



## BİTKİLERDE MİKRONÜKLEUS TESTİ İLE GENOTOKSİK HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Arzu ÖZKARA\*, Dilek AKYIL

\*Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 03200, Afyonkarahisar, [arzuozkara@gmail.com](mailto:arzuozkara@gmail.com)

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 03200, Afyonkarahisar, [dilekaykil9@gmail.com](mailto:dilekaykil9@gmail.com)

*Geliş Tarihi: 10.02.2015*

*Kabul Tarihi: 11.05.2015*

### ÖZET

İnsanlığın varoluşundan günümüze kadar çevre değişik faktörlerin etkisi ile kirlenmektedir. Özellikle son yıllarda bu kirliliğin yoğunluğu ve şiddeti önemli ölçüde artmıştır. Genotoksik kimyasalların salınımı ile meydana gelen bu kirlilik artışı ekosistemi ve insanların da içinde bulunduğu tüm organizmaları olumsuz yönde etkilemektedir. Bundan dolayı hava, su ve toprak kontaminantları ve bunların organizmalara etkisini belirlemek amacıyla hızlı ve kesin metotlara ihtiyaç vardır. Bitki köklerinin meristematik mitotik hücreleri çevresel kirlenmelerin genotoksitesinin değerlendirilmesi için uygun ve etkili sitogenetik materyallerdir. Kromozom/kromatid aberasyonu, kardeş kromatid değişimi ve mikronükleus gibi birçok sitolojik yöntemler arasında sitolojik hasarların değerlendirilmesinde en etkili ve kolay uygulanabilen metotlardan biri mikronükleus oluşumudur. Bitkilerde kullanılan mikronükleus testi çevreyle ilgili kimyasal maddelerin genotoksik profillerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı sayısal ve yapısal kromozom aberasyonlarının indirekt göstergesi olarak bilinen mikronükleus testinin bitkilerde kullanımının değerlendirilmesidir.

**Anahtar kelimeler:** *Genotoksite, bitkilerde mikronükleus testi, mikronükleus sıklığı.*

## EVALUATION OF GENOTOXIC DAMAGE WITH MICRONUCLEUS ASSAY IN PLANTS

### ABSTRACT

From the beginning, different factors have been polluting the environment. However, the intensity and the severity of different kinds of pollution has drastically increased over the last years. The increase of pollution by the release of genotoxic chemicals has affected the ecosystem and the health of organisms, including humans. There is a need for quick and precise methods for the detection and evaluation of air, water and soil contamination and their effects on organisms. The meristematic mitotic cells of plant roots are appropriate and efficient cytogenetic materials for the detection of genotoxicity of environmental pollutants. Among several cytological methods in these fast dividing cells, such as chromosome/chromatid aberrations, sister-chromatid exchanges and micronuclei, the most effective and simplest indicator of cytological damage is micronucleus formation. The micronucleus test in plants is widely used in toxicology for the assessment of the genotoxic profile of chemical compounds of environmental concern. The aim of this review is to inform about the micronucleus (MN) technique in plants which is considered to be an indirect indication for numerical and structural aberrations of chromosomes.

**Keywords:** *Genotoxicity, micronucleus assay in plants, micronucleus frequency.*

### 1. GENOTOKSİK MADDELER VE GENOTOKSİSİTE

İnsanoğlu, bilim ve teknolojinin olanaklarını kullanarak doğaya egemen olmak için yapmış olduğu girişimlerle doğada var olan dengeyi bozmuş ve çevresel kirliliğin önemli derecede artmasına sebep olmuştur. Tarımsal üretimi artırmak ve ürün kalitesini yükseltmek için kullanılan tarım ilaçları, gıdaların raf ömrünü uzatmak ve tat/estetik açıdan eklenen gıda katkı maddeleri, kozmetik ürünler, ilaçlar ve endüstriyel atıklar çevre kirliliğine büyük ölçüde sebep olan etmenlerdir. Özellikle endüstriyel faaliyetler sonucu ortaya çıkan atıklar çoğunlukla herhangi bir arıtma işlemine tabi tutulmaksızın doğaya bırakılmaktadır. Bunun sonucunda insanoğlunun da dahil olduğu çevredeki pek çok canlı bu kimyasal kirlilikten büyük ölçüde etkilenmekte ve bu canlılar tüm bu kirletici maddelerden farklı şekillerde zarar görmektedirler. Birçok çalışma hava, su, toprak ve yiyeceklerin mutajen ve karsinojenlerle sıklıkla kontamine olduğunu göstermekte ve bu kontaminasyonlar çevre ve canlıları olumsuz yönde etkilemektedir [1-3].

Genlerde DNA ile toksik ajanların etkileşmesi sonucu ortaya çıkan ve gelecek nesillere taşınan toksisite genotoksisite olarak adlandırılmaktadır [4]. Genotoksisiteye neden olan tüm maddeler ise genotoksik maddeler adını alırlar. Tüm ilaçlar, temizlik ve kozmetik maddeleri, pestisitler, besin katkı maddeleri ve sanayide kullanıldığında insanların maruz kalabileceği kimyasal maddeler toksik potansiyellere sahiptirler ve kullanıma sunulmadan önce toksik potansiyelleri yönünden değerlendirilmeleri gerekmektedir [5].

Genetik toksisite ya da genotoksisite testleri 1970'lerden bu yana kullanılmaktadır ve günümüze kadar mutajenik ve genotoksik maddelerin karsinojenik potansiyellerini ölçebilmek için birçok test geliştirilmiştir [6]. Bu sebeptendir ki son yıllarda ülkemizde kirletici ve toksik maddelerin canlılar üzerindeki etkisinin belirlenmesinde birçok test sisteminin kullanılmasının yanı sıra genotoksisitenin belirlenmesinde bitki test sistemleri de oldukça yaygın olarak tercih edilmektedir. Bitki testleri kimyasal ajanların genotoksisitesini belirlemede ve çevresel genotoksik kontaminantların in situ olarak değerlendirilmesinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır [2, 7-14]. Ek olarak bitkiler köklerinin meristematik yapısı ve kromozomlarının boyutları sebebiyle genotoksisitenin belirlenmesinde kullanılan oldukça uygun sitogenetik materyallerdir [9, 15]. Ayrıca bitkilerin kullanıldığı test sistemlerinin güvenilir ve ucuz maliyetli olmaları bu metotların son yıllarda yaygın olarak kullanılmasını sağlamaktadır [15-17]. Yine bitkiler, hayvanlarla karşılaştırıldığında çevresel maddelerin genotoksisitelerinin değerlendirilmesinde analizlerinin basit olması ve kolay elde edilebilir olmaları bakımından kusursuz modellerdir [18, 19].

## 2. MİKRONÜKLEUS TESTİNİN TARİHÇESİ

Bitki hücrelerinde kromozom hasarının ölçülmesinde mikronükleus testi ilk olarak 1950 yıllarında kullanılmaya başlanmıştır [20]. 1970'lerde hayvan hücrelerinde ve daha sonra kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kimyasal karsinojenleri belirlemeye yönelik bir test olarak kullanılmaya başlanmıştır [21, 22]. Bazı araştırmacılar geliştirdikleri modifiye metotlarla anöploidiye yol açan ajanlar ile klastojenleri birbirinden ayırmada mikronükleus büyüklük farkından yararlanmışlar; klastojenlerce uyarılan mikronükleusların asentrik kromozomal fragmanlar içeren küçük, anojenlerce uyarılan mikronükleusların tam kromozomlar içeren daha büyük ebatlı yapılar olduğunu göstermişlerdir [23-25]. Eastmond ve Tucker aynı amaçla antikinetokor antikorumları kullanarak kinetokor pozitif mikronükleusların tam bir kromozom, kinetokor negatif mikronükleusların ise asentrik kromozom fragmanı içerdiğini ve bu yöntemin anöploidi uyaran ajanları klastojenlerden ayırmada daha kesin bir yol olduğunu vurgulamışlardır [26].

Daha sonraları Fenech ve Morley (1985, 1986) tarafından geliştirilen Sitokinezi-Blok (Cytokinesis-Blocked) Metodu, bazı kinetik problemlerin ortadan kalkmasını ve tekniğin uygulanmasındaki güvenilirliğin artmasını sağlamıştır [27, 28]. Bu metot, küf mantarlarının metabolitlerinden biri olan Cytochalasin-B (Cyt-B) ile mitoz geçiren hücrelerde sitokinezi durdurma esasına dayanmaktadır. Standart lenfosit kültürlerine uygun konsantrasyonda Cyt-B ilavesiyle, çekirdek bölünmesini tamamlamış, ancak sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş çift çekirdekli hücreler kolaylıkla tanınarak sayılabilmekte ve mikronükleus bulunduran hücrelerin oranı saptanabilmektedir. Plazma membranında yüksek moleküler ağırlığa sahip bazı kompleksler mevcuttur. Bunlar aktin polimerizasyonu ve dolayısıyla da mikrofilamentlerin bir araya geliş sürecini indüklemektedir. Mikrofilamentlerin bir araya gelmesi plazmadaki yarıklanma başlangıcı için gereklidir. Cyt-B mikrofilament aktivitesini inhibe ederek sitokinezi durdurur. Standart lenfosit kültürlerine uygun konsantrasyonda Cyt-B ilavesiyle, çekirdek bölünmesini tamamlamış, ancak sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş çift çekirdekli hücreler kolaylıkla tanınarak sayılabilmekte ve mikronükleus bulunduran hücrelerin oranı saptanabilmektedir [24, 29, 30]. Sitokinezi bloklama metodu ile bazı kinetik problemler ortadan kalkmış ve *in vitro* mikronükleus tekniğinin uygulanmasındaki güvenilirlik artmıştır [24, 31-33].

### 3. MİKRONÜKLEUS TESTİ VE ÖNEMİ

Bitkilerle yapılan genotoksisite testlerinde pek çok farklı bitki ve farklı metotlar kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda bitki test sistemleri arasında özellikle mikronükleus testi en yaygın kullanılan testlerden biri olmuştur. Mikronükleuslar hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlar olarak tanımlanmaktadır. Bu oluşumlar genellikle hücre siklusunu kontrol eden genlerdeki eksikliklerden, mitotik iğdeki hatalardan, kinetokordan veya mitotik aygıtın diğer parçalarından ve kromozomal hasarlardan kaynaklanmaktadır. Mikronükleus sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak; klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak mikronükleus oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar. Bu nedenle hücrelerde mikronükleus sayısında artış saptanması somatik hücrelerdeki genomik kararsızlığın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir [34-36].

### 4. MİKRONÜKLEUS TESPİTİNDE MİKROSKOBİK KRİTERLER

Mikroskopik mikronükleus değerlendirmelerinde belli başlı bazı kriterler göz önünde bulundurulmalıdır. Bu değerlendirmede ise genellikle Heddle ve Countryman'ın kriterleri tercih edilmektedir [24]. Bu kriterler:

1. Hücreler çift nükleusa sahip olmalıdır ve belirgin sitoplazmasıyla yuvarlak veya oval görünümlü olmalıdır.
2. Nükleuslar, belirgin nükleus zarıyla çevrili yuvarlak veya oval olmalıdır.
3. Mikronükleus çapı, ana nükleusun 1/3'ü kadar veya daha küçük olmalıdır.
4. Mikronükleuslar yuvarlak ve oval şekillerde olmalıdır.
5. Mikronükleuslar asıl çekirdeğe bağlı veya bitişik olmamalı veya mikronükleer sınırlar nükleer sınırlardan ayırt edilebilir olmalıdır.
6. Mikronükleus, feulgen pozitif veya diğer DNA'ya özel reaksiyonlarda pozitif reaksiyon göstermelidir.
7. Mikronükleuslar sitoplazması iyi gözlenen hücrelerde sayılmalıdır.
8. Boya alma yoğunluğu ana nükleus ile aynı olmalıdır.
9. Sadece sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli hücrelerdeki mikronükleusların sayılması esas alınmalıdır.

### 5. MİKRONÜKLEUS TESTİNİN AVANTAJLARI

Mikronükleus testini sitogenetik anormallikleri belirlemede etkili bir metot yapan; farklı hücre tiplerinde *in vitro* şartlarda yaygın uygulanabilirliği ve sayım kolaylığıdır. Ayrıca elde edilen verilerin çok sayıda olması istatistiksel dayanağının güçlü olmasını sağlar [37]. Karşılaştırmalı çalışmalar hem mikronükleus hem de kromozom aberasyon testlerinin her ikisinde genotoksinlerin belirlenmesinde eşit duyarlılığa sahip olduğunu gösterse de interfaz hücrelerinde mikronükleus sayımı anafaz-telofaz hücrelerindeki kromozomal aberasyon sayımlarından daha kolay ve daha duyarlıdır [9, 38]. Fenech ve diğerleri (1997) mikronükleus test yönteminde kinetokor veya sentromeri belirleyen metotlar kullanarak; kromozom kırığı nedeni mikronükleus ile kromozom geri kalması nedeni mikronükleusları birbirinden ayırmanın kolay olduğunu belirtmiştir [39].

Mikronükleusun belirlenmesi insan biyomonitör sistemleri için epitel hücreler, fibroblastlar ve lenfositler gibi farklı hücre tiplerinde gerçekleştirilmiştir [40]. Bu tür belirlemeler aynı şekilde bitkilerde polen ana hücrelerinde de kolaylıkla yapılabilmektedir. *Allium cepa* ve *Vicia faba* gibi bitkilerde oluşan mikronükleus yapıları kök ucu hücreleri testi gerçekleştirilerek gözlenmektedir. Mikronükleuslar *Tradescantia* bitkisinde de polen ana hücrelerinde mayoz bölünmenin erken tetrad safhasında görülmektedir ve analizi için farklı uygulama metotları bulunmaktadır. Bu uygulamalar kullanılarak çeşitli kimyasalların ya da zararlı ışınların genotoksik potansiyelleri hakkında bilgiler elde edilebilmektedir [35].

## 6. BİTKİLERDE MİKRONÜKLEUS TESTİ

Mikronükleus testinde de diğer test sistemlerinde olduğu gibi bitkilerin elde edilmesi, taşınması ve saklanması hem kolay hem de ucuzdur. Yüksek yapılı bitkiler kromozomlarının boyutlarından dolayı sitogenetik analizler için uygundur [15].

Bilindiği gibi çeşitli kimyasal maddelerin mutajenik ve genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi için *Arabidopsis thaliana*, *Allium cepa*, *Crepis capillaris*, *Glycine max*, *Hordeum vulgare*, *Lycopersicum esculentum*, *Nicotiana*, *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Tradescantia*, *Lens culinaris* ve *Zea mays* gibi bitkiler kullanılmaktadır [2]. Bitkilerde ilk defa kardeş kromatid değişim testi 1958 yılında uygulanmış olup 1980'lerden sonra ise kardeş kromatid değişim ve mikronükleus oluşumu genotoksisite testleri arasında yaygın olarak bir arada kullanılmaya başlanmıştır [9, 41]. Ma çevresel kirleticilerin mutajenik ve genotoksik etkisini belirlemede yüksek bitkileri oldukça duyarlı canlılar olarak tanımlamaktadır [42]. Özellikle çevresel kirleticilerin ve bazı kimyasal maddelerin genotoksisitesinin belirlenmesinde kullanılan mikronükleus testi farklı bitkilerde uygulama alanı bulmuştur. *Allium* ve *Vicia* gibi bitkiler mikronükleus testinde sıklıkla kullanılırken, diğer bitkilerde de çalışmalar yapılmaktadır [43]. Ayrıca mikronükleus testi *Tradescantia* bitkisinde "stamen hair mutasyonu" ve "mikronükleus test" olmak üzere iki ana test şeklinde uygulanmakta olup, bu bitki üzerinde mikronükleus testi 1978'den bu yana kullanılmaktadır [43-45]. Bunların dışında *Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum* ve *Crepis capillaris*'de mikronükleus testi için tercih edilen bitkiler arasında olup bununla ilgili çeşitli çalışmalarda mevcuttur [12, 46-49].

### 6.1. *Allium/Vicia* Mikronükleus Testi

Genotoksisitenin in situ değerlendirilmesinde kullanılan kısa zamanlı laboratuvar çalışmalarında hızlı bir test sistemi olan mikronükleus testi *Allium cepa* ve *Vicia faba* olmak üzere iki bitkinin bölünen kök hücrelerinde analiz edilmektedir [9]. *Allium* ve *Vicia* mikronükleus çalışmaları genotoksisitenin değerlendirilmesinde oldukça umut verici ve birbiriyle ilişkili modellerdir [9, 50, 51]. Bitki tohumlarının embriyonik meristeminde mikronükleus testinin hassasiyetinin artması için, dormant tohum meristemlerinin olduğu ilk hücre bölünmesinden sonraki interfaz hücrelerindeki mikronükleus sıklığının skor edilmesi gerekmektedir [28, 52].

1930'lu yılların başlarından itibaren fiziksel ve kimyasal ajanların genotoksisitesinin değerlendirilmesinde *Allium cepa* ve *Vicia faba* kök meristemleri öncü sitogenetik materyaller olarak kullanılmaktadır. Bu iki test sistemi ile pek çok kimyasal maddenin sitogenetik analizinin gerçekleştirildiği büyük bir veri listesi mevcuttur [53, 54-58]. 1980 yılının başlarında ise bu kök tipleri genotoksisitenin indikatörleri olarak kromozom aberasyon sıklığının belirlenmesinde kullanılmıştır ve bununla ilgili U.S. EPA Gene-Tox Program'da birçok çalışma yayınlanmıştır [59]. Son zamanlarda ise kromatid aberasyonları [60], kardeş kromatid değişimi [61, 62-65] ve mikronükleus [51, 66-69] testleri genotoksisitenin değerlendirilmesinde önemli birer parametre olarak yaygın

bir şekilde uygulanmaktadır. Çevre kirleticilerinin genotoksitesinin değerlendirilmesinde *Allium/Vicia* mikronükleus testi hızlı, ucuz ve kolay uygulanabilirliğinden dolayı etkili ve güvenilir bir test sistemi olarak tercih edilmektedir.

Bitkilerde yaygın ve en iyi bilinen genotoksite testlerinden biri *Vicia* mikronükleus testidir. Bu metot su (70-72), su ekstraktları [73], sediment [74, 75], atıklar [76], toprak [77, 78] ve saf kimyasal ajanlar [58, 79] gibi farklı pek çok maddenin genotoksitesinin değerlendirilmesinde yaygın kullanım alanına sahiptir. *Vicia faba* dünyanın her yerinde kültüre edilen, kolay yetişen ve iyi gözlenebilen 6 çift büyük kromozoma sahip olan bir bitkidir. Tüm bu özelliklerinden dolayı *Vicia* mikronükleus testinin kullanımını da avantajlı hale gelmektedir [80].

*Allium cepa* ve *Vicia faba* bitkilerinde mitoz için önemli bir kriter olan mitotik aktivitelerin belirlenmesi kök ucu hücrelerinden hazırlanan preparatlar yolu ile gerçekleştirilmektedir. Bu preparatların hazırlanması için genotoksitesi test edilecek maddeye maruz bırakılan kökler yaklaşık 2-3 cm uzunluğa eriştiğinde bitkinin kök uçları kesilerek fikse edilir. Uygun prosedür takip edildikten sonra hazırlanan preparatlar mikronükleus sıklığı bakımından mikroskopik olarak değerlendirmeye alınır.

*Allium/Vicia* mikronükleus testi geçmişten bu yana yaygın kullanımını halen devam ettirmekte olup günümüzde bu testlerle ilgili birçok çalışma mevcuttur. İlhan (2008) Sunset Yellow (E110) ve Brilliant Black (E151) adlı maddeleri *Allium cepa* ve *Vicia faba* kök ucu hücrelerinde çalışmış olup bu iki maddenin doz miktarındaki artışa bağlı olarak mutasyon seviyelerinin arttığını gözlemiştir [81].

Sang ve Li (2004) sızıntı sularının genotoksitesini *Vicia faba* MN testi ile araştırmışlar ve bu bitkide sızıntı sularının genotoksik bir etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir [53]. Minouflet ve arkadaşları (2005) radyoaktif bir kontaminat olan <sup>137</sup>Cs ile yaptıkları çalışmada *Vicia* mikronükleus testi ile bu maddenin genotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir [82]. Leme ve Marin-Morales (2008) yaptıkları çalışmada *Allium cepa* mikronükleus testi kullanmışlar ve su örneklerinin genotoksik ve mutajenik etkilerini rapor etmişlerdir [83]. Ocak ve arkadaşları (2002) Eskişehir Porsuk Çayı'nın genotoksik etkisini *Allium cepa* mikronükleus ile çalışmışlar ve Çay suyunun mikronükleus oluşumunu indüklediğini tespit etmişlerdir [84].

İmidacloprid insektisitinin genotoksitesi Rodriguez ve arkadaşları (2015) tarafından *Allium cepa* üzerinde mikronükleus frekansını artırdığını tespit etmiştir [14]. Pesnya ve Romanovsky (2013) cep telefonları tarafından salınan plutonium-239 alpha partiküllerinin genotoksik etkisini *Allium cepa* üzerinde çalışmışlar ve mikronükleus oluşumunu indüklediğini tespit etmişlerdir [85]. Bunların dışında Dhyèvre ve arkadaşları (2014) toprak PH'nın *Vicia faba* ile, Herrero ve arkadaşları (2012) Di(2-ethylhexyl)phthalate, triclosan ve propylparaben'in, Pichler ve arkadaşları (2014) bir ilaç çeşidi olan Imatinib mesylate'in *Allium cepa* ile, Cotelle ve arkadaşları (1999b) kontamine toprakların, Wu ve arkadaşları (2010) arseniğin etkisini ve Ma ve arkadaşları (1995) çevresel kirleticilerin etkisini her iki bitkide de mikronükleus testi ile araştırmışlardır [3, 9, 56, 86, 87, 88].

## 6.2. *Tradescantia* Mikronükleus Testi

*Tradescantia*, farklı tipteki kimyasal maddelerin klastojenitesinin belirlenmesi için kullanılan en uygun bitkilerden biridir. Bu bitki özellikle çevresel kirleticilerin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır [45]. Kısacası bu bitki, çevresel bir indikatör olarak kabul edilmektedir. Doğrudan yaşam ortamlarından toplanarak stamen tüy analizi ve mikronükleus sıklığı açısından değerlendirilmeye alındığı gibi laboratuvar ortamında farklı maddelere maruz bırakılarak da deneme düzeneği kurulabilmektedir.

Bu bitkide stamen hair mutasyon (Trad-SH) ve mikronükleus assay (Trad-MCN) olmak üzere iki farklı test sistemi uygulanabilmektedir. Stamen tüy analizi testinin temeli *Tradescantia* çiçeklerinin renginin heterozigotluğuna dayanmaktadır. Stamen hücrelerinde pigmentasyondaki fenotipik değişim dominant olan mavi renkten resesif olan pembe renge doğrudur [43]. *Tradescantia* türlerarası melezlerinde stamen tüy analizi, en duyarlı laboratuvar testlerinden biridir ve bu test çiçek tomurcuklarının farklı kimyasal maddelere maruz bırakılmasından 2-3 hafta sonra sonuç vermektedir. Stamen tüyü analizinde somatik resesif mutasyonların varlığı pembe renkli mitotik hücrelerin oluşumu ile ortaya çıkmaktadır. Mikronükleus assay ise test edilen mutajen tarafından mayotik hücrelerin tetratlarında mikronükleus sıklığının belirlenmesi temeline dayanmaktadır [44]. Mikronükleuslar *Tradescantia* bitkisinde de polen ana hücrelerinde mayoz bölünmenin erken tetrad safhasında görülmektedir. Mikronükleus sıklığında meydana gelen artmalara bağlı olarak çeşitli kimyasal maddelerin genotoksik potansiyelleri hakkında değerlendirilmeler yapılabilmektedir.

Çevresel kirleticilerin genotoksitesinin belirlenmesinde *Tradescantia*'da *Allium cepa* ve *Vicia faba* kadar çok tercih edilen bitkilerden biridir ve bu bitkiyle ilgili yapılmış pekçok çalışma rapor edilmiştir. Pereira ve ark. [89] Brezilya'da araç kirliliğinin sebep olduğu genotoksitesiyi araştırırken *Tradescantia pallida* bitkisi ile çalışmış olup bu kirliliğin mikronükleus sıklığını indüklediğini saptamışlardır. Mielli ve ark. [90] Brezilya'da kanalizasyon kontamine olmuş sular ile sulanan bitki örneklerinde *Tradescantia* mikronükleus çalışması yapmış ve mikronükleus sıklığının indüklediğini tespit etmişlerdir. İlhan [81], Sunset Yellow (E110) ve Brilliant Black (E151) adlı boya maddelerinin *Tradescantia pallida* üzerinde oluşturduğu genetiksel değişiklikleri *Tradescantia*'da Stamen Tüyü analizi ile çalışmış ve her iki boya maddesinin genotoksik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Meireles ve ark. [91] 2009 yılında, Feira de Santana, Bahia State, Brezilya'da trafiğin yoğun olduğu 3 bölgedeki atmosferik kirleticilerin genotoksitesini *Tradescantia* mikronükleus testi ile araştırmışlardır. Özellikle araç trafiğinin yoğun olduğu bölgelerde atmosferik kirliliğin yüksek olduğunu ve bunun mikronükleus frekansını artırdığını saptamışlardır. Majer ve ark. [92] metalle kontamine olmuş toprakların etkisini *Tradescantia* mikronükleus analiziyle araştırmışlar ve kontamine toprak bölgelerine göre değişmek üzere mikronükleus sıklığının arttığını tespit etmişler. Prajapati ve Tripathi [93] Hindistan'da farklı trafik yoğunluğunun olduğu bölgelerden *Tradescantia* örnekleri toplayarak mikronükleus sıklığını araştırmışlar ve trafiğin yoğun olduğu bölgelerde mikronükleus sıklığının arttığını tespit etmişlerdir. Minouflet ve ark. [82] radyoaktif bir kontaminat olan <sup>137</sup>Cs ile yaptıkları çalışmada *Tradescantia* stamen tüy analizi ve mikronükleus testleri ile bu maddenin genotoksik bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca Rodriguez ve ark. [14] imidacloprid insektisidinin, Pichler ve ark. [87] bir ilaç çeşidi olan Imatinib mesylate'in, Elezaj ve ark. [94] termo elektrik santrallerinin etkilediği suların *Tradescantia* mikronükleus testi ile, Jiang ve ark. [95] Lijang ırmağından su örneklerinin, Fomin ve ark. [96] maden tortularından çıkan sıvı atıkların, Duan ve ark. [97] Çin'in Kunming şehrinde geçen Panlong ırmağında su genotoksitesinin ise hem mikronükleus hem de stamen tüy analizi ile genotoksitesini araştırmışlardır.

*Allium*, *Vicia* ve *Tradescantia* gibi bitkiler mikronükleus testi için sıklıkla kullanılan bitkiler olmakla birlikte bunların dışında *Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Daucus carota* ve *Crepis capillaris*'de mikronükleus testi için tercih edilen bitkiler arasındadır. Bu bitkilerle ilgili yapılmış çeşitli çalışmalarda mevcuttur [12, 46-49, 98].

## 7. SONUÇ

Genotoksite çalışmaları geçmişten bu yana geçerliliği halen devam eden çalışmalar olup, artan kirlilik boyutlarının belirlenmesi ve bu kirliliğin canlılara olan zararlarının değerlendirilmesinde bu çalışmalarının

önemi her geçen gün artmaktadır. Yaşam alanlarında bulunan genotoksik maddeler üzerinde gerçekleştirilen ve gerçekleştirilecek olan araştırmalar ile bu maddelerin genotoksik potansiyellerinin bazıları saptanmış bazılarının etkileri ise halen saptanmayı beklemektedir. Bilimsel araştırmalarda model organizma olarak genellikle bitkisel ya da hayvansal organizmalar kullanılmaktadır. Özellikle bitkisel test sistemleri avantajları dolayısıyla genotoksisite çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir.

Sonuç olarak bitkisel genotoksisite testleri içerisinde mikronükleus testi geçmişten günümüze kadar çok yoğun bir şekilde kullanılmış olup, kısa zamanlı, duyarlı ve ucuz bir test sistemi olması bu test sisteminin önemini arttırmaktadır. Yine sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilen MN testi, organizmayı etkileyen çeşitli fiziksel ve kimyasal ajanların sitogenetik etkilerini belirlemek için yapılabilecek büyük çaplı tarama çalışmalarında güvenle kullanılabilir.

## 8. KAYNAKLAR

- [1] D. Feretti, I. Zerbini, C. Zani, E. Ceretti, M. Moretti, and S. Monarca, “*Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes”, *Food Add. Contam.*, 24(6), 561–572 (2007).
- [2] A. Özkara, D. Akyıl, S. F. Erdoğan, and M. Konuk, “Evaluation of germination, root growth and cytological effects of wastewater of sugar factory (Afyonkarahisar) using *Hordeum vulgare* bioassays”, *Environ Monit Assess.*, 183, 517–524 (2011).
- [3] A. Dhyèvre, A. S. Foltête, D. Aran, S. Muller, and S. Cotelle, “Effects of soil pH on the *Vicia*-micronucleus genotoxicity assay”, *Mutat Res.*, 774, 17–21 (2014).
- [4] A. A. Başaran, “Farmakognozide Tek Hücre Jel Elektrofrezisi Uygulamaları. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir, Eds. K.H.C.Başer ve N.Kırimer, ISBN 975-94077-2-8 (2004).
- [5] Ş. Saygı, “Deneysel toksikolojide toksisite testleri ve test sonuçlarının önemi”, *Gülhane Tıp Dergisi*, 45(3), 291-298 (2003).
- [6] A. Bedir, B. Bilgici, Z. Yurdakul, B. Ş. Gürsel, and M. Alvur, “DNA hasarı analizinde  $\mu$ -FADU ve comet yöntemlerinin karşılaştırılması”, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3), 97-103 (2004).
- [7] R. Kluge, and W. Podlesak, “Plant critical levels for the evaluation of boron toxicity in spring barley (*Hordeum vulgare* L.)”, *Plant Soil*, 83, 381–388 (1985).
- [8] W. F. Grant, “The present status of higher plant bioassay for the detection of environmental mutagens”, *Mutat Res.*, 310, 175–185 (1994).
- [9] T. H. Ma, Z. Xu, C. Xu, H. McConnell, E. V. Rabago, G. A. Arreola, and H. Zhang, “The improved *Allium*–*Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants”, *Mutat. Res.*, 334, 185–195 (1995).
- [10] B. J. Majer, T. Grummt, M. Uhl, and S. Knasmüller, “Use of plant bioassays for the detection of genotoxins in the aquatic environment”, *Acta Hydrochim Hydrobiol.*, 33, 45–55 (2005).



- [11] M. Misik, M. Solenska, K. Miscieta, K. Misikova, and S. Knasmuller, "In situ monitoring of clastogenicity of ambient air in Bratislava, Slovakia using the *Tradescantia* micronucleus assay and pollen abortion assays", *Genetic Toxicol Environ Mut*, 605, 1–6 (2006).
- [12] P. Gadeva, and B. Dimitrov, "Genotoxic effects of the pesticides rubigan, omite and roval in root meristem cells of *Crepis capillaris* L.", *Genetic Toxicol Environ Mut*, 652, 191–197 (2008).
- [13] D. M. Leme, and M. A. Marin-Morales, "*Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application", *Mutat Res*, 682, 71–81 (2009).
- [14] Y. A. Rodriguez, C. A. Christofolletti, J. Pedro, O. C. Bueno, O. Malaspina, R. A. C. Ferreira, and C. S. Fontanetti, "*Allium cepa* and *Tradescantia pallida* bioassays to evaluate effects of the insecticide imidacloprid", *Chemosphere*, 120, 438–442 (2015).
- [15] G. Fiskesjö, "The *Allium* test as a standard in environmental monitoring", *Hereditas*, 102, 99–112 (1985).
- [16] P. N. Saxena, L. K. S. Chauhan, and S. K. Gupta, "Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: spectroscopic basis of chromosome damage", *Toxicol*, 216, 244–252 (2005).
- [17] A. Özkara, D. Akyıl, Y. Eren, S. F. Erdoğan, M. Konuk, and E. Sağlam, "Assessment of cytotoxic and genotoxic potential of pyracarblid by allium test and micronucleus assay", *Drug Chem Toxicol*, DOI: 10.3109/01480545.2014.966831 (2014).
- [18] W. F. Grant, "Cytogenetics studies of agricultural chemicals in plants in genetic toxicology an agricultural perspective", Plenum Press, New York, 335–378p (1992).
- [19] Ş. Türkoğlu, "Genotoxic effects of mono-, di-, and trisodium phosphite on mitotic activity, DNA content, and nuclear volume in *Allium cepa* L.", *Caryologia*, 62(3), 171–179 (2009).
- [20] W. Schmid, "The micronucleus test", *Mutat. Res*, 31, 9–15 (1975).
- [21] M. Widel, Z. Kolosza, S. Jedrus, B. Lukaszczyk, K. Raczek-Zwierzycka, and A. Swierniak, "Micronucleus assay *in vivo* provides significant prognostic information in human cervical carcinoma; the updated analysis", *Int. J. Radiation Biol*, 77(5), 631–636 (2001).
- [22] G. C. Jagetia, A. Jayakrishnan, D. Fernandes, and M. S. Vidyasagar, "Evaluation of micronuclei frequency in the cultured peripheral blood lymphocytes of cancer patients before and after radiation treatment", *Mutat. Res*, 491, 9–16 (2001).
- [23] M. M. Von Ledebur, and W. Schmid, "The micronucleus test: Methodological aspects", *Mutat. Res*, 19, 109–117 (1973).
- [24] J. A. Heddle, and R. I. Countryman, "The production of micronuclei from chromosome aberration in irradiated cultures of human lymphocytes", *Mutat. Res*, 41, 321–32 (1976).
- [25] B. Högstedt and A. Karlsson, "The size of micronuclei in human lymphocytes varies according to inducing agent used", *Mutat. Res*, 156, 229–232 (1985).
- [26] D. A. Eastmond, and J. D. Tucker, "Identification aneuploidy inducing agents using cytokinesis-blocked human lymphocytes and an antikinetochore antibody", *Environ. Molecular Mut*, 13, 34–43 (1989).

- [27] M. Fenech, and A. A. Morley, "Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay", *Cytobios*, 43, 233-46 (1985).
- [28] M. Fenech, and A. A. Morley, "Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of *in vivo* ageing and low-dose X-irradiation", *Mutat. Res*, 161, 193-198 (1986).
- [29] Y. B. Kutbay, "Sitokalsin-B ile Bloklanan Hücrelerde Yaşa Bağlı Mikronükleus Oranları", Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Samsun (2001).
- [30] Ş. Demirel, and A. Zamani, "Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları", *Selçuk Üniversitesi Genel Tıp Dergisi*, 12(3), 123-127 (2002).
- [31] P. Vanparys, F. Vermeiren, M. Sysmans, and R. Temmerman, "The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity", *Mutat. Res*, 244, 95-103 (1990).
- [32] K. Labay, M. Ould-Elhkim, V. Kles, M. Guffroy, J. M. Poul, and P. Sanders, "Effects of griseofulvin in medium-term liver carcinogenesis assay and peripheral blood micronucleus test in rat", *Teratogen. Carcinogen. Mutagen*, 21, 441-451 (2001).
- [33] S. W. Maluf, and B. Erdtmann, "Genomic instability in Down syndrome and Fanconi anemia assessed by micronucleus analysis and single-cell gel electrophoresis", *Cancer Genet. Cytogen*, 1, 124-125 (2001).
- [34] M. Kirsch-Volders, A. Elhajouji, E. Cundari, and P. Van Hummelen, "The *in vitro* micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction", *Mutat. Res*, 392(1-2), 19-30 (1997).
- [35] H. Stopper, and O. S. Müller, "Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: A minireview", *Toxicol. In Vitro*, 11, 661-667 (1997).
- [36] W. N. Choy, "Genetic toxicology and cancer risk assessment", New York: Marcel Dekker, 163-186 (2001).
- [37] M. Fenech, N. Holland, W. P. Chang, E. Zeiger, and S. Bonassi, "The human micronucleus project-an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans", *Mutat. Res*, 428, 271-283 (1999).
- [38] J. Rank, and M. H. Nielsen, "A modified Allium test as a tool in the screening of genotoxicity of complex mixtures", *Hereditas*, 118, 49-53 (1993).
- [39] M. Fenech, I. E. Dreosti, and J. R. Rinaldi, "Folate, vitamin B12, homocysteine status and chromosome damage rate in lymphocytes of older men", *Carcinogen*, 18, 1329-1336 (1997).
- [40] M. Fenech, W. P. Chang, M. Kirsch-Volders, N. Holland, S. Bonassi, and E. Zeiger, "Human micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures", *Mutat. Res*, 534(1-2), 65-75 (2003).
- [41] J. H. Taylor, "Sister-chromatid exchanges in tritium-labeled chromosomes", *Genetics*, 43, 515-529 (1958).
- [42] T. H. Ma, "The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China", *Environ Mutagens*, 426, 103-106 (1999).

- [43] T. H. Ma, G. L. Cabrera, A. Cebulka-Wasilewska, R. Chen, F. Loarca, A. L. Vandererg, and M. F. Salamone, “*Tradescantia*-stamen-hair mutation bioassay – A collaborative study on plant genotoxicity bioassays for the international program on chemical safety”, *Mutat. Res*, 310, 211-220 (1994a).
- [44] T. H. Ma, G. L. Cabrera, R. Chen, B. S. Gill, S. S. Sandhu, A. L. Vanderberg, and M. F. Slamone, “*Tradescantia*-micronucleus bioassay – A collaborative study on plant genotoxicity bioassays for the international program on chemical safety”, *Mutat. Res*, 310, 221-230 (1994b).
- [45] T. H. Ma, C. Xu, S. Liao, H. McConnell, B.S. Jeong, and C.D. Won, “In situ monitoring with the *Tradescantia* bioassays on the genotoxicity of gaseous emissions from a closed landfill site and an incinerator”, *Mutat. Res*, 359, 39-52 (1996).
- [46] G. Li, Y. Yun, H. Li, and N. Sang, “Effect of landfill leachate on cell cycle, micronucleus, and sister chromatid exchange in *Triticum aestivum*”, *J. Hazardous Mat*, 155, 10–16 (2008).
- [47] I. Duquesnoy, G. M. Champeau, G. Evray, G. Ledoigt, and A. Piquet-Pissaloux, “Enzymatic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Zea mays* and genotoxic effect of arsenic in root tips of *Vicia faba* and *Zea mays*”, *Comptes Rendus Biol*, 333, 814–824 (2010).
- [48] Y. Dong, and J. Zhang, “Testing the genotoxicity of coking wastewater using *Vicia faba* and *Hordeum vulgare* bioassays”, *Ecotox Environ Safety*, 73, 944–948 (2010).
- [49] M. Han, G. Li, N. Sang, and Y. Dong, “Investigating the biotoxicity of coking waste water using *Zea mays* L. assay”, *Ecotox. Environ. Safety*, 74, 1050–1056 (2011).
- [50] H. Evans, G. Neary, and F. Williamson, “The relative biological efficiency of single dose of fast neutrons and X-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Part II. Chromosome damage: the production of micronuclei”, *Int. J. Radiation Biol*, 1, 216–229 (1959).
- [51] D. Akyıl, and M. Konuk, “Detection of genotoxicity and mutagenicity of chlorthiophos using micronucleus, chromosome aberration, sister chromatid exchange, and ames tests”, *Environ. Toxicol*, DOI: 10.1002/tox.21968 (2014).
- [52] M. Fenech, “The *in vitro* micronucleus technique”, *Mutat. Res*, 455, 81–95 (2000).
- [53] N. Sang, and G. Li, “Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*”, *Mutat. Res*, 560, 159–165 (2004).
- [54] R. Kırımlı, “Bazı fungusit ve insektisitlerin *Vicia faba* L. ve *Capsicum annuum* L. türlerinin kök ucu mitozu üzerine etkileri”, Yüksek Lisans Tezi Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale (2007).
- [55] K. Srivastava, and K. K. Mishra, “Cytogenetic effects of commercially formulated atrazine on the somatic cells of *Allium cepa* and *Vicia faba*”, *Pesticide Biochem Physiol*, 93, 8–12 (2009).
- [56] L. Wu, H. Yi, and M. Yi, “Assessment of arsenic toxicity using *Allium/Vicia* root tip micronucleus assays”, *J. Hazardous Mat*, 176, 952–956 (2010).
- [57] B. Pourruta, S. Jeana, J. Silvestre, and E. Pinelli, “Lead-induced DNA damage in *Vicia faba* root cells: potential involvement of oxidative stress”, *Mutat. Res*, 726, 123–128 (2011).

- [58] A. Khadra, E. Pinelli, M. Z. Lacroix, A. Bousquet-Melou, H. Hamdi, G. Merlina, M. Guiresse, and M. Hafidi, "Assessment of the genotoxicity of quinolone and fluoro-quinolones contaminated soil with the *Vicia faba* micronucleus test", *Ecotox. Environ. Safety*, 76, 187–192 (2012).
- [59] Office of Pesticide Programs, Pesticide Ecotoxicity Database (Formerly: Environmental Effects Database (EEDB)) Environmental Fate and Effects Division, USEPA, Washington, DC, (2000).
- [60] F. P. Cortes, and S. Mateos, "Premature onset of mitosis and potentiation of chromosome damage induced by polyo-lysine in plant cells: evidence for G 2 repair", *Mutat. Res*, 247, 147-151 (1991).
- [61] F. Cortes, P. Escalza, and M. Diazrecasens, "Factors affecting the production of SCEs by maleic hydrazide on root-tip chromosomes of *Allium cepa*", *Mutat. Res*, 192, 125-130 (1987).
- [62] P., Kuglik, and J. Slotova, "Different effects of pretreatment with tritiated thymidine (tritiated) on radiation-induced sister chromatid exchanges (SCEs) and micronuclei in *Vicia faba* root tip", *Biol Plantarum*, 33, 291-297 (1991).
- [63] J. I. González Borroto, A. Creus, and R. Marcos, "Genotoxic evaluation of the furylethylene derivative 1-(5-bromofor-2-yl)-2- nitroethene in cultured human lymphocytes", *Mutat. Res*, 519, 179-185 (2002).
- [64] T. Beg, Y. H. Siddique, G. Ara, M. Gupta, and J. Afzal, "Protective action of EGCG against anticancer drugs MMS and CP", *Int. J. Pharmacol*, 6(2), 1-7 (2009).
- [65] A. Montoro, J. M. Soriano, J. F. Barquinero, M. Almonacid, A. Montoro, G. Verdu, V. Sahuquillo, J. I. Villaescusa, and N. Sebastia, "Assessment *in vitro* of cytogenetic and genotoxic effects of propolis on human lymphocytes", *Food Chem. Toxicol*, 50(2), 216-221 (2012).
- [66] K. K. Panda, M. Lenka, and B. B. Panda, "Monitoring and assessment of mercury pollution in the vicinity of a chloroalkali plant, I. Distribution, availability and genotoxicity of sediment mercury in the Rushikulya Estuary, India", *Sci. Total Environ*, 96, 281-296 (1990).
- [67] C. Ruan, Y. Liang, and J. Liu, "Application of *Vicia faba* root tips micronucleus test in the rapid detection of mutagenic environmental pollutants", *China J. Environ. Sci*, 13, 56-58 (1992).
- [68] K. Saleh, and H. Zeytinoğlu, "Micronucleus test in the peripheral erythrocytes of *Rana ridibunda* as an indicator of environmental pollution", *Anadolu Üniversitesi J. Sci. Tech*, 2(1), 77-82 (2001).
- [69] D. Akyıl, A. Özkara, S. F. Erdoğan, Y. Eren, M. Konuk, and E. Sağlam, "Micronucleus assay in human lymphocytes after exposure to alloxym sodium herbicide *in vitro*", *Cytotech*, DOI: 10.1007/s10616-014-9746-8 (2014).
- [70] F. Degrassi, and M. Rizzoni, "Micronucleus test in *Vicia faba* root tips to detect mutagen damage in fresh water pollution", *Environ. Mutagen*, 97, 19–33 (1982).
- [71] C. Q. Duan, B. Hu, X. H. Jiang, C. H. Wen, Z. Wang, and Y. X. Wang, "Genotoxicity of water samples from Dianchi lake detected by the *Vicia faba* micronucleus test", *Fundamental Mol. Mechanism Mutagen*, 426, 121–125 (1999)
- [72] L. Giorgetti, H. Talouizte, M. Merzouki, L. Caltavuturo, C. Geri, and S. Frassinetti, "Genotoxicity evaluation of effluents from textile industries of the region Fez-Boulmane, Morocco: a case study", *Ecotox. Environ Safety*, 74, 2275–2283 (2011).

- [73] S. Cotelle, J. F. Masfaraud, and J. F. Féraud, "Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia* micronucleus and the *Tradescantia*-micronucleus assays", *Mutat. Res*, 426, 167–171 (1999a).
- [74] S. L. Feng, B. X. Mai, G. J. Wei, and X. M. Wang, "Genotoxicity of the sediments collected from Pearl River in China and their polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and heavy metals", *Environ. Monitoring Assess*, 184, 5651–5661 (2012).
- [75] L. Juarez-Santacruz, E. Garcia-Nieto, R. Costilla-Salazar, E. Garcia-Gallegos, C. Coronel-Olivares, M. Gomez-Camarillo, and J. Gaytan-Oyarzun, "Assessment of the genotoxic potential of sediments contaminated with POPs and agricultural soils using *Vicia faba* micronucleus assay", *Soil Sediment Contam*, 22, 288–300 (2013).
- [76] C. E. Marcato-Romain, E. Pinelli, B. Pourrut, J. Silvestre, and M. Guisresse, "Assessment of the genotoxicity of Cu and Zn in raw and anaerobically digested slurry with the *Vicia faba* micronucleus test", *Genetic Toxicol. Environ. Mutagen*, 672, 113–118 (2009a).
- [77] C. E. Marcato-Romain, M. Guisresse, M. Cecchi, S. Cotelle, and E. Pinelli, "New direct contact approach to evaluate soil genotoxicity using the *Vicia faba* micronucleus test", *Chemosphere*, 77, 345–350 (2009b).
- [78] A. S. Foltête, A. Dhyèvre, J. F. Féraud, and S. Cotelle, "Improvement of *Vicia*-micronucleus test for assessment of soil quality: a proposal for international standardization", *Chemosphere*, 85, 1624–1629 (2011).
- [79] V. C. Silva, S. M. Almeida, C. Resgalla, J. F. Masfaraud, S. Cotelle, and C. M. Radetski, "Arsenate (As V) in water: quantitative sensitivity relationships among biomarker, ecotoxicity and genotoxicity endpoints", *Ecotox. Environ. Safety*, 92, 174–179 (2013).
- [80] N. Kanaya, B., S. Gill, I. S. Grover, A. Murin, R. Osiecka, S. S. Sandhu, and H. C. Andersson, "*Vicia faba* chromosomal aberration assay", *Fundamental Mol. Mechanism Mutagen*, 310, 231–247 (1994).
- [81] D. İlhan, "*Tradescantia pallida* H., *Allium cepa* L., *Vicia faba* L. Bitkilerinde Bazı Genotoksik Bileşiklerin Genetiksel Etkilerinin Belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 120 (2008).
- [82] M. Minouflet, S. Ayrault, P. M. Badot, S. Cotelle, and J. F. Féraud, "Assessment of the genotoxicity of <sup>137</sup>Cs radiation using *Vicia*-micronucleus, *Tradescantia*-micronucleus and *Tradescantia*-stamen-hair mutation bioassays", *J. Environ. Radioactivity*, 81, 143–153 (2005).
- [83] D. M. Leme, and M. A. Marin-Morales, "Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water- A case study", *Mutat. Res*, 650, 80–86 (2008).
- [84] A. Ocak, A. Çiçek, H. Zeytinoğlu, and A. Mercangöz, "Porsuk çayı suyunun bazı tarım bitkileri üzerindeki ekotoksikolojik etkileri", *Çevre Koruma Dergisi*, 11, 9–13 (2002).
- [85] D. S. Pesnya, and A. V. Romanovsky, "Comparison of cytotoxic and genotoxic effects of plutonium-239 alpha particles and mobile phone GSM 900 radiation in the *Allium cepa* test", *Mutat. Res*, 750, 27–33 (2013).

- [86] O. Herrero, J. M. Perez Martin, P. Fernandez Freire, L. Carvajal Lopez, A. Peropadre, and M. J. Hazen, "Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test", *Mutat. Res*, 743, 20–24 (2012).
- [87] C. Pichler, M. Filipić, M. Kundi, B. Rainer, S. Knasmueller, and M. Mišik, "Assessment of genotoxicity and acute toxic effect of the imatinib mesylate in plant bioassays", *Chemosphere*, 115, 54–58 (2014).
- [88] S. Cotelle, J. F. Masfaraud, and J. F. Féraud, "Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia* micronucleus and the *Tradescantia* micronucleus assays", *Fundamental Mol. Mechanism Mutagen*, 426, 167–171 (1999b).
- [89] B. B. Pereira, E. O. C. Júnior, and S. Morelli, "In situ biomonitoring of the genotoxic effects of vehicular pollution in Uberlandia, Brazil, using a *Tradescantia* micronucleus assay", *Ecotox. Environ Safety*, 87, 17–22 (2013).
- [90] A. C. Mielli, M. E. M. Matta, A. Nersesyan, P. H. N. Saldiva, and G. A. Umbuzeiro, "Evaluation of the genotoxicity of treated urban sludge in the *Tradescantia* micronucleus assay", *Mutat. Res*, 672, 51–54 (2009).
- [91] J. Meireles, R. Rocha, A. C. Neto, and E. Cerqueira, "Genotoxic effects of vehicle traffic pollution as evaluated by micronuclei test in *Tradescantia* (Trad-MCN)", *Mutat. Res*, 675, 46–50 (2009).
- [92] B. J. Majer, D. Tscherko, A. Paschke, R. Wennrich, M. Kundi, E. Kandeler, and S. Knasmüller, "Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation", *Mutat. Res*, 515, 111–124 (2002).
- [93] S. K. Prajapati, and B. D. Tripathi, "Assessing the genotoxicity of urban air pollutants in Varanasi City using *Tradescantia* micronucleus (Trad-MCN) bioassay", *Environ. Int*, 34, 1092–1096 (2008).
- [94] I.R. Elezaj, L. B. Millaku, R. H. Imeri-Millaku, Q. I. Selimi, and K. R. R. Letaj, "Acute genotoxic effects of effluent water of thermo-power plant Kosova in *Tradescantia pallida*", *J. Chem. Health Risks*, 1(1), 23–28 (2011).
- [95] Y. G. Jiang, Z. D. Yu, G. Z. Liu, R. Z. Chen, and G. Y. Peng, "Genotoxicity of water samples from the scenic Lijang river in the Guilin area, China, evaluated by *Tradescantia* bioassays", *Mutat. Res*, 426, 137–141 (1998).
- [96] A. Fomin, A. Paschke, and U. Arndt, "Assessment of the genotoxicity of mine-dump material using the *Tradescantia*-stamen hair (Trad-SHM) and the *Tradescantia*-micronucleus (Trad-MCN) bioassays", *Mutat. Res*, 426, 173–181 (1998).
- [97] C. Q. Duan, B. Hu, Z. H. Wang, C. H. Wen, S. Q. Yan, X. H. Jiang, D. K. Wang, Q. Li, and X. F. Liang, "*Tradescantia* bioassays for the determination of genotoxicity of water in the Panlong River, Kunming, People's Republic of China", *Mutat. Res*, 426, 127–131 (1998).
- [98] A. Poma, L. Arrizza, P. Picozzi, and L. Spano, "Monitoring urban air particulate matter (fractions PM<sub>2.5</sub> and pm<sub>10</sub>) genotoxicity by plant systems and human cells *in vitro*: A comparative analysis", *Teratogen. Carcinogen. Mutagen*, 22, 271–284 (2002).