sıçan karaciğer hücrelerinde DNA tamir testi yapılmıştır. Bu mutajenite testlerinde tüm sonuçlar negatif bulunmuştur.

Çevre Koruma Ajansının internet sayfasındaki bilgilere göre; (EPA, 2000) sıçanlarda, yan etkinin gözlendiği Fludioksonil konsantrasyonu erkeklerde 428 mg/kg/gün, dişilerde 462 mg/kg/gün iken, yan etkinin gözlenmediği Fludioksonil konsantrasyonu erkeklerde 64 mg/kg/gün, dişilerde 70 mg/kg/gün'dür. Yan etkilerin, erkek sıçanlarda kronik böbrek hastalığı, dişi sıçanlarda karaciğerde büyüme ve hem erkek hem de dişi sıçanlarda vücut ağırlığında azalma olarak ortaya çıktığı bildirilmektedir. Fludioksonil'in erkek sıçanlarda karsinojenitesine ilişkin kanıt bulunmamasına rağmen, dişi sıçanların karaciğer hücrelerinde tümör oluşumu yönünde istatistik olarak önemli bir artış gözlenmiştir. Yine sıçanlarda, karsinojenite ve kronik toksisitenin birlikte incelendiği çalışmalarda, yan etkinin gözlendiği Fludioksonil konsantrasyonu erkeklerde 113 mg/kg/gün, dişilerde 141 mg/kg/gün iken, yan etkinin gözlenmediği Fludioksonil konsantrasyonu erkeklerde 37 mg/kg/gün, dişilerde 44 mg/kg/gün'dür. Yan etkilerin, dişi sıçanlarda hafif kansızlık ve hem erkek hem de dişi sıçanlarda vücut ağırlığında azalma ve karaciğer lezyonlarının şiddetinde artış olarak ortaya çıktığı bildirilmektedir. Farelerde, yan etkinin gözlendiği Fludioksonil konsantrasyonu erkeklerde 1052 mg/kg/gün, dişilerde 1307 mg/kg/gün iken, yan etkinin gözlenmediği Fludioksonil konsantrasyonu erkeklerde 445 mg/kg/gün, dişilerde 559 mg/kg/gün'dür. Farelerde de yan etkiler bakımından sıçanlardakine benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yine Fludioksonil'in karsinojenitesine ilişkin olarak, dişi farelerde kötü huylu lenf kanseri (malignant melanoma) gözlenme sıklığının arttığı bildirilmektedir. Köpeklerde, yan etkinin gözlendiği Fludioksonil konsantrasyonu 50 mg/kg/gün iken, yan etkinin gözlenmediği Fludioksonil konsantrasyonu 5 mg/kg/gün'dür. 50 mg/kg/gün Fludioksonil uygulaması, erkek ve dişi köpeklerde ishal oluşumunu artırmaktadır. Mutajeniteye ilişkin olarak Fludioksonil, 0,5-60 mg/l'de kobaylarda yumurtalık hücrelerinde çözünürlük ve sitotoksosite sınırına kadar genetik mutasyona, 1,37-700 g/ml'de kromozomların ayrılmamasına neden olurken, 1250-5000 mg/kg'da kemik iliği

kromozom hataları sıklığında önemli bir artışa neden olmadığı belirlenmiştir. Yine, farelerde bir çalışmada 5000 mg/kg/gün'de küçük çekirdekli polikromatik alyuvar yüzdesinde önemli bir artışa, başka bir çalışmada da programlanmamış DNA sentezine neden olmadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, sıçanlarda 1250, 2500 ve 5000 mg/kg'da küçük çekirdek testine göre *in vivo* karaciğer hücresi üzerinde mutajenik etki gösterirken, farelerde 1250, 2500 ve 5000 mg/kg/gün'de baskın ölümcül mutasyona neden olmamaktadır. Ayrıca Fludioksonil'in insan karsinojeni olmadığı da bildirilmektedir.

Tarımda en sık kullanılan pestisitlerden bir grup da herbisitlerdir (yabancı ot öldürücüler). Bunlardan Fluazifop-p-bütül [(R)2-[4[445[-(trifloro-metil)-2 piridinil]oksi]-fenoksi]propanoat] ve Fenoksaprop-p-etil [:(+)-etil 2-{4-[(6-kloro-2-benzoksazolil)oksi]fenoksi}propanoat] ülkemizde özellikle pamukta, domateste, soyada, ayçiçeğinde, patateste, mercimekte, şeker pancarında, narenciye ve meyve bahçelerinde; kanyaş, darıcan, benekli darıcan, kirpidarı, çatalotu, köpekdişi ayrığı, su ayrığı, ayrık, yabancı yulaf, tilki kuyruğu, kuşotu, duvar arpası gibi yabancı otların mücadelesinde kullanılmaktadır (Aydınoglu vd 2002). Fluazifop-p-bütül aynı zamanda *Biomphalaria alexandriana* adlı bir salyangozla mücadelede mollusit (yumuşakça öldürücü) olarak da kullanılmaktadır (Tantawy 2002, Zidan vd 2002). Bu kimyasalların bazı ürünlerdeki kalıntı analizleri de yapılmış ve belirlenebilme sınırı 0,01-0,05 mg/kg olarak bulunmuştur (Bolygo ve Boseley 2000). Momcilovic ve arkadaşları (1999) ise, bu kimyasalın uygulamada normalden fazla kullanıldığında insan için toksik olabileceğini belirtmektedirler. Yine başka bir çalışmada, sülün kuşunun yumurtalarına Fluazifop-p-bütül uygulamasından sonra kuşların vücut ağırlığı, iskelet bozuklukları, dış görünüşsel özellikleri ve ölüm oranı incelendiğinde, toksik/teratojenik etkileri olduğu ortaya çıkarılmıştır (Varga vd 1999). Ayrıca Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil'in bitkilerdeki asetil koenzim A karboksilaz enzimini yıkararak etki gösterdiği de bildirilmektedir (Herbert vd 1996 a, Hebert vd 1996 b, Delye vd 2002).

İnternette (EXTOXNET, 1993) elde edilen bilgilere göre; Fluazifop-p-bütül, zayıf toksik bileşikler sınıfından olup etiketinde DİKKAT sözcüğü bulunmaktadır. Bu bileşiğin ticari olarak üretilen markalarından birisi olan "Fusilade 2000" in düşük

konsantrasyonlarda şiddetli mide ve bağırsak bozukluklarına, yüksek konsantrasyonlarda ise uykusuzluk, baş dönmesi, koordinasyon kaybı gibi merkezi sinir sistemi bozukluklarına neden olabileceği bildirilmektedir. Ayrıca solunması durumunda, akciğerlerde şiddetli tıkanıklık hatta koma ve ölüm görülebileceği rapor edilmektedir. Bu bileşik için akut öldürücü oral doz (LD₅₀), erkek sıçanlarda 3680 mg/kg, dişi sıçanlarda 2451 mg/kg olarak belirlenmiştir. Tavşanlarda ise dermal LD₅₀, 2450 mg/kg'dan yüksek bulunmuştur. Bu bileşiğin söz konusu dozda deriyle temas ettiğinde orta derecede toksik etki gösterdiği bildirilmektedir. Bileşiğin, sadece yumuşak ciltler ve göz için tahriş edici olduğu ve cilt duyarlılığına rastlanmadığı bildirilmektedir. Ayrıca günümüze kadar Fluazifop-p-bütül'in 10 mg/kg ve altındaki dozlarda sıçanlarda herhangi bir teratojenik, mutajenik, karsinojenik, organ toksisitesi ve üreme ile ilgili bir etkisine rastlanmadığı da bildirilmektedir.

Fenoksaprop-p-etil Pesticide Action Network'un web sayfasında (PAN, 2006) "Bad Actor Pesticide" kategorisinde sınıflandırılmamıştır. Bu terim olası karsinojen, üretim veya gelişim üzerine toksik, nörotoksik kolinesteraz inhibitörü, yer altı suyu kirleticisi ve akut toksisitesi olan bileşikler için kullanılmaktadır. Aynı web sayfasında Fenoksaprop-p-etil'in zayıf akut toksisitesi olduğu da bildirilmektedir.

Bu bağlamda tarım ilaçları hakkında daha fazla araştırma yapılması ve dolayısıyla bu kimyasalların tehlikelerinin bilinmesi insan sağlığı açısından son derece önemlidir.

D. melanogaster, genetik dünyasına 1910 yılında Thomas Morgan tarafından tanıtılmış ve o günden beri genetik çalışmalarda model organizma olarak kullanılmaktadır. Kalıtımla ilgili bildiklerimizin çoğu bu canlı üzerinde yapılan çalışmalarla kazanılmıştır. *D. melanogaster*, anatomik açıdan karmaşık bir yapıda olmasına rağmen laboratuvar şartlarında küçük bir habitatta yaşayabilecek büyüklükte olması, kolay ve ucuz beslenebilmesi, çok sayıda yavru döl meydana getirebilmesi, kısa generasyon süresine sahip ökaryotik bir organizma olması gibi nedenlerle genetikte en fazla kullanılan model organizmadır (Falakalı 1990, Kaya 2000). 1984 yılında Graf ve

arkadaşları tarafından geliştirilen *D. melanogaster* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi sayesinde insektisitler (Osaba vd 1999), fungusitler (Osaba vd 2002, Rahden-Staron 2002), herbisitler (Kaya vd 2000), mutajenik ve karsinojenik maddeler (Tripathy vd 1990, Chroust vd 2001, Cruces vd 2003), çevre kirleticiler (Amaral vd 2005, 2006), alkilleyici ajanlar (Goto vd 1999, Olvera vd 2000), kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar (Lehmann vd 2003), antidepresanlar (Kocaoğlu 2004), uçucu yağlar (Idaomar vd 2002, Munerato vd 2005) ve birçok kimyasal maddenin genotoksitesisi ve yine birçok kimyasal maddenin antigenotoksitesisi (Graf vd 1998, Yeşilada 2000, Taira vd 2005) belirlenebilmektedir. Yine bu testte kullanılan özel genetik yapıya sahip hatlar sayesinde uygulanan kimyasalların mutajenik etkilerinin yanı sıra rekombinojenik etkileri de belirlenebilmektedir (Kocaoğlu 2004). Ayrıca yine Graf ve Schaik (1992) tarafından geliştirilen yüksek metabolik etkinliğe sahip hatların bu testte kullanılmasıyla genotoksik bir maddenin genotoksitesinin doğrudan kimyasalın kendisiyle mi yoksa biyoaktivasyon sonucu oluşan parçalanma ürünleriyle mi olduğu bulunabilmektedir (Kaya 2000).

Birçok ilacın hücreler üzerindeki sitotoksitesisi başka bir deyişle hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliği MTT testiyle belirlenebilmektedir. MTT ilk olarak 1983'te Mossmann tarafından tanımlanmıştır (Tanyel 2002). MTT testi, tetrazolyum boyalarının canlı hücrelerdeki mitokondrial bir enzim olan süksinat dehidrogenazla verdiği tepkimeler sonucunda indirgenmesiyle oluşan formazan maddesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesi esasına dayanır (Kaneko vd 1995, Abe ve Saito 1998). Hücrelerin canlılık oranları tripan mavisiyle boyama yöntemiyle de belirlenebilmektedir. Tripan mavisi ölü hücreleri boyamaktadır. Böylece hem canlı hem de ölü hücre sayıları thoma lamında mikroskopik olarak belirlenebilmektedir.

Çalışmamızda kullanılan HEK293 hücre dizisi Graham ve arkadaşlarının 1977'de insan embriyonik böbrek hücrelerini, insan adenovirüs tip 5 DNA'sı ile transforme etmesiyle oluşturulmuş bir hücre dizisidir. HEK293 hücreleri kanserleşmenin erken evrelerinde bulunan ölümsüzleştirilmiş hücrelerdir.

Tüm bu literatür bilgilerine göre; bu çalışmada, değişik konsantrasyonlarda

canlılarda doğal olarak sentezlendiği bilinen bir bitki büyüme düzenleyicisi olan IAA'nın sentetik formu ve Antalya yöresi tarımında en çok kullanılan sentetik bitki büyüme düzenleyicilerinden biri olan BNOA ile yaygın olarak kullanılan fungusitlerden Siprodinil ile Fludioksonil ve herbisitlerden Fluazifop-p-bütül ile Fenoksaprop-p-etil'in mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin olup olmadığı, eğer mutajenik ve/veya rekombinojenik etkinlik gösteriyorsa bu etkiyi doğrudan mı yoksa biyoaktivasyonla mı gösterdiği *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testiyle, ayrıca HEK293 hücreleri üzerinde promotör (kansereletici) etkilerinin olup olmadığı tripan mavisiyle ve MTT testi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, bitki büyüme düzenleyicileri IAA ve BNOA, fungusitler Siprodinil ve Fludioksonil ve herbisitler Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil'in mutajenik ve rekombinojenik etkileri *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile promotör (kanser ilerleticilik) etkileri ise tripan mavisiyle ve MTT testiyle incelenmiştir.

2.1. *D. melanogaster* Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Kullanılarak Mutajenite ve Rekombinojenitenin Belirlenmesi Çalışmaları

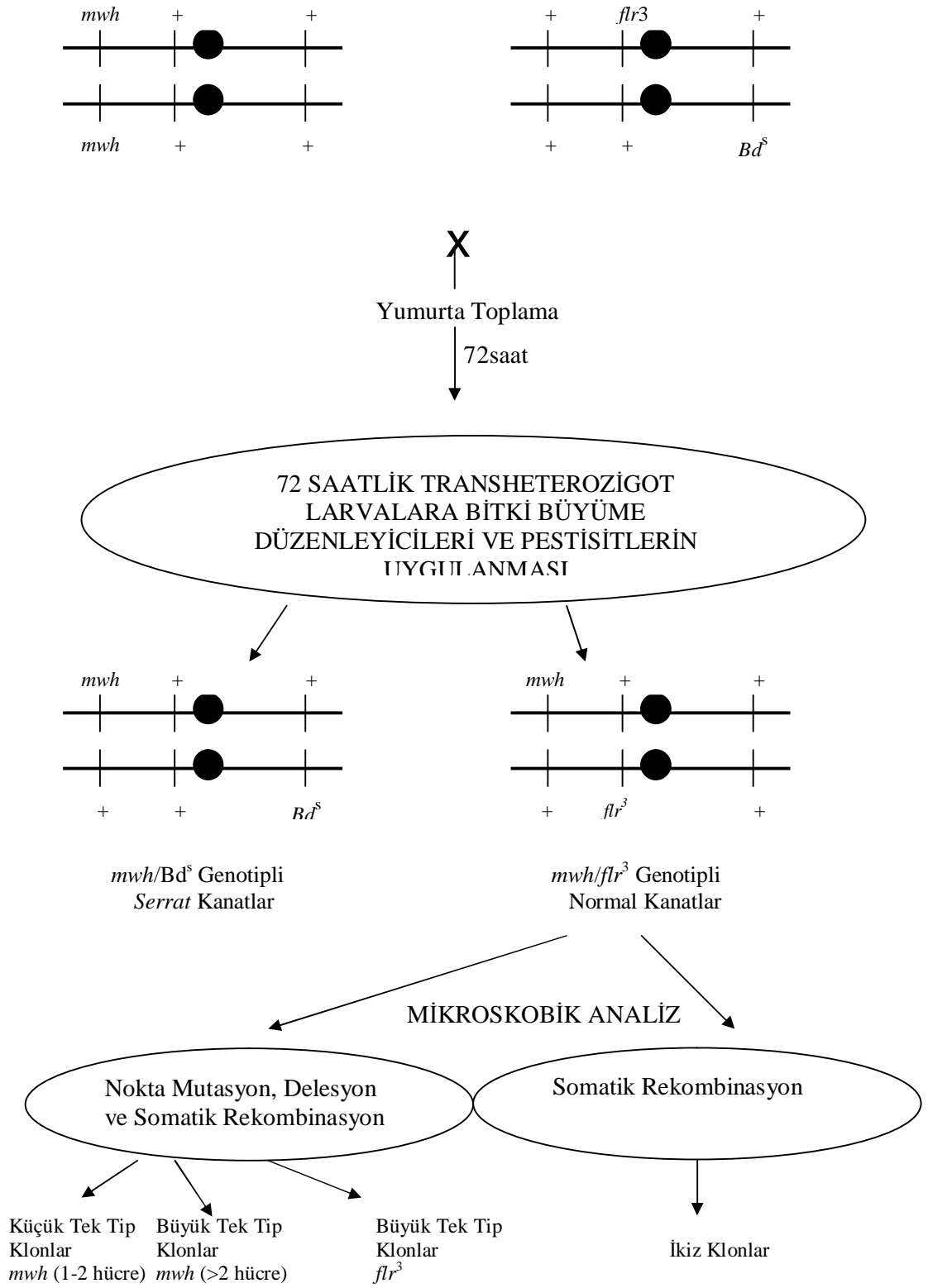
Kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi, transheterozigot larvaların kanat imajinal disk hücrelerinde delesyon (parça kopması), nokta mutasyon, ayrılmama ve rekombinasyon ile oluşan genetik değişimlerin fenotipte gözlenmesi esasına dayanır (Graf vd. 1984, 1989, Kaya 2000).

D. melanogaster kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi Şekil 2.1'de şemalaştırılmıştır.

2.1.1. *D. melanogaster*'in yaşam döngüsü

D. melanogaster, anatomik açıdan karmaşık bir yapıda olmasına rağmen laboratuvar şartlarında küçük bir habitatta yaşayabilecek büyüklükte olması, kolay ve ucuz beslenebilmesi, çok sayıda yavru döl meydana getirebilmesi, kısa jenerasyon süresine sahip ökaryotik bir organizma olması gibi nedenlerle genetikte en fazla kullanılan model organizmadır (Falakalı 1990, Kaya 2000).

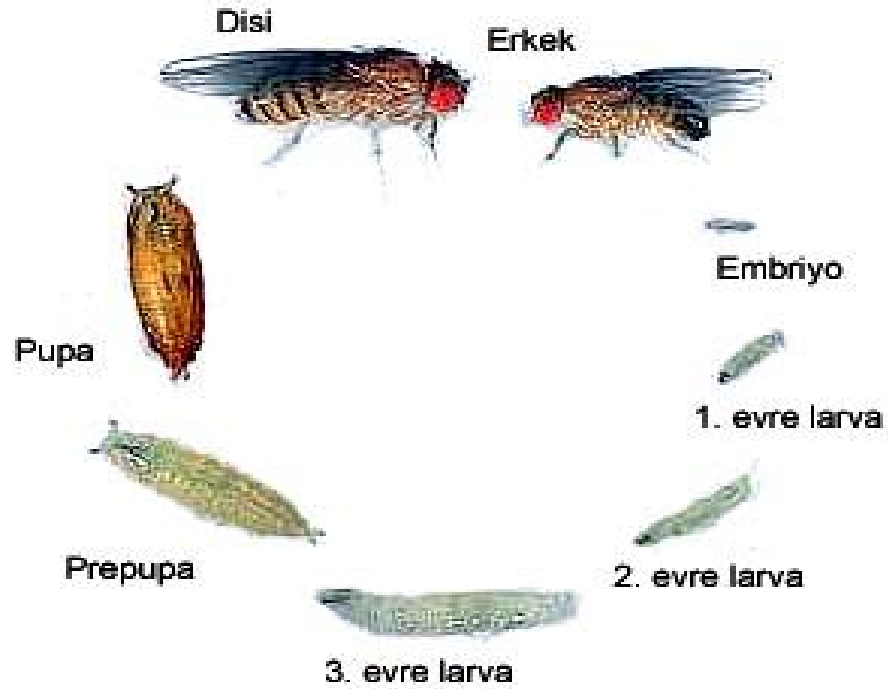
Diptera ordosunda bulunan *D. melanogaster*, tam başkalaşım gösteren (holometabol) bir böcektir. *D. melanogaster* için ideal yaşam koşulları 25 °C sıcaklık ve % 60 bağıl nem ortamıdır. *D. melanogaster*'in bu koşullara sahip kültür ortamında gösterdiği başkalaşım evreleri şu şekildedir (Kaya 2000):



Şekil 2.1. *D. melanogaster* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi

Embriyo dönemi	1 gün
Birincil larval evre (L1)	1 gün
İkinci larval evre (L2)	1 gün
Üçüncü larval evre (L3)	1 gün
Prepupa evresi	4 saat
Pupa evresi	4-5 gün
Yetişkin evresi	40-50 gün

D. melanogaster'in yaşam döngüsü Şekil 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.2. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü
(www.dsls.usra.edu/biologycourse/workbook/Unit4.1.pdf den)

D. melanogaster bireylerinin ortalama ömürleri 40-50 gün arasındadır. Buna karşın Kaya'nın (2000) bildirdiğine göre, Graf ve arkadaşları (1992) 80-90 gün yaşayabilen bireylere rastlamışlardır. *D. melanogaster*'in erkek bireyleri pupadan çıktıktan hemen sonra eşeyssel olgunluğa ulaşırken, dişiler pupadan çıktıktan sonra 6-12 saatlik bir sürede eşeyssel olgunluğa ulaşabilmektedirler.

2.1.2. Kullanılan hatların genetik yapısı

Çalışmamızda normal ve yüksek metabolik etkinliğe sahip iki *D. melanogaster* hattı kullanılmıştır. Normal ve yüksek metabolik etkinliğe sahip hatlar, Prof. Dr. Ricardo Marcos'un (Barselona-İspanya) laboratuvarından temin edilerek bölümümüz Drosophila laboratuvarında standart Lewis besiyerinde *D. melanogaster* için en uygun yaşam koşulları olan 25 °C'de ve % 60 bağıl nem ortamında kültüre edilmiştir (Kaya 2000).

Normal ve yüksek metabolik etkinliğe sahip hatlarda somatik mutasyon ve rekombinasyonu belirlemek için bu hatların üçüncü kromozomları üzerinde bulunan iki belirleyici (marker) gen kullanılmıştır. Belirleyici genlerden birisi çoklu kanat kılı (*mwh*), diğeri ise flare (*flr*)'dir.

Kaya (2000), Linsley ve Grell tarafından tanımlanmış olan normal metabolik etkinliğe sahip bireylerin genetik yapısı şu şekilde bildirmektedir:

mwh / *mwh* ve

flr3 / ln (3LR) *TM3*, ri p^p sep bx^{34e} e^s Bd^s kısaca;

mwh / *mwh* ve

flr3 / *TM3*, Bd^s olarak gösterilmektedir.

Graf ve van Schaik tarafından genetik çaprazlamalarla oluşturulan yüksek metabolik etkinliğe sahip hatların genetik yapısı ise şu şekildedir (Kaya 2000):

NORR / NORR; *mwh* / *mwh* ve

NORR / NORR; *flr3* / *ln* (3LR) *TM3*, *ri* *p^p* *sep* *bx* ^{34e} *e^s* *Bd^s* kısaca;

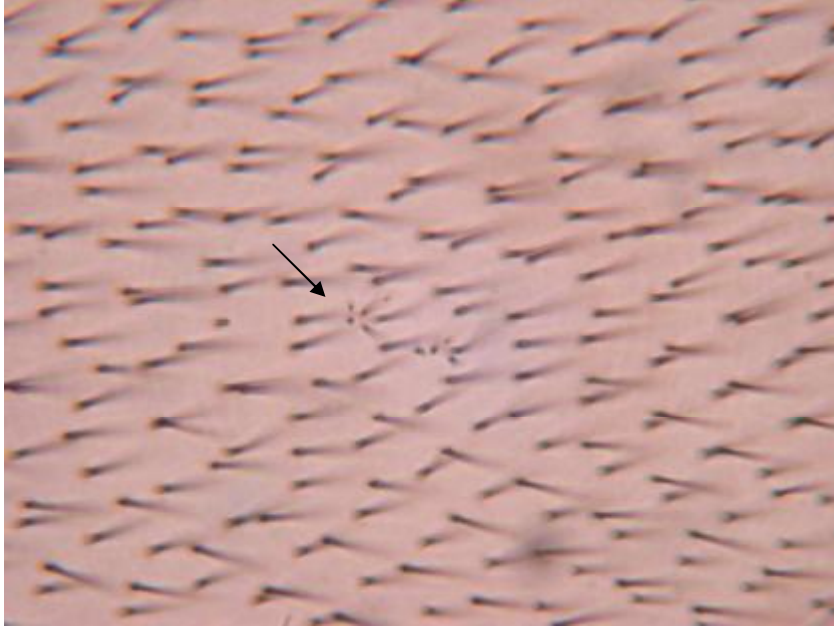
NORR / *NORR*; *mwh* / *mwh* ve

NORR / *NORR*; *flr3* / *TM3*, *Bd^s* olarak gösterilmektedir.

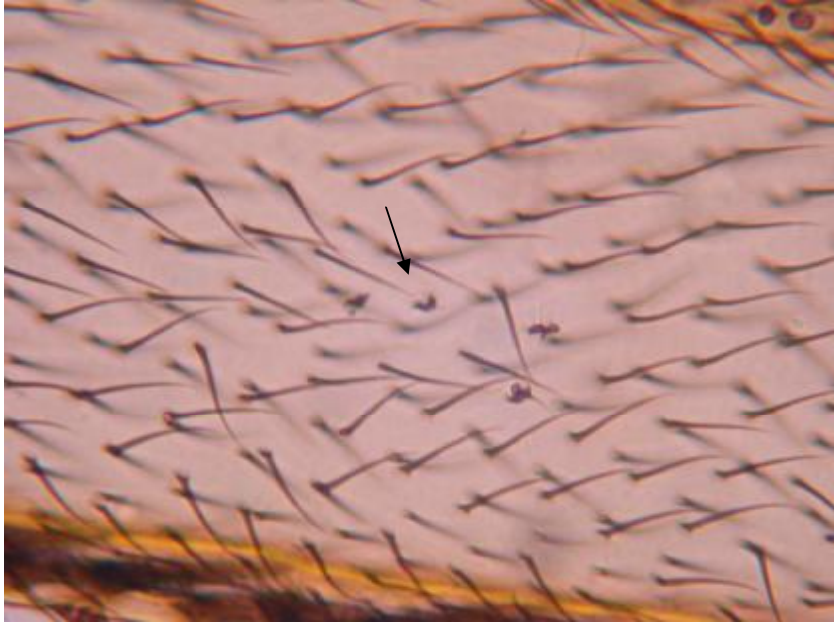
mwh geni fenotipte kanatlar üzerinde çoklu kanat kılları (aynı hücreden 3 ya da daha fazla kıl çıkması) olarak ortaya çıkmaktadır. *flr* geni ise kanatlar üzerinde normal düz ve uzun kıllar yerine kısalmış, nokta veya koyu renkli balon şeklinde ya da kalın ve düzgün olmayan şekillerde belirlemektedir. Mutant kanat kılları Şekil 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 ve 2.7'de görülmektedir. Ayrıca normal bireylerdeki kanatların kenarları düzgün iken *flr* geni taşıyan bireylerde kanatların kenarları *serrat* (testere dişli) şeklindedir. *flr* geni homozigot halde embriyonik evrede öldürücü etki gösterdiği için bu hatların genomuna dengeleyici bir kromozom olan *TM3* yerleştirilmiştir. *flr* genini taşıyan dengeleyici kromozoma sahip ve dengeleyici kromozom taşımayan bireylerin kanat fenotipleri Şekil 2.8'de görülmektedir. Bu kromozom ayrıca rekombinasyonu da baskılamaktadır. Dolayısıyla buradan mutasyon ve rekombinasyon ile oluşan fenotipik değişimlerin hangi oranda mutasyon, hangi oranda rekombinasyon etkisiyle olduğu belirlenebilmektedir (Kaya 2000).

Belirleyici gen olarak kullanılan *flr*, *mwh* ve *Bd^s* genleri *D. melanogaster*'in en büyük kromozomu olan üçüncü kromozom üzerinde bulunmaktadır. Üçüncü kromozomun *D. melanogaster*'in en büyük kromozomu olması ve belirleyici genler arasındaki uzaklığın fazla olması gerek rekombinasyonun gerekse mutasyonların daha geniş bir aralıkta incelenmesi açısından avantajlıdır (Şekil 2.9).

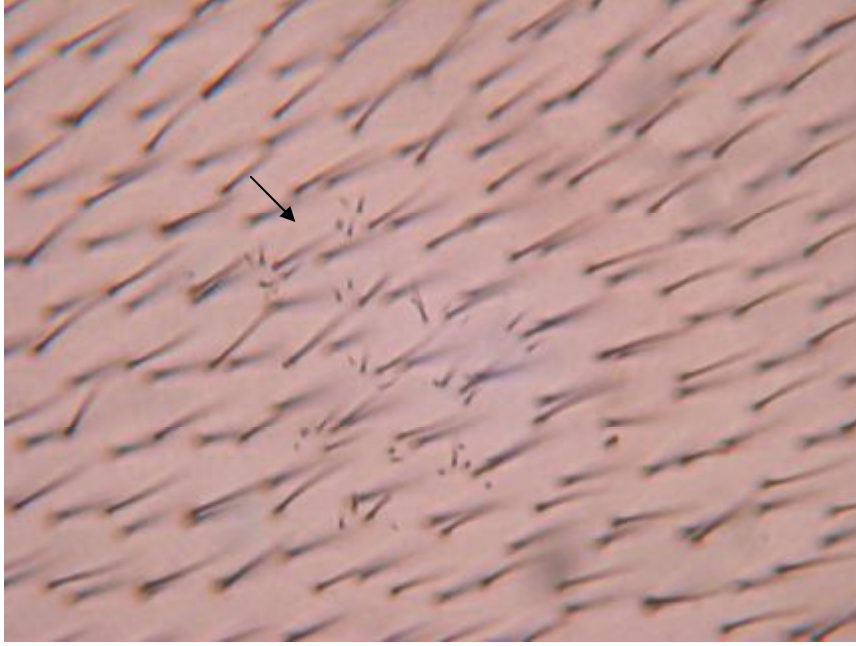
Yüksek metabolik etkinliğe sahip *D. melanogaster* hatlarında sitokrom p450 seviyesi yüksektir. Bu hatlar etkilendikleri kimyasal maddeleri daha fazla metabolize edebilmektedirler. Dolayısıyla genotoksik bir maddenin genotoksitesinin doğrudan kimyasalın kendisiyle mi yoksa biyoaktivasyon sonucu oluşan parçalanma ürünleriyle mi olduğu bulunabilmektedir. Çalışmamızda Graf ve Schaik (1992) tarafından oluşturulan yüksek metabolik etkinliğe sahip *D. melanogaster* hatları kullanılmıştır.



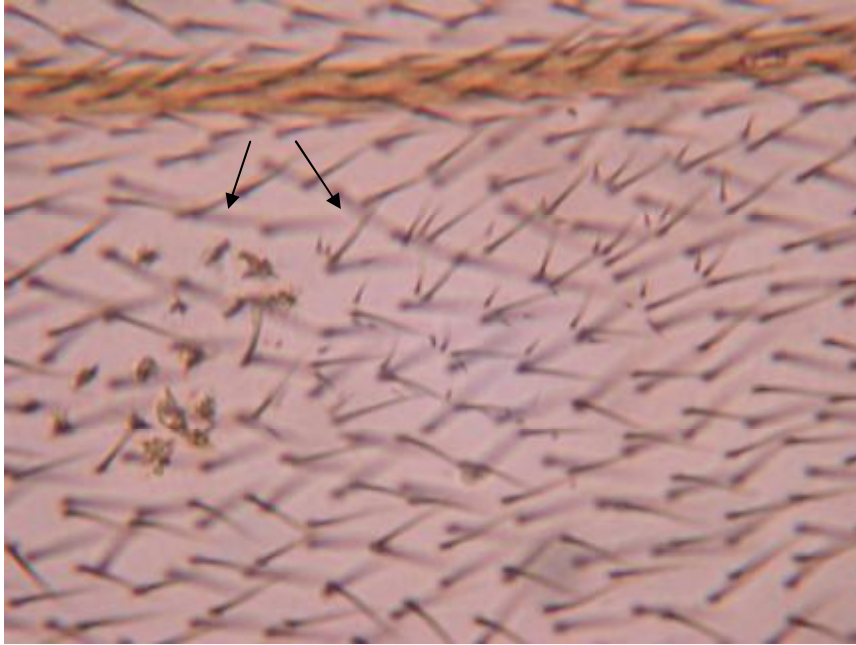
Şekil 2.3. Küçük tek tip *mwh* mutant klon (Olympos marka mikroskopta 40x büyütmede ve Nikon Coolpix 995 marka fotoğraf makinesinde görüntülenmiştir)



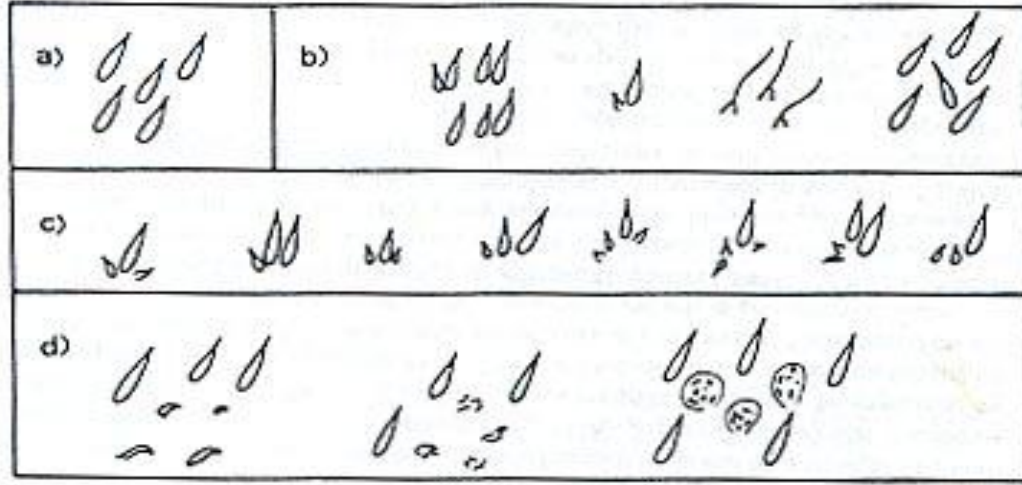
Şekil 2.4. Büyük tek tip *flr* mutant klon (Olympos marka mikroskopta 40x büyütmede ve Nikon Coolpix 995 marka fotoğraf makinesinde görüntülenmiştir)



Şekil 2.5. Büyük tek tip *mwh* mutant klon (Olympos marka mikroskopta 40x büyütmede ve Nikon Coolpix 995 marka fotoğraf makinesinde görüntülenmiştir)



Şekil 2.6. İkiz mutant klon (Olympos marka mikroskopta 40x büyütmede ve Nikon Coolpix 995 marka fotoğraf makinesinde görüntülenmiştir)



Şekil 2.7. Mutant kanat kılları: a) normal kıllar, b) farklılaşmış fakat ne *mwh* ne de *flr* olarak sınıflandırılmayacak kıllar, c) çoklu kanat kılları (*mwh*), d) *flr* genotipe ait kıllar

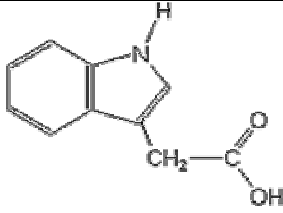
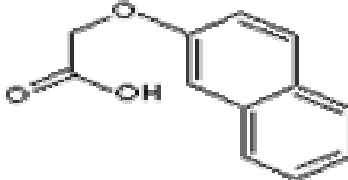
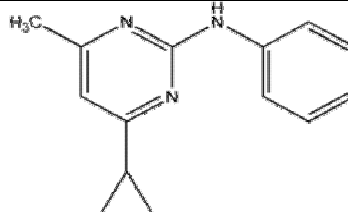
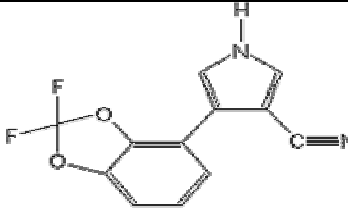
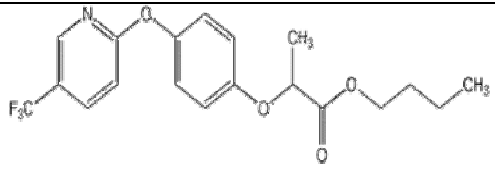
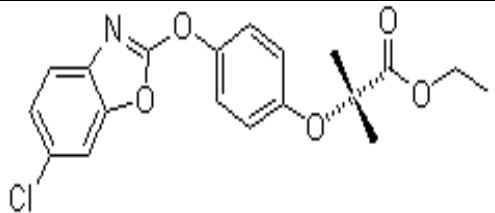


a

b

Şekil 2.8. Dengeleyici kromozom taşıyan (a) ve taşımayan (b) bireylerin kanat fenotipleri. a: *serrat* kanat, b: normal kanat

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin dahil oldukları kimyasal gruplar, katalog numaraları ya da CAS (Chemical Abstract Service) numaraları ve kimyasal yapıları

Kimyasal adı	Kimyasal Grubu	Katalog No/ CAS No	Kimyasal Yapısı
IAA, İndol-3-asetik asit (3-Karboksi metil indol)	Oksin	Kat. No I-2886 (Sigma)	
BNOA, Beta Naftoksi asetik asit (2-Naftoksi asetik asit)	Oksin	CAS No 120-23-0	
Siprodinil (N-(4-siklopropil-6-metil-pirimidin-2-il)-anilin)	Anilino pirimidin	CAS No 121552-61-2	
Fludioksonil 4-(2,2-difloro-1,3-benzodioksol-4-il)-1H-pirol-3-karbonitril	klorfenil pirol	CAS No 131341-86-1	
Fluazifop -p-bütül [(R)2-[4[4,4,5-(trifloro-metil)-2piridinil]oksi]-fenoksi]propanoat	Ariloksi fenoksi propiyonik asit	CAS No 79241-46-6	
Fenoksaprop -p-etil [:(+)-etil 2-{4-[(6-kloro-2-benzoksazolil)oksi]fenoksi}propanoat	Ariloksi fenoksi propiyonik asit	CAS No 71238-80-2	

2.1.4. *D. melanogaster* hatlarının kültürü

Normal ve yüksek metabolik etkinliğe sahip olan *mwh* ve *flr* genotipindeki bireyler, içinde taze hazırlanmış standart Lewis besiyeri bulunan şişelerde ayrı ayrı çoğaltılmıştır. Standart Lewis besiyeri içeriği şöyledir:

Mısır Unu	104 g
Şeker	94 g
Maya	19 g
Agar	5-6 g
Asit Karışımı	6 ml
Distile Su	1020 ml

Mısır unu, şeker, maya, agar ve distile su karışımı ateş üzerinde kaynayıncaya kadar pişirilmiştir. Ateşin altı kısılarak besiyeri hafif ateşte 1-2 dakika daha kaynatılmıştır. Ateş üzerinden alınan besiyerinin üzerine 836 ml propiyonik asit (Merck), 83 ml ortofosforik asit (Carlo Erba), ve 108 ml distile sudan oluşan asit karışımından 6 ml ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Besiyeri içeriğinde bulunan asit karışımı, besinin mikroorganizmalarca kontaminasyonunu engellemek amacıyla kullanılmaktadır. Aksi taktirde yumurta verimi ve bireylerin gelişimi olumsuz yönde etkilenmektedir. Hazırlanan besiyeri, 250 ml'lik cam şişelere yaklaşık 1-1,5 cm kalınlıkta dökülmüştür. Besiyeri, şişelerin ağzı kurutma kağıdıyla kapalı olarak 1-2 gün kurumaya bırakılmıştır. Çaprazlamada yeterince birey elde edebilmek için eski şişelerdeki bireyler, içinde taze besiyeri bulunan şişelere aktarılarak kültür zenginleştirilmiştir. Kültür, $25 \pm 0,5$ °C ve % 60 bağıl neme sahip *Drosophila* kültür odasında yetiştirilmiştir.

2.1.5. Çaprazlama için birey seçimi

Taze besiyerlerine aktarılan bu bireylerden yeteri kadar çoğaltıldıktan sonra bireylerin yeni bir nesil vermesi için on gün beklenmiş ve onuncu gün sonunda bunlardan *flr* genotipe sahip olanlarının çiftleşmemiş (virjin) dişileri 30-40 adet

seçilerek taze besiyerlerine aktarılmıştır. Virjin dişilerin seçilmesi için çoğaltılmış kültürde bulunan bireylerin tamamı boşaltılıp 4 saat sonra çıkan bireyler boş bir şişeye alınmıştır. Bu bireylerden dişi olanları henüz eşeysel olgunluğa ulaşmamıştır. Bireyler eterle bayıltılarak aralarından dişileri seçilmiştir. Bu virjin dişiler başka bir besiyerine alınmıştır. Döllenme ve embriyogenezin gerçekleşmesi için bu dişilerin bulunduğu ortama aynı sayıda *mwh* genotipli bireylerin erkekleri konularak en az bir gün süreyle çaprazlama gerçekleştirilmiştir. Uygulama yapılacak olan larvaların aynı evrede olabilmesi için döllenme ve embriyogenezi gerçekleştirmiş olan bireyler yeni bir besin ortamına alınarak 8 saat süreyle yumurta bırakmaları sağlanmıştır. Sekiz saat sonunda aynı bireyler tekrar eski besiyerine alınmıştır. Yumurta bırakılan şişeler uygun şekilde etiketlenip inkübasyona bırakılmıştır. Yumurta toplama için aynı bireyler tekrar tekrar kullanılmıştır.

2.1.6. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin uygulanması

Graf ve arkadaşları (1984), meyve sineklerine kimyasalların uygulanmasında akut, kronik ve daha uzun süreli uygulama şekli kullanılabileceğini bildirmektedirler. Araştırmacılar, çalışmalarında akut uygulamada larvalara 1 saat gibi kısa bir süre kimyasal uygulaması yapıldığını daha sonra larvaların musluk suyunda yıkanarak besin ortamına konulduğunu bildirmektedirler. Kronik uygulamada ise, larvalara kimyasal uygulamasından sonra ergin bireyler çıkana kadar larvalar kimyasalla ıslatılmış besinde tutulmaktadır. Araştırmacılar ayrıca, bütün larval evreyi kapsayan daha uzun süreli üçüncü bir uygulama periyodunun da bulunduğunu belirtmektedirler. Çalışmamızda 0,5, 1, 2, 5, 10 ve 20 mM IAA, 0,1, 0,5, 1, 2, 5 ve 10 mM BNOA ve Siprodinil, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1 ve 2 mM Fludioksonil ve Fenoksaprop-p-etil, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2 ve 5 mM Fluazifop-p-bütül'in kronik etkisi incelenmiştir.

IAA, BNOA, Siprodinil, Fludioksonil, Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil'in söz konusu konsantrasyonlarda sulu çözeltilerinin hazırlanmasında % 10'luk etil alkol + % 3'lük Triton X-100 karışımı kullanılmıştır. Birçok kimyasalın sudaki çözünürlüğünü artırmak amacıyla Triton X-100, Tween 80 vb. deterjanlar kullanıldığı bilinmektedir (Jiun-Fwu vd 2000, Öz vd 2004).

Söz konusu kimyasallar 72 saatlik larvalara uygulanmış ve bu larvalar ergin bireyler çıkana kadar uygulamaya maruz bırakılmıştır.

Larvalara IAA, BNOA, Siprodinil, Fludioksonil, Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil uygulanması işlemleri şu şekilde gerçekleştirilmiştir. Toplanan larvalar musluk suyunda yıkanıp bir elekten süzülerek alınmıştır. 3x10 cm boyutlarında silindir şeklindeki düz tabanlı plastik tüplere tüpün yaklaşık ¼'ünü kaplayacak şekilde (yaklaşık 3 gr) *D. melanogaster* için hazır besin [Drosophila Instant Medium (*DIM*)] konulmuştur. Plastik tüplerde bulunan *DIM*, 9'ar ml distile su, 1 mM etil metan sülfonat (EMS), % 10'luk etil alkol + % 3 TX-100 karışımı, belirli konsantrasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler ile ıslatılmış ve üzerine 1-2 spatül dolusu (yaklaşık 100 adet) larva konulmuştur. Uygun şekilde etiketlenen plastik tüpler, ağzı sünger tıpa ile kapatılarak 25 °C'de kültür odasında inkübasyona bırakılmıştır.

2.1.7. Ergin bireylerin toplanması ve kanat preparatlarının hazırlanması

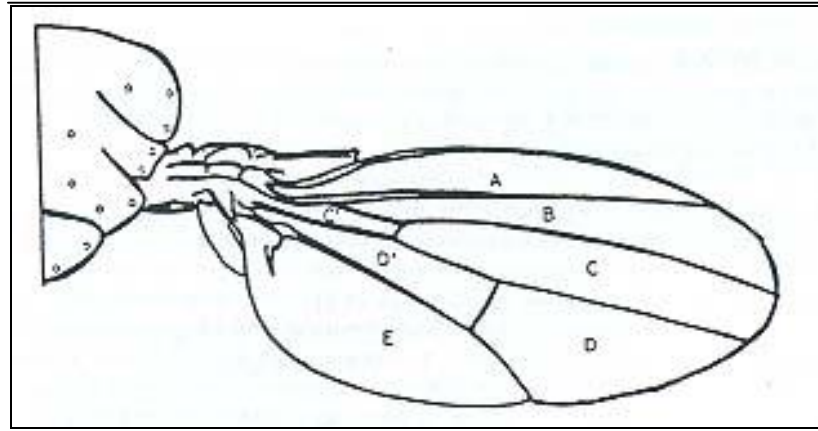
Bir haftalık inkübasyon sonucu larvalardan çıkan ergin bireyler toplanıp eterle bayıldıktan sonra % 70'lik etil alkol içerisine konulmuştur. Daha sonra bu bireylerin kanatlarından preparatlar hazırlanıp mutajenite ve rekombinojenite analizleri yapılmıştır.

72 saatlik larva halindeyken distile su, 1 mM EMS, % 10'luk etil alkol + % 3'lük TX-100 karışımı, belirli konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler uygulanmış sinekler, kanat preparatları hazırlanana kadar % 70'lik etil alkol içerisinde bekletilmiştir. Kanatların sürekli preparatlarının hazırlanması için Faure çözeltisi (30 g gum arabik, 20 ml gliserol, 50 g kloral hidrat, 50 ml distile su) hazırlanmıştır. Alkolden çıkarılan sinekler önce küçük bir kap içerisinde bulunan distile suyla yıkanmıştır. Distile suda yıkanan sineklerin kanatları çukur lam üzerindeki 1 damla Faure çözeltisi içerisinde ve ışık mikroskobu altında bir pens ve iğne yardımıyla dikkatlice vücuttan ayrılmıştır. Yine pens yardımıyla alınan kanatların lam üzerine bırakılıp yayılması sağlanmıştır. Kanatlar çiftler halinde lam üzerine yerleştirilmiştir. Lam üzerine yapışan kanatlar tozdan uzak bir ortamda (geniş bir petri kabının içinde)

tutulmuştur. Kuruduktan sonra bir damla Faure çözeltisi kanatların üzerine damlatılıp lamel kapatılmıştır. Bu sırada hava kabarcığı kalmamasına ve kanatlarda katlanmalar ve yırtılmalar meydana gelmemesine özen gösterilmiştir. Hazırlanmış preparat bir parça kağıt mendille sarılarak metal bir blok ağırlık altına yerleştirilip kurumaya bırakılmıştır. Metal blok ağırlıklar altında kurumasından 48 saat sonra preparatlar, mutant klonların (aynı genotipe sahip hücre grupları) belirlenmesi amacıyla mikroskopta analiz edilmiştir (Graf vd 1984, Kaya 2000). Çalışmamızda, her bir deney grubuna ait iki adet normal kanat preparatı ve iki adet de *serrat* kanat preparatı hazırlanmıştır.

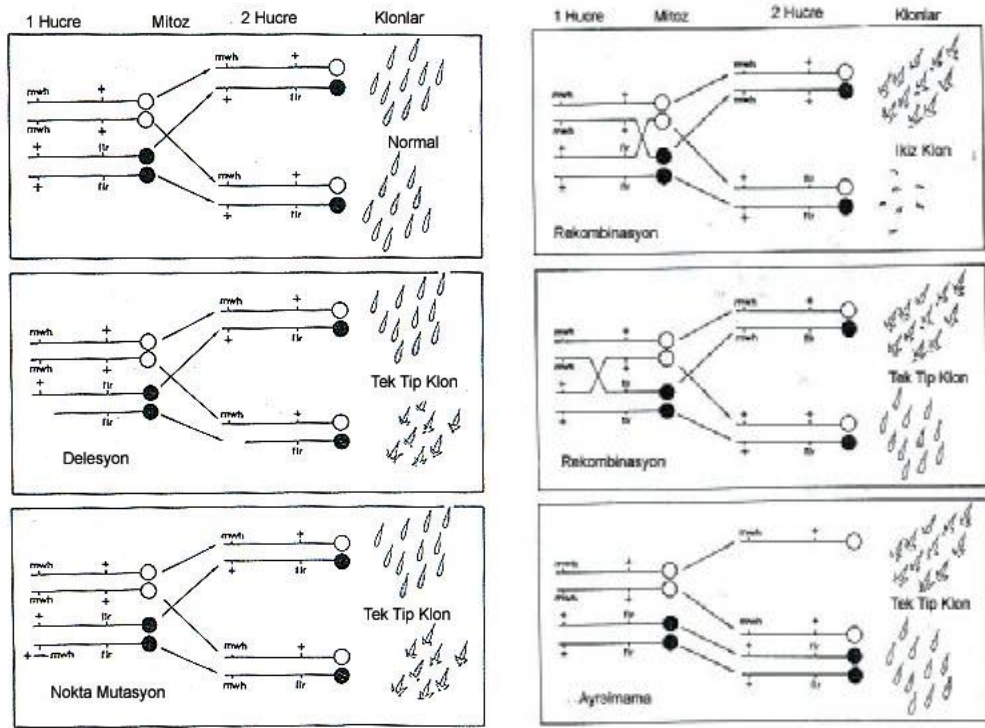
2.1.8. Kanat preparatlarının mikroskobik analizi

Kanatların her iki yüzeyinde (dorsal ve ventral) bulunan hücre tabakalarındaki mutant klonlar mikrovida yardımıyla ışık mikroskobunda 40x büyütmede incelenmiştir. Kanatlar üzerindeki bölmeler (sektör) incelemede kolaylık sağlaması bakımından A, B, C, C', D, D' olarak adlandırılmıştır (Şekil 2.10). Mikroskobik incelemelerde her bir kanat sektörü ayrı ayrı taranarak *mwh* ve/veya *flr* mutant klonlar sayılmış ve kaydedilmiştir.



Şekil 2.10. Kanat sektörleri

Kanatlarda gözlenen mutant klonlar küçük tek tip klon (<3 çoklu kanat kılı (*mwh*) klonlar), büyük tek tip klon (≥ 2 *mwh* ve *flr* klonlar) ve ikiz klon (hem *mwh* hem de *flr* klonları birlikte içeren klonlar) şeklindedir. Çoklu kanat kılı (*mwh*) klonlar nokta mutasyon, parça kopması (delesyon), ayrılmama ve rekombinasyon sonucu oluşurken gerek *flr* klonlar gerekse ikiz klonlar *flr* geni ile sentromer arasında gerçekleşen bir rekombinasyon sonucu oluşmaktadır (Şekil 2.11). İki farklı mutant klonun ayrı klonlar sayılabilmesi için aralarında en az 3 adet normal klon bulunması gerekmektedir (Kaya 2000). Kanatlardaki mutant klonlar sayıldıktan sonra elde edilen verilerin istatistik analizleri yapılmıştır.



Şekil 2.11. *mwh/flr* genotipindeki bireylerde görülebilecek genetik anormallikler

2.1.9. İstatistik analizler

Drosophila melanogaster'in normal ve *serrat* kanatlı bireylerinde distile su, 1 mM EMS, % 10'luk etil alkol + % 3 TX-100 karışımı ve değişik konsantrasyonlarda IAA, BNOA, Siprodinil, Fludioksonil, Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil'in

kronik uygulamaları sonucu gözlenen mutant klonların frekans dağılımının belirlenebilmesi için istatistik analizler Kaya 2000'e göre yapılmıştır. İstatistik analizlerde Drosophila kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için hazırlanmış olan Microsta istatistik programı kullanılmıştır. Veriler Binomial Şartlı Test'e (Kastenbaum ve Bowman 1970) göre ve % 5 önem derecesinde ($\alpha=\beta=0,05$) değerlendirilmiştir. Kurulan hipotezlerden H_0 , distile su ile 1 mM EMS, % 10'luk etil alkol + % 3 TX-100 karışımı ve değişik konsantrasyonlarda IAA, BNOA, Siprodinil, Fludioksonil, Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil uygulamaları arasında istatistik açıdan fark olmadığını, H_a ise uygulama gruplarında indüklenen mutasyon oranının distile su kontrol grubundan "m" "(çarpım sabiti)" defa daha fazla olduğunu kabul etmektedir. Hesaplama sonucunda, uygulama grubundaki mutant sektör sayısı çizelge değerine eşit veya büyükse H_0 reddedilmiştir. Aynı şekilde, kontrol grubundaki mutant sektör sayısı çizelge değerine eşit veya büyükse H_a reddedilmiştir. Hipotezlerinin kabul veya reddine bağlı olarak sonuçlar pozitif, negatif, önemsiz fark ve zayıf pozitif olarak belirlenmiştir. Orijinal ve alternatif hipotezlerin değerlendirilmesi Çizelge 2.2'de verilmiştir (Kaya 2000).

Klonların indüksiyon frekansı ise, incelenen kanatlardaki bütün hücrelerde gözlenen mutant klon sayısıdır. Kronik uygulamalarda her hücre bölünmesindeki ortalama indüksiyon frekansı Szabad ve arkadaşlarına göre aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır (Kaya 2000).

$$f = \frac{n}{NC} \times 10^{-5}$$

Burada "f" klonların ortalama indüksiyon frekansını, "n" gözlenen toplam *mwh* klon sayısını, "N" analiz edilen kanat sayısını ve "C" bir kanat üzerindeki incelenebilecek hücre sayısını göstermektedir. Garcia Bellido ve Merriam'a göre C'nin 24.400 olduğu bildirilmektedir (Kaya 2000).

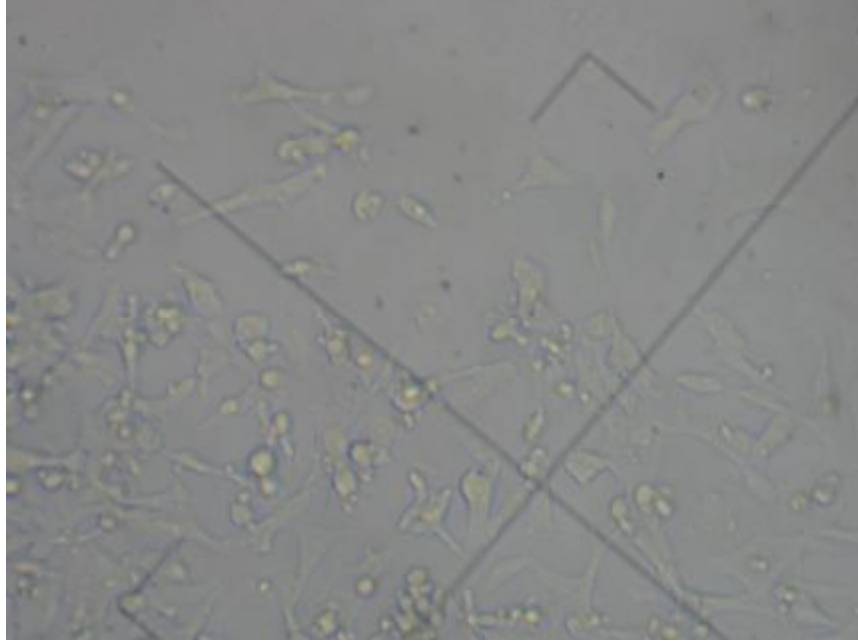
Çizelge 2.2. Orijinal ve alternatif hipotezlerin değerlendirilmesi (Kaya 2000)

HİPOTEZLER		H _A	
		KABUL (1-β)	RED (β)
H ₀	KABUL (1-α)	ÖNEMSİZ FARK $P=(1-\alpha)(1-\beta)=1-\alpha-\beta+\alpha\beta$	NEGATİF $P=(1-\alpha)\beta=\beta-\alpha\beta$
	RED (α)	POZİTİF $P=\alpha(1-\beta)=\alpha-\alpha\beta$	ZAYIF POZİTİF $P=\alpha\beta$

2.2. Tripan mavisi ve MTT Testi ile HEK293 Hücrelerinde Yaşayabilirliğin ve Çoğalabilirliğin Belirlenmesi Çalışmaları

2.2.1. HEK 293 hücre dizisi

Çalışmamızda kullanılan HEK293 hücre dizisi Graham vd (1977) tarafından, insan embriyonik böbrek hücrelerinin insan adenovirüs tip 5 DNA'sı ile transforme edilmesiyle oluşturulmuş bir hücre dizisidir. Kansereleşmenin erken evrelerinde bulunan bir dizidir. Ayrıca çalışmamızda kullanılan HEK293 hücrelerinin c-kit boyasıyla boyandığı yani c-kit belirteci taşıdıkları belirlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin HEK293 hücrelerine uygulanmasıyla kansereleşmenin erken evresinde olan bu hücrelerin yaşayabilirliği ve çoğalabilirliği dolayısıyla söz konusu kimyasalların hücre kültüründe kanserin ilerleyişine etkileri belirlenebilmiştir. Ayrıca HEK293 hücrelerinin zayıf tümörleşme potansiyeline sahip olduğu (Cheng vd 2002) ve birçok genin onkogenik potansiyelinin belirlenmesinde normal hücre modeli olarak kullanıldığı (Hamid vd 2005) bildirilmektedir. HEK293 hücrelerinin mikroskopik görüntüleri Şekil 2.12'de verilmiştir.



Şekil 2.12. HEK293 hücrelerinin inverted mikroskoptaki görüntüsü
(Prior marka, 20x büyütme)

2.2.2. Besiyeri hazırlanışı

Hücre kültürü çalışmalarında fibroblast benzeri yapışan hücreler için genellikle Dubelco'nun değiştirilmiş Eagle besiyeri (Dubelco's Modified Eagle's Medium = DMEM) (BioRich 1, Lot No: 10471005) kullanılmaktadır. DMEM toz halde olabildiği gibi sıvı formülasyonlar şeklinde de bulunabilmektedir. Çalışmamızda kullanılan DMEM'in hazırlanması için öncelikle toz haldeki 10 g DMEM (içeriği: 1g/l D- glukoz, L-glutamin, sodyum pirüvat) 500 ml distile suda çözülüp manyetik karıştırıcıda bir balık yardımıyla küçük parçacıklar eriyinceye kadar karıştırılmıştır. Bu çözeltinin üzerine % 7,5'lik sodyum bikarbonat çözeltisi yavaş yavaş eklenerek pH'sı 7,4'e ayarlanmıştır. Portakal renginde (asidik) olan çözeltinin rengi pH ayarlanması ile kırmızıya (bazik) dönmektedir. pH'sı ayarlanan çözeltinin hacmi distile suyla 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan besiyeri, 100 ml'lik vidalı kapaklı steril şişelere 0,2 µm por çaplı enjektör filtresinden 90'ar ml süzülerek steril edilmiştir. Besiyeri kapağı kapalı şekilde ve parafillenerek 37 °C'deki CO₂ etüvünde 2-3 gün bekletilmiştir. Eğer

besiyerinde kontaminasyon yoksa üzerine 10 ml serum Fetal Sığır (Bovine) Serumu=FBS (Sigma F9665) eklenmiştir.

Sığır, dana, at vb. bir kaynaktan elde edilen serumlar kan ürünleri olduğundan içerisinde bağışıklık cevabı oluşturan ve protein yapılı kompliman bileşikleri bulunur. Bu bileşikler kültür ortamındaki hücrelerin yüzeyinde bulunan belirteçlerle birleşip hücre zarını parçalayarak hücre ölümüne sebep olurlar. Bu nedenle bu kompliman bileşiklerin etkisiz hale getirilebilmesi için serumlar, besiyeri üzerine eklenmeden önce eritilip 30 dakika süreyle 56 °C su banyosunda tutulmuştur. Bu işlem gerçekleştirildikten sonra besiyerine serum eklenmiştir. Serumdan gelebilecek kirlenmenin olup olmadığını görmek için besiyeri tekrar 37 °C'deki CO₂ etüvünde 2-3 gün bekletilmiştir. Bu süre sonunda serumdan kaynaklanan bir kontaminasyon yoksa besiyerine 10 ünite/ ml Piperasilin (Tazocin, Wyeth, Seri No: 92841) ve 25 µg/ml Amfoterisin B (fungisit) (Sigma A2942)'den oluşan antibiyotik + antimikotik karışımı eklenmiştir. Besiyerinin içinde bulunduğu şişe hazırlanış tarihi ve hazırlayan kişinin adının yazıldığı bir etiketle etiketlenip besiyeri kullanılmaya kadar şişe ağzı parafilmle kapalı olarak +4 °C'de saklanmıştır.

2.2.3. Hücre besleme işlemleri

Hücre besleme işlemlerinde aşağıdaki yöntem kullanılmıştır. Donmuş halde bulunan hücreler çözdürüldükten sonra içerisinde 4 ml besiyeri bulunan 50 ml'lik kültür şişesine konulmuştur. Hücreler 37 °C'deki CO₂ etüvünde haftada 2-3 kez beslenmek suretiyle çoğaltılmıştır. İnkübasyon süresince kültür kapları yatık vaziyette tutulmuştur. Besleme işlemi, eski besiyerinin steril pipetle uzaklaştırılıp içerisinde az miktarda hücre bulunan yaklaşık 0,5 ml besiyeri üzerine 4 ml yeni besiyeri eklenerek yapılmıştır.

2.2.4. Thoma Lamı'nda sayım işlemleri

Hücre sayımı için kültür şişesinin tabanına yapışmış olan hücrelerin kaldırılması gerekmektedir. Bunun için hücreler, Fosfatlanmış Tampon Tuzu (Phosphated Buffer Salt=PBS) (Sigma P-4417) ve tripsin/EDTA (Sigma T3924) ile muamele edilmiştir.

Tripsin, arjinin ve lizin aminoasitlerinin karboksil grubunun katıldığı peptid bağlarını kırmak suretiyle hücreleri kültür kabının tabanından ve birbirinden ayıran bir enzimdir (Gözükara 1994).

2.2.5. Tripsinleme işlemleri

Kültürün tamamı şişeden alınıp steril bir santrifüj tüpüne konulmuştur. Boş kültür kabının içine 1 ml PBS konup şişe yıkanmıştır. Bu yıkama sonunda PBS şişeden alınıp atılmıştır. Başka bir tüp içinde 9 ml PBS'ye 1 ml steril tripsin/EDTA eklenerek % 10'luk tripsin/EDTA çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra 3 ml % 10'luk tripsin çözeltisi kültür şişesine konulup pipetle birkaç kez çek-bırak yapıldıktan sonra kültür şişesi 2-3 dakika 37 °C'lik inkübatörde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda kültür şişesinde bulunan tripsinli hücre süspansiyonu derhal şişeden alınıp santrifüj tüpüne eklenmiştir. Hücreler, tripsinden zarar görmesini engellemek amacıyla tripsin/EDTA bulunan ortamlarda fazla bekletilmemektedir. İçerisinde hücre süspansiyonu bulunan santrifüj tüpü, 2500 rpm'de 7 dakika santrifüj edilmiştir. Dökelti atılıp dibe çökmüş hücrelerden oluşan çökeltinin üzerine 3 ml besiyeri eklenip pipetle birkaç kez çek-bırak işlemi yapılmıştır. Bu şekilde hücreler kültür şişesinin tabanından tripsinleme yoluyla kaldırılıp (tek hücre süspansiyonu haline getirilip) sayılacak duruma getirilmiştir (Yılmaz 2003).

2.2.6. Tripan mavisiyle ml'deki canlı ve ölü hücre sayılarının belirlenmesi

Tripan mavisi, canlı hücreleri boyamayıp ölü hücreleri boyayan bir boyadır. Buna bağlı olarak da canlı ve ölü hücre oranları belirlenebilmektedir. Bunun için 0,5 ml'lik bir ependorf tüpüne 10 mg/ml olarak PBS'de hazırlanan tripan mavisi çözeltisinden ve santrifüj tüpünde bulunan hücre süspansiyonundan 100'er µl konulup karıştırılmıştır.

Canlı ve ölü hücrelerin ışık mikroskopunda sayılabilmesi için, thoma lamında preparatları hazırlanmıştır. Preparat hazırlamak için, önce thoma lamı alkolle temizlenip üzerindeki mikrokareleri örtecek şekilde bir lamel kapatılmıştır. Daha sonra,

mikropipetle yeterli miktarda (mikrokarelerin bulunduğu bölgeyi kaplayacak kadar) tripan mavisi + hücre süspansiyonu karışımından alınıp lamelin hemen altından lam üzerine bırakılmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatta canlı ve ölü hücreler Olympus marka ışık mikroskobunda 40x büyütmede sayılmıştır.

Lam üzerinde iki bölge bulunmaktadır. Her iki bölgede 16'şardan 4 adet büyük mikrokare vardır. Her bir mikrokaredeki ölü ve canlı hücreler sayılıp ayrı ayrı kaydedilmiştir. Eğer hücreler kümeler halindeyse iyice ayıramamış demektir. Bu durumda sağlıklı bir sayım gerçekleştirilemez.

4 adet 4'lü küçük mikrokareden oluşan bir büyük mikrokarenin bir kenarı 1 mm, yüksekliği ise 0,1 mm'dir. Dolayısıyla bir büyük mikrokarenin hacmi $1 \times 1 \times 0,1 = 0,1 \text{ mm}^3$ 'tür. $1 \text{ mm}^3 = 10^{-3} \text{ cm}^3$ ve $1 \text{ ml} = 1 \text{ cm}^3$ olduğuna göre; $0,1 \text{ mm}^3 = 10^{-4} \text{ ml}$ 'dir. Buna göre;

1 ml 'deki canlı veya ölü hücre sayısı = Bir büyük mikrokaredeki ortalama hücre sayısı x seyreltme oranı x 10^4 'dür.

Örneğin; her mikrokarede ortalama 3 hücre bulunduğunu varsayarsak bir büyük mikrokarede $3 \times 16 = 48$ hücre, 1 ml'de ise $48 \times 2 \times 10^4 = 960$ bin hücre vardır (Seyreltme oranı olan 2, 100 µl hücre süspansiyonunun 100 µl tripan mavisindeki oranıdır).

Sayım sonucunda kültür şişesindeki hücre süspansiyonunun 1 ml'sinde 500 bin-2 milyon canlı hücre olduğu belirlendikten sonra bu hücrelere kanser ilerleticilik etkisi araştırılacak olan bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler uygulanmıştır.

2.2.7. Bitki büyüme düzenleyicisi ve pestisit çözeltilerinin hazırlanması işlemleri

Hücre kültüründe uygulanacak bitki büyüme düzenleyicileri olan IAA ve BNOA'nın konsantrasyonları, Antalya ili seralarında domates yetiştiricilerle yapılan sözlü görüşmelere göre bir domates fidesine uygulanan BNOA miktarı, bir domates fidesinden elde edilebilecek domates miktarı ve normal bir insanın günde 1 kg domates

tüketebileceği dikkate alınarak hesaplanmış ve 0,05 mg/ml olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu konsantrasyonun yanı sıra 2 ve 10 kat üst ve 10 kat alt konsantrasyonları da hücrelere uygulanmıştır.

Pestisitler için uygulanacak konsantrasyonlar da bitki büyüme düzenleyicilerinin konsantrasyonlarının belirlenmesindeki esaslar dikkate alınarak, Siprodinil ve Fludioksonil için 0,32, 0,75 ve 1,50 mg/ml, Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil için ise 75, 150 ve 300 mg/ml olarak belirlenmiştir. Ancak pestisitlerin bu konsantrasyonlarda DMEM’li çözeltileri, çökme olduğu için hazırlanamamıştır. Buna bağlı olarak hücre kültüründe pestisit uygulamalarıyla ilgili çalışmalar incelendiğinde, kullanılan pestisit konsantrasyonlarının μM düzeyde olduğu görülmüştür. Örneğin MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin yaşayabilirliğinin belirlenmesinde 0,1-500 μM amitraz uygulanmıştır (Ueng vd 2004). Başka bir çalışmada da, prostat kanser hücre dizisi LNCaP hücrelerinin çoğalması üzerine bazı pestisitlerin etkilerinin incelenmesinde pestisitlerin 1-1000 nM konsantrasyonları uygulanmıştır (Tessier ve Matsumura 2001). Yine atrazin, diazinon ve endosülfan gibi bazı pestisitlerin sindirim sistemi epitel hücrelerinin çoğalmasına etkilerinin belirlenmesinde, bu pestisitlerin 1-50 μM ’lık konsantrasyonları uygulanmıştır (Greenman vd 1997). Tüm bunlar dikkate alınarak, Siprodinil için 1,5, 15, 30 ve 150 μM , Fludioksonil ve Fenoksaprop-p-etil için 1,8, 18, 36 ve 180 μM ve Fluazifop-p-bütül için ise 6,53, 65,3, 124 ve 653, μM ’lık konsantrasyonlar belirlenmiştir.

Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin *D. melanogaster*’de mutajenite ve rekombinojenite çalışmaları ile hücre kültüründe kanser ilerleticilik çalışmalarında uygulanan konsantrasyonları Çizelge 2.3’te verilmiştir.

Çalışmada kullanılan 0,5, 0,10; 0,05 ve 0,005 mg/ml IAA ve BNOA, 1,5, 15, 30 ve 150 μM Siprodinil, 1,8, 18, 36 ve 180 μM Fludioksonil ve Fenoksaprop-p-etil ve 6,53, 65,3, 124 ve 653 μM Fluazifop-p-bütül çözeltilerini hazırlamak için; öncelikle 0,5 mg/ml IAA ve BNOA, 150 μM Siprodinil, 180 μM Fludioksonil ve Fenoksaprop-p-etil

Çizelge 2.3. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin *D. melanogaster*'de mutajenite ve rekombinojenite ve hücre kültüründe hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliği (kanseri ilerletici) üzerine etkilerinin belirlenmesinde kullanılan konsantrasyonları

Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Pestisitler	Konsantrasyon	
	<i>D. melanogaster</i> 'de Mutajenite ve Rekombinojenite Çalışmaları	Hücre Kültüründe Hücre Yaşayabilirliği ve Çoğalabilirliği (Kanser İlerletici) Çalışmaları
IAA	0,5 mM	0,5 mg/ml Molar eşdeğeri \cong 2,853 mM = 2853 μ M
	1 mM	0,1 mg/ml Molar eşdeğeri \cong 0,5706 mM = 570,6 μ M
	2 mM	0,05 mg/ml Molar eşdeğeri \cong 0,2853 mM = 285,3 μ M
	5 mM	0,005 mg/ml Molar eşdeğeri \cong 0,0285 mM = 28,53 μ M
	10 mM	
	20 mM	
BNOA	0,1 mM	0,5 mg/ml Molar eşdeğeri \cong 2,4726 mM = 2472 μ M
	0,5 mM	0,1 mg/ml Molar eşdeğeri \cong 0,4945 mM = 494,5 μ M
	1 mM	0,05 mg/ml Molar eşdeğeri \cong 0,2472 mM = 247,2 μ M
	2 mM	0,005 mg/ml Molar eşdeğeri \cong 0,0247 mM = 24,72 μ M
	5 mM	
	10 mM	
Siprodinil	0,1 mM	150 μ M = 0,15 mM
	0,5 mM	30 μ M = 0,030 mM
	1 mM	15 μ M = 0,015 mM
	2 mM	1,5 μ M = 0,0015 mM
	5 mM	
	10 mM	
Fludioksonil	0,01 mM	180 μ M = 0,18 mM
	0,05 mM	36 μ M = 0,036 mM
	0,1 mM	18 μ M = 0,018 mM
	0,5 mM	1,8 μ M = 0,0018 mM
	1 mM	
	2 mM	
Fluazifp-p-bütül	0,05 mM	653 μ M = 0,653 mM
	0,1 mM	124 μ M = 0,124 mM
	0,5 mM	65,3 μ M = 0,0653 mM
	1 mM	6,53 μ M = 0,0065 mM
	2 mM	
	5 mM	
Fenoksaprop-p-etil	0,01 mM	180 μ M = 0,18 mM
	0,05 mM	36 μ M = 0,036 mM
	0,1 mM	18 μ M = 0,018 mM
	0,5 mM	1,8 μ M = 0,0018 mM
	1 mM	
	2 mM	

ve 653 µM Fluazifop-p-bütül stok çözeltileri hazırlanmıştır. Stok çözeltiler, bu maddelerin % 96'lık etil alkolde çözülerek DMEM'le seyreltilmesiyle hazırlanmış ve filtreye steril edilmiştir. Stok çözeltilerin bulunduğu şişeler, kapağı kapalı şekilde ve parafillenerek 37 °C'deki etüvde 2-3 gün bekletilmiştir. Bu süre sonunda herhangi bir kontaminasyon yoksa bu stok çözeltilerden DMEM'le seyreltilerek diğer konsantrasyonlardaki çözeltiler hazırlanmıştır. Ayrıca 0,5, 5 ve 50 µl etil alkol/ml DMEM ve sadece DMEM kontrol grupları da hazırlanmıştır.

2.2.8. Tripan mavisi ve MTT ile hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliğinin belirlenmesi işlemleri

2.2.8.1. Tripan mavisi ile hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliğinin belirlenmesi işlemleri

Çok kuyucuklu kültür kabının her bir kuyucuğuna 100 µl'de 50 bin canlı hücre olacak şekilde DMEM'de kültüre edilmiş 100'er µl HEK293 hücre süspansiyonu konulmuştur. Bunların üzerine de her bir kuyucuğa farklı konsantrasyonlardaki 100'er µl IAA, BNOA, Siprodinil, Fludioksonil, Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil çözeltileri eklenmiştir.

İnkübasyonun 4. ve 7. günlerinde kuyucuklarda bulunan hücreler kendilerine ait çözeltilerle beslenmiştir. Besleme işlemlerinde her bir kuyucuktaki hücre süspansiyonundan 100 µl alınıp yerine taze hazırlanmış çözelti eklenmiştir.

İnkübasyonun 8. gününde, tripan mavisiyle hücre sayımları şu şekilde yapılmıştır. Her bir kuyucuktaki hücre süspansiyonlarının tamamı ayrı ayrı 1,5'lik ependorf tüplerine alınmıştır. Kuyucukların duvarlarında kalan hücrelerin tümünün alınabilmesi için kuyucuklar 100'er µl fosfatlanmış tampon tuzu (PBS) ile birkaç kez yıkanmıştır. PBS'ler de ependorf tüplerine eklenmiştir. Daha sonra yine her bir kuyucuğa 100'er µl tripsin eklenip kültür kabı 37 °C'lik etüvde 2-3 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda kuyucuklardaki tripsinin pipetle birkaç kez çek-bırak yapılmasıyla bütün hücrelerin kültür kabından kaldırılması sağlanmıştır. Tripsinli hücre

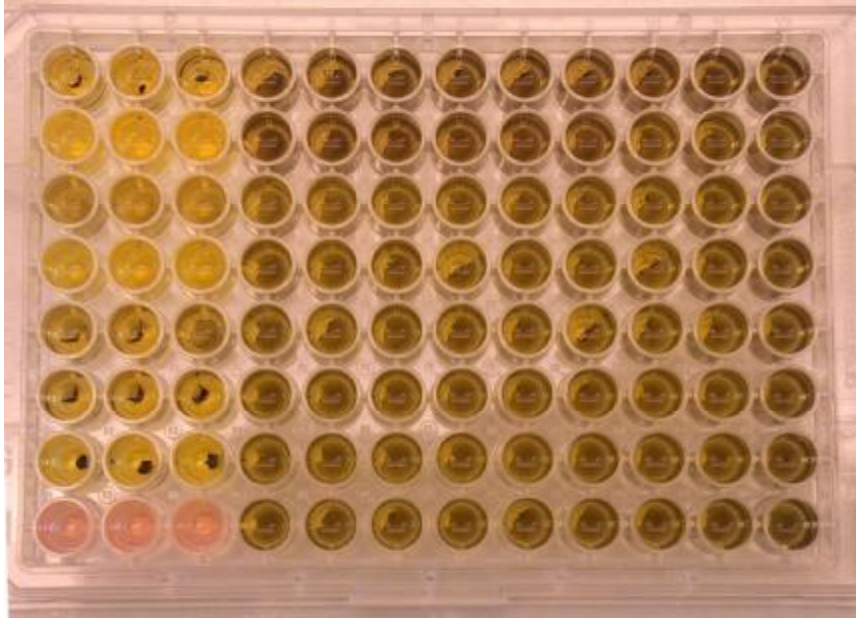
süspansiyonları da ependorf tüplerine eklenmiştir. Son olarak da her bir ependorf tüpüne 100'er µl DMEM eklenmiştir. Daha sonra ependorf tüplerinde bulunan hücre süspansiyonu iyice çalkalanarak hücrelerin homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Takiben, her bir ependorftan 0,5'er ml'lik başka ependorf tüplerine 100'er µl hücre süspansiyonundan alınmış ve üzerlerine 100'er µl tripan mavisi eklenmiştir. Tripan mavisi eklenmiş hücre süspansiyonu iyice karıştırıldıktan sonra bundan bir miktar alınarak thoma lamı üzerine sabitlenmiş lamelin altından lam üzerine bırakılmıştır. Daha sonra thoma lamı ışık mikroskopunda 40x büyütmede incelenerek canlı ve ölü hücreler sayılmıştır. Tripan mavisi ölü hücreleri boyadığı için canlı hücreler şeffaf, ölü hücreler mavi boyalı olarak gözlenmiştir.

2.2.8.2. MTT ile hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliğinin belirlenmesi işlemleri

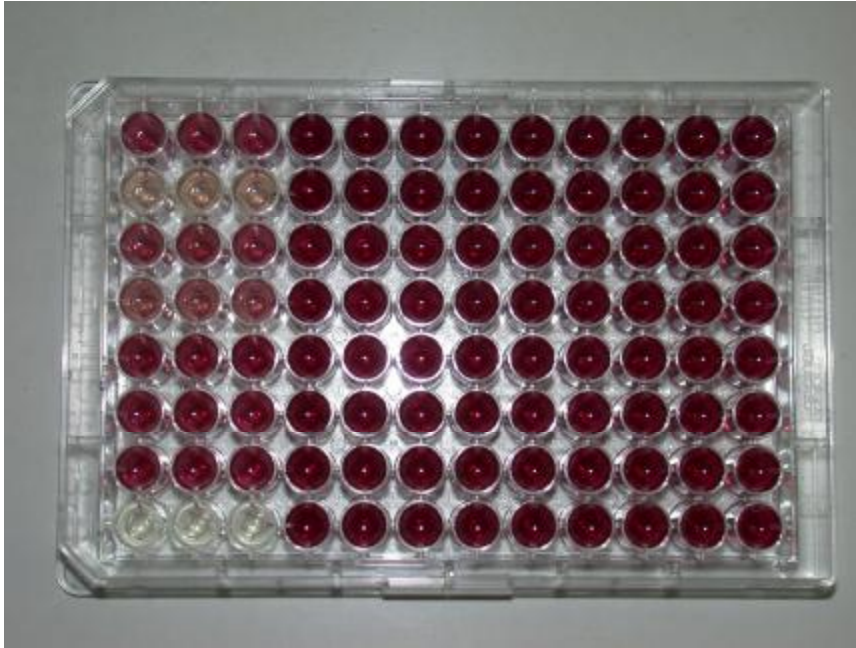
Hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliğinin belirlenmesinde yaygın olarak MTT testi kullanılmaktadır. MTT testi, tetrazolyum boyalarının canlı hücrelerdeki mitokondrial bir enzim olan süksinat dehidrogenazla verdiği tepkimeler sonucunda indirgenmesiyle oluşan formazan maddesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesi esasına dayanır (Kaneko vd 1995, Abe ve Saito 1998). Kullanımının kolay olması ve aynı anda daha çok sayıda konsantrasyonun denenebilmesine olanak sağlaması nedeniyle son yıllarda çokça tercih edilen bir test olan MTT testi aşağıdaki gibi yapılmıştır.

MTT testi de inkübasyonun 8. gününe kadar tripan mavisiyle boyama işlemleriyle hemen hemen aynı şekilde yapılmıştır. Bu aşamaya kadar MTT testinin tripan mavisiyle boyama yönteminden farkı, çok kuyucuklu kültür kabının bazı kuyucuklarının spektrofotometrik olarak absorbans belirlenebilmesi için kör kuyucuklar olarak düzenlenmiş olmasıdır. Çok kuyucuklu kültür kabına eklenen MTT ile oluşan formazan kristalleri yeşil renkte görülürken (Şekil 2.13) takiben DMSO uygulandığında çözülmüş formazan bordo renkte görülmektedir (Şekil 2.14).

İnkübasyonun 8. gününde, her bir kuyucuğa PBS'de hazırlanmış ve filtreyle steril edilmiş 5 mg/ml MTT'den 10'ar µl eklenmiştir. Çok kuyucuklu kültür kabı bu



Şekil 2.13. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler uygulanmış çok kuyucuklu kültür kabı (MTT eklendikten sonra)



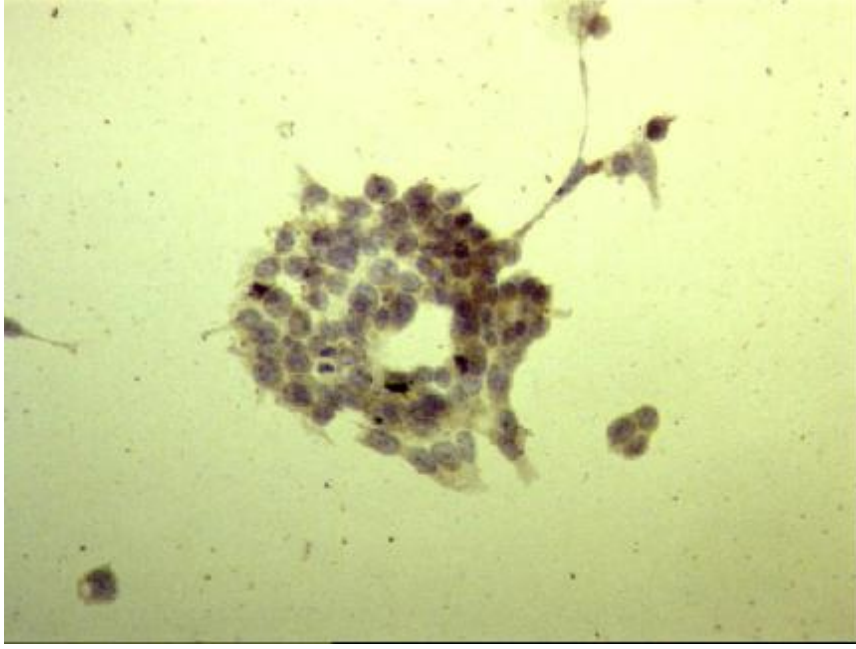
Şekil 2.14. Bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitler uygulanmış çok kuyucuklu kültür kabı (MTT+DMSO eklendikten sonra)

şekilde 4-6 saat 37 °C'lik CO₂ etüvünde tutulmuştur. Kültür kabına inverted mikroskopta bakıldığında, enzimatik tepkimeler sonucu oluşan formazan maddesi dallanmış yeşil kristaller şeklinde görülmektedir. Bu süre sonunda her bir kuyucuktaki besiyerlerinin 130 µl'si uzaklaştırılmış ve üzerlerine formazan kristallerini çözerek spektrofotometrik olarak okunabilir hale getirmek amacıyla 250'şer µl dimetilsülfoksit (DMSO) eklenmiştir (Özkan 2003). Her bir kuyucuktaki karışım pipetle birkaç kez çek-bırak yapılarak DMSO'nun formazan kristallerini iyice çözmesi sağlanmıştır. Kültür kabı bu şekilde 1 gece 37 °C'lik CO₂ etüvünde bekletilmiştir. Ertesi gün çok kuyucuklu kültür kabı okuyucu spektrofotometrede her bir kuyucuğun absorbansı, test dalga boyu olarak 570 nm ve referans dalga boyu olarak da 630 nm'de belirlenmiştir. Bu test, kontrol grubuna göre absorbansı yüksek olan kuyucuklarda canlılık faaliyetinin daha fazla olduğu esasına dayanmaktadır. Hiçbir kimyasalın uygulanmadığı (DMEM kontrol grubu) kuyucukların canlılık oranı % 100 olarak kabul edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyicileri, pestisitler ve etil alkol uygulamalarının yapıldığı kuyucuklardaki canlılık oranları da % olarak belirlenmiştir.

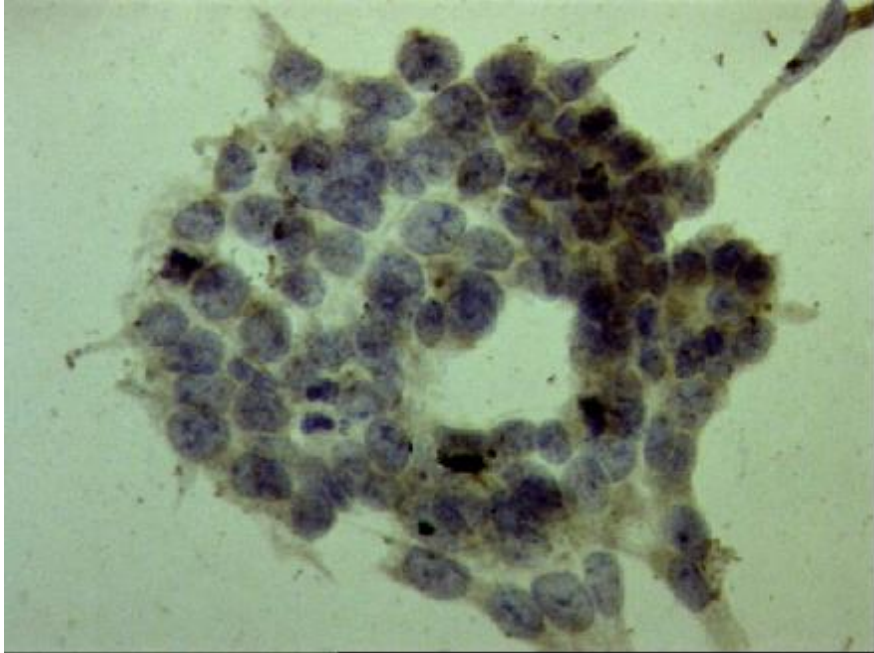
2.2.9. HEK293 hücrelerinin c-kit boyasıyla boyanması işlemleri

Alt kısmı lam olan 10 ml'lik kültür kabına ml'de 500 bin canlı hücre olacak şekilde DMEM'de kültüre edilmiş 1 ml HEK293 hücre süspansiyonu konulmuştur. Bunun üzerine de DMEM'de hazırlanmış 0,5 mg/ml BNOA çözeltisinden 1 ml eklenmiştir. İnkübasyonun 4. ve 7. günlerinde kültür kabında bulunan hücreler 0,5 mg/ml BNOA çözeltisiyle beslenmiştir. Besleme işlemlerinde kültür kabındaki hücre süspansiyonunun 1 ml'si atılıp yerine taze hazırlanmış çözelti eklenmiştir.

İnkübasyonun 8. gününde alt kısmı lam olan kültür kabı içerisindeki hücre süspansiyonu atılmıştır. Lam üzerinde yapışan hücrelerin kaldığı kabın üst kısmı çıkarılarak atılmıştır. Hücrelerin sabitlenmesi için lam asetona içerisinde konularak patoloji bölümüne gönderilmiştir. Patoloji bölümünde c-kit boyasıyla boyanmış HEK293 hücreleri mikroskopik olarak görüntülenmiştir. C-kit boyasıyla boyanmış HEK293 hücrelerinin mikroskopik görüntüleri Şekil 2.15 ve 2.16'da verilmiştir.



Şekil 2.15. c-kit boyasıyla boyanmış HEK293 hücrelerinin mikroskobik görüntüsü (20 x büyütme)



Şekil 2.16. c-kit boyasıyla boyanmış HEK293 hücrelerinin mikroskobik görüntüsü (40 x büyütme)

2.2.10. Hücrelerin dondurularak saklanması işlemleri

Hücrelere kimyasal uygulaması yapıldıktan sonra bu hücrelerin daha sonraki çalışmalarda kullanılabilmesi ve aşırı çoğalmadan dolayı oluşan kontak inhibisyonu engellemek amacıyla kültür şişelerindeki hücrelerin dondurularak saklanması gerekmektedir. Aksi takdirde bu hücreler bir süre sonra canlılıklarını kaybederler. Hücrelerin dondurulması (cryopreservation=kryosaklama) işlemleri aşağıdaki gibi yapılmıştır.

Dondurma için en uygun hücre derişimi 3-10 milyon/ml'dir. Tripsinleme ile kültür kabının tabanından kaldırılıp tek hücre süspansiyonu haline getirilen hücreler steril 10 ml tüpe konulmuştur. Kültür kabına 1 ml % 20'lik serum eklenip çalkalanarak tüpteki hücrelerin üzerine eklenmiştir. Tüp, 2500 rpm'de 7 dakika santrifüjlenmiştir. Dökelti atılıp dibe çöken hücrelerden oluşan çökelti üzerine DMEM'le hazırlanan % 20'lik serumdan 0,5 ml eklenmiştir. Tüpteki serumlu hücrelerin üzerine DMEM'le hazırlanan % 20'lik DMSO'dan (AppliChem A3006,0500) da damlalar halinde yavaş bir şekilde 0,5 ml eklenmiştir. DMSO, suyu çeken aynı zamanda da membranın stabilizasyonunu sağlayan bir maddedir. Dolayısıyla hücrelerin en az seviyede su içeriğiyle dondurulup güvenle saklanabilmesinde kullanılabilir. Ancak DMSO'nun hızla verilmesi, hücre içindeki suyu hızla alacağından hücrelerin ölümüne neden olabilmektedir. Bir sonraki aşamada hücrelerin saklanması için, DMSO'lu hücre süspansiyonundan 1 ml alınıp etiketli dondurma tüpüne konulmuştur. Dondurma tüpü, ısı izolasyonu sağlayan (strafor malzemedan yapılmış olabilir) bir kutuya konulmuştur. Bu işlemler sırasında santrifüj ve dondurma tüpleri buz veya kar içinde tutulmuştur. Hücreleri kademeli olarak dondurmak için, dondurma tüpü önce +4° C'de 30 dakika, sonra da -20 °C'de 2 saat tutulmuştur. Bu işlemden sonra etiketli dondurma tüpündeki hücreler, -80 °C'de derin dondurucuda tekrar kullanılınca kadar saklanmıştır.

2.2.11. İstatistik Analizler

Tripan mavisi testinden elde edilen canlı hücre yüzdelerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde varyans analizi kullanılmış, konsantrasyonlar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. MTT testinden elde edilen absorbans değerleri ise, % canlılık oranları olarak ifade edilmiş ve istatistik analizler bu yüzde değerler üzerinden yapılmıştır. MTT testi verilerinin değerlendirilmesinde hiçbir kimyasalın uygulanmadığı, sadece besiyerinde inkübe edilen hücrelerin (DMEM kontrol grubu) canlılık oranı % 100 kabul edilmiştir (Çizelge 3.14). İstatistik analizlerde SAS (SAS v7, Institute Inc., Cary, NC, USA, 1998) ve Minitab (13.0) istatistik programları kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. *D. melanogaster* Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi Kullanılarak Mutajenite ve Rekombinojenitenin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan kontrol grupları ile bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin *D. melanogaster* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile belirlenen genotoksik özellikleri Çizelge 3.1- 3.12’de, klon frekans dağılımları ise Şekil 3.1- 3.24’te verilmiştir.

3.1.1. Kontrol grupları

3.1.1.1. Distile su

Distile su uygulamasında, *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerine ait 78 kanatta 24 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 30 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 26 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 42 kanatta ise 7 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 7 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 7 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1, 3.3, 3.5, 3.7, 3.9, 3.11). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 39 adet küçük tek tip, 12 adet büyük tek tip, 8 adet ikiz olmak üzere toplam 59 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 58 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 30 adet küçük tek tip, 7 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 37 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 37 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 3.10, 3.12).

Distile su uygulamasında klon indüksiyon frekansı *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyleri için 1,36, *serrat* kanatlı bireyleri için 0,68, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyleri için 2,97, *serrat* kanatlı bireyleri için ise 1,89 bulunmuştur (Çizelge 3.1-3.12).

3.1.1.2. Etil metan sülfonat (EMS)

Çalışmamızda pozitif kontrol olarak kullanılan ve daha önceki çalışmalarda (Graf vd 1984, Kaya 2000) mutajen ve rekombinojen olduğu belirlenmiş olan Etil metan sülfonat (EMS) uygulamalarının sonucunda, *D. melanogaster*'in hem normal hem de yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve *serrat* kanatlı bireylerde pozitif sonuçlar gözlenmiştir (Çizelge 3.1-3.12).

3.1.1.3. % 10'luk etil alkol + % 3'lük Triton X-100

Transheterozigot *D. melanogaster* larvalarına negatif kontrol olarak uygulanan % 10'luk Etil Alkol+% 3'lük Triton X-100'ün *D. melanogaster* larvalarını öldürmediği gözlenmiştir. Buna bağlı olarak %10'luk Etil Alkol+%3'lük Triton X-100 uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerine ait 72 kanatta 23 adet küçük tek tip, 7 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 30 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 29 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 80 kanatta ise 10 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 10 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 10 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1, 3.3, 3.5, 3.7, 3.9, 3.11). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 51 adet küçük tek tip, 12 adet büyük tek tip, 3 adet ikiz olmak üzere toplam 66 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 65 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 37 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 39 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 39 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 3.10, 3.12).

Klon indüksiyon frekansı % 10'luk Etil Alkol + % 3'lük Triton X-100'de normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,65, *serrat* kanatlı bireyler için 0,51, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,32, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,99 bulunmuştur (Çizelge 3.1-3.12).

Distile su ve % 10'luk Etil Alkol+% 3'lük Triton X-100 karışımı uygulamalarında *D. melanogaster*'in normal ve yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve *serrat* kanatlı bireylerinde küçük ve büyük tek tip, ikiz, toplam klon ve toplam *mwh* klon sayıları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 3.1-3.12). Buna bağlı olarak da, bu maddenin ve metabolitlerinin mutajen ve rekombinojen olmadığı söylenebilir.

3.1.2. Bitki büyüme düzenleyicileri

3.1.2.1. İndol-3-asetik asit (IAA)

İndol-3-asetik asit *D. melanogaster* larvalarına 0,5, 1, 2, 5, 10 ve 20 mM'lık konsantrasyonlarda uygulanmıştır.

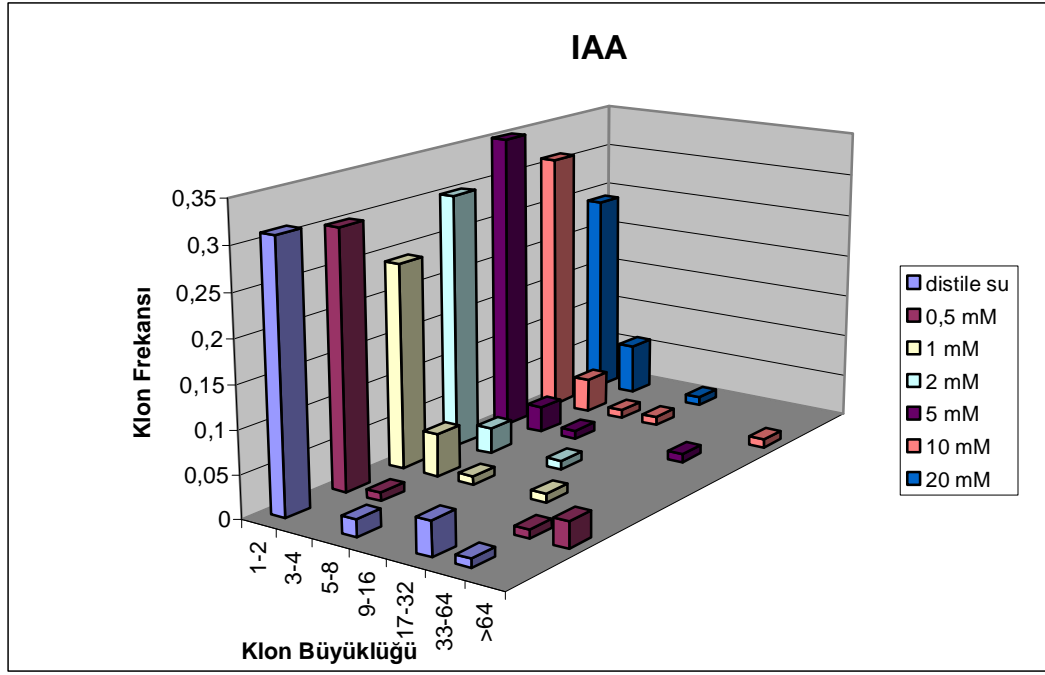
0,5 mM IAA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerine ait 80 kanatta 24 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 28 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 28 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 80 kanatta ise 6 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 6 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 6 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 39 adet küçük tek tip, 10 adet büyük tek tip, 1 adet ikiz olmak üzere toplam 50 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 49 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 26 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2).

0,5 mM IAA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,43, *serrat* kanatlı bireyler için 0,30, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,51, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,38 bulunmuştur (Çizelge 3.1, 3.2).

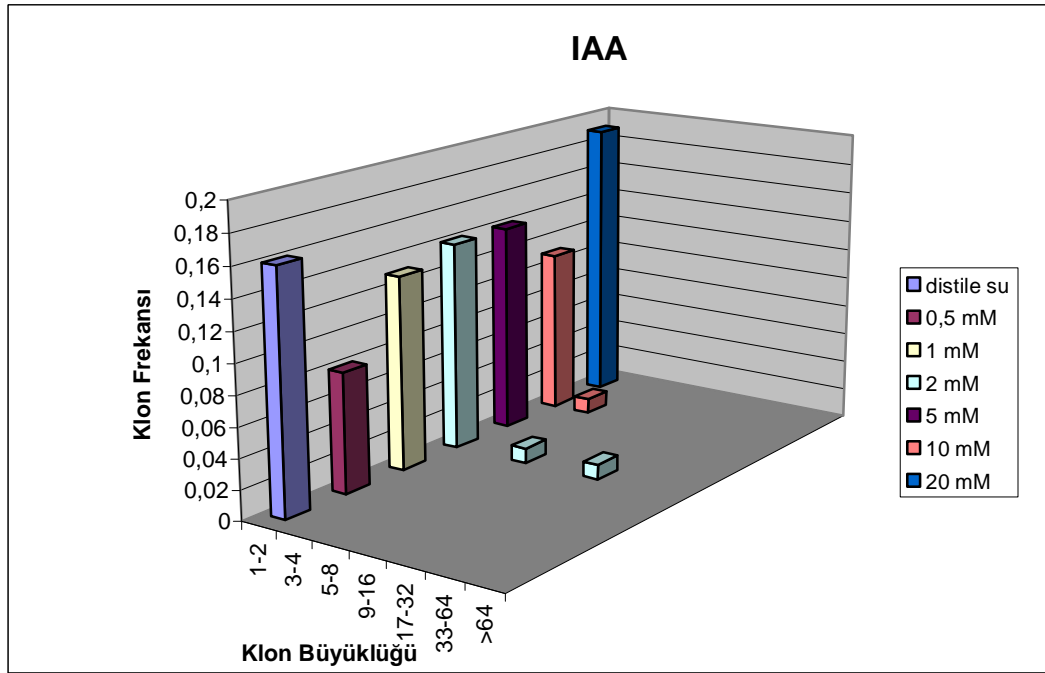
1 mM IAA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerine ait 80 kanatta 19 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 80 kanatta ise 10 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 10 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 10 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 42 adet küçük tek tip, 8 adet büyük tek tip, 1 adet ikiz olmak üzere toplam 51 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 48 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 26 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2).

1 mM IAA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,38, *serrat* kanatlı bireyler için 0,51, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,45, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,38 bulunmuştur (Çizelge 3.1, 3.2).

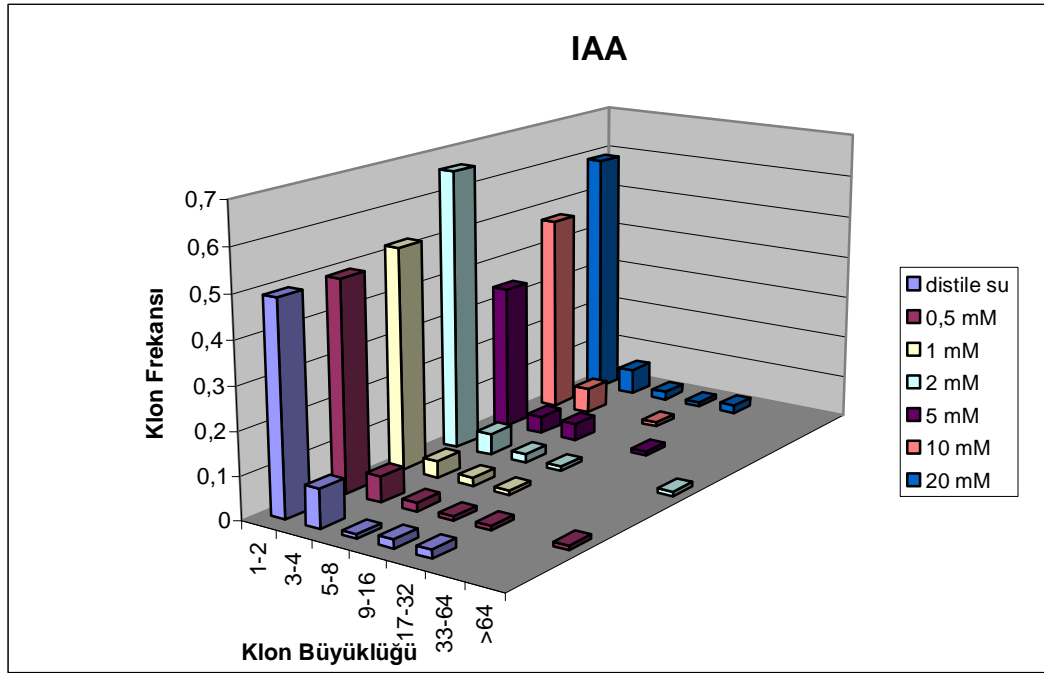
2 mM IAA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerine ait 80 kanatta 24 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 80 kanatta ise 11 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 13 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 13 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 53 adet küçük tek tip, 8 adet büyük tek tip, 2 adet ikiz olmak üzere toplam 63 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 61 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 24 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 25 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 25 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2).



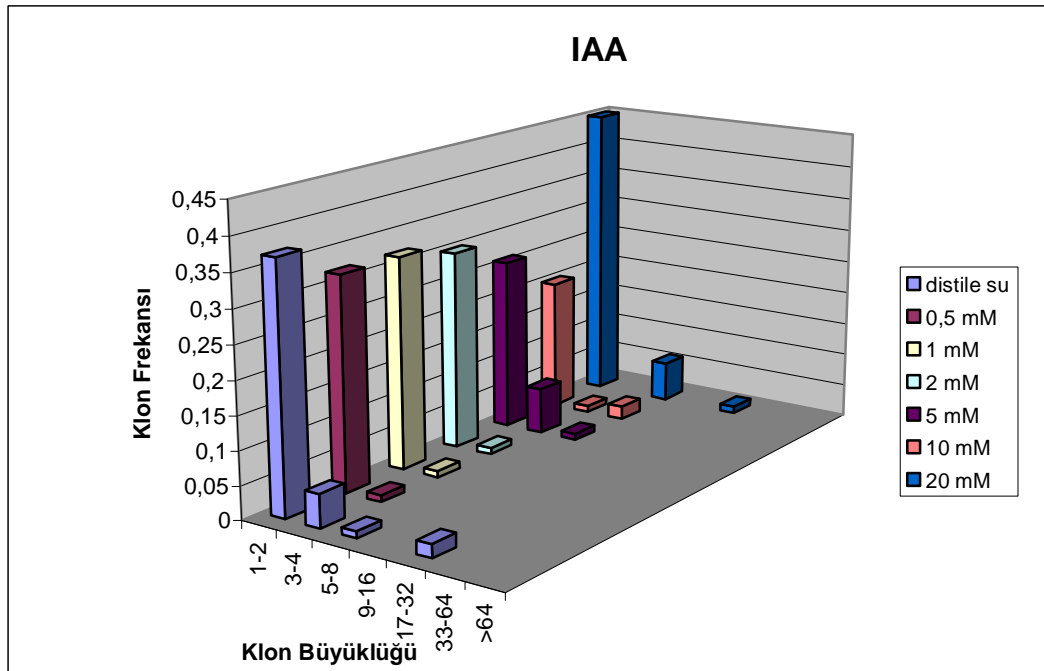
Şekil 3.1. IAA'nın normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (*mwh/flr³*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.2. IAA'nın normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı (*mwh/TM3*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.3. IAA'nın yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (*mwh/flr³*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.4. IAA'nın yüksek metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı (*mwh/TM3*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi

2 mM IAA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,38, *serrat* kanatlı bireyler için 0,66, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,12, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,28 bulunmuştur (Çizelge 3.1, 3.2).

5 mM IAA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 28 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 33 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 33 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 11 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 11 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 11 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 27 adet küçük tek tip, 8 adet büyük tek tip, 3 adet ikiz olmak üzere toplam 38 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 36 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 21 adet küçük tek tip ve 7 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 28 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 28 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2).

5 mM IAA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,69, *serrat* kanatlı bireyler için 0,56, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,84, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,43 bulunmuştur (Çizelge 3.1, 3.2).

10 mM IAA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 25 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 31 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 30 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 10 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 10 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 10 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 38 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip, 2 adet

ikiz olmak üzere toplam 46 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 43 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 16 adet küçük tek tip ve 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 19 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 19 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2).

10 mM IAA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,53, *serrat* kanatlı bireyler için 0,51, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,20, *serrat* kanatlı bireyler için ise 0,97 bulunmuştur (Çizelge 3.1, 3.2).

20 mM IAA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 19 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip 1 adet ikiz olmak üzere toplam 26 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 25 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 15 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 15 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 15 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 47 adet küçük tek tip, 10 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 57 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 57 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 36 adet küçük tek tip ve 6 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 42 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 42 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.2).

20 mM IAA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,28, *serrat* kanatlı bireyler için 0,76, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,92, *serrat* kanatlı bireyler için ise 2,15 bulunmuştur (Çizelge 3.1, 3.2).

Distile su ve 20, 10, 5, 2, 1 ve 0,5 mM IAA uygulamalarında *D. melanogaster*'in normal ve yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve *serrat* kanatlı bireyelerinde küçük ve büyük tek tip ikiz, toplam *mwh* ve toplam klon sayıları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Dolayısıyla IAA ve metabolitlerinin söz

konusu konsantrasyonlarda mutajen ve rekombinojen olmadığını söyleyebilir. (Çizelge 3.1, 3.2).

3.1.2.2. Beta naftoksi asetik asit (BNOA)

Beta naftoksi asetik asit *D. melanogaster* larvalarına 0,1, 0,5, 1, 2, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonlarda uygulanmıştır.

0,1 mM BNOA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 14 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 18 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 18 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 80 kanatta ise 11 adet küçük tek tip ve 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 14 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 14 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.3). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 50 adet küçük tek tip, 8 adet büyük tek tip 2 adet ikiz olmak üzere toplam 60 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 59 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 32 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 36 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 36 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.4).

0,1 mM BNOA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 0,92, *serrat* kanatlı bireyler için 0,71, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,02, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,84 bulunmuştur (Çizelge 3.3, 3.4).

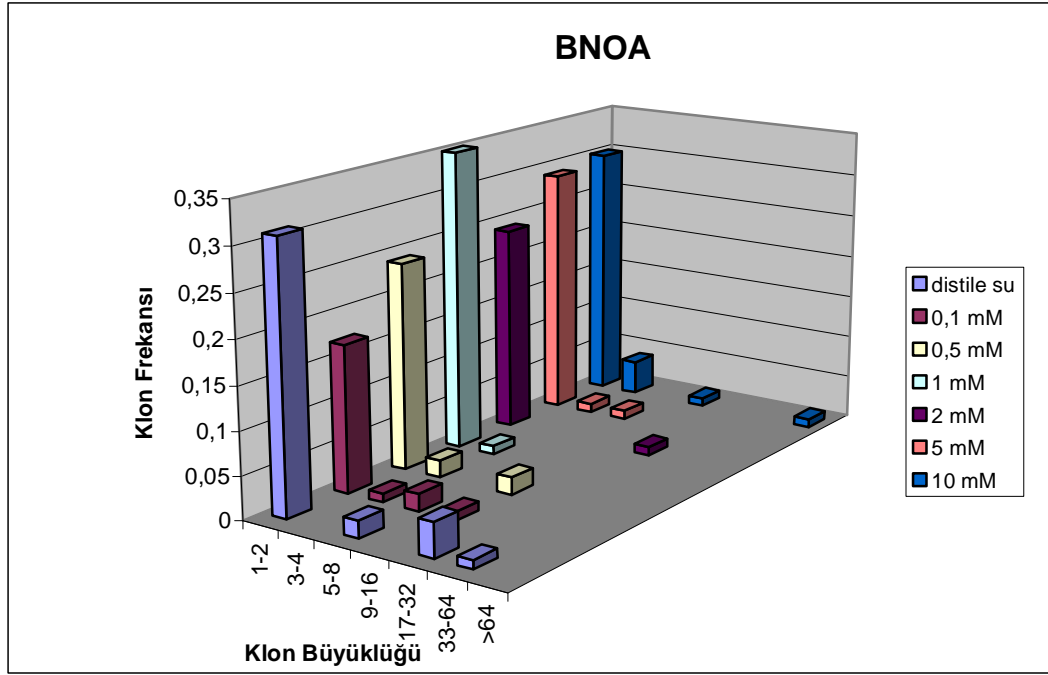
0,5 mM BNOA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 19 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 23 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 23 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 80 kanatta ise 8 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 12 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam

mwh klon sayısı ise 12 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.3). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 37 adet küçük tek tip, 8 adet büyük tek tip 3 adet ikiz olmak üzere toplam 48 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 48 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 23 adet küçük tek tip ve 5 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 28 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 28 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.4).

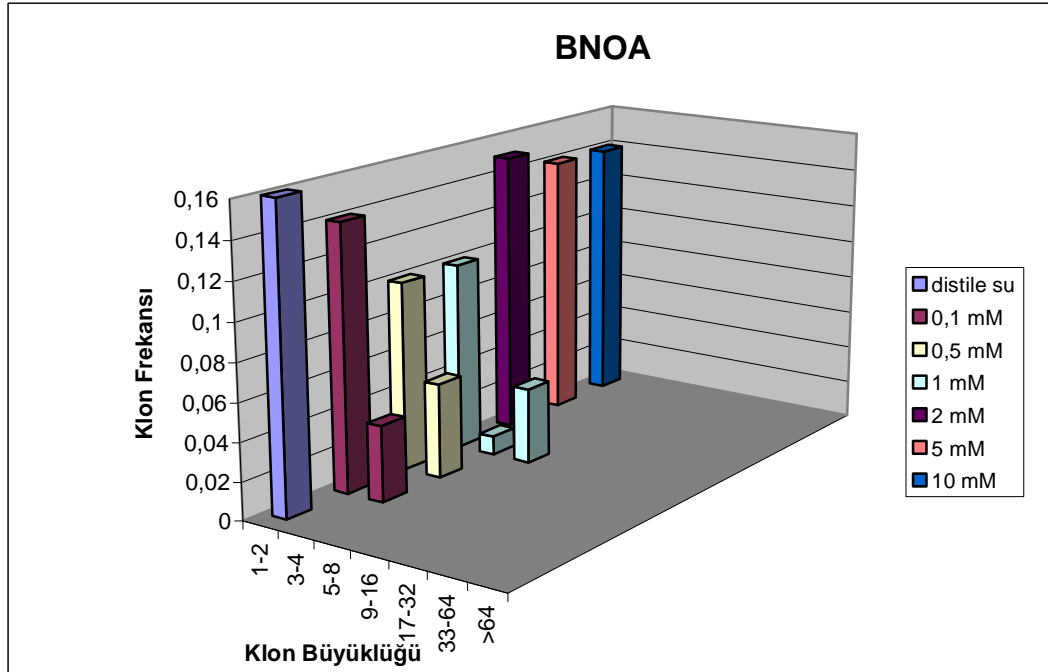
0,5 mM BNOA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,17, *serrat* kanatlı bireyler için 0,61, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,45, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,43 bulunmuştur (Çizelge 3.3, 3.4).

1 mM BNOA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 28 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 29 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 29 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 8 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 12 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 12 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.3). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 56 adet küçük tek tip, 9 adet büyük tek tip 2 adet ikiz olmak üzere toplam 67 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 67 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 29 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 33 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 33 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.4).

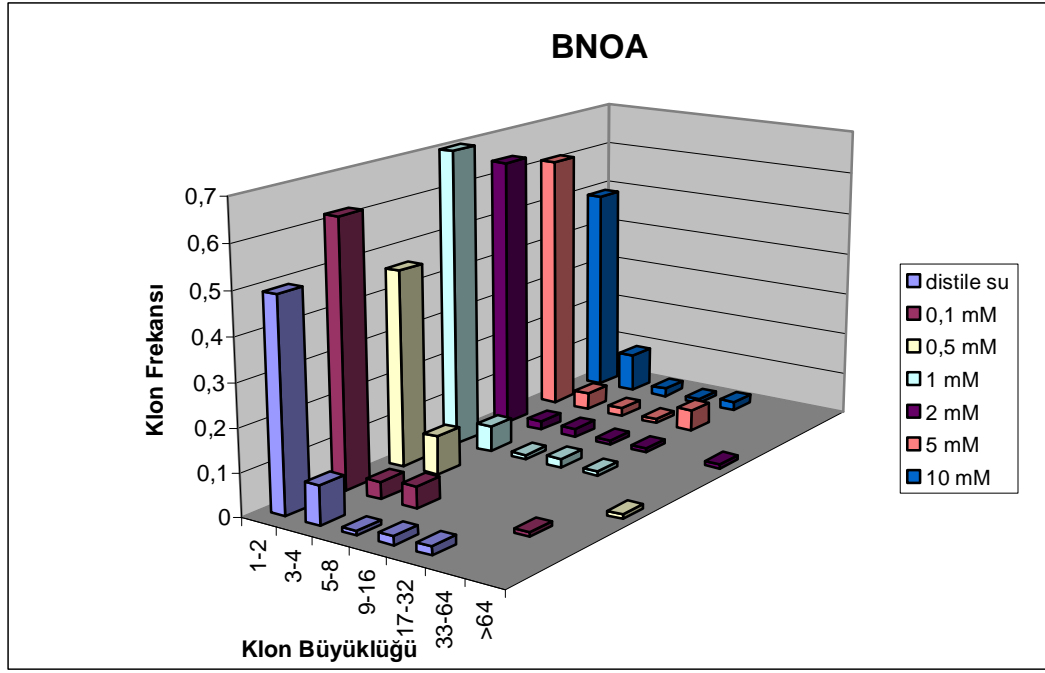
1 mM BNOA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,48, *serrat* kanatlı bireyler için 0,61, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,43, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,69 bulunmuştur (Çizelge 3.3, 3.4).



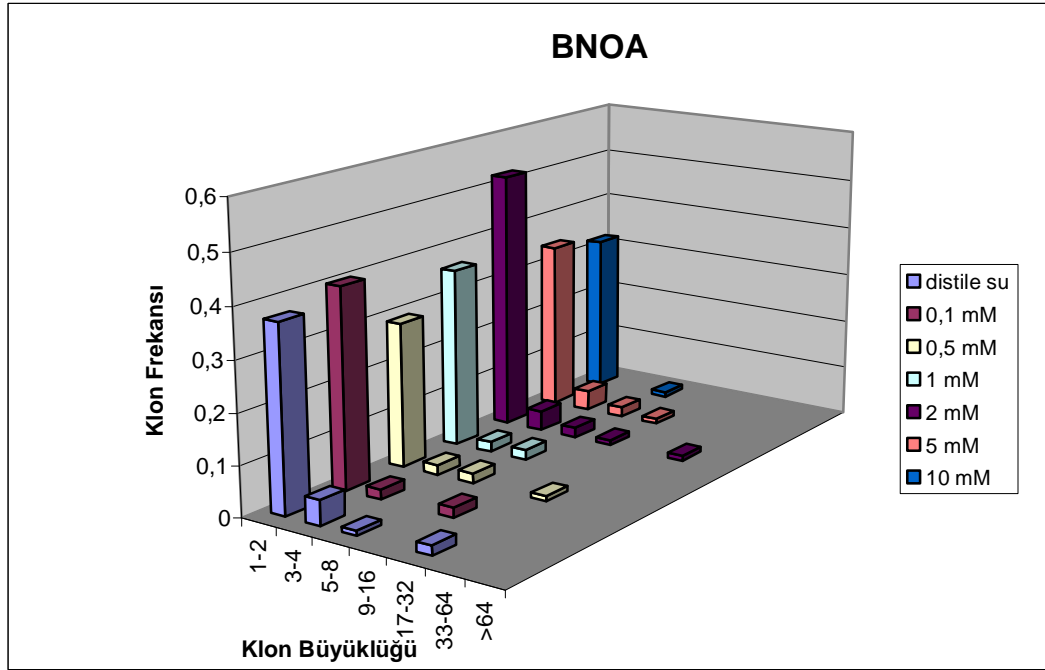
Şekil 3.5. BNOA'nın normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (*mwh/flr³*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.6. BNOA'nın normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı (*mwh/TM3*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.7. BNOA'nın yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.8. BNOA'nın yüksek metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi

2 mM BNOA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 19 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 21 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 21 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 12 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 12 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 12 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.3). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 51 adet küçük tek tip, 7 adet büyük tek tip 2 adet ikiz olmak üzere toplam 60 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 60 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 42 adet küçük tek tip ve 7 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 49 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 49 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.4).

2 mM BNOA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,07, *serrat* kanatlı bireyler için 0,61, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,07, *serrat* kanatlı bireyler için ise 2,51 bulunmuştur (Çizelge 3.3, 3.4).

5 mM BNOA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 23 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip, 1 adet ikiz olmak üzere toplam 26 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 26 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 11 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 11 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 11 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.3). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 49 adet küçük tek tip, 10 adet büyük tek tip 1 adet ikiz olmak üzere toplam 60 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 58 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 27 adet küçük tek tip ve 6 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 33 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 33 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.4).

5 mM BNOA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,33, *serrat* kanatlı bireyler için 0,56, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,97, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,69 bulunmuştur (Çizelge 3.3, 3.4).

10 mM BNOA uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 24 adet küçük tek tip, 5 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 29 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 29 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 11 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 11 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 11 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.3). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 39 adet küçük tek tip, 12 adet büyük tek tip 2 adet ikiz olmak üzere toplam 53 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 53 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 26 adet küçük tek tip ve 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.4).

10 mM BNOA'da klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,48, *serrat* kanatlı bireyler için 0,56, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,71, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,38 bulunmuştur (Çizelge 3.3, 3.4).

Distile su ve 10, 5, 2, 1, 0,5 ve 0,1 mM BNOA uygulamalarında *D. melanogaster*'in normal ve yüksek metabolik etkinliğe sahip normal ve *serrat* kanatlı bireyelerinde küçük ve büyük tek tip ikiz, toplam *mwh* ve toplam klon sayıları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Dolayısıyla BNOA ve metabolitlerinin sözkonusu konsantrasyonlarda mutajen ve rekombinojen olmadığı söylenebilir (Çizelge 3.3, 3.4).

3.1.3. Fungisitler

3.1.3.1. Siprodinil

Siprodinil *D. melanogaster* larvalarına 0,1, 0,5, 1, 2, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonlarda uygulanmıştır.

0,1 mM Siprodinil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 17 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 22 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 22 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 80 kanatta ise 11 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 11 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 11 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.5). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 47 adet küçük tek tip, 7 adet büyük tek tip 1 adet ikiz olmak üzere toplam 55 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 54 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 18 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 22 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 22 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.6).

0,1 mM Siprodinil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,12, *serrat* kanatlı bireyler için 0,56, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,76, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,12 bulunmuştur (Çizelge 3.5, 3.6).

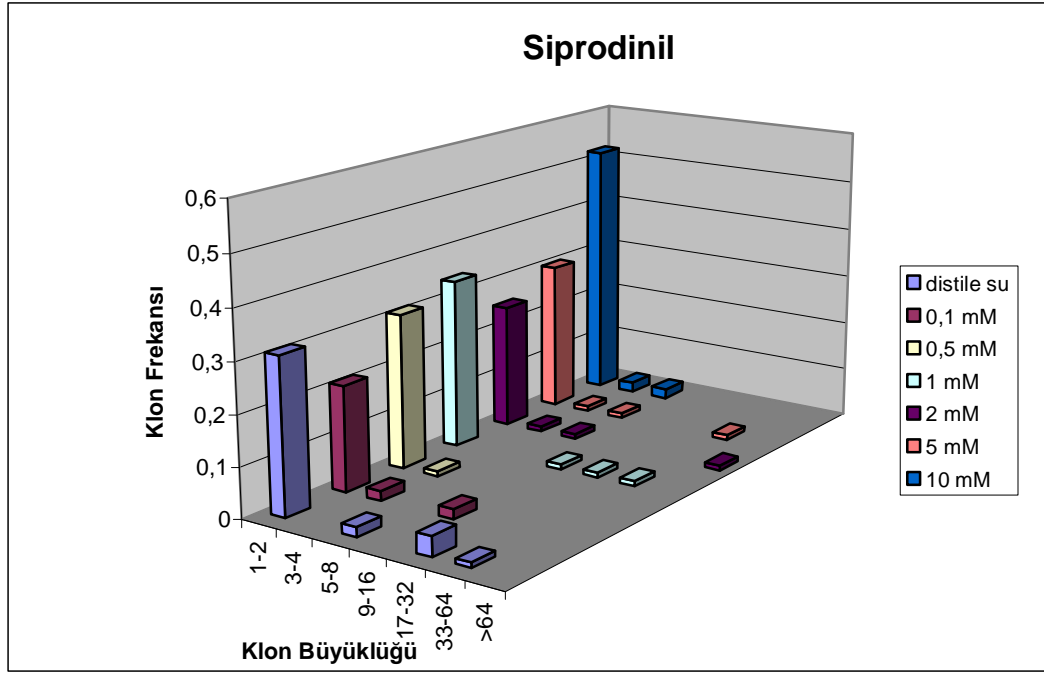
0,5 mM Siprodinil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 25 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerine ait 80 kanatta ise 8 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 8 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 8 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.5). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı

bireylerde ise yine 80 kanatta 28 adet küçük tek tip, 9 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 37 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 36 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 22 adet küçük tek tip ve 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 25 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 24 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.6).

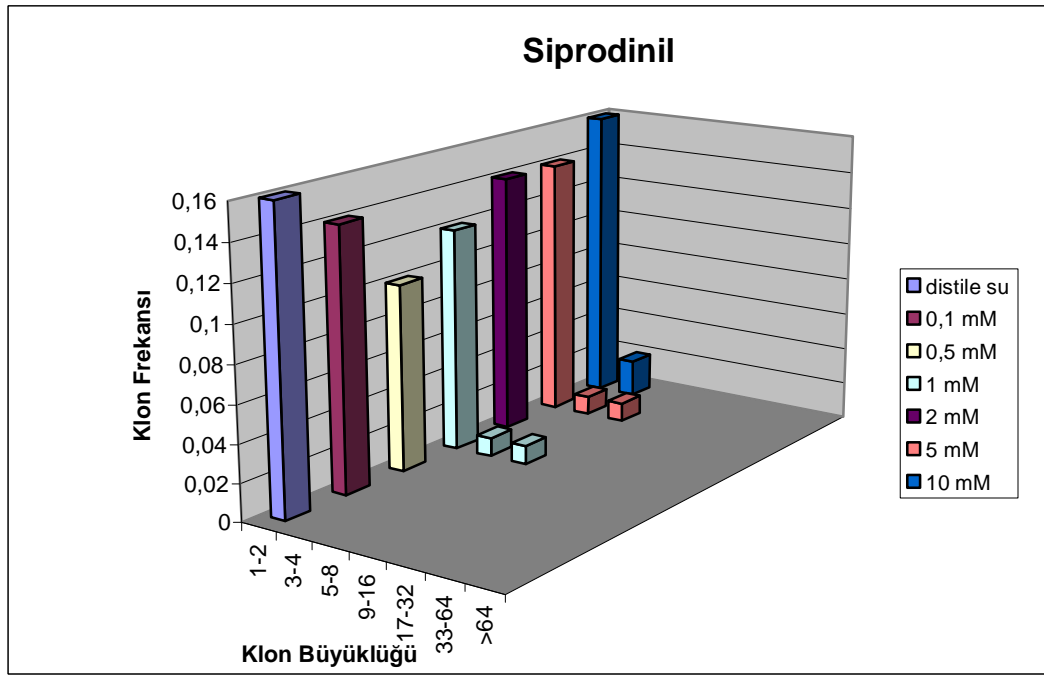
0,5 mM Siprodinil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,38, *serrat* kanatlı bireyler için 0,40, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,84, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,22 bulunmuştur (Çizelge 3.5, 3.6).

1 mM Siprodinil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 27 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 30 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 30 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 10 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 12 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 12 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.5). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 49 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 55 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 55 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 42 adet küçük tek tip ve 12 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 54 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 54 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.6).

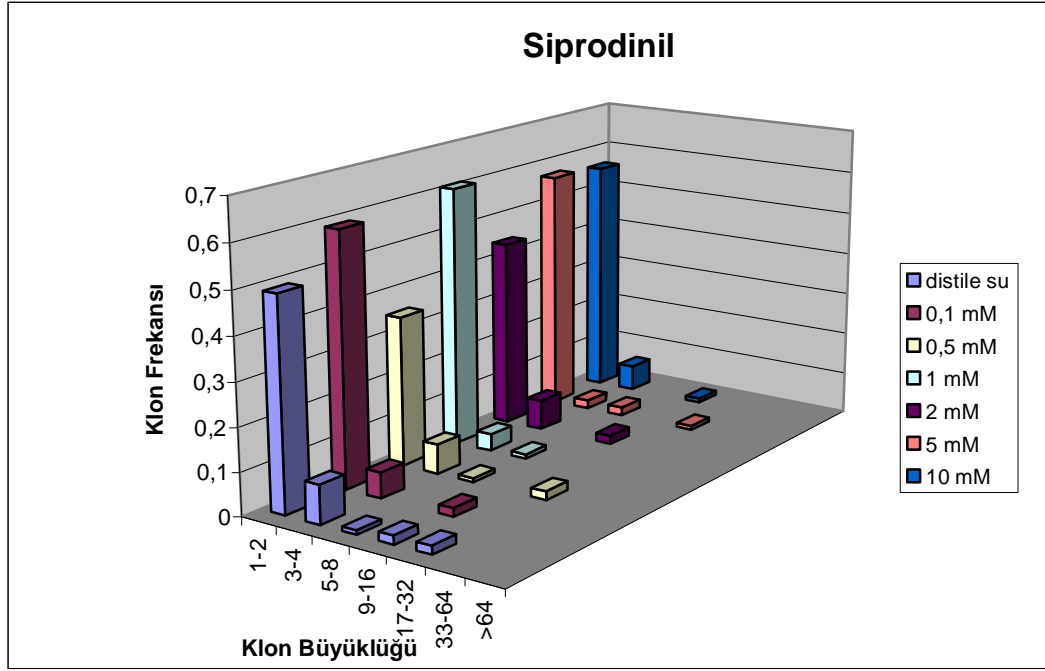
1 mM Siprodinil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,53, *serrat* kanatlı bireyler için 0,61, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,81, *serrat* kanatlı bireyler için ise 2,76 bulunmuştur (Çizelge 3.5, 3.6).



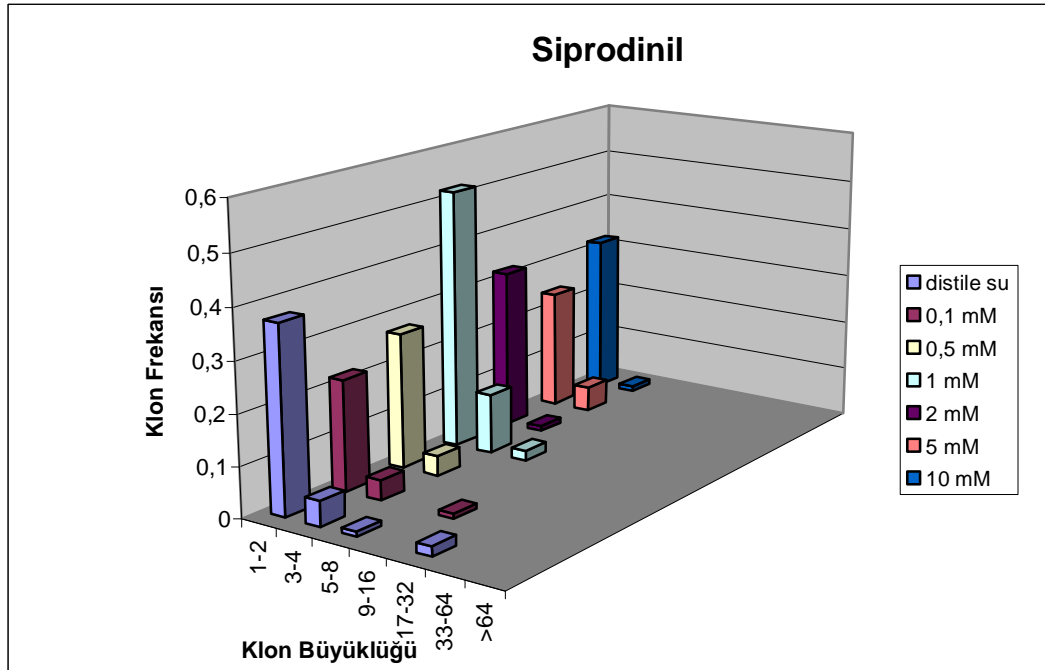
Şekil 3.9. Siprodinil'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (*mwh/flr³*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.10. Siprodinil'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı (*mwh/TM3*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.11. Siprodinil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.12. Siprodinil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip serrat kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi

2 mM Siprodinil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 20 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 25 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 24 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 11 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 11 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 11 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.5). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 35 adet küçük tek tip, 8 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 44 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 43 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 26 adet küçük tek tip 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.6).

2 mM Siprodinil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,22, *serrat* kanatlı bireyler için 0,56, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,20, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,38 bulunmuştur (Çizelge 3.5, 3.6).

5 mM Siprodinil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 24 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 28 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 28 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 11 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 13 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 13 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.5). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 46 adet küçük tek tip, 5 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 53 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 51 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 19 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 23 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 23 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.6).

5 mM Siprodinil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,43, *serrat* kanatlı bireyler için 0,66, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,61, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,17 bulunmuştur (Çizelge 3.5, 3.6).

10 mM Siprodinil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 42 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 48 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 46 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 13 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 15 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 15 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.5). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 45 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 51 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 51 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 26 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.6).

10 mM Siprodinil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,35, *serrat* kanatlı bireyler için 0,76, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,61, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,38 bulunmuştur (Çizelge 3.5, 3.6).

Çizelge 3.5 incelendiğinde Siprodinil’in uygulanan en yüksek konsantrasyonu olan 10 mM’lık konsantrasyonunun küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar bakımından pozitif sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu bağlamda siprodinil fungusinin sözkonusu konsantrasyonda rekombinojen olduğunu söyleyebiliriz. Yüksek metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerde ise uygulanan 1 mM’lık Siprodinil konsantrasyonunun toplam *mwh* klonlar ve toplam klonlar bakımından pozitif sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu bağlamda Siprodinil fungusinin metabolitlerinin sözkonusu konsantrasyonda mutajen olduğu söylenebilir (Çizelge 3.6).

3.1.3.2. Fludioksonil

Fludioksonil *D. melanogaster* larvalarına 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1 ve 2 mM'lık konsantrasyonlarda uygulanmıştır.

0,01 mM Fludioksonil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 25 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 28 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 12 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 12 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 12 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.7). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 48 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 51 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 51 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 22 adet küçük tek tip ve 6 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 28 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 28 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.8).

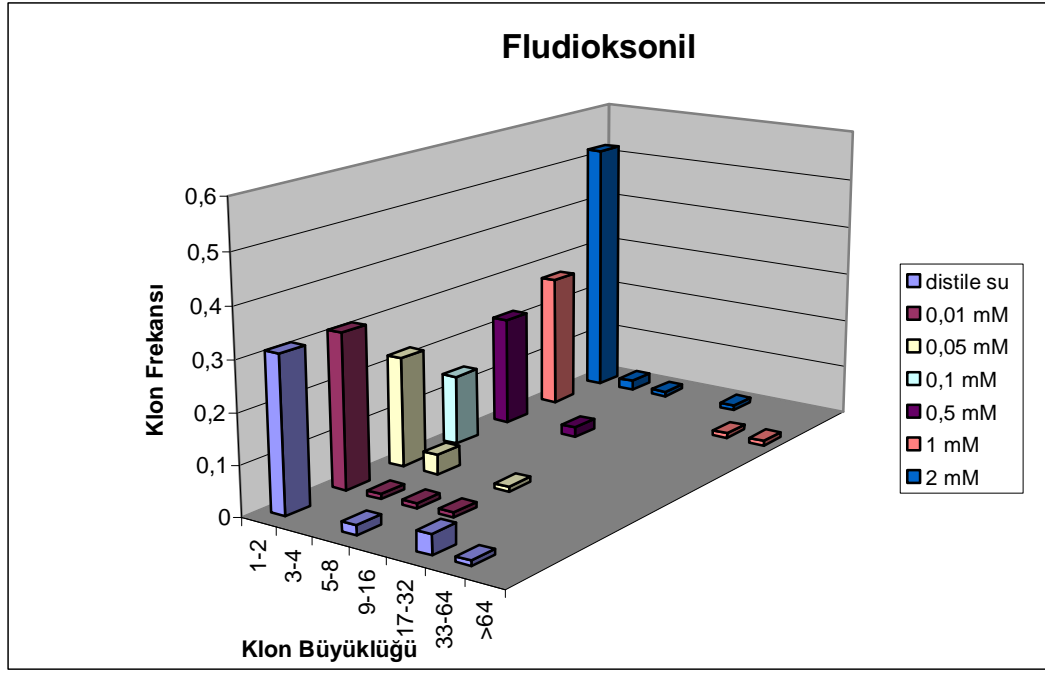
0,01 mM Fludioksonil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,38, *serrat* kanatlı bireyler için 0,61, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,61, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,43 bulunmuştur (Çizelge 3.7, 3.8).

0,05 mM Fludioksonil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 18 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 22 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 22 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 15 adet küçük tek tip ve 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 18 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 18 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.7). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 38 adet

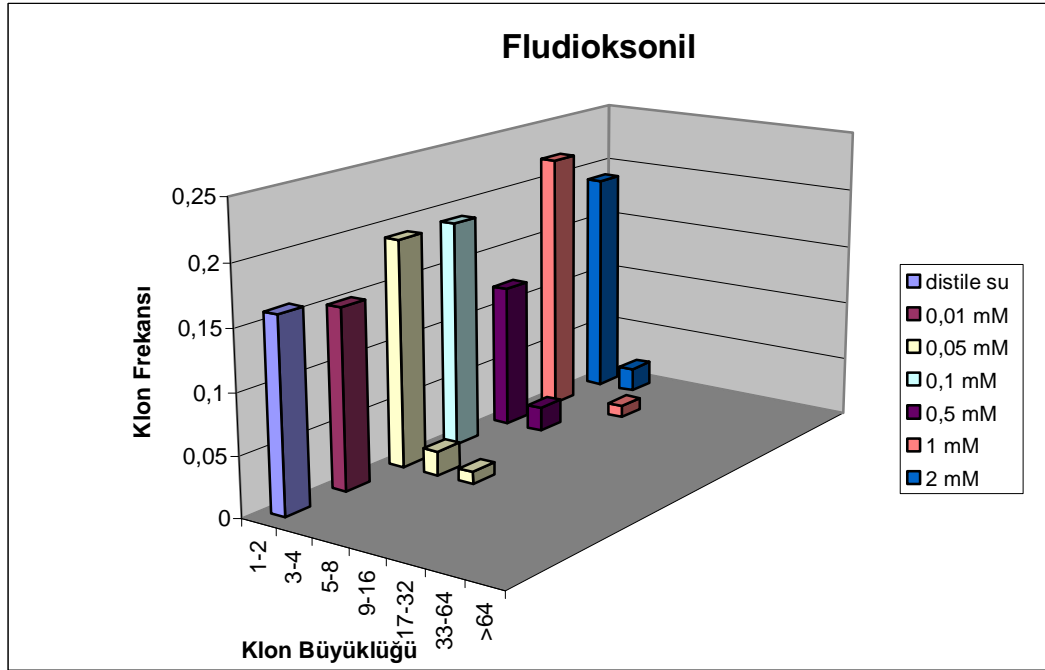
küçük tek tip, 7 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 46 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 46 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 24 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 25 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 25 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.8).

0,05 mM Fludioksonil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,12, *serrat* kanatlı bireyler için 0,92, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,35, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,28 bulunmuştur (Çizelge 3.7, 3.8).

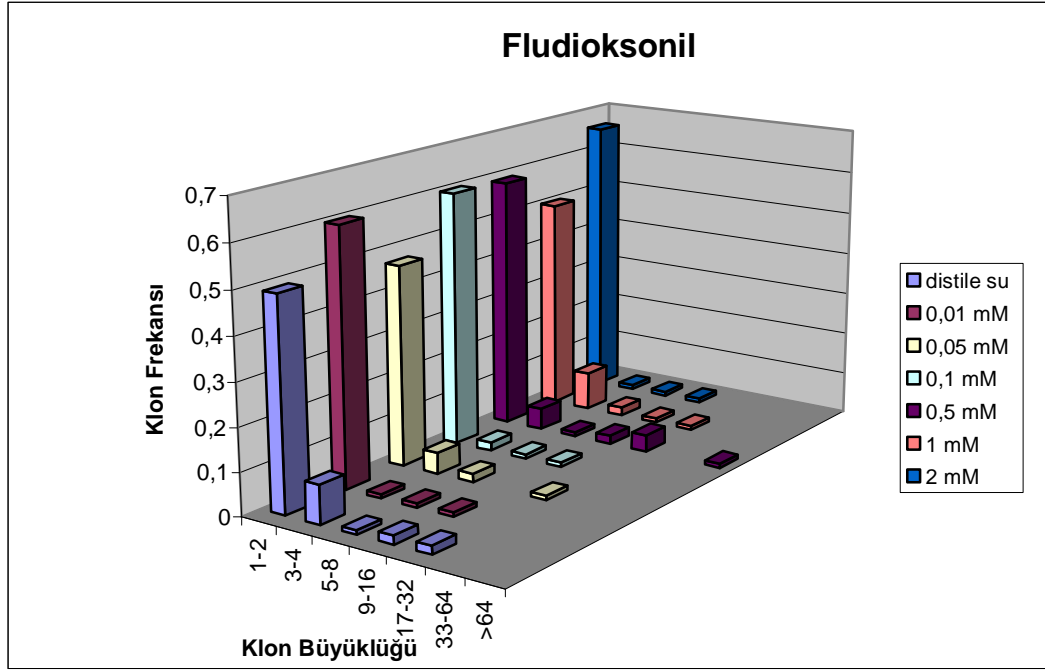
0,1 mM Fludioksonil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 11 adet küçük tek tip, 1 adet ikiz olmak üzere toplam 12 adet klon belirlenirken büyük tek tip klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 12 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 15 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 15 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 15 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.7). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 48 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 53 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 51 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 17 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 19 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 19 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.8).



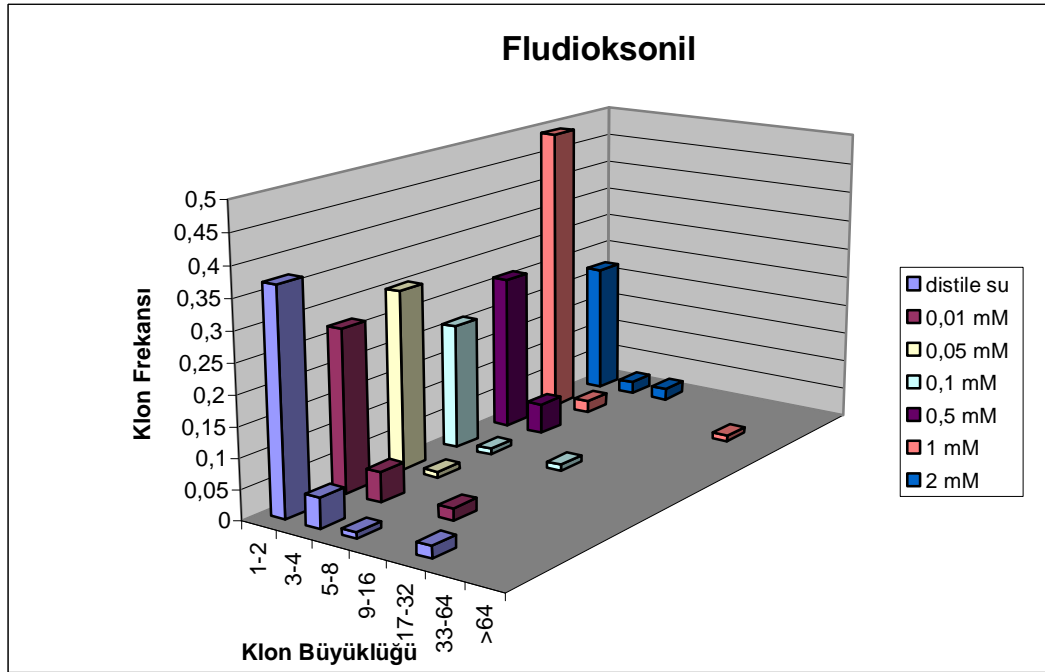
Şekil 3.13. Fludioksonil'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (*mwh/flr³*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.14. Fludioksonil'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı (*mwh/TM3*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.15. Fludioksonil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.16. Fludioksonil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi

0,1 mM Fludioksonil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 0,61, *serrat* kanatlı bireyler için 0,76, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,61, *serrat* kanatlı bireyler için ise 0,97 bulunmuştur (Çizelge 3.7, 3.8).

0,5 mM Fludioksonil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 18 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 21 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 21 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 10 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 12 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 12 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.7). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 47 adet küçük tek tip, 11 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 58 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 54 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 21 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 25 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 25 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.8).

0,5 mM Fludioksonil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,07, *serrat* kanatlı bireyler için 0,61, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,76, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,28 bulunmuştur (Çizelge 3.7, 3.8).

1 mM Fludioksonil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 22 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 26 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 26 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 18 adet küçük tek tip ve 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 19 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 19 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.7). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 40 adet küçük tek tip, 11 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 51 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon

sayısı ise 51 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 39 adet küçük tek tip ve 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 42 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 41 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.8).

1 mM Fludioksonil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,33, *serrat* kanatlı bireyler için 0,97, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,61, *serrat* kanatlı bireyler için ise 2,10 bulunmuştur (Çizelge 3.7, 3.8).

2 mM Fludioksonil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 42 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 47 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 47 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*’in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 15 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 17 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 17 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.7). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 53 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 58 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 58 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 18 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 22 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 22 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.8).

2 mM Fludioksonil’de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,40, *serrat* kanatlı bireyler için 0,87, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,97, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,12 bulunmuştur (Çizelge 3.7, 3.8).

Çizelge 3.7 incelendiğinde Fludioksonil’in uygulanan en yüksek konsantrasyonu olan 2 mM’lık konsantrasyonunun küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar bakımından pozitif sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu bağlamda Fludioksonil fungusitinin sözkonusu konsantrasyonda rekombinojen olduğu söylenebilir. Bunun yanı sıra distile su ve 2, 1, 0,5, 0,1, ,05 ve 0,01 mM Fludioksonil uygulamalarında yüksek

metabolik etkinliğe sahip normal ve *serrat* kanatlı bireylerinde küçük ve büyük tek tip ikiz, toplam *mwh* ve toplam klon sayıları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında uygulanan hiçbir konsantrasyonda pozitif bir sonuca rastlanılmaması bu maddenin metabolitlerinin mutajen ve rekombinojen olmadığı fikrini vermektedir (Çizelge 3.8).

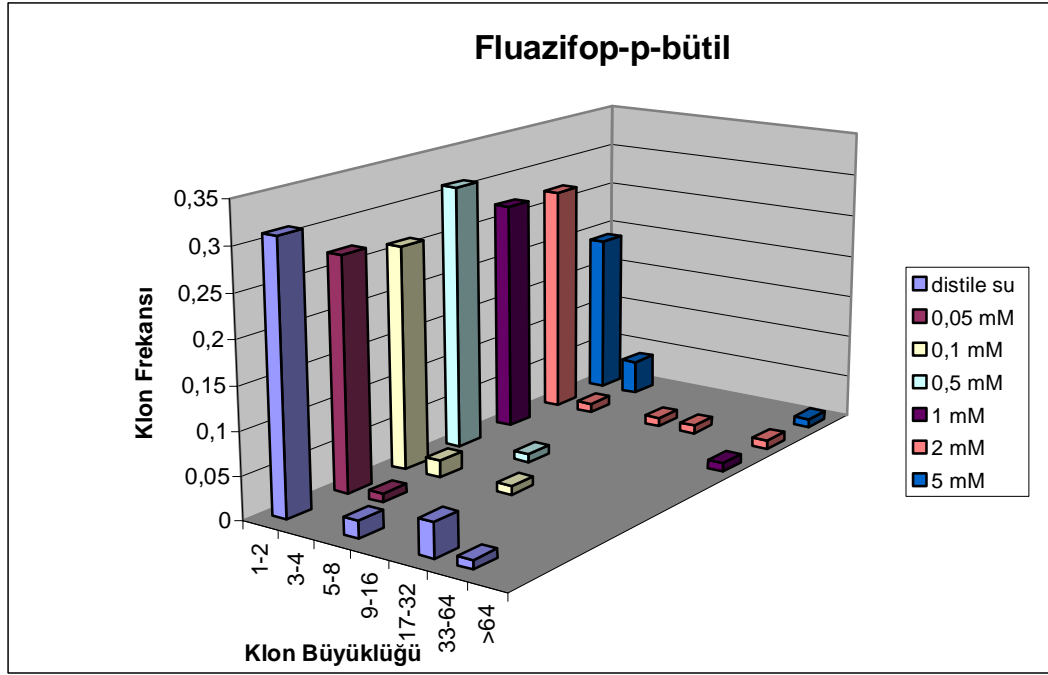
3.1.4. Herbisitler

3.1.4.1. Fluazifop-p-bütül

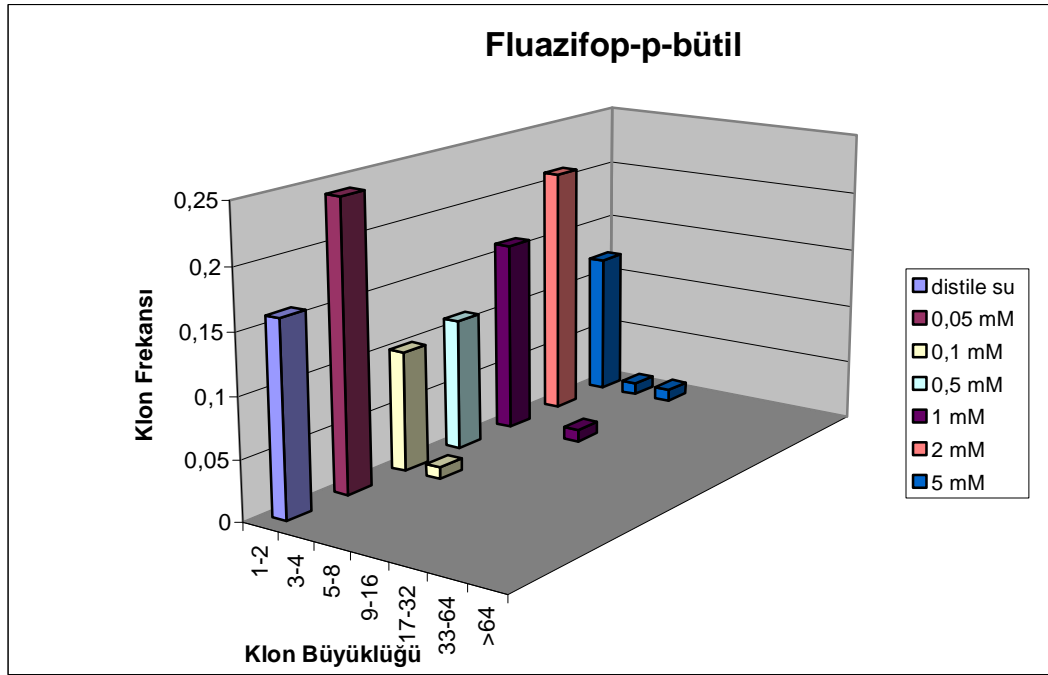
Fluazifop-p-bütül *D. melanogaster* larvalarına 0,05, 0,01, 0,5, 0,1, 2 ve 5 mM'lık konsantrasyonlarda uygulanmıştır.

0,05 mM Fluazifop-p-bütül uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 22 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 25 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 25 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 19 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 19 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 19 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.9). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 48 adet küçük tek tip, 13 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 62 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 61 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 28 adet küçük tek tip ve 5 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 33 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 33 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.10).

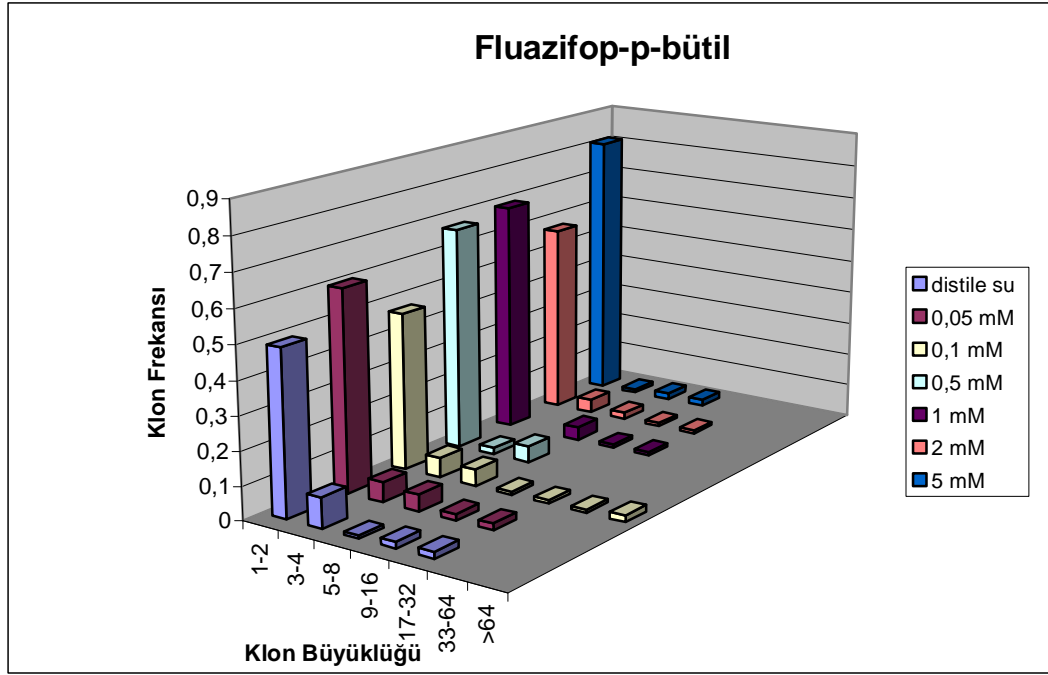
0,05 mM Fluazifop-p-bütül'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,28, *serrat* kanatlı bireyler için 0,97, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,12, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,69 bulunmuştur (Çizelge 3.9, 3.10).



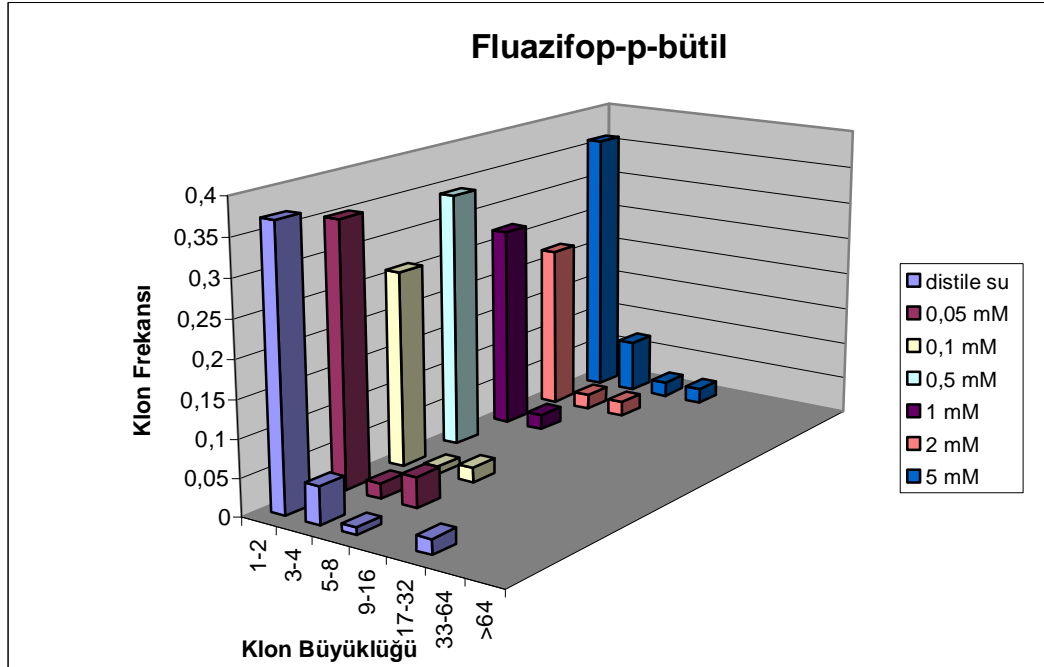
Şekil 3.17. Fluazifop-p-bütöl'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (mwh/flr^3) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.18. Fluazifop-p-bütöl'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı ($mwh/TM3$) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.19. Fluazifop-p-bütil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (*mwh/flr³*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.20. Fluazifop-p-bütil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı (*mwh/TM3*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi

0,1 mM Fluazifop-p-bütül uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 21 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 24 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 24 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 8 adet küçük tek tip ve 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 9 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 9 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.9). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 38 adet küçük tek tip, 14 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 53 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 51 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 21 adet küçük tek tip ve 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 24 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 24 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.10).

0,1 mM Fluazifop-p-bütül'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,22, *serrat* kanatlı bireyler için 0,46, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,61, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,22 bulunmuştur (Çizelge 3.9, 3.10).

0,5 mM Fluazifop-p-bütül uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 25 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 9 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 9 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 9 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.9). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 54 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 62 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 61 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 27 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.10).

0,5 mM Fluazifop-p-bütül'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,38, *serrat* kanatlı bireyler için 0,46, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,12, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,38 bulunmuştur (Çizelge 3.9, 3.10).

1 mM Fluazifop-p-bütül uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 22 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 25 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 25 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 13 adet küçük tek tip ve 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 14 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 14 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.9). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 55 adet küçük tek tip, 5 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 61 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 60 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 72 kanatta 22 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 24 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 24 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.10).

1 mM Fluazifop-p-bütül'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,28, *serrat* kanatlı bireyler için 0,71, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,07, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,36 bulunmuştur (Çizelge 3.9, 3.10).

2 mM Fluazifop-p-bütül uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 22 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 27 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 27 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 17 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 17 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 17 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.9). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 46 adet küçük tek tip, 7 adet büyük tek tip olmak

üzere toplam 53 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 53 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 18 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 22 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 22 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.10).

2 mM Fluazifop-p-bütül'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,38, *serrat* kanatlı bireyler için 0,87, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,71, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,12 bulunmuştur (Çizelge 3.9, 3.10).

5 mM Fluazifop-p-bütül uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 15 adet küçük tek tip, 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 19 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 19 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 10 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 12 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 12 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.9). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 65 adet küçük tek tip, 5 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 71 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 71 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 29 adet küçük tek tip ve 10 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 39 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 39 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.10).

5 mM Fluazifop-p-bütül'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 0,97, *serrat* kanatlı bireyler için 0,61, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,63, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,99 bulunmuştur (Çizelge 3.9, 3.10).

Çizelge 3.9 incelendiğinde Fluazifop-p-bütül'in *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip normal ve *serrat* kanatlı bireyelerinde küçük ve büyük tek tip ikiz, toplam *mwh* ve toplam klon sayıları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak

önemsiz bulunmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında uygulanan hiçbir konsantrasyonda pozitif bir sonuca rastlanılamaması bu maddenin mutajen veya rekombinojen olmadığı fikrini vermektedir. Yüksek metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireylerde ise uygulanan en yüksek konsantrasyon olan 5 mM'lık Fluazifop-p-bütül konsantrasyonunun küçük tek tip klonlar bakımından pozitif sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu bağlamda Fluazifop-p-bütül herbisitinin metabolitlerinin sözkonusu konsantrasyonda mutajen olduğu söylenebilir (Çizelge 3.10).

3.1.4.2.Fenoksaprop-p-etil

Fenoksaprop-p-etil *D. melanogaster* larvalarına 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1 ve 2 mM'lık konsantrasyonlarda uygulanmıştır.

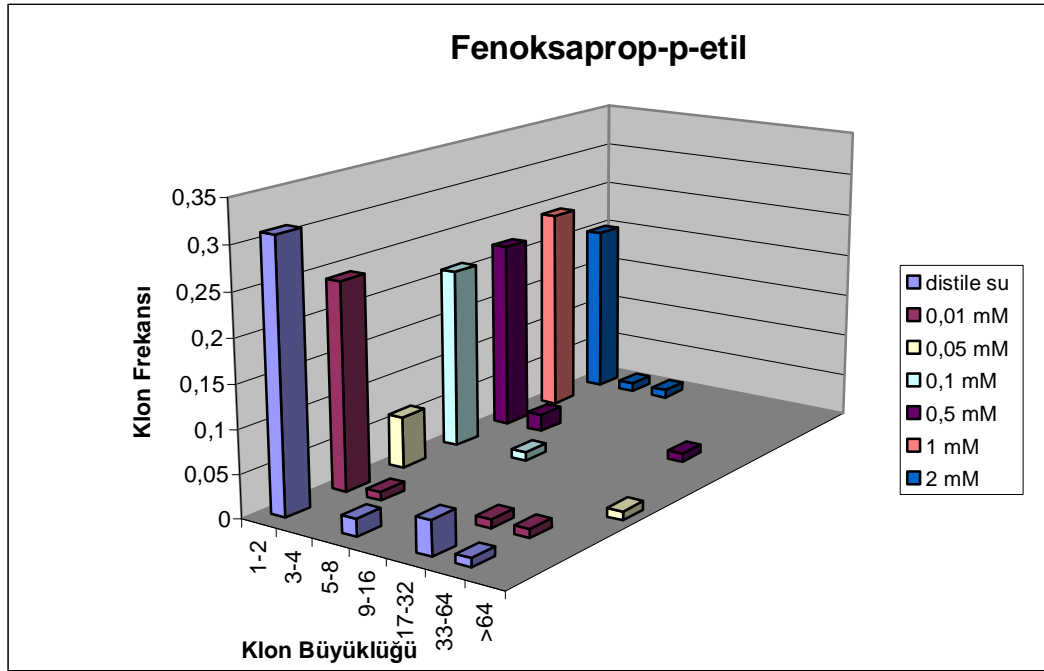
0,01 mM Fenoksaprop-p-etil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 19 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 22 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılamamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 22 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 17 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 17 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 17 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.11). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 49 adet küçük tek tip, 11 adet büyük tek tip ve 3 adet ikiz olmak üzere toplam 63 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 62 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 35 adet küçük tek tip ve 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 38 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 38 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.12).

0,01 mM Fenoksaprop-p-etil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,12, *serrat* kanatlı bireyler için 0,87, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,17, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,94 bulunmuştur (Çizelge 3.11, 3.12).

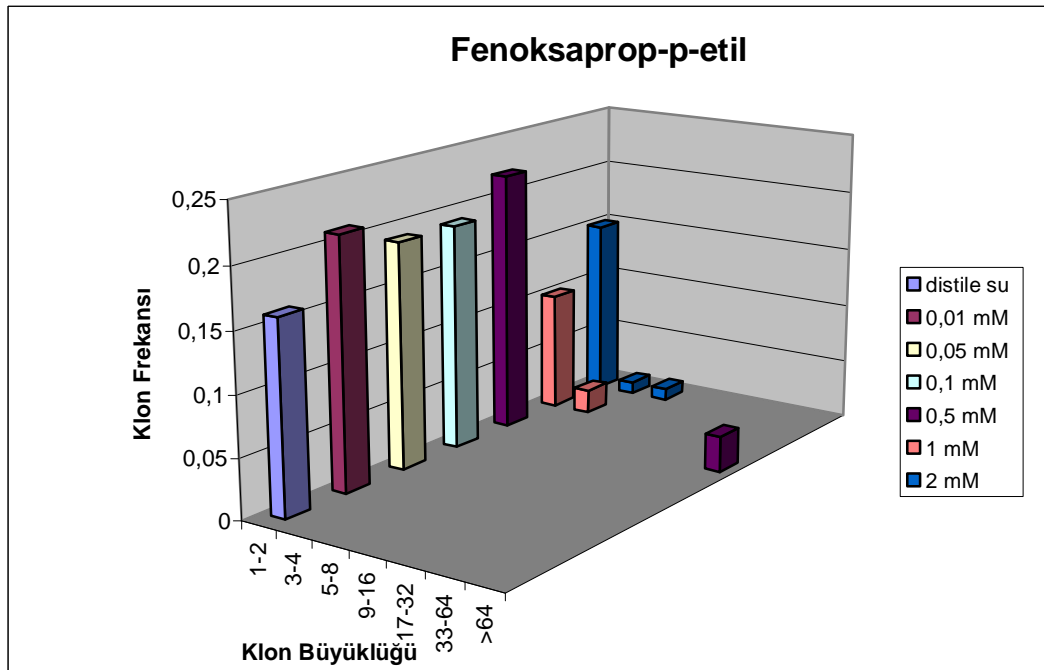
0,05 mM Fenoksaprop-p-etil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 5 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip ve 3 adet ikiz olmak üzere toplam 9 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 9 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 15 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 15 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 15 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.11). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 50 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 58 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 57 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 52 adet küçük tek tip ve 5 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 57 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 57 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.12).

0,05 mM Fenoksaprop-p-etil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 0,46, *serrat* kanatlı bireyler için 0,76, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,92, *serrat* kanatlı bireyler için ise 2,92 bulunmuştur (Çizelge 3.11, 3.12).

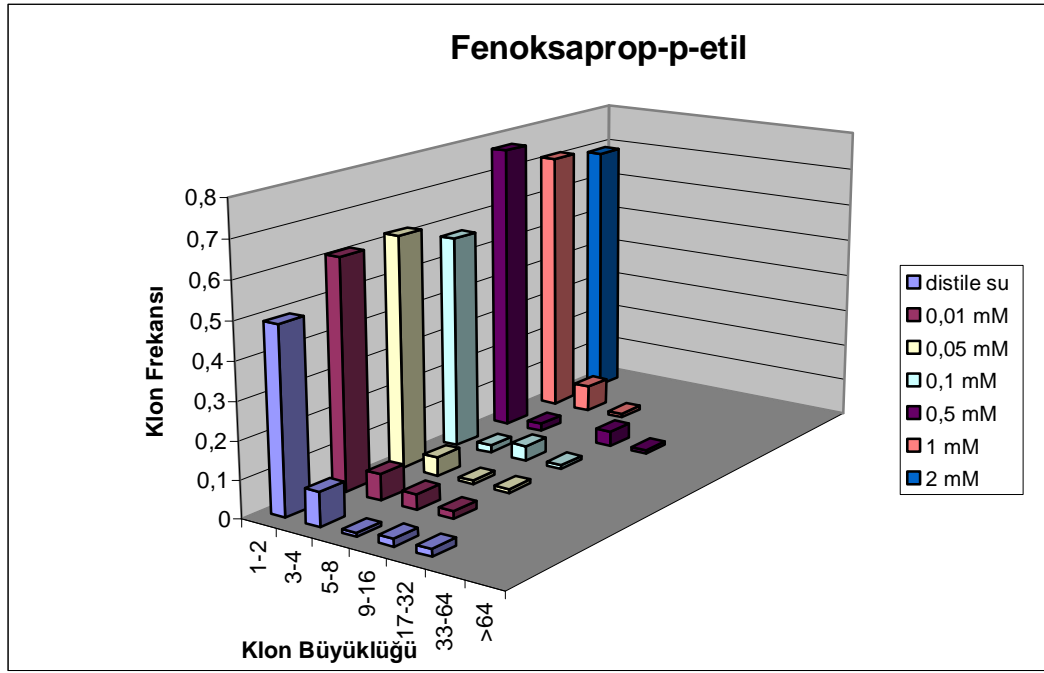
0,1 mM Fenoksaprop-p-etil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 17 adet küçük tek tip, 1 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 18 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 18 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 13 adet küçük tek tip olmak üzere toplam 13 adet klon belirlenirken büyük tek tip ve ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 13 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.11). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 46 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 52 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 52 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 22 adet küçük tek tip ve 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 25 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 25 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.12).



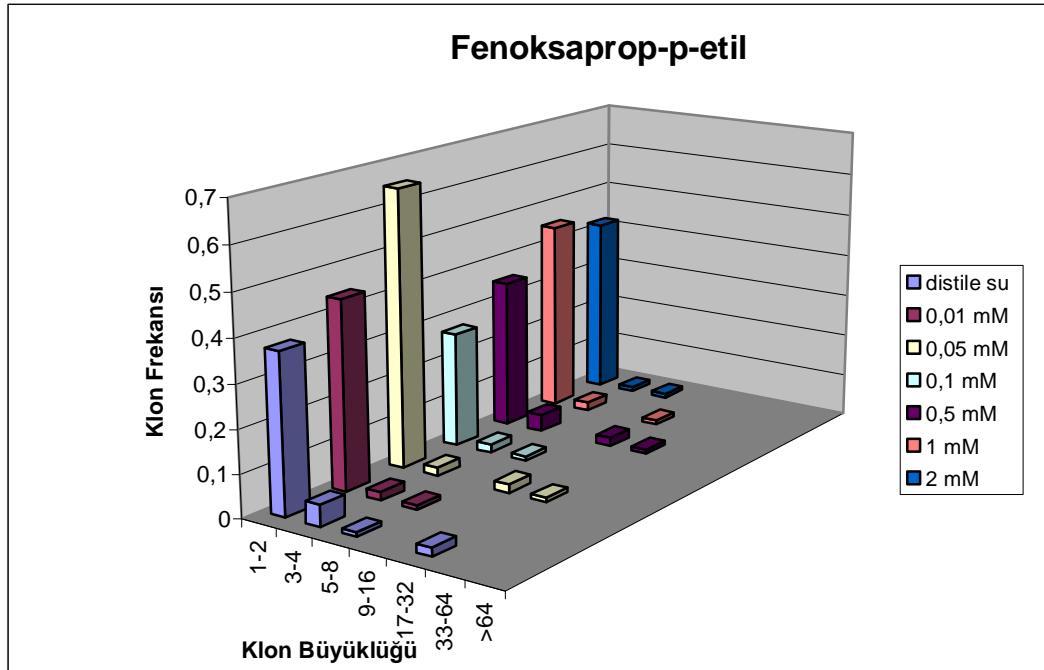
Şekil 3.21. Fenoksaprop-p-etil'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (*mwh/flr³*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.22. Fenoksaprop-p-etil'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı (*mwh/TM3*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.23. Fenoksaprop-p-etil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı (*mwh/flr³*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi



Şekil 3.24. Fenoksaprop-p-etil'in yüksek metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı (*mwh/TM3*) hatlarda klon frekans dağılımına etkisi

0,1 mM Fenoksaprop-p-etil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 0,92, *serrat* kanatlı bireyler için 0,78, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,66, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,28 bulunmuştur (Çizelge 3.11, 3.12).

0,5 mM Fenoksaprop-p-etil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 18 adet küçük tek tip, 3 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 21 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 21 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 58 kanatta ise 13 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 15 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 15 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.11). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 62 adet küçük tek tip, 6 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 69 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 67 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 28 adet küçük tek tip ve 6 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 34 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 34 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.12).

0,5 mM Fenoksaprop-p-etil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,07, *serrat* kanatlı bireyler için 1,05, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,43, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,74 bulunmuştur (Çizelge 3.11, 3.12).

1 mM Fenoksaprop-p-etil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 19 adet küçük tek tip, 1 adet ikiz olmak üzere toplam 20 adet klon belirlenirken büyük tek tip klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 20 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 8 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 10 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 10 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.11). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 57 adet

küçük tek tip, 7 adet büyük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 66 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 66 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 36 adet küçük tek tip ve 4 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 40 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 40 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.12).

1 mM Fenoksaprop-p-etil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 1,02, *serrat* kanatlı bireyler için 0,51, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 3,38, *serrat* kanatlı bireyler için ise 2,04 bulunmuştur (Çizelge 3.11, 3.12).

2 mM Fenoksaprop-p-etil uygulamalarının yapıldığı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylere ait 80 kanatta 16 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip ve 1 adet ikiz olmak üzere toplam 19 adet klon belirlenmiştir. Toplam *mwh* klon sayısı ise 19 olarak bulunmuştur. *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip *serrat* kanatlı bireyelerine ait 80 kanatta ise 12 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 14 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 14 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.11). Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise yine 80 kanatta 55 adet küçük tek tip ve 2 adet ikiz olmak üzere toplam 57 adet klon belirlenirken büyük tek tip klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 57 olarak bulunmuştur. *Serrat* kanatlı bireylerde ise 80 kanatta 34 adet küçük tek tip ve 2 adet büyük tek tip olmak üzere toplam 36 adet klon belirlenirken ikiz klona rastlanılmamıştır. Toplam *mwh* klon sayısı ise 36 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.12).

2 mM Fenoksaprop-p-etil'de klon indüksiyon frekansı normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 0,97, *serrat* kanatlı bireyler için 0,71, yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyler için 2,92, *serrat* kanatlı bireyler için ise 1,84 bulunmuştur (Çizelge 3.11, 3.12).

Çizelge 3.11 incelendiğinde Fenoksaprop-p-etil'in *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip normal ve *serrat* kanatlı bireyelerinde küçük ve büyük tek tip

ikiz, toplam *mwh* ve toplam klon sayıları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında uygulanan hiçbir konsantrasyonda pozitif bir sonuca rastlanılamaması bu maddenin mutajen veya rekombinojen olmadığı fikrini vermektedir. Yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireylerde ise 0,5 ve 1 mM'lık Fenoksaprop-p-etil konsantrasyonunun küçük tek tip klonlar bakımından pozitif sonuçlar verdiği görülmektedir. Buna göre Fenoksaprop-p-etil'in metabolitlerinin sözkonusu konsantrasyonlarda rekombinojen olduğu söylenebilir. Ayrıca *serrat* kanatlı bireylerde 0,05 mM'lık Fenoksaprop-p-etil konsantrasyonunun küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar bakımından pozitif sonuçlar vermesi, herbisitinin metabolitlerinin sözkonusu konsantrasyonda mutajen olduğunu göstermektedir (Çizelge 3.12).

3.2. Tripan Mavisi Testi ve MTT Testi ile Hücre Yaşayabilirliği ve Çoğalabilirliğinin Belirlenmesi

Tripan mavisi ve MTT testlerinde çok kuyucuklu kültür kabının her bir kuyucuğundaki başlangıç hücre sayısı eşit olup mililitrede 50 bin adettir. Hücrelerin ikilenme zamanları 3,5 gün olarak belirlenmiştir. Ayrıca her iki testte de hücrelerin kültür ortamında inkübasyon süresi 8 gündür. Bu inkübasyon periyodu sonunda tripan mavisi testinde, kuyucuklardaki canlı, ölü ve toplam hücre sayıları belirlenmiş ve canlı hücre sayıları % olarak ifade edilmiştir (Çizelge 3.13 ve Şekil 3.25). MTT testinde ise spektrofotometrik olarak belirlenen absorbans değerlerinden, DMEM kontrol grubu kuyucuklarındaki canlılık oranı % 100 kabul edilerek, bitki büyüme düzenleyicileri, pestisitler ve etil alkol kontrolü uygulamalarının yapıldığı kuyucuklardaki canlılık oranları % olarak ifade edilmiştir (Çizelge 3.14 ve Şekil 3.26).

Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin uygulanan konsantrasyonları her madde için aynı olmadığından gerek tripan mavisi gerekse MTT testlerinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde maddelerin canlılık üzerine etkileri birbirleriyle karşılaştırılamamıştır. Bu durumda her iki test için varyans analizleri her bir maddenin farklı konsantrasyonlarının canlılık üzerine etkileri birbirleriyle karşılaştırılarak yapılmıştır.

Çizelge 3.13. Tripan Mavisi Testine Göre Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Pestisitlerin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grupları	Konsantrasyon	Hücre Sayısı (bin hücre) / ml			% Canlı
		Toplam	Canlı	Ölü	
Kontrol Grupları					
DMEM		352	288	64	82
DMEM+Etil alkol	0,5 µl/ml	344	280	64	81
	5 µl/ml	232	168	64	72
	50 µl/ml	180	144	36	76
Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Pestisitler					
IAA	0,005 mg/ml (0,028 mM)	288	240	48	83
	0,05 mg/ml (0,285 mM)	240	176	64	73
	0,5 mg/ml (2,853 mM)	272	64	208	23
BNOA	0,005 mg/ml (0,024 mM)	256	192	64	75
	0,05 mg/ml (0,247 mM)	272	160	112	58
	0,5 mg/ml (2,472 mM)	192	96	96	50
Siprodinil	0,0015 mM	256	224	32	88
	0,015 mM	264	224	40	84
	0,150 mM	192	128	64	66
Fludioksonil	0,0018 mM	176	112	64	63
	0,018 mM	224	160	64	71
	0,180 mM	240	144	96	60
Fluazifop-p-bütül	0,0065 mM	384	320	64	83
	0,0653 mM	248	192	56	77
	0,653 mM	200	144	56	72
Fenoksaprop-p-etil	0,0018 mM	320	240	80	75
	0,018 mM	200	144	56	72
	0,180 mM	232	144	88	62

Çizelge 3.14. MTT Testine Göre Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Pestisitlerin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grupları	Konsantrasyon	% Canlılık Oranları
Kontrol Grupları		
DMEM		100
DMEM+Etil alkol	0,5 µl/ml	92,74
	5 µl/ml	94,27
	10 µl/ml	90,49
	50 µl/ml	56,09
Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Pestisitler		
IAA	0,005 mg/ml (0,028 mM)	102,56
	0,05 mg/ml (0,285 mM)	103,31
	0,1 mg/ml (0,570 mM)	101,41
	0,5 mg/ml (2,853 mM)	35,54
BNOA	0,005 mg/ml (0,024 mM)	97,28
	0,05 mg/ml (0,247 mM)	100,29
	0,1 mg/ml (0,4945 mM)	104,02
	0,5 mg/ml (2,472 mM)	10,54
Siprodinil	0,0015 mM	94,54
	0,015 mM	90,8
	0,030 mM	86,34
	0,150 mM	31,27
Fludioksonil	0,0018 mM	95,19
	0,018 mM	94,38
	0,036 mM	89,56
	0,180 mM	22,9
Fluazifop-p-bütül	0,0065 mM	95,87
	0,0653 mM	94,89
	0,0124 mM	90,22
	0,653 mM	55,26
Fenoksaprop-p-etil	0,0018 mM	96,86
	0,018 mM	91,23
	0,036 mM	94,32
	0,180 mM	50,5

3.2.1. Kontrol grupları

Tripan mavisi testi sonucuna göre (Çizelge 3.13), DMEM’de 288 bin (% 82) canlı 64 bin ölü hücre belirlenmiştir.

Yine tripan mavisi testi sonucuna göre, 50 µl etil alkol / ml DMEM’de canlı hücre sayısının 144 bin (% 76), ölü hücre sayısının ise 36 bin, 5 µl etil alkol / ml DMEM’de canlı hücre sayısının 168 bin (% 72), ölü hücre sayısının ise 64 bin, 0,5 µl etil alkol / ml DMEM’de canlı hücre sayısının 280 bin (% 81), ölü hücre sayısının ise 64 bin olduğu görülmektedir. Bu konsantrasyonların canlılık üzerine etkilerinin DMEM kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olmadığı bulunmuştur ($P>0,05$) (Çizelge 3.15).

Çizelge 3.15. Tripan Mavisi Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda DMEM + Etil alkol Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Hücre Sayısı (bin hücre) / ml			% Canlı*
		Toplam	Canlı	Ölü	
DMEM+ Etil alkol	0,5 µl/ml	344	280	64	81 A
	5 µl/ml	232	168	64	72 A
	50 µl/ml	180	144	36	76 A
DMEM		352	288	64	82 A

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

MTT testi sonucuna göre, canlılık oranlarının 0,5 µl etil alkol / ml DMEM için % 92,74, 5 µl etil alkol / ml DMEM için % 94,27, 10 µl etil alkol / ml DMEM için % 90,49 ve 50 µl etil alkol / ml DMEM için % 56,09 olduğu görülmektedir (Çizelge 3.14). Varyans analizi sonuçlarına göre uygulanan konsantrasyonların canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,5, 5 ve 10 µl etil alkol / ml DMEM konsantrasyonlarında canlılık oranları arasındaki fark önemsiz bulunurken ($P>0,05$) bu konsantrasyonlarla 50 µl etil

alkol / ml DMEM konsantrasyonundaki canlılık oranı arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0,05$) (Çizelge 3.16)

Çizelge 3.16. MTT Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda DMEM + Etil Alkol Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	% Canlılık Oranı*
DMEM+Etil alkol	0,5 µl/ml DMEM	92,74 A
	5 µl/ml DMEM	94,27 A
	10 µl/ml DMEM	90,49 A
	50 µl/ml DMEM	56,09 B

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P > 0,05$).

3.2.2. Bitki büyüme düzenleyicileri

3.2.2.1. IAA

Tripan mavisi testi sonucuna göre, 0,005 mg/ml IAA'da (0,028 mM) canlı hücre sayısının 240 bin (% 83), ölü hücre sayısının 48 bin, 0,05 mg/ml IAA'da (0,285 mM) canlı hücre sayısının 176 bin (% 73), ölü hücre sayısının ise 64 bin, 0,5 mg/ml IAA'da (2,853 mM) ise canlı hücre sayısının 64 bin (% 23), ölü hücre sayısının ise 208 bin olduğu görülmektedir (Çizelge 3.13 ve Şekil 3.25). Yapılan varyans analizine göre uygulanan IAA konsantrasyonlarının canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,005 mg/ml IAA (0,028 mM) ve 0,05 mg/ml IAA (0,285 mM) konsantrasyonlarının canlılık üzerine etkilerinin kontrol grubu olan DMEM'den farklı olmadığı ($P > 0,05$) ancak 0,5 mg/ml IAA (2,853 mM) konsantrasyonunun DMEM kontrol grubu ile istatistiksel olarak farklı olduğu ($P < 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 3.17).

Çizelge 3.17. Tripan Mavisi Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda IAA Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Hücre Sayısı (bin hücre) /ml			% Canlı*
		Toplam	Canlı	Ölü	
IAA	0,005 mg/ml (0,028 mM)	288	240	48	83 A
	0,05 mg/ml (0,285 mM)	240	176	64	73 A
	0,5 mg/ml (2,853 mM)	272	64	208	23 B
DMEM		352	288	64	82 A

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

MTT testi sonucuna göre ise, 0,005 mg/ml IAA'da canlılık oranlarının % 102,56, 0,05 mg/ml IAA'da % 103,31, 0,1 mg/ml IAA'da % 101,41, 0,5 mg/ml IAA'da ise 35,54 olduğu görülmektedir (Çizelge 3.14 ve Şekil 3.26). Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre uygulanan konsantrasyonların canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,005, 0,05 ve 0,1 mg/ml IAA konsantrasyonlarında canlılık oranları arasındaki fark önemsiz bulunurken ($P>0,05$) bu konsantrasyonlarla 0,5 mg/ml IAA konsantrasyonundaki canlılık oranı arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.18).

Çizelge 3.18. MTT Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda IAA Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	% Canlılık Oranı*
IAA	0,005 mg/ml (0,028 mM)	102,56 A
	0,05 mg/ml (0,285 mM)	103,31 A
	0,1 mg/ml (0,570 mM)	101,41 A
	0,5 mg/ml (2,853 mM)	35,54 B

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

3.2.2.2. BNOA

Tripan mavisi testi sonucuna göre, 0,005 mg/ml (0,024 mM) BNOA'da canlı hücre sayısının 192 bin (% 75), ölü hücre sayısının 64 bin, 0,05 mg/ml BNOA'da (0,247 mM) canlı hücre sayısının 160 bin (% 58), ölü hücre sayısının ise 112 bin, 0,5 mg/ml BNOA'da (2,472 mM) ise canlı hücre sayısının 96 bin (% 50), ölü hücre sayısının ise 96 bin olduğu görülmektedir (Çizelge 3.13 ve Şekil 3.25). Bu konsantrasyonların canlılık üzerine etkilerinin DMEM kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olmadığı bulunmuştur ($P>0,05$) (Çizelge 3.19).

Çizelge 3.19. Tripan Mavisi Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda BNOA Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Hücre Sayısı (bin hücre) / ml			% Canlı*
		Toplam	Canlı	Ölü	
BNOA	0,005 mg/ml (0,024 mM)	256	192	64	75 A
	0,05 mg/ml (0,247 mM)	272	160	112	58 A
	0,5 mg/ml (2,472 mM)	192	96	96	50 A
DMEM		352	288	64	82 A

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

MTT testi sonucuna göre ise, 0,005 mg/ml BNOA'da canlılık oranlarının % 97,28, 0,05 mg/ml BNOA'da % 100,29, 0,1 mg/ml BNOA'da % 104,02, 0,5 mg/ml IAA'da ise 10,54 olduğu görülmektedir (Çizelge 3.14 ve Şekil 3.26). Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre uygulanan konsantrasyonların canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,005, 0,05 ve 0,1 mg/ml BNOA konsantrasyonlarında canlılık oranları arasındaki fark önemsiz bulunurken ($P>0,05$) bu konsantrasyonlarla 0,5 mg/ml BNOA konsantrasyonundaki canlılık oranı arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.20).

Çizelge 3.20. MTT Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda BNOA Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Canlılık Oranı*
BNOA	0,005 mg/ml (0,024 mM)	97,28 A
	0,05 mg/ml (0,247 mM)	100,29 A
	0,1 mg/ml (0,4945 mM)	104,02 A
	0,5 mg/ml (2,472 mM)	10,54 B

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

3.2.3. Fungisitler

3.2.3.1.Siprodinil

Tripan mavisi testi sonucuna göre, 0,0015 mM Siprodinil’de canlı hücre sayısının 224 bin (% 88), ölü hücre sayısının 32 bin, 0,015 mM Siprodinil’de canlı hücre sayısının 224 bin (% 84), ölü hücre sayısının ise 40 bin, 0,150 mM Siprodinil’de ise canlı hücre sayısının 128 bin (% 66), ölü hücre sayısının ise 64 bin olduğu görülmektedir (Çizelge 3.13 ve Şekil 3.25). Yapılan varyans analizine göre uygulanan Siprodinil konsantrasyonlarının canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,0015 mM ve 0,015 mM Siprodinil konsantrasyonlarının canlılık üzerine etkilerinin kontrol grubu olan DMEM’den farklı olmadığı ($P>0,05$) ancak 0,150 mM Siprodinil konsantrasyonunun DMEM kontrol grubu ile istatistiksel olarak farklı olduğu ($P<0,05$) bulunmuştur (Çizelge 3.21).

Çizelge 3.21. Tripan Mavisi Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda Siprodinil Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Hücre Sayısı (bin hücre) / ml			% Canlı*
		Toplam	Canlı	Ölü	
Siprodinil	0,0015 mM	256	224	32	88 A
	0,015 mM	264	224	40	84 A
	0,150 mM	192	128	64	66 B
DMEM		352	288	64	82 A

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

MTT testi sonucuna göre ise, 0,0015 mM Siprodinil’de canlılık oranlarının % 94,54, 0,015 mM Siprodinil’de % 90,8, 0,030 mM Siprodinil’de % 86,34, 0,150 mM Siprodinil’de ise % 31,27 olduğu görülmektedir (Çizelge 3.14 ve Şekil 3.26). Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre uygulanan konsantrasyonların canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,0015, 0,015 ve 0,030 mM Siprodinil konsantrasyonlarında canlılık oranları arasındaki fark önemsiz bulunurken ($P>0,05$) bu konsantrasyonlarla 0,150 mM Siprodinil konsantrasyonundaki canlılık oranı arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.22).

Çizelge 3.22. MTT Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda Siprodinil Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	% Canlılık Oranı*
Siprodinil	0,0015 mM	94,54 A
	0,015 mM	90,8 A
	0,030 mM	86,34 A
	0,150 mM	31,27 B

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

3.2.3.2.Fludioksonil

Tripan mavisi testi sonucuna göre, 0,0018 mM Fludioksonil’de canlı hücre sayısının 112 bin (% 63), ölü hücre sayısının 64 bin, 0,018 mM Fludioksonil’de canlı hücre sayısının 160 bin (% 71), ölü hücre sayısının ise 64 bin, 0,180 mM Fludioksonil’de ise canlı hücre sayısının 144 bin (% 60), ölü hücre sayısının ise 96 bin olduğu görülmektedir (Çizelge 3.13 ve Şekil 3.25). Bu konsantrasyonların canlılık üzerine etkilerinin DMEM kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olmadığı bulunmuştur ($P>0,05$) (Çizelge 3.23).

Çizelge 3.23. Tripan Mavisi Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda Fludioksonil Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Hücre Sayısı (bin hücre) / ml			% Canlı*
		Toplam	Canlı	Ölü	
Fludioksonil	0,0018 mM	176	112	64	63 A
	0,018 mM	224	160	64	71 A
	0,180 mM	240	144	96	60 A
DMEM		352	288	64	82 A

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

MTT testi sonucuna göre ise, 0,0018 mM Fludioksonil'de canlılık oranlarının % 95,19, 0,018 mM Fludioksonil'de % 94,38, 0,036 mM Fludioksonil'de % 89,56, 0,180 mM Fludioksonil'de ise % 22,9 olduğu görülmektedir (Çizelge 3.14 ve Şekil 3.26). Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre uygulanan konsantrasyonların canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,0018, 0,018 ve 0,036 mM Fludioksonil konsantrasyonlarında canlılık oranları arasındaki fark önemsiz bulunurken ($P>0,05$) bu konsantrasyonlarla 0,180 mM Fludioksonil konsantrasyonundaki canlılık oranı arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.24).

Çizelge 3.24. MTT Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda Fludioksonil Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Canlılık Oranı*
Fludioksonil	0,0018 mM	95,19 A
	0,018 mM	94,38 A
	0,036 mM	89,56 A
	0,180 mM	22,9 B

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

3.2.4. Herbisitler

3.2.4.1. Fluazifop-p-bütöl

Tripan mavisi testi sonucuna göre, 0,0065 mM Fluazifop-p-bütöl'de canlı hücre sayısının 320 bin (% 83), ölü hücre sayısının 64 bin, 0,0653 mM Fluazifop-p-bütöl'de canlı hücre sayısının 192 bin (% 77), ölü hücre sayısının ise 56 bin, 0,653 mM Fluazifop-p-bütöl'de ise canlı hücre sayısının 144 bin (% 72), ölü hücre sayısının ise 56 bin olduğu görölmektedir (Çizelge 3.13 ve Şekil 3.25). Bu konsantrasyonların canlılık üzerine etkilerinin DMEM kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olmadığı bulunmuştur ($P>0,05$) (Çizelge 3.25).

Çizelge 3.25. Tripan Mavisi Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda Fluazifop-p-bütöl Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Hücre Sayısı (bin hücre) / ml			% Canlı*
		Toplam	Canlı	Ölü	
Fluazifop-p-bütöl	0,0065 mM	384	320	64	83 A
	0,0653 mM	248	192	56	77 A
	0,653 mM	200	144	56	72 A
DMEM		352	288	64	82 A

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

MTT testi sonucuna göre ise, 0,0065 mM Fluazifop-p-bütöl'de canlılık oranlarının % 95,87, 0,0653 mM Fluazifop-p-bütöl'de % 94,89, 0,0124 mM Fluazifop-p-bütöl'de % 90,22, 0,653 mM Fluazifop-p-bütöl'de ise % 55,26 olduğu görölmektedir (Çizelge 3.14 ve Şekil 3.26). Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre uygulanan konsantrasyonların canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,0065, 0,0653 ve 0,0124 mM Fluazifop-p-bütöl konsantrasyonlarında canlılık oranları arasındaki fark önemsiz bulunurken ($P>0,05$) bu konsantrasyonlarla 0,653 mM Fluazifop-p-bütöl konsantrasyonundaki canlılık oranı arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.26).

Çizelge 3.26. MTT Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda Fluazifop-p-bütül Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Canlılık Oranı*
Fluazifop-p-bütül	0,0065 mM	95,87 A
	0,0653 mM	94,89 A
	0,0124 mM	90,22 A
	0,653 mM	55,26 B

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

3.2.4.2. Fenoksaprop-p-etil

Tripan mavisi testi sonucuna göre, 0,0018 mM Fenoksaprop-p-etil'de canlı hücre sayısının 240 bin (% 75), ölü hücre sayısının 80 bin, 0,018 mM Fenoksaprop-p-etil'de canlı hücre sayısının 144 bin (% 72), ölü hücre sayısının ise 56 bin, 0,180 mM Fenoksaprop-p-etil'de ise canlı hücre sayısının 144 bin (% 62), ölü hücre sayısının ise 88 bin olduğu görülmektedir (Çizelge 3.13 ve Şekil 3.25). Bu konsantrasyonların canlılık üzerine etkilerinin DMEM kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olmadığı bulunmuştur ($P>0,05$) (Çizelge 3.27).

Çizelge 3.27. Tripan Mavisi Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda Fenoksaprop-p-etil Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Hücre Sayısı (bin hücre) / ml			% Canlı*
		Toplam	Canlı	Ölü	
Fenoksaprop-p-etil	0,0018 mM	320	240	80	75 A
	0,018 mM	200	144	56	72 A
	0,180 mM	232	144	88	62 A
DMEM		352	288	64	82 A

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

MTT testi sonucuna göre ise, 0,0018 mM Fenoksaprop-p-etil'de canlılık oranlarının % 96,86, 0,018 mM Fenoksaprop-p-etil'de % 91,23, 0,036 mM

Fenoksaprop-p-etil'de % 94,32, 0,180 mM Fenoksaprop-p-etil'de ise % 50,50 olduğu görülmektedir (Çizelge 3.14 ve Şekil 3.26). Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre uygulanan konsantrasyonların canlılık üzerine etkileri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Hangi konsantrasyonların istatistiksel olarak farklı olduğunu görebilmek için yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ise 0,0018, 0,018 ve 0,036 mM Fenoksaprop-p-etil konsantrasyonlarında canlılık oranları arasındaki fark önemsiz bulunurken ($P>0,05$) bu konsantrasyonlarla 0,180 mM Fenoksaprop-p-etil konsantrasyonundaki canlılık oranı arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.28).

Çizelge 3.28. MTT Testine Göre Farklı Konsantrasyonlarda Fenoksaprop-p-etil Çözeltilerinin HEK293 Hücrelerinin Canlılığına Etkileri

Uygulama Grubu	Konsantrasyon	Canlılık Oranı*
Fenoksaprop-p-etil	0,0018 mM	96,86 A
	0,018 mM	91,23 A
	0,036 mM	94,32 A
	0,180 mM	50,5 B

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel önemde bir fark yoktur (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $P>0,05$).

4. TARTIŞMA

Bitkilerde doğal olarak sentezlenen bir bitki büyüme düzenleyicisi olan IAA'nın sentetik formu ve Antalya yöresi tarımında en çok kullanılan sentetik bitki büyüme düzenleyicilerinden biri olan BNOA ile yaygın olarak kullanılan fungusitlerden Siprodinil ile Fludioksonil ve herbisitlerden Fluazifop-p-bütül ile Fenoksaprop-p-etil'in çalışmamızın konusu olan mutajenik, rekombinojenik ve kanser ilerletici etkileri incelendiğinde (Çizelge 3.1-3.12), bu kimyasallardan bazılarının ve metabolitlerinin bazı konsantrasyonlarda mutajenik veya rekombinojenik etki gösterdiği, kanser ilerleyişine ise hiçbirinin etkisi olmadığı görülmektedir.

Mutajenite ve rekombinojenite çalışmalarının sonuçları incelendiğinde; kontrol grubu olarak kullanılan distile suda klon indüksiyon frekansı *D. melanogaster*'in normal metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyleri için 0,87, *serrat* kanatlı bireyleri için ise 0,68 bulunmuştur. Bu değerlerin, distile suyun kontrol olarak kullanıldığı daha önceki çalışmalarda elde edilen bulgulara yakın olduğu görülmektedir (Tripaty vd 1990, Zordan vd 1991, Gonzalez-Cesar ve Ramos-Morales 1997, Kaya 2000). Diğer taraftan, distile suda klon indüksiyon frekansı *D. melanogaster*'in yüksek metabolik etkinliğe sahip normal kanatlı bireyleri için 2,97, *serrat* kanatlı bireyleri için ise 1,89 bulunmuştur. Bu değerlerin de, distile suyun kontrol olarak kullanıldığı daha önceki çalışmalarda elde edilen bulgulara yakın olduğu görülmektedir (Osaba vd 1999, 2002).

Çalışmamızda, kimyasalların hazırlanmasında kullanılan ve negatif kontrol olan % 10'luk etil alkol + % 3'lük Triton X-100 karışımının söz konusu genotoksik etkiler bakımından istatistiksel olarak distile sudan farklı olmadığı saptanmıştır. Bu da bize, % 10'luk etil alkol + % 3'lük Triton X-100 karışımının mutajenik ve rekombinojenik etkiye sahip olmadığı fikrini vermektedir. Bu bağlamda, çalışmada kullanılan kimyasalların uygulanması sonucunda ortaya çıkan mutajenik ve rekombinojenik etkinin % 10'luk etil alkol + % 3'lük Triton X-100 karışımından kaynaklanmadığı düşünülebilir.

Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin *D. melanogaster*'de mutajenite ve rekombinojenite ve hücre kültüründe hücre yaşayabilirliği ve çoğalabilirliği (kanseri ilerletici) üzerine etkilerinin belirlenmesinde kullanılan konsantrasyonları Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çalışmamızda, Çizelge 2.3'te verilen konsantrasyonlarda uygulanan IAA'nın ve metabolitlerinin *D. melanogaster*'de mutajenik ve rekombinojenik olmadığı, hücre çoğalabilirliğini (kanseri ilerletici) etkilemediği ancak tripan mavisi ve MTT testlerine göre IAA'nın uygulanan en yüksek konsantrasyonu olan 0,5 mg/ml'de (2,853 mM) sitolitik (hücre öldürücü) olduğu başka bir deyişle hücre yaşayabilirliğini azalttığı gözlenmiştir.

Bitki büyüme düzenleyicilerinin antimutajenitesiyle ilgili bir çalışmada Yeşilada (2000), bitki büyüme düzenleyicilerinden bir oksin olan IAA, gibberellinlerden GA₃ ve sitokininlerden kinetinin EMS ile indüklenmiş mutant kanat benekleri (mutant klonlar) üzerine etkilerini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda, GA₃'ün EMS ile indüklenen bütün kanat beneklerinin sayısını azaltırken 1 mM kinetinin sadece ikili beneklerin sayısını azalttığı, 10 mM kinetinin ise bütün beneklerin sayısında artışa neden olduğu, 10 mM IAA'nın ise büyük tekli beneklerin sayısını azalttığı gözlenmiştir. Araştırmacı, bitki büyüme düzenleyicilerinin özellikle de GA₃'ün biyoantimutajen olabileceğini savunmaktadır. Ayrıca EMS ve gama ışınları uygulamasının sonucu olarak bazı kromozomal anormalliklerin ortaya çıktığı, bu mutajenlerin etkisinin GA₃ ve IAA uygulaması ile düzeldiği veya en azından azaldığı da bildirilmektedir (Yeşilada 2000). Bu çalışma, IAA'nın mutajenik ve rekombinojenik bir etkisinin olmadığına ilişkin sonucumuzu desteklemektedir. Bununla birlikte, söz konusu bitki büyüme düzenleyicilerinin, EMS mutajenine benzer bir mekanizma ile farklı üreme hücresi evrelerinde çeşitli genetik hasarlara neden olabileceğinin akılda tutulması gerektiği de ifade edilmektedir (Yeşilada vd 1996). Konu ile ilgili yapılan başka bir çalışmada da (Kappas 1983), *Aspergillus nidulans*'ta petri kabı testi ile bitki büyüme düzenleyicilerinden IAA, IBA ve kinetinin değişik konsantrasyonlardaki genetik etkinliği incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, IAA ve IBA somatik ayrımı büyük ölçüde arttırırken kinetin etkisiz kalmıştır. Metabolik etkinlik tekniğine göre besiyerine

S9 karışımı eklendiğinde, IAA ve IBA'nın somatik ayırım üzerindeki etkisinde 3-5 kat artış gözlenirken kinetin yine etkisiz kalmıştır. Bu bulgular, IAA'nın mutajenik veya rekombinojenik etkilerinin de olabileceği fikrini vermektedir. Ayrıca oksinlerin karsinojenik etkileri ile ilgili olarak da; bir indol türevi olan I3C'nin kanser başlatıcısı olabileceğine (Pence vd 1996), karaciğer ve tiroid bezi neoplastik gelişimini güçlendirebileceğine (Kim vd 1997), diyetle alınan I3C'nin hem rahim boynu kanserini hem de gırtlak papillomatozunu (kabarcıklar şeklinde gelişen bir çeşit doku büyümesi) teşvik ettiğine (Chen vd 2001) ilişkin görüşler bulunmaktadır. Bundan başka, yemek borusu kanserli hastaların normal ve yassı hücre karsinomlu dokularındaki IAA içeriği, normal komşu hücrelere göre yüksek bulunmuştur. IAA miktarı normal hücrelerde 90-390 ng/g taze ağırlık iken kanserli hücrelerde 1400-4700 ng/g taze ağırlıktır. Bu verilere göre, yassı hücre karsinomunun erken farklılaşma evresinde IAA üretildiği ve IAA artışının yemek borusu kanser hücrelerinin çoğalmasının uyarılmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (Shimojo vd 1997).

IAA'nın mutajenite ve karsinojenitesine ilişkin bu verilerin yanı sıra, son yıllarda IAA ve bazı türevlerinin (I3C, DIM gibi) kanser tedavisinde kullanılabileceğine ilişkin oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Horseradiş peroksidaz (HRP) enzimi ile okside edilerek sitotoksik türlerine dönüşen bu maddelerin kanser tedavisinde kullanılabileceği bildirilmektedir (Folkes ve Wardman 2001, Pettigrew 2001, Rossiter 2002, Wardman 2002).

Şeker (2002), Antalya Tarım İl Müdürlüğü Zirai Mücadele Bölümü verilerine göre, 1990-1997 yılları arasında en çok satılan bitki büyüme düzenleyicilerinin absisik asit (ABA), 4-CPA, gibberellik asit ve maleik hidrazid olduğunu bildirmektedir. Ancak 2003-2004 yılları arasında tez çalışmamız öncesinde yapılan araştırmalarda, 1995 yılı T.C. Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü verilerine ve Antalya yöresinde sebze-meyve üreticileriyle yapılan sözlü görüşmelere göre BNOA'nın da zirai mücadelede bitki büyüme düzenleyicisi olarak kullanıldığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda, Çizelge 2.3'te verilen konsantrasyonlarda uygulanan BNOA'nın

ve metabolitlerinin *D. melanogaster*'de mutajenik ve rekombinojenik etki göstermediği, hücre kültüründe hücre çoğalabilirliğini (kanseri ilerletici) etkilemediği ancak MTT testine göre, uygulanan en yüksek konsantrasyonu olan 0,5 mg/ml'de (2,472 mM) sitolitik (hücre öldürücü) olduğu başka bir deyişle hücre yaşayabilirliğini azalttığı gözlenmiştir. Literatürde, klorofenoksi asetik asitler grubu (2,4-D, 4-CPA gibi) bitki büyüme düzenleyicileri hakkında oldukça fazla çalışmaya rastlanırken BNOA gibi naftoksi asetik asitlerle ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Kloro fenoksi asetik asit grubu maddelerin başlıca akut toksik etkilerinin kas sistemi ve merkezi sinir sistemi üzerinde olduğu, yüksek konsantrasyonda hayvanların kaslarında zayıflık ve vücut hareketlerinde düzensizlik yaptığı, özellikle iskelet kasları, kalp kasları ve karaciğer üzerinde harabiyete, böbrek yetmezliğine ve akciğerde su toplanmasına neden olduğu rapor edilmektedir (Şeker 2002). Bu maddeler ile akut zehirlenmelerde ölüm oranının yüksek olduğu, insanlarda da akut zehirlenme belirtilerinin hayvanlardakine benzediği ve bu maddelere maruz kalanlarda nörolojik bozuklukların ve klorakne denilen şiddetli bir deri hastalığının ortaya çıkabildiği de ifade edilmektedir (Şeker 2002). Ayrıca, 2,4-D'nin fare, sıçan, tavşan gibi deney hayvanlarında ve insanlarda nörotoksik etkisinin olduğu ve beyinde biriktiği de bildirilmektedir (Heikki ve Pauli 1979). Kloro fenoksi asetik asitlerin karsinojenitesine ilişkin epidemiyolojik ve toksikolojik bir çalışmada ise 4-kloro-2-metil fenoksi asetik asit (MCPA) ve 2,4-D'nin belirli testlere göre hayvanlarda tümör oluşturmadığı ancak insanlar için daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği bildirilmektedir (Şeker 2002). Bazı çalışmalarda bu kimyasalların kullanım sıklığına bağlı olarak yaygın olmayan kanserlerin riskinin arttığı gözlenmiştir. Araştırmacılar, daha fazla çalışmanın yapılması gerektiğini belirtmektedirler (Bond ve Rossbacher 1993). Yine Gökmen ve Acar (2000)'da, normal ve anormal olan yaklaşık 100 domatesten 4-CPA, 2,4-D ve BNOA kalıntısı araştırdıkları bir çalışmada, sera domateslerinin sadece 4-CPA kalıntısı taşıdıkları, 2,4-D veya BNOA kalıntısı taşımadıklarını belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada da, BNOA'nın mutajenik etkinliği *Salmonella/memeli* mikrozom testiyle belirlenmeye çalışılmış ve Aroklor pestisidi ile uyarılmış farelerdeki karaciğer mikrozomal ve sitozolik enzimlerinin varlığı incelenmiştir (Rashid ve Mumma 1986). Çalışma sonucunda, BNOA'nın fare karaciğer mikrozomal ve sitozolik enzim aktivitelerinde bir artışa neden olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca BNOA'nın bu test koşullarında herhangi bir mutajenik etki göstermediği de

rapor edilmektedir (Rashid ve Mumma 1986). BNOA ile ilgili bulgularımızın, fenoksi asetik asit ve naftoksi asetik asit grubu bitki büyüme düzenleyicilerinin mutajenite, rekombinojenite ve karsinojenitesi ile ilgili elde edilen bulgulara benzer olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda, Siprodinil'in, 10 mM'da kendisinin rekombinojenik, 1 mM'da ise metabolitlerinin mutajenik etki gösterdiği, uygulanan tüm konsantrasyonlarda hücre çoğalabilirliğine etki göstermediği ancak hücre yaşayabilirliği ile ilgili olarak tripan mavisi ve MTT testlerine göre 150 µM'da hücre öldürücü etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. Anilino pirimidin grubu bir fungusit olan Siprodinil'in mutajenite, rekombinojenite ve karsinojenitesine ilişkin çok fazla literatür bilgisi bulunmamaktadır. Çevre Koruma Ajansı'nın internet sayfasındaki (EPA, 1998) bilgilere göre; Siprodinil'in mutajenitesi ile ilgili olarak, prokaryotlarda (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*) ve ökaryotlarda (Çin kobaylarının akciğer V79 hücreleri) nokta mutasyon testi, Çin kobaylarının ovaryum hücrelerinde (*in vitro*) ve fare kemik iliğinde (*in vivo*) kromozom hatası testi, sıçan karaciğer hücrelerinde DNA tamir testi yapılmıştır. Bu mutajenite testlerinde tüm sonuçlar negatif bulunmuştur. Bu bulgu, çalışmamızda Siprodinil'in mutajenitesi ile ilgili olarak elde ettiğimiz bulguyu desteklemektedir. Ayrıca kemirgenlerde yapılan bazı testlerde, Siprodinil'in belirli konsantrasyonlarda vücut ağırlığının azalması, ekzokrin pankreasta odakal ve çok odaklı hiperplazi meydana gelmesi gibi yan etkilerinin olabileceğine dair bilgiler de bulunmaktadır.

Çalışmamızda, Fludioksonil'in, 2 mM hariç uygulanan tüm konsantrasyonlarda hem kendisi hem de metabolitleri mutajenik ve rekombinojenik etki göstermezken, en yüksek konsantrasyonu olan 2 mM'da kendisinin rekombinojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca Fludioksonil'in, hücre çoğalabilirliğine etki göstermezken MTT testine göre hücre yaşayabilirliğini 180 µM'da azalttığı saptanmıştır. Fenil pirol grubu bir fungusit olan Fludioksonil'in mutajenite, rekombinojenite ve karsinojenitesine ilişkin çok az literatür bilgisi bulunmaktadır. Örneğin, Çevre Koruma Ajansı'nın internet sayfasındaki (EPA, 2000) bilgilere göre; Fludioksonil, dişi sıçanların karaciğer hücrelerinde tümör oluşumu yönünde istatistik olarak önemli bir artışa ve kobay

yumurtalık hücrelerinde çözünürlük ve sitotoksosite sınırına kadar genetik mutasyona neden olmakta, dişi farelerde kötü huylu lenf kanseri (malignant melanoma) gözlenme sıklığını artırmakta, küçük çekirdek testine göre *in vivo* karaciğer hücresi üzerinde mutajenik etki göstermektedir.

Antalya yöresi tarımında meyvelerde küf oluşumuyla mücadelede daha çok Siprodinil+Fludioksonil fungusitleri karışımının ticari formülasyonları kullanılmaktadır.

Çalışmamızda, Fluazifop-p-bütül'in, 5 mM hariç uygulanan tüm konsantrasyonlarda hem kendisi hem de metabolitleri mutajenik ve rekombinojenik etki göstermezken, en yüksek konsantrasyonu olan 5 mM'da metabolitlerinin rekombinojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca Fluazifop-p-bütül'in, hücre çoğalabilirliğine etki göstermediği ancak MTT testine göre hücre yaşayabilirliğini 653 μ M'da azalttığı saptanmıştır. Momcilovic ve arkadaşları (1999), bir ariloksi fenoksi propiyonik asit olan bu kimyasalın uygulamada normalden fazla kullanıldığında insan için toksik olabileceğini belirtmektedirler. Yine başka bir çalışmada, sülün kuşunun yumurtalarına Fluazifop-p-bütül uygulamasından sonra kuşların vücut ağırlığı, iskelet bozuklukları, dış görünüşsel özellikleri ve ölüm oranı incelendiğinde, toksik/teratojenik etkileri olduğu ortaya çıkarılmıştır (Varga vd 1999). Yine internetten (EXTOXNET, 1993) elde edilen bilgilere göre; Fluazifop-p-bütül'in düşük konsantrasyonlarda şiddetli mide ve bağırsak bozuklukları, yüksek konsantrasyonlarda ise uykusuzluk, baş dönmesi, koordinasyon kaybı gibi merkezi sinir sistemi bozukluklarına neden olabileceği, solunması durumunda, akciğerlerde şiddetli tıkanıklık hatta koma ve ölüm görülebileceği rapor edilmektedir. Günümüze kadar Fluazifop-p-bütül'in 10 mg/kg ve altındaki dozlarda sıçanlarda herhangi bir teratojenik, mutajenik, karsinojenik, organ toksisitesi ve üreme ile ilgili bir etkisine rastlanmadığı da bildirilmektedir. Mutajenite ve karsinojenite ile ilgili bu bilgiler, bu konudaki bulgumuzu desteklemektedir.

Çalışmamızda, Fenoksaprop-p-etil'in, 0,05, 0,5 ve 1 mM hariç uygulanan tüm konsantrasyonlarda hem kendisi hem de metabolitleri mutajenik ve rekombinojenik etki göstermezken, metabolitlerinin 0,05 mM'da mutajen, 0,5 ve 1 mM'da rekombinojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca Fenoksaprop-p-etil'in, hücre çoğalabilirliğine etki

göstermezken MTT testine göre hücre yaşayabilirliğini 180 μM 'da azalttığı saptanmıştır. Fenoksaprop-p-etil Pesticide Action Network'un web sayfasında (PAN, 2006) "Bad Actor Pesticide" kategorisinde sınıflandırılmamıştır. Bu terim olası karsinojen, üretim veya gelişim üzerine toksik, nörotoksik kolinesteraz inhibitörü, yer altı suyu kirleticisi ve akut toksisitesi olan bileşikler için kullanılmaktadır. Aynı web sayfasında Fenoksaprop-p-etil'in zayıf akut toksisitesi olduğu da bildirilmektedir.

5. SONUÇ

Drosophila kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testine göre çalışmamızda kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri IAA ve BNOA'nın uygulanan hiçbir konsantrasyonunda kendileri ve metabolitlerinin mutajen ve rekombinojen olmadığı gözlenmiştir. Fungisitlerden Siprodinil'in uygulanan en yüksek konsantrasyonu olan 10 mM'da, Fludioksonil'in ise uygulanan en yüksek konsantrasyonu olan 2 mM'da kendilerinin rekombinojen etki gösterdikleri, Siprodinil'in 1 mM'lık konsantrasyonda metabolitlerinin mutajen etki gösterdiği, diğer konsantrasyonlarda her iki fungusitin de mutajen ya da rekombinojen etki göstermedikleri gözlenmiştir. Herbisitlerden Fluazifop-p-bütül'in uygulanan en yüksek konsantrasyonu olan 5 mM'da metabolitlerinin rekombinojen etki gösterdiği, Fenoksaprop-p-etil'in ise sadece metabolitlerinin 0,5 ve 1 mM'da rekombinojen, 0,05 mM'da ise mutajen etki gösterdikleri gözlenmiştir. Kontrol grupları olan distile su ve %10'luk Etil Alkol+%3'lük Triton X-100 karışımı uygulamalarının ise herhangi bir mutajen veya rekombinojen etkisi bulunamamıştır.

Çalışmamızda kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri IAA ve BNOA ile pestisitler Siprodinil, Fludioksonil, Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil'in HEK293 hücrelerinin çoğalabilirliğini etkilemediği ancak IAA ve Siprodinil'in hem tripan mavisi hem de MTT testlerine testine göre uygulanan en yüksek konsantrasyonlarında, BNOA, Fludioksonil, Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil'in ise yalnızca MTT testine göre uygulandıkları en yüksek konsantrasyonlarda hücre yaşayabilirliğini azalttıkları gözlenmiştir.

Ayrıca, çalışmamızda kullanılan HEK293 hücrelerinin c-kit boyasıyla boyandığı başka bir deyişle c-kit belirteci taşıdıkları belirlenmiştir. Hücrelerin c-kit belirteciye sahip olmaları, onların kök hücre kökenli olduklarını göstermektedir.

Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin yukarıda belirtilen etkileri dikkate alındığında, bu kimyasal maddelerin özellikle örtü altı sebze

ve meyve yetiştiriciliğinde kullanımlarında üreticilerin ve bu kimyasallar uygulanarak yetiştirilen sebze ve meyvelerin tüketilmesinde insanların daha bilinçli davranması gerektiğine inanılmaktadır.

Çalışmamızda kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin özellikle mutajenik, rekombinojenik ve kanser ilerletici etkileri konusunda az sayıda çalışma bulunmaktadır. Söz konusu maddelerin etkilerinin daha başka *in vivo* ve *in vitro* testlerle de çalışılması gerektiğine de inanılmaktadır.

Antalya yöresi tarımında yaygın olarak kullanılan Siprodinil ve Fludioksonil konsantrasyonları yaklaşık 0,75 mg/ml (Siprodinil için molar eşdeğeri=3,32 mM, Fludioksonil için molar Eşdeğeri=3,02 mM), Fluazifop-p-bütül ve Fenoksaprop-p-etil konsantrasyonları yaklaşık 150 mg/ml (Fluazifop-p-bütül için molar eşdeğeri=391 mM, Fenoksaprop-p-etil için molar eşdeğeri=415 mM)'dir. Çalışmamızda kullanılan bu pestisitlerin çok daha düşük konsantrasyonlarda uygulandığı ve bazı konsantrasyonlarda hem kendilerinin hem de metabolitlerinin mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin olduğu düşünülürse, insan ve diğer canlıların maruz kaldığı yukarıda belirtilen ve tarımda kullanılan konsantrasyonlarda daha belirgin olumsuz etkilerinin görülebileceği düşünülmektedir. Yine, söz konusu bileşiklerin doğrudan mutasyona yol açabilecekleri gibi istenmeyen bir bölgede meydana getirebilecekleri bazı rekombinasyonların tümör baskılayıcı genleri etkisizleştirerek ya da proto-onkogenleri etkinleştirerek kanserleşmeye neden olabilecekleri de bilinmektedir (Cavenee vd 1986, Sengstag 1994).

Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında, ülkemizde ve dünyada tarımda kullanılan tüm bitki büyüme düzenleyicileri ve pestisitlerin mutajenik, rekombinojenik ve kanser ilerletici etkilerinin araştırılması gerektiğine inanılmakta ve önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- ABE, K., SAITO, H. 1998. Amyloid β protein inhibits cellular MTT reduction not by suppression of mitochondrial succinate dehydrogenase but by acceleration of MTT formazan exocytosis in cultured rat cortical astrocytes. *Neuroscience Research*, 31: 295-305.
- AMARAL, V. S., SILVA R. M., REGULY, M. L., ANDRADE, H. H. R. 2005. *Drosophila* wing spot test for genotoxic pssessment of Pollutants in water samples from urban and industrial origin. *Mutat. Res.*, 583: 67-74.
- AMARAL, V. S., SINIGAGLIA, M., REGULY, M. L., ANDRADE, H. H. R. 2006. Genetic toxicity in surface water from Guaiba Hydrographic Region under the influence of industrial, urban and agricultural sewage in the *Drosophila* wing-spot test. *Environmental Pollution*, 139: 469-476.
- ANONİM 2002. Türkiye'de Zirai Mücadelenin Dünü Bugünü ve Geleceği, T. C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.
- AYDINOĞLU, H., DURSUN, H. Y., BAYRAKTAR, L. 2002. Bitki Koruma Ürünleri. T. C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü ve TİSİT (Tarım İlaçları Sanayici İthalatçı ve Temsilcileri Derneği), İstanbul.
- BABIJ, J., ZHU, Q., BRAIN, P., HOLLOMON, D. W. 2000. Resistance risk assessment of cereal eyespot, *Tapesia yallundae* and *Tapesia acuformis*, to the anilinopyrimidine fungicide, cyprodinil. *European Journal of Plant Pathology*, 106 (9): 895-905.
- BOLYGO, E., BOSELEY, A. 2000. A liquid chromatographic-tandem mass spectrometry method for fluazifop residue analysis in crops. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 368 (8): 816-819.
- BOND, G. G., ROSSBACHER, R. A. 1993. A review of potential human carcinogenicity of the chlorophenoxy herbicides MCPA, MCPP and 2,4-DP. *Br. J. Ind. Med.*, 50 (4): 340-348.
- BUCHER, N. L., 1990. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on experimental animals. Publication No. 622 of the Cancer Commision of Harvard University, 204-205.
- CAVENEY, W. K., KOUFOS, A., HANSEN, M. F., 1986. Recessive mutant genes predisposing to human cancer. *Mutat. Res.*, 168: 3-14.
- CHEN, D. Z., QI, M., AUBORN, K. J., CARTER, T. H. 2001. Indole-3-carbinol and diindolylmethane induce apoptosis of human cervical cancer cells and murine HPV16-transgenic preneoplastic cervical epithelium. *J. Nutr.*, 131 (12): 3294-3302.

- CHENG, J. D., DUNBRACK, R. L., VALIANOU, M., ROGATKO, A., ALPAUGH, R. K., WEINER, L. M. 2002. Promotion of tumor growth by murine fibroblast activation protein, a serine protease, in an animal model. *Cancer Research*, 62: 4767-4772.
- CHROUST, K., JOWETT, T., FARID-WAJIDI, M. F., HUANG, J. Y., RYSKOVA, M., WOLF, R., HOLOUBEK, I. 2001, Activation or detoxification of mutagenic and carcinogenic compounds in transgenic *Drosophila* expressing human glutathione s-transferase. *Mutat. Res.*, 498: 169-179.
- CRUCES, M. P., PIMENTEL, E., ZIMMERING, S., 2003. Evidence suggesting that chlorophyllin (CHLN) may act as an inhibitor or a promoter of genetic damage induced by chromium (VI) oxide (CrO₃) in somatic cells of *Drosophila*. *Mutat. Res.*, 536: 139-144.
- DASHWOOD, R. H. 1998. Indole-3-carbinol: anticarcinogen or tumor promoter in brassica vegetables?. *Chem. Biol. Interact*, 110 (1-2): 1-5.
- DELYE, C., MATEJICEK, A., GASQUEZ, J. 2002. PCR-based detection of resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds) and ryegrass (*Lolium rigidum* gaud). *Pest. Manag. Sci.*, 58 (5): 474-478.
- EDWARDS, A. M., BARREDO, F., SILVA, E., DE IOANNES, A. E., BECKER, M. I. 1999. Apoptosis induction in nonirradiated human HL-60 and murine NSO/2 tumor cells by photoproducts of indole-3-acetic acid and riboflavin. *Photochem. Photobiol.*, 70 (4): 645-649.
- EL MOFTY, M. M., SAKR, S. A. 1988. Induction of neoplasm in the Egyptian toad by gibberellin A₃. *Oncology*, 45: 61-64.
- ERTEKİN, Ü. 1997. Örtüaltı Domates Yetiştiriciliği, Antalya.
- FALAKALI, B. 1990. *Drosophila* Genetiği, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 44 ss
- FIRAT, D., KÜÇÜKSU, M. N. 1986. Kanser Konusunda Genel Bilgiler. (Genişletilmiş 3. Baskı), *Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları*, Ankara.
- FOLKES, L. K., GRECO, O., DACHS, G. U., STRATFORD, M. R. L., WARDMAN, P. 2002. 5-Fluoroindole-3-acetic acid: a prodrug activated by a peroxidase with potential for use in targeted cancer therapy, *Biochemical Pharmacology*, 63 (2): 265-272.
- FOLKES, L. K., WARDMAN, P. 2001. Oxidative activation of indole-3-acetic acids to cytotoxic species-a potential new role for plant auxins in cancer therapy. *Biochemical Pharmacology*, 61 (2): 129-136.

- FORSTER, B., STAUB, T. 1996. Basis for use strategies of anilinopyrimidine and phenylpyrrole fungicides against *Botrytis cinerea*. *Crop Protection*, 15 (6): 529-537.
- FRANKART, C., EULLAFFROY, P., VERNET, G.. 2002. Photosynthetic responses of *Lemna minor* exposed xenobiotics, copper and their combinations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 53 (3): 439-445.
- GAMET-PAYRASTRE, L., LUMEAU, S., GASE, N., CASSAR, G., Rollin, P., Tulliez, J. 1998. Selective cytostatic and cytotoxic effects of glucosinolates hydrolysis products on human colon cancer cells *in vitro*, *Anticancer Drugs*, 9 (2): 141-148.
- GE, X., YANNAI, S., RENNERT, G., GRUENER, N., FARES, F. A. 1996. 3,3'-diindolylmethane induces apoptosis in human cancer cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 228 (1): 153-158.
- GONZALEZ-CESAR, E., RAMOS-MORALES, P. 1997. Sodium azide induces mitotic recombination in *Drosophila melanogaster* larvae. *Mutat. Res.*, 389: 157-165.
- GOTO, Y., MATSUDA, T., ITO, K., HUH, N., THOMALE, J., RAJEWSKY, M., HAYATSU, H., NEGISHI, T. 1999. Mutagenicities of *N*-nitrosodimethylamine and *N*-nitrosodiethylamine in *Drosophila* and their relationship to the levels of *O*-alkyl adducts in DNA. *Mutat. Res.*, 425: 125-134.
- GÖKMEN, V. 1998. Investigation on the Multi-Residue Analysis of 2,4-D, 4-CPA and BNOA and Determination of the Relationship Between Residue Amount and Morphological Malformations in Tomatoes, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- GÖKMEN, V., ACAR, J. 2000. Investigations on the synthetic auxin residues of greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) grown in Turkey. *Journal of Food Quality*, 23 (5): 503-512.
- GÖZÜKARA, E. M., 1994. Biyokimya I , İkinci Baskı, Evin Matbası, Malatya, 571 ss.
- GRAF, U., ABRAHAM, S. K., GUZMAN-RINCON, J., WÜRGLER, F. E. 1998. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 402: 203-209.
- GRAF, U., SCHAİK, N. V. 1992. Improved highbioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 271: 59-67.
- GRAF, U., SCHAİK, N. V., WÜRGLER, F. E. 1992. *Drosophila* Genetics “ a practical course, New York, 239 pp.

- GRAF, U., FREI, H., KAGI, A., KATZ, A. J., WÜRGLER, F. E., 1989. Thirty compounds tested in *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res.*, 222: 359-373.
- GRAF, U., WÜRGLER, F. E., KATZ, A. J., FREI, H., JUAN, H., HALL, C. B., KALE, P. G. 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.*, 6: 153-188.
- GRAHAM, F. L., SMILEY, J., RUSSELL, W. C., NAIRN, R. 1977. Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5. *J. Gen. Virol.*, 36 (1): 59-74.
- GRECO, O., FOLKES, L. K., WARDMAN, P., TOZER, G. M., DACHS, G. U. 2000. Development of a novel enzyme/prodrug combination for gene therapy of cancer: horseradish peroxidase/indole-3-acetic acid. *Cancer Gene Therapy*, 7 (11): 1414-1420.
- GRECO, O., TOZER, G. M., DACHS, G. U. 2002. Oxidative and anoxic enhancement of radiation-mediated toxicity by horseradish peroxidase/indole-3-acetic acid gene therapy. *Int. J. Radiat. Biol.*, 78 (3): 173-181.
- GREENMAN, S. B., RUTTEN, M. J., FOWLER, W. M., SCHEFFLER, L., SHORTRIDGE, L. A., BROWN, B., SHEPPARD, B. C., DEVENEY, K. E., DEVENEY, C. W., TRINKEY, D. D. 1997. Herbicide/pesticide effects on intestinal epithelial growth. *Environmental Research*, 75: 85-93.
- HAMID, T., MALIK, M. T., KAKAR, S. S. 2005. Ectopic expression of PTTG1/securin promotes tumorigenesis in human embryonic kidney cells. *Molecular Cancer*, 4:3, doi:10.1186/1476-4598-4-3.
- HEIKKI, A. E., PAULI, Y. 1979. Distribution of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in male rats: Evidence for the involvement of the central nervous system in the toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 51: 439-446.
- HERBERT, D., COLE, D. J., PALLETT, K. E., HARWOOD, J. L. 1996. Susceptibilities of different test systems from maize (*Zea mays*), *Poa annua*, and *Festuca rubra* to herbicides that inhibit the enzyme acetyl-Coenzyme A carboxylase. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 55 (2): 129-139.
- HERBERT, D., PRICE, L. J., ALBAN, C., DEHAYE, L., JOB, D., COLE, D. J., PALLETT, K. E., HARWOOD, J. L. 1996. Kinetic studies on two isoforms of acetyl-CoA carboxylase from maize leaves. *Biochem. J.*, 318 (Pt3): 997-1006.
- HILBER, U. W., SCHUEPP, H. 1996. A reliable method for testing the sensitivity of *Botryotinia fuckeliana* to anilinopyrimidines *in vitro*. *Pesticide Science*, 47 (3): 241-247.

- HONG, C., FIRESTONE, G. L., BJELDANES, L. F. 2002. Bcl-2 family-mediated apoptotic effects of 3,3'-diindolylmethane (DIM) in human breast cancer cells. *Biochem. Pharmacol.*, 63 (6): 1085-1097.
- IDAOMAR, M., EL HAMSS, R., BAKKALÌ, F., MEZZOUG, N., ZHİRÌ, A., BAUDOUX, D., MUNOZ-SERRANO, A., LIEMANS, V., ALONSO-MORAGA, A. 2002. Genotoxicity and antigenotoxicity of some essential oils evaluated by wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 513: 61-68.
- JİUNN-FWU, L., PAO-MEİ, L., CHUN CHİH, K., HSIU-TİNG, Y., CARY, T. C., 2000. Influence of a nonionic surfactant (Triton X-100) on contaminant distribution between water and several soil solids. *Journal of Colloid and Interface Science*, 229: 445-452.
- KANEKO, I., YAMADA, N., SAKURABA, Y., KAMENOSONO, M., TUTUMI, S., 1995. Suppression of mitochondrial succinate dehydrogenase, a primary target of β -amyloid, and its derivative racemized at ser residue. *Journal of Neurochemistry*, 65: 2585-2593.
- KAPPAS, A. 1983. Genotoxic activity of plant growth-regulating hormones in *Aspergillus nidulans*. *Carcinogenesis*, 4 (11): 1409-1411.
- KASTENBAUM, M. A., BOWMAN, K. O. 1970. Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies, *Mutat. Res.*, 9: 527-549.
- KAYA, B. 2000. Bazı pestisitlerin *Drosophila melanogaster* Hatlarında Mutajenik ve Rekombinojenik Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 134 ss.
- KAYA, B., YANIKOĞLU, A., MARCOS, R. 1999. Genotoxicity studies on the phenoxyacetates 2,4-D and 4-CPA in the *Drosophila* wing spot test. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, 19 (4): 305-312.
- KIM, D. J., HAN, B. S., AHN, B., HASEGAWA, R., SHIRAI, T., ITO, N., TSUDA, H. 1997. Enhancement by indole-3-carbinol of liver and thyroid gland neoplastic development in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis*, 18 (2): 377-381.
- KIMURA, E. T., YOUNG, P. R. 1959. Gibberellic acid, toxicological and pharmacological studies. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 41: 127-129.
- KNAUFBEITER, G., DAHMEN, H., HEYE, U., STAUB, T. 1995. Activity of cyprodinil-optimal treatment timing and site of action. *Plant Disease*, 79 (11): 1098-1103.

- KOÇAOĞLU, S., 2004. Bazı Antidepresant İlaçların *Drosophila melanogaster*'de Mutajenik ve Rekombinojenik Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- LEHMANN, M., FRANCO, A., VILAR, K. S. P., REGULY, M. L., ANDRADE, H. H. R. 2003. Doxorubicin and two of its analogues are preferential inducers of homologous recombination compared with mutational events in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 539: 167-175.
- LEONG, H., FIRESTONE, G. L., BJELDANES, L. F. 2001. Cytostatic effects of 3,3'-diindolylmethane in human endometrial cancer cells result from an estrogen receptor-mediated increase in transforming growth factor- α expression. *Carcinogenesis*, 22 (11): 1809-1817.
- LJINSKY, W. 1989. A View of the Relation Between Carcinogenesis and Mutagenesis. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 14 (16): 78-84.
- MOMCILOVIC, B., IVICIC, N., BOSNJAK, I., STANIC, G., OSTOJIC, Z., HRLEC, G. 1999. More is not better-Evaluation of the toxicologic risks of the heavy metals, lead and cadmium, and the herbicides, linuron, fluazifop-p-butyl and cycloxydim in dried chamomile flowers (*Chamomilla recutita* L. Rauschert). *Arh. Hig. Rada. Toksikol.*, 50 (2): 201-210.
- MUNERATO, M. C., SINIGAGLIA, M., REGULY, M. L., ANDRADE, H. H. R. 2005. Genotoxic effects of eugenol, isoeugenol and safrole in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 582: 87-94.
- OCHIAI, N., FUJIMURA, M., OSHIMA, M., MOTOYAMA, T., ICHIISHI, A., YAMADA-OKABE, H., YAMAGUCHI, I. 2002. Effects of iprodione and fludioxonil on glycerol synthesis and hyphal development in *Candida albicans*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66 (10): 2209-2215.
- OLVERA, O., ARCEO, C., ZIMMERING, S. 2000. Chlorophyllin (CHLN) and the mutagenicity of monofunctional alkylating agents in *Drosophila*: the action of CHLN need not include an influence on metabolic activation. *Mutat. Res.*, 467: 113-117.
- OSABA, L. AGUIRRE, A., ALONSO, A., GRAF, U. 1999. Genotoxicity testing of six insecticides in two crosses of the *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res.*, 439: 49-61.
- OSABA, L. REY, M. J., AGUIRRE, A., ALONSO, A., GRAF, U. 2002. Evaluation of genotoxicity of Captan, Maneb and Zineb in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*: Role of nitrosation. *Mutat. Res.*, 518: 95-106.
- ÖĞÜŞ, A. 1999. Transkripsiyon ve Translasyon, A. Demirsoy ve İ. Türkan'dan, Çeviri Editörleri), Genel Biyoloji I, Beşinci Baskı, Palme Yayıncılık, ISBN: 975-7477-59-1, 583 ss. Ankara.

- ÖZ, M., SPIVAK, E., LUPICA, C. R. 2004. The solubilizing detergents, Tween 80 and Triton X-100 non-competetively inhibit α_7 -nicotinic acetylcholine receptor function in *Xenopus* oocytes. *Journal of Neuroscience Methods*, 137: 167-173.
- ÖZKAN, A., 2003. Epirubicin-HCl ve LAK'ın Hepatoma G2 Hücrelerinde Antioksidan Mekanizması ve Radikal Süpürücü Enzimler Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 78 ss.
- ÖZTÜRK, İ. 2004. Bazı Fugisit Uygulamalarının *Lycopersicon esculentum* Mill. (Domates) Bitkisinde Oluşturabileceği Morfolojik, Anatomik, Fizyolojik, Değişikliklerin Belirlenmesi ve Verim Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 257 ss.
- PECK, H. M., MCKENNEY, S. E. 1957. Toxicologic evolution of gibberellic acid. *Science*, 126: 1064-1065.
- PENCE, B. C., BUDDINGH, F., YANG, S. P. 1996. Multiple dietary factors in the enhancement of dimethylhydrazine carcinogenesis: main effect of indole-3-carbinol. *J. Natl. Cancer Inst.*, 77 (1): 269-276.
- PETTIGREW, N. E., BRUSH, E. J., COLMAN, R. F. 2001. 3-methyleneoxindole: An affinity label of glutathione S-transferase pi which targets tyriptophan 38. *Biochemistry*, 40 (25): 7549-7558.
- RAHDEN-STARON, I. 2002. The inhibitory effect of the fungicides captan and captafol on eukaryotic topoisomerases *in vitro* and lack of recombinagenic activity in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 518: 205-213.
- RASHİD, K. A., MUMMA, R. O. 1986. Evaluation of beta-naphtoxyacetic acid for mutagenic activity in the Salmonella/ mammalian microsome assay. *J. Environ. Sci. Health B*, 21 (3): 243-250.
- ROSSITER, S. 2002. A convenient synthesis of 3-methyleneoxindoles: cytotoxic metabolites of indole-3-acetic acids. *Tetrahedron Letters*, 43 (26): 4671-4673.
- ROSSLENBROICH, H. J., STUEBLER, D. 2000. *Botrytis cinerea*-history of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop Protection*, 19 (8-10): 557-561.
- SASAGAWA, C., MATSUSHIMA, T. 1991. Mutagen formation on nitrite treatment of indole compounds derived from indole-glucosinolate. *Mutat. Res.*, 250 (1-2): 169-174.

- SCHOCKEN, M. J., MAO, J., SCHABACKER, D. J. 1997. Microbial transformations of the fungicide cyprodinil (CGA-219417). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (9): 3647-3651.
- SENGSTAG, C. 1994. The rol of mitotic recombination in carcinogenesis. *Crit. Rev. Toxicol.*, 24 (4): 323-53
- SHIMOJO, E., YAMAGUCHI, I., MUROFUSHI, N. 1997. Increase of indole-3-acetic acid in human esophageal cancer tissue. *Proceedings of the Japan Academy Series B-Physical and Biological Sciences*, 73 (8): 182-185.
- STRESSER, D. M., BJELDANES, L. F., BAILEY, G. S., WILLIAMS, D. E. 1995. The anticarcinogen 3,3'-diindolylmethane is an inhibitor of cytochrome P-450. *J. Biochem. Toxicol.*, 10 (4): 191-201.
- ŞEKER, D. 2002. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinden Absisik Asit (ABA), 4-Klorofenoksiasetik asit (4-CPA), Gibberellik asit (GA₃) ve Maleik Hidrazid (MH)'in Swiss-albino (*Mus musculus*) Farelerinin Karaciğer ve Kas Glikojeni Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 96 ss.
- TAİRA, K., MİYASHİTA, Y., OKAMOTO, K., ARİMOTO, S., TAKAHASHI, E., NEGİSHİ, T. 2005. Novel antimutagenic factors derived from the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. *Mutat. Res.*, 586 : 115-123.
- TANTAWY, A. A. 2002. Effect of two herbicides on some biological and biochemical parameters of *Biomphalaria alexandriana*. *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, 32 (3): 837-47.
- TANYEL, E., 2002. Lösemilerde Tedavi Öncesi ve Relaps Dönemlerin Kemoterapötik Duyarlılığı MDR-1 (P-Glukoprotein) ve MRP-1 (Multidrug Resistance Associated Protein) Düzeyleri, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya, 163 ss.
- TESSIER, D. M., MATSUMURA, F. 2001. Increased ErbB-2 Tyrosine Kinase Activity, MAPK Phosphorilation and Cell Proliferation in the Prostate Cancer Cell Line LNCaP Following Treatment by Select Pesticides. *Toxicological Sciences*, 60: 38-43.
- TOPCUOĞLU, Ş. F., ÖZMEN, M., BOZCUK, A. N., BOZCUK, S., 1994. Bitki büyüme maddelerinden absisik asit (ABA) ve gibberellik asit (GA₃)'in fare (*Mus musculus*)'de etkileri üzerine biyolojik çalışmalar. İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi, Proje No: İ. Ü. A. F. 89-11, Malatya.
- TOU, J., HONG, C., BJELDANES, L. F. 2001. The influence of 3,3'-diindolylmethane on breast tumor growth, invasion and metastasis. *Experimental Biology*, Apr; Orlando, Florida, Meeting Abstract.

- TRIPATHY, N. K., WÜRGLER, F. E., FREI, H. 1990. Genetic toxicity of six carcinogens and six non-carcinogens in the *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res.*, 242: 169-180.
- UENG, T. H., HUNG, C. C., WANG, H. W., CHAN, P. K. 2004. Effects of amitraz on cytochrome P450-dependent monooxygenases and estrogenic activity in MCF-7 human breast cancer cells and immature female rats. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 1785-1794.
- ÜSTÜN, H., TECİMER, T., ÖZMEN, M., TOPCUOĞLU, Ş. F., BOZCUK, A. N. 1992. Gibberellik asit ve benzpiren'in fareler üzerine etkileri: Histopatolojik değerlendirme. *Ank. Patol. Bült.*, 9 (1): 36-40.
- VARGA, T., HLUBIK, I., VARNAGY, L., BUDAI, P., MOLNAR, E. 1999. Embryonic toxicity of insecticide Sumithion 50 EC and herbicide Fusilade S in pheasants after individual or combined administration. *Acta Vet. Hung.*, 47 (1): 123-128.
- VERDISSON, S., COUDERCHET, M., VERNET, G. 2001. Effects of procymidone, fludioxonil and prymethanil on two non-target aquatic plants. *Chemosphere*, 44 (3): 467-474.
- WARDMAN, P. 2002. Indole-3-acetic acids and horseradish peroxidase: A new prodrug/enzyme combination for targeted cancer therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 8 (15): 1363-1374.
- WILKER, C., JOHNSON, L., SAFE, S. 1996. Effects of developmental exposure to indol-3-carbinol or 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on reproductive potential of male rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 14 (1): 68-75.
- YAVAŞ, A. 1995. Dışsal Olarak Uygulanan Absisik Asit (ABA) ve Gibberellik Asit (GA₃)'in Swiss-albino Farelerin (*Mus musculus L.*) Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında Analizi, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- YAVAŞ, A., ÖZMEN, M., TOPCUOĞLU, Ş. F. 1997. Analysis of gibberellic acid, abscisic acid, indole-3-acetic acid and zeatin from the selected tissues of albino mice. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 59: 251-260.
- YEŞİLADA, E. 2000. The effect of kinetin, gibberellic acid and indole acetic acid an EMS-induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*. *Turk. J. Biol.*, 24: 279-284.
- YEŞİLADA, E., BOZCUK, A. N., TOPCUOĞLU, F. 1996. Absisik asit ve kinetinin *D. melanogaster*'in eşey oranı ve ergin morfolojisi üzerine etkisi. *Tr. J. of Biology*, 20: 171-178.

- YILMAZ, M., 2003. Hücre İzolasyonu-IV, Tripsinizasyon, Hematolojide Uygulamalı Hücre Kültür Teknikleri Kurs Kitabı-II, Hücre Çalışmalarında SOP Örnekleri, Trabzon.
- ZHOU, T., NORTHOVER, J., SCHNEIDER, K. E., LU, X. W. 2002. Interactions between *Pseudomonas syringae* MA-4 and cyprodinil in the control of blue mold and gray mold of apples. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne de Phytopathologie*, 24 (2): 154-161.
- ZIDAN, Z. H., RAGAB, F. M., MOHAMED, K. H. 2002. Molluscicidal activities of certain pesticide and their mixtures against *Biomphalaria alexandriana*. *J. Egypt. Soc. Parasitol*, 32 (1): 285-296.
- ZORDAN, M., GRAF, U., DORIS, S., BELTRAME, C., VALLE, L. D., OSTI, M., COSTA, R., LEVIS, A. G. 1991. The genotoxicity of nitrilotriacetic acid (NTA) in a somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 262: 253-261.
- BHATTACHAYRA, S. 2003. *D. melanogaster* Biology. *The Scientist*, www.dsfs.usra.edu/biologycourse/workbook/Unit4.1.pdf
- Extension Toxicology Network (EXTOXNET). September, 1993. A Pesticide Information Project of Cooperative Extension Offices of Cornell University, Michigan State University, Oregon State University, and University of California at Davis. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/dienochlor-glyphosate/fluazifop-p-butyl-ext.html>
- Pesticide Action Network (PAN). 2006. S. Orme and S. Kegley, *PAN Pesticide Database*, North America (San Francisco, CA.) http://www.pesticideinfo.org/Detail_Product.jsp?REG_NR=00026400653&DIST_NR=000264
- U. S. Environmental Protection Agency (EPA). Issued Date: April 6, 1998. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7501C), Pesticide Fact Sheet, <http://www.epa.gov/opprd001/factsheets/cyprodinil.pdf>
- U. S. Environmental Protection Agency (EPA). 29 December, 2000. Federal Register Environmental Documents, Volume: 65, Number 251. <http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST/2000/December/Day-29/p33168.htm>

ÖZGEÇMİŞ

Asuman KARADENİZ 1973 yılında Eskişehir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Eskişehir’de tamamladı. 1993 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 1997 yılında biyolog ünvanıyla mezun oldu. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2000’de Yüksek Lisans öğrenimini tamamlayarak Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora öğrenimine başladı. Halen Doktora öğrenimini sürdürmekte olup Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.