

## Araştırma Makalesi / Research Article

# Tohumların Yeşil Sterilizasyonu: *Peganum harmala* ve *Rumex acetosella* Tohumlarının Yüzeysel Sterilizasyonunda Biyosentetik Gümüş Nanopartiküllerin Kullanılması

Pınar NARTOP<sup>1\*</sup>, Duygu DOLAPDERE<sup>1</sup>, Gamze ARSLAN<sup>1</sup>, Damla AKIN<sup>1</sup><sup>1</sup>Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Çorlu Mühendislik Fakültesi, biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Çorlu, Tekirdağ

\*Sorumlu yazar e-posta: pinarnartop@gmail.com  
duygudolapdere@gmail.com  
1170607045@nku.edu.tr  
damla.akin7@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2765-6133>  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2010-0303>  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3377-5534>  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2458-6662>

Geliş Tarihi: 10.09.2022

Kabul Tarihi: 18.01.2023

## Öz

### Anahtar kelimeler

Biyosentetik gümüş nanopartikül;  
Yeşil sterilizasyon;  
*Peganum harmala*;  
*Rumex acetosella*;  
Tohum

Nanopartiküller teknolojinin birçok alanında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Diğer metal nanopartiküller içerisinde en çok kullanılanlar gümüş nanopartiküllerdir. Kendilerine has özellikleri ortaya çıktıkça nanobiyoteknoloji alanındaki kullanımları da hızla artış göstermektedir. Gümüş nanopartiküllerin sentezinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Yeşil sentez (biyosentez) yöntemi gümüş nanopartikül elde edilmesindeki en ucuz ve pratik yoldur. Bu çalışmada, biyosentetik gümüş nanopartiküller biyoindirgeyici (kızılçam sulu ekstresi) kullanılarak sentezlenmiş ve iki tıbbi bitkiye (*Peganum harmala* ve *Rumex acetosella*) ait tohumların yeşil sterilizasyonunda kullanılmışlardır. Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin yüzeysel sterilizasyon ve çimlenme yüzdeleri üzerine etkileri incelenmiştir. *P. harmala* tohumlarının sterilizasyon yüzdeleri 20 ve 30 dakikalık uygulamalarda sırasıyla %84 ve %89.33 olarak belirlenmiştir. *R. acetosella* tohumlarında ise her iki uygulamada da yüzeysel sterilizasyon yüzdeleri %100'dür. Bu sonuçlar istatistiksel olarak kontrol grubundan farklı bulunmuşlardır ( $p>0.05$ ). *P. harmala* tohumlarının çimlenme yüzdeleri denemelerden belirgin şekilde etkilenmişlerdir; 30 dakika uygulaması (%68) kontrol grubuna (%48) göre tohum çimlenmesini arttırmıştır. Ancak, *R. acetosella* tohumları biyosentetik gümüş nanopartikül uygulamalarından belirgin şekilde etkilenmemiştir. Bu sonuçlar bitki tohumlarının yüzeysel sterilizasyonunda biyosentetik gümüş nanopartiküllerin kimyasal sterilantlar yerine güvenle kullanılabilceğini göstermektedir.

## Green Sterilization of Seeds: Use of Biosynthetic Silver Nanoparticles for Surface Sterilization of *Peganum harmala* and *Rumex acetosella* Seeds

### Abstract

### Keywords

Biosynthetic silver nanoparticle;  
Green sterilization;  
*Peganum harmala*;  
*Rumex acetosella*;  
Seed

Nanoparticles have frequently been used in many areas of technology. Silver nanoparticles are one of the most used nanoparticles amongst the other metal nanoparticles. Their use in nanobiotechnology is becoming more widespread as their unique properties become clearer. Different methods have been used to synthesize silver nanoparticles. Green synthesis (biosynthesis) method is the cheapest and the more practical way to obtain silver nanoparticles. In this study, biosynthetic silver nanoparticles were synthesized with the use of bioreducer (redpine water extracted) and used in the green sterilization of two medicinal plants' seeds (*Peganum harmala* and *Rumex acetosella*). The effects of biosynthetic silver nanoparticles on surface sterilization and germination percentages were investigated. Sterilization percentages of *P. harmala* seeds were determined as 84% and 89.33%, when biosynthetic silver nanoparticle colloidal solution was applied for 20 and 30 mins, respectively. *R. acetosella* seeds' surface sterilization percentages were 100% in both applications. These results were not found statistically significant than control group ( $p>0.05$ ). Germination percentages of *P. harmala* seeds were significantly affected by the applications; 30 mins application (68%) enhanced seed germination when compared to control group (48%). However, *R. acetocella* seeds were not significantly affected by biosynthetic silver nanoparticle applications. These results showed that biosynthetic silver nanoparticles can be used safely instead of chemical sterilants in surface sterilization of plant seeds.

## 1. Giriş

Nanoteknoloji günümüzde birçok alanda kullanılmakta olan nano boyuttaki (1-100 nm) malzemeleri kapsayan bir bilim dalıdır. Metalik nanopartiküller ise metal iyonlarının indirgeyici ajanlar tarafından redüksiyonu ile elde edilen nano boyutlardaki parçacıklardır. Nanopartiküller günümüzde nanobiyoteknoloji uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Özellikle canlı sistemler üzerindeki etkileri günümüzün en dikkat çekici çalışma alanlarından biri haline gelmiştir. Nanopartiküllerin etkileri ilaç taşıyıcı sistemler olarak tıp ve eczacılık alanındaki çalışmalarda sıklıkla incelenmektedir. Metal nanopartiküller arasında üzerinde en çok çalışma yapılan nanopartiküller gümüş nanopartiküllerdir. Gümüş nanopartiküller farklı yöntemlerle elde edilebilmektedirler. Bu yöntemlerin arasında yeşil sentez tekniği, kimyasal yöntemlerle elde edilen gümüş nanopartiküllere göre canlılar üzerinde daha olumlu etkilere sahip biyosentetik gümüş nanopartiküllerin elde edilmesini sağladığı için öne çıkmaktadır (Karnani and Chowdhary 2013, Sinha et al. 2015, Pal et al. 2017).

Gümüş nanopartiküllerin bitkiler üzerindeki etkilerine dair çalışmalarda doza bağlı olarak farklı sonuçların ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Uygulanan gümüş nanopartikül konsantrasyonlarının bitki türüne ve kültür tipine bağlı olarak farklı sonuçlar verdiği bildirilmektedir. Gümüş nanopartiküller bitki doku kültürlerinde etilen inhibe edici ve oksin stimüle edici etkiler gösterdikleri için kültürlerde genellikle büyümeyi ve gelişmeyi teşvik etmektedirler (Syu et al. 2014, Sarmast et al. 2015, Nartop ve Günbeldek 2020, Nartop vd. 2021).

Gümüş nanopartiküllerin diğer önemli bir özelliği ise antiseptik ve antibakteriyel etkilerinden dolayı yüzeysel sterilizasyonda kullanılmalarıdır. Gümüş nanopartiküller tıbbi uygulamalarda cihazların ve yüzeylerin sterilizasyonunda kullanılmaktadırlar. Benzer şekilde, bitkilere ait eksplantların ve

tohumların yüzeysel sterilizasyonunda da başarıyla kullanılmaktadırlar (Nartop 2016; Nartop 2018a, Nartop 2018b).

*Peganum harmala* (überlik) (*Nitrariaceae*) çok yıllık otsu bir bitkidir. Genellikle Amerika, Asya ve Afrika'nın sıcak bölgelerinde yetişmektedir. Ülkemizde Orta Anadolu'da yetişen bu bitki eski zamanlardan beri boğaz ve karın ağrılarını geçirmek, bağırsak rahatsızlıklarını gidermek, ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak halk arasında kullanılmaktadır. İçeriğinde bulunan vasikonon adlı kimyasal bileşik bronş genişletme özelliğine sahiptir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda antimikrobiyal, sitotoksik, antioksidan, antikanser ve antiviral etkilere sahip olduğu belirlenen bitkinin *in vivo* çalışmalarda hipotermik, diüretik, balgam söktürücü, antiülser ve analjezik etkileri tespit edilmiştir (Hürkül ve Köroğlu 2019, Kaplan 2020).

*Rumex acetosella* Linn. (Kuzukulağı) (*Polygonaceae*) otsu bitki türüdür. Başta Asya, Avrupa, Kuzey Amerika ve Afrika olmak üzere birçok kıtada yetişmektedir. Asıl anavatanı Asya ve Avrupa'dır. Ülkemizde ise 6 tanesi endemik olmak üzere 25 türü vardır. *R. acetosella* besin ve ilaç sektörü gibi tıbbi amaçlarla birçok alanda kullanılmaktadır. *R. acetosella*'nın C vitamini, beta karoten, A, D, E, K ve B vitaminleri, mineraller, magnezyum, fosfor ve potasyum içeriği yüksek olduğu için besin değeri çok yüksektir, bu sebeple gıda sektöründe sıklıkla tercih edilmektedir. Bitkinin yaprak, kök ve tohumları alternatif tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan kısımlarıdır. Yaprakları egzama ve kaşıntılı kızarıklıklar gibi cilt hastalıklarında cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Diüretik özelliği sebebiyle idrar yolu rahatsızlıkları ve böbrek hastalıkları tedavisinde ve antienflamatuvar içeriği sebebiyle de vücuttaki ödemi azaltmakta kullanılmaktadır. İçeriğindeki "rumisin" adı verilen antibakteriyel bileşik bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla da kullanılmaktadır. Antitümör ve detoksifikasyon

özelliği sebebiyle kanser hastalığının tedavisinde kullanılmakta olan Essiac çayının ana maddesi *R. acetosella*'dır. Bitkiden üretilen birçok ilaç, enflamasyon hastalıkları, mide ülseri ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için yaygın olarak tıp alanında kullanılmaktadır (Baytop 1984, Zick *et al.* 2006, Kataras 2014, Sabuncu *vd.* 2019).

Tıbbi bitkilerin zirai yöntemlerle üretilmesine alternatif olarak bitki hücre ve doku kültürlerinin kullanılması birçok bakımdan avantaj sağlamaktadır. *In vitro* koşullarda bitkisel biyokütle üretimini mümkün kılan bitki hücre ve doku kültürü uygulamaları mevsimsel ve çevresel etkilerden bağımsız olarak tamamen kontrollü koşullar altında sürekli olarak büyük ölçekte üretim sağlayabilmektedir. Bu çalışmaların yapılabilmesi için öncelikle steril kültürlerin oluşturulması gerekmektedir. Bu sebeple, bitki hücre ve doku kültürlerinin başlatılması için öncelikle steril tohumlara ve eksplantlara ihtiyaç duyulmaktadır. Yüksek canlılığa sahip steril tohumlar ve eksplantlar için etkili yüzeysel sterilizasyon tekniklerinin geliştirilmesi gereklidir. Çoğunlukla etil alkol ve sodyum hipoklorit gibi kuvvetli kimyasallar bitki hücre ve doku kültürü uygulamalarında yüzeysel sterilant olarak kullanılmaktadırlar. Ancak bu kimyasalların canlı hücreler ve dokular üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır ve bitkisel dokuların gelişimini yavaşlatmakta hatta dokuların ve hücrelerin tamamen kaybedilmesine sebep olmaktadır (Nartop 2018b).

Çalışmamızın amacı, yüzeysel sterilizasyonunda kuvvetli kimyasallara alternatif oluşturma potansiyeli olan biyosentetik gümüş nanopartiküllerin tohum sterilizasyonu bakımından etkisini belirlemektir. Bu sebeple çalışmamızda kızılcama ait kurutulmuş yaprakların sulu ekstresi ile biyosentetik gümüş nanopartiküller elde edilmiş ve çok kıymetli iki tıbbi bitki olan *P. harmala* ve *R. acetosella* tohumlarının yüzeysel sterilizasyonunda kullanılmışlardır. Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin çimlenme üzerine etkileri de incelenmiştir.

## 2. Materyal ve Yöntem

Ticari olarak satılan *P. harmala* ve *R. acetosella* tohumları yüzeysel sterilizasyon uygulamaları için kullanılmıştır. Sulu ekstresi indirgeyici ajan olarak kullanılan kızılcam yaprakları aktardan temin edilmiştir.

Kızılcam yapraklarının sulu ekstresinin hazırlanmasında dekoksasyon yöntemi kullanılmıştır. Kurutulmuş yaprakların 5 g'ı küçük parçalar halinde kesildikten sonra 100 ml distile su içerisinde 80°C'de su banyosunda bir saat bekletilmiş ve filtre kağıdından şişelere süzülerek ekstre hazırlanmıştır. Elde edilen ekstre oda sıcaklığında soğutulduktan sonra taze olarak kullanılmıştır.

Gümüş nanopartiküller yeşil sentez yöntemi ile sentezlenmiş ve koloidal çözeltileri elde edilmiştir. Sulu ekstrenin 10 ml'si 1 mM AgNO<sub>3</sub> çözeltisi ile 200 ml'ye tamamlanmış ve cam beher içerisinde karıştırıldıktan hemen sonraki ve 24 saat sonraki (koloidal çözeltileri) renk yoğunlukları ve renk değişimleri takip edilerek karşılaştırılmıştır.

Ekstrenin gümüş nitrat çözeltisiyle ilk karıştırıldığı andaki ve yirmi dört saat sonraki pH değerleri belirlenmiştir.

Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin koloidal çözeltileri 325-500 nm aralığındaki dalga boylarında UV-visible spektrofotometrede incelenmiştir.

Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin şekillerinin görüntülenmesi için taramalı elektron mikroskobu (FEI-QUANTA FEG 250) kullanılmıştır.

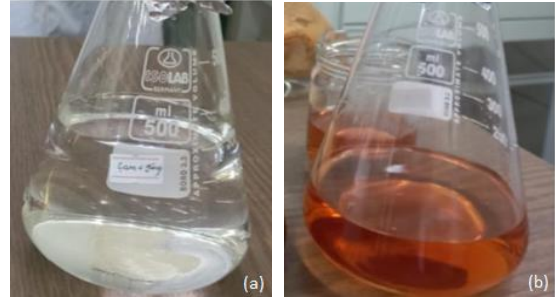
Yüzeysel sterilizasyon uygulaması için *P. harmala* ve *R. acetosella* tohumları kullanılmıştır. Tohumlar çeşme suyu altında 15 dakika boyunca yıkanmıştır. Yüzeysel sterilizasyon için iki yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde tohumlar koloidal

çözelti içerisinde 20 dakika, ikinci yöntemde ise 30 dakika bekletildikten sonra distile su ile yıkanmadan 30 g/L sükröz ve 6 g/L agar içeren Woody Plant Medium (WPM) (Lloyd and McCown 1980) besin ortamına alınmışlardır. Kontrol grubunda ise tohumlar %70'lik etanolde 5 dakika, %10'luk NaOCl'de 20 dakika bekletildikten sonra steril distile su ile yıkanmış ve steril peçete üzerinde fazla suyu alındıktan sonra kültüre alınmışlardır. Kültürler gün ışığı özellikli florasan lambalar altında 16 saat aydınlık/8 saat karanlık kültür koşullarında  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de dört hafta boyunca kültüre edilmiştir. Kültivasyon süresi sonunda tohumların yüzeysel sterilizasyon ve çimlenme yüzdeleri belirlenmiştir.

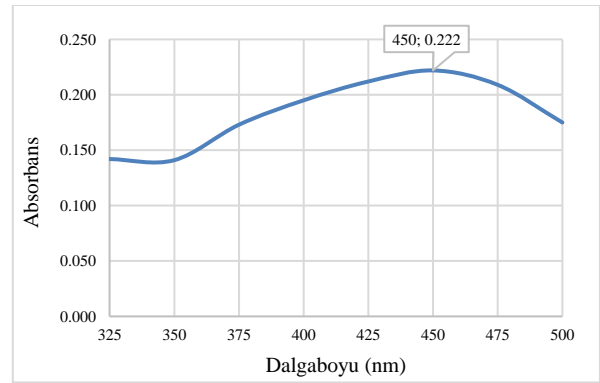
Denemeler üç tekerrürlü olarak kurulmuş ve her denemede 25'er tohum kullanılmıştır. Veriler ANOVA testi ile değerlendirilmiş ve ortalamaların karşılaştırılması Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir.

### 3. Bulgular

Gümüş nitrat çözeltisi içerisindeki gümüş iyonlarının indirgenerek nanopartikül hale gelmesinin ilk göstergesi çözeltinin renk değişimidir. Renk değişimi kullanılan bitki ekstresine göre farklılık göstermektedir (Sinha *et al.* 2014). Çalışmamızda kullanılan kızılcım yapraklarından elde edilen ekstre ile gümüş nitrat çözeltisinin karıştırıldığı ilk andaki ve 24 saat sonraki durumları Şekil 1'de verilmiştir. İlk karıştırıldığında renksiz olduğu görülen karışım (Şekil 1a) süreç içerisinde yavaş yavaş koyulaşarak 24 saat sonunda turuncu renge (Şekil 1b) dönmüştür. Karışımın turuncu renge dönüşmeye başlaması ilk 15 dakika içerisinde tespit edilmiştir. Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin optik özelliklerinin tespit edilmesi için kullanılan yöntemlerden biri de UV-Vis absorpsiyon spektroskopisidir (Nartop 2016, Kumar *et al.* 2017). Karaçım yapraklarından elde edilen biyosentetik gümüş nanopartiküller UV-Vis bölgede 450 nm'de karakteristik bant oluşturmuşlardır (Şekil 2).

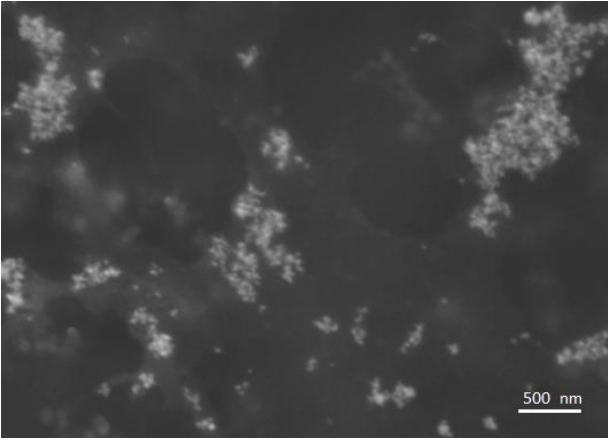


Şekil 1. (a) Kızılcım ekstresi ile  $\text{AgNO}_3$  çözeltisi karıştırıldığı andaki renksiz karışım ve (b) 24 saat sonra oluşan turuncu renkli biyosentetik gümüş nanopartikül koloidal çözeltisi.



Şekil 2. Biyosentetik gümüş nanopartikül koloidal çözeltisine ait kromatogram.

Biyosentetik gümüş nanopartikül oluşumunun göstergelerinden biri de çözeltideki pH değişimidir (Maria vd. 2015). Genel olarak karışımların pH değerlerinin zamana bağlı olarak azaldığı gözlenmektedir. Çalışmamızda, yüzeysel sterilizasyonda kullanılan biyosentetik gümüş nanopartikül çözeltisinin pH değeri ilk karıştırıldığı anda 5.05, 24 saat sonraki değeri ise 4.96 olarak belirlenmiştir. Biyosentetik gümüş nanopartiküller şekillerinin belirlenmesi için taramalı elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir. Nanopartiküllerin küresel yapıda olduğu ve 100 nm'den küçük oldukları belirlenmiştir (Şekil 3).



**Şekil 3.** Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin SEM görüntüsü.

Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin yüzeysel sterilizasyonun sağlanması için tohumlara 20 ve 30 dakika uygulanmasından elde edilen sterilizasyon ve çimlenme yüzdeleri Çizelge 1'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre yüzeysel sterilizasyon açısından bitki türü anlamlı bulunurken ( $p < 0.05$ ), deneme ve bitki\*deneme etkileşimi anlamlı bulunmamıştır. Yüzeysel sterilizasyon açısından incelendiğinde, *P. harmala* tohumlarında en yüksek yüzeysel sterilizasyon kontrol grubunda %92 oranında tespit edilmiştir (Çizelge 1a). Biyosentetik gümüş nanopartiküllerle yapılan yüzeysel sterilizasyon uygulaması süresinin 20 dakikadan 30 dakikaya çıkmasıyla %84 olan sterilizasyon yüzdesi %89.33'e yükselmiştir. *R. acetocella* tohumlarında ise üç uygulamada da %100 oranında yüzeysel sterilizasyon sağlanmıştır (Çizelge 1a ve 1b). Sterilizasyon uygulamalarında en yüksek başarı %96 oranında kontrol grubunda tespit edilmiştir (Çizelge 1c). Biyosentetik gümüş nanopartikül uygulamasının süresinin uzaması ortalama sterilizasyon yüzdesini %92'den %94.66'ya çıkarmıştır.

Elde edilen bu sonuçlara göre, uygulanan üç deneme arasında istatistiksel farklılık tespit edilmediği için, *P. harmala* ve *R. acetocella* tohumlarının yüzeysel sterilizasyonlarında etil alkol ve sodyum hipoklorit yerine biyosentetik gümüş nanopartikülleri kullanılabileceği görülmektedir.

**Çizelge 1.** Biyosentetik gümüş nanopartikül koloidal çözeltisi ile *P. harmala* ve *R. acetosella* tohumlarına uygulanan yüzeysel sterilizasyon sonucunda elde edilen (a) sterilizasyon ve çimlenme yüzdeleri (b) bitki türüne göre ortalama sterilizasyon ve çimlenme yüzdeleri (c) denemelere göre ortalama sterilizasyon ve çimlenme yüzdeleri.

**Çizelge 1a**

Bitki Türü	Deneme	Sterilizasyon (%)	Çimlenme (%)
	Kontrol	92.00±4.00	48.00±2.31 BC
<i>P. harmala</i>	20 dk	84.00±2.31	40.00±4.00 C
	30 dk	89.33±1.33	68.00±6.12 AB
	Kontrol	100.00±0.00	88.00±4.00 A
<i>R. acetosella</i>	20 dk	100.00±0.00	80.00±4.62 A
	30 dk	100.00±0.00	80.00±8.34 A

**Çizelge 1b**

Bitki Türü	Ort. Sterilizasyon (%)	Ort. Çimlenme (%)
<i>P. harmala</i>	88.44 B	52.00 B
<i>R. acetosella</i>	100.00 A	82.67 A

**Çizelge 1c**

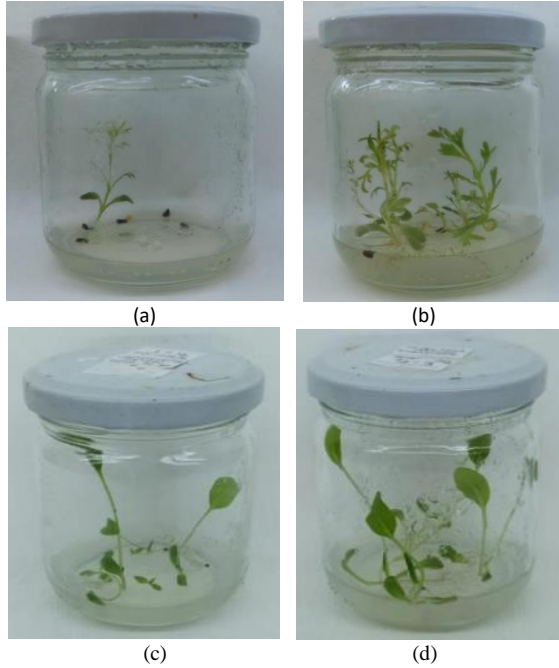
Deneme	Ort. Sterilizasyon (%)	Ort. Çimlenme (%)
Kontrol	96.00	68.00
20 dk	92.00	60.00
30 dk	94.66	74.00

(Aynı harf ile işaretlenmiş olan ortalamalar istatistiksel olarak aynı grupta yer almaktadırlar) ( $p < 0.05$ )

*P. harmala* ve *R. acetocella* tohumlarının çimlenme yüzdeleri incelendiğinde bitki ve bitki\*deneme etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). *P. harmala* tohumlarının çimlenme yüzdeleri incelendiğinde, en yüksek oranın (%68) 30 dakika biyosentetik gümüş nanopartikül uygulamasında tespit edildiği görülmektedir (Çizelge 1a). Kontrol uygulaması %48, 20 dakika biyosentetik gümüş nanopartikül uygulaması ise %40 olarak belirlenmiştir. *R. acetosella* tohumlarında en yüksek çimlenme oranı kontrol grubunda %88 olarak belirlenirken, 20 dakika ve 30 dakika biyosentetik gümüş nanopartikül uygulamalarında bu oran her ikisinde de %80'dir. Ortalama çimlenme yüzdeleri incelendiğinde (Çizelge 1c), istatistiksel fark olmamakla birlikte, en yüksek çimlenme yüzdesi %74 ile 30 dakika biyosentetik gümüş nanopartikül uygulamasında elde edilmiştir. 20 dakika uygulamasında %60 olan çimlenme yüzdesinin kontrole göre (%68) daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin bitki hücre ve doku kültürlerinde kullanımlarına yönelik çalışmalar son zamanlarda artış göstermiştir. Bitki hücre ve dokularının gelişimi üzerine olumlu etkilerinin yanı sıra tohumların ve bitki eksplantlarının yüzeysel sterilizasyonunda kullanımına dair başarılı sonuçlar da elde edilmektedir (Nartop 2016, Nartop 2018a, Nartop 2018b). Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin etkileri uygulama sürelerine ve uygulama dozlarına göre farklılık göstermektedir. Literatürde *P. harmala* ve *R. acetosella* üzerine gümüş nanopartiküllerin etkileri üzerine bir çalışmaya rastlanmadığı için çalışmamızda elde edilen sonuçlar bu bitki türleri ve gümüş nanopartikül etkileşimleri açısından ilk verilerdir.



Şekil 4. (a-c) Kontrol grubu ve (b-d) 30 dakika biyosentetik gümüş nanopartiküllerin uygulandığı *P. harmala* ve *R. acetosella* bitkicikleri.

Yüzeysel sterilizasyon ve çimlenme yüzdeleri birlikte incelendiğinde her iki parametre için de biyosentetik gümüş nanopartiküllerin standart olarak kullanılan etil alkol ve sodyum hipoklorite karşı başarılı bir alternatif olarak kullanılabilceği görülmektedir. Her iki bitki için de denemelere ait sterilizasyon yüzdeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 1a). Bu durum bu tohumların yüzeysel sterilizasyonu için etil alkol ve sodyum hipoklorite gerek olmadığını göstermektedir. Çalışmamızda, biyosentetik gümüş nanopartikül uygulamasından sonra tohumlar steril distile su ile durulanmadan kültüre alınmışlardır. *P. harmala* tohumlarında 30 dakika uygulamasında kontrole göre çimlenme yüzdesi artışının istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu görülmektedir. Bu sonuç biyosentetik gümüş nanopartiküllerin 30 dakika uygulamasının tohum çimlenmesini de teşvik ettiğini göstermektedir. Bilindiği gibi, biyosentetik gümüş nanopartiküller bitkiler üzerinde etilen inhibe edici ve oksin stimüle edici etkilere sahiptir (Syu *et al.* 2014, Sarmast *et al.* 2015). Elde ettiğimiz sonuçlar biyosentetik gümüş nanopartiküllerin tohum çimlenmesini de benzer bir etkiyle teşvik ettiğini düşündürmektedir. Ayrıca, Şekil 4'te görüldüğü üzere 30 dakika biyosentetik gümüş nanopartiküllerin uygulandığı bitkicikler, kontrol grubundakilere göre daha hacimlidirler. 20 dakika biyosentetik gümüş nanopartiküllerin uygulanması ise her iki parametre açısından da en düşük sonuçları vermiştir ve 20 dakikanın tohum sterilizasyonu çalışmaları açısından yeterli olmadığını göstermektedir.

Biyosentetik gümüş nanopartiküllerin kimyasal yöntemlerle elde edilen gümüş nanopartiküllere göre bitki hücre ve doku kültürü çalışmalarında daha olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Begum *et al.* 2020). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarda ise yüzeysel sterilizasyon ve çimlenme açısından da biyosentetik gümüş nanopartiküllerin kimyasal yüzeysel sterilizasyon ajanlarına göre daha iyi sonuçlar verebildiğini göstermektedir. Tohum büyüklüğü, tohumun yüzeysel özellikleri, biyosentetik gümüş nanopartiküllerin uygulanma süresi gibi farklı parametreler tohumların yüzeysel sterilizasyonunu ve çimlenme oranını etkileyen parametrelerdir. Ayrıca biyosentetik gümüş nanopartiküllerin boyutları ve şekli de sterilizasyonu etkileyen diğer parametrelerdir (Nartop 2018a). Farklı doğal kaynaklardan elde edilecek indirgeyicilerle biyosentezi gerçekleştirilecek farklı özelliklere sahip biyosentetik gümüş nanopartiküllerin bitki eksplantları ve tohumları üzerinde daha iyi sonuçlar verebilmesi mümkündür. Bu sebeple, biyosentetik gümüş nanopartiküllerle yüzeysel sterilizasyon açısından her bitki tohumu için bir sterilizasyon prosedürünün oluşturulması gerekmektedir.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

**Etik beyanı:** Bu çalışmada, yazarlar, insan ya da hayvan denek kullanılmadığını ve etik kurul iznine gerek olmadığını beyan eder.

## 5. Kaynaklar

Baytop, T., 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), İstanbul Üniversitesi Yayınları, No. 3255, Eczacılık Fakültesi, Yayın No: 40, 314- 315.

Begum, S., Zahid, A., Khan, T., Khan, N.Z., Ali, W., 2020. Comparative analysis of the effects of chemically and biologically synthesized silver nanoparticles on biomass accumulation and secondary metabolism in callus cultures of *Fagonia indica*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **26**(8), 1739–1750.

Hürkul, M.M., Köroğlu, A., 2019. Investigation of *Peganum harmala* L. (Üzerlik) fruits sold in the market

from the view of pharmaceutical botany. *Biological Diversity and Conservation*, **12**(2), 65-77.

Kaplan, M., 2020. Halk hekimliğinde holistik/bütüncül yaklaşım: Üzerlik otu (*Peganum harmala*) örneği. *Ankara Üniversitesi, Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, **60**(1), 415-430.

Karnani, R.L., Chowdhary, A., 2013. Biosynthesis of silver nanoparticle by eco-friendly method. *Indian Journal of Nanoscience*, **1**(2), 25-31.

Kataraş, F., 2014. Kuzukulağı (*Rumex acetosella* L.) bitkisinin A, E ve C vitamini içeriğinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Üniversitesi Dergisi*, **17**(1), 60-63.

Kumar, V., Singh, D.K., Mohan, S., Bano, D., Kumar-Gundampati, R., Hasan, S.H., 2017. Green synthesis of silver nanoparticle for the selective and sensitive colorimetric detection of mercury (II) ion. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **168**, 67–77.

Lloyd, G.B., & McCown, B.H. (1980). Commercial-feasible micropropagation of mountain laurel-*Kalmia latifolia* by use of shoot- tip culture. *Proceedings of International Plant Propagators Society*, **30**, 421–427.

Maria, B.S., Devadiga, A., Kodialbail, V.S., Saidutta, M.B., 2015. Synthesis of silver nanoparticles using medicinal *Zizyphus xylopyrus* bark extract. *Applied Nanoscience*, **5**, 755–762.

Nartop, P., 2018a. Effects of surface sterilization with green synthesized silver nanoparticles on *Lamiaceae* seeds. *IET Nanobiotechnology*, **12**(5), 663 - 668.

Nartop, P., 2018b. Green sterilization of *Rosmarinus officinalis* L. stem surfaces with silver nanoparticles synthesized using *Rubia tinctorum* L. cell culture extracts, *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, **42**(2), 411-414.

Nartop, P., Altan-Duman, A., Titrek, A., 2021. Modelling of *in vitro* biomass production of *Digitalis purpurea* under the effects of biosynthetic silver nanoparticles, *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, **45**(2), 1-9.

Nartop, P., Günbeldek, Z., 2020. Impact of Green Synthesised Silver Nanoparticles on *In Vitro*-Grown *Lavandula officinalis* Plantlets, *Plant Science Research*

- and Practices, The *Lamiaceae* Family, An Overview, (ed.) Alexander Adler, Chapter 4, Nova Science Publishers, New York, 181-210, ISBN: 9781536170788.
- Nartop, P., 2016. Use of biosynthetic silver nanoparticles in surface sterilization of *Pyracantha coccinea* stem explants. *Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **23**(6), 759–761.
- Pal, S., Tak, Y.K., Song, J.M., 2007. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied Environmental Microbiology*, **73**(6), 1712–1720.
- Sabuncu, M., Konak, M., & Şahan, Y., 2019. *Rumex acetosella* L'nin biyoalınabilir antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **33**(2), 197-207.
- Sarmast, M.K., Niazi, A., Salehi, H., Abolimoghadam, A., 2015. Silver nanoparticles affect ACS expression in *Tecomella undulata* *in vitro* culture. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **121**, 227–236.
- Sinha, S.N., Paul, D., Halder, N., Sengupta, D., & Patra, S.K., 2015. Green synthesis of silver nanoparticles using fresh water green alga *Pithophora oedogonia* (Mont.) Wittrock and evaluation of their antibacterial activity. *Applied Nanoscience*, **5**(6), 703-709.
- Sinha, S.N., Paul, D., 2014. Eco-friendly green synthesis and spectrophotometric characterization of silver nanoparticles synthesized using some common Indian spices. *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, **3**(2), 401–408.
- Syu, Y-Y., Hung, J-H., Chen, J-C., & Chuang, H-W., 2014. Impacts of size and shape of silver nanoparticles on *Arabidopsis* plant growth and gene expression. *Plant Physiology and Biochemistry*, **83**, 57-64.
- Zick, S.M., Sen, A., Feng, Y., Green, J., Olatunde, S., & Boon, H., 2006. Trial of Essiac to ascertain its effect in women with breast cancer (TEA-BC). *The Journal Of Alternative And Complementary Medicine*, **12**(10), 971-980.