



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## Cıva (Hg) Ağır Metal İyonunun *Allium cepa* L. (Soğan)'da Teşvik Ettiği Fizyolojik, Sitogenetik ve Anatomik Değişimlerin Araştırılması

Kültiğin ÇAVUŞOĞLU<sup>a</sup>, Ali ACAR<sup>b\*</sup>, Emine YALÇIN<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Giresun Üniversitesi, Giresun, TÜRKİYE*

<sup>b</sup> *Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Giresun Üniversitesi, Giresun, TÜRKİYE*

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: [aliacar@outlook.com](mailto:aliacar@outlook.com)

### ÖZET

Bu çalışmada, *Allium cepa* L. (Soğan) üzerine Cıva (Hg) ağır metal iyonunun farklı dozlarının toksik etkileri araştırıldı. Bu amaçla; *çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı, mikronukleus (MN) sıklığı, kromozomal anormallikler ve mitotik indeks (MI)* toksisitenin indikatörleri olarak kullanıldı. Ayrıca, Cıva (Hg)'ya maruz kalan *A. cepa* L. kök ucu meristem hücrelerindeki değişimlerde araştırıldı. Tohumlar, bir (1) kontrol ve üç (3) Cıva (Hg) uygulama grubu olarak toplam dört (4) gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki tohumlar, oda sıcaklığında 72 saat süresince çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise yine oda sıcaklığında 72 saat süresince Cıva (Hg)'nın 25, 50 ve 100 mg/L dozlarıyla muamele edilmişlerdir. Sonuçlar, kontrol ile karşılaştırıldığında, Cıva (Hg)'ya maruz kalan tohumlarda *çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı, mikronukleus (MN), kromozomal anormallikler ve mitotik indeks (MI) sıklığında* doza bağlı istatistiksel olarak önemli değişimler olduğunu gösterdi ( $p < 0.05$ ). Cıva (Hg), tüm uygulama gruplarında, *çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, ağırlık artışı ve MI'i* önemli oranda azalttı. Fakat MN ve kromozomal anormallik sıklığında ise artışa neden oldu. Ayrıca, ışık mikrogramlar *yassılaştırmış hücre çekirdeği, belirgin olmayan iletim doku, nekroz, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, hücre deformasyonu ve korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi* şeklinde bazı anatomik değişimleri gösterdi. Sonuç olarak, bu çalışmada, *A. cepa* L.'nin Cıva (Hg)'ya karşı çok hassas olduğu ve Cıva (Hg) tarafından teşvik edilen kirliliğin izlenmesinde indikatör olarak kullanılabileceği gösterildi.

**Anahtar Kelimeler:** *Allium cepa* L., Anatomi, Cıva (Hg), Fizyoloji, Sitogenetik

## The Investigation of Physiological, Cytogenetic and Anatomical Changes Induced By Mercury (Hg) Heavy Metal Ion In *Allium cepa* L. (Onion)

### ABSTRACT

In the present research, toxic effects of different doses of mercury (Hg) heavy metal ion were investigated on *Allium cepa* L (onion). For this aim, the *germination percentage, root length, weight gain, frequency of*

*micronucleus (MN)*, *chromosomal aberrations*, and *mitotic index (MI)* were used as indicators of toxicity. Also, the changes in the root tip meristematic cells of *A. cepa* L. treated with mercury (Hg) were examined. The seeds were divided into total four groups as one control and three mercury (Hg) treatment groups. The seeds in the control group were treated with only tap water for 72 hours at room temperature. The seeds in the treatment groups were treated with 25, 50, and 100 mg/L doses of mercury (Hg) for 72 hours at room temperature. The results showed that there were statistically significant alterations in the germination percentage, root length, weight gain, MN, chromosomal aberrations, and MI frequency in a dose dependent manner in the seeds exposed to mercury (Hg) when compared with control ( $p<0.05$ ). Mercury (Hg) caused significantly reduction in the germination percentage, root length, weight gain and MI in all the treatment groups. But, it caused an increase in the frequency of MN and chromosomal aberrations. Moreover, light micrographs showed some anatomical damages such as *flattened cell nucleus*, *unclear vascular tissue*, *necrosis*, *thickening of the cortex cell wall*, *cell deformation* and *accumulation of certain substances in cortex cells*. It was found in this study that *A. cepa* L. was very sensitive to mercury, suggesting usage as indicator for monitor of pollution induced by this metal.

**Key Words:** *Allium cepa* L., Anatomy, Mercury, Physiology, Cytogenetic

## I. GİRİŞ

5 g/cm<sup>3</sup>'den daha yüksek spesifik bir yoğunluğa sahip olan ve düşük sıcaklıkta toksik etki gösteren metaller *ağır metal* olarak adlandırılır [1]. Bu metaller, çok düşük konsantrasyonlarda canlı organizmalarda çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonların sürdürülmesi, diğer bir ifadeyle vücut metabolizmasının korunması için gerekliyken (*eser element*), belirli eşik konsantrasyonları aşmaları halinde ise zararlı hale gelmektedirler. Yüksek konsantrasyonları kimyasal koordinasyon ve homeostaz'ın bozulmasına, oksidasyon ve redüksiyon tepkimelerinin aksamasına ve gerekli hücre sel bileşenlerin bloklanması, sonuçta da toksisiteye neden olabilmektedir [2,3].

Günümüzde ağır metal kirliliği küresel olarak çeşitli hastalıkların sebebi olarak görülmektedir. Örneğin Minamata hastalığı (*organik cıva zehirlenmesi*) ve İtai-itai hastalığı (*kadmiyum zehirlenmesi*) en bilinen ağır metal kirliliği kaynaklı hastalıklardır [4]. Ağır metaller metabolize edilemediklerinde toksiktirler ve vücut tarafından alındıklarında ise yumuşak dokularda birikirler. Vücuda besin zinciri, su, hava veya cilt teması gibi farklı yollarla girebilirler [5].

Ağır metaller doğal yollarla yâda insan faaliyetleri sonucunda çevreye yayılmaktadır. Hızlı kentleşme ve sanayileşme ağır metal kirliliğinin artışına yol açmıştır [6]. Erozyon, yer kabuğunun doğal olarak aşınması, madencilik, endüstriyel atıklar, kanalizasyon ve tarım alanlarında kullanılan pestisitler başlıca ağır metal kaynaklarıdır [7]. Çevre ve sağlık açısından risk teşkil eden başlıca ağır metaller ise Arsenik (As), Kadmiyum (Cd), Krom (Cr), Bakır (Cu), Kurşun (Pb), Nikel (Ni), Çinko (Zn) ve Cıva (Hg) şeklinde sıralanabilir [8].

Cıva (Hg) doğal olarak oluşan, parlak ve beyaz renkli bir metal olup, ısıtıldığında ise kokusuz bir gaz halini almaktadır. Cıva (Hg) elemental, inorganik tuz ve organik bileşik olmak üzere temel olarak üç (3) farklı biçimde bulunur ve her biri farklı toksisiteye sahiptir. Termometre, Barometre, Pirometre, Hidrometre, Ark lambaları ve Floresan lambaların imalatında yaygın şekilde kullanılmakta, ayrıca kâğıt endüstrisi, pil üretimi ve amalgam gibi diş preparatlarının yapımında da yararlanılmaktadır [2].

Cıva (Hg) canlı organizmalarda doğal olarak bulunmayan, biyoakümülatif özelliğe sahip ve oldukça toksik bir ağır metaldir. Biyokimyasal yâda fizyolojik olarak bilinen herhangi bir fonksiyonu yoktur. Mikrotübül tahribatına, mitokondriyal hasara, lipid peroksidasyonuna, sinir hücrelerinde nörotoksik moleküllerin birikimine, hücre zarı, kalsiyum homeostazı, sinir, böbrek ve kas işlev bozukluklarına, bronşit ve astım gibi solunum yolu hastalıklarına, doğuştan malformasyon ve çocuklarda gelişim bozukluklarına, ribozom ve endoplazmik retikulum organellerine zarar vermek suretiyle transkripsiyonun engellenmesine ve serbest radikal oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir [3,9]. Bu çalışmanın amacı, günlük yaşamımızı kolaylaştırmak adına kullandığımız pek çok ürünün yapısında bulunan, Cıva (Hg) ağır metal iyonunun toksik etkilerini *A. cepa* L. test materyali kullanarak araştırmaktır.

## II. MATERYAL VE METOT

### *A. KÖK UÇLARININ HAZIRLANMASI*

Araştırma materyali olarak yaklaşık aynı büyüklükte *A. cepa* L. tohumları seçilmiştir. Tohumlar bir (1) kontrol ve üç (3) uygulama olmak üzere toplam dört (4) gruba ayrılmış, 85x100 çapında steril beherlerde 25 °C’de 72 saat süresince çimlendirilmiştir. Kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise Cıva Klorür’un (Merck ürün kodu: 1.04417.0100) 25, 50 ve 100 mg/L dozlarıyla muamele edilmiştir. Uygulama dozları, ABD Zehirli Maddeler ve Hastalıklar Kayıt Ajansı tarafından hazırlanan Cıva ve bileşiklerine ait toksisite raporuna göre belirlenmiştir. [10]. Çimlenen tohumlar kurumamaları amacıyla günlük olarak kontrol edilmiş ve gerekli ilaveler yapılmıştır. 72 saatlik uygulama periyodu sonunda, kök uçları distile su (dH<sub>2</sub>O) ile yıkanmış ve rutin preparasyon işlemleri uygulanarak, sitogenetik analizler için hazır hale getirilmiştir [11].

### *B. KÖK UZUNLUĞU, AĞIRLIK ARTIŞI VE ÇİMLENME YÜZDESİNİN ÖLÇÜMÜ*

Cıva (Hg)’nın *kök uzunluğuna* etkisi radikula oluşumu esas alınarak, çimlenme işlemi sonrasında her bir kök ucu uzunluğunun milimetrik cetvel yardımıyla ölçülmesiyle, *ağırlık artışına* etkisi uygulama öncesi ve sonrasında tohum ağırlıklarının hassas terazi ile tartılmasıyla ve *çimlenme yüzdesi* üzerine etkisi ise eşitlik (1) kullanılarak belirlenmiştir [12].

$$\text{Çimlenme Yüzdesi (\%)} = \frac{\text{Çimlenen Tohum Sayısı}}{\text{Toplam Tohum Sayısı}} \times 100 \quad (1)$$

### *C. KROMOZOMAL ANORMALLİK, MİTOTİK İNDEKS VE MİKRONUKLEUS TESTİ*

*Kromozomal hasarların* tespiti için kök uçları yaklaşık 1-1.5 cm uzunluğunda kesilmiş, 2 saat “Clarke” fiksatoründe (3:etil alkol/1:glasiyal asetik asit) bekletilmiş, 15 dakika %96’lık etil alkolde yıkanmış ve +4 °C’de %70’lik etil alkolde saklanmıştır. Daimi preparasyon işlemleri için kök uçları 60 °C’de 17 dakika 1N HCl’de hidrolize edilmiş ve 30 dakika %45’lik asetik asitte bekletilmiştir. Son aşamada ise, kök uçları 24 saat aseto-karmin ile boyanmış, %45’lik asetik asitte ezilmiş ve araştırma mikroskopunda X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır [13].

*Mikronukleus* (MN) sıklığını belirlemek için ise, her bir grupta toplam 1000 hücre sayılmış, MN'lu hücrelerin varlığı araştırma mikroskobunda tespit edilerek X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır. MN'li hücrelerin belirlenmesinde Fenech ve ark. [14] tarafından oluşturulan kriterler temel alınmıştır.

Buna göre:

- MN'nin çapı, nukleusun çapının 10/1'i kadar olmalı,
- MN şekil bakımından yuvarlak yâda oval olmalı,
- MN'in sınırları hücre nukleusundan net bir şekilde ayırt edilebilmeli yâda nukleus zarına temas durumunda aradaki sınır açıkça seçilebilmelidir.

*Mitotik indeksi* (MI) hesaplamak amacıyla, hazırlanan preparatlardan her bir kök ucu için 1.000 hücre sayılmış ve mitotik hücrelerin yüzdesi eşitlik (2) yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Mitotik İndeks (MI)} = \frac{\text{Mitoza Girmiş Hücre}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100 \quad (2)$$

#### D. ANATOMİK HASARLARIN TESPİTİ

*Anatomik hasarın* tespiti için 72 saat süresince Cıva (Hg) ile muamele edilen tohumlarının kök uçlarından enine kesitler alınmış, metilen mavisi ile boyanmış, entellan yardımıyla kapatılarak daimi preparat haline getirilmiş ve X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır.

#### E. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin istatistiksel analizi "IBM SPSS Statistics 22" paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak gösterilmiş, ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "*One-way ANOVA ve Duncan testi*" kullanılarak belirlenmiş ve p değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### III. ARAŞTIRMA BULGULARI

*Tablo 1. Cıva (Hg) ağır metal iyonunun tohum çimlenmesine etkisi*

Gruplar	Çimlendirilen tohum sayısı	Çimlenen tohum sayısı	Çimlenmeyen tohum sayısı	Çimlenme yüzdesi (%)
Grup I	30	29	1	97
Grup II	30	24	6	80
Grup III	30	19	11	63
Grup IV	30	12	18	40

\*Grup I: Kontrol, Grup II: 25 mg/L Hg, Grup III: 50 mg/L Hg, Grup IV: 100 mg/L Hg

Cıva (Hg) ağır metal uygulamasının tohum çimlenmesine etkisi Tablo 1'de verilmiştir. Tablodaki sonuçlar incelendiğinde, en fazla çimlenme yüzdesinin kontrol grubunda, en az ise Hg'nin 100 mg/L dozuyla muamele edilen Grup IV'de ölçüldüğü, diğer bir ifadeyle Hg'nin doza bağlı olarak çimlenme yüzdesini azalttığı görülebilmektedir.



**Şekil 1.** Cıva (Hg) ağır metal iyonunun kök büyümesi üzerine etkisi (Grup I: Kontrol, Grup II: 25 mg/L Hg, Grup III: 50 mg/L Hg, Grup IV: 100 mg/L Hg)

**Tablo 2.** Cıva (Hg) ağır metal iyonunun kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi

Gruplar	Minimum	Maksimum	Ortalama
Grup I	6.40	12.30	9.34±1.50 <sup>a</sup>
Grup II	6.20	8.90	7.26±0.82 <sup>b</sup>
Grup III	4.20	7.20	5.61±0.89 <sup>c</sup>
Grup IV	1.20	3.60	2.16±0.88 <sup>d</sup>

\*Grup I: Kontrol, Grup II: 25 mg/L Hg, Grup III: 50 mg/L Hg, Grup IV: 100 mg/L Hg (n=10). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Cıva (Hg) uygulamasının kök uzunluğu üzerine etkisi Şekil 1 ve Tablo 2’de gösterilmiştir. 72 saatlik uygulama periyodu sonunda, kontrol grubunda ortalama 9.34±1.50 cm, 25 mg/L Hg dozuyula muamele edilen Grup II’de ortalama 7.26±0.82 cm, 50 mg/L Hg dozuyula muamele edilen Grup III’de ortalama 5.61±0.89 cm ve 100 mg/L Hg dozuyula muamele edilen Grup IV’de ise ortalama 2.16±0.88 cm kök uzunluğu ölçülmüştür. Kök uzunluğunun Hg doz artışı ile ters orantılı olarak azaldığı, bu azalışında istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 3.** Cıva (Hg) ağır metal iyonunun ağırlık artışı (g) üzerine etkisi

Gruplar	Başlangıç ağırlığı	Son ağırlık	Ağırlık artışı
Grup I	4.55±0.33 <sup>d</sup>	9.89±0.84 <sup>a</sup>	+5.34
Grup II	4.49±0.20 <sup>d</sup>	7.90±0.67 <sup>b</sup>	+3.41
Grup III	4.50±0.27 <sup>d</sup>	6.11±0.36 <sup>c</sup>	+1.61
Grup IV	4.54±0.22 <sup>d</sup>	4.74±0.45 <sup>d</sup>	+0.20

\*Grup I: Kontrol, Grup II: 25 mg/L Hg, Grup III: 50 mg/L Hg, Grup IV: 100 mg/L Hg (n=10). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

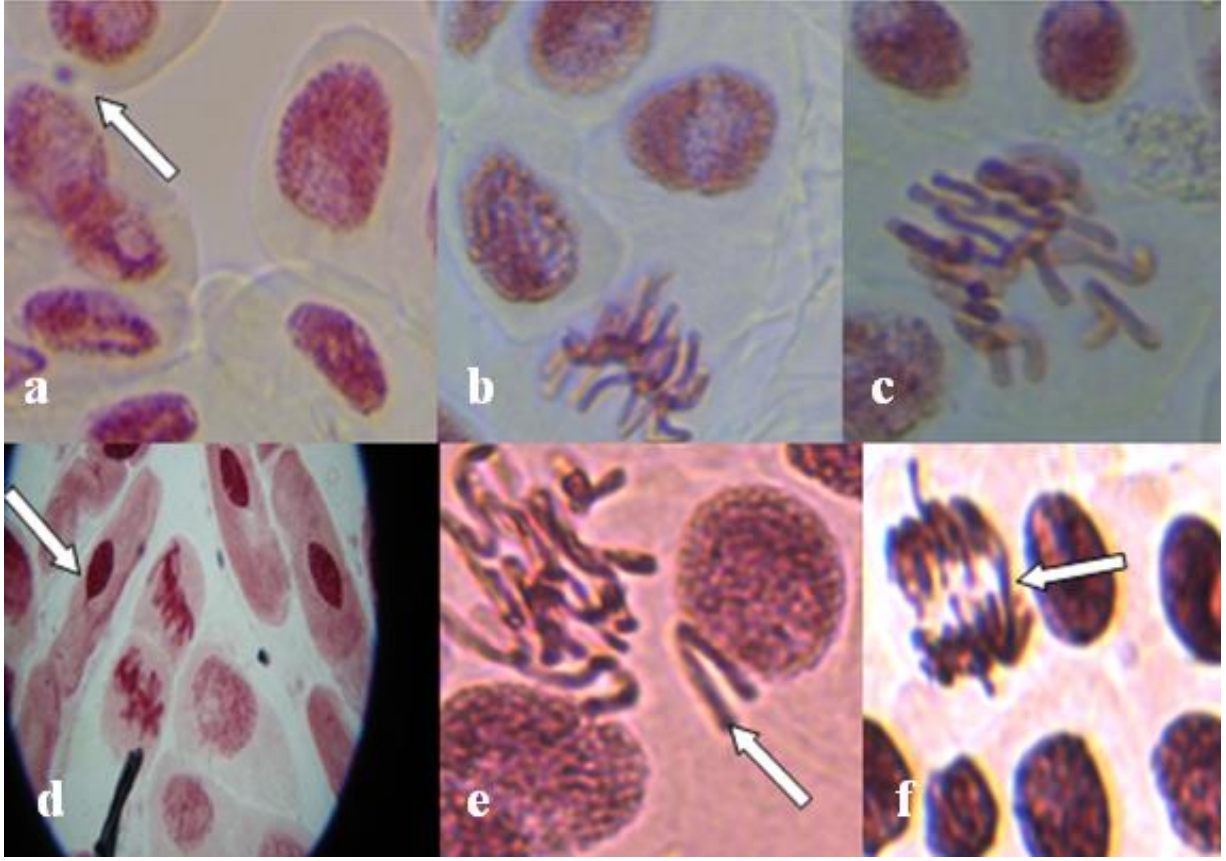
Cıva (Hg) ağır metal uygulamasının tohum ağırlığı üzerine etkisi Tablo 3’de verilmiştir. En fazla ağırlık artışı kontrol grubunda, en az ise Hg’nin 100 mg/L dozu ile muamele edilen Grup IV’de tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ortalama 5.34 g, Grup IV’de ise ortalama 0.20 g’lık bir ağırlık kazanımı belirlenmiştir. Ayrıca, kontrol grubuna göre Hg uygulanan gruplardaki ağırlık azalışının da istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) olduğu görülmüştür.

**Tablo 4.** Cıva (Hg) ağır metal iyonunun kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği mikronukleus (MN) sıklığı

Gruplar	Hesaplanan hücre sayısı	Minimum	Maksimum	Ortalama
Grup I	1000	0.00	1.00	0.20±0.42 <sup>d</sup>
Grup II	1000	7.00	15.00	10.40±2.72 <sup>c</sup>
Grup III	1000	14.00	25.00	21.00±3.16 <sup>b</sup>
Grup IV	1000	38.00	60.00	50.50±6.67 <sup>a</sup>

\*Grup I: Kontrol, Grup II: 25 mg/L Hg, Grup III: 50 mg/L Hg, Grup IV: 100 mg/L Hg (n=10). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Cıva (Hg) uygulamasının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği mikronukleus (MN) sıklığı Şekil 2 ve Tablo 4’de gösterilmiştir. Kontrol grubunda oldukça az sayıda MN oluşumu gözlenirken, Hg uygulanan gruplarda ise MN sıklığının uygulanan Hg dozuna bağlı olarak arttığı, bu artışında istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) olduğu belirlenmiştir.



*Şekil 2. Cıva ağır metal iyonu tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a: MN, b: yapışkan kromozom, c: C-mitoz, d: nukleus hasarı, e: fragment, f: kromozom köprüsü)*

**Tablo 5.** Cıva (Hg) ağır metal iyonu tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar

Hasar tipi	Kök ucu Sayısı	Analiz edilen hücre sayısı	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
FRG	10	500	0.00±0.00 <sup>d</sup>	16.80±3.88 <sup>c</sup>	29.20±3.33 <sup>b</sup>	43.10±3.63 <sup>a</sup>
YK	10	500	0.20±0.42 <sup>d</sup>	12.00±2.11 <sup>c</sup>	26.10±5.45 <sup>b</sup>	38.70±6.33 <sup>a</sup>
KK	10	500	0.00±0.00 <sup>d</sup>	8.90±2.18 <sup>c</sup>	19.10±3.93 <sup>b</sup>	27.40±3.73 <sup>a</sup>
CM	10	500	0.20±0.42 <sup>d</sup>	5.50±1.58 <sup>c</sup>	14.70±2.71 <sup>b</sup>	20.20±3.33 <sup>a</sup>
NH	10	500	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.90±0.74 <sup>b</sup>	4.20±1.14 <sup>a</sup>

\*Grup I: Kontrol, Grup II: 25 mg/L Hg, Grup III: 50 mg/L Hg, Grup IV: 100 mg/L Hg. FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, KK: kromozom köprüsü, CM: c-mitoz, NH: nukleus hasarı. Kromozomal hasarlar için, her bir gruptaki her bir kök ucunda 500 hücre, toplamda ise 5000 hücre analiz edildi. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı satır içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0.05$ ).

Cıva (Hg) ağır metal uygulaması tarafından kök ucu hücrelerinde teşvik edilen kromozomal hasarlar ile bu hasarların sayıları Şekil 2 ve Tablo 5'de gösterilmiştir. Hg ağır metal iyonunun kök uçlarında *fragment > yapışkan kromozom > kromozom köprüsü > c-mitoz > nukleus hasarı* şeklindeki kromozomal hasarların oluşumunu teşvik ettiği, söz konusu hasar sayılarındaki artışın ise Hg dozuyla doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 6.** Cıva (Hg) ağır metal iyonunun mitotik indeks (MI) üzerine etkisi

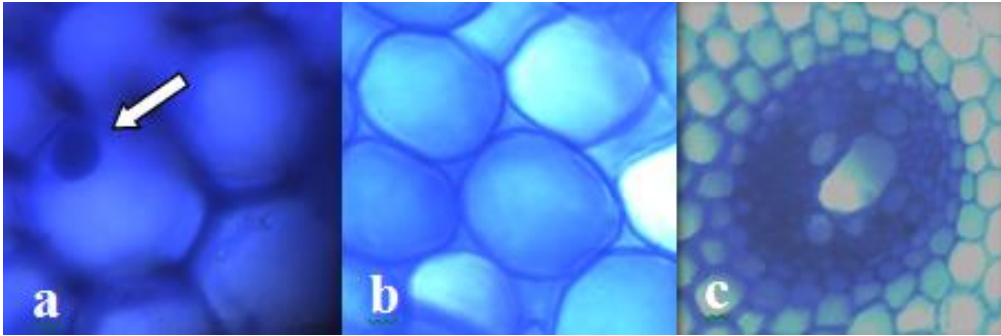
Gruplar	Minimum	Maksimum	Ortalama (%)
Grup I	835	924	882.70±31.77 <sup>a</sup> (8.82)
Grup II	698	848	766.30±53.68 <sup>b</sup> (7.66)
Grup III	572	688	626.50±42.09 <sup>c</sup> (6.26)
Grup IV	398	548	476.70±46.66 <sup>d</sup> (4.76)

\*Grup I: Kontrol, Grup II: 25 mg/L Hg, Grup III: 50 mg/L Hg, Grup IV: 100 mg/L Hg (n=10). MI her bir kök ucu için 1000 hücre toplamda 10000 hücre sayılarak yüzde olarak hesaplandı. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" varyans analizi kullanılarak belirlendi. Aynı satır içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0.05$ ).

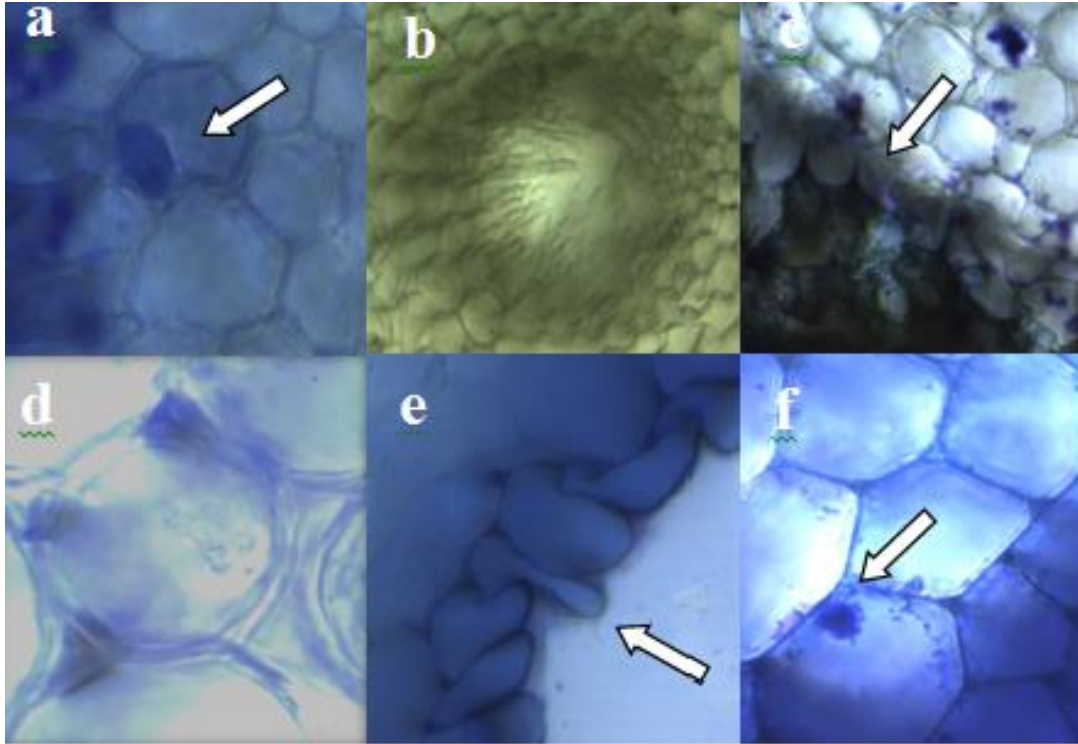


Cıva (Hg) uygulamasının mitotik indeks (MI) değeri üzerine etkisi Tablo 6'da gösterilmiştir. Kontrol grubunda ortalama  $882.70 \pm 31.77$ , Hg'nin 100 mg/L dozuyla muamele edilen Grup IV'de ise ortalama  $476.70 \pm 46.66$  oranında MI sayılmıştır. Hg uygulaması, doza bağlı bir şekilde, bölünen hücrelerin sayısını gösteren MI değerinde azalmaya sebep olmuş, bu azalışında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p < 0.05$ ) gözlenmiştir.

Cıva (Hg) ağır metal uygulamasının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik hasarlar Şekil 3 ve 4'de gösterilmiştir. Kontrol grubu tohumların kök uçlarından alınan kesitlerde her hangi bir hasar gözlenmezken, Hg ile muamele edilen gruplara ait kök uçlarında ise *yassılaştırmış hücre çekirdeği, belirgin olmayan iletim doku, nekroz, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, hücre deformasyonu ve korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi* şeklinde hasarlar tespit edilmiştir.



**Şekil 3.** Kontrol grubu kök ucu hücrelerinin anatomik görünümü (**a**: hücre çekirdeğinin olağan şekli oval, **b**: korteks hücrelerinin olağan görünümü, **c**: iletim dokunun olağan görünümü)



**Şekil 4.** Cıva (Hg) ağır metal iyonu tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar (**a**: yassılaştırmış hücre çekirdeği, **b**: belirgin olmayan iletim doku, **c**: nekroz, **d**: korteks hücre çeperinde kalınlaşma, **e**: hücre deformasyonu, **f**: korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi)

## IV. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Cıva (Hg) ağır metal iyonunun *A. cepa* L. tohumlarının fizyolojisi, sitogenetiği ve anatomisi üzerine etkileri araştırılmıştır. Fizyolojik parametreler çimlenme yüzdesi, ağırlık artışı ve kök uzunluğunun ölçülmesiyle, sitogenetik parametreler mikronukleus (MN), kromozomal hasar ve mitotik indeks (MI) sayılarının tespitiyle, anatomik parametreler ise kök uçlarından alınan kesitlerin araştırma mikroskopunda incelenmesiyle değerlendirilmiştir.

Hg uygulamasının fizyolojik parametreler olan çimlenme yüzdesi, ağırlık artışı ve kök uzunluğunu kontrol grubuna göre azalttığı, bu azalışında uygulanan Hg dozuyla ters orantılı olduğu tespit edilmiştir. Literatürde Hg ve diğer ağır metal iyonlarının fizyolojik parametrelerde azalmaya neden olduğunu gösteren benzer tarzda çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Muhammad ve ark. [15] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Vigna radiata* L. (Wilczek) (Maş Fasülyesi)'nin tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerine Hg'nin farklı konsantrasyonlarının (1, 3, 5 ve 7 mM) etkileri araştırılmış, sonuçta Hg konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak tohum çimlenmesinin, fide kök uzunluğu ile fide kuru ağırlığının kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir. Gautam ve ark. [16] tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, *Oryza sativa* L. (pirinç)'nin iki kültür çeşidi olan "PR-116" ile "Pant Dhan" tohumları üzerine kurşun (Pb<sup>2+</sup>) ve cıva (Hg<sup>2+</sup>) uygulamasının etkileri araştırılmış, sonuçta her iki ağır metal iyonunun da çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, fide gelişimi ve tohum kuru/yaş ağırlıklarında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca Pb<sup>2+</sup>'nin, embriyoyu belirgin şekilde etkilemeden sadece endosperm nişastasının çözünürlüğünü bozarak, Hg<sup>2+</sup>'nin ise embriyonun kendisine zarar vermek suretiyle çimlenme ve fide gelişimini inhibe ettiğini belirlenmiştir. Ahmad ve ark. [17] tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, kurşun sülfat (PbSO<sub>4</sub>)'ın farklı dozlarının (0.01, 0.1, 1.0 mg L<sup>-1</sup>) iki farklı mısır genotipi olan EV-1098 ve EV-77 tohumlarının fizyolojisi üzerine etkileri araştırılmış, sonuçta kurşun (Pb) stresinin her iki genotipte de tohum çimlenme yüzdesini, sürgün (plumule) ve radikül uzunlukları ile taze ve kuru ağırlıklarını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada araştırılan çimlenme yüzdesi, ağırlık artışı ve kök uzunluğu fizyolojik parametrelerindeki azalışın, Hg'nin tohum yapısında görev alan enzim sistemlerini inhibe ederek, su ve besin maddelerinin girişini engellemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Zira literatürde bu görüşümüzü doğrulayan tarzda çeşitli bilgiler bulunmaktadır. Örneğin nikelin (Ni) amilaz, proteaz ve ribonükleaz enzim aktivitesini engelleyerek tohum çimlenmesi ve bitki büyümesini geciktirdiği [18], kurşunun (Pb) kromoplastta değişikliğe neden olduğu, elektron taşıma zincirini (ETS) engellediği, Calvin Siklus enzimlerini inhibe ettiği, magnezyum (Mg) ve demir (Fe) alımını bloke ettiği, çimlenme, kök uzaması, fide gelişimi, bitki büyümesi ve transpirasyonunu engellediği, ayrıca klorofil üretimi ve su alımını azalttığı [19], bakırın (Cu) çimlenme yüzdesini düşürdüğü, ayrıca alfa-amilaz ve invertaz isoenzimlerinin aktivitesini inhibe ederek, nişasta ve sükrozun parçalanmasını engellediği [20], kadmiyumun (Cd) ise çimlenmeyi geciktirdiği, membran hasarını indüklediği, toplam çözünebilir şekerlerin, glukoz, früktoz ve amino asitlerin artmış kotiledon /embriyo oranları nedeniyle besin rezervi seferberliğini bozduğu, besin kaybına yol açan mineral sızıntısına neden olduğu ve tohumlarda lipid peroksidasyon ürünlerinin aşırı birikimine sebep olduğu [21,22] rapor edilmiştir.

Hg ağır metal iyonu tarafından kök ucu hücrelerinde teşvik edilen sitogenetik değişimler ise mikronukleus (MN), kromozomal hasar ve mitotik indeks (MI) sayılarının tespiti ile değerlendirilmiştir. Araştırma mikroskobu altında gerçekleştirilen gözlemler sonucunda, kontrol grubu tohumların kök ucu hücrelerinde çok az sayıda MN oluşumu ile kromozomal hasarlar ve oldukça

yüksek oranda MI gözlenirken, Hg uygulaması sonrasında ise MN ve kromozomal hasar sayılarında belirgin bir artış, MI oranında ise belirgin bir azalma tespit edilmiştir. Hg uygulaması kök ucu hücrelerinde fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü, c-mitoz ve nukleus hasarı gibi farklı kromozomal hasarların oluşumunu teşvik etmiştir. Literatürde bizim sonuçlarımızı doğrulayan tarzda gerek Hg gerekse de diğer ağır metal iyonlarıyla gerçekleştirilmiş çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Siddiqui ve Karkun [23] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Merküri klorid*'in %1 ve %3'lük konsantrasyonlarının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği sitogenetik değişimler araştırılmış, sonuçta merküri klorid'in doza bağlı olarak MI oranını azalttığı, kök ucu hücrelerinde ise köprü, fragment ve gecikme şeklinde kromozomal hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Patlolla ve ark. [24] tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, gümüş nanopartiküllerinin 12.5, 25, 50 ve 100 mg/L dozlarının *Vicia faba* L. kök ucu hücreleri üzerine genotoksik etkileri araştırılmış, sonuçta gümüş partiküllerinin doza bağlı olarak MI oranını azalttığı, kromozomal hasar ve MN sayılarını ise önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir. Ünyayar ve ark. [25] tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, kadmiyum nitratin farklı konsantrasyonlarına (1, 10, 100 ve 200 mM) maruz kalan *A. sativum* L. ve *V. faba* L. kök ucu hücrelerindeki sitogenetik değişimler araştırılmış, sonuçta Cd uygulamasının her iki bitki türünün kök ucu hücrelerinde MN sıklığını arttırdığı, MI azalttığı ve mitozda gecikmelere neden olduğu rapor edilmiştir.

Bu çalışmada ayrıca Hg ağır metal iyonunun *A. cepa* kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği anatomik değişimlerde araştırılmıştır. Kök uçlarından alınan kesitlerin araştırma mikroskobu altında incelenmesi sonucunda, kontrol grubu tohumların kök uçlarında her hangi bir değişime rastlanılmazken diğer bir ifadeyle kök ucu hücrelerinin çekirdeklerinin görünümü, korteks hücrelerinin görünümü ve iletim dokunun görünümü olağan şekilliyken, Hg uygulanan gruptaki tohumların kök ucu hücrelerinde ise yassılaştırmış hücre çekirdeği, belirgin olmayan iletim doku, nekroz, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, hücre deformasyonu ve korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi şeklinde hasarlar tespit edilmiştir. Literatürde, ağır metal iyonları ve diğer kimyasal ajanlar tarafından kök ucu hücrelerinde teşvik edilen anatomik değişimleri araştıran bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Çavuşoğlu ve ark. [26] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Glifosat'ın farklı dozlarının (100, 250 ve 500 mg L<sup>-1</sup>) *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği anatomik değişimler araştırılmış, sonuçta Glifosat uygulamasının kök ucu hücrelerinde belirgin olmayan vasküler doku ve epidermis ile hücre deformasyonu, anormal görünümlü nukleus ve binükleer hücre oluşumu şeklinde hasarlar belirlenmiştir. Lux ve ark. [27] tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, kadmiyumun (Cd) 1 ve 5 mg L<sup>-1</sup> dozlarına maruz kalan *Merwillia plumbea* (Lindl.) Speta bitkisinin kök dokularının Cd karşı reaksiyonları araştırılmış, sonuçta Cd maruziyetinin bitki büyümesini önemli ölçüde azalttığı, Cd'nin kök hücrelerinde depolandığı, Cd'ye tepki olarak kök ucuna yakın bir bölgede hipodermal periderm geliştiği ve hücre duvarlarının ise suberin ile çevrildiği rapor edilmiştir. Türkmen ve ark. [28] tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, Melet Irmağı (Ordu) suyunda yer alan ağır metal iyonlarının *A. cepa* L. kök uçlarında teşvik ettiği anatomik hasarlar araştırılmış, sonuçta suda bulunan ağır metallerin hücre ölümü, belirgin olmayan iletim doku, anormal görünümlü hücre çekirdeği ve korteks parankima hücrelerinde bazı maddelerin birikimi şeklinde hasarlara neden olduğu gösterilmiştir. Acar ve ark. [29] tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir başka çalışmada ise, Paraquat herbisitinin üç farklı dozuna (10, 50 ve 100 ppm) maruz bırakılan *A. cepa* L. tohumlarının kök ucu hücrelerinde meydana gelen anatomik değişimler araştırılmış, sonuçta, kök ucu hücrelerinde hücre çekirdeğinin olağan dışı şekli, nekroz, belirgin olmayan iletim doku, iletim dokuda bazı maddelerin birikimi ve hücre deformasyonu şeklinde hasarlar tespit edilmiştir.

## V. SONUÇ

Sonuç olarak, Hg ağır metal iyonunun *A. cepa* L. tohumlarında toksik etki göstererek fizyolojik, sitogenetik ve anatomik parametrelerde değişimlere neden olduğu belirlenmiştir. Çevredeki bu tarz toksik kirleticilerin daha büyük konsantrasyonlarda birikmesi, gerek bitki ve hayvanlar gerekse de insan ve ekosistem için oldukça zararlı etkiler yaratabilir. Ayrıca *A. cepa* L. test materyalinin ağır metaller gibi çevresel ajanların/mutajenlerin toksik etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen bu tür çalışmalarda başvurulabilecek öncelikli materyallerden biri olduğu da gözlenmiştir.

## VI. KAYNAKLAR

- [1] L. Jarup, "Hazards of Heavy Metal Contamination," *British Medical Bulletin*, c. 68, s. 1, ss. 167–182, 2003.
- [2] M. Jaishankar, T. Tseten, N. Anbalagan, B.B. Mathew and K.N. Beeregowda, "Toxicity, Mechanism and Health Effects of Some Heavy Metals," *Interdisciplinary Toxicology*, c. 7, s. 2, ss. 60–72, 2014.
- [3] P. Govind and S. Madhuri, "Heavy Metals Causing Toxicity in Animals and Fishes," *Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences*, c. 2, s. 2, ss. 17-23, 2014.
- [4] T. Matsuo, "Japanese Experiences of Environmental Management," *Water Science and Technology*, c. 47, ss. 7–14, 2003.
- [5] J. Baby, J.S. Raj, E.T. Biby, P. Sankarganesh, M.V. Jeevitha, S.U. Ajisha and S.S. Rajan, "Toxic Effect of Heavy Metals on Aquatic Environment," *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, c. 4, s. 4, ss. 939–952, 2010.
- [6] M. Praveena, V. Sandeep, N. Kavitha and K. Jayantha Rao, "Impact of Tannery Effluent, Chromium on Hematological Parameters in A Fresh Water Fish, *Labeo rohita* (Hamilton)," *Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences*, c. 1, s. 6, ss. 1–5, 2013.
- [7] S. Morais, F.G. Costa and M.L. Pereira, *Heavy Metals and Human Health*, In: Oosthuizen J, Editor. Environmental Health – Emerging issues and Practice, 2012, ss. 227–246.
- [8] M. Lambert, B.A. Leven and R.M. Green, *New Methods of Cleaning Up Heavy Metal in Soils and Water*, Environmental Science and Technology Briefs for Citizens, Manhattan, KS: Kansas State University, 2000.
- [9] L. Patrick, "Mercury Toxicity and Antioxidants: Part 1: Role of Glutathione and Alpha-Lipoic Acid in the Treatment of Mercury Toxicity," *Alternative Medicine Review*, c. 7, s. 6, ss. 456–471, 2002.
- [10] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Mercury. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, USA, 1999.

- [11] Q.X. Wei, "Mutagenic Effects of Chromium Trioxide on Root Tip Cells of *Vicia faba*," *Journal of Zhejiang University Science A*, c. 12, s. 5, ss. 1570–1576, 2004.
- [12] M. Atik, O. Karagüzel ve S. Ersoy, "Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* Tohumlarının Çimlenme Özelliklerine Etkisi," *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, c. 20, ss. 203–208, 2007.
- [13] T.A. Staykova, E.N. Ivanova and I.G. Velcheva, "Cytogenetic Effect of Heavy Metal and Cyanide in Contaminated Waters from the Region of Southwest Bulgaria," *Journal of Cell and Molecular Biology*, c. 4, ss. 41–46, 2005.
- [14] M. Fenech, W.P. Chang, M. Kirsch-Volders, N. Holland, S. Bonassi and E. Zeiger, "HUMN Project: Detailed Description of the Scoring Criteria for the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Using Isolated Human Lymphocyte Cultures," *Mutation Research*, c. 534, s. 1, ss. 65–75, 2003.
- [15] Z.I. Muhammad, K.S. Maria, A. Mohammad, S. Muhammad, F. Zia-Ur-Rehman and K. Muhammad, "Effect of Mercury on Seed Germination and Seedling Growth of Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)," *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, c. 19, s. 2, ss. 191–199, 2015.
- [16] M. Gautam, R.S. Sengar, R. Chaudhary, K. Sengar and S. Garg, "Possible Cause of Inhibition of Seed Germination in Two Rice Cultivars by Heavy Metals Pb<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup>," *Toxicological and Environ Chemistry*, c. 92, s. 6, ss. 1111–1119, 2010.
- [17] M.S.A. Ahmad, M. Ashraf, Q. Tabassam, M. Hussain and H. Firdous, "Lead (Pb)-Induced Regulation of Growth, Photosynthesis, and Mineral Nutrition in Maize (*Zea mays* L.) Plants at Early Growth Stages," *Biological Trace Element Research*, c. 144, s.1-3, ss. 1229–1239, 2011.
- [18] M.S. Ahmad and M. Ashraf, "Essential Roles and Hazardous Effects of Nickel in Plants". *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, c. 214, ss. 125–167, 2011.
- [19] B. Pourrut, M. Shahid, C. Dumat, P. Winterton and E. Pinelli, "Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants," *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, c. 213, ss. 113–136, 2011.
- [20] L.B. Pena, C.E. Azpilicueta and S.M. Gallego, "Sunflower Cotyledons Cope with Copper Stress by Inducing Catalase Subunits Less Sensitive to Oxidation," *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, c. 25, ss. 125–129, 2011.
- [21] S. Rahoui, A. Chaoui and E.J. El Ferjani, "Membrane Damage and Solute Leakage from Germinating Pea Seed under Cadmium Stress," *Journal of Hazardous Materials*, c. 178, ss. 1128–1131, 2010.
- [22] A. Sfaxi-Bousbih, A. Chaoui and E. El Ferjani, "Cadmium Impairs Mineral and Carbohydrate Mobilization During the Germination of Bean Seeds," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, c. 73, ss. 1123–1129, 2010.

- [23] H.N. Siddiqui and A. Karkun, "Study of the Mitotic Abnormalities Due to Mercuric Chloride on *Allium Cepa* at Different Concentration and Time Exposure," *International Journal of Ayurveda and Pharma Research*, c. 7, s. 3, ss. 166–168, 2016.
- [24] A.K. Patlolla, A. Berry, L. May and P.B. Tchounwou, "Genotoxicity of Silver Nanoparticles in *Vicia Faba*: A Pilot Study on The Environmental Monitoring of Nanoparticles," *International Journal of Environmental Research And Public Health*, c. 9, s. 5, ss. 1649–1662, 2012.
- [25] S. Ünyayar, A. Çelik, F.Ö. Çekiç and A. Gözel, "Cadmium-Induced Genotoxicity, Cytotoxicity and Lipid Peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*," *Mutagenesis*, c. 21, s. 1, ss. 77–81, 2006.
- [26] K. Çavuşoğlu, E. Yalçın, Z. Türkmen, K. Yapar, K. Çavuşoğlu and F. Çiçek, "Investigation of Toxic Effects of the Glyphosate on *Allium cepa*," *Tarım Bilimleri Dergisi*, c. 17, ss. 131–142, 2011.
- [27] A. Lux, M. Vaculík, M. Martinka, D. Lišková, M.G. Kulkarni, W.A. Stirk and J. Van Staden, "Cadmium Induces Hypodermal Periderm Formation in the Roots of the Monocotyledonous Medicinal Plant *Merwillia plumbea*," *Annals of Botany*, c. 107, s. 2, ss. 285–292, 2011.
- [28] Z. Türkmen, K. Çavuşoğlu, K. Çavuşoğlu, K. Yapar and E. Yalçın, "Protective Role of Royal Jelly (honeybee) on Genotoxicity and Lipid Peroxidation, Induced by Petroleum Wastewater- in *Allium cepa* L. Root Tips," *Environmental Technology*, c. 30, s. 11, ss. 1205–1214, 2009.
- [29] A. Acar, K. Çavuşoğlu, Z. Türkmen, K. Çavuşoğlu and E. Yalçın, "The Investigation of Genotoxic, Physiological and Anatomical Effects of Paraquat Herbicide on *Allium cepa* L.," *Cytologia*, c. 80, s. 3, ss. 343-351, 2015.