

Titanyum Dioksit Nanopartikülünün Buğday Çimlenmesine Etkisi

^{1*}Zeynep Görkem Doğaroğlu ve ¹Nurcan Köleli

¹Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 33342 Mersin-TÜRKİYE

Özet:

Titanyum dioksit nanopartiküllerinin birçok alanda yaygın kullanımı çevresel kirliliğe sebep olmaktadır. Bu çalışmanın amacı 30 nm boyutundaki TiO₂ nanopartiküllerinin tohum çimlenmesine ve kök-gövde boy uzamasına etkilerini araştırmaktır. Buğdayın Türkiye’de yaygın yetiştirilen bir bitki türü olması, bu bitkinin model bitki olarak seçilmesine sebep olmuştur. Araştırmada farklı dozda TiO₂ nanopartiküllerinin tohum çimlenmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Deneyler, 10 adet tohum 10 cm boyutundaki petri kaplarına yerleştirilerek gerçekleştirilmiştir. Filtre kağıtları petri kaplarına uygun ölçülerde kesilmiş, iki kat filtre kağıdı petri kaplarına yerleştirilmiş ve 5 mL TiO₂ nanopartikül süspansiyonlarından eklenmiştir. Aynı boyutlarda seçilen 10 adet tohum petri kaplarına yerleştirilmiş ve farklı konsantrasyonlardaki (0 (kontrol), 5, 10, 20, 40 ve 80 mg/L) TiO₂ nanopartikül süspansiyonlarına maruz bırakılmıştır. Petri kapları 25 °C’de karanlık ortamda 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu çalışmada tohum çimlenme yüzdesi ve kök-gövde boy ölçümü olmak üzere iki parametre çalışılmıştır. Elde edilen bulgulara göre 10 mg/L TiO₂ ve üstü derişimlerde buğday bitkisinin kök uzamasını artırdığı ve 20 mg/L TiO₂ ve üstü derişimlerde ise ortalama gövde uzamasının artırdığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler : TiO₂, nanopartikül, buğday, tohum çimlenmesi, kök-gövde uzunlukları

Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on Seed Germination of Wheat

¹Zeynep Görkem Dogaroglu and ¹Nurcan Koleli

¹Mersin University, Faculty of Engineering, Department of Environmental Engineering, 33342 Mersin-TURKEY

Abstract:

Widespread use of titanium dioxide nanoparticles (nTiO₂) in various fields causes environment contamination. The aim of this study was to examine the effects of TiO₂ nanoparticles in 30 nm mean particle size on seed germination and root-stem length. In view of the widespread cultivation of wheat in Turkey cause of plant was chosen as model plant. Experiments were performed using 10 seeds in 10 cm petri-dishes. Filter paper cut to fit regular petri-dishes were used as inert material. A double-layer of filter paper was placed in the petri-dish and 5 mL nTiO₂ suspensions were added. Ten wheat seeds were placed in every petri-dishes and were separately treated with different concentrations (0 (control), 5, 10, 20, 40 and 80 mg/L) of nTiO₂ suspensions. The petri-dishes were incubated at 25°C in the dark conditions during 7 days. In this study, two parameters were performed: seed germination percentage and root-stem length. Results obtained showed that increasing the root and shoot growth of wheat plant determined at 10 mg/L TiO₂ and above concentrations and at 20 mg/L TiO₂ and above concentrations, respectively.

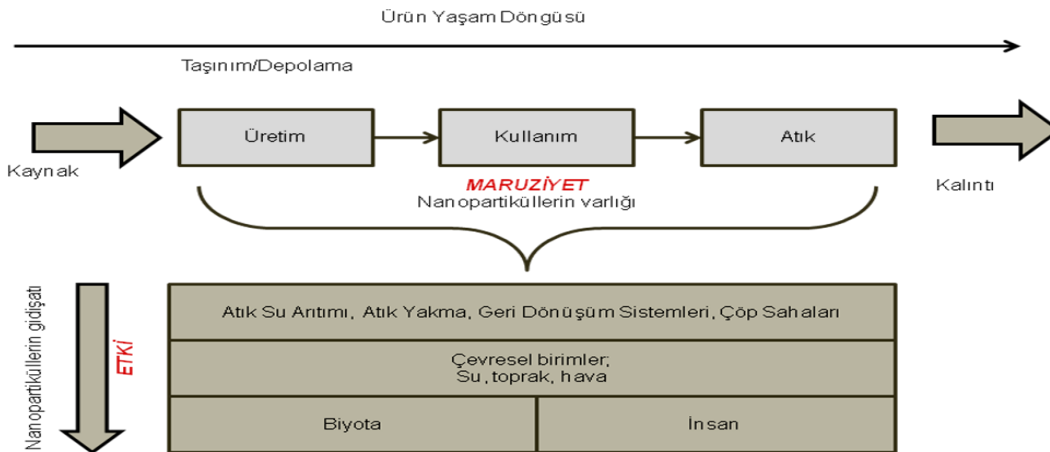
Key Words: TiO₂, nanoparticles, wheat, seed germination, root-stem length

1. Giriş

Nanopartiküller, boyutları 100 nm veya daha küçük, tek boyutlu taneciklerdir. Bu yapılar çevrede doğal olarak bulunabildikleri gibi artık günümüzde oldukça yaygın bir şekilde mühendislik üretimi olarak da bulunabilmektedirler. Nanoteknolojinin gelişimi ile ortaya çıkan bir terim olan nanotoksikoloji, dikkat çeken bir araştırma alanı olmuştur. Mühendislik üretimi olarak doğaya salınan bu nanopartiküllerin, insanlar, bitkiler ve hayvanlar üzerine olumsuz etkilere sebep olduğu yapılmış birçok çalışmada kanıtlanmıştır [1-4]. Bu zararlı etkiler temas süresine bağlı olduğu kadar, nanopartikülün derişimine, temas süresine, şekline ve boyutuna da bağlı olduğu bilinmekle birlikte henüz etki mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir. Özellikle boyut ve derişim faktörü nanopartiküllerin etkilerinin değerlendirilmesi açısından oldukça önemlidir. Örneğin 7 nm ve 25 nm seryum dioksit nanopartikülü ile yapılan bir çalışmada salatalık bitkisinin 7 nm boyutundaki nanopartikülü daha kolay ve çok aldığı belirlenmiştir [5]. Yapılan bir çalışmada Pd, Au, Si, Cu nanopartiküllerinin düşük ve yüksek derişimlerde marul tohumlarının kök-gövde boy ölçümleri alınarak çimlenmesine etkisi araştırılmıştır. 15. günde bitki büyümesinde önemli artışın olduğu belirlenmiş ve bunun sebebinin nanopartiküllerin bitki büyümesine direkt bir mekanizma ile değil de dolaylı mekanizma ile etki etmesinin olabileceği vurgulanmıştır [6].

Bugüne kadar sınırlı sayıda nanopartikül türü ve belirli bitki türleri, nanopartiküllerin etkilerinin araştırıldığı çalışmalara konu olmuşlardır. Bu çalışmaların birçoğu da bitkilerin büyüme evrelerinde iken yapılmış araştırmalardır [7]. Bitkiler, nanopartiküller ile çevre arasındaki bağlantıyı sağlayan ve oldukça büyük paya sahip bir ara birimdir. Bu nedenle nanopartiküllerin insan ve hayvanlar üzerine olası etkilerinin belirlenmesinde ve bu partiküllerin besin zincirine geçip geçmediğinin belirlenmesi için yapılan araştırmalarda oldukça yaygın olarak bitkiler kullanılmaktadır. Bitkiler nanopartikülleri yapılarına alabilirler, bünyelerinde taşıyabilirler ve bazı aksamalarında biriktirebilirler. Her nanopartikülün her bitkiye etkisi farklıdır. Nanopartiküllerin etkileri negatif yönde olabileceği gibi pozitif etkilerinin de görüldüğü hatta hiçbir etkinin gözlenmediği de yapılan literatür araştırmalarında görülmüştür. Örneğin ZnO ve CeO₂ nanopartikülü soya fasulyesinin çimlenmesine herhangi bir etki göstermez iken bitkinin diğer büyüme evrelerinde CeO₂ nanopartikülüne maruz bırakıldığında genotoksik etki belirlendiği rapor edilmiştir [8].

Günümüzde tekstil, kozmetik, ilaç, otomotiv ve savunma sanayi dahil olmak üzere pek çok alanda mühendislik üretimi nanopartiküllerin kullanımı söz konusudur. Nanopartiküllerin üretimden atığa kadar geçirdiği süreçler ve etki ettiği çevresel alanlar nanopartiküllerin yaşam döngüsü olarak Şekil 1’de genel bir bakış açısıyla gösterilmiştir.



Şekil 1. Nanopartiküllerin üretimden atığa kadar geçirdiği süreçler ve etki ettiği çevresel alanlar [9]

Kullanım alanı gün geçtikçe artan ve su döngüsü başta olmak üzere çeşitli döngülerle ekosisteme katılan nanopartiküllerin çevreye olan etkileri tam olarak bilinmemektedir. Nanopartiküller sucul, karasal ve atmosferik ortamda bulunabilmektedirler. Nanopartiküllerin bitkiler tarafından alınarak besin zincirine katılması ve bunun sonucunda canlılar üzerinde oluşabilecek etkilerin ne olduğu henüz net olarak bilinmemektedir. Çevresel etkileri tam olarak bilinmeyen nanopartiküllerin bitkilerle olan etkileşimleri, insan ve çevre sağlığı açısından olası risklerin belirlenmesinde önem arz etmektedir.

Endüstride özellikle de kozmetikte çok yaygın kullanım alanına sahip olan TiO_2 nanopartiküllerinin çevreye salınımı ve dolayısı ile olası etkileri merak konusudur. Bu konuda yapılmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çok düşük çözünürlüğe veya bozunabilirliğe sahip olan titanyumdioksit (TiO_2), titanyumdioksit gümüş (TiO_2Ag) ve çinko oksit (ZnO) gibi mühendislik üretimi nanopartiküller, bitkiler tarafından alım ve bitki bünyesinde birikim sonucu, besin zincirine girmekte ve toksik etkilere sebep olmaktadır. TiO_2 nanopartikülünün yüksek stabilitesinden dolayı bu partiküle maruz kalmış bitkiler tarafından özümsemesi de oldukça zor bir prosestir. Bu, TiO_2 nanopartikülünün bitkiler tarafından alım çalışmalarının sınırlı sayıda olmasına bir sebep olabilmektedir [7]. Literatürde nanopartiküllerin fitotoksitesisi, potansiyel alımı ve daha sonrasında besin zincirindeki gidişatı üzerine yapılan çalışmalar oldukça azdır. Yapılan sınırlı sayıda çalışmaları artırmak ve konuya açıklık getirmek için daha fazla ve detaylı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılan bu çalışmanın amacı 30 nm partikül boyutundaki TiO_2 nanopartikülünün buğday bitkisinin çimlenmesine ve bitki kök ve gövde uzunluklarına etkisinin belirlenmesidir. Buğdayın Türkiye’de yaygın yetiştirilen bir bitki türü olması, bu bitkinin model bitki olarak seçilmesine sebep olmuştur. Ayrıca buğdayın insanlar tarafından yoğun olarak tüketilen bir bitki olması nedeniyle TiO_2 nanopartikülünün besin zincirine geçip geçmediği de belirlenmiş olacaktır. Öncelikle TiO_2 nanopartiküllerinin tohum çimlenmesi üzerine etkisi belirlenmiştir. Tohum çimlenmesi ve kök uzaması hızlı sonuç verdiği için toksisite testlerinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca hassas, laboratuvar koşullarında uygulanabilir ve düşük maliyetli olması da tercih sebebidir.

2. Materyal ve Metod

Bu çalışmada farklı derişimlerdeki ortalama boyutu 30 nm olan TiO_2 nanopartikülleri içeren süspansiyonların, standart sertifikalı buğday tohumlarının çimlenmesine ve kök-gövde boy uzamasına etkisi araştırılmıştır. Deneyler, petri kutularına uygun ölçülerde filtre kağıtları kesilerek ve üzerlerine aynı boyutlarda olmasına özen gösterilen 10’ar adet buğday tohumu yerleştirilerek gerçekleştirilmiştir. Her bir petri kutusuna farklı derişimlerde (5, 10, 20, 40 ve 80 mg/L) TiO_2 süspansiyonlarından 5’er mL eklenmiştir. Kontrol grubuna ise 5 mL saf su ilave edilmiştir. Örnekler, petri kutularının kapağı kapatılarak 7 gün boyunca karanlık ortamda $25^\circ C$ sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. 7 gün sonunda maksimum çimlenme gözlenmiş ve her bir petri kutusu içerisindeki çimlenen tohum sayısı belirlenerek çimlenme oranı tespit edilmiştir.

Çimlenme oranının belirlenmesinin ardından her bir petri kutusundan seçilen ortalama büyüklükteki 5 bitki seçilmiştir. Seçilen bu bitkilerin ayrı ayrı kök ve gövde uzunlukları milimetrik kağıt kullanılarak belirlenmiş ve ortalamaları alınmıştır. Deneyler iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada iki parametre göz önüne alınmıştır; çimlenme oranı ve kök-gövde boy uzunlukları.

3. Bulgular

İki paralel olarak yapılan çalışmada, farklı TiO₂ derişimlerinde buğday tohumlarının çimlenme oranları, kök ve gövde uzunlukları ve kök sayıları belirlenmiştir. Çimlenme sayıları ve uygulama dozları Tablo 1 de verilmiştir. Buradan da görüldüğü gibi kontrole kıyasla farklı TiO₂ derişimlerinde buğday tohumu çimlenme oranlarında büyük farklılıklar bulunmamaktadır. 10 ve 20 mg/L TiO₂ süspansiyonu uygulamalarında kontrole göre diğer doz uygulamalarından daha düşük bir çimlenme oranı belirlenmiştir.

Tablo 1. 7. günde 10 adet buğday tohumunun çimlenme sayısına TiO₂ nanopartikülünün etkisi

nTiO ₂ Uygulaması (mg/L)	Çimlenen tohum sayısı
0 (KONTROL)	9
5	8
10	7
20	7
40	8
80	9

Çimlenme oranlarının belirlenmesinin ardından her bir petri kutusundan seçilen ortalama büyüklükteki 5 bitkinin kök ve gövde uzunlukları ve her bir bitkinin kök sayıları ayrı ayrı belirlenmiştir. Farklı derişimlerdeki TiO₂ süspansiyonlarının buğday bitkisinin kök ve gövde uzunluklarında ve kök sayılarında gösterdiği değişiklikler Tablo 2 'de verilmiştir. Tablodan da anlaşıldığı gibi kök sayılarında TiO₂ derişimlerinin herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Bunun yanında kök ve gövde uzunluklarında ise 5 mg/L derişiminin kontrol ile aynı olduğu hiçbir etkinin olmadığı belirlenmiştir. 10, 20, 40 ve 80 mg/L derişimlerinde kök uzunluklarında kontrole kıyasla artışın olduğu saptanmıştır. Ortalama gövde uzunluklarına bakıldığında 5 ve 10 mg/L TiO₂ derişimlerinde kontrole kıyasla neredeyse yok denecek kadar az bir azalış görülürken, 20, 40 ve 80 mg/L TiO₂ derişimlerinde kontrole kıyasla artışın olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. TiO₂ nanopartikülünün buğday bitkisinin kök ve gövde boy uzunlukları ve kök sayısına etkisi

nTiO ₂ Uygulaması (mg/L)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm)	Ortalama Kök Sayısı
Kontrol	11	8.3	4
5	11	8.2	4
10	12	8.1	4
20	12.8	9.8	4
40	13.4	8.8	4
80	11.8	9.2	4

Sonuçlara bakıldığında TiO₂ nanopartikülünün buğday bitkisinin kök uzamasına 10 mg/L ve TiO₂ daha üstü derişiminden sonra ve ortalama gövde uzamasına ise 20 mg/L TiO₂ ve üstü derişiminden sonra pozitif etkisinin olduğu belirlenmiştir.

4. Tartışma

Nanotoksikoloji günümüzde oldukça dikkat çeken bir konu haline gelmiştir. SWCNT, fulleren ve TiO₂ gibi bazı nanopartiküller, nanopartiküllerin nanotoksosite mekanizmalarını açığa çıkarmak için oldukça yaygın bir şekilde kullanılan test materyalleridir [2]. Tohum çimlenmesi ve kök uzaması, akut fitotoksosite testi olarak yaygın bir şekilde kullanılan ve hızlı sonuç veren yöntemlerdir. Ayrıca bu yöntemlerin, hassaslık, basitlik, düşük maliyet ve stabil olmayan kimyasal ve örnekler için uygunluk gibi birçok avantajı da bulunmaktadır [10, 11]. Bitkilerin tohum çimlenmesinde önemli bir faktör olan tohum kabuğu, seçici-geçirgen bir yapıya sahiptir. Bu nedenle nanopartiküllerin etki göstermeleri tohum içerisine girmeleri ile gerçekleşebilmektedir. Diğer taraftan nanopartiküller tohum kabuğundan içeri giremedikleri durumlarda çimlenmenin ardından gelen büyüme evrelerinde, kök-gövde boy artışına veya inhibisyonuna sebep olabilmektedirler. Ayrıca nanopartiküllerin bitkiye etki mekanizmalarında en önemli faktörlerden bir tanesi bitki hücresinin por genişliğidir. Dolayısı ile nanopartikül boyutu burada önem arz etmektedir. Bunun yanında hücre basıncı, dış basınç ve bitki kök enzimleri gibi faktörler de rol oynamaktadır.

Yapılan bu çalışmada farklı derişimlerdeki 30 nm boyutundaki TiO₂ nanopartiküllerinin buğday bitkisi üzerine olası etkileri araştırılmıştır. Buğday bitkisinin çimlenme oranına etkisi, kök ve gövde boy uzunlukları ve kök sayısına etkisi belirlenmiştir. Sonuçta 30 nm boyutundaki TiO₂ nanopartikülünün uygulama derişimlerinde buğday çimlenmesine büyük bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Çimlenmiş olan buğday bitkilerinin kök ve gövde boylarında yüksek derişimlerde artışın olduğu, kök sayılarında ise herhangi bir derişimin olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte yapılan bir araştırmada 0, 50 ve 100 mg/L derişimlerine kıyasla 100 mg/L TiO₂ (rutil 36 nm) derişiminde buğday tohumu çimlenme oranının artış gösterdiği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada kök boyunun 50 ve 100 mg/L TiO₂ derişimlerinde (anataz 14 nm veya rutil 22 nm) %50 den daha fazla artış gösterdiği belirtilmiştir [12]. Benzer bir çalışmada TiO₂ (rutil) nanopartiküllerinin ıspanak tohumunun çimlenmesine ve bitki büyümesine pozitif etkileri olduğu rapor edilmiştir [13].

Ayrıca sudaki çözünürlüğü düşük veya çok zor olan nanopartiküller için bitki agar testinin nanopartiküllerin toksisitesinin belirlenmesinde oldukça iyi bir yöntem olduğu yapılan bir çalışmada vurgulanmıştır [14].

5. Sonuç

Nanopartiküllerin endüstriyel uygulamaları ve bunların çevresel sonuçları henüz yeni yeni araştırılan bir alandır. Bu çalışmada 30 nm partikül boyutundaki TiO₂ nanopartiküllerinin buğday çimlenmesine, çimlenmiş buğday bitkilerinin kök ve gövde uzunluklarına etkisi belirlenmiştir. Çimlenme oranlarında herhangi bir etki gözlenmezken yüksek derişimlerde kök ve gövde boylarında kontrole kıyasla artış olduğu belirlenmiştir. Son yıllarda yaygın olarak kullanılan TiO₂ nanopartiküllerinin çevrede artması durumunda bitkilerde fitotoksitesi, fizyolojik etkileri, alımı, taşınımı ve birikimi, detoksifikasyonu ve toleransını içeren temel mekanizmaların anlaşılması, TiO₂ kirlenmiş alanların fitoremediasyonu için oldukça önemlidir. Bu nedenle gelecekte yapılacak araştırmalar, nanomalzemelerin alımı, taşınımı ve birikimi, detoksifikasyonu ve toleransını içeren temel mekanizmaların anlaşılmasına odaklanmalıdır.

Teşekkür

Nanomalzemenin hazırlanmasında ve temininde katkı sağlayan Dr. Birol Karakaya'ya teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- [1] Kumari M, Khan SS, Pakrashi S, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*. Journal of Hazardous Materials 2011;190:613–621.
- [2] Lin D, Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution 2007;150:243-250.
- [3] Lin D, Xing B. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. Environ. Sci. Technol., 2008;42:5580-5585.
- [4] Demir E, Kaya N, Kaya B. Genotoxic effects of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles on root meristem cells of *Allium cepa* by comet assay. Turkish Journal of Biology 2014;38: 31-39.
- [5] Zhang Z, He X, Zhang H, Ma Y, Zhang P, Ding Y, Zhao Y. Uptake and distribution of ceria nanoparticles in cucumber plants. Metallomics, 2011; 3:816-822.
- [6] Shah V, Belozerova I. Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds. Water Air Soil Pollut. 2009;197:143-148.
- [7] Rico CM, Majumdar S, Duarte-Gardea M, Peralta-Videa JR, Gardea-Torresdey JL. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. J. Agric. Food Chem., 2011;59(8):3485–3498.
- [8] Lopez- Moreno ML, Rosa GDL, Hernandez-Viezas J, Castillo-Michel H, Botez C, Peralta-Videa J, Gardea-Torresdey J. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. Environ. Sci. Technol. 2010;44:7315–7320.
- [9] Som C, Wick P, Krug H, Nowack B. Environmental and health effects of nanomaterials in nanotextiles and façade coatings. Environment International 2011;37:1131–1142.
- [10] Munzuroglu O, Geckil H. Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2002;43:203-213.
- [11] Wang XD, Sun C, Gao SX, Wang LS, Han SK. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus*. Chemosphere 2001;44: 1711-1721.
- [12] Larue C, Laurette J, Herlin-Boime N, Khodja H, Fayard B, Flank AM, Brisset F, Carriere M. Accumulation, translocation and impact of TiO₂ nanoparticles in wheat (*Triticum aestivum* spp.): Influence of diameter and crystal phase. Science of the Total Environment 2012;431:197–208.
- [13] Zheng L, Hong F, Lu S, Liu C. Effect of nano-TiO₂ on strenght of naturally aged seeds and growth of spinach. Biological Trace Element Research 2005;104.
- [14] Lee W-M, An Y-J, Yoon H, Kweon H-S. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus Radiatus*) and wheat (*Triticum Aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. Environmental Toxicology and Chemistry 2008; 27:1915-1921.