

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İÇME SUYUNDA KULLANILAN BAZI DEZENFEKTANLARIN**  
**ARPA (*Hordeum vulgare* L.) VE TOPRAK SOLUCANI (*Eisenia***  
***fetida* Savigny) ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK**  
**ETKİLERİ**

**SİBEL SÜTLÜOĞLU**

**KOCAELİ 2021**

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İÇME SUYUNDA KULLANILAN BAZI DEZENFEKTANLARIN**  
**ARPA (*Hordeum vulgare L.*) VE TOPRAK SOLUCANI (*Eisenia***  
***fetida Savigny*) ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK**  
**ETKİLERİ**

**SİBEL SÜTLÜOĞLU**

**Doç. Dr. Özlem AKSOY**  
**Danışman, Kocaeli Üniv.**

.....

**Prof. Dr. Fazıl ÖZEN**  
**Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv.**

.....

**Doç. Dr. Nuran EKİCİ**  
**Jüri Üyesi, Trakya Üniv.**

.....

**Tezin Savunulduğu Tarih: 24.05.2021**

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

İçme suyunda dezenfeksiyon amacıyla kullanılan kimyasallar mikroorganizmalara etkili olduğu kadar diğer canlılar üzerinde de etkilidir. Yüksek konsantrasyonlar kullanılan dezenfektanlar insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilir. Bu araştırmada içme suyu dezenfeksiyonunda kullanılan sodyum hipoklorit, kalsiyum hipoklorit ve perasetik asitin model organizma olarak seçilen *Hordeum vulgare* ve *Eisenia fetida* üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi hedeflendi.

Lisansüstü öğrenimimin tüm aşamalarında, bilgi birikimi, tecrübesi ve hoşgörülüğüyle sürekli yanımda olan, desteğini ve ilgisini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem AKSOY' a en içten dileklerimi sunarım. İlgileri ve desteklerinden dolayı Biyoloji Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Fazıl ÖZEN' e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezimde yönlendirici ve olumlu katkılarından dolayı Doç. Dr. Nuran EKİCİ hocama çok teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince laboratuvar çalışması aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Salih DİKİLİTAŞ, Duygu AYDIN ve Dilek AKSOY' a teşekkür ediyorum.

Her zaman bana güvenen, kendimi geliştirmem ve başarılı olmam için her türlü olanağı sağlayan saygıdeğer annem Gülören SÜTLÜOĞLU' na ve babam Ali Rıza SÜTLÜOĞLU' na sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca destek ve yardımlarından dolayı abim Metin Oktay SÜTLÜOĞLU' na, yengem Nisa SÜTLÜOĞLU' na ve sevgili yeğenim Yusuf SÜTLÜOĞLU' na çok teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışması Kocaeli Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Birimi BAP 2018-131 No'lu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı BAP Birimi çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs – 2021

Sibel SÜTLÜOĞLU

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
GİRİŞ .....	1
1. GENEL BİLGİLER .....	6
1.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl).....	6
1.2. Kalsiyum Hipoklorit (Ca(ClO) <sub>2</sub> ).....	7
1.3. Perasetik Asit (PAA, CH <sub>3</sub> COOOH, C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> ).....	8
1.4. <i>Hordeum vulgare</i> L. (Arpa) .....	8
1.5. <i>Eisenia fetida</i> (Kırmızı Kaliforniya Solucanı) .....	9
1.6. Comet Assay Tekniği (Tek Hücre Jel Elektrofrez).....	10
1.7. Comet Assay Basamakları .....	10
2. LİTERATÜR TARAMASI .....	12
3. MALZEME VE YÖNTEM .....	17
3.1. <i>H. vulgare</i> ve <i>E.fedia</i> Eldesi .....	17
3.2. Sitotoksik İncelemeler.....	17
3.2.1. <i>H. vulgare</i> ' de EC50 (Etki konsantrasyonu) değerlerinin belirlenmesi .....	17
3.2.2. <i>H. vulgare</i> ' de mitoz bölünme ve anormallik testleri .....	18
3.2.3. <i>E. fetida</i> 'da LC50 ( lethal konsantrasyon) değerlerinin belirlenmesi .....	18
3.3. Genotoksik İncelemeler .....	19
3.3.1. <i>E. fetida</i> 'dan sölomosit eldesi .....	19
3.3.2. Preparat hazırlanması .....	19
3.3.3. DNA zincirinin çözülmesi .....	20
3.3.4. Elektrofrez.....	20
3.3.5. Nötralizasyon .....	20
3.3.6. Boyama .....	20
3.3.7. Preparatların incelenmesi .....	20
3.3.8. Deneylerde kullanılan çözeltilerin hazırlanması .....	21
3.3.9. Verilerin istatistiksel analizi .....	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	23
4.1. <i>Hordeum vulgare</i> 'de NaOCl, Ca(ClO) <sub>2</sub> ve PAA Uygulamasının Tohum Çimlenme Yüzdesi ve Kök Uzunluğuna Etkisi .....	23
4.2. NaOCl, Ca(ClO) <sub>2</sub> ve PAA Uygulamasının <i>H. vulgare</i> 'de Mitoz Bölünme Üzerine Etkileri.....	29
4.3. NaOCl, Ca(ClO) <sub>2</sub> ve PAA Uygulamasının <i>H. vulgare</i> 'de Mitoz Bölünmede Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkisi .....	31
4.4. NaOCl, Ca(ClO) <sub>2</sub> ve PAA Uygulanan <i>E. fetida</i> ' da LC50 Değeri Belirlenmesi .....	37
4.5. NaOCl, Ca(ClO) <sub>2</sub> ve PAA Uygulanan <i>E. fetida</i> ' da DNA Hasarının Comet Testi ile Belirlenmesi .....	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR .....	49
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER .....	55
ÖZGEÇMİŞ .....	56

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Sodyum hipoklorit'in molekül formülü .....	6
Şekil 1.2.	Kalsiyum hipoklorit'in molekül formülü.....	7
Şekil 3.1.	EC50 değerini belirlemek için kurulan deney düzeneği .....	17
Şekil 3.2.	LC50 değerini belirlemek için kurulan deney düzeneği 1. aşaması, cam amber şişesindeki <i>E. fetida</i> örnekleri .....	19
Şekil 3.3.	LC50 değerini belirlemek için kurulan deney düzeneği 2.aşaması, cam amber şişeden alınan <i>E. fetida</i> örnekleri .....	19
Şekil 4.1.	NaOCl konsantrasyonlarının <i>H. vulgare</i> tohumları üzerindeki çimlenme yüzdesine etkisi .....	23
Şekil 4.2.	<i>H. vulgare</i> tohumlarına NaOCl uygulamasının kök uzunluğu ortalamasına etkisi. Ok EC50 değerini gösterir .....	24
Şekil 4.3.	Ca(ClO) <sub>2</sub> konsantrasyonlarının <i>H. vulgare</i> tohumları üzerindeki çimlenme yüzdesine etkisi .....	25
Şekil 4.4.	<i>H. vulgare</i> tohumlarına Ca(ClO) <sub>2</sub> uygulamasının kök uzunluğu ortalamasına etkisi. Ok EC50 değerini gösterir .....	26
Şekil 4.5.	PAA konsantrasyonlarının <i>H. vulgare</i> tohumları üzerindeki çimlenme yüzdesine etkisi .....	27
Şekil 4.6.	<i>H. vulgare</i> tohumlarına PAA uygulamasının kök uzunluğu ortalamasına etkisi. Ok EC50 değerini gösterir .....	28
Şekil 4.7.	10 µl/ml NaOCl konsantrasyonunda çimlendirilen <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri .....	31
Şekil 4.8.	20 µl/ml NaOCl konsantrasyonunda çimlendirilen <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri .....	32
Şekil 4.9.	120 mg/ml Ca(ClO) <sub>2</sub> konsantrasyonunda çimlendirilen <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri.....	33
Şekil 4.10.	240 mg/ml Ca(ClO) <sub>2</sub> konsantrasyonunda çimlendirilen <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri.....	33
Şekil 4.11.	480 mg/ml Ca(ClO) <sub>2</sub> konsantrasyonunda çimlendirilen <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri.....	34
Şekil 4.12.	40 µl/ml PAA konsantrasyonunda çimlendirilen <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri.....	35
Şekil 4.13.	80 µl/ml PAA konsantrasyonunda çimlendirilen <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri.....	36
Şekil 4.14.	Comet assay analiz görüntüleri .....	38
Şekil 4.15.	NaOCl ve Ca(ClO) <sub>2</sub> arasında kuyruk DNA %'lerinin karşılaştırılması.....	39
Şekil 4.16.	NaOCl ve Ca(ClO) <sub>2</sub> 'in etkilerinin OTM ile incelenmesi .....	39

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 4.1. NaOCl uygulamasından 72 saat sonra <i>H. vulgare</i> 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları .....	24
Tablo 4.2. Ca(ClO) <sub>2</sub> uygulamasından 72 saat sonra <i>H. vulgare</i> 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları .....	26
Tablo 4.3. PAA uygulamasından 72 saat sonra <i>H.vulgare</i> 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları .....	28
Tablo 4.4. NaOCl konsantrasyonlarının <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indekse etkileri.....	29
Tablo 4.5. Ca(ClO) <sub>2</sub> konsantrasyonlarının <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indekse etkileri.....	30
Tablo 4.6. PAA konsantrasyonlarının <i>H. vulgare</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indekse etkileri.....	30

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
kg	: Kilogram
l	: Litre
mA	: Miliamper
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
ppm	: Milyonda bir kısım
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
V	: Volt
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde

### Kısaltmalar

Al	: Alüminyum
Cd	: Kadmiyum
Ca(ClO) <sub>2</sub>	: Kalsiyum Hipklorit
CP	: Klorpirifos
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EC50	: Etki konsantrasyonu
GST	: Glutasyon s transferaz
HCl	: Hidroklorik asit
HOCl	: Hipoklorik asit
LC50	: Lethal konsantrasyon
MI	: Mitotik indeks
NaOH	: Sodyum hidroksit
NaOCl	: Sodyum hidroksit
PAA	: Perasetik asit
PBS	: Phosphate buffer solution(fosfat tampon solüsyonu)
Ph	: Power of hydrogen(hidrojenin gücü)
PZ	: Propiconazole
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SA	: Salisilik asit
SOD	: Süperoksit dismutaz
TEB	: Tebuconazole

## İÇME SUYUNDA KULLANILAN BAZI DEZENFEKTANLARIN ARPA (*Hordeum vulgare* L.) VE TOPRAK SOLUCANI (*Eisenia fetida* Savigny) ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİ

### ÖZET

İçme sularının, buldukları kaynaklarda temiz olduğu düşünülse bile, temas halinde olduğu her yüzeyde kirlenme tehlikesi ile karşı karşıyadır. Suyun içerisinde bulunan ve sonradan suya karışan bazı kimyasal maddeler organizmalar üzerinde zehirli etki yapabilirler. Bu yüzden içme sularının dezenfeksiyonu insan sağlığı için çok önemlidir. Bu amaçla kullanılan dezenfektanlar, zehirli maddeleri tahrip etmeli ve su kullanıcılarına zarar vermemelidir. Bu araştırmada; içme suyunda dezenfektan olarak kullanılan sodyum hipoklorit, kalsiyum hipoklorit ve perasetik asit'in *Hordeum vulgare* ve *Eisenia fetida* üzerindeki etkileri incelendi. İlk olarak, bu üç dezenfektanın arpa (*Hordeum vulgare*) için EC50 değeri ve kırmızı kaliforniya solucanı (*Eisenia fetida*) için LC50 değerleri belirlendi. Üç günlük uygulama sonucunda *H. vulgare* için EC50 değerleri NaOCl için 20 µl/ml, Ca(ClO)<sub>2</sub> için 240 mg/ml ve PAA için 80 µl/ml olarak bulundu. İkinci aşamada *H. vulgare* mitoz bölünme testi, mitotik indeks ve kromozom anomalileri tespiti ile sitotoksik etkiler incelendi. Kontrol ile karşılaştırıldığında artan konsantrasyonların mitotik indeksi azalttığı, kromozom anormalliklerine sebep olduğu belirlendi. 24 saatlik uygulama sonucunda *E. fetida* için LC50 değerleri NaOCl için 30µl/ml, Ca(ClO)<sub>2</sub> için 8mg/ml ve PAA için 25µl/ml olarak bulundu. Sonuç olarak, uygulanan dezenfektanların *H. vulgare* ve *E. fetida* üzerindeki toksik etkilerinin belirlenmesi ile model organizmalar üzerindeki etki mekanizmalarının açıklanabilmesini sağlayacak veriler elde edildi. İçme ve kullanma sularında dezenfeksiyon amacıyla hangi dozların daha güvenli olabileceği ortaya çıkarıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Ca(ClO)<sub>2</sub>, *Eisenia fetida*, *Hordeum vulgare*, NaOCl, Perasetik Asit.



## **CYTOXIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF SOME DISINFECTANTS USED IN DRINKING WATER ON BARLEY (*Hordeum vulgare* L.) AND SOIL Worm (*Eisenia fetida* Savigny)**

### **ABSTRACT**

No matter how clean it is in the source, there is a risk of contamination at every point where water is in contact. Some chemical substances present in the water and subsequently mix into the water may cause toxic effects on the organisms. Therefore, the disinfection of drinking water is very important for human health. Disinfectants used for this purpose should destroy toxic substances and should not cause any damage to water users. In this study; the effects of sodium hypochlorite, calcium hypochlorite and peracetic acid which are used in drinking water as disinfectants, on *Hordeum vulgare* and *Eisenia fetida* will be examined. Firstly, the EC50 value for barley (*Hordeum vulgare*) and LD50 for Red wiggler worm (*Eisenia fetida*) will be determined for these three disinfectants. Within three days of application, it was found that EC50 was 20 µl/ml for NaOCl, 240 mg/ml for Ca(ClO)<sub>2</sub> and 80 µl/ml for PAA for *H. vulgare*. In the second step, cytotoxic effects will be examined by the mitotic index and chromosomal abnormalities test in *H. vulgare*. When compared with the control, it was determined that increasing concentrations decreased the mitotic index and caused chromosomal abnormalities. At the end of 24 hours of application, LD50 values for *E. fetida* were 30µl/ml for NaOCl, 8mg/ml for Ca(ClO)<sub>2</sub> and 25µl/ml for PAA. As a result, it was obtained that it was possible to explain the effect on organisms with the model, with the duration of the controls on the defectant to be applicable. It was revealed which doses could be safer for disinfection in drinking and utility water.

**Keywords:** Ca(ClO)<sub>2</sub>, *Eisenia fetida*, *Hordeum vulgare*, NaOCl, Perasetik Acid.

## **GİRİŞ**

Yeryüzünün %75'i, insan vücudunun %70'i, kanın yaklaşık %78'i sudur. Dünyadaki su kaynaklarının büyük çoğunluğunu okyanus ve denizler meydana getirirken, küçük bir kısmını ise göller, akarsular, yer altı suları, buzullar ve karlar meydana getirmektedir (Mutluay ve Demirak, 1996).

Dünyadaki bütün sular aralıksız devam eden bir döngü içerisinde. Kaynaklarda bulunan sular sıcaklığın artması ile ısınır ve buharlaşır. Buharlaşan bu sular, tekrar yağış olarak yeryüzüne inerek ırmakları, denizleri, gölleri ve yer altı sularını besler.

Su yağmur şeklinde yeryüzüne atmosferde bulunan gazlar, inorganik maddeler ve radyoaktif elementlerle beraber iner. Bazı endüstriyel yakıtlar, pestisitler, böcek ilaçları suya karışabilir. Suyun içerisine karışan bu kimyasal maddeler zehirli etki yapabilirler. Kolera, tifo gibi hastalıklar bu yolla insandan insana bulaşabilir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), %90'ı beş yaş altı çocuklar olmak üzere, her sene 1,8 milyon insanın ishalden ve 1,3 milyonun sıtma hastalığından yaşamını yitirdiğini belirlemiştir. Ayrıca bir çocuğun her sekiz saniyede, kirli su tükettiği için hayatının sona erdiği tespit etmiştir. Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu (UNICEF) Genel Direktörü; 425 milyon çocuğun temiz suya erişiminin olmadığı bildirdi. DSÖ, yılda 842.000 ölümün, güvenli olmayan su temininden kaynaklandığını bildirdi (WHO, 2019).

Suların bu gibi tehlikelere yol açmasını önleyebilmek için uygun şekilde artırılması ve dezenfekte edilmesi gerekir. Eskiden beri insanların suyu temizlemedeki en önemli sebep; içme suyunun lezzetini daha güzel hale getirebilme isteğiydi. İlk zamanlar temiz ve kirli su pek fazla ayırt edilemiyordu ancak suyun bulanık görüntüsünü en aza indirmeye yönelik çalışmalar yapıyordu. Bu çalışmalar, suyun içindeki mikroorganizmalar veya kimyasal kirleticilere yönelik değildi.

M.Ö. 500 yıllarından sonra, Hipokrat suyun hastalıklara karşı olumlu yönünü fark etti. Yaptığı çalışmalardan sonra ilk torba filtresini keşfetti ve bu buluşuna ‘Hipokrat Kılıfı’ ismini verdi. Bu sayede sudaki kirliliğe, istenmeyen tat veya kokulara sebep olan kalıntıların filtreden geçmesi önlendi. Roma M.Ö. 200-300 yılları arasında, şehirler ile beraber sanayi alanlarının da suya duyduğu gereksinimi karşılamak için su kemerlerini yapmaya başladı.

Benzer çalışmalar yapan Arşimet ise su vidasını buldu. Su vidası, suyun yükseltisi fazla bölgelere taşınması için kullanıldı. Arşimet’in buluşu olan bu vida günümüzde modern endüstriyel pompa için ana tasarım olarak kullanılmaktadır. Hollandalı iki gözlük yapımcısı 1670 senesinde su içerisindeki mikroorganizmaları gözlenmesini sağlayan ilk mikroskobu keşfettiler.

İskoçya’da ilk belediye su arıtma tesisi 1804’te Robert Thom tarafından yapımı tamamlandı. Kolera hastalığı 1854 yıllarının başında su yolu ile bulaşmaya başladığı belirlendi. Salgının asıl nedeni; kanalizasyondaki suyun pompasının kirlenmesiydi. Bu kirliliği önlemek için kum filtreleri uygun yerlere yerleştirildi ve salgını azalttığı tespit edildi. Kirliliği daha da azaltmak için sulara klor kullanıldı ama suyun güvenirliliğine kesin gözüyle bakılamayacağı anlaşıldı.

Günümüzde ise su arıtma cihazları en son teknoloji sistemlerine sahiptir. İçme suyunun arıtılması farklı süreçlerden meydana gelir. Flokülasyon, su içerisinde askıda duran katı maddeleri ve bunların neden olduğu renk değişimini ortadan kaldırmak için kullanılan yöntemdir. Bu yöntem sayesinde askıdaki küçük maddeler bir araya gelir ve sonra filtrelenebilir. Sedimentasyon metoduyla ise katı ve bulanıklığa neden olan maddeler çöktürülerek sudan uzaklaştırılır. Filtreleme işlemi, katı ve sıvı maddelerin filtreler kullanılarak birbirlerinden uzaklaştırılması işlemidir. En sonunda dezenfeksiyon yöntemi ile su mikroorganizmalardan temizlenir ve bu sayede hijyen koşullarına son derece uygun sular elde edilebilir.

Dezenfeksiyon işlemi, içme suyundaki birçok patojene etkili bir bariyerdir. Fakat, yapılan birçok çalışmada dezenfeksiyon yöntemine de bağlı olarak içme suyunda mutajenlerin varlığı tespit edildi (Hofer ve Shuker, 2002). Maruziyet seviyesi düşük

olsa bile, içme suyu içindeki bu mutajenlerin varlığı ömür boyu maruz kalma nedeniyle dikkate alınmalıdır (Buschini ve diğ., 2004).

İçme suları mikroorganizmaları öldürmekle değil, aynı zamanda su dağıtım sırasında bulaşıcı su kaynaklı hastalıkları önlemek için az miktarda serbest dezenfektanı korumakla dezenfekte edilir. Bu nedenle, serbest dezenfektan kalıntılarına maruz kalma insan ve diğer canlıların hayatını olumsuz yönde etkileyebilir (Monarca ve diğ., 2005).

Dezenfektanlar, su içindeki patojen mikroorganizmalara etkili olduğu kadar diğer canlılar için yüksek dozlarda zehir etkisi gösterebilir. Düşük dozlarda ise patojen mikroorganizmalara yeterince etkili olamamaktadır. Bu nedenle özellikle içme suyunda kullanılan dezenfektanların kimyasal etki mekanizmaları araştırılmalıdır.

Bir dezenfektanın içme suyu dezenfeksiyonunda tercih edilebilmesi için birçok özelliğe sahip olması gerekmektedir. Dezenfekte edilecek suyun moleküler içeriği ve miktarında belirli sıcaklık değerlerinde ve temas ettiği zaman içerisinde patojen organizmalarından arındırmak için elverişli olmalı, uzun süre dayanabilen, ucuz ve kullanımı kolay olmalı, dezenfeksiyon süresi ve etkinliği kontrol edilebilmeli ayrıca kullanılan dezenfektanın kolay bir şekilde analizi yapılabilmelidir (Atalay, 2016).

Su arıtımında kullanılan dezenfeksiyon yöntemleri klorlama, ozonlama, UV ve klor dioksit olarak sıralanabilir. Bu yöntemlerden klorlama, kısa sürede kalıcı etkisi olması ve maliyetinin diğerlerine göre daha uygun olması nedeniyle içme suyu arıtımında en yaygın olarak kullanılan dezenfektandır (Demirbaş, 2011).

İsviçreli kimyager Schell tarafından 1774 senesinde klor keşfedilmiş olsa da Humprey Davy 1810 yılında yeni bir element olduğunu kanıtladı ve bu elemente 'kloron' (yeşil) adı verildi. İlk defa Türkiye'de 1932 yılında İstanbul'da Terkos içme ve kullanma suyu tesislerinin Kâğıthane'deki arıtma şubesinde kireç kaymağı ile klorlama başladı. Ankara'da ise 1935 senesinde Çubuk Barajı'ndan elde edilen içme ve kullanma suyu 1936 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesinin arkasındaki arıtma tesislerinde düzenli bir şekilde klorlama işlemi gaz klor ile başlandı. Türkiye genelinde klorlama işlemi ise 1940'tan itibaren yaygınlaştı (Oğur ve diğ., 2004).

Klor içeren dezenfektanlar patojenler üstünde çok etkilidir, bunları ya yok eder ya da üremelerini engeller. Klor içme sularında istenmeyen tat ve kokuya sebep olan organik maddeyi inhibe eder. Bu sayede biyolojik büyümeyi denetler (Oğur ve diğ., 2004).

İçme-kullanma sularının dezenfeksiyonunda klor kullanılması halinde, serbest klor düzeyinin 0.2-0.5 mg/l olması gerekir. Deprem ve sel gibi olağanüstü durumlar ile su kesintilerinde serbest klor düzeyi en fazla 1 mg/l olacak şekilde klorlama yapılır (Resmi Gazete, 2013).

Ülkemizde en fazla tercih edilen üç klorlu madde: sıvı klor (sodyum hipoklorit), gaz klor ve toz klor (kalsiyum hipoklorit)'dur. Bu üç klorlu maddeden herhangi birisi, dezenfeksiyon amacı ile suya bırakıldığında, su içinde hipoklorik asit (HOCl) oluşumu meydana gelir ve bu madde aktif olarak dezenfeksiyon işlemi gerçekleştirir.

1. Sıvı klor suya bırakıldığında aşağıdaki kimyasal reaksiyon meydana gelmektedir:



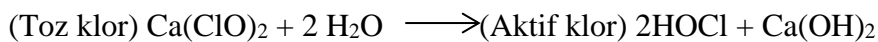
Suya sıvı klor katıldığında aktif klorun yanında kostik (NaOH)'da meydana gelmektedir. Ayrıca suyun pH derecesini arttırmaktadır.

2. Gaz klor suya bırakıldığında aşağıdaki kimyasal reaksiyon meydana gelmektedir:



Suya gaz klor katıldığında aktif klordan ayrı hidroklorik asit (HCl)'de meydana gelmektedir. Ayrıca pH derecesini düşürmektedir.

3. Toz klor suya bırakıldığında aşağıdaki reaksiyon meydana gelmektedir:



Bu reaksiyonun sonunda beklenen aktif klor oluşmaktadır, fakat suyun pH derecesini değiştirebilen bir kimyasal meydana gelmemektedir.

Çeşitli endüstrilerde ortaya çıktığı gibi, bakteri, virüs, fungusit ve spor öldürücü etkisi nedeniyle, suda dezenfektan olarak perasetik asit kullanımı son yıllarda daha fazla

dikkat çekmektedir. İçme suyu dezenfeksiyonunda perasetik asit, uygulama kolaylığı, heterojen organik madde varlığında bile geniş bir aktivite sağlaması, mutajenik artıkların veya yan ürünlerin bulunmaması nedeniyle önemlidir. Ayrıca klorun bazı olumsuz etkileri nedeniyle perasetik asit bazlı dezenfektanların kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır.

Bu tez çalışmasında, içme sularında yaygın olarak kullanılan üç dezenfektanın *Hordeum vulgare* ve *Eisenia fetida* üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkileri belirlendi. Hücre bölünme sıklığını yansıtan ve kök büyüme oranını belirlemek için bir parametre olarak kullanılan mitotik indeks testi (MI) (Aksoy ve diğ., 2015), sitolojik ölçümler ve kromozom anormallikleri için kullanıldı. Tek hücre jel elektroforez yöntemi sodyum hipoklorit, kalsiyum hipoklorit ve perasetik asitin neden olduğu hücre düzeyinde DNA hasarını belirlemek için kullanıldı. Tek hücre jel elektroforez uygulaması basit olması, çabuk sonuç alınması, hassas olması, farklı hücre tipleri ve DNA'da hasar sonucu oluşan kırıklara duyarlı olması ve en önemlisi ise radyoaktif işaretleme gerektirmeden yapılan bir işlem olması sebebi ile DNA hasar ölçümünde çok fazla tercih edilen bir metottur (Dinçer ve Kankaya, 2010). Öncelikle içme sularının dezenfeksiyonunda kullanılan bazı kimyasalların daha güvenli kullanımı konusunda veri sağlayacaktır. Ayrıca, içme sularında sıklıkla kullanılan sodyum hipoklorit, kalsiyum hipoklorit ve perasetik asidin seçilen model organizmalar olan *H. vulgare* ve *E. fetida* üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi sağlanacağından daha sonra yapılacak çalışmalar için referans oluşturacağı düşünülmektedir.

## 1. GENEL BİLGİLER

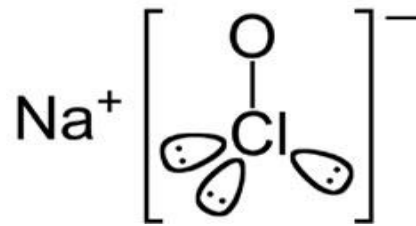
### 1.1. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

NaOCl, ilk başlarda tekstilde beyazlatma amacıyla üretilmiş olsa bile daha sonraları serbest klor açığa çıkardığı fark edilerek dezenfeksiyon amaçlı kullanılmaya başlandı. Günlük hayatta çamaşır sularında kullanılır. Yeşilimsi sarı renkli bir görünüme sahiptir. Oda koşullarındaki klor ile sabunlardaki sodyum hidroksit tepkimeye sokularak üretilmektedir. Ayrıca su ve atık suların arıtılması, havuz dezenfeksiyonu ve kağıt endüstrisinde kullanılmaktadır.

NaOCl elde edilme formülü:



NaOCl %3-15 aktif klor içerir ve yüksek alkalilikleri nedeniyle oldukça kararlılırlar. Alkaliliğinden dolayı (pH=11) orta sertlikteki sularda aşılama yerinde kalkerleşmeden dolayı tıkanma problemleri yaşanır. Klorlama yönteminde kullanılan en eski bileşik sodyum hipoklorittir. Sodyum hipokloritin moleküler formülü Şekil 1.1' de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Sodyum hipoklorit'in molekül formülü

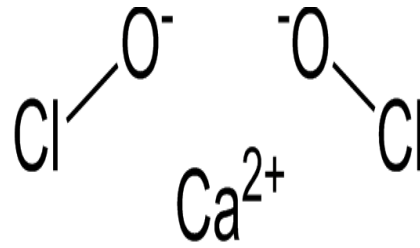
Korozif özellikleri, ortak kullanım alanları ve tepkime ürünleri, bu kimyasal için risk faktörlerini belirlemektedir. Özellikle, sodyum hipokloritin, asitler veya amonyak gibi diğer temizlik ürünleri ile karıştırılması sonucu zehirli gazların oluştuğu bilinmektedir. Sodyum hipoklorit çözeltileri kolay bozulabilirler. Özellikle yüksek konsantrasyondaki hipoklorit çözeltileri daha çabuk bozunur.

## 1.2. Kalsiyum Hipoklorit (Ca(ClO)<sub>2</sub>)

İnsan sağlığına zararlı olmayan toz klor piyasada Ca(ClO)<sub>2</sub> formülünde bulunur. İçme suları ve yüzme havuzlarında dezenfektan, bez ve kâğıtlarda beyazlatma ajanı olarak kullanılır. Ca(ClO)<sub>2</sub> çoğunlukla içeriğinde %65 aktif klor bulundurmaktadır. Yüzme havuzlarında dezenfeksiyon amacıyla arada siyanür içeren toz klor türevleri tercih edilmektedir fakat siyanürlü toz klor içme sularında zararlı etkilere sebep olacağından kullanılmaz.

Diğer dezenfektanlardan iki önemli üstünlüğü bulunmaktadır; birincisi toz klor nötrdür ve suyun pH derecesinde bir değişime sebep olmaz, ikinci özelliği ise uzun süre su içerişinde bekleyebilir, bu süre boyunca suyun içinde bulunan klor kaybolmaz.

Ca(ClO)<sub>2</sub> moleküler yapısına sahip olan toz klorun suyu sertleştirdiği araştırmalar sonucunda rapor edilmiştir. Toz klorun sıvı klorla göre diğer bir üstünlüğü saklanma koşullarında kolay olması ve çok az yer kaplamasıdır. Ayrıca toz klor rafta uzun süre kalabilmektedir oysa sıvı klor içerişinde bulundurduğu aktif klor sebebi ile sıcaklığı yüksek ortamlarda kısa zamanda buharlaşarak yok olabilir. Kalsiyum hipoklorit'in moleküler formülü Şekil 1.2' de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Kalsiyum hipoklorit'in molekül formülü

Kalsiyum hipoklorit mutfaklarda da yüzey ve ekipmanların dezenfekte edilmesi için kullanılır. Diğer yaygın kullanım alanları arasında banyo temizleyicileri, evde kullanılan dezenfekte spreyleri, yosun öldürücü ilaçlar, herbisitler ve çamaşır deterjanları bulunur. Kalsiyum hipoklorit genel bir oksitleyici maddedir ve bu nedenle organik kimyada bir miktar kullanılır. Asitlerle temasında toksik gaz açığa çıkardığından dikkatli kullanılmalıdır.



### 1.3. Perasetik Asit (PAA, CH<sub>3</sub>COOOH, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>)

Asetik asit, hidrojen peroksit ve suyun eşit miktarlarda karışmasından oluşur. PAA, sert bir kokuya ve duru bir görüntüye sahip sıvıdır. Bu sıvı oksijenin etkisi ile asetik asit, hidrojen peroksit ve su gibi moleküllere ayrılır. PAA'in oksijenle yanması sonucu zararlı yan ürünler ortaya çıkmaz.

PAA, etkili bir antimikrobiyal olması ve hastane, laboratuvar, fabrika gibi birçok alanda kullanılması nedeniyle içme suyu dezenfeksiyonunda da uygulanmaya çalışılmıştır (Baldry ve diğ., 1995). Atık su dezenfeksiyonu için etkili bir biyosidal olduğu bulunmuş (Monarca ve diğ., 2000) ve bu çalışmalarından elde edilen veriler sonucunda, mutajeniteye ilişkin bir sorun teşkil etmediği tespit edilmiştir (Monarca ve diğ., 2002).

PAA, 100 ppm'den daha az konsantrasyonlarda gram-pozitif ve gram-negatif bakterileri, maya ve fungusları aktif hale getirir. Organik madde bulunan yerde mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek için 200-500 ppm PAA kullanılır.

### 1.4. *Hordeum vulgare* L. (Arpa)

Tek yıllık bitki olan *H. vulgare* 2n=14 kromozoma sahiptir. Hayvanlar için besin olarak, malt yapımında ve nadirde olsa insan besini olarak kullanılır. *H. vulgare* dünyada mısır, buğday ve çeltikten, ülkemizde ise ekmeçlik buğdaydan sonra en fazla üretimi yapılan bir tahıldır (Kızılköçü ve diğ., 2016). Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi buğday ve arpa tarımının ilk kez yapıldığı alanlardandır. Özellikle Verimli Hilal'in bir parçası olması, Güney Doğu Anadolu Bölgesi'ni ülkenin arpa tarımı ve kültürü konusunda önemli bir konumda olduğunu göstermektedir (Çıvgın, 2016).

Arpa diğer tahıllara göre su stresine daha fazla dayanıklı olduğundan Türkiye'de %70-80' i çoğunlukla kurak ve yarı kurak topraklarda yetiştirilmektedir ve bu sebeple arpada tane verimi çok fazla elde edilememektedir (Kendal, 2016). Arpa, hayvan yemi olarak tüketilen tahıllar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Araştırmada kullanılan *H. vulgare* sistematik olarak şu şekilde sınıflandırılır (Plants Profile).

Kingdom: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Class: Liliopsida

Order: Poales

Family: Poaceae

Genus: *Hordeum* L.

Species: *Hordeum vulgare*

### **1.5. *Eisenia fetida* (Kırmızı Kaliforniya Solucanı)**

Kırmızı Kaliforniya solucanı, toprak solucanlarının halkalı solucan sınıfında bulunan Lumbricidae ailesine ait bir türdür. Latince ismi *Eisenia fetida* (*E. fetida*). İlk kez Kaliforniya Enstitüsü'nde kültürü yapıldığından 'Kırmızı kaliforniya solucanı' olarak adlandırılmaktadır. *E. fetida* türünün uzunlukları 2,5-10,5 cm, kalınlığı ise 0,50-0,75 cm arasında farklılık göstermektedir. Ön taraftaki baş kısmı daha kalın kaslıdır ayrıca vücudu kırmızı rengindedir. Başının uç kısmında ağzı, kuyruk kısmında ise rektum bölgesi yer almaktadır. Ağırlıkları 0,24-1,4 g arasındadır. Çoğunlukla segmentli ve yumuşak vücut yüzeyine sahip omurgasız hayvanlardır. Vücut yapıları birbiri içine geçmiş tüp biçimindedir. Bu tüpler arasında boşluklar bulunur ve bu boşluklar sölom sıvısı ile doludur.

*E. fetida* diğer solucanlara kıyasla daha dayanıklıdır ve üreme hızı daha fazladır. Doğrudan güneş ışığına maruz kaldıklarında ölürlür. Solucanlar en fazla 40°C sıcaklığa dayanabilirler. *E. fetida* hermofrodittir. Üremeleri için ortam sıcaklığı 20 - 25°C olmalıdır. Ortalama 4-5 yıl yaşarlar.

Günlük neredeyse kendi vücut ağırlıkları kadar beslenebilirler. Ayrıca kendi ağırlıklarının yarısı kadar organik solucan gübresi meydana getirirler. Bu da demektir ki vücut ağırlıklarının neredeyse %55'i kompost (organik gübre) üretebilmektedir (Fadaee, 2012).

Araştırmada kullanılan *E. fetida* sistematik olarak şu şekilde sınıflandırılır (Kaygorodova ve Sherbakov., 2006).

Kingdom: Animalia

Phylum: Annelida

Class: Clitellata

Order: Haplotaxida

Family: Lumbricidae

Genus: *Eisenia*

Species: *E. fetida*

### **1.6. Comet Assay Tekniği (Tek Hücree Jel Elektroforezi)**

Şimdiye kadar DNA hasarının belirlenmesi ile ilgili birçok çalışma yapılmış fakat pahalı ve uzun çalışma gerektirmesi ve istenen başarıyı elde edememesi nedeniyle bu alanda çalışma yapılması güçleşmiştir. Ancak son 10 yıl içerisinde tek jel elektroforezi adında yeni bir yöntem gelişmiştir. Aslında bu teknik ilk hayvan ve insan hücrelerinde uygulanmasına rağmen son senelerde bitki ve funguslar üzerinde denenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Comet yöntemi ile kimyasal ve fiziksel olarak canlı hücrelerinde oluşan genotoksik ve sitotoksik hasarlar, hücrelerin DNA'larını tek tek inceleyerek tespit edilmektedir.

### **1.7. Comet Assay Basamakları**

Mikroskop lamlarının hazırlanmasında en önemli olay çalışma tamamlanıncaya kadar net görüntü için jelin bozulmadan kalmasıdır. Deneyden bir gün önce normal erime noktalı agaroz jel mikroskop lamlarına yayılır. Bir gece boyunca lamların kuruması beklenir. Diğer gün düşük erime noktalı ikinci bir agaroz jel içinde süspanse edilmiş hücreler lamların üzerine yayılır. Böylelikle iki jel tabakası arasında gömülü hücrelere sahip sandviç benzeri bir sistem oluşturulur (Green, 1996).Agaroz jeli dondurma işleminden sonra yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren lizis solüsyonunda bir saat bekletilir. Lizis işlemi süresince membranlar parçalanır. Daha sonra lamlar uygun bir tampon ile birkaç kez yıkanır. Böylece hücresel atıklar, kalan deterjan ve tuzlar ortamdaki uzaklaştırılmış olur (Green, 1996).

DNA sarmalının açılması için elektroforez işleminden önce yüksek alkali özellikteki (pH>13) elektroforez solüsyonunda belirli bir süre bekletilir. Çekirdek içerisinde

bulunan çift zincirli DNA, zincir kırıklarının olduğu bölgelerde açılmaya başlar. 20-25 dk uygulanır (Collins, 2004).

DNA zinciri açıldıktan sonra jel içinde bulunan tek zincir DNA'ya alkali koşullarda elektroforez işlemi uygulanır. Elektrik akımı uygulandığında, anoda doğru yönelen DNA parçaları kuyruklu yıldız benzeyen bir görüntü meydana getirir. 'Comet' ismi görüntüsü kuyruklu yıldız benzetildiği için kullanılmaktadır. Bu işlem sırasında hasarsız DNA çekirdekten dışarıya çıkamaz. Elektroforez 25V, 300 mA akım ve 25-30 dk sürmektedir (Martin ve diğ., 1993).

Nötralizasyon işlemi için uygun bir tampon seçilir ve lamalar üç defa bu tamponda yıkanır. Nötralizasyondan sonra lamalar boyanarak hasarlı DNA'lar mikroskop görüntüsü üzerinden tespit edilebilir ve sayıları belirlenebilir ya da lamalar kurutularak daha sonra incelenmek için +4°C' de saklanabilir.

İşaretleme için yaygın olarak kullanılan floresan boya etidyum bromürdür. Nadirde de olsa gümüş-nitrat da tercih edilmektedir. Boyama işlemi bittikten sonra floresan mikroskopunda anoda doğru hareket eden DNA fragmanları arkalarında kuyruklu yıldız görünümünü meydana getirir. DNA hasarının belirlenirken sayma işleminde her lamdan 20 hücre seçilir. Comet sayımında iki farklı yol uygulanabilir. Birinci yöntem tek tek saymak ikincisi ise bazı şirketler tarafından geliştirilmiş yazılımları kullanmaktır (Martin ve diğ., 1993).

## 2. LİTERATÜR TARAMASI

İçme suyu dezenfektanı sodyum hipoklorit, kalsiyum klorit ve perasetik asit genotoksisitesi *Allium cepa* kök hücrelerinde anafaz kromozom anormallikleri indüksiyonu incelenmiş ve NaOCl'nun asidik ortamda anafazda anormalliği arttırdığı, ClO<sub>2</sub> ve PAA'nın ise azalttığı tespit edilmiştir (Monarca ve diğ., 2005). Dezenfektan olarak PAA ve klor uygulanmış sulama suyunun *Escherichia coli* (*E. coli*) üzerindeki etkisi araştırılmış. *E. coli* 5 ve 15 dakika boyunca uygulanan 6 mg/l PAA'e klordan daha dirençli olduğu belirlenmiştir (Binini, 2015).

Farklı sıcaklık derecelerinin hekzaploid buğday kök meristemlerindeki mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmada, 35°C ve 45°C gibi yüksek sıcaklıkta çalışılan tüm buğday çeşitlerinde mitotik indeks değerinde azalma ve kromozom anormallikleri tespit edilmiştir. Sıcaklık artışıyla birlikte kromozom anormallikleri artmıştır. Belirlenen anormalliklerin erken görülen kromozom ayrılması ve yoğunlaşmış ve yapışkan kromozom, geri kalan kromozom, kromozom köprüleri ve mikronükleus şeklinde olduğunu tespit edilmiştir {Formatting Citation}.

İçme suyu dezenfeksiyonunda kullanılan bromoform (25, 50, 75, 100 µg/ml) ve kloroformun (25, 50, 100, 200 µg/ml) genotoksik etkilerinin belirlenmesinde *Allium* testi ve comet yöntemi kullanılmıştır. İki kimyasal içinde; bromoformun 25 µg/ml dışındaki diğer konsantrasyonlarda mitotik indekste düşüş gözlemlenmiş, diğer dozlarda ise artış belirlenmiştir. Comet testinde bromoformun 75-100 µg/ml, kloroformun 10-200 µg/ml dozlarında DNA hasarının kontrole göre fazla olduğu tespit edilmiştir (Khallef ve diğ., 2013).

İçme suyu dezenfeksiyonunda yeni yeni kullanılmaya başlanan PAA ile yapılan çalışmada, Ames ve *Allium cepa* kromozomal aberasyon testlerinde genotoksik yan ürünlerin oluşumunu ve *Aliivibrio fischeri* biyoluminesans testinde bakteriyel ışık emisyonununun baskılandığını gözlenmiştir (Monarca, 2000).

İki çeşit intekstin *H. vulgare* mitotik hücrelerinde hücre döngüsünün farklı fazlarındaki genotoksik etkileri araştırılmış ve veriler, daha yüksek dozda alfametrin ve monokrotophosun *H. vulgare*' de toksisiteyi, kromozom anormallikleri ve mitotik anormallikleri arttırdığı belirtilmiştir (Srivastava ve diğ., 2008).

Metal toksisitesi ve toleransındaki mekanizmaların daha iyi anlaşılabilmesi için farklı kadmiyum (Cd) konsantrasyonlarının *H. vulgare* kök ucu hücreleri üzerindeki toksik etkileri araştırılmış ve mitotik indekste azalma ve C-mitoz, anafaz köprüleri ve kromozom yapışkanlığı gibi anormal kromozomlarda artış olduğu bildirilmiştir (Shi ve diğ., 2016). Biri insektisit ve biri fungusit olan klorpirifos (CP) ve propiconazole (PZ) 'nin *H. vulgare* üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve kontrol ile karşılaştırıldığında, kromozom anormallikleri PZ'ye kıyasla CP'de daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Dubey ve diğ., 2015).

*H. vulgare* köklerinde salisilik asit (SA)' nın Alüminyum (Al) toksisitesi üzerindeki etkileri, kök uzaması, Al alımı, plazma membran bütünlüğünün kaybı, mitotik anormallikler, süperoksitdismutaz aktivitesi, peroksidaz aktivitesi, toplam protein içeriği ve DNA fragmentasyonu gibi bazı hücrel stres yanıtları araştırılmıştır. 10 uM SA' nın hem ön muamelesi hem de birlikte uygulanmasının, Al emiliminin ve antioksidan enzim aktivasyonunun inhibisyonu ile ilişkili olarak arpa köklerindeki, Al indüklenmiş toksisiteyi azaltabileceği bildirilmiştir (Yalcin ve Vardar, 2016).

Comet assay, *H. vulgare* genomunda bleomisin tarafından üretilen DNA hasarının indüksiyonunu ve tamirini incelemek için uygulanmış ve uygulanan en düşük bleomisin konsantrasyonunun (50 µg/ml) bile DNA hasarına neden olacağı belirtilmiştir. Ayrıca, indüklenen DNA hasarının miktarlarının, doza bağlı olarak bleomisin uygulamasına karşılık geldiği de bildirilmiştir (Georgieva ve Stoilov, 2008).

İki pestisit olan tribenuron-metil (TBM) ve tebuconazole (TEB)' nin toprak solucanı *E. fetida* üzerindeki toksik etkileri araştırılmıştır. TBM, kontak filtre kağıdında *E. fetida*'ya ve yapay zemin testlerine karşı düşük toksisite gösterdiği ve benzer şekilde TEB, yapay zemin testinde *E. fetida*'ya karşı düşük toksisite gösterdiği bildirilmiştir. Tek başına ya da karışım olarak kullanılan pestisitler, solucan DNA'sında kontrole kıyasla önemli bir hasara neden olmadığı belirtilmiştir (Chen ve diğ., 2018).

*E. fetida* için iki insektisid olan Imidacloprid ve RH-5849'un genotoksisitesini değerlendirmek için solucan sperm deformitesi değerlendirme yöntemi, *Vicia faba*'daki kök ucu hücrelerinin mikronükleus testi ve tek hücre jel elektroforez yöntemi uygulanmıştır. Tüm uygulama gruplarında Imidacloprid'in RH-5849'dan sürekli olarak daha toksik olduğu belirtilmiştir. İki pestisit in solucan DNA'sında önemli bir DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Zang ve diğ., 2000).

Atrazin in topraktaki ekotoksikolojisini değerlendirmek için solucanlar üzerine etkisi araştırılmış ve solucanlarda oksidatif strese ve DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Song ve diğ., 2009).

Son yıllarda yaygın olarak kullanılan fungusitlerden pyraclostrobin in *E. fetida* üzerindeki toksisitesi araştırılmış. 7, 14, 21 ve 28. günlerde, reaktif oksijen türleri (ROS) ve DNA hasarı karşılaştırılmış ve ROS seviyesi önce arttığı daha sonra kontrol seviyesine geri döndüğü tespit edilmiştir. Ayrıca artan konsantrasyonlarda DNA hasarında da artış olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucunda pyraclostrobin organizmadaki ROS'un dinamik dengesini bozabileceği, bunun da antioksidan savunma sistemini etkileyerek DNA hasarına neden olabileceği bildirilmiştir (Ma ve diğ., 2019).

Herbisitlerle yapılan bir diğer çalışmada, yapay toprakta (0, 0.1, 1.0, 2.5 ve 5.0 mg/kg) *E. fetida*' ya karşı farklı QYR301 dozlarının 7, 14, 21 ve 28. Günlerde toksisitesi değerlendirilmiştir. Deney sonucunda tüm uygulanan dozlarda DNA hasarı gözlenmiştir. QYR301'in solucanlarda oksidatif strese yol açan aşırı ROS üretimini indüklediğini ve sonuçta lipid membran peroksidasyonuna ve DNA hasarına neden olduğunu göstermiştir (Wang ve diğ., 2020).

*Pisum sativum*' un apikal kök hücrelerini biyoindikatör olarak kullanarak farklı sodyum hipoklorit konsantrasyonlarının sitotoksik etkisini değerlendirilmiştir. Çalışmada *P. sativum* tohumları, farklı konsantrasyonlarda sodyum hipoklorite (0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 2 mg/l) ve damıtılmış suya dayalı bir kontrol çözeltisine maruz bırakılmıştır. Daha sonra, 24, 48 ve 72 saat boyunca kök büyümesi ölçülerek mitotik indeks (MI) ve hücresel anormallikler 72 saatte belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 0,4, 1,6 ve 2 mg/l konsantrasyonlarında kök büyümesinde azalma gözlenmiştir. Konsantrasyonlar arasında, %50'den daha yüksek bir mitoz inhibisyonu

belirlenmiştir. Ayrıca değerlendirilen tüm konsantrasyonlarda bulunan, gecikmeli kromozomlar ve kromozomal kırılma gibi kromozomal anomaliler de tespit edilmiştir. Ek olarak, 2,0 ve 1,6 mg/l konsantrasyonlarında mikronükleus varlığı, sodyum hipokloritin oldukça sitotoksik bir madde olduğunu göstermektedir (Mercado ve diğ., 2019).

Bir fungusit olan tifulzamid'in *E. fetida* üzerine etkisi araştırılmış ve reaktif oksijen türleri (ROS), tüm tifulzamid tedavilerinde artmıştır ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon S transferaz (GST) aktiviteleri tifulzamid tarafından inhibe edilme eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Artan konsantrasyonlara bağlı olarak genotoksitesisi artmış ve 10 mg/kg konsantrasyonunda solucanlar için potansiyel bir risk oluşturduğu sonucuna varılmıştır (Yao ve diğ., 2020).

Plastiklerin esnekliğini arttırmak için yaygın olarak kullanılan ftalatların *E. fetida* üzerinde ekolojik etkileri araştırılmıştır ve artan ftalat konsantrasyonlarında comet assay yöntemi ile DNA hasarı belirlenmiştir. Ftalat konsantrasyonu arttıkça DNA hasarının yoğunlaştığı tespit edilmiştir (Song ve diğ., 2019).

Yüksek Al dozlarının bakla fasulyesinin mitotik aktivitesi ve DNA bütünlüğü üzerindeki sitogenetik etkiler araştırılmıştır. Tüm kullanılan Al konsantrasyonları mikronüklei oluşumunu arttırmış ve 6 saatten fazla uygulanan dozlarında en fazla tespit edilen kromozom anormalliği metafaz evresinde olmuştur (Garcia, 2013).

Hüyük asidin farklı tuz konsantrasyonlarında çimlenen *H. vulgare* meristem hücrelerinde mitotik aktivite ve kromozom davranışları üzerine etkisi araştırılmıştır. Artan tuz konsantrasyonlarına paralel olarak, mitotik indeks kısmen azalmış ve kontrole göre daha yüksek sayıda kromozomal anormallik gözlemlenmiştir. Ayrıca sadece hüyük asit ile ön işleme tabi tutulan tohumların mitotik indeksinin kontrole göre %30, mitotik sapmaların ise %42 oranında arttığı belirlenmiştir. Hüyük asit ve tuzlu ortamda çimlenen tohumlarda kromozomal sapma sıklığı kendi kontrolüne göre önemli ölçüde azalmıştır. Hüyük asit, incelenen tüm konsantrasyonlarda tuzluluğun zararlı etkisinin iyileştirilmesinde başarılı olduğu tespit edilmiştir (Tabur ve diğ., 2019).



B9 vitamininin (folik asit) arpanın meristematik hücrelerinde mitotik aktivite ve kromozom davranışları üzerindeki işlevi farklı tuz konsantrasyonlarında çimlenen tohumlar üzerinde incelenmiştir. Tuz konsantrasyonunun mitotik indeks üzerindeki engelleyici etkisi, kontrol grubuna göre tuz konsantrasyonlarındaki artışa paralel olarak önemli ölçüde artmıştır. Folik asit ön muamelesi özellikle yüksek tuz konsantrasyonlarında tuzluluğun kromozom anormallikleri üzerindeki zararlı etkilerini azaltmıştır (Özmen ve Tabur, 2020).

Mikroplastiklerin *E. fetida* üzerindeki toksikolojik etkilerini belirlemek için solucan bağırsaklarında mikroplastik alımı veya birikimi, histopatolojik değişiklikler, oksidatif stres ve DNA hasarı değerlendirildi. Histolojik analiz sonucunda mikroplastiklere maruz kalan bağırsaklarda hasar tespit edilmiştir. Ayrıca comet assay testi ile düşük konsantrasyonlarda bile DNA hasarı belirlenmiştir (Jiang ve diğ.,2020).

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. *H. vulgare* ve *E. fedia* Eldesi

Bu çalışmada model organizma olarak kullanılan *H. vulgare* (*Arpa*) ( $2n=14$ ) tohumları, pestisitsiz olarak bir tohum firmasından ve *E. fetida* (Kırmızı Kaliforniya Solucanı) Ekosol Tarım ve Hayvancılık Şirketi'nden (Manisa, Türkiye) temin edildi.

#### 3.2. Sitotoksik İncelemeler

##### 3.2.1. *H. vulgare*' de EC50 (Etki konsantrasyonu) değerlerinin belirlenmesi

20 adet tohum kurutma kağıdı arasında bir petri kabına konuldu ve çimlenmeye bırakıldı. 8 konsantrasyon (2,5, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35  $\mu\text{l/ml}$ ) NaOCl, 10 konsantrasyon (1, 4, 16, 64, 128, 240, 272, 288, 320, 360  $\mu\text{l/ml}$ )  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ , 9 konsantrasyon (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90  $\mu\text{l/ml}$ ) PAA hazırlandı. 20x14x6 cm boyutlarında petri kapları kullanıldı. Petrilere alınan tohumlar 10 ml'lik etken maddeler içinde konularak üç gün boyunca en az üç tekrarlı olarak ön denemeler gerçekleştirildi (Şekil 3.1). Kontrol grubunda distile su kullanıldı. 0,5 cm ve üzerindeki kök uçları çimlenmiş olarak değerlendirildi. EC50 değeri belirlendikten sonra, uygulama çözeltileri olarak EC50 ve  $2\times\text{EC50}$  olmak üzere iki farklı konsantrasyon kullanılarak deneylere devam edildi.



Şekil 3.1. EC50 değerini belirlemek için kurulan deney düzeneği, a. kontrol, b. NaOCl 20  $\mu\text{l/ml}$ , c. NaOCl 30  $\mu\text{l/ml}$

### 3.2.2. *H. vulgare*'de mitoz bölünme ve anormallik testleri

*H. vulgare* tohumları, NaOCl (EC50=20µl/ml, EC50x2=40µl/ml ve EC50/2=10µl/ml), Ca(ClO)<sub>2</sub> (EC50=240µl/ml, EC50x2=480µl/ml ve EC50/2=120µl/ml) ve PAA (EC50=80µl/ml, EC50x2=160µl/ml ve EC50/2=40µl/ml) konsantrasyonlarında etüvde 20-25°C sıcaklıkta 3 gün boyunca çimlendirildi. Daha sonra kök uçlarından 1-2 cm uzunluğunda kesilen örnekler Carnoy fiksatifine (3 birim %95' lik etil alkol:1 birim glasiyal asetik asit) alınarak 24 saat +4°C'de bekletildi. Daha sonra kök uçları preparat hazırlanması ve incelenmesi aşamalarında kullanılmak üzere %70'lik etil alkol içerisinde alınarak 4°C'de buzdolabında saklandı.

Aseto orsein ezme ve yayma preparat yöntemine uygun olarak preparatlar hazırlandı. Saat camı içerisinde ısıtılarak boyanan ve hidroliz edilen olan kökler, üzerinde bir damla aseto orsein olan lamın üzerine alındı. Daha sonra boyanmanın daha yoğun olduğu 1-2 mm uzunluğundaki kök ucu kısmı lam üzerinde bırakılıp, geri kalan kısım bistüri ile kesilerek atıldı. Kalan kısım jiletle küçük parçalara ayrıldı. Üzerine lamel kapatılarak ezme işlemi yapıldı. Her konsantrasyon ve kontrol grubu için deneyler üçer kez tekrarlandı. Preparatlar, Olympus BX-51 tipi araştırma mikroskobu ile incelendikten sonra kamera ile görüntülendi. Hazırlanan her preparattan en az 1000 hücre sayıldı ve mitotik indeks hesaplandı. Bölünen hücrelerdeki köprü, kromozom yapışması, yanlış kutuplaşma oluşumu gibi kromozomal hasarların oranları hesaplandı. Elde edilen veriler her konsantrasyon için genel bir tabloya aktarıldı. MI denklem (3.1) ile;

$$\text{Mitotik indeks (\%)} = \frac{\text{Bölünen Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100 \quad (3.1)$$

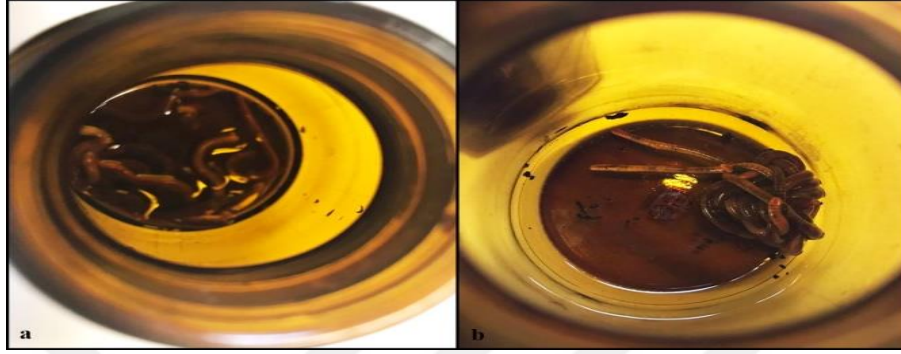
hesaplandı.

### 3.2.3. *E. fetida* 'da LC50 ( lethal konsantrasyon) değerlerinin belirlenmesi

Solucanlar, bağırsaklarını boşaltmak için oda sıcaklığında nemli filtre kağıdı üzerinde inkübe edildi. 12 konsantrasyon NaOCl (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 µl/100ml), 9 konsantrasyon Ca(ClO)<sub>2</sub> (0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64

µl/100ml) ve 6 konsantrasyon PAA (5, 10, 15, 20, 25, 30 µl/100ml) hazırlandı. Işıktan etkilenmemeleri için, solucanlar farklı konsantrasyonları içeren amber (koyu

renkli) şişelere yerleştirildiler (Şekil 3.2). Sonra her şişeden 10 solucan, canlı olup olmadığını gözlemek için petri kabına alındı (Şekil 3.3). Mekanik uyarı ile canlı olup olmadığına karar verildi. Kontrol grubunda distile su kullanıldı. Solucanlar 24 saat sonra kontrol edildi. Deneyler üç tekrar halinde yapıldı.



Şekil 3.2. LC50 değerini belirlemek için kurulan deney düzeneği 1. aşaması, cam amber şişesindeki *E. fetida* örnekleri; a. Kontrol, b. NaOCl 30µl/ml



Şekil 3.3. LC50 değerini belirlemek için kurulan deney düzeneği 2. aşaması, cam amber şişeden alınan *E. fetida* örnekleri

### 3.3. Genotoksik İncelemeler

#### 3.3.1. *E. fetida*'dan sölomosit eldesi

Ependorf tüpünde 4 ml solüsyon içerisine 2 solucan konuldu ve 24 saat beklenip sölomositler ortama kendiliğinden salınması sağlandı. Ependorf tüpü içerisinde solucanlar çıkarıldıktan sonra hücreler 2000rpm 3dk santrüfuj edildi ve elektroforezden önce buz üzerinde bekletildi.

#### 3.3.2. Preparat hazırlanması

Lamlar %1' lik NMP agaroz ile kaplandı ve bir gece kurumaya bırakıldı. 50 µl hücre solüsyonu 75 µl LMP ile karıştırıldı ve daha sonra NMP katmanı üzerine pipet ile

konuldu. Üzeri lamel ile kapandıktan sonra 5 dk buz üzerinde bekletildi. Preparatlar 1 saat 4°C’de liziz solüsyonunda bekletildi.

### **3.3.3. DNA zincirinin çözülmesi**

Buzdolabından çıkarılan preparatların üzerindeki lamlar nazikçe kaldırıldı ve lamlar, bağlı olduğu soğuk su banyosu ile önceden +4°C getirilmiş yatay elektroforez tankına alındı. Üzerine tankın kenarlarından başlayarak yavaşça soğuk elektroforez tamponu döküldü ve tankın kapağı kapatıldı. Preparatlar DNA zincirinin çözülmesi için bu şekilde 20 dk tankın içerisinde bekletildi.

### **3.3.4. Elektroforez**

DNA’ daki kırılma vb. hasarlara bağlı olarak farklı moleküler ağırlıktaki DNA parçalarının farklı hızda yürümesi sonucunda oluşacak kuyruklu yıldızları gözlemleyebilmek için 20 dakika boyunca 20V, 300 mA elektroforez yapıldı.

### **3.3.5. Nötralizasyon**

Preparatlar önce soğuk PBS tamponunda 5 dk bekletildi daha sonra %70 etanol içerisinde 5 dk bekletilip nötralize edildi.

### **3.3.6. Boyama**

Nötralizasyon işleminin tamamlanmasının ardından lamlar dik bir şekilde kurutma kağıdının üzerine dizildi ve fazla tamponun lamların üzerinden uzaklaşması sağlandı. Lamlar kurumadan her biri 100 µl etidyum bromür ile boyandı ve 5 dk bekletildi. Süre dolunca hemen lamelle kapatıldı.

### **3.3.7. Preparatların incelenmesi**

Comet assay analizleri için hazırlanan preparatlar floresan mikroskop ile incelendi. Her doz ve saat için 25 çekirdek 2 tekrarlı olacak şekilde sayıldı. Kameram comet assay analiz programı kullanılarak kuyruk DNA yüzdesi (% kuyruk DNA) ve olive kuyruk momentleri (OTM) değerleri ölçüldü.

### 3.3.8. Deneylerde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Gerekli miktarda NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA önce bir miktar distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile çözdürüldü daha sonra hacmi 100ml'ye tamamlandı.

%2'lik aseto orsein hazırlamak için, 2g aseto orsein tartılarak %45'lik glasiyel asetik asitten 5ml ve %95'lik etil alkolden 45ml eklenerek karıştırıldı. Önce ısıtıcı 100°C'de ısınmaya kadar beklendi, daha sonra 200°C'de (kaynadığı sıcaklık) yaklaşık 60 dakika kaynatılıp soğumaya bırakıldı. Aseto orsein soğuduktan sonra en az üç kere orta kalınlıktaki (0,26 mm) filtre kağıdında süzdürüldü.

Sölomosit eldesi için 400 ml solüsyon hazırlandı. Solüsyonu hazırlamak için hassas terazide 1000mg EDTA, 4000mg guaiacol gliseril ether, 31,5g salin tartıldı. 5,20ml ethanol eklenerek distile su ile 400ml'ye tamamlandı (%5 ethanol, 2,5mg/ml EDTA, 10mg/ml guaiacol gliseril ether, %95 salin).

NMP (normal erime noktalı) agaroz hazırlamak için önce 1g NMP hassas terazide tartıldı daha sonra 100ml distile su ilave edilerek mikro dalga fırında çözdürüldü. pH değeri 7,3 olarak ayarlandı. Yapılan her deney için taze hazırlandı.

LMP (düşük erime noktalı) agaroz hazırlamak için önce 8g LMP hassas terazide tartıldı daha sonra 100ml PBS ilave edilerek mikro dalga fırında çözdürüldü. Yapılan her deney için taze hazırlandı.

200ml liziz solüsyonu için hassas terazide 7,44g Na<sub>2</sub>EDTA, 29,25g NaCl ve 0,242g Trizma base tartıldıktan sonra 20ml DMSO eklendi. %1 Triton-x-100 eklenerek solüsyonun pH'ı 10 olarak ayarlandı (100 mM EDTA-Na<sub>2</sub>, 2,5M NaCl, 10mM Trizma-base ve %10 DMSO).

DNA'nın çözülmesinde kullanılan elektroforez tamponu hazırlamak için 0,372g EDTA hassas terazide tartıldı ve 700ml distile su içine ilave edildi. Manyetik karıştırıcıda çözdürüldükten sonra hassas terazide tartılan 12g NaOH çözeltiliye eklendi. Çözdürülme işleminden sonra 1l distile suya tamamlandı (pH>13). Yapılan her deney için taze hazırlandı.

Nötralizasyon işlemi için 2mg PBS 200ml distile su içinde çözdürülerek hazırlandı.

Floresan mikroskopta çekirdekleri görüntülemek için etidyum bromür'den 2µl alınarak 998µl distile su ile karıştırıldı.

### **3.3.9. Verilerin istatistiksel analizi**

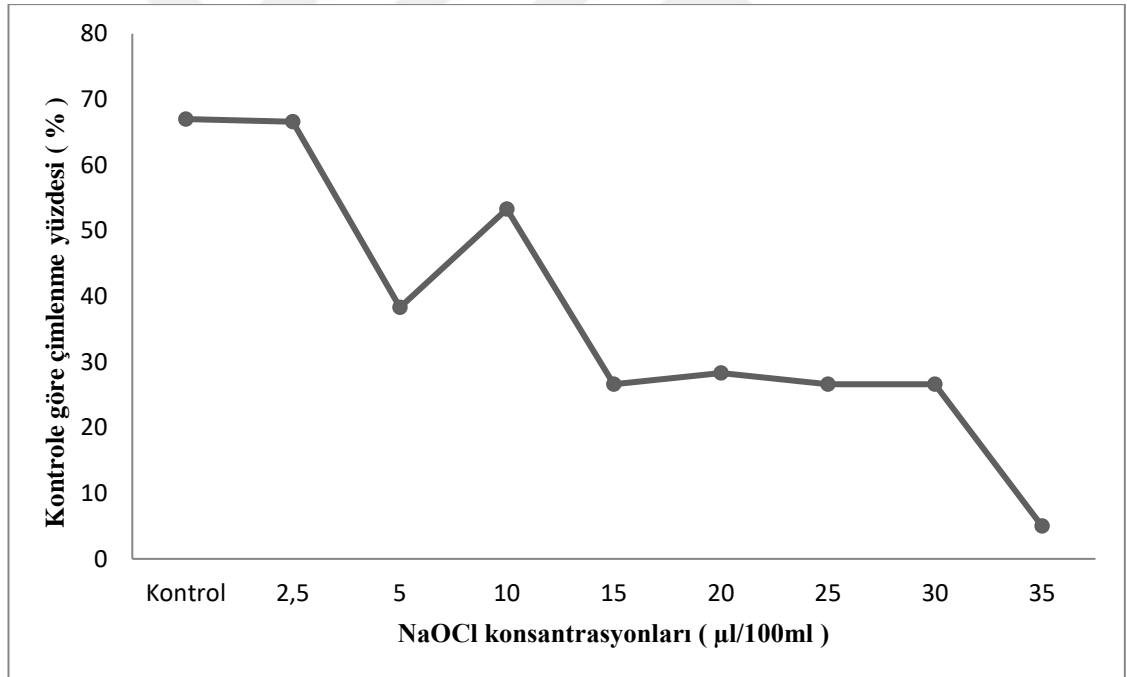
Çalışmalar sonucu elde edilen veriler arasındaki farklılığı tespit edebilmek için SPSS programı kullanılarak ANOVA (tek yönlü varyans analizi) yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun (Test of Normality – Shapiro Wilk) tespiti yapıldıktan sonra varyanslara homojenlik testi (Test of Homogeneity of Variances – Levene Statistic) uygulandı. Araştırma verileri için Tukey testi yapıldı.



#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

##### 4.1. *Hordeum vulgare*'de NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA Uygulamasının Tohum Çimlenme Yüzdesi ve Kök Uzunluğuna Etkisi

NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA uygulaması *H. vulgare* çimlenme yüzdesi ve kök uzunlukları üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu tespit edildi. Her konsantrasyon için 20 adet tohum çimlendirildi. Deneyler üç tekrarlı gerçekleştirildiği için kullanılan toplam tohum sayısı 60'tır. Yapılan deneyler sonucunda tüm NaOCl konsantrasyonlarının çimlenme yüzdesine negatif etki gösterdiği tespit edildi (Şekil 4.1).

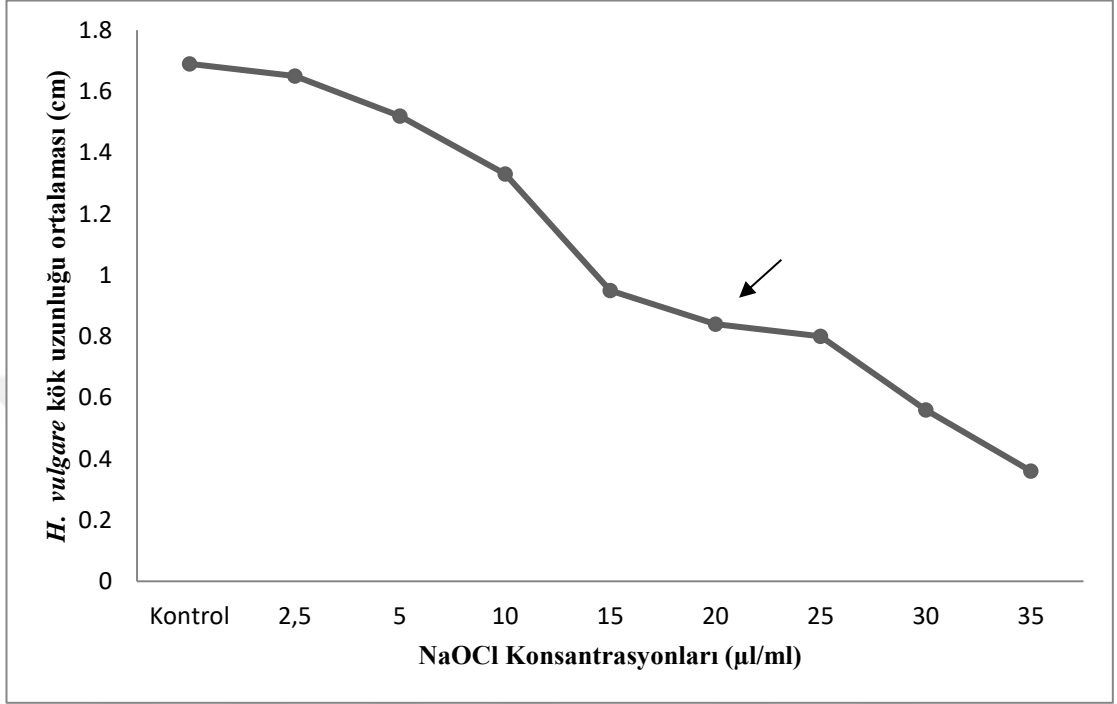


Şekil 4.1. NaOCl konsantrasyonlarının *H. vulgare* tohumları üzerindeki çimlenme yüzdesine etkisi

NaOCl uygulaması, *H. vulgare*'nin büyümesi üzerinde belirgin bir olumsuz etkiye sahiptir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, NaOCl' in EC50 değeri 20 µl/ml olarak belirlendi (Şekil 4.2). NaOCl uygulamasından 72 saat sonra *H. vulgare* 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları Tablo 4.1' de gösterildi.



*H. vulgare* kök uzunluğu ortalaması en az 35µl/ml, en fazla ise 2,5µl/ml NaOCl konsantrasyonlarında tespit edildi. NaOCl konsantrasyonu arttıkça *H. vulgare* kök uzunluğu ortalamasında belirgin azalma gözlemlendi.



Şekil 4.2. *H. vulgare* tohumlarına NaOCl uygulamasının kök uzunluğu ortalamasına etkisi. Ok EC50 değerini gösterir

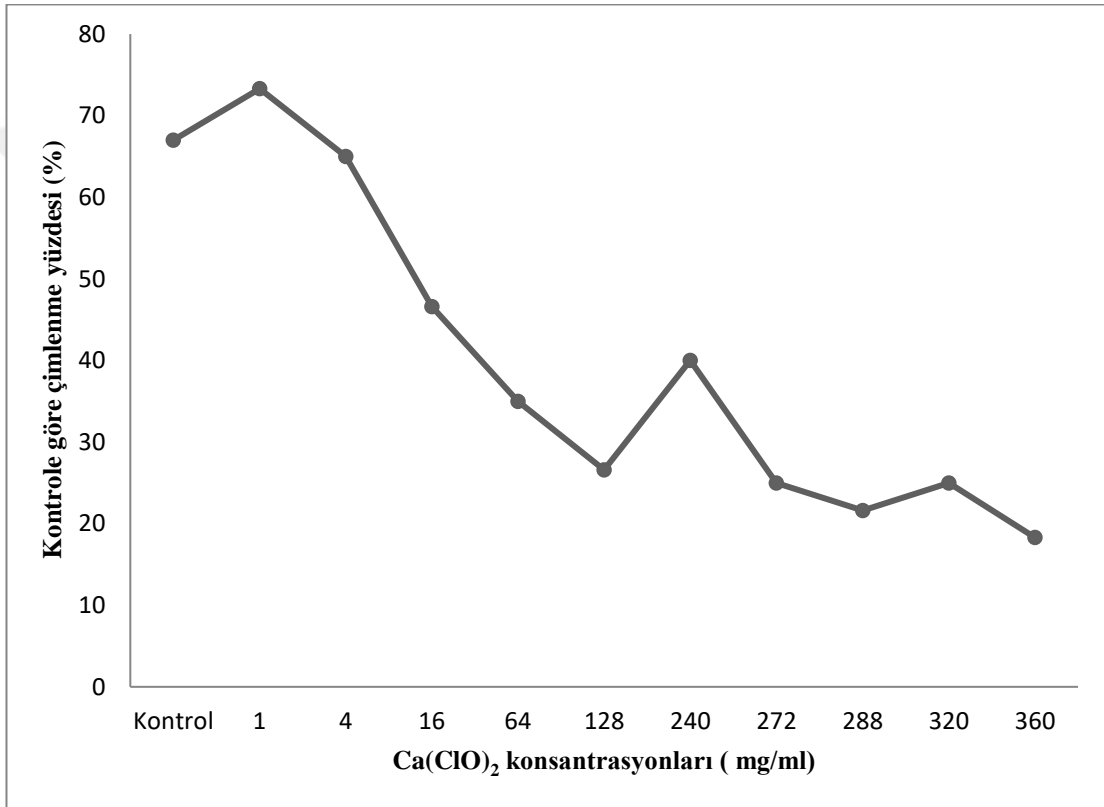
Tablo 4.1. NaOCl uygulamasından 72 saat sonra *H. vulgare* 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları

NaOCl Konsantrasyonları (µl/ml)	Kök Uzunluğu Ort. (cm)	P değeri
Kontrol	1,69 ± 0,10	-
2,5	1,65 ± 0,40	0.999
5	1,52 ± 0,47	0.999
10	1,33 ± 0,01	0.710
15	0,95 ± 0,21	0.022*
20	0,84 ± 0,06	0.005*
25	0,80 ± 0,25	0.003*
30	0,56 ± 0,03	0.000*
35	0,36 ± 0,31	0.000*

\*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu veriler için Tukey testi uygulandı.

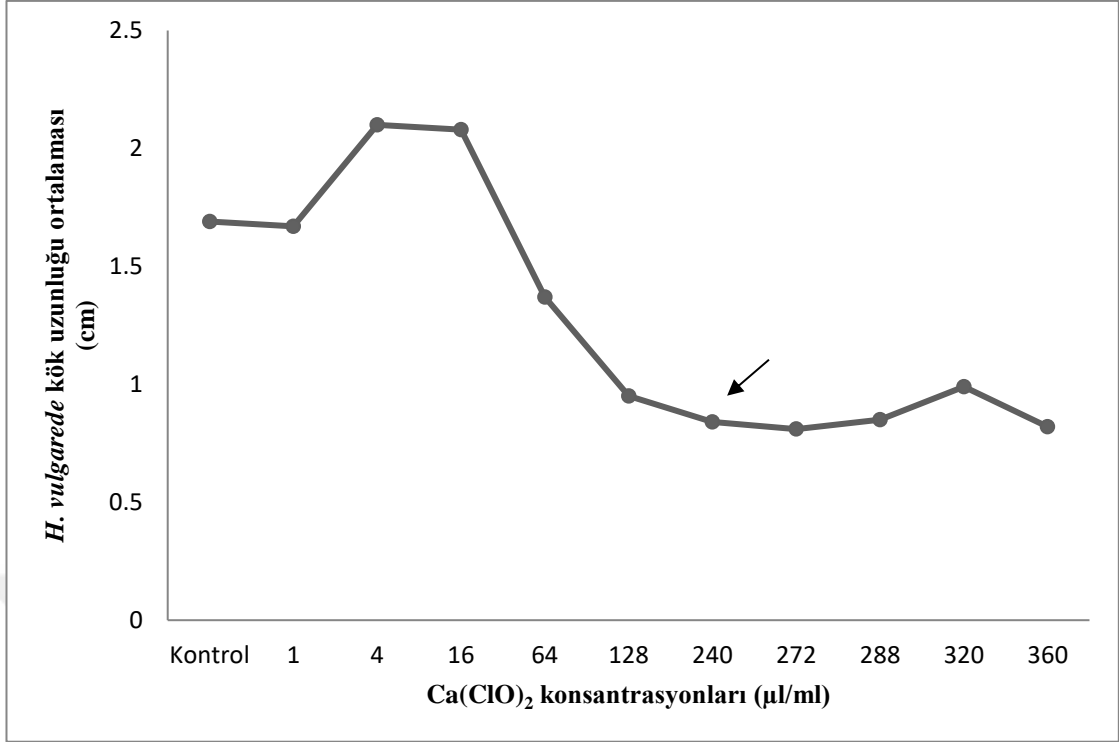
*H. vulgare* tohumlarındaki kök uzunluğu ortalamaları kontrol ve artan NaOCl konsantrasyonlarına göre en düşük 0,36 cm ve en yüksek 1,69 cm olarak tespit edildi. Uygulama konsantrasyonları olarak NaOCl için 10 µl/ml (EC50/2), 20 µl/ml (EC50) ve 40 µl/ml (2xEC50) olmak üzere üçer farklı konsantrasyon kullanılarak deneylere devam edildi.

Yapılan deneyler sonucunda çimlenme yüzdesi artan Ca(ClO)<sub>2</sub> konsantrasyonuna paralel olarak düştüğü gözlemlendi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Ca(ClO)<sub>2</sub> konsantrasyonlarının *H. vulgare* tohumları üzerindeki çimlenme yüzdesine etkisi

Ca(ClO)<sub>2</sub> uygulaması, *H. vulgare*'nin büyümesi üzerinde belirgin bir olumsuz etkiye sahiptir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Ca(ClO)<sub>2</sub>'in EC50 değeri 240 mg/ml olarak belirlendi (Şekil 4.4). Ca(ClO)<sub>2</sub> uygulamasından 72 saat sonra *H. vulgare* 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları Tablo 4.2' de gösterildi. *H. vulgare* kök uzunluğu ortalaması en az 272 mg/ml, en fazla ise 4 mg/ml Ca(ClO)<sub>2</sub> konsantrasyonlarında tespit edildi. Ca(ClO)<sub>2</sub> konsantrasyonu arttıkça *H. vulgare* kök uzunluğu ortalamasında belirgin azalma gözlemlendi.



Şekil 4.4. *H. vulgare* tohumlarına  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  uygulamasının kök uzunluğu ortalamasına etkisi. Ok EC50 değerini gösterir

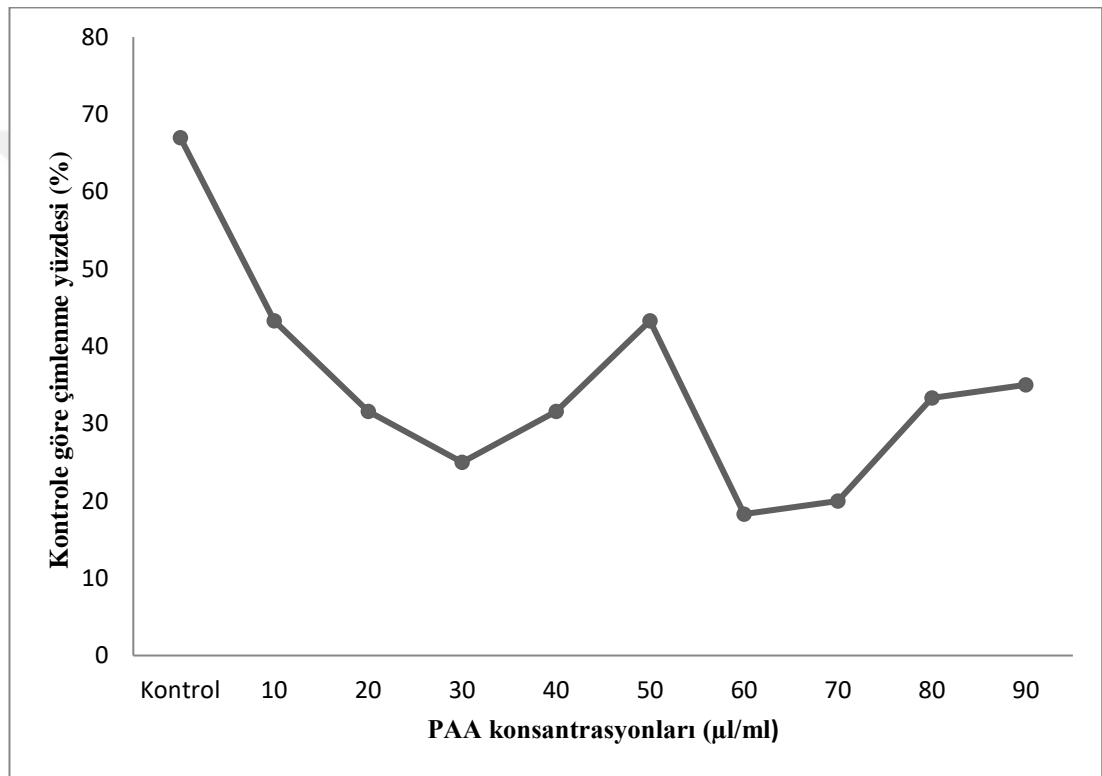
Tablo 4.2.  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  uygulamasından 72 saat sonra *H. vulgare* 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları

CAClO <sub>2</sub> Konsantrasyonları (mg/ml)	Kök Uzunluğu Ort. (cm)	P değeri
Kontrol	1,69 ± 0,10	-
1	1,67 ± 0,20	0.999
4	2,10 ± 0,20	0.175
15	2,08 ± 0,30	0.221
64	1,37 ± 0,10	0.782
128	0,95 ± 0,10	0.005*
240	0,84 ± 0,10	0.001*
272	0,81 ± 0,15	0.000*
288	0,85 ± 0,10	0.001*
320	0,99 ± 0,30	0.009*
360	0,82 ± 0,30	0.001*

\*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu veriler için Tukey testi uygulandı.

*H. vulgare* tohumlarındaki kök uzunluğu ortalamaları kontrol ve artan  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  konsantrasyonlarına göre en düşük 0,81 cm ve en yüksek 2,1 cm olarak tespit edildi. Uygulama konsantrasyonları olarak  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  için 120  $\mu\text{l/ml}$  ( $\text{EC}_{50}/2$ ), 240  $\mu\text{l/ml}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) ve 480  $\mu\text{l/ml}$  ( $2\times\text{EC}_{50}$ ) olmak üzere üçer farklı konsantrasyon kullanılarak deneylere devam edildi.

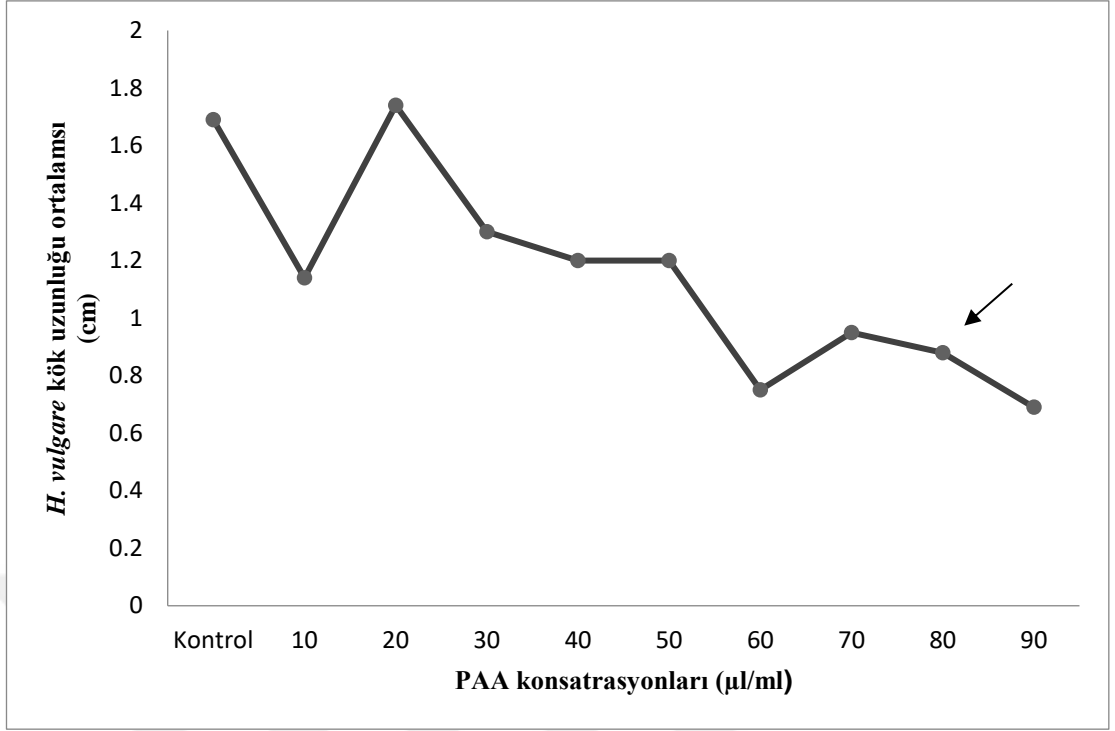
Yapılan deneyler sonucunda PAA'nın *H. vulgare* çimlenme yüzdesini olumsuz etkilediği gözlemlendi (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. PAA konsantrasyonlarının *H. vulgare* tohumları üzerindeki çimlenme yüzdesine etkisi

PAA uygulaması, *H. vulgare*'de tohum çimlenmesi üzerinde belirgin bir olumsuz etkiye sahip olduğu tespit edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, PAA 'in  $\text{EC}_{50}$  değeri 80  $\mu\text{l/ml}$  olarak belirlendi (Şekil 4.6). PAA uygulamasından 72 saat sonra *H. vulgare* 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları Tablo 4.3' de gösterildi.

*H. vulgare* kök uzunluğu ortalaması en az 90 $\mu\text{l/ml}$ , en fazla ise 20 $\mu\text{l/ml}$  PAA konsantrasyonlarında tespit edildi. PAA konsantrasyonu arttıkça *H. vulgare* kök uzunluğu ortalamasında belirgin azalma gözlemlendi.



Şekil 4.6. *H. vulgare* tohumlarına PAA uygulamasının kök uzunluğu ortalamasına etkisi. Ok EC50 değerini gösterir

Tablo 4.3. PAA uygulamasından 72 saat sonra *H. vulgare* 'de kök uzunluğu ortalaması(cm) sonuçları

PPA Konsantrasyonları (µl/ml)	Kök Uzunluğu Ort. (cm)	P değeri
Kontrol	1,69 ± 0,10	-
10	1,14 ± 0,20	0.277
20	1,74 ± 0,30	0.999
30	1,30 ± 0,20	0.843
40	1,20 ± 0,20	0.592
50	1,20 ± 0,40	0.571
60	0,75 ± 0,10	0.004*
70	0,95 ± 0,10	0.043*
80	0,88 ± 0,40	0.019*
90	0,69 ± 0,10	0.002*

\*p<0,05 istatikselsel olarak anlamlıdır. Bu veriler için Tukey testi uygulandı.

*H. vulgare* tohumlarındaki kök uzunluğu ortalamaları kontrol ve artan PAA konsantrasyonlarına göre en düşük 0,69 cm ve en yüksek 1,74 cm olarak tespit edildi.

Uygulama konsantrasyonları olarak PAA için 40 µl/ml (EC50/2), 80 µl/ml (EC50) ve 160 µl/ml (2xEC50) olmak üzere üçer farklı konsantrasyon kullanılarak deneylere devam edildi.

Elde edilen verilere göre, NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA *H. vulgare* tohumlarının çimlenmesini olumsuz yönde etkiledi. Konsantrasyon arttıkça arpa kökü uzunluğunda azalma tespit edildi. Hücre bölünmesindeki bu azalma, bitkinin kullandığımız dezenfektanlar ile muamelesi sonrası metabolizmadaki bazı bozulmalar sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bitki köklerinin meristematik hücrelerinde bölünme oranlarının azalması ve büyüme oranlarındaki negatif etki birbiriyle bağlantılıdır.

#### 4.2. NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA Uygulamasının *H. vulgare*'de Mitoz Bölünme Üzerine Etkileri

Kullanılan her kimyasal ve konsantrasyon için mitotik indeks, ayrı ayrı hesaplandı. Üç günlük ortalama mitotik indeks oranı, çimlendirilen *H. vulgare* tohumlarında 1000 ve 2000 µl NaOCl konsantrasyonlarda sırasıyla 8,75 ve 8,16 (Tablo 4.1), 120, 240 ve 480 mg/ml (Tablo 4.2), Ca(ClO)<sub>2</sub> konsantrasyonlar sırasıyla 4,5, 4,11 ve 3, 39, 400 ve 80 µl PAA konsantrasyonlarında ise 4,04 ve 1,39 olarak bulundu (Tablo 4.3). Bu veriler artan konsantrasyonların hücre bölünmesine karşı inhibisyon etkisi yaptığını göstermektedir.

Tablo 4.4. NaOCl konsantrasyonlarının *H. vulgare* kök ucu hücrelerindeki mitotik indekse etkileri

<i>H. vulgare</i>			
NaOCl Konsantrasyon µl/ml	Sayılan Toplam Hücre Sayısı	Bölünen Hücre Sayısı	Mitotik İndeks (%)
Kontrol	1159	275	23.7
10	1165	102	8.75
20	1163	95	8.16
40	-	-	-

Tablo 4.5. Ca(ClO)<sub>2</sub> konsantrasyonlarının *H. vulgare* kök ucu hücrelerindeki mitotik indekse etkileri

<i>H. vulgare</i>			
Ca(ClO) <sub>2</sub> Konsantrasyon mg/l	Sayılan Toplam Hücre Sayısı	Bölünen Hücre Sayısı	Mitotik İndeks (%)
Kontrol	1159	275	23.7
120	1161	73	4.5
240	1240	51	4.11
480	1121	38	3.39

Tablo 4.6. PAA konsantrasyonlarının *H. vulgare* kök ucu hücrelerindeki mitotik indekse etkileri

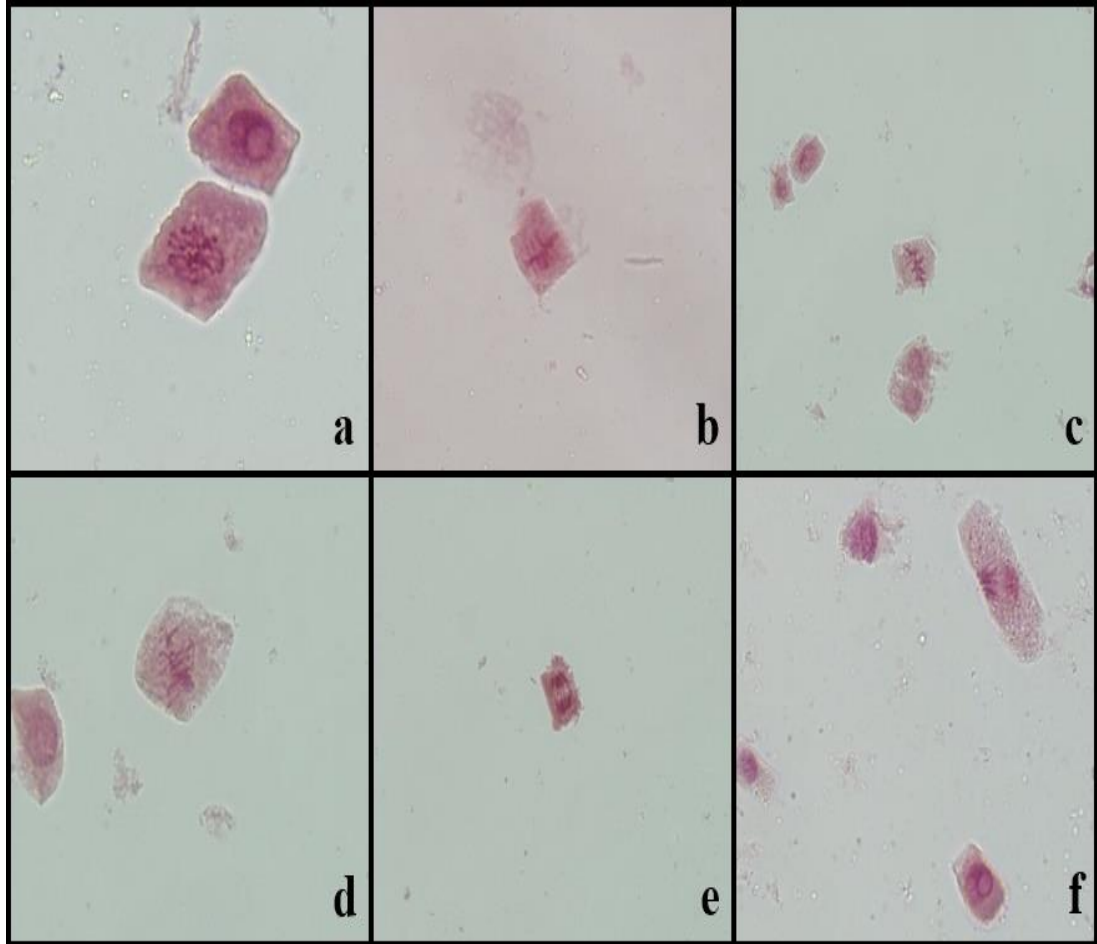
<i>H. vulgare</i>			
PAA Konsantrasyon µl/ml	Sayılan Toplam Hücre Sayısı	Bölünen Toplam Hücre Sayısı	Mitotik İndeks (%)
Kontrol	1159	275	23.7
40	1140	46	4.04
80	1222	17	1.39
160	-	-	-

NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA tüm konsantrasyonları mitotik indeksi azalttı. Mitotik indeksin azalması kullanılan dezenfektanların *H. vulgare* kök hücrelerine sitotoksik etki gösterdiklerinin göstergesidir. Mitotik indeksteki azalma G1 fazının bloke edilmesi, S fazında DNA sentezinin baskılanması (Gupta ve diğ., 2018; Sudhakar vd., 2001) gibi hücre döngüsünün bozulmasından ya da mitotik faz süre değişikliklerinden (Saxena ve diğ., 2005) kaynaklanabilir. Ayrıca hücre döngüsünde görev alan spesifik protein sentezinin bozulması (Hidalgo ve diğ., 1989) ve ROS oluşumu da (Livanos ve diğ., 2017) benzer etki yapmaktadır.

### 4.3. NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA Uygulamasının *H. vulgare*'de Mitoz Bölünmede Kromozom Anormallikleri Üzerine Etkisi

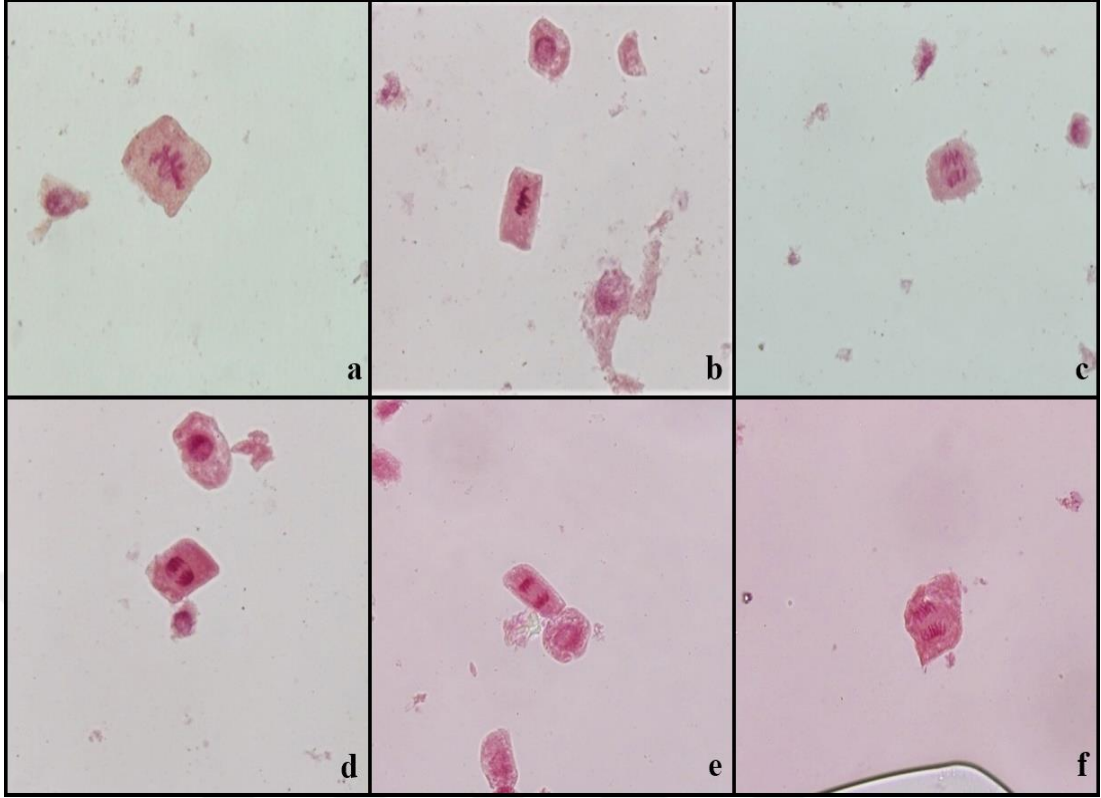
*H. vulgare* bitkisinin kök ucu hücrelerinde, mitoz bölünmenin farklı evrelerinde gözlenen farklı anormallikler incelendi. Her bir kromozom anormalliğinin çeşidi tek tek belirlendi.

NaOCl' un EC50 değeri 20 µl/ml olarak belirlenmiştir. Kontrol, 10, 20, 40 µl/ml NaOCl konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks üzerine etkisini belirlemek için uygulanan her konsantrasyon için en az 1000 hücre sayıldı. Tablo 4.4 'de NaOCl artan konsantrasyonuna bağlı mitotik indeksin azaldığı tespit edildi. Her konsantrasyon fotoğraflandı (Şekil 4.7 ve 4.8).



Şekil 4.7. 10 µl/ml NaOCl konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri; a. Profazda vakuol oluşumu, b ve c. Metafazda kromozom yapışması, d. Metafazda eksen kayması ve kalgın kromozom, e. Anafaz köprüsü, f. Anafazda kutup ekseninde kayma



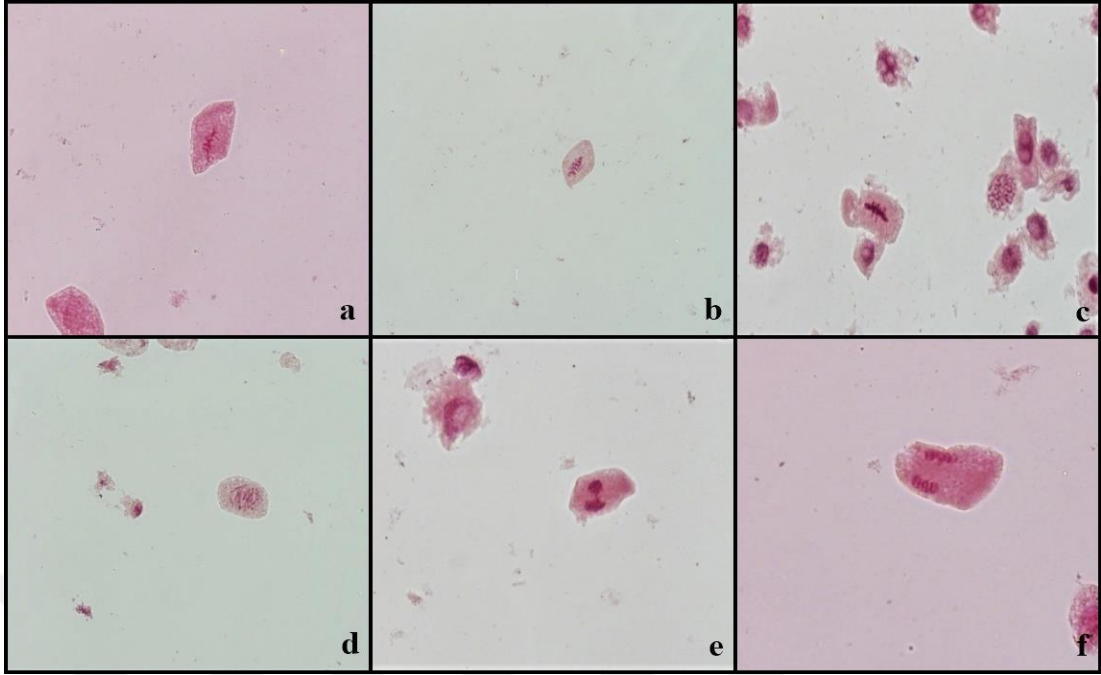


Şekil 4.8. 20 µl/ml NaOCl konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri; a. Metafazda kromozom yapışması, b. Metafazda eksen kayması, c. Anafaz köprüsü, d. Anafaz köprüsü, e. Telofaz kalgın kromozom, f. Telofazda eksen kayması

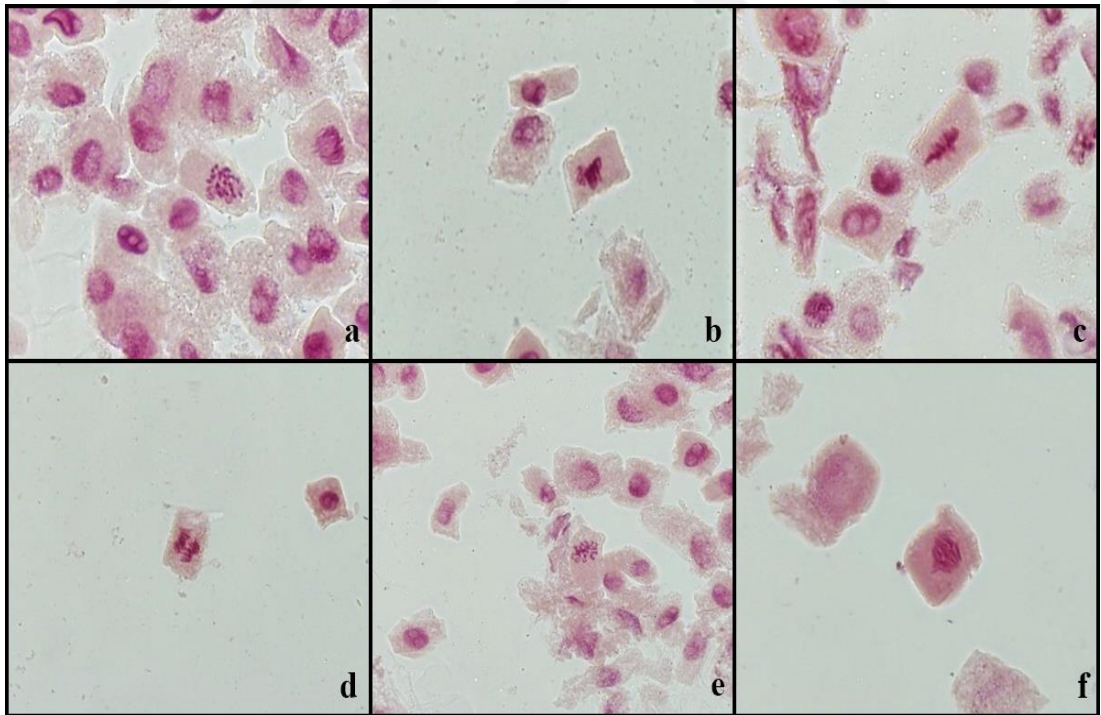
10 µl/ml NaOCl konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde en fazla gözlenen kromozom anormallikleri; profazda vakuol oluşumu, metafazda kromozom yapışması, eksen kayması ve kalgın kromozom, anafaz köprüsü ve kutup ekseninde kayma oldu.

20 µl/ml NaOCl konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde en fazla gözlenen kromozom anormallikleri; metafazda kromozom yapışması ve eksen kayması, anafaz köprüsü, telofaz kalgın kromozom ve eksen kayması oldu.

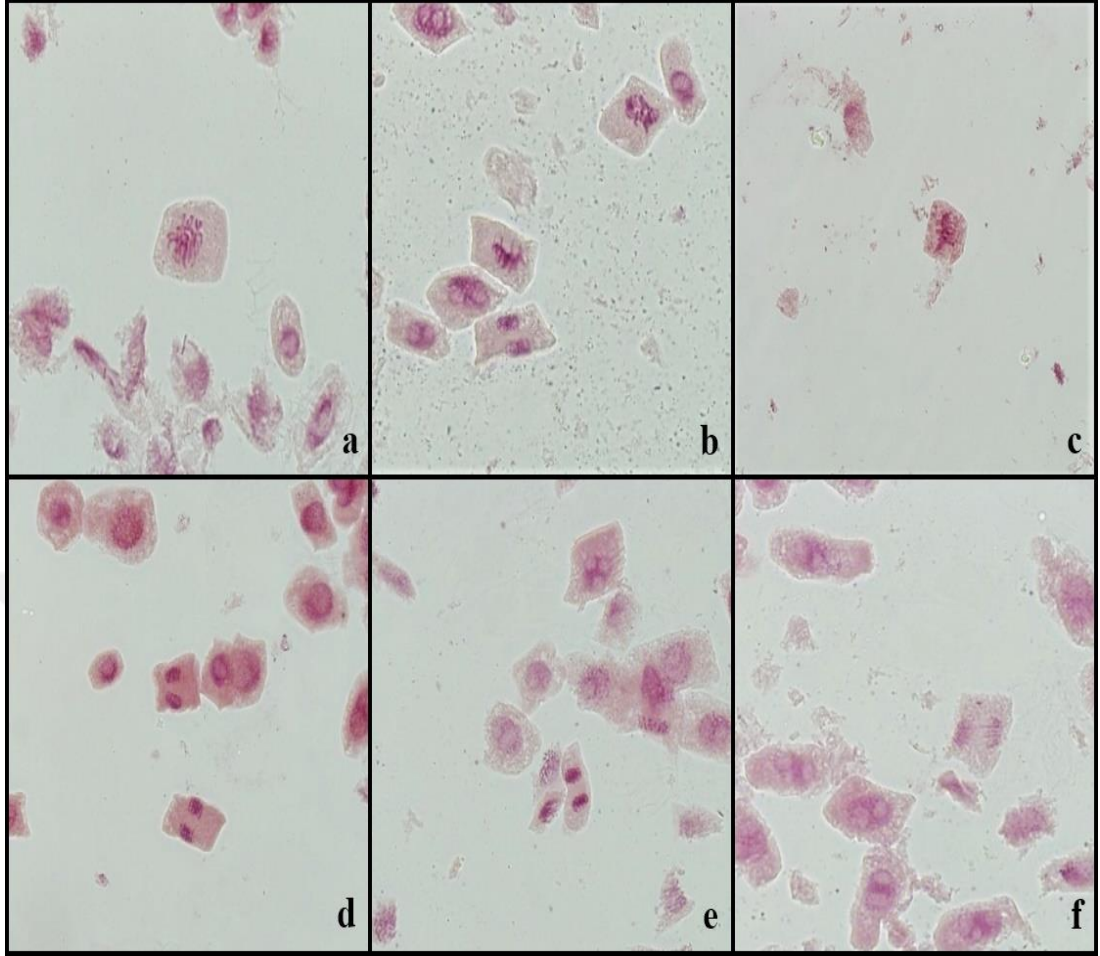
Ca(ClO)<sub>2</sub>' nin EC50 değeri 240 mg/ml olarak bulundu. Kontrol, 120, 240, 480 mg/ml Ca(ClO)<sub>2</sub> konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks üzerine etkisini belirlemek için uygulanan her konsantrasyon için en az 1000 hücre sayıldı. Tablo 4.5' de Ca(ClO)<sub>2</sub> artan konsantrasyonuna bağlı mitotik indeksin azaldığı tespit edildi. Her konsantrasyon ayrı ayrı fotoğraflandı (Şekil 4.9 ,4.10 ve 4.11).



Şekil 4.9. 120 mg/ml  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri; a ve b. Metafazda eksen kayması ve kromozomlarda yapışıklık, c. Metafazda yapışıklık, d. Düzensiz anafaz, e. Telofazda köprü ve hücre deformasyonu, f. Telofazda hücre deformasyonu



Şekil 4.10. 240 mg/ml  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri; a. C-mitoz, b. Metafaz kalın kromozom, c. Metafaz eksen kayması ve yapışıklık, d. Anafazda köprü oluşumu ve eksen kayması e. C-mitoz, f. Anafazda köprü oluşumu ve kromozom yapışması



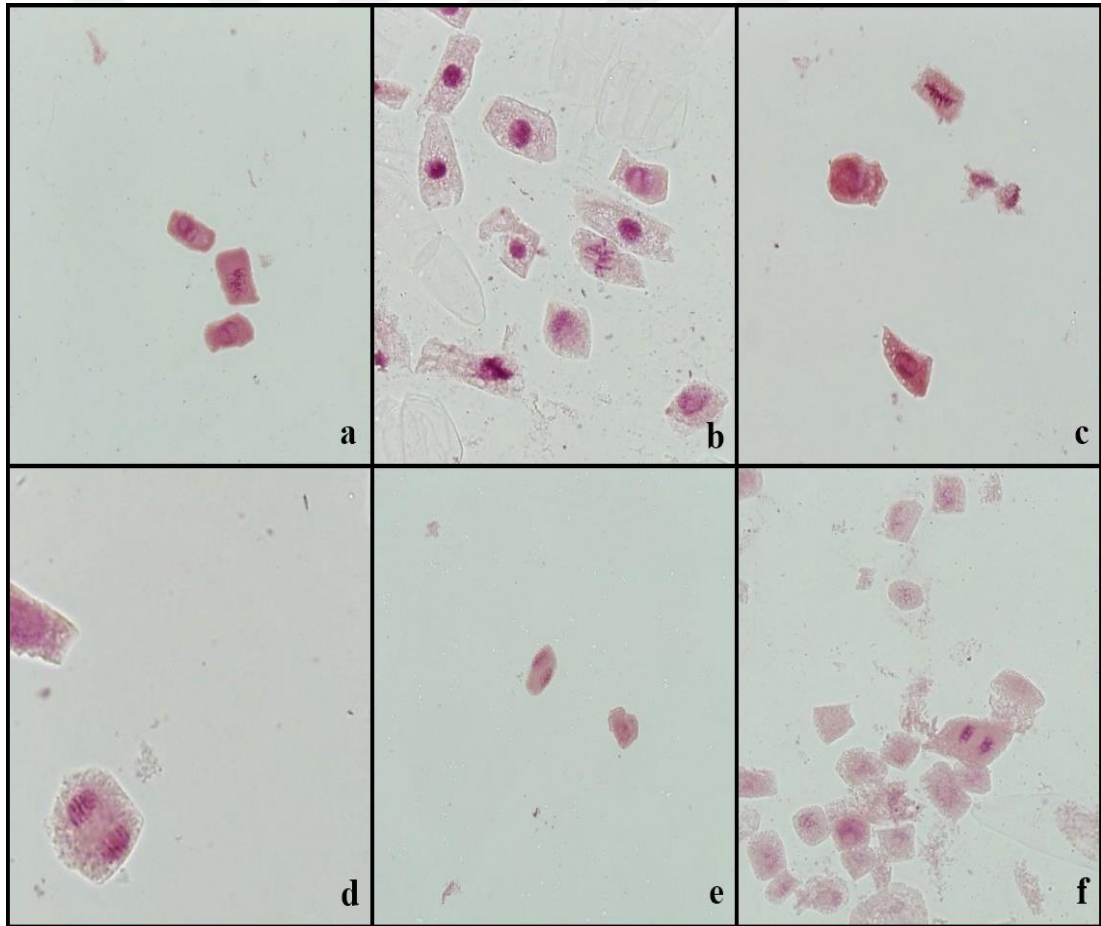
Şekil 4.11. 480 mg/ml  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri; a. C-mitoz başlangıcı, b. Profazda kromozom deformasyonu ve metafazda eksen kayması, c. Metafazda eksen kayması, d. Telifazda eksen kayması, e. Profazda kromozom deformasyonu ve interfazda vakuolizasyon, f. Telifazda köprü oluşumu, interfazda vakuolizasyon ve hücre deformasyonu

120 mg/ml  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde en fazla gözlenen kromozom anormallikleri; metafazda eksen kayması ve kromozomlarda yapışıklık, düzensiz anafaz, telifazda köprü ve hücre deformasyonu oldu.

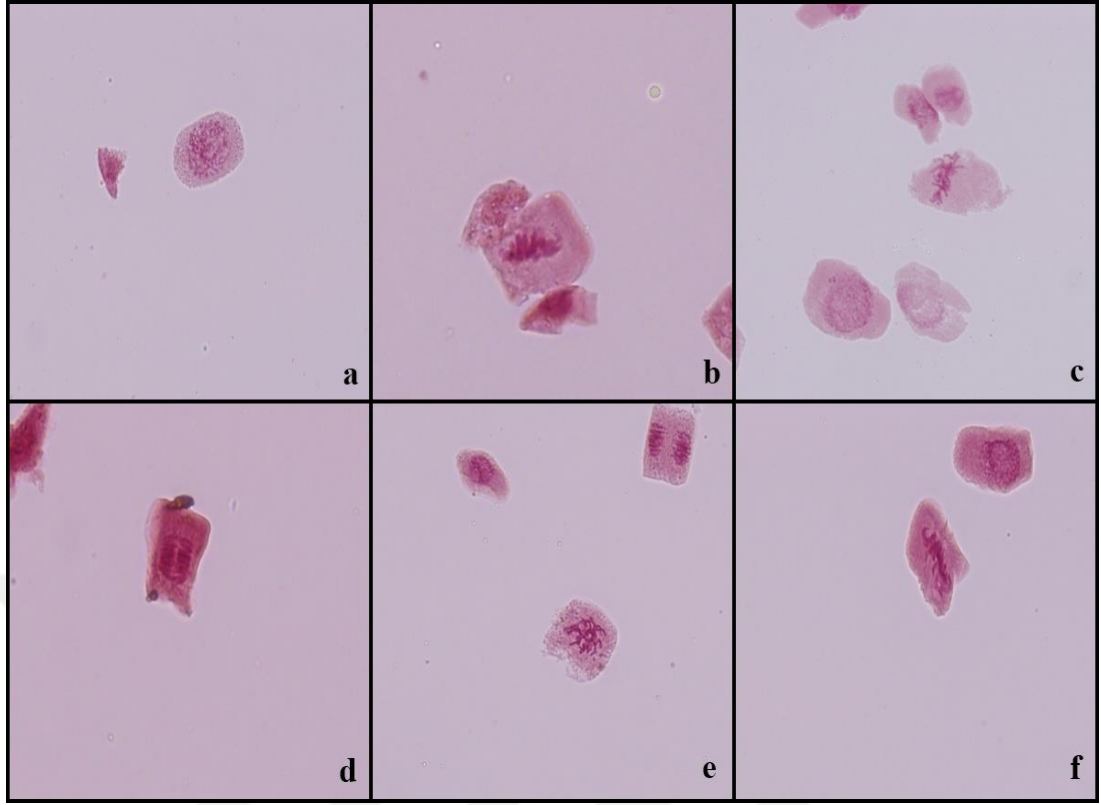
240 mg/ml  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde en fazla gözlenen kromozom anormallikleri; C-mitoz, metafaz kalgın kromozom, metafaz eksen kayması ve yapışıklık, anafazda köprü oluşumu, eksen kayması ve kromozom yapışması oldu.

480 mg/ml  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde en fazla gözlenen kromozom anormallikleri; C-mitoz başlangıcı, profazda kromozom deformasyonu ve metafazda eksen kayması, metafazda eksen kayması, telofazda eksen kayması, profazda kromozom deformasyonu ve interfazda vakuolizasyon, telofazda köprü oluşumu, interfazda vakuolizasyon ve hücre deformasyonu oldu.

PAA' nin EC50 değeri 80  $\mu\text{l/ml}$  olarak bulundu. Kontrol, 40, 80, 160 mg/ml PAA konsantrasyonlarının kök ucu meristem hücrelerine ait mitotik indeks üzerine etkisini belirlemek için uygulanan her konsantrasyon için en az 1000 hücre sayıldı. Tablo 4.6 'da görüldüğü gibi PAA konsantrasyonlarına bağlı olarak mitotik indeksin azaldığı görüldü. Her konsantrasyon fotoğraflandı (Şekil 4.12 ve 4.13).



Şekil 4.12. 40  $\mu\text{l/ml}$  PAA konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri; a. Metafazda eksen kayması b. İnterfazda vakuolizasyon, hücre deformasyonu ve metafazda kalgın kromozom, c. İnterfazda vakuolizasyon ve hücre deformasyonu, anafazda köprü oluşumu, d. Telofazda vakuolizasyon, e ve f. Telofazda eksen kayması



Şekil 4.13. 80 µl/ml PAA konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde meydana gelen kromozom anormallikleri a. Poliploidi, b. Metafazda eksen kayması ve anormal hücreler, c. Metafaz eksen kayması, hücre zarında ve hücrelerde deformasyon, d. Anafazda köprü oluşumu, e. C-mitoz ve vakuolizasyon, f. Metafazda eksen kayması ve kromozom yapışması

40 µl/ml PAA konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde en fazla gözlenen kromozom anormallikleri; metafazda eksen kayması, ve kalın kromozom, interfazda vakuolizasyon, hücre deformasyonu anafazda köprü oluşumu, telofazda vakuolizasyon ve eksen kayması oldu.

80 µl/ml PAA konsantrasyonunda çimlendirilen *H. vulgare* kök ucu hücrelerinde en fazla gözlenen kromozom anormallikleri poliploidi, metafazda eksen kayması, kromozom yapışması ve anormal hücreler, hücre zarında ve hücrelerde deformasyon, anafazda köprü oluşumu, C-mitoz ve vakuolizasyon oldu.

Kontrole göre artan NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA konsantrasyonları kromozom anormalliklerini arttırarak genotoksik etki gösterdi. Bazı kimyasal maddeler iğ ipliklerinin görevini yerine getirmesini önleyerek kromozomların kutuplara çekilmesini engelleyerek metafazı bloke eder. Kutuplara göç etmesi engellenen kromozomlar yapışık bir görüntü oluşturur (Camargo ve diğ., 2011). Kromozom

köprüsü evresinde kromotin ipliklerin kardeş kromatinlere tutunarak, geç anafaz veya telefoza kadar ayrılmaması sonucunda meydana gelir. Kromatinler kırılabilir veya anafazda birleşik görünebilirler (Kumar ve Srivastava, 2011). C-mitoz kullandığımız dezenfektanların toksisitesi sonucunda iğ ipliklerinde meydana getirdiği hasar sonucunda ortaya çıkabilir. Anafaz köprüleri kromozomların kırılması, kromotit değişimi veya yapışkanlıktan dolayı oluşabilir (Luo ve diğ., 2004).

#### **4.4. NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA Uygulanan *E. fetida*' da LC50 Değeri Belirlenmesi**

NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA uygulaması, *E. fetida*'nın büyümesi üzerinde belirgin bir olumsuz etkiye sahiptir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, NaOCl'in LC50 değeri 30 µl/ml , Ca(ClO)<sub>2</sub>'in 8 mg/ml, PAA'in 25 µl/ml olarak belirlendi.

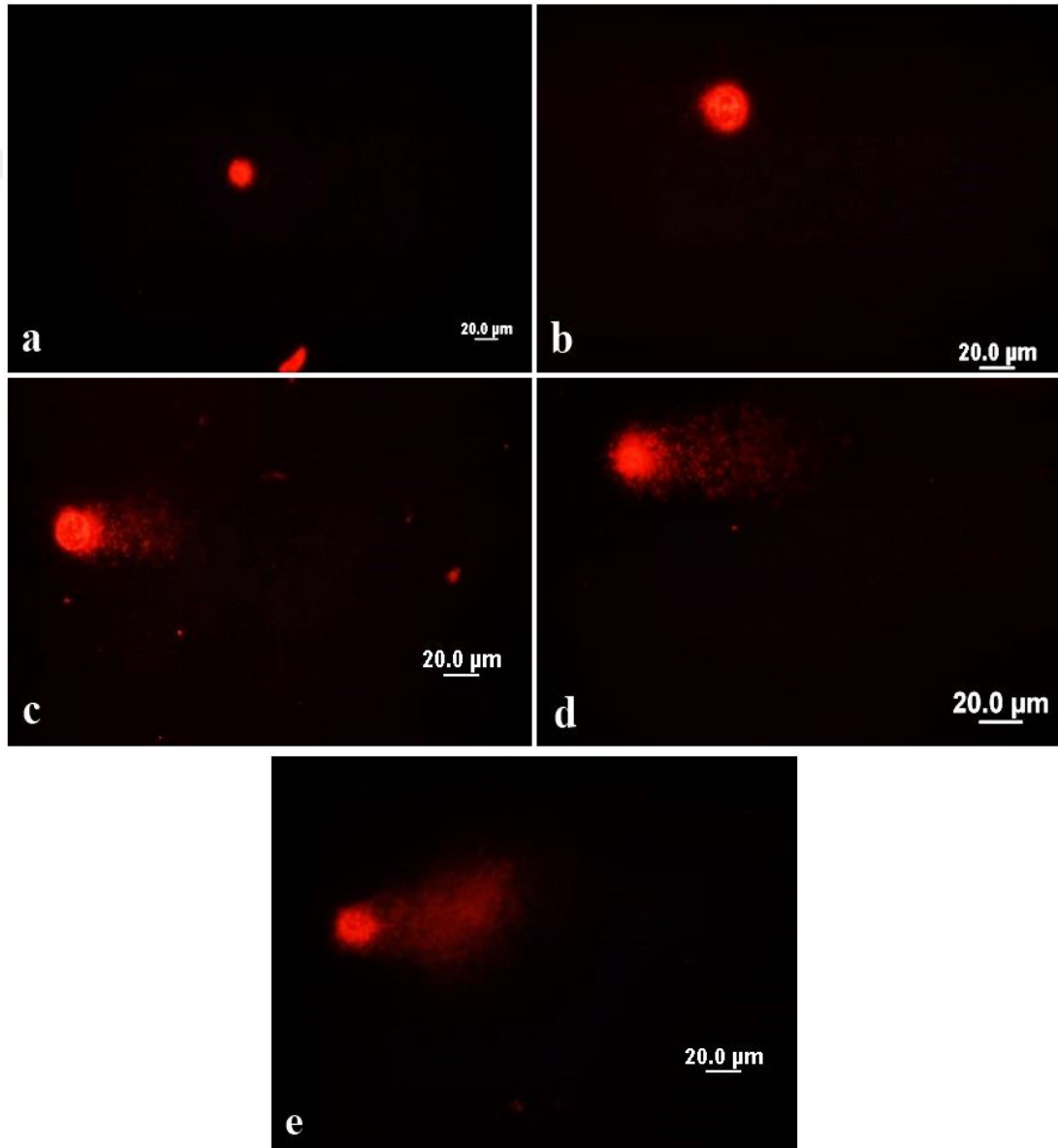
Düşük konsantrasyonlarda kullanılan NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA, *E. fetida* üzerinde toksik etki gösterdi ve bu dezenfektanlar arasında en yüksek toksisite Ca(ClO)<sub>2</sub> uygulamasında tespit edildi. Kullanılan kimyasalların fiziksel ve kimyasal özelliklerinin birbirinden farklı olması canlılar üzerinde yaptığı etkinin de farklı olmasına neden olmuştur. Yapılan başka bir çalışmada NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve ozonun içme suyu dağıtım sırasında çeliğe verdiği zarar araştırılmış. Ozon işleminin NaOCl ve Ca(ClO)<sub>2</sub>'e oranla daha az zarar verdiği belirtilmiştir. İçlerinden en çok olumsuz çevresel etkiyi Ca(ClO)<sub>2</sub> göstermiştir (Romanovski ve diğ., 2020).

Gestel ve Dis tarafından yapılan çalışmada, Cd (klorür), 3,4-dikloroanilin, pentaklorofenol için *E. fetida* LC50 değerleri sırasıyla 4,8 µgcm<sup>-2</sup>, 3,1 µgcm<sup>-2</sup> ve 1,8 µgcm<sup>-2</sup> olarak bildirmiştir (Gestel ve Dis, 1988). *E. fetida*'ya uygulanan LC50 (72 saat) teknik pestisit karbofuran doğrudan temasla akut ekotoksosite testinde LC50 24,58 mg/l bulunmuştur (Gestel ve Dis 1988).

#### **4.5. NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA Uygulanan *E. fetida*' da DNA Hasarının Comet Testi ile Belirlenmesi**

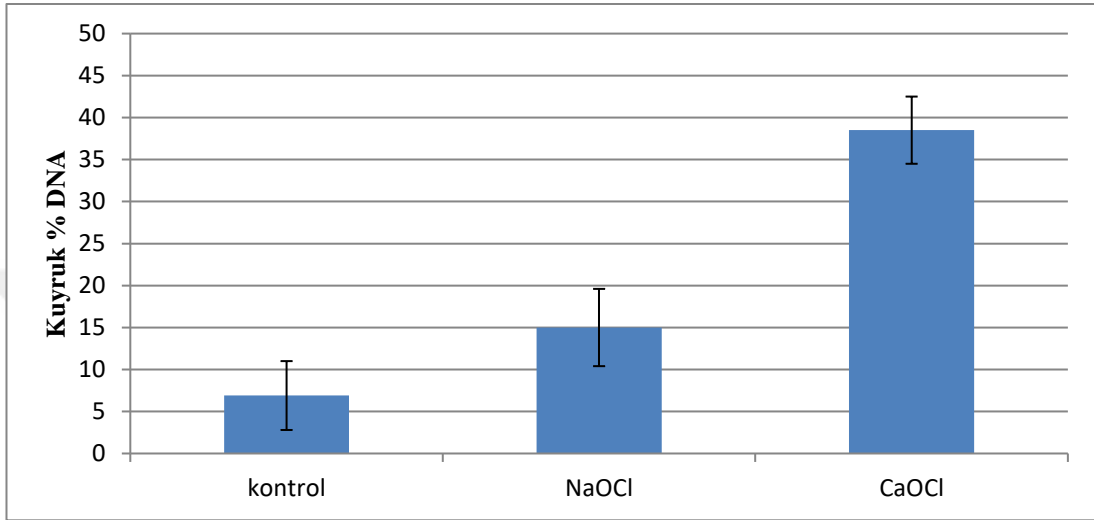
Genotoksitenin belirlenmesi için NaOCl ve Ca(ClO)<sub>2</sub> uygulamalarının sonunda sıklıkla tercih edilen alkali tek hücre jel elektroforezi yöntemi kullanıldı. Denemelerimiz sırasında, PAA yüksek toksisite gösterdiği ve sölomositlerin

ölümüne yol açtığı için comet çalışmalarına dahil edilmedi. Comet kontrol gruplarında Tip 0 ve Tip 1 olarak adlandırılan az DNA hasarlı çekirdekler gözlenirken, NaOCl uygulamasında Tip 2 ve Tip 3 DNA hasarı çoğunlukta görüldü, Ca(ClO)<sub>2</sub> uygulamasında ise daha çok Tip 3 ve Tip 4 DNA hasarı gözlemlendi. DNA hasarları fotoğraflandı (Şekil 4.14). Kontrol grubuna oranla NaOCl ve Ca(ClO)<sub>2</sub> uygulamasının DNA hasar derecelerinde artış görüldü. Ca(ClO)<sub>2</sub>'e DNA hasar derecesi NaOCl'e göre daha fazla olduğu tespit edildi.



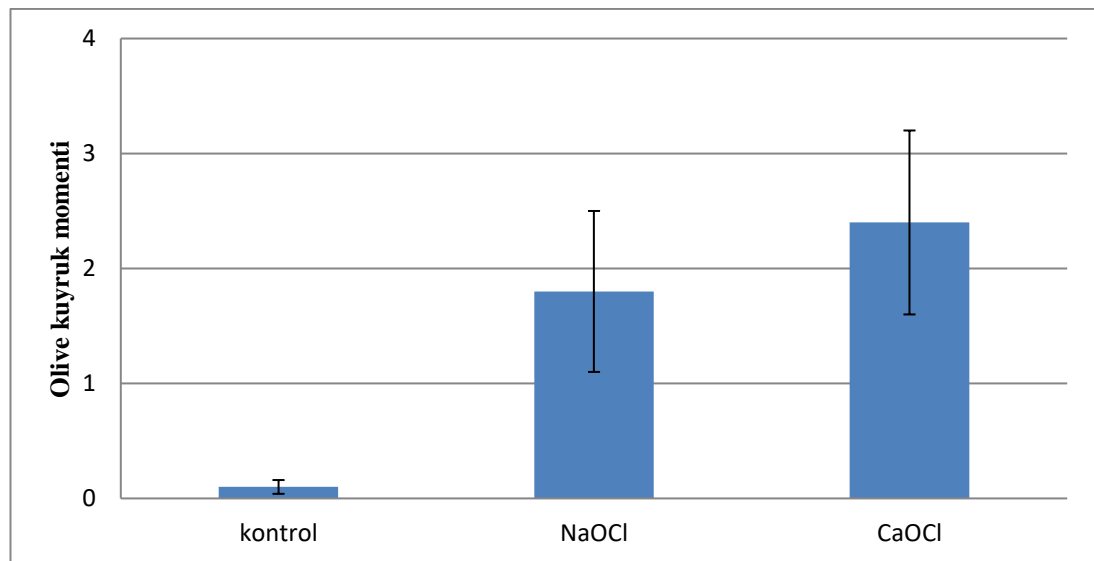
Şekil 4.14. Comet assay analiz görüntüleri; a. Tip 0 : Hatasız (kontrol), b. Tip 1 : Kuyruk < 0,5 (kontrol), c. Tip 2: Kuyruk > 0,5 (30 µl/ml NaOCl), d. Tip 3: Kuyruk baş çapından büyük (8 mg Ca(ClO)<sub>2</sub>), e. Tip 4: Kuyruk başın neredeyse 3 katı (8 mg Ca(ClO)<sub>2</sub>)

Kontrol grubu, NaOCl ve Ca(ClO)<sub>2</sub> uygulamalarının hücrelerdeki DNA hasarını saptamak için kuyruk DNA yüzdeleri karşılaştırıldı. Buna göre uygulama gruplarında, kontrolden anlamlı seviyede yüksek oranda DNA yüzdeleri saptandı. Uygulanan kimyasallardan Ca(ClO)<sub>2</sub>'te daha yüksek DNA yüzdesi ortalamasına sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. NaOCl ve Ca(ClO)<sub>2</sub> arasında kuyruk DNA %'lerinin karşılaştırılması

Dezenfektan uygulamalarından sonra oluşabilecek DNA hasarlarını saptamak için belirlediğimiz kuyruk DNA yüzdesi dışında Olive kuyruk momenti değerleri de hesaplandı. Olive kuyruk momentine ilişkin parametreler Şekil 4.16'da gösterildi. OTM değerleri Ca(ClO)<sub>2</sub>, NaOCl'e oranla artış gösterdi.



Şekil 4.16. NaOCl ve Ca(ClO)<sub>2</sub>'in etkilerinin OTM ile incelenmesi



Çalışmamıza benzer olarak *E. fetida* bağırsaklarında biriken mikroplastiklerin toksikolojik etkisini belirlemek için DNA kuyruk yüzdesi ve Olive kuyruk momenti parametreleri ile çalışılarak DNA hasarı belirlendi (Jiang ve diğ., 2020).

DNA onarım kapasitesini aşan düzeyde hasar oluştuğunda DNA hasarı kısa süreli deoksiribonükleotid trifosfat miktarı ve moleküler yapısında değişimlere, replikasyon işleminin aksamasına, transkripsiyon ve protein sentezinin inhibe edilmesine, proteolitik aktivitenin durmasına; uzun sürede ise mutasyona ve kromozom anormalliklerine neden olmaktadır (Dinçer ve Kankaya 2010).

Dünyada dezenfektan özelliğine sahip sodyum hipoklorit, zararlı maddeleri yok etmek amacıyla tarım, kimya endüstrisi, gıda endüstrisi, ilaç gibi endüstrilerde kullanılmaktadır (Manrique ve diğ., 2011). Ayrıca orkidelerin asimbiyotik çimlenmesinde sodyum hipoklorit, dezenfeksiyon %0,5 ile %3 konsantrasyonlarda tohumların çimlenmesini uyarmak için kullanılmaktadır (Mercado ve Contreras, 2017; Mercado, 2012; Salazar ve diğ., 2013). Sodyum hipoklorit toksik bir bileşik olması ve doğru bir şekilde kullanılmadığı takdirde doku etkileri gösterebilmektedir (Juarez ve Lucas, 2001).

Çalışmamızda C-mitoz, metafaz eksen kayması ve yapışıklık, kalgın kromozom, anafaz köprü, telofaz köprü, yanlış kutuplaşma ve kalgın kromozom, vakuolizasyon vb. gibi çeşitli kromozom anormallikleri belirlendi. Metal toksisite ve tolerans mekanizmalarını daha iyi anlamak için, farklı kadmiyum (Cd) konsantrasyonlarının *H. vulgare* kök ucu hücreleri üzerindeki toksik etkileri araştırılmış ve azalan mitotik indeks, anormal kromozomlar, C-mitoz, anafaz köprüleri ve kromozom yapışması rapor edilmiştir. Mitotik indeksteki azalma ve kromozom anormallikleri kök ucundaki kadmiyum emilimi ve birikim miktarına bağlı olduğu bildirilmiştir. Kadmiyuma bağlı kalan meristematik hücrelerdeki normal mikrotübül organizasyonunu bozarak, tübülün polimerazasyonunu doğrudan etkilediği bulunmuştur (Shi ve diğ., 2016). Hücredeki enzim inhibisyonu veya protein sentezindeki bir bozulma o hücrede olumsuz sonuçlara neden olabilir.

Sodyum hipokloritle (NaOCl) yapılan başka bir çalışmada *A. cepa* köklerinin apikal hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi değerlendirildi (Causil ve diğ., 2017). 5, 2, 1 mg/l konsantrasyonlarında hücresel anormalliklerin ve hücre bölünmesinin

inhibisyonunun meydana geldiğini buldular. Sodyum hipokloritin hücre döngüsünün G<sub>2</sub> fazını bloke etmesi (Haq ve diğ., 2017) ve DNA sentezini inhibe etmesiyle (Bernocal ve diğ., 2013) hücre döngüsünün normal gelişimini önlemektedir.

NaOCl dezenfektan amaçlı olarak sıklıkla kullanıldığı için yeraltı suyunun, sulama suyunun ve toprağın kirlenme riski vardır. Çalışmamıza benzer şekilde, farklı dezenfektanlarla yapılan diğer çalışmalarda, bazıları toksik etkiler göstermektedir. Farklı biyositlerle dezenfeksiyondan sonra yüzey suyu genotoksisitesini incelemek için farklı in vitro kısa süreli testler yapıldı. Bu testlerde NaOCl, ClO<sub>2</sub> ve PAA test edilmiştir. Bu dezenfektanlar arasında, NaOCl artan su genotoksisitesini arttırmıştır ve kromozom anormalliklerine neden olduğu tespit edilmiştir. Çalışmadaki genotoksik aktiviteler dezenfektanların neden olduğu oksidatif strese bağlı olabilir (Monarca ve diğ., 2005).

*H. vulgare* mitotik hücrelerde iki tür insektisit hücre döngüsünün farklı fazlarındaki genotoksik etkileri araştırılmış ve veriler yüksek dozlarda alfametrin ve monokrotofosun *H. vulgare*'deki toksisitesi, mikronükleus oluşumu, kromozomal anormallilerde artış ve mitotik indekste azalma göstermiştir. Kromozomal anormallikler ve mikronükleus oluşumu nedeninin bu kimyasalların DNA ile etkileşime girmesi olduğu rapor edilmiştir (Srivastava ve diğ., 2008).

Bir herbisit ve fungusit olan, klorpirifos (CP) ve propiconazolün (PZ) *H. vulgare* üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve kontrol ile karşılaştırıldığında, kromozomal anormalliklerin CP'de PZ'den daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca her iki pestisitte tohum çimlenme oranını azaltmıştır. Hücre döngüsünün sentez (S) fazı sırasında pestisit uygulanmasının hücrelerde daha fazla hasara yol açtığı ve S fazının hücre döngüsünün diğer fazlarına oranla daha fazla duyarlı olduğu bulunmuştur. (Dubey ve diğ., 2015). Bakırın *H. vulgare* kök uçları üzerindeki etkisi araştırılmış ve bakır konsantrasyonu arttıkça MI azaldığı tespit edilmiştir. Bakırın *H. vulgare* meristem hücrelerinde birikerek nükleus ve nükleoproteinleri etkileyip hücre bölünmesini azalttığı belirlenmiştir (Wang ve Liu, 2016).

Çalışmamıza benzer olarak Mercado ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *P. sativum*'un apikal kök hücrelerini biyoindikatör olarak kullanarak farklı sodyum hipoklorit konsantrasyonlarının sitotoksik etkisini değerlendirilmiştir. Artan

konsantrasyonlara bağlı olarak kromozom anormallikleri tespit edilmiş bunun sonucunda da sodyum hipokloritin olduğu sitotoksik bir madde olduğu raporlanmıştır (Mercado ve diğ., 2019).

Yapılan başka bir çalışmada mercimek (*Lens culinaris*) kullanılarak sodyum hipokloritin sitotoksik etkisi araştırılmıştır. MI, kromozom anormallikleri ve kök uzaması gözlemlenmiştir. Konsantrasyon arttıkk MI te azalma meydana gelmesi kimyasal tarafından G2 fazının baskılanması ve DNA sentezinin engellenmesinden olduğu belirtilmiştir. Artan konsantrasyonlarda meydan gelen kromozom anormallikleri de hasarlı DNA replikasyonunu göstermiştir. NaOCl mercimek üzerinde çeşitli anormalliklere neden olduğu için toksik bir madde olarak kabul edilmiştir (Mercado ve Bayona, 2020).

Farklı sıcaklık derecelerinin hekzaploid buğday kök meristemlerindeki mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmada, 35°C ve 45°C gibi yüksek sıcaklıkta çalışılan tüm buğday eşitlerinde MI değerinde azalma ve kromozom anormallikleri tespit edilmiştir. Sıcaklık artışıyla birlikte kromozom anormallikleri artmıştır. Belirlenen anormalliklerin erken görülen kromozom ayrılması ve yoğunlaşmış ve yapışkan kromozom, geri kalan kromozom, kromozom köprüleri ve mikronükleus şeklinde olduğunu tespit edilmiştir (Abou-deif ve Mohamed 2007).

*H. vulgare* köklerinde salisilik asit(SA)'nın Al toksisitesi üzerindeki etkileri, kök uzaması, Al alımı, plazma membran bütünlüğünün kaybı, mitotik anormallikler, süperoksitdismutaz aktivitesi, peroksidaz aktivitesi, toplam protein içeriği ve DNA fragmentasyonu gibi bazı hücresel stres mekanizmaları araştırılmıştır. 10  $\mu$ M SA' nın hem n muamelesi hem de birlikte uygulanmasının, Al emiliminin ve antioksidan enzim aktivasyonunun inhibisyonu ile ilişkili olarak arpa köklerindeki, Al indüklenmiş toksisiteyi azaltabileceği bildirilmiştir (Yalcin ve Vardar, 2016).

Çalışmamızda kullanılan dezenfektanlar dışında, içme suyu dezenfeksiyonunda kullanılan bromoform (25, 50, 75, 100  $\mu$ g/ml) ve kloroformun (25, 50, 100, 200  $\mu$ g/ml) genotoksik etkilerinin belirlenmesinde *Allium* testi ve comet yöntemi kullanılmıştır. İki kimyasal içinde; bromoformun 25  $\mu$ g/ml dışındaki diğer konsantrasyonlarda mitotik indekste düşüş gözlemlenmiş, diğer dozlarda ise artış

belirlenmiştir. Comet testinde bromoformun 75-100 µg/ml, kloroformun 10-200 µg/ml dozlarında DNA hasarının kontrole göre fazla olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni hücre döngüsünü durdurması olabilir (Khallef ve diğ., 2013).

Comet assay, *H. vulgare* genomunda bleomisin tarafından üretilen DNA hasarının indüksiyonunu ve tamirini incelemek için uygulanmış ve uygulanan en düşük bleomisin konsantrasyonunun (50 µg/ml) bile DNA hasarına neden olacağı belirtilmiştir. Ayrıca, indüklenen DNA hasarının miktarlarının, doza bağlı olarak bleomisin uygulamasına karşılık geldiği de bildirilmiştir (Georgieva ve Stoilov 2008).

Topraktaki ekotoksikolojiyi değerlendirmek için atriyaillerin solucanlar üzerindeki etkisinin araştırılmış ve solucanlarda oksidatif strese bağlı ROS birikiminin DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Song ve diğ., 2009). Tuzluluğun, solucan *E. fetida*'nın büyümesi, üremesi ve hayatta kalması üzerindeki etkileri araştırılmıştır. NaCl konsantrasyonlarının solucanların ağırlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Sodyum klorürün solucanların yaşam döngüsünü olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmıştır (Guzyte ve diğ., 2011).

Genellikle pirinç tarlalarında kullanılan beş pestisit toksisitesi, toprak solucanı *E. fetida*'nın üzerinde yapılan deneylerle değerlendirilmiştir. Carbendazimin *E. fetida* için son derece toksik olduğu, solucan ağırlığını önemli ölçüde azalttığı ve pirinç tarlalarında ve çevresindeki ekosistemlerde öngörülenlere yakın toprak konsantrasyonlarında kaçınma tepkisi gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışma *E. fetida*'nın gelişmiş kemoreseptörlere sahip olduğunu gösterir (Rico ve diğ., 2016). Bizim çalışmamızda da kullanılan dezenfekte edici kimyasalların bu reseptörler üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Toprak omurgasızlarının pestisitlere duyarlılığı *E. fetida* ile karşılaştırılmıştır. Arachnids ve izopodların, böcek öldürücülere ve nematodlara, *E. fetida* ile karşılaştırıldığında, mantar öldürücülere karşı daha duyarlı olduğu bulunmuştur (Daam ve diğ., 2011). Dezenfektan olarak PAA ve klor uygulanmış sulama suyunun *Escherichia coli* (*E.coli*) üzerindeki etkisi araştırılmış. *E.coli* 5 ve 15 dakika boyunca uygulanan 6 mg/l PAA'e klordan daha dirençli olduğu belirlenmiştir (Binini, 2015).

İki pestisit olan tribenuron-metil (TBM) ve tebuconazole (TEB)' nin toprak solucanı *E. fetida* üzerindeki toksik etkileri araştırılmış. TBM, kontak filtre kağıdında *E. fetida*' ya ve yapay zemin testlerine karşı düşük toksisite gösterdiği ve benzer şekilde TEB, yapay zemin testinde *E. fetida*' ya karşı düşük toksisite gösterdiği bildirilmiştir. Tek başına ya da karışım olarak kullanılan pestisitler, solucan DNA'sında kontrole kıyasla önemli bir hasara neden olmadığı belirtildi. Kullanılan pestisitlerin solucanlardaki enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu üzerinde geçici etkiye sebep olduğu belirlendi. Bu nedenle önemli bir hasara neden olmamıştır (Chen ve diğ., 2018).

*E. fetida* için iki insektisid olan Imidacloprid ve RH-5849'un genotoksitesini değerlendirmek için solucan sperm deformitesi değerlendirme yöntemi, *Vicia faba*' daki kök ucu hücrelerinin mikronükleus testi ve tek hücre jel elektroforez yöntemi uygulanmıştır. Tüm uygulama gruplarında Imidacloprid'in RH-5849'dan sürekli olarak daha toksik olduğu belirtilmiştir. İki pestisit DNA'sında önemli bir DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Zang ve diğ., 2000). Bizim çalışmamızda da  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ ' te  $\text{NaOCl}$ 'e oranla daha yüksek seviyede DNA hasarı tespit edildi.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Patojenleri ve mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek için içme suyu tesisleri düzenli olarak yüzey dezenfeksiyon işlemleriyle temizlenir. İçme suyu tesislerinde dezenfeksiyon işlemi virüs ve mikroorganizmaların artışına bağlı olarak yılda iki defadan fazla yapılmaktadır (Jackson, 2001). Dünya genelinde suların dezenfeksiyon işlemlerinde genellikle sodyum ve kalsiyum hipoklorit gibi klor içeren reaktifler kullanılmaktadır (Guzel ve diğ., 2004).

Bu çalışmada içme sularının dezenfeksiyonunda kullanılan NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA' in *H. vulgare* ve *E. fetida* üzerindeki etkileri incelendi. Dezenfektanların farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *H. vulgare* tohumları çimlendirildi. Kök uzunluğunu yarıya indiren değerler (EC50) her dezenfektan için ayrı ayrı belirlendi. NaOCl'in EC50 (20 µl/ml) değeri diğer dezenfektanlara oranla daha düşük tespit edildi. Kullanılan dezenfektanlardan *H. vulgare* kök hücrelerine sırasıyla en fazla zararı PAA, daha sonra Ca(ClO)<sub>2</sub> ve en az zararı NaOCl' in verdiği belirlendi.

MI hücre bölünme sıklığını yansıtan ve tüm canlı organizmalar için kullanılan bir sitotoksosite ölçüsüdür (Yuksel ve Aksoy, 2017). MI değerleri, kontrol ile karşılaştırıldığında konsantrasyon artışı ile birlikte düşüş göstermiştir. Elde edilen verilere bakıldığında kullanılan dezenfektanların tüm konsantrasyonlarda etkili olduğu görüldü. MI değeri *H. vulgare* kontrol grubunda 23,7 iken NaOCl 10µl/ml'de 8,75'e, 20µl/ml'de 8,16'ya düştüğü belirlendi. Ayrıca Ca(ClO)<sub>2</sub>'de 120mg/ml'de 4,5'e, 240mg/ml'de 4,11'e ve 480mg/ml'de 3,39'a düştüğü belirlendi. PAA ise 40µl/ml'de 4,04'e ve 80µl/ml'de 1,39'a düştüğü belirlendi. Elde edilen verilere göre mitotik indeksi en az düşüren dezenfektan NaOCl, en fazla düşüren dezenfektan ise PAA olarak belirlendi.

Çalışmamızda gözlenen kromozom anormallikleri arasında, C- mitoz, metafaz eksen kayması ve yapışıklık, kalgın kromozom, anafaz köprü, anafaz yanlış kutuplaşma, telofaz köprü, yanlış kutuplaşma, kalgın kromozom ve vakuolizasyon oluşumu

gözlendi. Kullanılan dezenfektanları kök uzamasında, MI sıklığında ve kromozom anormalliklerinde olumsuz etki yaptığı belirlendi. Kullanılan dezenfektanların fiziksel ve kimyasal özellikleri birbirinden farklıdır. Bu dezenfektanlar DNA tamir mekanizmasını etkileyip anormalliklerin onarılmasını engelleyebilir, oluşan anormalliklerin artmasına sebep olabilmektedir (Robison ve diğ., 2002).

Solucanlar, besin zincirinin önemli basamağında yer alan omurgasız hayvanlar grubundadır. Ayrıca toprak ekosistemlerinin yapısının ve işlevinin sürdürülmesinde, metabolizmasının işleyişinde ve toprak verimliliğinde önemli bir rol oynarlar (OECD, 2015). Solucanlar yüksek üreme oranına sahiptir ve güçlü oldukları kadar çevredeki toksik ve zararlı maddelere karşı savunmasızdırlar. Bu nedenle solucanlar, özellikle *E. fetida*, kirletici maddelerin toksisitesini test etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Wang ve diğ., 2019).

Çalışmada kullanılan dezenfektanlar, comet assay testine göre *E. fetida* üzerinde genotoksik etkilere neden olmuştur.  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ ,  $\text{NaOCl}$ 'e oranla kuyruk DNA yüzdesi ve olive DNA momenti daha yüksek olduğu belirlendi.  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$  daha fazla genetik hasara neden olduğu için daha yoğun DNA içeren kuyruklar oluşturdu. Bu çalışmada sunulan verilere göre kullanılan konsantrasyonlarda toksik etki gözlemlendiği için her iki kimyasalın da *E. fetida*'da çeşitli seviyelerde kromozom kırıklarına yol açtığı belirlendi.

Reseptörler özelleşmiş duyu sinirlerinden oluşmakta ve genellikle protein özelliğine sahip olmaktadır. Genel olarak her reseptör farklı uyarılara duyarlıdır. Uyarılan reseptör aldığı uyarıyı merkezi sinir sistemine götürerek değerlendirilmesini sağlar. Reseptörle duyarlı oldukları enerji formuna göre çeşitlilik gösterirler. Bunlardan biri omurgalı ve omurgasız hayvanlarda bulunan kemoreseptörlerdir. Kemoreseptörler etraflarındaki sıvı ve gaz maddeleri algılayıp merkezi sinir sistemine bildirir. Merkezi sinir sistemide bu maddelerin zararlı olup olmadığını değerlendirir. Değerlendirmeden sonra canlı gelen uyarıya tepki oluşturur. Bizim çalışmamızda da dezenfekte amacıyla kullanılan kimyasallar *E. fetida* üzerine uygulandıktan sonra kaçınma davranışı gözlemlendi. Bunun nedeninin *E. fetida* vücudundaki gelişmiş kemoreseptörler olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, çalışılan konsantrasyonlarda NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA'in *H. vulgare* ve *E. fetida* üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkileri olduğu görüldü. PAA' nin *H. vulgare* kök meristem hücrelerine NaOCl ve Ca(ClO)<sub>2</sub>' ten daha fazla zarar verdiği sonucuna ulaşıldı. Fakat kullanılan dezenfektanların *E. fetida* üzerindeki etkisi farklılık gösterdi. *E. fetida* üzerinde Ca(ClO)<sub>2</sub>' in daha fazla zarar verdiği belirlendi. Bu da bize farklı canlıların farklı savunma mekanizmaları olduğunu göstermektedir. Dezenfektanların neden olduğu zarar canlının türüne, tolerans ve adaptasyon kabiliyetine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Dünyada bir çok hastalığın ortaya çıkmasının nedeni sudur. Toplum için önemli olan içme ve kullanma sularının sağlıklı ve güvenli olması bir çok hastalığın ortaya çıkmasını önleyecektir. Hastalık yapıcı organizmalardan kurtulmak için içme suları dezenfekte edilmelidir. İçme sularının dezenfeksiyonlarında farklı kimyasallar kullanılmaktadır. Maliyet ve sürekliliğe dikkat edildiğinde en çok kullanılan dezenfektan klorlu bileşiklerdir. Klor patojenleri tamamen yok eder veya üremelerini engeller. Ayrıca suyun işlendiği tesisten çeşmeye ulaşana kadar sürekli koruma sağlar. Fakat dezenfeksiyon işlemi için seçilen kimyasallar mikroorganizmalara etki etsede su ile birleşince çeşitli yan ürünler oluşturmaktadır. Yan ürünlerinde oluşturabileceği tehlikeler göz önüne alınarak düşük dozlarda dezenfeksiyon işlemleri daha güvenilir olacaktır.

Bu çalışmada NaOCl, Ca(ClO)<sub>2</sub> ve PAA'in *H. vulgare* ve *E. fetida* üzerine sitotoksik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesini sağladığından daha sonraki çalışmalarda önemli bir veri kaynağı olacaktır. Çalışmamız içme suyunu dezenfekte amacıyla kullanılan dezenfektanların hem bitki hemde omurgasız hayvan üzerindeki etkisini karşılaştırmalı olarak gösterdi. Dezenfektanlar besin zincirine karışarak canlıların gelişimi ve genetiğini etkileyeceği için doğaya daha az zarar veren dezenfektanlar seçilmelidir. Bu konuda gelecek nesillerde düşünülmelidir, doğaya ve canlılara verilen zarar en aza indirilmelidir. Bu nedenle içme suyu ve arıtma tesileri düzenli olarak denetlenmeli ve su parametreleri periyodik olarak kontrol edilmelidir.

Bu tez çalışmasında elde edilen bazı veriler ilk kez tespit edildiğinden ayrıca bir öneme sahiptir. Özellikle içme suyu dezenfeksiyonunda yeni yeni kullanılmaya



başlanan PAA'in canlılar üzereni etkisini belirten literatür bilgisine ulaşılmamaktadır. Bu nedenle içme suyu dezenfeksiyonu için kullanılan maddelerin canlılar üzerindeki etkisinin araştırmalarla desteklenmesinin gerekli olduğunu düşünöyoruz.

Yaptığımız çalışmanın bu konuda yapılmış çalışmalara katkı sağlayacağı, içme ve kullanma suyu dezenfeksiyonu işleminde tercih edilen dezenfektanların canlılar üzerindeki etkisine yönelik yeni yapılacak çalışmalarda ışık tutacağı düşölmektedir.



## KAYNAKLAR

Abou-deif M. H., Mohamed F. I., Effect of Heat Stress on Chromosomes and Protein Patterns in Six Hexaploid Wheat Varieties, *Research Journal of Cell and Molecular Biology*, 2007, **1**(1), 42–49.

Aksoy Ö., Deveci A., Tütünoğlu B., Genotoxic Effects of the Fungicide Sportak on Zea mays, *Casopis Lekarů Ceskych*, 2015, **118**(12), 374–376.

Atalay H. İstanbul'daki Ham Su Kaynaklarında Dezenfeksiyon Yan Ürünlerinden Haloasetik Asitlerin Oluşum Potansiyellerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisan Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2016, 441722.

Baldry M. G., Cavadore A., French M, Massa G., Rodrigues L, Schirch P. F, Threadgold T. , Effluent Disinfection in Warm Climates With Peracetic Acid, *Water Science and Technology*, 1995, **31**(5–6), 161-164.

Berrocal Huallpa A., Blas R., Flores Rivas J., Siles Vallejos M., Evaluación del Potencial Mutagenico de Biocidas (vertimec y pentacloro) Sobre Cebolla. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2013, **15**(1), 17–27.

Binini I., Investigating The Efficacy of Sodium Hypochlorite, Calcium Hypochlorite and Peracetic Acid On Environmental Escherichia coli Strains, *The Reasoner*, 2015, **9**(12), 125–133.

Buschini A., Carboni P., Furlini M., Poli P., Rossi C. Sodium Hypochlorite, Chlorine Dioxide and Peracetic Acid Induced Genotoxicity Detected by the Comet Assay and *Saccharomyces cerevisiae* D7 Tests, *Mutagenesis*, 2004, **19**(2), 157-162.

Causil L., Coronado J., Verbel L., Vega M., Donado K., Pacheco C., Efecto c. *Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 2017, **11**(1), 97–104.

Chen J., Saleem M., Wang C., Liang W., Zhang Q. , Individual and Combined Effects of Herbicide Tribenuron-methyl and Fungicide Tebuconazole on Soil Earthworm *Eisenia fetida*. *Scientific Reports*, 2018, **8**(2967), 1-9.

Çıvgın İ., Bereketli Hilal'de Bitki Evcilleştirme Sürecini Etkileyen Faktörler: İklim Doğal Çevre ve Kültürler Arası Karşılaşmalar (MÖ. 11000 – 7000), *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 2016, **8**(17), 463-488.

Collins A. R., The Comet Assay for DNA Damage and Repair, *Molecular Biotechnology*, 2004, **26**(3), 249-61.

Daam M. A., Leitão S., Cerejeira M. J., Paulo Sousa J., Comparing the Sensitivity of Soil Invertebrates to Pesticides With That of *Eisenia fetida*, *Chemosphere*, 2011, **85**(6), 1040–1047.

Demirbaş K. D., İçme Sularında Dezenfeksiyon Yan Ürünlerinin Oluşumunu Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2011, 287636.

Dinçer Y., Kankaya S., DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay, *Biyokimya*, 2010, **30**(4), 1365–1373.

Dubey P., Mishra A. K., Shukla P., Singh A. K., Differential Sensitivity of Barley (*Hordeum vulgare L.*) to Chlorpyrifos and Propiconazole: Morphology, Cytogenetic Assay and Photosynthetic Pigments, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2015, 124, 29-36.

Fadaee R., A Review on Earthworm *Eisenia fetida* and its Applications, *Annals of Biological Research*, 2012, **3**(5), 2500–2506.

Garcia Reyes L. E., Chromosomal changes linked with the effect of high dose of aluminum on faba bean (*Vicia faba L.*) root tips, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2013, **53**(9), 1689–1699.

Georgieva M., Stoilov L., Assessment of DNA strand breaks induced by bleomycin in barley by the comet assay, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2008, **49**(5), 381-387.

Gestel C. A. M., Dis W. A., The influence of soil characteristics on the toxicity of four chemicals to the earthworm *Eisenia fetida andrei* (Oligochaeta), *Biology and Fertility of Soils*, 1988, (3), 262–265.

Green I. C. , Comet Assay to Detect Nitric Oxide Dependent Damage in Mammalian Cells, *Methods Enzymology*, 1996, **269**, 243-266.

Gupta K., Mishra K., Srivastava S., Kumar A. Cytotoxic Assessment of Chromium and Arsenic Using Chromosomal Behavior of Root Meristem in *Allium cepa L.*, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2018, **100**(6), 803–808.

Guzel Z. B., Greene A. K., Seydim A. C., Use of ozone in the food industry, *LWT - Food Science and Technology*, 2004, **37**(4), 453–460.

Guzyte G., Sujetoviene G., Zaltauskaite J., Effects of salinity on Earthworm (*Eisenia Fetida*), *8th International Conference on Environmental Engineering, ICEE,2011*, **1**(12), 111–114.

Haq I., Kumar S., Raj,A., Lohani M., Satyanarayana, G. N. V., Genotoxicity assessment of pulp and paper mill effluent before and after bacterial degradation using *Allium cepa* test, *Chemosphere*, 2017, **169**, 642–650.

Hidalgo A., Gonzalez-Reyes J. A., Navas P., Garcia-Herdugo G. Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by prophan and chlorprophan, *Cytobios*, 1989, **57**(228), 7–14.

Hofer M., Shuker, L., ILSI Europe Report Series Assessing Health. Risks from environmental exposure to chemicals: the example of drinking water, *Europe Environment*, 2002, **38**(1), 3-12.

Jackson P.J., Dillon G.R., *Manual on Treatment for Small Water Supply Systems Final Report to the Department of the Environment, Transport and the Regions, Çevre Ulaşım ve Bölge Dairesi, DETR/DWI 4936/1*, 1-119, 2001.

Jiang X., Chang Y., Zhang,T., Qiao Y., Klobučar G., Li M., Toxicological effects of polystyrene microplastics on earthworm (*Eisenia fetida*), *Environmental Pollution*, 2020, 259, 113896.

Juárez R. P., Lucas O. N., Complicaciones ocasionadas por la infiltración accidental con una solución de hipoclorito de sodio, *Revista de la Asociación Dental Mexicana*, 2001, **58**(5), 173–176.

Kaygorodova I. A., Sherbakov D. Yu., Molecular Phylogenetic Study of the Systematic Position of Baikalian Oligochaetes in Clitellata, *General Genetic*, 2006, **42**(12), 1647-1655.

Kendal E. GGE Biplot Analysis of Multi-Environment Yield Trials in Barley (*Hordeum vulgare L.*) Cultivars *Ekin*, *Journal of Crop Breeding and Genetics*, 2016, **2**(1), 90–99.

Khallef M., Liman R., Konuk M., Genotoxicity of drinking water disinfection by-products (bromoform and chloroform) by using both *Allium* anaphase-telophase and comet tests, *Cytotechnology*, 2013, **67**(2), 207–213.

Kızılköçü F., Yıldırım M., Albayrak Ö., Akıncı C., Bazı Arpa Genotiplerinin Diyarbakır ve Mardin Koşullarında Verim ve Kalite Parametrelerinin İncelenmesi. *İğdir Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2016, **6**(3)161-169.

Kumar G., Srivastava N., Genotoxic Effects of Two Commonly Used Food Additives of Boric Acid and Sunset Yellow in Root Meristems of *Trigonella foenum-graecum*, *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 2011, **8**(4), 361–366.

Livanos P., Galatis B., Quader H., Apostolakis,P., ROS homeostasis as a prerequisite for the accomplishment of plant cytokinesis, *Protoplasma*, 2017, **254**(1), 569–586.

Luo L. Z., Werner K. M., Gollin S. M., Saunders,W. S., Cigarette smoke induces anaphase bridges and genomic imbalances in normal cells, *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2004, **554**(1–2), 375–38.

Ma J., Cheng C., Du Z., Li B., Wang J., Wang J., Wang Z., Zhu L. Toxicological effects of pyraclostrobin on the antioxidant defense system and DNA damage in earthworms (*Eisenia fetida*), *Ecological Indicators*, 2019, **101**, 111–116.

Manrique R. R., Marlyn Catalina O. V., Quesada D. R., Pruebas de ecotoxicidad para establecer el potencial genotóxico del hipoclorito de sodio, mediante bulbos de cebolla *Allium cepa* L. y semillas de lechuga *Lactuca sativa* L como bioindicadores, *Iteckne*, 2011, **8**(1), 7–14.

Martin V.J., Green M.H.L., Schmezer P., Pool-Zobel B.L., M. P. D. M. and A. C. ,The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): A Europe an review, 1993, **288**, 47–63.

Mercado S. A., Bayona H. A., Evaluation of the cytotoxic potential of sodium hypochlorite using meristematic root cells of *Lens culinaris* Med, *Science of the Total Environment*, 2020, **701**, 134992.

Mercado S., Contreras N., Asymbiotic seed germination and in vitro propagation of *Cattleya trianae* Linden & Reichb.f. (Orchidaceae), *Acta Agronomica*, 2017, 66(4), 544-548

Monarca S., Feretti D., Collivignarelli C., Guzzella L., Zerbini I., Bertanza G., Pedrazzani R., The influence of different disinfectants on mutagenicity and toxicity of urban wastewater, *Water Research*, 2000, **34**(17), 4261–4269.

Monarca S., Feretti D., Zani C., Rizzoni M., Casarella S., Gustavino B., Genotoxicity of drinking water disinfectants in plant bioassays, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2005, **46**(2), 96–103.

Mercado S. A., Germinación asimbiótica de semillas y desarrollo in vitro de plántulas de *cattleya mendelii* dombrain (Orchidaceae), *Acta Agronomica*, 2012, **61**(1), 69–78.

Mercado S. A., León C. A., Suárez J. P., Cytotoxic evaluation of sodium hypochlorite, using *Pisum sativum* L. as effective bioindicator, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 71–76.

Monarca S., Richardso S. D., Feretti D., Grottolo M., Thruston,A. D., Zani C., Navazio G., Ragazzo P., Zerbini I., Alberti A., Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, **21**(2), 309–318.

Mutluay H., Demirak A., *Su Kimyası*, 1, Beta Basım Yayın Dağıtım, 50-60, 1996.

OECD, OECD 222 - Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida/ Eisenia andrei* ). *The Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD)*, 2015.

Oğur R., Tekbaş Ö. F., Hasde M., İçme ve Kullanma Sularının Klörlanması, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, 2004.

Özmen S., Tabur S., Functions of folic acid (Vitamin b9) against cytotoxic effects of salt stress in *Hordeum vulgare* L, *Pakistan Journal of Botany*, 2020, **52**(1), 17–22.

Plants Profile, <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=HOVU>, (Ziyaret Tarihi: 20 Nisan 2021).

Resmigazete, İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik. Resmi Gazete, 2013.

Rico A., Sabater C., Castillo M. Á., Lethal and sub-lethal effects of five pesticides used in rice farming on the earthworm *Eisenia fetida*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, **127**, 222–229.

Robison J. G., Pendleton A. R., Monson K. O., Murray B. K., O'Neill K. L., Decreased DNA Repair Rates and Protection from Heat Induced Apoptosis Mediated by Electromagnetic Field Exposure, *Bioelectromagnetics*, 2002, **23**(2), 106–112.

Romanovski V., Claesson P. M., Hedberg Y. S., Comparison of different surface disinfection treatments of drinking water facilities from a corrosion and environmental perspective, *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, **27**(11), 12704–12716.

Salazar S., Amaya A., Barrientos F., Evaluación de diferentes medios de cultivo in vitro en el desarrollo de híbridos de Phalaenopsis (Orchidaceae), *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2013, **15**(2).

Saxena P. N., Chauhan L. K. S., Gupta S. K., Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: Spectroscopic basis of chromosome damage, *Toxicology*, 2005, **216**(2–3), 244–252.

Shi Q., Wang J., Zou J., Jiang Z., Wu H., Wang J., Jiang W., Liu D., Cadmium localization and its toxic effects on root tips of barley, *Zemdirbyste-Agriculture*, 2016, **103**(2)151-158.

Song P., Gao J., Li X., Zhang C., Zhu L., Wang J., Wang, J., Phthalate induced oxidative stress and DNA damage in earthworms (*Eisenia fetida*), *Environment International*, 2019, **129**,10-17.

Song Y., Zhu L. S., Wang J., Wang J. H., Liu W., Xie H., DNA damage and effects on antioxidative enzymes in earthworm (*Eisenia foetida*) induced by atrazine, *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, **41**(5), 905-909.

Srivastava A. K., Singh P., Singh A. K., Sensitivity of the mitotic cells of barley (*Hordeum vulgare L.*) to insecticides on various stages of cell cycle, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2008, **91**(3), 186-190.

Sudhakar R., Ninge Gowda K. N., Venu G., Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*, *Cytologia*, 2001, **66**(3), 235–239.

Tabur S., Yurtlu M. D., Özmen S., Role of humic acid against salt-induced cytotoxicity in *Hordeum vulgare L.*, *Caryologia*, 2019, **72**(3), 3–10.

Ventura-Camargo B. de C., Parise Maltempi P. P., Aparecida M., Morales M., The use of the Cytogenetic to Identify Mechanisms of Action of an Azo Dye in *Allium Cepa* Meristematic Cells, *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 2011, **01**(02), 1-12.

Wang H., Zhang X., Wang L., Zhu B., Guo W., Liu W., Wang J., Biochemical responses and DNA damage induced by herbicide QYR301 in earthworm (*Eisenia fetida*), *Chemosphere*, 2020, **244**, 125512.

Wang Jiayue, Liu D., Cellular Localization Of Copper And Its Toxicity On Root Tips Of *Hordeum Vulgare*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016 **24**(7), 2394-2405.

Wang J., Coffin S., Sun C., Schlenk D., Gan J., Negligible effects of microplastics on animal fitness and HOC bioaccumulation in earthworm *Eisenia fetida* in soil, *Environmental Pollution*, 2019, **249**, 776–784.

WHO, *WHO | Diseases and risks*. WHO; World Health Organization, İsviçre, [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/diseases-risks/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases-risks/en/), (ziyaret tarihi: 5 Nisan 2019).

Yalcin G., Vardar F., The alleviating effects of salicylic acid application against aluminium toxicity in barley (*Hordeum vulgare*) roots, *Biologia (Poland)*, 2016, **71**(12), 1338–1344.

Yao X., Zhang F., Qiao Z., Yu H., Sun S., Li X., Zhang J., Jiang X., Toxicity of thifluzamide in earthworm (*Eisenia fetida*), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, **188**(3), 1–10.

Yuksel B., Aksoy O., Cytological Effects of Coumarin on the Mitosis of *Lens culinaris Medik*, *Fresenius Environmental Bulletin*, 2017, **26**(11), 6400–6407.

Zang Y., Zhong Y., Luo Y., Kong Z. M., Genotoxicity of two novel pesticides for the earthworm, *Eisenia fetida*, *Environmental Pollution*, 2000, **108**(2), 271-278.

## KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Dikilitaş S., **Sütlüoğlu S.**, Aksoy Ö., The Effects of Vermicompost Tea on the Root Growth and Mitosis of Onion (*Allium cepa*), *International Symposium Ecology*, Kastamonu, Türkiye, 19-23 Haziran 2018.

Dikilitaş S., **Sütlüoğlu S.**, Aksoy Ö., Investigation of antifungal effects of ethanolic extracts of seed of *Laurus nobilis* on six different fungal pathogen isolates, *Anadolu I. Uluslararası Multidisipliner Çalışmalar Kongresi*, Diyarbakır, Türkiye, 28-29 Aralık 2018.

Aksoy Ö., Dikilitaş S., **Sütlüoğlu S.**, Aydın D., Sipermetrinin *Begonia semperflorens L.* (Begoniaceae)' de Polen Tüpü Oluşumu Üzerine Etkisi, *V. Ulusal Çevre Kongresi*, Afyon, Türkiye, 29 Ekim - 01 Kasım 2018.

**Sütlüoğlu S.**, Aksoy D., Aksoy Ö., Effect of Sodium Hypochlorite on *Hordeum vulgare* and *Eisenia fetida*, *II. International Green Biotechnology Congress*, İstanbul, Türkiye, 09-11 Eylül 2019.

Aksoy Ö., Dikilitaş S., **Sütlüoğlu S.**, Aydın D., Sipermetrinin *Begonia semperflorens L.* (Begoniaceae)' de Polen Tüpü Oluşumu Üzerine Etkisi, *Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2020, **3**(2), 160-163.



## ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğrenimini Kocaeli' de tamamladı. 2011 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2015 yılında mezun oldu. 2014-2015 Kocaeli Üniversitesi Pedagojik formasyon eğitimi aldı. 2017 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümünde yüksek lisansa başladı. 2018-2019 yılları arasında Artan Başarı Etüt merkezinde Fen Bilimleri öğretmenliği yaptı. 2019'dan beri Özel Yahya Kaptan Kolejinde Fen Bilimleri öğretmenliği yapmaktadır.

