

---

*Araştırma Makalesi / Research Article*

---

## **Cıva'nın *Allium sativum*' un Kök Ucu Hücreleri Üzerindeki Mitotik Etkileri**

Osman GEDİK<sup>1</sup>, Neslihan TAŞAR<sup>1</sup>, Yaşar KIRAN<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ.

---

### **Özet:**

Bu çalışmada, önemli çevre kirleticilerinden biri olan cıva ( $HgCl_2$ )'nin sarımsak (*Allium sativum*) kök ucu hücrelerinin mitoz bölünmeleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Denemelerde  $Hg^{+2}$ 'nin farklı konsantrasyonları (0.015625, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, 1.000 ve 2.000 mM) kullanılmıştır. Düşük  $Hg^{+2}$  konsantrasyonları ile muamele edilen sarımsakların çimlenmesinde kontrole göre belirgin bir farkın olmadığı, ancak yüksek konsantrasyonlarda çimlenmenin azaldığı ve 0.250 mM üzerindeki örneklerden kök gelişiminin tamamen durduğu gözlenmiştir. Ayrıca uygulanan tüm konsantrasyonlarda, kök büyümesi kontrole göre engellenmiştir. Cıva'nın konsantrasyon artışına paralel olarak, hücre bölünmesinin azaldığı, kalgın kromozom, multipolar anafaz, anafazda köprü ve granülleşme gibi çeşitli mitotik anormalliklerin arttığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Cıva, *Allium sativum*, Mitoz, Ağır metal

---

## **The Effects of The Mercury on The Root Tip Cell Mitotic Divisions of *Allium sativum***

---

### **Abstract**

In this study, the effects of mercury ( $HgCl_2$ ) one of the significant environmental pollutant, on mitotic divisions of the root tip cells of garlic (*Allium sativum*) were investigated. Different concentrations (0.015625, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, 1.000 ve 2.000 mM  $Hg^{+2}$ ) of mercury were applied. It was observed that there are no significant differences in the germination of seeds that exposed to low mercury concentrations. On the other hand, at higher concentrations of mercury inhibited germination and root growth was stopped above 0.250 mM concentrations. In addition, root growth was inhibited according to the control group at all concentrations. In parallel to the increase of the mercury concentrations cell division was decreased, several mitotic anomalies such as, lagging chromosomes, multipolar anaphases, chromosome bridges and granulation were increased.

**Keywords:** Mercury, *Allium sativum*, Mitosis, Heavy metals

---

### **1.Giriş**

Ağır metaller grubunun bir üyesi olup oda sıcaklığında sıvı durumda bulunan cıva periyodik cetvelin 2B grubunda ve  $14.06 \text{ g/cm}^3$  yoğunluğa sahip bir geçiş elementidir. Yerkabuğunda ortalama 0.08 ppm oranında bulunan doğal cıva içeriği havada  $0.005-0.06 \text{ ng/m}^3$ ; bitkilerde  $0.001-0.3 \text{ } \mu\text{g/g}$  (genelde  $< 0.01 \text{ } \mu\text{g/g}$ ) seviyelerindedir [1]. Cıva endüstrinin birçok alanında kullanılmaktadır. Yakıtlar, metalürji fabrikaları, termometreler, ilaç sanayinde, diş tedavilerinde dolgu malzemesi olarak, laboratuvar uygulamalarında, boya ve kâğıt sanayinde, çimento imalatında kullanılmakta ve ortama önemli miktarda cıva yayılmaktadır. Ayrıca rafineri, jeotermal su kaynakları, orman yangınlarında bitki terlemeleri ve toprak kurumalarının yanında atmosfere salınan cıva çeşitli yollarla sucül ortama ulaşır [1]. İnsan faaliyetleri sonucu yılda 20000- 70000 ton civarında civanın atmosfere ve sulara serbest bırakıldığı tahmin edilmektedir [2].  $HgCl_2$  yüksek bitkiler için temel besin değildir ve düşük konsantrasyonlar da bile ciddi toksisite sonuçlarına maruz bırakabilir [3]. Bitki büyümesinin

---

\* Sorumlu yazar: [ykiran@firat.edu.tr](mailto:ykiran@firat.edu.tr)

yavaşlaması  $HgCl_2$ ' ün en belirgin fitotoksik etkilerinden biridir. Bu olay besin alımındaki değişim ve hücre yapısının bozulması gibi birçok metabolik işlem bozukluğu ile ilişkili [4] olmasının yanı sıra oksidatif stresinde ortaya çıkmasına yol açtığı belirlenmiştir [5]. Tüm ağır metaller yüksek konsantrasyonlarda potansiyel olarak toksiktir [6]. Organik cıva ile ilgili ilk çalışmalarda, kromozomlarda parçalanma, somatik mutasyonlar ve polende kısırılık meydana getirdiği belirlenmiştir [7]. Bazı araştırmacılar cıva' nın yüksek tohum çimlenmesini toksik olarak etkilediğini belirtmiştir [8]. Ağır metallerin aşırı konsantrasyonlarının alımı bitkilerin büyümesini yavaşlatır. [9, 10].

## 2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada bir kültür bitkisi olan sarımsak (*Allium sativum*), ağır metal olarak da cıva ( $Hg^{++}$ )'nın klor tuzu ( $HgCl_2$ ) kullanılmıştır. Çözeltilerin tamamı bidestile su (pH=6.3) kullanılarak hazırlanmıştır. Sarımsaklar deney grubu için hazırlanan farklı (0.015625, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, 1.000 ve 2.000 mM  $HgCl_2$ ) konsantrasyonlardaki  $Hg^{++}$ , kontrol grubu ise musluk suyu içerisinde alt kısımları çözeltiye degecek şekilde 35 ml' lik deney tüplerinin ağzına yerleştirilerek; 23-24 °C' deki etüve yerleştirildi. Her 24 saatte bir tüplerdeki azalan çözelti eşit miktarda ilave edilerek 72 saat süresince takip edildi. 72 saat sonra her bir gruba ait kök uçları kesilerek; 24 saat asetik asit: alkol (1:3) içerisinde bekletilerek fiksasyon işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra kök uçları, 60 °C' de 1N HCl ile etüvede 20 dakika hidroliz edildi ve Feulgen reaktifi ile 1 saat boyandı. 15 dakika musluk suyunda bekletilen kök uçlarının uç kısmındaki koyu boyanan 1-2 mm' lik büyüme meristemleri kesildi ve % 45' lik asetik asit ortamında ezme preparatları yapıldı [11].

## 3. Bulgular ve Tartışma

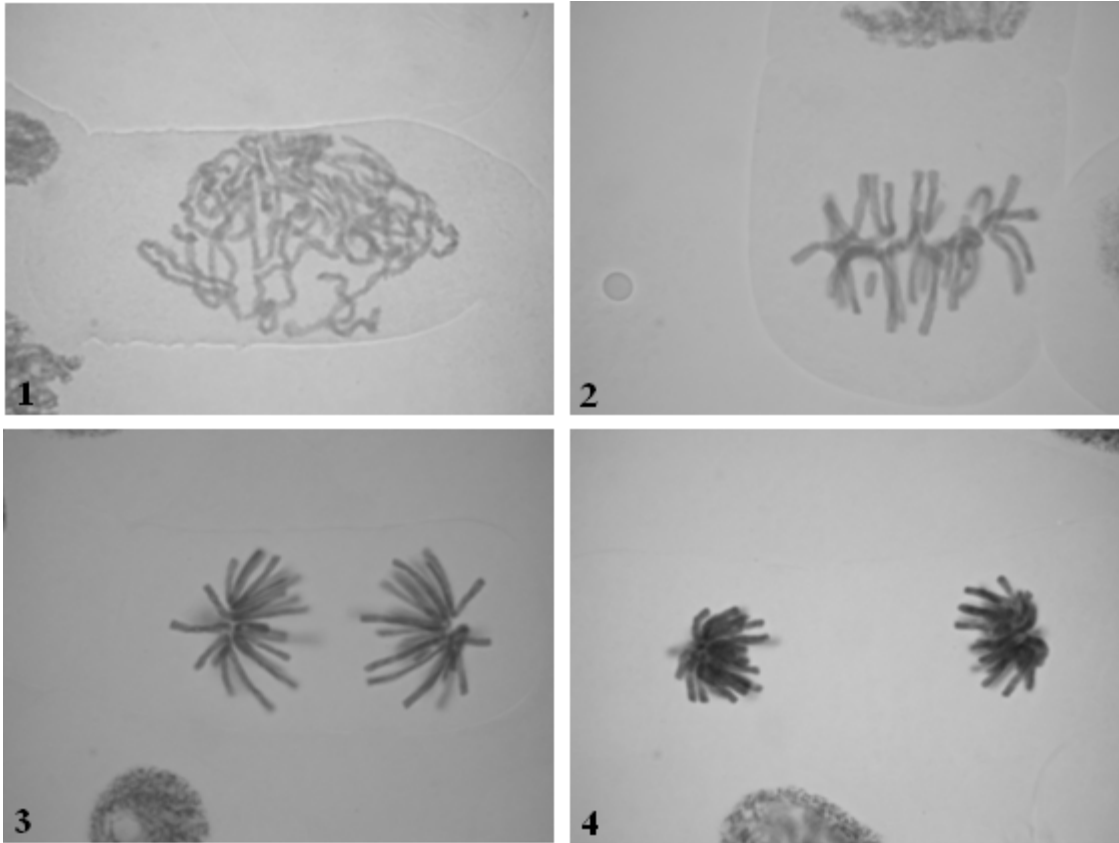
Uygulanan cıva klorür dozlarının tamamının mitoz bölünme üzerinde olumsuz etki yaptığı belirlenmiştir. Mitoz bölünme frekansının, doz artışına bağlı olarak giderek azaldığı tespit edilmiştir (Tablo 1). Ayrıca mitoz bölünmenin profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evrelerindeki bölünen hücre sayısında kontrollere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

Mitotik indeks hücre bölünme frekansını yansıtır ve kök gelişim oranını belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılır [12]. Tablo 1' den de görüleceği gibi  $Hg^{++}$  konsantrasyonu artışına bağlı olarak mitotik indeks azalmış dolayısıyla bu azalmaya paralel olarak mitotik anormalliklerde artış görülmüştür. Mitotik gözlemler sonucunda *Allium sativum*' un kontrol grubuna ait kök ucu hücreleri Şekil 1 de ve cıva' ya maruz bırakılan kök ucu hücrelerinde meydana gelen anormallikler ise Şekil 2' de verilmiştir.

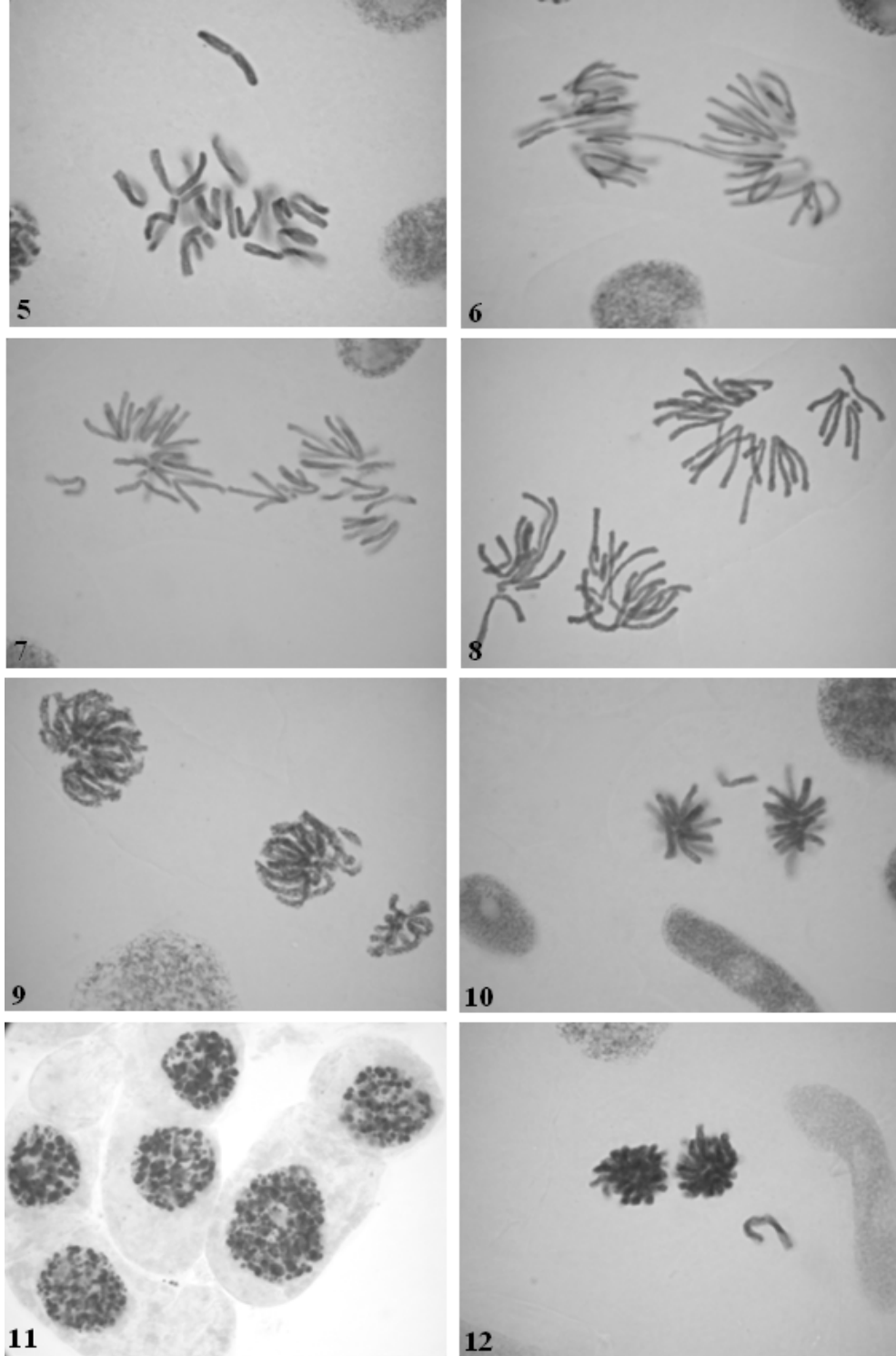
Kontrol grubunda 72 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 2000 hücreden 146 hücrede bölünme görüldü. Bu gruptaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; anafaz' da 1 hücrede multipolar anafaz, 2 hücrede köprü şeklindedir (Tablo 1). 0.015625 mM' lık  $Hg^{++}$  ile 72 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 2000 hücreden 98 hücrede bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; anafaz' da 6 hücrede multipolar anafaz, 6 hücrede köprü ve telofaz' da bir hücrede kalgın kromozom şeklindedir (Tablo 1). 0.03125 mM' lık  $Hg^{++}$  ile 72 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 2000 hücreden 78 hücrede bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; metafaz' da 1 hücrede kalgın kromozom, anafaz' da 4 hücrede multipolar anafaz, 11 hücrede köprü, 2 hücrede kalgın kromozom şeklindedir (Tablo 1). 0.0625 mM' lık  $Hg^{++}$  ile 72 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 2000 hücreden 65 hücrede bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; metafaz' da 2 hücrede kalgın kromozom, anafaz' da 12 hücrede multipolar anafaz, 9 hücrede köprü, 2 hücrede kalgın kromozom ve telofaz' da bir hücrede kalgın kromozom şeklindedir (Tablo 1). 0.125 mM' lık  $Hg^{++}$  ile 72 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 2000 hücrenin hiç birinde bölünme görülmezken sayılan hücrelerden 262' sinde granülleşme olduğu görüldü (Tablo 1). 0.250 mM' lık  $Hg^{++}$  ile 72 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 2000 hücrenin hiç birinde bölünme görülmezken sayılan hücrelerden 319' unda granülleşme olduğu görüldü (Tablo 1).

**Tablo1.** Cıva (HgCl<sub>2</sub>)' nin *Allium sativum* kök ucu hücrelerindeki mitotik etkileri

Uygulama	Sayılan toplam hücre	Mitotik indeks (%)	Kromozom anormallikleri (%)	Normal bölünen hücre	Anormal bölünen hücre sayısı					
					Metafazda kalgın kromozom	Multipolar Anafaz	Anafazda köprü	Anafazda kalgın kromozom	Telofazda kalgın kromozom	Granülasyon
Kontrol	2000	7.45	2.05	146	-	1	2	-	-	-
0.015625 mM	2000	5.50	12.24	98	-	6	6	-	1	-
0.03125 mM	2000	4.70	20.51	78	1	4	11	2	-	-
0.0625m M	2000	4.40	35.38	65	2	12	9	2	1	-
0.125m M	2000	-	-	-	-	-	-	-	-	262
0.250m M	2000	-	-	-	-	-	-	-	-	319



**Şekil 1.** *Allium sativum*' un normal mitotik safhaları; 1- Profaz, 2- Metafaz, 3- Anafaz, 4- Telofaz



**Şekil 2.** Cıva' nın çeşitli konsantrasyonlarının neden olduğu mitotik anormallikler; 5- Metafaz da kalgın kromozom, 6- Anafaz da köprü, 7- Anafaz da köprü ve kalgın kromozom, 8- Multipolar anafaz, 9- Multipolar telofaz, 10- Anafazda kalgın kromozom, 11- Granülasyon, 12- Telofaz da kalgın kromozom

#### 4. Sonuç

Bu çalışmada, cıva klorür dozlarının tamamının mitoz bölünme üzerinde olumsuz etki yaptığı belirlenmiştir.  $HgCl_2$  ün konsantrasyon artışına bağlı olarak mitotik indeksin azaldığı ve kromozomal anormalliklerin arttığı tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada  $HgCl_2$  ün farklı konsantrasyonları (0.015625, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500, 1.000 ve 2.000 mM) kullanılmıştır. 0.015625, 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.250 mM'lık konsantrasyonlara ait veriler Tablo 1 de görülmektedir. 0.500, 1.000 ve 2.000 mM'lık konsantrasyonlar da ise kök uzaması durmuş dolayısıyla mitotik aktivite incelemeleri için yeterli uzunlukta kök sağlanamamıştır. Mikrobesein elementi olsun veya olmasın ağır metallerin bitkide aşırı birikimi fizyolojik strese, büyüme ve gelişmede azalmaya sebep olur [13]. Bitki dokularında ağır metal birikimi fazla olursa mineral besin alımı [14], transpirasyon [15], fotosentez [16], enzim aktivitesi [17], klorofil biyosentezi [18] ve çimlenme [19] gibi çok sayıda olay olumsuz yönde etkilenir. Bunlara membranlarda hasar [20], hormon dengesinin bozulması, su ilişkisinin değişmesi gibi fizyolojik olaylar da eklenebilir. Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgulara göre Pb, Cu, Cd ve Hg' nın klor tuzları fasulye fidelerinin sitokinin düzeylerinde önemli oranlarda azalışlara yol açmıştır. Genel olarak en büyük toksik etkiyi cıva göstermiş, cıvayı sırayla kadmiyum, bakır ve kurşun izlemiştir [21]. Cıva, çinko, kadmiyum ve bakır gibi ağır metallerin, tohumların çimlenmesi esnasında amilaz ve peroksidaz izoenzimlerinin sayısını arttırdığı, tohumların çimlenme yüzdesini ise azalttığı belirlenmiştir [22]. Bununla beraber, cıvalı bileşiklerin DNA replikasyonunu engelleyebileceği [23], kromlu bileşiklerin ise kromatid kırılmalarına yol açtığı gösterilmiştir [24]. Ayrıca cıvanın bir inhibitör gibi görev yaparak normal hücre bölünmesi için gerekli proteinlerin sentezini engellediği ve bu şekilde hücrelerde mitotik gecikmelere sebep olduğu belirtilmiştir [25].

Bu çalışmadan elde edilen bulgular sarımsağın cıva kirliliğine toleranslı bir bitki olmadığını ortaya koymaktadır. Çalışılmış diğer bitki türlerinde olduğu gibi cıvanın önemli bir tarım bitkisi olan sarımsakta çimlenme ve kök büyümesini engellediği, mitotik indeksi azalttığı ve çeşitli mitotik anormalliklere sebep olduğu görülmektedir.

#### Kaynaklar

1. Güven A., Kahvecioğlu Ö., Kartal G., Timur S. 2004. Metallerin Çevresel Etkileri-III, TMMOB Metalurji Mühendisleri Odası, Metalurji Dergisi, 138: 64-71.
2. Robinson J.B., Tuovinen O.H. 1984. Mechanism of microbial resistance and detoxification of mercury and organo mercury compound, *Physiol, Biochem, and Gen Anal Microbiol Rev.*, 48: 95-124.
3. Salt D. E., Blaylock M., Kumar N.P., Dushenkov A., Ensley V., Chet B.D., Raskin I. 1995. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants, *Biotechnol*, 13: 468-474.
4. Hall J.L. 2000. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance, *J. Exp. Bot.*, 53: 1-11.
5. Schützendubel A., Polle A. 2002. Plants responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization, *J. Exp. Bot.*, 53: 1351-1365.
6. Gadd G. M., White C. 1989. Heavy metal and radionuclide accumulation and toxicity in fungi and yeasts. In: *Metal Microbe Interactions* (eds) R. K. Poole and G. M. IRL press, 19-38.
7. Levan A. 1971. Cytogenetic effects of hexyl mercuri bromide in the *Allium* test, *J. Ind. Bot. Soc.*, 50: 340-349.
8. Mukherji S., Ganguly G. 1974. Toxic effects of mercury in germinating rice (*Oryza sativa* L.) seeds and their reversal, *Ind. J. Exp. Biol.*, 12: 432-434.
9. Manomita P., Bhowmik N., Bandopadhyay Bulbul., Sharma A. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance, *Environ and Experi Bot.*, 52: 199-223.

10. Zengin F. K., Munzuroglu Ö. 2005. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seedlings, *Acta biologica cracovi seri botanica*, 47(2): 157–164.
11. Sharma A. K., Sharma A. 1982. “Chromosome Techniques-Theory and Practice, second ed”, Baltimore, MD, University Park Press, 575.
12. Jiang W., Liu D. 2000. “Effects of Pb<sup>2+</sup> on root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays* L.”, *Bull. Environ. Conta, Toxicol*, 65: 786-793.
13. Ouzounidou G. 1994. “Copper Induced Changes on Growth, Metal Content and Photosynthetic Functions of *Alyssum montanum* L.Plants” *Environmental and Experimental Botany*, 34: 165-172.
14. Ouzounidou G., Eleftheriou E.P., Karataglis S. 1992. “Ecophysical and Ultrastructural Effects of Copper in *Thlaspi ochroleucum*”, *Canadian Journal of Botany*, 70: 947-957.
15. Poschenrieder C.H., Gunse B., Barcelo J. 1989. “Influence of Cadmium on Water Relations, Stomatal Resistance and Abscisic Acid Content in Expanding Bean Leaves” *Plant Physiology*.
16. Lidon F.C., Ramalho J., Henriques F.S. 1993. “Copper Inhibition of Rice Photosynthesis” *Journal of Plant Physiology*, 142: 12-17.
17. Van Assche, F., Ceulemans R., Clijsters H. 1980. “Zinc Mediated Effects on Leaf CO<sub>2</sub> Diffusion Conductance and Net Photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L.” *Photosynthesis Research*, 1: 171-180.
18. Lidon F.C., Henriques F.S. 1991. “Limiting Step on Photosynthesis of Rice Plants Treated With Varying Copper Levels” *Journal of Plant Physiology*, 138: 115-118.
19. Munzuroglu Ö., Geçkil H. 2002. “Effects of Metals on Seed Germination, Root Elongation and Coleoptile and Hypocotyl Growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*” *Environmental Contamination and Toxicology*, 43: 203-213.
20. Kennedy C.D., Gonsalves F.A.N. 1987. “The Action of Divalent Zinc, Cadmium, Mercury, Copper and Lead on the Trans-Root Potential and Efflux of Excised Roots, *Journal of Experimental Botany*, 38: 800-817.
21. Zengin F.K., Munzuroğlu Ö. 2004. Fasulye Fidelerindeki (*Phaseolus vulgaris* cv. Strike) Sitokin İçeriği Üzerine Ağır Metallerin (Hg<sup>++</sup>, Cd<sup>++</sup>, Cu<sup>++</sup> ve Pb<sup>++</sup>) Etkileri., *Doğu Anadolu Araştırmaları (Research of Eastern Anatolia Region)*, 2 (2): 48-54.
22. Ayaz F. A., Kadioğlu A. 1996. The Effect of Heavy Metals on the Isoenzymes of Amylase and peroxidase during Germination of Lentil (*Lens esculanta* L.) Seeds, *Tr. J. Botany*, 20: 503-506.
23. De Flora S., Bennicelli C., Bagnasco M. 1994. Genotoxicity of Mercury Compounds. A Review, *Mutat Res.*, 317: 57-79.
24. Klasterska I., Natarajan A. T., Ramel C. 1976. An Interperation of the Origin of Subchromatid Aberrations and Chromosome Stickiness as a Catogory of Chromatid Aberrations, *Hereditas*, 83: 153-162.
25. Nandi S. 1985. Studies on the Cytogenetic Effect of Some Mercuric Fungicides, *Cytologica*, 50: 921-926.