

Demir oksit (Fe_2O_3) nanopartikülünün *Allium tuncelianum* (Tunceli Sarımsağı) kök ucu hücrelerindeki mitotik etkisi

Mitotic effect of Iron oxide (Fe_2O_3) nanoparticle in *Allium tuncelianum* (Tunceli Garlic) root tip cells

Neslihan TAŞAR¹ 

¹Munzur Üniversitesi, Tunceli Meslek Yüksekokulu, Bitkisel Ve Hayvansal Üretim Bölümü, Organik Tarım Programı, Tunceli

Eser Bilgisi / Article Info

Araştırma makalesi / Research article

DOI: 10.17474/artvinofd.1339708

Sorumlu yazar / Corresponding author

Neslihan TAŞAR

e-mail: ntasar@munzur.edu.tr

Geliş tarihi / Received

15.04.2023

Düzeltilme tarihi / Received in revised form

08.09.2023

Kabul Tarihi / Accepted

09.09.2023

Elektronik erişim / Online available

15.10.2023

Anahtar kelimeler:

Nanopartikül

Demir oksit

Allium tuncelianum

Mitotik etki

Keywords:

Nanoparticle

Iron oxide

Allium tuncelianum

Mitotic effect

Özet

Dünya nüfusunun hızla artmasıyla birlikte ivme kazanan endüstriyel faaliyetler ve doğal kaynakların bilinçsiz tüketimi çevre kirliliğine sebep olmaktadır. Nanopartikül kullanılarak elde edilen malzemeler birçok alanda kullanılmaktadır. Tıp alanında kullanılan cihazlar, gıda üretimi ve paketlenmesi, elektronik, enerji üretimi ve kozmetik bu alanların başında sayılabilir. Nano-endüstriyel faaliyetler sonucunda demir oksit nanopartikülü (Fe_2O_3 NP) kullanımının artışıyla birlikte bu NP'ün toprakta, suda ve havada birikeceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, değişik dozlarda hazırlanan (125, 250 ve 500 ppm) 20-40 nm Fe_2O_3 NP' lüne maruz bırakılan ve indikatör bir organizma olan *Allium tuncelianum* (Kollmann) Özhatay, B.Mathew & Şiraneci (Tunceli sarımsağı) bitkisinin kök meristem hücrelerindeki mitotik etkisinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Fe_2O_3 NP'lü, genetik materyal kaybı, yapısı bozulmuş profaz, yapışıklık, metafazda kromozom gruplaşmaları, yapısı bozulmuş metafaz, yapısı bozulmuş anafaz, fragment, kutupsal sapma, köprü, ileri gitme, asenkron bölünme, star anafaz, multipolarite, yapısı bozulmuş telofaz gibi bazı mitotik anormalliklere sebep olmuştur. Bütün bu sonuçlar göstermiştir ki Fe_2O_3 NP' lü genotoksik ve klastojenik etkiye sahiptir. Kısaca bu sonuçlar, Organizmalar tarafından alınan Fe_2O_3 NP' lünün hem organizma hem de bir üst tüketici için tehlike oluşturabileceğini göstermektedir. Yine bu bulgular organizmaları etkileyen Fe_2O_3 NP' lünün, biyobirikiminin azaltılması için kontrollü olarak üretilmesi ve kullanılmasının sonuçta da güvenli bir şekilde bertaraf edilmesi gerektiğini açığa çıkarmaktadır.

Abstract

With the rapid increase in the world population, industrial activities and unconscious consumption of natural resources cause environmental pollution. Materials obtained using nanoparticles are used in many fields. Devices used in the medical field, food production and packaging, electronics, energy production and cosmetics can be counted at the beginning of these fields. As a result of nano-industrial activities, it is thought that this NP will accumulate in soil, water, and air with the increase in the use of iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3 NP). In this study, it was aimed to reveal the mitotic effect on root meristem cells of *Allium tuncelianum* (Kollmann) Özhatay, B.Mathew & Şiraneci (Tunceli garlic), which is an indicator organism and exposed to 20-40 nm Fe_2O_3 NP prepared at different doses (125, 250 and 500 ppm). Fe_2O_3 NPs, such as loss of genetic material, deconstructed prophase, adhesion, chromosome groupings in metaphase, deconstructed metaphase, deconstructed anaphase, fragment, polar deviation, bridge, going forward, asynchronous division, star anaphase, multipolarity, deconstructed telophase caused some mitotic abnormalities. All these results showed that Fe_2O_3 NP has genotoxic and clastogenic effects. Briefly, these results show that Fe_2O_3 NP taken by organisms may pose a danger to both the organism and the upper consumer. Again, these findings reveal that the controlled production and use of Fe_2O_3 NP' s affecting organisms to reduce their bioaccumulation must ultimately be safely disposed of.

GİRİŞ

1-100 nm büyüklükte olan malzemelerin sentezlenmesiyle tanımlanan biyoteknoloji; temel bilimler (fizik, kimya, biyoloji) ve mühendislik alanlarındaki uygulamaları da içine alan hayatın her alanında kullanmayı amaçlayan yeni bir bilimsel akımdır (Ates 2018). Bu alan her geçen gün daha fazla dikkat çekmektedir. Çünkü canlılığın her alanında yaygınlaşan bu

yeni teknoloji 21. yüzyılda önemli rekabet alanlarından biri haline gelecektir. Bundan dolayıdır ki ülkeler bu alandaki yatırımlarına oldukça hız vermişlerdir. Çok küçük yapıda olan Nanopartiküller, kimyasal, optik ve manyetik özelliklere sahiptir (Huber 2005). Bu üstün özellikleri sayesinde nanomalzeme bilimi, elektrik ve elektronik, biyomedikal, çevre bilimi ve temizlik, enerji üretimi ve bu enerjinin saklanması gibi alanlarda farklı teknolojilerin kullanılmasına yönelik imkân sağlayan bir endüstri haline

gelmiştir (Colvin 2003). NP'lerin gerçeküstü olarak tanımlanan bu özellikleri birçok yeni malzemenin üretilmesine ve kullanılmasına imkân sağlamaktadır (Yang ve ark. 2020). Ancak bu üstün sayılan özelliklerinin yanında çevre ve canlı yaşamı üzerinde oluşturabileceği yan etkileri konusunda henüz bilinen çok az şey mevcuttur. Mühendislik bilimi sayesinde üretilen nanomalzemelerin oluşturabileceği sorunlar insan yaşamıyla bütünleştikçe daha net bir şekilde anlaşılmaktadır (Dagani 2003).

Fe₂O₃ NP'lü, metal oksit grubundandır. Bu NP kimyasal ve fiziksel açıdan kararlıdır ve çevresel olarak ta güvenilir kabul edilir. Bu nedenle başta sağlık alanı olmak üzere birçok hastalığın tanı ve tedavisinde, MR gibi görüntüleme araçlarında, ilaç ve gen taşınması gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Bununla birlikte gıda ürünlerinde, kozmetik sektöründe, güneş koruyucu kremlerde, immünoassay çalışmalarında, savunma endüstrisinde, elektronik aletlerde ve tarımda yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Kullanım alanı yaygınlaşan Fe₂O₃ NP'ü ile yapılan bazı genetik araştırmalar bu NP' ün toksik, özellikle de genotoksik olabileceği sonucunu doğurmuştur.

Bu sonuçtan yola çıkarak çeşitli NP'lerin özellikle de metal oksit grubundan olanların genotoksik olabileceği öngörüsüyle detaylı araştırmalar yapılmaya başlanmıştır (Seabra ve Duran 2015).

Yapılan araştırmalar neticesinde NP'ler ile etkileştirilen bitkilerin gen ekspresyon mekanizmalarında bozunmalar olduğu belirlenmiştir. Bu bozunmalarla birlikte genotoksikite oluşumunun tetiklendiği bildirilmiştir (Tortella ve ark. 2020).

NP'lerin oluşturduğu toksik etki nokta mutasyonlar meydana getirir ve DNA da hasar oluşturur. Bunun sonucu olarak ta ölüm reseptörü genlerinin ekspresyonu aktifleşir (Yang ve ark. 2020).

Fe₂O₃ NP'ünün yaygın kullanımı sonucunda hem bunları üretenlerde hem kullananlarda hem de oluşan atıkların doğaya karışması sonucu tüm canlılarda bir birikime sebep olmaktadır. Bu birikim başta insan olmak üzere

bütün canlılarda tehdit unsuru haline gelmiştir. Bu düşünce neticesinde Fe₂O₃ NP'ünün bitkiler üzerindeki mitotik etkileri konusu da araştırılmaya başlanmıştır.

Turp (*Raphanus sativus*) ile yapılan bir araştırmada Fe₂O₃ NP'ünün apoptotik ve genotoksik etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak Fe₂O₃ NP'ünün *Raphanus sativus* bitkisinin kök uzunluğunu ve tohum çimlenmesini geciktirdiği belirlenmiştir (Saqib ve ark. 2016).

Fe₂O₃ NP'ünün *Allium cepa* L. üzerindeki mitotik etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak <50 nm ve <100 nm boyutlarındaki Fe₂O₃ NP'ü ile iyonik Fe₂O₃ formun genotoksik potansiyeli, *Allium* ve comet testleri kullanılarak araştırıldığında, <50 nm, <100 nm ve iyonik formdaki Fe₂O₃'ün *Allium cepa* L. kök hücrelerinde mitotik indekste azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Bu durum comet testi ile değerlendirilmiş ve konsantrasyon artışına bağlı olarak DNA hasarında da artış olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Kaygisiz ve Cığerci 2017).

Metal bazlı NP'ler arasında Fe₂O₃ NP'ünün çeşitli ürünlerde yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Artan kanıtlar, Fe₂O₃ NP'ünün bitki büyümesini etkileyebileceğini, ancak yanıtın yetiştirme ortamındaki NP seviyelerine, maruz kalma süresine ve bitki türlerine bağlı olduğunu gösterdi (Paul ve ark. 2013). Fe₂O₃ NP'ünün, bitki morfolojisini ve fizyolojik özelliklerini geliştirmede, Fe tuzlarının ilgili konsantrasyonlarından daha etkili olduğu gösterilmiştir (Elanchezhian ve ark. 2017).

Mitotik etkinin belirlenmesinde doğru ve anlamlı neticelere ulaşmak için uygun test organizmasının belirlenmesi gerekmektedir (Randy 1995). Toksisite araştırmalarında çalışılacak organizma araştırmanın başarısını etkileyen faktörlerin başında gelmektedir. Bu bilgi ışığında bu araştırmada endemik bir tür olan *A. tuncelianum* (Tunceli sarımsağı) bitkisi kullanılmıştır. *A. tuncelianum*, Liliaceae familyasında bulunur ve *Allium* cinsine aittir. Türkiye *Allium* cinsine ait türler bakımından oldukça zengin bir konumdadır. Dünyada yaklaşık olarak 750 *Allium* türü bulunmaktadır. Bu türlerin de yaklaşık 170 tanesi Türkiye'de mevcuttur. Türkiye'de bulunan yaklaşık 170 *Allium* türünün %40' ı endemik türdür (Rice-Evans ve ark. 1997). Endemizim oranı oldukça yüksek olan

bir cins grubudur. *A. tuncelianum*, endemik bir bitki türü olup, Tunceli ili ve çevresinde ve özellikle Ovacık ilçesinde geniş bir dağılım alanına sahiptir (Takım 2015). Türkiye'nin önemli endemik türlerinden biri olan *A. tuncelianum*, 1980 yılından beri yetiştirilmektedir. Bitkinin soğanları ve genç yaprakları sebze ve baharat olarak kullanılmaktadır. *A. tuncelianum* türünün ekonomik değeri oldukça yüksektir. Fakat üretilmesi zor olduğu için sınırlıdır. Çünkü bu endemik türün tohumlarında dormansi olayı yaygındır. Bu durum doğal koşullarda çoğaltılmasını zorlaştırmaktadır. *A. tuncelianum* bitkisinin genetik yapısında meydana gelen değişiklikler, ciddi kalite ve verim kayıplarına sebep olmaktadır.

Mitoz bölünmedeki anormalliklerin kolayca gözlenebilmesi için; kromozomları büyük olan, laboratuvar koşullarına uygun olan, kontrolün kolaylıkla sağlanabildiği, elde edilen verilerin güvenilir olduğu, ekonomik olarak ucuza temin edilen ve kolayca çimlenebilen *A. tuncelianum* bu çalışma için çok uygun bir organizma olarak belirlenmiştir (Gedik ve ark. 2016). Ayrıca ortamdaki genotoksik yapıların bitkiler tarafından su ve toprak vasıtasıyla alındığını ve bitkilerin de insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yeri olduğunu düşündüğümüzde, tüketimi dünyanın her yerinde ilk sıralarda yer alan *A. tuncelianum* bu çalışma için mükemmel bir seçim olmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, insan besini olması yanında, hayvan beslenmesinde de çok önemli bir yer tutan *A. tuncelianum* bitkisini, değişik dozlarda (125, 250, 500 ppm) Fe₂O₃ NP'üne maruz bırakarak kök meristem hücrelerini incelemek ve mitotik etkisini araştırmaktır. Fe₂O₃ NP'ü ile muamele edilen *A. tuncelianum* bitkisinin tohumları çimlendirilmiştir. Bitkinin hem kromozom hasarları ve hem de hücre döngüsündeki diğer anormallikleri tespit edilmiştir. Ayrıca bölünen hücre sayısı, mitotik indeks ve mitotik faz frekansları araştırılmıştır.

Bu bulgular neticesinde son yıllarda üretimi ve kullanımı oldukça yaygınlaşan Fe₂O₃ NP'ünün, çevresel olarak bütün canlıları etkileyebileceği düşünülmektedir. Bundan dolayı bu NP'ün biyobirikimini azaltmak gerektiği bu

çalışma ile açıkça ortaya konmaktadır. Bu araştırma bulgularına göre, Fe₂O₃ NP'ünün güvenli ve kontrollü bir şekilde üretilmesi gerektiği ortaya konmaktadır. Bu NP ile üretilen malzemelerin kullanılması neticesinde meydana gelen atıkların da uygun bir şekilde bertaraf edilmesi gerektiği açıkça gösterilmektedir. Bu çalışma, bütün bu sebepler dikkate alınarak planlanmış ve gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Örnekleri

Çalışma materyali olarak *A. tuncelianum* bitkisi kullanılmıştır. Bitki 2021 yılının Ağustos ayında Tunceli ilinin Ovacık ilçesinden toplanmıştır. Kromozomlarının büyük olması ışık mikroskopuyla yapılan gözlemlerde kromozomların ve kromozom anormalliklerinin kolayca gözlenebilmesini sağlayacaktır (Bonciu ve ark. 2018). Kolay bulunabilmesi, ucuz olması ve kolay çimlenebiliyor olması da *A. tuncelianum* bitkisinin çalışılmasında oldukça avantaj sağlamaktadır. Sağladığı bu kolaylıklar nedeniyle, *A. tuncelianum* mükemmel bir biyoindekatör olarak kabul edilir (Singh ve Roy 2017). Bu avantajlarından dolayı, bu araştırmada Fe₂O₃ NP'ünün mitotik anormalliklerinin değerlendirilmesinde *A. tuncelianum* bitkisi kullanılmıştır.

Nanopartikül

Bitkiyle etkileştirilen Fe₂O₃ NP'ü Sigma-Aldrich (Houston TX, ABD) firmasından ticari olarak elde edilmiştir. Toz halindedir ve kahverengi renge sahiptir. Boyutu ise 20-40 nm arasındadır.

Fe₂O₃ Nanopartiküllerinin Hazırlanması

Fe₂O₃ NP'ü ultra su kullanılarak stok süspansiyonu 1000 ppm'lik (m/v) hazırlanmıştır. Bunun için ultrasonik banyoda 20-25 dakika bekletilmiştir. Sonike edilen 1000 ppm'lik süspansiyon, ultra saf su ile seyreltilmiş ve üç farklı konsantrasyon (125, 250 ve 500 ppm) belirlenmiştir. Hazırlanan çözeltiler, petri kaplarına eklenmeden hemen önce 5-7 dakika vorteks ile karıştırılmıştır. Araştırmada kullanılan dozların belirlenmesinde ön deneme sonuçları dikkate alınmıştır. Hemen ardından belirlenen tüm deney grupları için *A. Tuncelianum* Fe₂O₃ NP'ü ile etkileştirilmiştir.

Fe₂O₃ NP'ünün *A. tuncelianum* Bitkisine Uygulanması

Fe₂O₃ NP'ü ile muamele edilecek *A. tuncelianum* soğanları temizlenmiştir. Bu soğanların belirlenen dozlardaki Fe₂O₃ NP'ü ile hazırlanan deney tüplerine daldırılarak yapılmıştır. Ekimi yapılan bu kaplar 20±1°C'ye ayarlanan inkübatöre yerleştirilmiş ve çimlenme için bekletilmiştir. Çalışma "Tesadüf Parselleri Deneme Desenine" göre 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Kontrol grubu için NP uygulaması yapılmamıştır. Günlük yapılan kontroller neticesinde kök uzunluğu 1–2 cm'ye ulaşan kök uçları alınarak, 3:1 absolu alkol/glasiyal asetik asit içerisine konulmuştur. Buzdolabında 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra fiksasyonu yapılan kök uçları, %70'lik alkol içerisinde inceleme yapıncaya kadar bekletilmiştir (Kuşat ve ark. 2018).

Preparatların Hazırlanması

Kök uçlarında oluşan mitotik değişikliklerin belirlenmesi, mitotik anormalliklerin tür ve sayısını belirlemek, Mitotik indeks (Mİ) ve mitotik fazların frekansı belirlemek amacıyla preparatlar hazırlanmıştır. 125, 250 ve 500 ppm dozları ile etkileştirilen en az 5 farklı kök ucu 60 °C'deki etüv içerisinde 15 dakika süreyle 1N HCl içerisinde hidroliz edilmiştir. Ardından kök uçları oda sıcaklığında, 1 saat Feulgen boyası ile boyanmıştır. Koyu renk alan kök uçları

lam üzerine konmuş ve orcein boyası ile kapatılmıştır. Kontrol grubu ve hazırlanan her bir konsantrasyon için bir preparatta 500 hücre olmak üzere 6 preparatta toplam 3.000 hücre çalışılmıştır. Bölünen hücrelerin fazları (profaz, metafaz, anafaz, telofaz) ve oluşan anormallikler kayıt altına alınmıştır. Mitotik indeks hesaplanmıştır. Bölünen hücrelerdeki anormallik frekansı ile hücre başına düşen anormallik sayıları da tespit edilmiştir. Tüm preparat incelemeleri Leica CX23 mikroskopi ile yapılmıştır. Sayımlar X40 büyütmede yapılırken anormallikler X100 büyütmede fotoğrafları çekilerek kayıt altına alınmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Fe₂O₃ NP'ünün *A. Tuncelianum*'da Mitotik İndeks ve Faz Frekansı Üzerine Etkisi

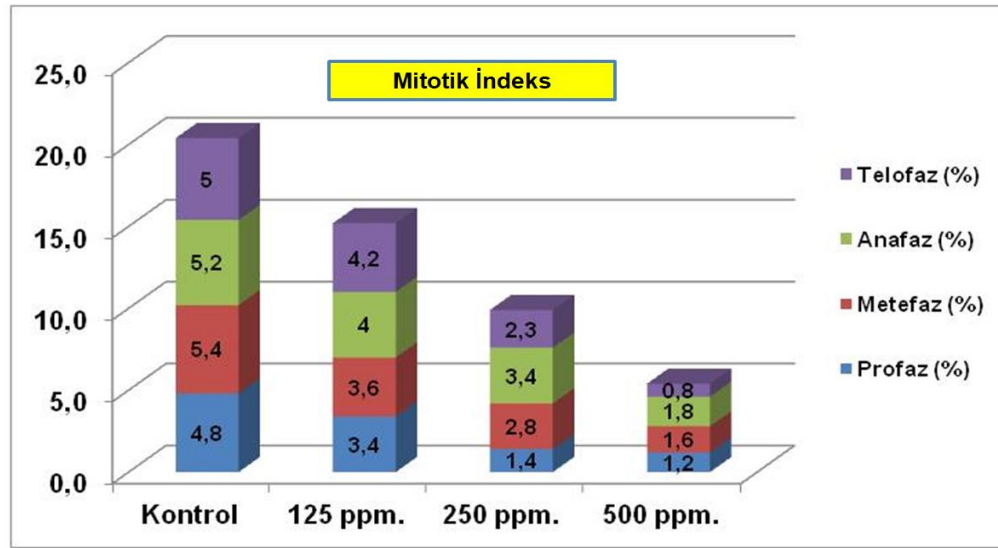
Fe₂O₃ NP'ünün kontrol, 125, 250 ve 500 ppm'lik konsantrasyonları ile etkileştirilen *A. tuncelianum* bitkisinin kök ucu hücrelerindeki mitotik fazların frekansı ve mitotik indeks değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Şekil 1'de mitotik indeksteki azalma gösterilmiş ve bu azalmanın mitoz bölünmenin hangi fazında (profaz, metafaz, anafaz ve telofaz) ve ne oranda olduğu grafikte ifade edilmiştir.

Çizelge 1. Fe₂O₃ NP'ünün *A. tuncelianum*'da mitotik fazların frekansı ve mitotik indeks (Mİ) üzerine etkisi

Konsantrasyon (µg\µl)	İncelenen hücre sayısı	Bölünen hücre sayısı	Profaz (%)	Metafaz (%)	Anafaz (%)	Telofaz (%)	Mİ (%)
Kontrol	3.000	614±1.20	4.8±1.41	5.4±0.22	5.2±0.32	5±1.12	20.4±0.47
125 ppm	3.000	456±1.11	3.4±0.76	3.6±0.37	4±0.26	4.2±0.47	15.2±0.66
250 ppm	3.000	298±1.05	1.4±1.16	2.8±0.29	3.4±0.16	2.3±0.92	9.9±0.71
500 ppm	3.000	162±0.89	1.2±0.82	1.6±0.33	1.8±0.44	0.8±0.84	5.4±0.29

Fe₂O₃ NP'ünün uygulanan bütün dozlarında, kontrol grubuna kıyasla mitotik indekste bir azalma olduğu belirlenmiştir. Mitotik indeks (MI) Mitoz bölünmenin her bir fazını (interfaz, profaz, metafaz, anafaz, telofaz) geçirdiği belirlenen hücrelerin sayısının, incelenen toplam

hücre sayısına yüzde cinsinden oranı ile belirlenir. Fe₂O₃ NP'ünün farklı dozlarıyla etkileştirilerek incelenen bütün örneklerde Mİ, kontrole kıyasla belirgin oranda bir azalma göstermiştir. 500 ppm uygulamada mitotik indeks kontrole kıyasla yaklaşık 4 kat azalmıştır.



Şekil 1. Fe₂O₃ NP uygulamasının *A. tuncelianum*'da mitotik indeks üzerine etkisi

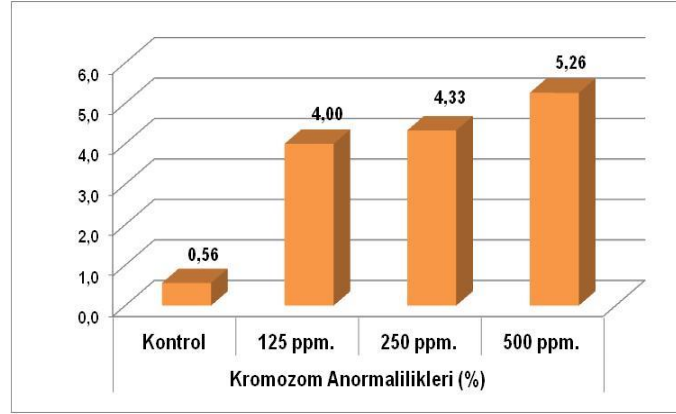
Fe₂O₃ NP'ünün *T. Aestivum*'da Mitotik Anormallikler Üzerine Etkisi

Fe₂O₃ NP'ünün 125, 250 ve 500 ppm'lik dozlarının *A. tuncelianum*'un mitoz bölünmesinin farklı fazlarında oluşturduğu anormallikler, bu anormalliklerin frekansları

ve kromozom anormalliği sayısı (KA/Hücre) Çizelge 2'de gösterilmiştir. Şekil 2'de ise kontrol grubu ve hazırlanan üç konsantrasyon grubunun (125, 250, 500 ppm) mitotik anormallik frekansı üzerine etkisi grafiksel olarak gösterilmiştir.

Çizelge 2. Fe₂O₃ NP'ünün *A. tuncelianum*'da kromozomal anormallikler üzerine etkisi

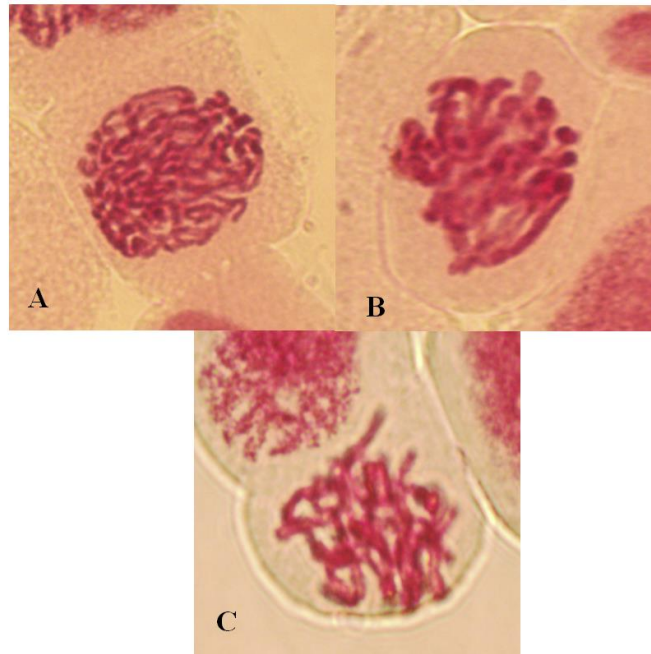
		Fe ₂ O ₃ konsantrasyon (µg/ml)	Kontrol	125 ppm	250 ppm	500 ppm
Gözlenen anormallikler	Profaz	Profazda Yapışıklık	-	5	8	13
		Yapısı bozulmuş profaz	2	6	14	16
	Metafaz	Metafaz plağında toplanamama	-	3	5	6
		Yapışıklık	2	6	8	10
		Metafazda kromozom gruplaşmaları	-	2	4	4
		Yapışıklık	1	5	7	10
	Anafaz	Kromozom kaybı	-	2	5	4
		Yapısı bozulmuş Metafaz	1	4	7	9
		Anafazda kromozom köprüleri	2	6	11	13
		Yapısı bozulmuş anafaz	2	6	6	9
	Telofaz	Kutupsal sapma	-	4	8	8
		İleri gitme	1	3	7	8
		Multipolarite	-	3	5	6
		Kutupsal sapma	1	4	7	9
		Telofazda yapışıklık	-	5	8	10
		Yapısı bozulmuş telofaz	2	4	7	9
	Yıldız telofaz	1	3	6	6	
	Telofazda kromozom köprüleri	2	4	7	8	
Anormal hücre sayısı			17	120	130	158
Kromozom anormallilikleri (%)			0.56	4	4.33	5.26



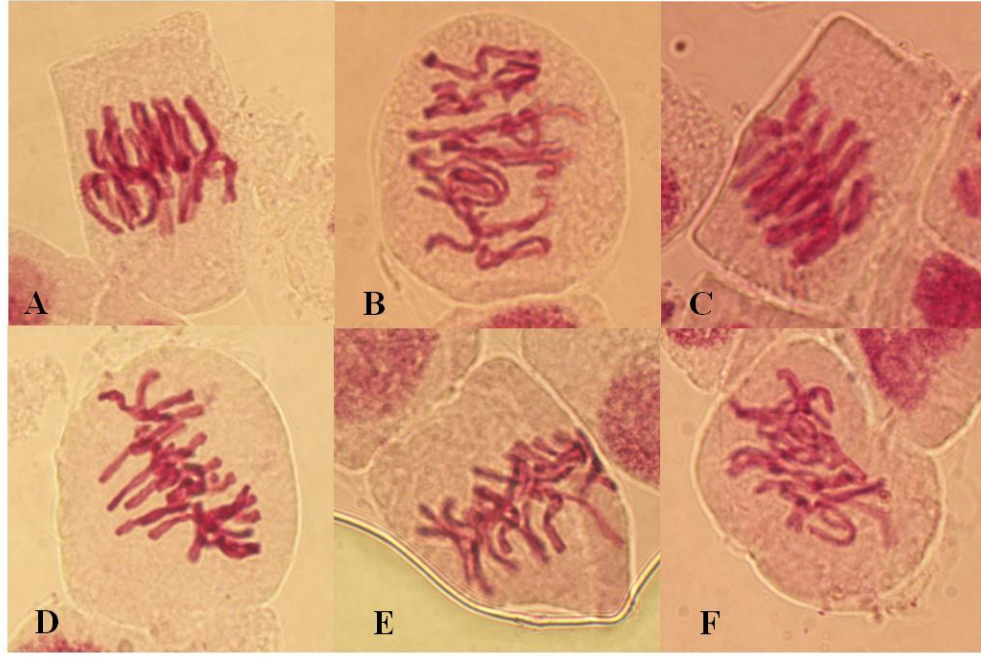
Şekil 2. Fe_2O_3 NP uygulamasının *A. tuncelianum*'da mitotik anormallik frekansı üzerine etkisi

Fe_2O_3 NP'ünün bütün dozları, uygulama neticesinde mitotik anormalliklerin frekansını kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttırmıştır. Fe_2O_3 NP'ünün 125 ppm'lik konsantrasyonda oluşturduğu anormal hücre sayısı ve oranı kontrole kıyasla yaklaşık 7 kat kadar artış gösterirken, 250 ppm'lik konsantrasyondaki artış yaklaşık 8; 500 ppm'lik konsantrasyonunda ise bu artış 10 kat düzeyine ulaşmıştır. Fe_2O_3 NP'ü mitozun bütün fazlarında çeşitli anormallikler oluşturmuştur. Bu NP'ün profaz safhasında oluşturduğu anormallik; yapışıklık, yapısı

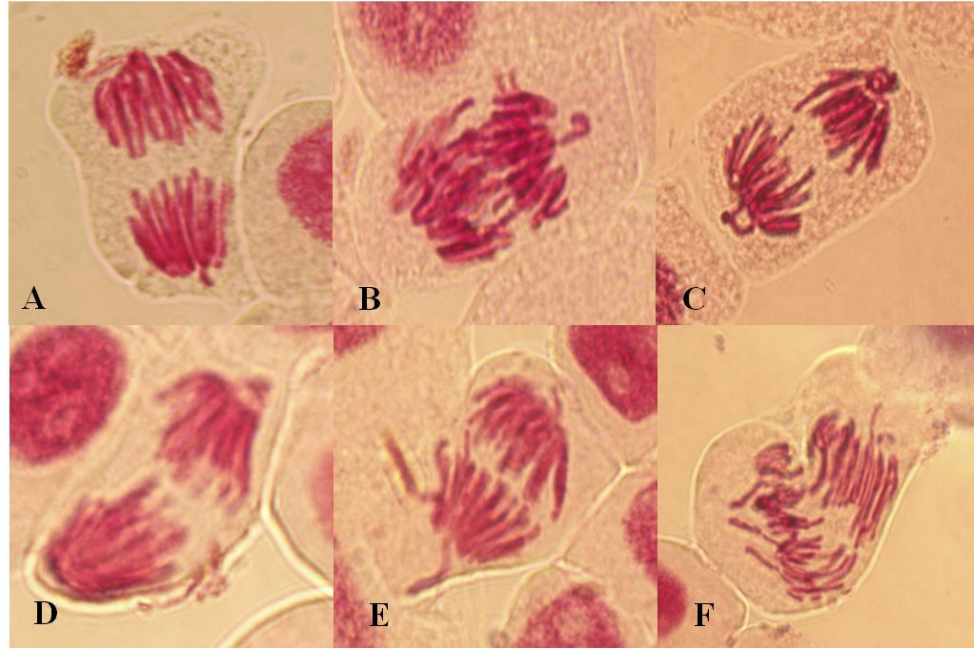
bozulmuş profaz ve genetik materyal kaybı şeklindedir (Şekil 3). Metafazda gözlenen anormallikler metafaz plağında toplanamama, metafazda yapışıklık, metafazda kromozom gruplaşmaları, metafazda kromozom kaybı ve yapısı bozulmuş metafaz şeklindedir (Şekil 4). Anafazda kromozom köprüleri, yapısı bozulmuş anafaz, kutupsal sapma, ileri gitme ve multipolarite anormallikleri belirlenmiştir (Şekil 5). Telofazda ise kutupsal sapma, telofazda yapışıklık, yapısı bozulmuş telofaz, yıldız telofaz ve telofazda kromozom köprüleri şeklinde anormallikler kayıt altına alınmıştır (Şekil 6).



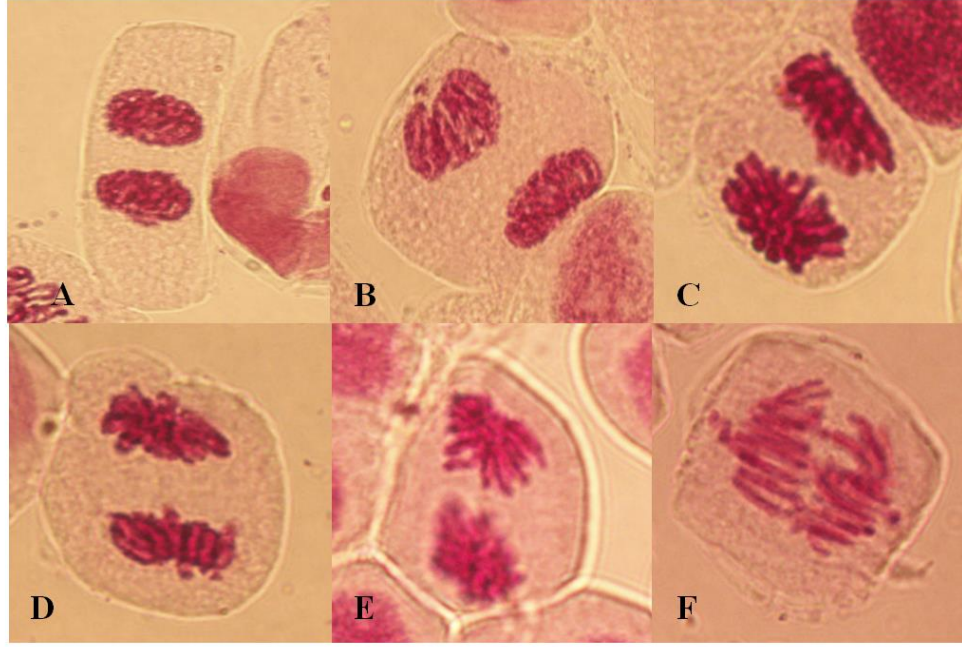
Şekil 3. A:Normal profaz B:Profazda Yapışıklık C:Yapısı bozulmuş profaz (Büyütme=100 X)



Şekil 4. A:Normal metafaz B:Metafaz plağında toplanamama C:Metafazda Yapışıklık D:Metafazda kromozom gruplaşmaları E:Metafazda kromozom kaybı F:Yapısı bozulmuş metafaz (Büyütme=100 X)



Şekil 5. A:Normal Anafaz B:Anafazda kromozom köprüleri C:Yapısı bozulmuş anafaz D:Kutupsal sapma E:İleri gitme F:Multipolarite (Büyütme=100 X)



Şekil 6. A:Normal telofaz B:Kutupsal sapma C:Telofazda yapışıklık D:Yapısı bozulmuş telofaz E:Yıldız telofaz F:Telofazda kromozom köprüleri (Büyütme=100 X)

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Hızla gelişen nanoteknoloji ile birlikte nano boyutlu malzemelerin üretimi de artmaktadır. Bu artış ile birlikte çevreyle etkileşim halinde olan tüm organizmalarda bu NP'lerin birikimi de artmaktadır. Bu birikimin etkileri son zamanlarda araştırılmaya başlanmış ve durumun çok ciddi olabileceği öngörüsünü doğurmuştur.

Sonuçlar değerlendirildiğinde NP'lerin insan başta olmak üzere tüm canlılar üzerinde risk oluşturabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle NP'lerin mitoz bölünme üzerindeki etkileri üzerine detaylı araştırmalar yapılmaya başlanmış fakat henüz yeterli seviyeye ulaşmamıştır (Bakand ve ark. 2012). Kromozomlarda oluşan anormallikler, tüm genetik olayların kontrolsüz bir şekilde gerçekleşmesine ve kanser dâhil olmak üzere pek çok hastalığın oluşmasına sebep olmaktadır.

Bu bilgiler değerlendirildiğinde, bu çalışmada Fe_2O_3 NP'ünün (20-40 nm) *A. tuncelianum*'un kök ucu hücrelerindeki mitotik etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar ile birlikte mitotik indeks, mitotik fazların frekansları, mitoz bölünme ve kromozomlarda meydana gelen anormallikler aynı anda değerlendirilebilmektedir.

Mitotik etkilerin belirlenmesinde; mitotik indekste azalma en çok kullanılan parametlerden biridir. Mİ'teki azalma, genotoksosite olayının belirlenmesinde bilgi vermektedir (Tekin ve ark. 2016). Bu çalışmada, Fe_2O_3 NP'ünün *A. tuncelianum* bitkisinin kök ucu hücrelerindeki mitotik etkilerinin değerlendirilmesi için mitotik indeks araştırılmıştır. Mitotik indeksi belirlemek amacıyla hazırlanan toplam 3000 hücre sayılarak incelenmiştir. Sonuçlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında mitotik indekste anlamlı bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Mitotik indeks, hücrede meydana gelen mitoz bölünmenin sayısı hakkında fikir veren bir parametredir (Goujon ve ark. 2014). Mitotik indekste belirlenen azalmanın Fe_2O_3 NP'ünün *A. tuncelianum* bitkisinin kök ucu hücrelerinde toksik etki oluşturmaktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu toksik etki belirli bir kimyasal madde ile teması sonucunda hücreleri öldürmesi ve hücre bölünmelerini durdurması ile açıklanabilir.

Bu araştırma ile oldukça geniş bir alanda kullanılan Fe_2O_3 NP'ünün *A. tuncelianum* bitkisinin kök ucu hücrelerinde mitotik etki oluşturduğu açıkça belirlenmiştir. Fe_2O_3 NP'ünün önemli mitotik etkileri olduğunu gösteren bu çalışma, çok yönlü yapılan analizleri sonucunda ortaya konmuştur. Fe_2O_3 NP'ünün geniş çapta kullanımı, çevre için tehdit oluşturmaya başlamıştır. Böylece Fe_2O_3

NP'ünün bitkiler başta olmak üzere diğer canlı türleri üzerinde de herhangi bir risk oluşturup oluşturmayacağına yönelik bulgular sunulmuştur.

KAYNAKLAR

- Ates M (2018) Nanoparçacıkların ölçme ve inceleme teknikleri. Turkish Journal of Scientific Reviews, 11(1):63–69.
- Bakand S, Hayes, A, Dechskulthorn F (2012) Nanoparticles: a review of particle toxicology following inhalation exposure. Inhalation Toxicology, 24(2):125-135.
- Bonciu E, Firas P, Fontanetti CS, Wusheng J, Karaismailoğlu MC, Liu D, Papini A (2018) An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. Caryologia, 71(3):191-209.
- Colvin VL (2003) The potential environmental impact of engineered nanomaterials. Nature Biotechnology, 21:1166-1170.
- Dagani R (2003) Nanomaterials: safe or unsafe? Chemical Engineering News, 81(17):30-33.
- Elanchezhian R, Kumar D, Ramesh K, Bisvas AK, Guhey A, Patra AK (2017) Morpho-physiological and biochemical response of maize (*Zea mays* L.) plants fertilized with nano-iron (Fe₃O₄) micronutrient. Journal of Plant Nutrition, 40(14):1969–1977.
- Gedik O, Kiran Y, Emre İ, Kurşat M (2016) Karyological notes for seven *Salvia* L. taxa grown in Turkey. Cytologia, 81(4):395–402.
- Goujon E, Sta C, Trivella A, Goupil P, Richard C, Ledoit G (2014) Genotoxicity of sulcotrione pesticide and photoproducts on *Allium cepa* root meristem. Pesticide Biochemistry and Physiology, 113:47–54.
- Huber DL (2005) Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. Small, 1:482-501.
- Kaygisiz ŞY, Çiğerci İH (2017) Genotoxic evaluation of different sizes of iron oxide nanoparticles and ionic form by SMART, *Allium* and comet assay. Toxicology and Industrial Health, 33(10):802-809.
- Kurşat M, Emre İ, Gedik O, Kiran Y (2018) Karyological reports for some *Salvia* taxa from Turkey. Caryologia, 71 (2):120-127.
- Paul A, Nag S, Sinha K (2013) Cytological effects of blitox on root mitosis of *Allium cepa*. International Journals of Scientific Research Publications, 3(5):1-7.
- Randy GM (1995) Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment. CRC Press.
- Rice-Evans C, Miller N, Paganga G (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science, 2(4):152-159.
- Saquib Q, Faisal M, Alatar AA, Al-Khedhairy AA, Ahmed M, Ansari SM, Ahmad J (2016) Genotoxicity of ferric oxide nanoparticles in *Raphanus sativus*: Deciphering the role of signaling factors, oxidative stress and cell death. Journal of Environmental Sciences, 47:49-62.
- Seabra AB, Duran N (2015) Nanotoxicology of metal oxide nanoparticles. Metals, 5(2):934-975.
- Singh D, Roy BK (2017) Evaluation of malathion-induced cytogenetical effects and oxidative stress in plants using *Allium* test. Acta Physiologiae Plantarum, 39(4):92.
- Takım K (2015) Tunceli Dağ Sarımsağı'nın (*Allium tuncelianum*) in vitro antioksidan kapasitesinin ölçülmesi, ratlarda antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi ve antikanser özelliğinin belirlenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Malatya.
- Tekin M, Gedik O, Kiran Y, Kurşat M (2016) karyological studies on six endemic plant taxa in Turkey. Cytologia, 81(4):363–370.
- Tortella GR, Rubilar O, Duran N, Diez MC, Martinez M, Parada J, Seabra AB (2020) Silver nanoparticles: toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. Journal of Hazardous Materials, 390:121974.
- Yang W, Wang L, Mettenbrink EM, DeAngelis PL, Wilhelm S (2020) Nanoparticle toxicology. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 61.