

1-1-2000

Cytogenetic Effects of Copper Chloride on the Root Tip Cells of *Vicia hirsuta* (L.) S. F. Gray

HÜSEYİN İNCEER

OSMAN BEYAZOĞLU

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology>



Part of the [Biology Commons](#)

Recommended Citation

İNCEER, HÜSEYİN and BEYAZOĞLU, OSMAN (2000) "Cytogenetic Effects of Copper Chloride on the Root Tip Cells of *Vicia hirsuta* (L.) S. F. Gray," *Turkish Journal of Biology*. Vol. 24: No. 3, Article 15. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol24/iss3/15>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Biology by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray Kök Ucu Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri

Hüseyin INCEER, Osman BEYAZOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Trabzon-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 09.09.1998

Özet: Bakır klorür'ün *Vicia hirsuta* kök ucu hücreleri üzerine sitogenetik etkisi incelenmiştir. Tohumlar 10, 25, 50 ve 100 mg/L'lık bakır klorür çözeltisi ile 4, 12, 24 ve 48 saat muamele edilmiştir.

Bakır klorür'ün mitoz bölünmeyi önemli derecede baskıladığı, doz ve zaman artışına bağlı olarak kromozomal anormalliklere sebep olduğu ve mitotik indeksi (hücre bölünme frekansı) azalttığı gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Bakır klorür, *Vicia hirsuta*, mitoz bölünme, kromozomal anormallikler.

Cytogenetic Effects of Copper Chloride on the Root Tip Cells of *Vicia hirsuta* (L.) S. F. Gray

Abstract: The cytogenetic effects of copper chloride on root tip cells of *Vicia hirsuta* were investigated. Seeds were treated with 10, 25, 50 and 100 mg/L of the copper chloride for 4, 12, 24 and 48 hours.

It was found that copper chloride has a marked mitodepressive action on mitosis. Mitotic abnormalities were increased and the mitotic index was decreased depending on the concentration and duration time of the copper chloride applied.

Key Words: Copper chloride, *Vicia hirsuta*, mitotic cell division, chromosomal anomalies.

Giriş

Hücre bölünmesi makromoleküler düzeyde karmaşık bir takım biyokimyasal olayları ihtiva eden ve birbirini izleyen çeşitli işlemler sonucu gerçekleşmektedir. Canlıların büyüme ve gelişmesi, bu canlıları oluşturan hücrelerin düzenli büyüme ve çoğalmasına bağlıdır. Zamanımızda ekolojik sistemlerin bozulması ve çevreye bırakılan çeşitli kirleticiler vasıtasıyla, canlılar üzerinde olumsuz etkiler meydana gelmektedir (1). Endüstri bölgelerinin çevre kirleticileri arasında yer alan bakır, çinko, civa, kurşun ve kadmiyum gibi ağır metallerin yanısıra, zirai mücadele de kullanılan çeşitli kimyasal maddeler de hem bitki hem de hayvanların büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilemektedir (2, 3, 4).

Endüstriyel faaliyetler sonucu su ve toprağa karışan bakır, besin zinciri yoluyla da organizmalara geçerek toksik etki yapmaktadır (5). Bununla birlikte, bakır, çinko, kurşun (6) ve krom (7) *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde klastojenik etkilere sebep olmaktadır. De Flora (8)

civanın fare ve sıçan embriyolarının fibroblastlarında DNA kırılmasına yol açtığını belirtmektedir. Benzer şekilde Leonard ve ark. (9) civalı bileşiklerin *Vicia faba* ve *Allium cepa* gibi bitkilerde hücre bölünmesi sırasında iğ ipliklerine etki ettiğini rapor etmektedir.

Bu çalışmada, *Vicia hirsuta* kök ucu hücreleri üzerine bakır klorür'ün farklı dozlarının toksik etkisinin kromozomal düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan *Vicia hirsuta* tohumları Karadeniz Teknik Üniversitesi Kanuni Kampüsü'nden toplandı.

Bakır klorür'ün 10, 25, 50 ve 100 ml/L'lik konsantrasyonları saf su ile hazırlandı. Ayrıca kontrol amacı ile de saf su kullanıldı. Daha sonra *Vicia* tohumları bakır klorür'ün farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri içerisinde 4, 12, 24 ve 48 saat aryla bekletildi. Muamele süreleri sonunda tohumlar saf su altında yıkandı ve petri kutularında 20-25 °C'de çimlendirildi. Kontrol ve muamele görmüş kök uçları 3:1 (3 alkol: 1 asetik asit) karışımında fikse edildikten sonra % 70'lik etil alkole alındı. Stok kök uçları feulgen metodu (10) ile boyandı ve entellen ile kapatılarak daimi preparatlar hazırlandı.

Sitogenetik incelemeler için bu preparatlar üzerinde tesadüfi 5 bölge seçildi ve bu bölgelerdeki hücreler sayılarak mitotik hücre sayısı elde edildi. Sayım yapılan hücrelerde, mitoz bölünmenin farklı evrelerindeki kromozomal anormallikler tespit edildi.

Mitoz bölünmenin farklı evrelerindeki kontrol ve anormal hücrelerin oranları Kara ve ark. (11) göre hesaplandı. Uygulanan dozlar arasındaki karşılaştırmalar için varyans analizi kullanıldı.

Bulgular

Uygulanan bakır klorür dozlarının tamamının mitoz bölünme üzerinde olumsuz etki yaptığı belirlenmiştir. Mitoz bölünme frekansının, doz artışına ve zamana bağlı olarak giderek azaldığı tespit edilmiştir (Tablo 1). Ayrıca mitoz bölünmenin profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evrelerindeki bölünen hücre sayısında kontrollere göre belirgin bir azalma görülmüştür.

Bakır klorür uygulanan *Vicia hirsuta* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünmenin farklı evrelerinde çeşitli kromozomal anormallikler meydana gelmiştir (Tablo 2). Bu anormallikler uygulanan doza ve zamana bağlı olarak bir artış göstermiştir. Bununla beraber, en fazla kromozom yapışması ve kromozom köprüsü gibi kromozomal anormalliklerine rastlanmıştır. Tablo 2'den görülebileceği gibi, kromozom yapışması ve kromozom köprü yüzdesi 48 saat 100 mg/L'lik uygulamalar sonunda en yüksek değere ulaşmıştır.

Deney gruplarının mitotik indeks ve kromozomal anormallik değerleri kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında, sonuçlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P= 0.05).

Bakır klorür dozları mitoz bölünmenin profaz evresinde nukleusta düzensiz kromatin dağılımına neden olmaktadır (Şekil 1a). Metafaz evresinde görülen en sık anormallikler

Tablo 1. Farklı dozlardaki bakır klorür'ün mitoz bölünme evreleri üzerine etkisi.

Uygulama Saati	Uygulanan Dozlar (mg/L)	Bölünen Hücre Sayısı	Mitotik İndeks	Profaz %	Metafaz %	Ana-Telofaz %
4	10	146	6.33	79.45	8.90	11.65
	25	129	5.89	72.09	7.75	20.16
	50	133	5.67	72.93	9.02	18.05
	100	123	5.14	71.54	8.13	20.33
	Kontrol	190	6.39	73.68	10.53	15.79
12	10	125	5.52	77.60	10.40	12.00
	25	91	4.57	82.42	8.79	8.79
	50	99	4.98	83.16	8.08	9.09
	100	68	3.93	86.76	7.36	5.88
	Kontrol	242	9.20	78.10	10.33	11.57
24	10	153	5.75	78.43	11.76	9.81
	25	139	5.53	77.70	11.51	10.79
	50	129	4.78	79.07	11.63	9.30
	100	121	4.66	77.69	10.74	11.57
	Kontrol	382	11.87	76.70	13.35	9.95
48	10	119	4.93	73.95	15.97	10.08
	25	138	5.02	73.18	18.12	8.70
	50	106	4.45	74.53	18.87	6.60
	100	85	3.93	76.47	17.65	5.88
	Kontrol	486	12.96	62.35	27.16	10.49
	LSD (%5)		0.338	5.724	2.000	1.423

kromozom yapışması ve düzensiz kromozom dağılımı şeklindedir (Şekil 1b-c). Anafaz ve telofaz evrelerinde görülen anormallikler ise kromozom köprüsü, kalgın kromozom, eşit olmayan kromatin dağılımı ve parça oluşumudur (Şekil 1d-f).

Tartışma

Bu çalışmada, bakır klorür'ün *V. hirsuta* kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünme ve kromozomlar üzerinde yaptığı toksik etkisi incelenmiştir.

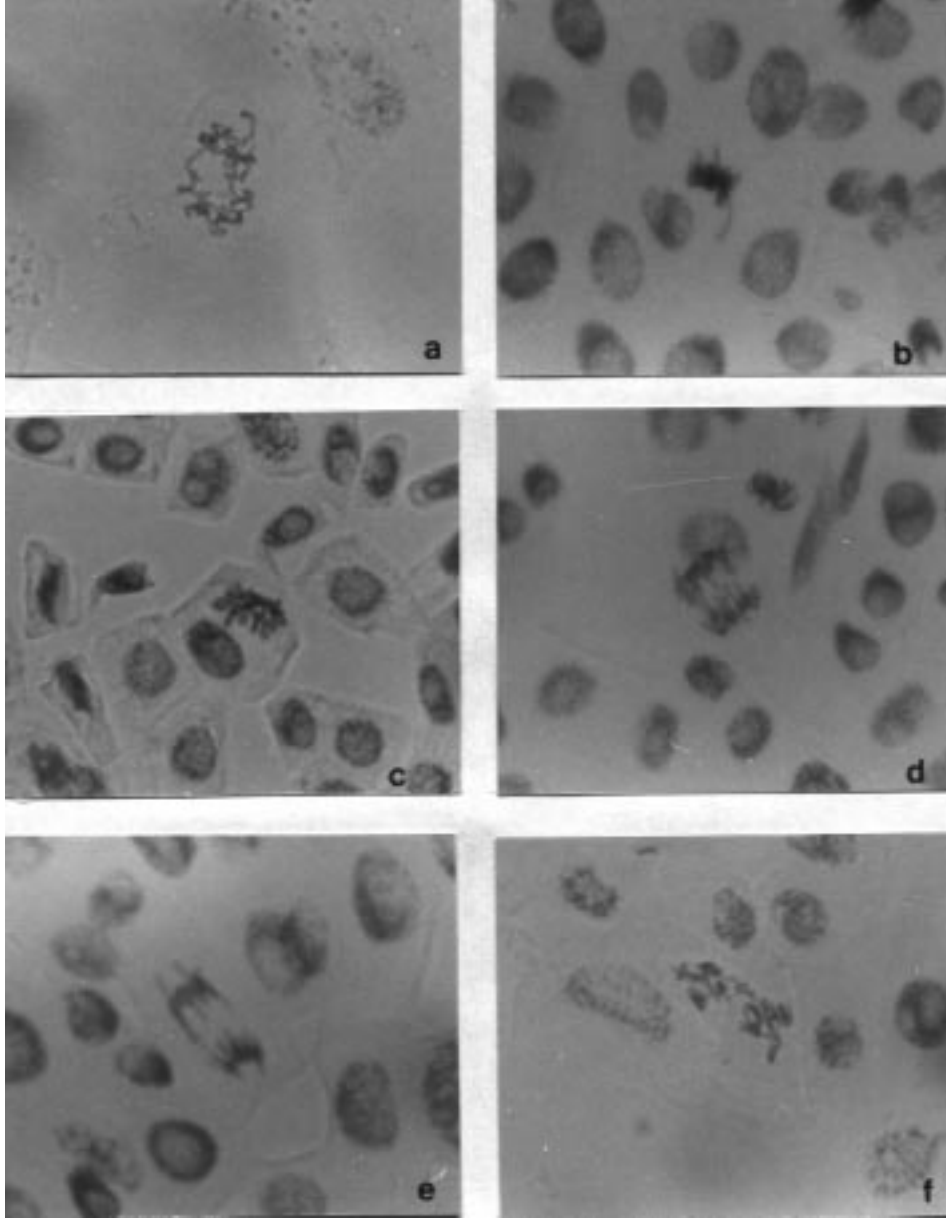
Bakır klorür'ün mitoz bölünmeyi azalttığı, hücrelerde kromozomal değişmelere neden olduğu ve bu şekilde normal hücre bölünme düzeninin değiştiği anlaşılmıştır. Aynı zamanda bakır klorür

Tablo 2. Bakır klorür'ün sebep olduğu kromozomal anormallikler.

Uygulama Saati	Uygulanan Dozlar (mg/L)	Kalgın Kromozom	Kromozomal anormallikler (%)		
			Yapışık Kromozom	Dağınık Kromozom	Köprü Kromozom
4	10	-	6.61	1.36	1.36
	25	0.78	-	-	3.10
	50	0.75	9.02	-	3.00
	100	0.81	15.44	-	-
	Kontrol	-	0.53	-	-
12	10	0.80	7.20	-	-
	25	4.39	13.18	-	5.49
	50	-	9.09	-	-
	100	-	14.70	-	-
	Kontrol	-	0.82	-	-
24	10	-	7.84	1.30	1.30
	25	0.71	7.91	2.87	2.87
	50	0.77	14.72	-	3.87
	100	0.82	15.69	3.30	4.12
	Kontrol	0.26	-	-	-
48	10	-	9.24	1.68	-
	25	-	16.66	3.62	2.17
	50	-	16.98	2.82	3.77
	100	-	21.17	5.87	7.05
	Kontrol	-	1.02	-	0.41
	LSD (%5)	1.886	3.486	1.995	1.509

doz ve zaman artışına bağlı olarak mitotik indeksi azaltmıştır (Tablo 1). Benzer bir çalışmada krom nitrat ve potasyum dikromat gibi kromlu bileşiklerin farklı dozları *Allium cepa* kök ucu hücrelerine uygulanmış ve neticede bu bileşiklerin mitotik indeksi azalttığı tespit edilmiştir (7).

Ekingen (12) *Haplopappus gracilis*'de insektisidlerin kromatid ve kromozom kırılmalarına neden olduğunu bildirmektedir. Zakia ve ark. (13) ise *Vicia faba*'da insektisidlerin kalgın kromozom, kromozom yapışmaları, köprü gibi kromozom anormalliklerine sebep olduğunu rapor etmektedir. Levent ve ark. (14) bakır klorürün, *Drosophila melanogaster*'in tükrük bezi politen kromozomlarının değişik bant bölgelerini puflaştırdığını ve pufu inaktif hale geçirdiğini belirtmektedir. Yaptığımız çalışmada bakır klorürün mitoz bölünmenin profaz evresinde düzensiz



Şekil 1. Bakır klorür'ün sebep olduğu bazı kromozomal anormallikler. a: Düzensiz kromatin dağılımı. b-c: Kromozom yapışması ve düzensiz kromozom dağılımı. d-e: Kromozom köprüsü. f: Parça oluşumu.

kromatin dağılımına, metafaz da kromozom yapışması ve kromozom dağılmasına, anafaz ve telofaz evrelerinde ise kromozom köprüsü ve eşit olmayan kromatin dağılımı gibi çeşitli kromozom anormalliklerine sebep olduğu tespit edilmiştir.

Nandi (15) ve Lerda (16) ağır metallerin çevre kirliliğine sebep olduğunu, Saldivar (17) ise besin zinciri yoluyla bu ağır metallerin devamlılığının sağlandığını rapor etmişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; ağır metal olan bakır'ın, saman, hayvan yemi ve gübre olarak kullanılan çeşitli *Vicia* (18) türlerine zarar vermesi ve hatta besin zinciriyle daha üst basamaklara kadar çıkması mümkündür.

Çinko, kadmiyum, bakır ve civa gibi ağır metallerin, tohumların çimlenmesi esnasında amilaz ve peroksidaz izoenzimlerinin sayısını arttırdığı, tohumların çimlenme yüzdesini ise azalttığı belirlenmiştir (19). Bununla beraber, civalı bileşiklerin DNA replikasyonunu engelleyebileceği (8), kromlu bileşiklerin ise kromatid kırılmalarına yol açtığı gösterilmiştir (20). Ayrıca civanın bir inhibitör gibi görev yaparak normal hücre bölünmesi için gerekli proteinlerin sentezini engellediği ve bu şekilde hücrelerde mitotik gecikmelere sebep olduğu belirtilmiştir (15). Benzer şekilde, bakır klorür'ün de aynı etkilere sahip olması sonucu mitotik indekste azalmalara ve çeşitli kromozom anormalliklerine sebep olduğunu söyleyebiliriz.

Teşekkür

İstatistiksel analizlerin yapılmasında yardımlarından dolayı Arş. Gör. Dr. Faik Ahmet Ayaz'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Berkes, F. ve Kışlalıoğlu, M., Ekoloji ve Çevre Bilimleri, İstanbul, 1990, s.171.
2. Grover, I. S. and Tyagi, P.S., Chromosomal aberrations induced by pesticides in meiotic cells of barley, *Caryologia*, 33, 251-259, 1980.
3. Njagi, C. D. E. and Gopalan, H. N. B., Mutagenicity testing of herbicides, fungicides and insecticides 1. Chromosomal aberrations in *Vicia faba*, *Cytologia*, 46, 169-172, 1981.
4. El-Khodary, S., Habib, A. and Haliem, A., Cytological effect of the herbicide garlon-4 on root mitosis of *Allium cepa*, *Cytologia*, 54, 465-472, 1989.
5. Türkiye Çevre Sorunları Vakfı: Türkiye'nin Çevre Sorunları, Ankara, 1991, s. 87.
6. Arambasic, M.B., Bjelic, S. and Subakov, G.S., Acute Toxicity of Heavy Metals (Copper, Lead, Zinc), Phenol and Sodium on *Allium cepa* L., *Lepidium sativum* L., *Daphnia magna* St.: Comparative Investigations and the Practical Applications. *Wat. Res.*, 29, 497-503, 1995.
7. Liu, D., Jiang, W. and Li, M., Effect of Trivalent and Hexavalent Chromium on Root Growth and Cell Division of *Allium cepa*, *Hereditas*, 117, 23-29, 1992.
8. De Flora, S., Bennicelli, C. and Bagnasco, M., Genotoxicity of Mercury Compounds. A Review, *Mutat Res.*, 317, 57-79, 1994.

9. Leonard, A., Jacquet, P. and Lauwerys, R. R., Mutagenicity and Teratogenicity of Mercury Compounds. *Mutat. Res.*, 114: 1-8, 1983.
10. Darlington, C. D. and La Cour, L. F., *The Handling of Chromosomes*. Allen and Unwin, 1976.
11. Kara, M., Şanda, M. A. and Ateş, A., Cytogenetic Effects of the Insecticide Cypermethin on the Root Meristems of *Allium cepa* L. *Tr. J. of Biology*, 18: 323-331, 1994.
12. Ekingen, H. R., Bazı İnsektisitlerin Bitki "Polen Ana Hücreleri" Kromozomlarında Değişmeler Meydana Getirme Bakımından Etkileri. IV. Bilim Kongresi, 5-8 Kasım, Ankara, 1-10, 1973.
13. Zakia, M. Adam., Fawzia, A. Ebad., A. Abo-El-Kheir and Iman-A, El-Sheikh, Alteration in Nucleic Acids Protein Content and Mitotic Division of *Vicia faba* Root Tips Cells as Affected by Malathion and Tamaron Insecticides. *Cytologia*, 55: 349-355, 1990.
14. Levent, S., Uysal, H. ve Bahçeci, Z., *Drosophila melanogaster*'in Tükürük Bezi Politen Kromozomlarında Bakır Klörür'ün Gen Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. *Tr. J. of Biology*, 22: 7-14, 1998.
15. Nandı, S., Studies on the Cytogenetic Effect of Some Mercuric Fungicides. *Cytologica*, 50: 921-926, 1985.
16. Lerda, D., The Effect of Lead on *Allium cepa* L., *Tutat. Res.*, 281: 89-92, 1992.
17. Saldívar De R. L., Luna, M., Reyes, E., Sato, R. and Fortoul, T. I., Cadmium Determination in Mexican-produced tobacco. *Environ. Res.*, 55: 91-96, 1991.
18. Şahin, A. ve Babaç, M. T., Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da Yetişen Bazı *Vicia* L. Türleri Üzerinde Sitotaksonomik Araştırmalar I., *Doğa Tr. J. of Botany*, 14: 124-138, 1990.
19. Ayaz, F. A. and Kadioğlu, A., The Effect of Heavy Metals on the Isoenzymes of Amylase and peroxidase during Germination of Lentil (*Lens esculanta* L.) Seeds. *Tr. J. Botany*, 20: 503-506, 1996.
20. Klasterska, I., Natarajan, A. T. and Ramel, C., An Interperation of the Origin of Subchromatid Aberrations and Chromosome Stickiness as a Catogory of Chromatid Aberrations. *Hereditas*, 83: 153-162, 1976.