

MgO Nanopartiküllerinin *Drosophila melanogaster* Üzerindeki Davranışsal Toksisitesinin Değerlendirilmesi

Ayşen Yağmur KURŞUN¹, Burçin YALÇIN¹, Merve GÜNEŞ¹, Ghada TAGORTİ¹, Bülent KAYA¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya.

Sorumlu Yazar, e-posta: bkaya@akdeniz.edu.tr

e-posta: yagmurrayenkursun@gmail.com

e-posta: byalcin@ogr.akdeniz.edu.tr

e-posta: mgunes@ogr.akdeniz.edu.tr

e-posta: tagortig@gmail.com

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-0491-9781>

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1657-6808>

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-9694-5839>

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3278-0542>

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-4597-8320>

Geliş Tarihi: 03.05.2021

Kabul Tarihi: 23.12.2021

Öz

Günümüzde nanopartiküllerin üstün fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesinden sonra nanopartiküller ve nanoteknolojiye olan ilgi de hızlı bir şekilde artmış ve kullanım alanları da yaygınlaşmıştır. Üç fiziksel boyutundan en az biri 1-100 nm aralığında olan ve belirli nano-ölçekli özellikler gösterebilen maddeler olarak tanımlanan nanopartiküller, tıp, elektronik, kozmetik, çevresel temizlik gibi birçok farklı alanda yaygın kullanım alanına sahiptir. Bu yaygın kullanımdan dolayı insanların da nanopartiküllere olan maruziyeti gün geçtikçe artmaktadır. Ayrıca nanopartiküllerin çevreye yayılması doğada ki birçok canlı için risk oluşturmaktadır. Bu sebeple de nanopartiküllerin yol açabileceği olumlu/olumsuz biyolojik etkilerin anlaşılabilmesi için yapılan çalışmalar da hız kazanmıştır. Bu bağlamda yapılan çalışmada MgO nanopartiküllerinin farklı konsantrasyonlarının (2, 5 ve 10 mM) *Drosophila melanogaster* üzerindeki davranışsal toksisiteye etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Davranışsal toksisitenin belirlenmesinde larval ağırlık ve hareketi, ergin birey ağırlığı, pupa oluşturma başarısı, pupa pozisyonu, pupadan çıkış başarısı, negatif jeotaksis ve ömür uzunluğu deneyleri gerçekleştirilerek değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda MgO NP'lerinin genel olarak *Drosophila melanogaster*'da negatif bir etkiye neden olduğu tespit edilmiştir. Larval hareketin incelendiği deney kapsamında çalışma kapsamında en yüksek doz olarak belirlenen 10 mM'lık derişimin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler

Davranışsal Toksisite;
Magnezyum oksit
nanopartikül; Negatif
Jeotaksis; Ömür
Uzunluğu

Behavioral Toxicity Evaluation of MgO Nanoparticles on *Drosophila melanogaster*

Abstract

Nowadays, after the determination of the superior physicochemical properties of nanoparticles, interest in nanoparticles and nanotechnology has increased rapidly and their usage areas have become widespread. Nanoparticles, which are defined as substances that have at least one of their three physical dimensions in the range of 1-100 nm and can show certain nanoscale properties, have a widespread use in many different fields such as medicine, electronics, cosmetics, environmental cleaning. Due to this widespread use, the exposure of humans to nanoparticles is increasing day by day. In addition, the spread of nanoparticles into the environment poses a risk to many living things in nature. For this reason, studies to understand the positive / negative biological effects that nanoparticles can cause have also gained momentum. In this context, it was aimed to investigate the effect of different concentrations of MgO nanoparticles (2, 5 and 10 mM) on behavioral toxicity on *Drosophila melanogaster*. In determining behavioral toxicity, larval weight and movement, adult weight, pupa formation success, pupal position, exit success, negative geotaxis and longevity tests were performed and evaluated. As a result of the study, it was determined that MgO NPs generally cause a negative effect on *Drosophila melanogaster*. Within the scope of the experiment in which the larval movement was examined, it was determined that the concentration of 10 mM, which was determined as the highest dose within the scope of the study, caused a statistically significant decrease.

Keywords

Behavioral Toxicity;
Magnesium oxide
nanoparticle; Negative
geotaxis; Life span

1. Giriş

“Nanoteknoloji” terimi Nobel ödüllü bilim insanı Richard P. Feynman tarafından sunulduğu andan itibaren bir araştırma alanı olarak tanımlanmıştır ve günümüzde de kullanılmaktadır (Khan *et al.* 2019, Feynman 1960). Bu gelişmeyi takiben bu alanda yapılan araştırmalar ile nano ölçek düzeyinde malzemeler üretilerek çok önemli aşamaya geçilmiştir (Khan *et al.* 2019). Nanopartiküller (NP’ler) olarak tanımlanan bu malzemeler, en az bir boyutu 100 nm’den küçük olan partikül maddeleri içeren geniş bir malzeme sınıfı olarak tanımlanmıştır (Laurent *et al.* 2008).

Nanopartiküller farklı kriterlere göre sınıflandırılabilirler. Bunlar; kökenlerine göre; doğal ve antropojenik, boyutlarına göre; 1-10 nm, 10-100 nm ve 100 nm’den büyük olanlar ve kimyasal bileşenlerine göre; inorganik maddeler, organik maddeler ve elementler şeklindedir (Strambeanu *et al.* 2015). NP’ler laboratuvar koşullarında sentetik olarak üretilmesinin yanı sıra doğal olaylar sonucunda da meydana gelebilmektedir. NP’lerin doğal kaynakları arasında volkanik kül, çöl tozları, aerosoller örnek olarak verilebilmektedir (Strambeanu *et al.* 2015, Bernhardt *et al.* 2010). Amerikan Çevre Koruma Örgütü (USEPA)’ya göre NP’ler 4 farklı başlık altında toplanmaktadır. Bunlar; karbon bazlı NP’ler, metal bazlı NP’ler, dendrimerler ve nanokompozitlerdir. Metal bazlı nanomateriyaller kuantum noktaları, nano altın, nano gümüş ve titanyum dioksit gibi metal oksitleri bulundurmaktadır (USEPA 2007).

NP’lerin çok farklı çeşitte ve boyutta bulunabilmeleri sayesinde ilaçların farmakolojik ve terapötik etkilerini geliştirme, moleküler görüntüleme, ilaç dağıtımı ve ayrıca NP’lerin yüzeylerine bağlanabilecek fonksiyonel gruplar sayesinde tümörlerle mücadele için yeni yöntemler olmak üzere çeşitli alanlarda sıklıkla kullanılmaktadırlar (Krishna *et al.* 2017). Hem doğal hem de antropojenik kökenli NP’ler, farklı çevresel matrislerde (hava, su, çamur, tortu ve toprak), olası birikimle (özellikle toprakta, çamurda ve su havzalarında) bulunabilmektedirler. Bitkiler kökleri, gövdeleri ve yaprakları ile çevresel matrislerle doğrudan etkileşime girerek diğer canlı

organizmalara kıyasla NP kontaminasyonundan daha fazla etkilenebilmektedirler (Giorgetti 2019). İnsanların özellikle metal bazlı NP’lere olan maruziyeti, NP’lerin doğal olarak ortaya çıktıkları su, hava ve NP’lerle kontamine olmuş gıda ürünlerinde bir kirletici madde olarak bulunmaları veya antropojenik faktörlerdeki giderek artan aktivite nedeniyle önemli ölçüde artmaktadır (Mahmoud *et al.* 2016).

Organizmalar NP’leri farklı şekillerde bünyelerine alabilir ve bu şekilde NP’ler etkilerini gösterebilir, fakat bu durumu belirleyen kriterler NP’ün yüzey kaplaması, boyutu ve yapısı gibi faktörlerdir (Baker *et al.* 2014, Bhatt and Tripathi 2011). NP’lerin insanlarda solunum, sindirim veya deri yoluyla kan dolaşımına geçebileceğini ve daha sonra beyin, kalp ve karaciğer gibi ikincil organlara ulaşabileceği gösterilmiştir (Elsaesser and Howard 2012). NP hücre zarına etki ederek, hücrenin porlarını ve zar fonksiyonlarını bloke edebilir (Nabika and Unoura 2016). Ayrıca, NP’in hücreye endositoz yoluyla, porlardan difüzyon yoluyla veya iyon taşıma sistemlerini kullanarak da girişleri mümkündür. NP hücreye girdikten sonra, elektron taşıma süreçlerine müdahale edebilir veya organel işlevlerini bozarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden olabilirler. Hücrede ROS üretimi ise nükleik asit hasarı, protein oksidasyonu veya hücre membran yapısının bozulması gibi zararlı etkilere neden olabilir (Baker *et al.* 2014). Literatürde NP’ye maruziyetin organizmada farklı davranışsal bozukluklara neden olduğunu gösteren çeşitli çalışmaları görmek mümkündür (Chen *et al.* 2020, Asmonaite *et al.* 2016, Li *et al.* 2014). Fakat bu konunun daha iyi anlaşılabilmesi için farklı model organizmalarla daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Ayrıca literatüre bakıldığında MgO NP’lerin toksikolojik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar kısıtlı olduğundan bu NP’lerin güvenilirliği hakkında kapsamlı değerlendirmeler yapılamamaktadır (Mahmoud *et al.* 2016). Bu nedenle çalışmamız bu konunun daha net değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır.

MgO NP’leri ise gıda katkı maddeleri (E530), seramik malzemeler, korozyon önleyici olarak, katalizör, redaktör, petrokimya ürünlerinin sentezinde, biyomoleküler teşhis ve tedavi gibi çeşitli alanlarda

kullanılmaktadır (Mangalampalli *et al.* 2018a, Alqahtani and Alomar 2016, Mahmoud *et al.* 2016). Ayrıca, MgO NP'leri, diğer birçok farklı inorganik metal oksitler arasında elde edilmesi nispeten kolay olan antibakteriyel bir ajandır (Cai *et al.* 2018).

Çalışma kapsamında çok çeşitli alanlarda kullanılmakta olan MgO NP'lerinin 2, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonlarının *Drosophila melanogaster* larvalarındaki gelişim, ömür uzunluğu ve lokomotor aktivitelerine olan etkisi incelenmiştir.

2. Materyal ve Metot

Tüm deneylerde *Drosophila* Oregon R+ hattından 8 saatlik yumurtalar toplanmıştır. Toplanan yumurtalar 72±4 saatlik (3. larval evre) olduklarında MgO NP'lerinin 3 farklı konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Maruziyet, 72±4 saatlik larvaların yaklaşık 4.5 gramı kuru halde bulunan *Drosophila* hazır besininin (*Drosophila* Instant Medium) MgO NP'lerinin farklı konsantrasyonlarının 9 ml'si ile ıslatılmasıyla oluşan besin ortamına aktarılması ile gerçekleştirilmiştir. Her konsantrasyon 3 tekrarlı olacak şekilde deneyler planlanmıştır. Ayrıca tüm deney gruplarında negatif kontrol grubu olarak konsantrasyonların hazırlanmasında kullanılan distile su uygulaması yapılmıştır. Negatif kontrol grubundan elde edilen sonuçlar ile istatistiksel karşılaştırma yapılmıştır.

2.1 Pupa Oluşturma ve Pupadan Çıkış Başarısı

Uygulama tüplerindeki derişime kronik olarak maruz kalan bireylerin larval dönemin sonuna kadar bu besin ile beslenmesi ve pupa evresini de aynı tüplerde geçirmeleri sağlanmıştır. Pupadan çıkan bireyler kaydedilmiştir ve $(\text{ergin sayısı}/50) \times \% 100$ formülü ile pupadan çıkış yüzdesi hesaplanmıştır. Aynı uygulama kullanılarak oluşan pupalarda not edilerek pupa oluşturma başarısının ölçümü yapılmıştır (Liu *et al.* 2020).

2.2 Pupa Pozisyon Ölçümü

Pupa pozisyon ölçümü deneyi düzenegği Fauzi vd. (2020)'nin çalışmasındaki kriterler esas alınarak oluşturulmuş ve sonuçların değerlendirilmeside bölgelerde yer alan pupaların yüzde olarak incelenmesiyle yapılmıştır. Maruziyet pupa oluşumunun bitişine kadar sürdürülmüştür.

Uygulama tüpü besin yüzeyinden (BY) itibaren eşit aralıklarla (1,3 cm) belirlenen işaretlemeler kullanılarak 4 farklı bölgeye ayrılmıştır ve bu bölgelerden yararlanılarak, larvaların oluşturdukları pupaların yükseklikleri belirlenmiştir. Uygulama tüpü olarak 50 ml'lik Falcon tüp kullanılarak bölgelerin eşit mesafelerde (1,3 cm) ayrılmasına olanak sağlanmıştır. Besin yüzeyinden (BY) yukarı doğru sırasıyla D, C, B ve A olarak toplam 4 bölge işaretlenmiştir. Pupa pozisyon ölçüm deneyi 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

2.3 Larval ve Ergin Birey Ağırlık ve Larval Hareketin Ölçümü

24 saatlik maruziyetin ardından larval ağırlık ölçümü için her bir uygulama grubundaki larvalar ince gözenekli bir elek yardımı ile musluk suyu altında toplanmış ve her bir uygulama için 10 larva hassas terazide tartılarak ağırlık ölçümü gerçekleştirilmiştir. Deney 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

Larval hareketin ölçümü için % 2'lik agar ile kaplanan petri kâğıtları kullanılmıştır. Petri ortasına yerleştirilen 1 larvanın 1 dakika boyunca kat ettiği mesafe milimetrik kâğıt yardımıyla ölçülmüştür. Her konsantrasyon için 29 larva hareketi ölçülmüş ve deney 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Deney sonucunda her konsantrasyon için yapılan 3 tekrarlı ölçümün ortalaması alınarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir (Dhar *et al.* 2020).

Ergin birey ağırlık ölçümü için *D. melanogaster* larvaları ergin hale gelinceye kadar MgO NP'lerine maruz bırakılmıştır. Pupadan çıkan bireyler her tekrar grubu için 10 dişi ve 10 erkek birey şeklinde olmak üzere 20 bireyin ağırlığı ölçülerek 3 tekrarlı şekilde gerçekleştirilmiştir.

2.4 Negatif Jeotaksis Deneyi

D. melanogaster larvaları ergin hale gelinceye kadar MgO NP varlığında gelişimlerini tamamlamışlardır. Ergin hale gelen sinekler maruziyet ortamından uzaklaştırılarak negatif jeotaksis deneyi için 10 cm uzunluğundaki boş plastik tüplere aktarılmıştır. Her bir plastik tüpe 30 ergin birey aktarılmış ve deney 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Plastik tüp içerisine alınan sineklerin tüp tabanına indirerek hepsinin aynı noktadan başlaması sağlanmış ve 10

sn süre içerisinde 10 cm yüksekliği geçen bireyler not edilmiştir (Manjila and Hasan 2018).

2.5 Ömür Uzunluğu Deneyi

Her deney grubu için 50 tane 72 ± 4 saatlik larvaların yaklaşık 4.5 gramı kuru halde bulunan *Drosophila* hazır besininin (*Drosophila* Instant Medium) hazırlanan MgO NP'lerinin farklı konsantrasyonlarının 9 ml'si ile ıslatılmasıyla oluşan besin ortamına alınmasıyla ömür uzunluğu deneyi başlatılmıştır. Her konsantrasyon için deney 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Deneyin sürdürülebilirliği için Lindford vd. (2013)'e göre larvalar ergin hale geldikten sonra 2 günde bir yeni uygulama tüplerine alınarak tekrar MgO NP maruziyetinin devamlılığı sağlanmıştır. Her iki günde bir gerçekleşen aktarmalar sırasında ölen sinekler not edilmiştir.

2.6 İstatistiksel Analiz

Larval ve ergin birey ağırlıkları ölçümleri ve larval hareket ölçümlerinden elde edilen sonuçların istatistiksel hesaplamaları SPSS 20 Paket Programında One-way ANOVA (Dunnet) testi ile yapılmıştır. Pupa oluşturma, pupadan çıkış başarısı ve negatif jeotaksis deneylerinden elde edilen sonuçlar ise SPSS 20 Programında One-way ANOVA (Kruskal-Wallis) testi ile değerlendirilmiştir. Ömür uzunluğu ölçüm sonuçları ise SPSS 20 Paket Programında yer alan Kaplan-Mayer testi ile değerlendirilmiştir. Pupa pozisyon deney sonuçları da SPSS 20 Paket Programı üzerinden ki kare testi ile değerlendirilmiştir.

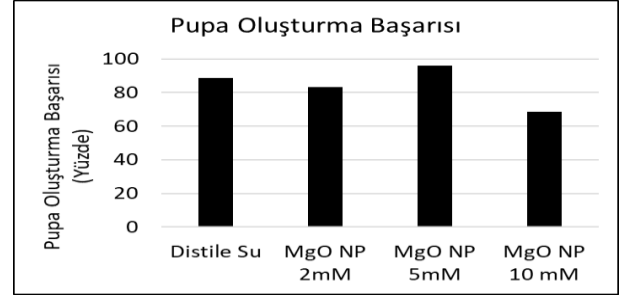
3. Bulgular

Deneylerden elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirmesi yapıldığı zaman MgO NP maruziyetinin larval hareket dışında herhangi bir test yönteminde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı tespit edilmiştir.

3.1 Pupa Oluşturma ve Pupadan Çıkış Başarısı

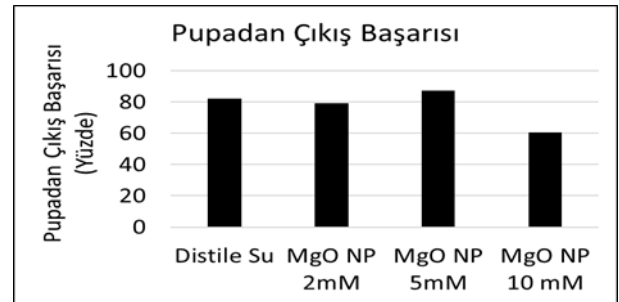
Pupa oluşturma başarısının ölçülmesi sonucunda distile su uygulaması için kullanılan larvaların yüzde %82'sinin pupa oluşturabildiği fakat en yüksek doz olan 10 mM'lık MgO NP uygulanmasıyla pupa oluşturma başarısının Şekil 1'de görüldüğü gibi

%60'lara gerilediği tespit edilmiştir. Fakat deney sonucunda toplanan verilerin istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda deney grupları arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür.



Şekil 1. *Drosophila* larvaların MgO NP maruziyeti sonucunda pupa oluşturma başarısı

Pupadan çıkan ergin bireylerin sayılmasıyla elde edilen sonuçlar Şekil 2'de gösterilmiştir. Distile suya kıyasla MgO NP uygulamasının en yüksek konsantrasyonunda pupadan çıkış başarısının daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Fakat bu düşüşün kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir farklılık yaratmadığı sonucuna varılmıştır.

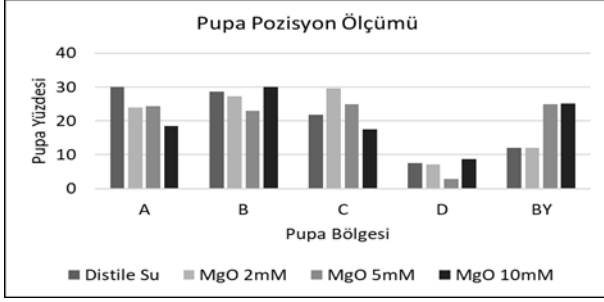


Şekil 2. *Drosophila* larvaların MgO NP uygulaması sonucunda pupadan çıkış başarısı

3.2 Pupa Pozisyon Ölçümü

Pupa pozisyon ölçümü sonuçları Fauzi vd. (2020)'nin çalışmasında belirttiği kriterler dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Yapmış olduğumuz ki kare analiz sonucuna göre konsantrasyonlar ile oluşan pupa yükseklikleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemesine rağmen negatif kontrol grubundaki larvaların tüp yüzeyinde en yüksek bölge olarak belirlenen A bölgesinde diğer gruplara kıyasla belirgin bir farkla daha yüksek oranda pupa oluşturdıkları gözlemlenirken, 10 mM'lık uygulamanın en yüksek bölgeye daha düşük bir oranda ulaştıkları ve daha çok besin yüzeyinde (BY) ya da A bölgesinden daha aşağıdaki bölgelerde pupa oluşturdıkları görülmüştür. Benzer şekilde diğer uygulama dozlarında da pupa oluşturdıkları

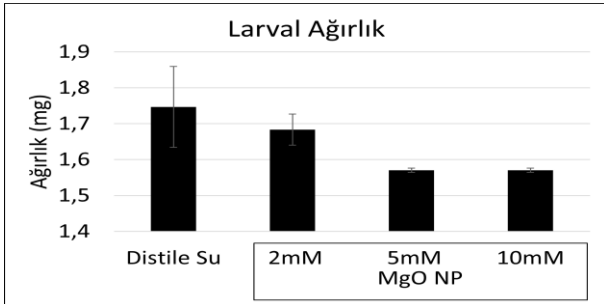
yüksekliklerde bir azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. *D. melanogaster* larvalarında MgO NP maruziyeti sonucunda oluşan pupaların yükseklik değişimleri

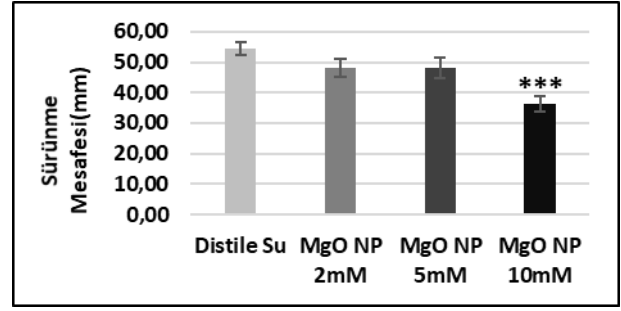
3.3 Larval Ağırlık ve Hareketin Ölçümü

D. melanogaster larvalarının 24 saatlik MgO NP'lerine maruziyeti sonucunda larva ağırlığı açısından istatistiksel anlamda bir farklılık tespit edilmemiştir. Fakat elde edilen veriler incelendiğinde Şekil 4'de görüldüğü üzere 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilen ağırlık ölçümünde konsantrasyona bağlı olarak, larvaların ortalama ağırlığında bir azalma olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4. *D. melanogaster* larvalarında MgO NP maruziyeti sonucunda oluşan larval ağırlık değişimleri

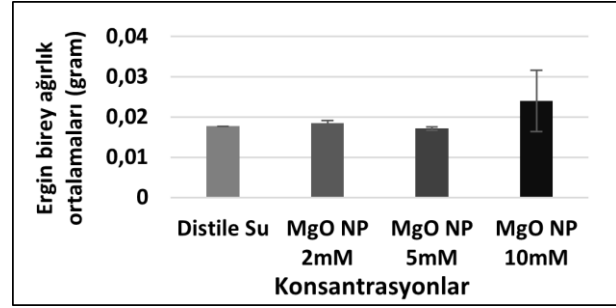
Larval hareketin ölçümü sonucunda 10 mM'lık konsantrasyonda MgO NP uygulamasının larva hareketinde distile suya göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir ($p=0,000038$). Ancak istatistiki olarak anlamlı olarak değerlendirme olmamasına rağmen MgO NP'lerinin 2 ve 5 mM'lık konsantrasyonlarında da distile suya göre larval harekette bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. *D. melanogaster* larvalarında MgO NP maruziyeti sonucunda larval hareket mesafelerinin değişimleri (***: $p<0,001$)

3.4 Ergin Birey Ağırlık Ölçümü

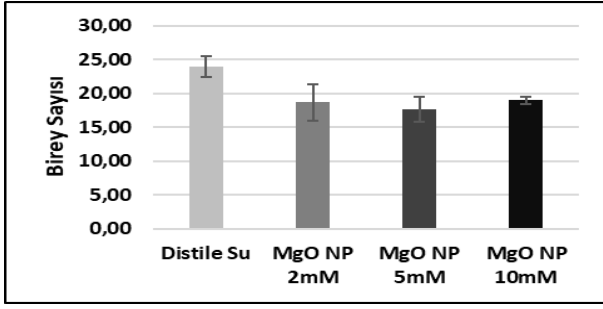
Ergin birey ağırlık ölçümü için gerçekleştirilen deney sonucuna göre her tekrar grubu için 20 birey tartılmış ve 3 tekrar grubunun ortalaması alınarak Şekil 6'da gösterilen veriler elde edilmiştir.



Şekil 6. *D. melanogaster*'de MgO NP maruziyeti sonucunda oluşan ergin birey ağırlık değişimleri. Deney sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde negatif kontrol grubuna kıyasla gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Ancak diğer gruplara kıyasla MgO NP 10mM'lık konsantrasyona maruz kalan bireylerin ağırlık ortalamasının daha yüksek olduğu görülmüştür.

3.5 Negatif Jeotaksis Deneyi

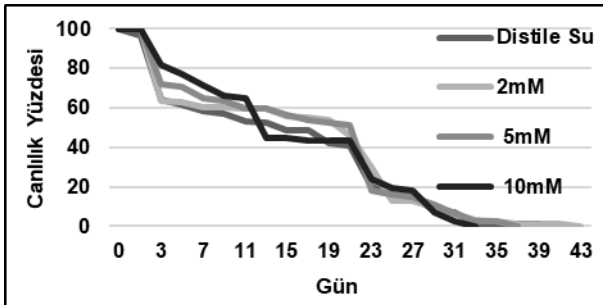
Negatif jeotaksis deneyi sonucunda 30 sinekten 10 sn'de 10 cm'lik mesafeyi aşan sineklerin sayısını gösteren veriler Şekil 7'de gösterilmiştir. MgO NP'lerinin 2, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonlarına maruz bırakılan larvaların erginlerinde distile suya kıyasla uçuş hareketleri bakımından bir azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir. Fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 7).



Şekil 7. *D. melanogaster* larvalarında MgO NP maruziyeti sonucunda ergin hale gelen bireylerin negatif jeotaksis deney sonuçları

3.6 Ömür Uzunluğu Deneyi

D. melanogaster larvaları yumurtadan itibaren MgO NP'lerinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılarak gerçekleştirilen deney sonucunda elde edilen veriler Şekil 8'de verilmiştir. Ömür uzunluğu deneyi sonucunda ilk olarak en yüksek konsantrasyon olan MgO NP'nin ergin hale geldikten 33 gün sonra öldükleri tespit edilmiştir. 10 mM'lık grubun ardından en kısa ikinci ömür uzunluğuna sahip olan grubun 5mM'lık olduğu ve ardından distile su ve 2mM'lık grubun geldiği tespit edilmiştir. Gün olarak incelendiğinde en yüksek konsantrasyondan distile suya göre ömür uzunluklarının sırasıyla; 33, 37, 43 ve 41 gün olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca gerçekleştirilen Kaplan-Mayer istatistik analizine göre distile sudan en yüksek konsantrasyona göre ortalama ömür uzunlukları sırasıyla 16.73, 18.14, 18.56 ve 18.51 gün olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre konsantrasyonlar arasında ortalama ömür uzunluğu açısından anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 8. *D. melanogaster*'de MgO NP maruziyetinin ömür uzunluğuna etkisi

4. Tartışma ve Sonuç

Nanoteknoloji günümüzde bilgi ve iletişim teknolojilerinde, daha güçlü ve aynı zamanda daha hafif malzemelerin üretilmesinde ve su

dekontaminasyonu gibi çeşitli alanlarda fayda sağlamaktadır (Benelmekki 2015). Aynı zamanda nanoteknoloji, inovasyonu sağlamak için nano ölçekteki malzemelerin benzersiz özelliklerinden yararlanmayı içermektedir (USEPA 2007).

NP'ler sahip oldukları uygulama potansiyelleri sayesinde pek çok araştırma ve teknoloji dalında, örneğin tıbbi teşhis ve tedavi cihazları, gıda sektörü gibi tüketiciyle ilgili alanlarda giderek daha fazla kullanılmaktadır (Mittag *et al.* 2019). Gıdaların korunmasında veya iyileştirilmesi için kullanımları NP'lerin oral alınımı ile sonuçlanabilmektedir (McClements and Xiao 2017). NP'ler küçük boyutları nedeniyle kan ve lenfatik sisteme nüfuz edebilmekte ve sonucunda vücut dokularına ve organlarına yayılabilmektedir (De Matteis 2017). Tüm bu bilgilerin bir sonucu olarak ABD Çevre Koruma Ajansı (USEPA) nanoteknoloji ile ilgili potansiyel çevre, sağlık ve güvenlik sorunlarının ele alınması gerektiği vurgulamaktadır (USEPA 2007).

Metal oksit NP'leri, toksik potansiyele sahiptir (Ivask *et al.* 2015, Karlsson *et al.* 2008, *et al.* 2009). Bu toksitenin ardında yatan mekanizmada, metal iyonlarının salınımı önemli bir faktördür. Metal oksit NP'lerin sitotoksik özellikleri de hücre içi metal iyon salınımından kaynaklanmaktadır. Salınan metal iyonları ise hücrede oksidatif stres ve inflamasyona neden olarak zararlı etkilerini göstermektedir (Horie *et al.* 2018). Bir metal oksit NP olan ZnO NP'lerinin genotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışma sonucunda ZnO NP maruziyetinin HEK293 (insan embriyonik böbrek hücre hattı) ve NIH/3T3 (fare embriyonik fibroblast hücreleri) hücre hatlarında mikronükleus frekansında ve DNA hasarında artışa neden olduğu gösterilmiştir (Demir *et al.* 2014). Demir vd. (2015) yapmış oldukları bir diğer çalışmada ise farklı bir metal oksit NP olan Titanyum dioksit NP'lerinin HEK293 (insan embriyonik böbrek hücre hattı) ve NIH/3T3 (fare embriyonik fibroblast hücreleri) hücre hatlarında genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda Titanyum dioksit NP'lerinin mikronükleus frekansında ve DNA hasarında bir artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca metal oksit NP'lerinin *D. melanogaster*'de genotoksisiteyi indüklediği gözlemlenmiştir (Ertuğrul *et al.* 2020, Güneş *et al.* 2018).

Bindhu vd. (2016) gerçekleştirdikleri çalışmada MgO NP'lerinin antibakteriyel etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Araştırma kapsamında MgO NP'lerinin kültür ortamında bulunan *Staphylococcus aureus*'a karşı son derece etkili bir antibakteriyel etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya ilave olarak MgO NP'lerin *Escherichia coli* üzerine de zararlı etkileri olduğunu ve bu zararlı etkileri canlının hücre zar bütünlüğünü bozarak ya da düzensiz bir hücre zarı meydana getirerek gerçekleştirdiği bilinmektedir (Jin and He 2011). MgO NP'lerinin yoğun kullanımı, hem çevrenin hem de insanların giderek artan bir maruziyetine yol açmaktadır. Bu nedenle MgO NP'lerinin etkilerinin farklı yönleri ile incelenmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Hwang *et al.* 2012). Ayrıca Rico vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada MgO NP nin de dahil olduğu bazı NP'lerin bitki biyosistemi üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Mangalampalli vd. (2018b) *Allium cepa* üzerinde MgO NP maruziyetini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda MgO NP'lerinin bir indikatör olarak kullanılan *A. cepa*'da konsantrasyon arttıkça kromozomal aberasyonların ve oksidatif stresin arttığını ortaya koymuşlardır.

Literatürde yer alan bazı çalışmalarda MgO NP'lerinin hücre modellerinde toksik etkisinin olmadığını belirten birçok çalışma mevcuttur. Örneğin MgO NP'lerinin hücre sayısını veya metabolik aktiviteyi etkilemediği belirtilmiştir (Wilhelmi *et al.* 2012, Ge *et al.* 2011, Gerlof *et al.* 2009). Ayrıca, MgO NP'lere maruziyetin herhangi bir apoptotik veya nekrotik etkiye neden olmadığı da tespit edilmiştir (Wilhelmi *et al.* 2012). Diğer taraftan MgO NP'lerin tetiklediği toksik etkiler de tespit edilmiştir. MgO NP ile muamele edilmiş hücrelerde morfolojik değişiklikler ve azalmış hücre canlılığı, hücre sayısında azalma, mitokondriyal ve lizozomal aktivitede azalma gibi etkiler meydana getirdiği belirtilmiştir (Mittag *et al.* 2019). Literatürdeki MgO NP'lerinin toksitesi üzerindeki farklı sonuçların olması MgO NP'lerin toksitesi hakkında genel bir değerlendirme yapmayı zorlaştırmaktadır (Mittag *et al.* 2019). Bu yüzden MgO NP hakkında daha fazla bilgiye sahip olunabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu doğrultuda MgO NP'lerinin *D. melanogaster* üzerindeki davranışsal değişikliklere

neden olup olmayacağının tespit edilmesinin amaçlandığı bu çalışma literatürde bu konudaki eksikliğin giderilmesinde katkı sağlamaktadır.

Ksenobiyotiklerin toksikolojik değerlendirilmesinde davranışsal testler yaygın olarak kullanılmaktadır (Chen *et al.* 2014, Truong *et al.* 2012). Davranış testlerinden elde edilen veriler, kimyasal etkilerin tespitinde hassas, spesifik ve güvenilir olmanın yanı sıra, temel araştırmada düzenleyici kararlar ve mekanik değerlendirmeler için de yararlı olabilmektedir. Ayrıca davranışsal değişimler, kimyasal maruziyetin ilk ölçülebilir etkisi olduğundan dolayı toksite değerlendirmelerinde kullanılan önemli araştırma alanlarından biridir. Çünkü maruziyet sonucunda ortaya çıkan klinik belirtiler veya yapısal lezyonların görülmesinden önce canlıda davranışsal tepkiler belirlenebilmektedir. Özellikle davranışsal değişikliklerin hassas veya daha iyi bir test yöntemi olmayı amaçlamaktan çok canlının genel vücut işleyişini yansıtması oldukça önemlidir (Philbert 2010).

Literatürde NP'lere maruziyetin organizmada çeşitli davranışsal bozukluklara neden olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (Chen *et al.* 2020, Asmonaite *et al.* 2016, Li *et al.* 2014). Asmonaite vd. (2016) Zebra balığı üzerinde yapmış oldukları davranışsal toksite çalışmasında Ag⁺ ve Ag NP maruziyetinin Zebra balığında gelişim üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu, yumurtadan çıkmayı engellediğini ve balığın hareket kabiliyetini değiştirdiğini ve bu doğrultuda hareketsizliğe neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya benzer şekilde yapmış olduğumuz çalışma sonucunda MgO NP uygulamasının *D. melanogaster*'da pupa oluşturma ve pupadan çıkış başarısında azalmaya yol açarak olumsuz etkilere neden olduğu açık bir şekilde görülmektedir.

Başka bir çalışmada Zebra balığı embriyolarına 6 gün boyunca Al₂O₃ NP maruziyetinden sonra yetişkin hale gelen balıklarda hız ortalamasında anlamlı bir yavaşlama olduğu ve bunu destekler şekilde balıkların duraklama sürelerinde artış meydana geldiği gösterilmiştir (Chen *et al.* 2020). Aynı şekilde SiO₂ NP'inde Zebra balığında bilişsel davranış, genel ve lokomotif aktivitesinde anlamlı değişikliklere neden olduğu da bilinmektedir (Li *et*

al. 2014). MgO NP'lerinin lokomotif hareket üzerine etkisini incelediğimiz çalışma kapsamında yapılan negatif jeotaksis deneyi sonucunda literatüre benzer şekilde MgO NP uygulamasının *D. melanogaster*'da bireylerin uçuş kabiliyetlerini azalttığı sonucunda ulaşılmıştır. Ayrıca larval dönemdeki hareketin incelendiği diğer deneyde ise MgO NP uygulamasının larval hareketin anlamlı bir şekilde azalmaya neden olduğu açık bir şekilde gösterilmiştir.

Çoğu canlı, hayatlarını sürdürüebilmek için yaşamları boyunca kendi ağırlıklarını tespit ederek, kas güçlerini bu duruma göre ayarlamak zorundadır (Knight 2017). Sıçanların, kilo almına bağlı olarak, kas kasılmasını ve kuvvet çıkışını düzenleyen troponin kompleksinin bir bileşeni olan troponin T'nin alternatif formlarını üreterek kaslarını değiştirebildikleri bilinmektedir. Ayrıca bu durumun güz tırtıllarında da (*Spodoptera frugiperda*) geçerli olduğu tespit edilmiştir (Schilder *et al.* 2011). Bu sistemin *D. melanogaster*'de de varlığının tespiti için yapılan bir çalışmada sinekler santrifüjle kandırılarak vücut ağırlıklarının artırılması konusunda uyarılmıştır. Bu deney sonucunda santrifüj sonrası sineklerde sıçanlara benzer şekilde Troponin T formlarının transkripsiyonunun arttığını ve bunun sonucunda da sineklerin bacak kaslarının daha güçlü hale gelerek daha iyi tırmanıcı ve zıplayıcılar haline geldikleri görülmüştür (Schilder and Raynor 2017). Yapmış olduğumuz ergin birey ağırlıklarının ölçümü sonucunda istatistiksel değerlendirmede anlamlı olarak bulunmamasına rağmen en yüksek konsantrasyona maruziyetin ardından gelişen sineklerde bir ağırlık artışının meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 6). Diğer bir çalıştığımız test yöntemi olan ve maruziyet sonrası sineklerin hareket kabiliyetlerinin sınındığı negatif jeotaksis deneyi sonucunda distile suya göre anlamlı bir farklılığın görülmemesi ergin *D. melanogaster* bireylerinde Schilder ve Raynor (2011)'in yapmış oldukları çalışmada ki sonuca benzer şekilde ağırlık artışıyla birlikte kas güçlerini arttırarak hareket kabiliyetlerini arttırdıklarını düşündürmektedir. Fakat bu durumun daha iyi anlaşılabilmesi için moleküler düzeyde incelemeler yapılarak ağırlık artışının kas gücünü arttırmaya yönelik bir protein olan Troponin T

formlarının transkripsiyonunu tetikleyip tetiklemediğinin incelenmesi gerekmektedir.

Scrobicularia plana'nın model organizma olarak kullanıldığı bir çalışmada CuO NP ve çözünür Cu uygulaması sonucunda CuO NP'lerinin beslenme davranışında bozulmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bu maruziyet sonucunda çeşitli oksidatif stres belirteçleri olan enzimlerde artış olduğu da belirlenmiştir (Buffet 2011). Walczak vd. (2013) NP'lerin gastrointestinal sistem içerisinde nasıl bir davranış sergilediklerini tespit etmek için gerçekleştirdikleri çalışmada Ag NP'lerin uygulama yaptıkları boyutla aynı boyutta ve aynı bileşimleriyle bağırsak duvarına kadar ulaşabildiklerini gözlemlenmişlerdir. Çalışmamız sonucunda elde etmiş olduğumuz larval ağırlık sonuçlarında istatistiksel olarak anlamsız olmasına rağmen doza bağlı olarak ağırlıkta bir azalma, Walczak vd. (2013) ve Buffet (2011) çalışmalarından elde edilen verilere benzer özelliktedir. Walczak vd. (2013) ve Buffet (2011) tarafından yapılan çalışmalarda MgO NP'lerinin beslenme davranışlarını bozarak veya bağırsakta birikerek larvaların beslenmesine engel olarak larval ağırlıktaki düşüşe neden olduğu yargısına varılmıştır. Manickam vd. (2019) albino fareler (*Mus musculus*) üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada Fe₂O₃ NP maruziyetinden sonra Fe₂O₃ NP'lerinin farelerde nörodavranış bozukluğuna yol açan nöronal iletişim ile ilişkili faktörleri etkilediğini belirtmişlerdir. ZnO NP'lerinin 30, 50 ve 70 ppm'lik konsantrasyonlarda *Oreochromis mossambicus* üzerindeki davranışsal değişiklikleri gözlemlenerek üzere yapılan başka bir araştırmada ise maruziyet sonucunda balıklarda ışık kaynaklarına karşı yanıt oluşmadığı, tanka atılan besin parçacıklarının girişini fark etmediklerini, hareketlerinin azaldığını ve ZnO NP'lerin dozu arttıkça davranışlarında kontrol grubuna göre bozulduğunu tespit edilmiştir (Suganthi *et al.* 2015). Literatürde çeşitli NP'lerin davranış üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaların bulunmasına karşın MgO NP'leri ile ilgili çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Kesmati vd. (2016) MgO NP'lerinin morfin yoksunluğunun neden olduğu anksiyete üzerindeki etkilerinin erkek fareler üzerinde araştırıldığı çalışmada akut ve kronik MgO NP enjeksiyonlarının morfin yoksunluğu çeken erkek

farelerde kaygı benzeri davranışları önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir.

D. melanogaster için besin ortamı ve ortam sıcaklığının hayatta kalma ve üreme kabiliyeti üzerinde etkileri olduğu bilinmektedir (Min *et al.* 2021). Pompa vd. (2011) sitrat kaplı altın nanopartiküllerinin *D. melanogaster*'da ömür uzunluğu ve çoğalma başarısını azalttığını tespit etmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada da benzer şekilde MgO NP uygulamasının ömür uzunluğu üzerine negatif etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

Pupanın yüksekliği yerçekimine bağlı bir tepkidir ve çeşitli diğer basit davranışlarla belirlenen karmaşık bir özellik olarak görülebilir. Ayrıca pupanın konumu, beslenme sonrası gezinme aşamasında larvaların sahip olduğu enerjiyi yansıtır, böylece larvaların yetişkin olmadan önce geçirdikleri aşamada enerji tüketimini azaltabilen sendromları inceleyen çalışmalar için bir temel olarak kullanılabilir (Fauzi *et al.* 2020). Bu nedenle pupa pozisyon ölçümü sonucunda elde ettiğimiz verilere göre MgO NP maruziyetinin *D. melanogaster*'ın enerji metabolizması üzerine negatif bir etkisi olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak MgO NP'lerinin bu çalışmada model organizma olarak kullanılan *D. melanogaster*'de davranışsal toksisiteye neden olduğu söylenebilmektedir. Bu çalışmadan elde edilen veriler kas gelişimi, sinirsel iletim ve bazı beslenme davranışları moleküler bakımından memeli sistem ile olan benzerlikleri nedeni ile oldukça önemlidir. MgO NP tarafından oluşturulan davranışsal bozuklukların daha iyi anlaşılabilmesi için mekanizmasının moleküler düzeyde de araştırılmaya ihtiyaç vardır.

Teşekkür

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2016-1044 numaralı proje ile desteklenmiştir.

5.Kaynaklar

Alqahtani, S., Alomar, S.Y., 2016. Induction of apoptosis and cytokine markers in colon cancer cells by mahnesium oxide (MgO) nanoparticles. *Toxicological & Environmental Chemistry*, **99**, 302-314.

Asmonaite, G., Boyer, S., de Souza, K.B., Wassmur, B. and Sturve, J., 2016. Behavioural toxicity assessment of silver ions and nanoparticles on zebrafish using a locomotion profiling approach. *Aquatic Toxicology*, **173**, 143-153.

Baker, T.J., Tyler, C.R., Galloway, T.S., 2014. Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms. *Environmental Pollution*, **186**, 257-271.

Benelmekki, M., 2015. Designing Hybrid Nanoparticles. Morgan & Claypool Publishers, 1-14.

Bernhardt, E.S., Colman, B.P., Hochella, M.F., Cardinale, B.J., Nisbet, R.M., Richardson, C.J., Yin, Liyan., 2010. An Ecological Perspective on Nanomaterial Impacts in the Environment. *Journal of Environmental Quality*, **39**, 1-12.

Bhatt, I., Tripathi, B.N., 2011. Interaction of engineered nanoparticles with various components of the environment and possible strategies for their risk assessment. *Chemosphere*, **82**, 308-317.

Bindhu, M.R., Umadevi, M., Micheal, M.K., Arasu, M.V. and Al-Dhabi, N.A., 2016. Structural, morphological and optical properties of MgO nanoparticles for antibacterial application. *Materials Letters*, **166**, 19-22.

Buffet, P., Tankoua, O.F., Pan, J., Berhanu, D., Herrenknecht, C., Poirier, L., Amiard-Triquet, C., Amiard, J., Berard, J., Risso, C., Guibboline, M., Romeo, M., Reip, P., Valsami-Jones, E. and Mouneyrac, C., 2011. Behavioural and biochemical responses of two morine invertebrates *Scrobicularia plana* and *Hediste diversicolor* to copper oxide nanoparticles. *Chemosphere*, **84**, 166-174.

Cai, L., Chen, J., Liu, Z., Wang, H., Yang, H., Ding, W., 2018. Magnesium Oxide Nanoparticles: Effective Agricultural Antibacterial Agent Against *Ralstonia solanacearum*. *Frontiers in Microbiology*, **9**.

Chen, J., Fan, R., Wang, Y., Huang, T., Shang, N., He, H., Zhang, P., Zhang, L., Niu, Q. and Zhang, Q., 2020. Progressive impairment of learning and memory in adult zebrafish treated by Al₂O₃ nanoparticles when in embryos. *Chemosphere*, **254**, 126608.

- Chen, T.H., Lin, C.C. and Meng, P.J., 2014. Zinc oxide nanoparticles alter hatching and larval activity in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Hazardous Materials*, **277**, 134-140.
- De Matteis, V., 2017. Exposure to Inorganic Nanoparticles: Routes of Entry, Immune Response, Biodistribution and In Vitro/In Vivo Toxicity Evaluation. *Toxics*, **5**, 29.
- Demir, E., Akça, H., Kaya, B., Burgucu, D., Tokgün, O., Turna, F., Aksakal, S., Vales, G., Creus, A. and Marcos, R., 2014. Zinc oxide nanoparticles: Genotoxicity, interactions with UV-light and cell-transforming potential. *Journal of Hazardous Materials*, **264**, 420-429.
- Demir, E., Akça, H., Turna, F., Aksakal, S., Burgucu, D., Kaya, B., Tokgün, O., Vales, G., Creus, A. and Marcos, R., 2015. Genotoxic and cell-transforming effects of titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Research*, **136**, 300-308.
- Dhar, G., Mukherjee, S., Nayak, N., Sahu, S., Bag, J., Rout, R. and Mishra, M., 2020. Fundamental Approaches to Screen Abnormalities in *Drosophila*. Mishra, M. Springer Protocols, 223-251.
- Elsaesser, A. and Howard, C.V., 2012. Toxicology of nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews* **64**, 129-137.
- Ertuğrul, H., Yalçın, B., Güneş, M. and Kaya, B., 2020. Ameliorative effects of melatonin against nano and ionic cobalt induced genotoxicity in two *in vivo Drosophila* assays. *Drug and Chemical Toxicology*, **43**, 279-286.
- Fauzi, A., Zubaidah, S. and Susanto, H., 2020. The Study of Larva and Adult Behaviour of *Drosophila melanogaster*: Do Strains Affect Behavior?. *AIP Conference Proceedings*, **2231**, 040014.
- Feynman, R.P., 1960. There's Plenty of Room at the Bottom. *Engineering and Science magazine*, **23**, 22-36.
- Ge, S., Wang, G., Shen, Y., Zhang, Q., Jia, D., Wang, H., Dong, Q. and Yin, T., 2011. Cytotoxic effects of MgO nanoparticles on human umbilical vein endothelial cells *in vitro*. *The Institution of Engineering and Technology*, **5**, 36-40.
- Gerlof, K., Albrecht, C., Boots, A.W., Förster, I. and Schins, R.P.F., 2009. Cytotoxicity and oxidative DNA damage by nanoparticles in human intestinal Caco-2 cells. *Nanotoxicology*, **3**, 355-364.
- Giorgetti, L. 2019. Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms Concepts and Controversies: volume 2. Tripathi, D.K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D.K. and Dubey, N.K., Academic Press, 65-88.
- Gunes, M., Yalcin, B., Ertugrul, H. and Kaya, B. 2018. Ascorbic Acid Ameliorates Genotoxic Effects of Cobalt Nanoparticles and Cobalt Chloride *in In Vivo Drosophila* Assays. *Fresenius Environmental Bulletin*, **27**, 2380-2391.
- Horie, M., Nishio, K., Fujita, K., Kato, H., Nakamura, A., Kinugasa, S., Endoh, S., Miyauchi, A., Yamamoto, K., Murayama, H., Niki, E., Iwahashi, H., Yoshida, Y. and Nakanishi, J., 2009. Ultrafine NiO Particles Induce Cytotoxicity *in Vitro* by Cellular Uptake and Subsequent Ni(II) Release. *Chemical Research in Toxicology*, **22**, 1415-1426.
- Horie, M., Shimizu, K. and Tabei, Y., 2018. Validation of metallothionein, interleukin-8, and heme oxygenase-1 as markers for evaluation of cytotoxicity caused by metal oxide nanoparticles. *Toxicology Mechanisms and Methods*, **28**, 630-638.
- Hwang, H.M., Ray, P.C., Yu, H. and He, X., 2012. Sustainable Preparation of Metal Nanoparticles: Methods and Applications. Luque, R. and Varma, R., Cambridge: Royal Society of Chemistry, 190-212.
- Ivask, A., Titma, T., Visnapuu, M., Vija, H., Kaminen, A., Sihtmae, M., Pokhrel, S., Madler, L., Heinlaan, M., Kisand, V., Shimmo, R. and Kahru, A., 2015. Toxicity of 11 Metal Oxide Nanoparticles to Three Mammalian Cell Types *In Vitro*. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **15**, 1914-1929.
- Jin, T. and He, Y., 2011. Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Nanoparticle Research*, **13**, 6877-6885.

- Karlsson, H.L., Cronholm, P., Gustafsson, J. and Möller, L., 2008. Copper Oxide Nanoparticles Are Highly Toxic: A Comparison between Metal Oxide Nanoparticles and Carbon Nanotubes. *Chemical Research in Toxicology*, **21**, 1726-1732.
- Kesmati, M., Konani, M., Torabi, M. and Khajehpour, L., 2016. Magnesium oxide nanoparticles reduce anxiety induced by morphine withdrawal in adult male mice. *Physiology and Pharmacology*, **20**, 197-205.
- Khan, I., Saeed, K. and Khan, I., 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, **12**, 908-931.
- Knight, K. 2017. Fruit flies strengthen leg muscles when they gain weight. *Journal of Experimental Biology*, **220**, 3399-3401.
- Krishna, R.N., Gayathri, R. and Priya, V.D., 2017. Nanoparticles and Their Applications - A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **9**(1), 24-27.
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L. and Muller, R.N., 2008. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chemical Reviews*, **108**, 2064-2110.
- Li, X., Liu, B., Li, X., Li, Y., Sun, M., Chen, D., Zhao, X. and Feng, X., 2014. SiO₂ nanoparticles change colour preference and cause Parkinson's-like behaviour in zebrafish. *Scientific Reports*, **4**, 3810.
- Linford, N.J., Bilgir, C., Ro, J. and Pletcher, S.D. 2013. Measurement of Lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Visualized Experiments*, **71**.
- Liu, Z., Shang, J., Yan, L., Wei, T., Xiang, L., Wang, H., Cheng, J. and Xiao, G., 2020. Oxidative stress caused by Lead (Pb) induces iron deficiency in *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, **243**, 139136.
- Mahmoud, A. Öztaş, E., Arici, M. and Özhan, G., 2016. *In Vitro* Toxicological Assessment of Magnesium Oxide Nanoparticle Exposure in Several Mammalian Cell Types. *International Journal of Toxicology*, **35**, 1-9.
- Mangalampalli, B., Dumala, N. and Grover, P., 2018b. *Allium cepa* root tip assay in assessment of toxicity of magnesium oxide nanoparticles and microparticles. *Journal of Environmental Sciences*, **66**, 125-137.
- Mangalampalli, B., Dumala, N. and Venkata, R.P., 2018a. Genotoxicity, biochemical and biodistribution studies of magnesium oxide nano and microparticles in albino wistar rats after 28-day repeated oral exposure. *Environmental Toxicology*, **33**, 396-410.
- Manickam, V., Dhakshinamoorthy, V. and Perumal, E., 2019. Iron Oxide Nanoparticles Affects Behaviour and Monoamine Levels in Mice. *Neurochemical Research*, **44**, 1533-1548.
- Manjila, S. B. and Hasan, G., 2018. Flight and Climbing Assay for Assessing Motor Functions in *Drosophila*. *Bio-protocol*, **8**, e2742.
- McClements, D.J. and Xiao, H., 2017. Is nano safe in foods? Establishing the factors impacting the gastrointestinal fate and toxicity of organic and inorganic food-grade nanoparticles. *Science of Food*, **1**(6).
- Philbert, M.A., 2010. Comprehensive Toxicology (Second Edition). McQueen, C.A., Elsevier Science, 337-350.
- Min, K.W., Jang, T. and Lee, K.P., 2021. Thermal and nutritional environments during development exert different effects on adult reproductive success in *Drosophila melanogaster*. *Ecology and Evolution*, **11**(1), 443-457.
- Mittag, A., Schneider, T., Westermann, M. and Glej, M., 2019. Toxicological assessment of magnesium oxide nanoparticles in HT29 intestinal cells. *Archives of Toxicology*, **93**, 1491-1500.
- Nabika, H. and Unoura, K., 2016. Surface Chemistry of Nanobiomaterials. Grumezescu, A.M., William Andrew Publishing, 231-263.
- Pompa, P.P., Vecchio, G., Galeone, A., Brunetti, V., Sabella, S., Maiorano, G., Falqui, A., Bertoni, G. and Cingolani, R., 2011. *In Vivo* Toxicity Assessment of Gold Nanoparticles in *Drosophila melanogaster*. *Nano Research*, **4**(4), 405-413.
- Rico, C.M., Majumdar, S., Gardea, M.D., Videa, J.R.P. and Torresdey, J.L.G., 2011. Interaction of nanoparticles

with edible plants and their possible implications in the food chain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**(8), 3485-3498.

Schlinder, R.J., Kimball, S.R., Marden, J.H. and Jefferson, L.S., 2011. Body weight-dependent troponin T alternative splicing is evolutionarily conserved from insects to mammals and is partially impaired in skeletal muscle of obese rats. *The journal of Experimental Biology*, **214**, 1529-1532.

Schilder, R.J. and Raynor, M., 2017. Molecular plasticity and functional enhancements of leg muscles in response to hypergravity in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *The Company of Biologists*, **220**, 3508-3518.

Strambeanu, N., Demetrovici, L., Dragos, D., and Lungu, M., 2015. Nanoparticles' Promises and Risks. Lungu, M., Springer International Publishing, 3-8.

Suganthi, P., Murali, M., Bukhari, A.S., Mohamed, H.E.S., Basu, H. and Singhal, R.K., 2015. Behavioural and Histological variations in *Oreochromis mossambicus* after exposure to ZnO Nanoparticles. *International Journal of Applied Research*, **1**(8), 524-531.

Truong, L., Saili, K.S., Miller, J.M., Hutchison, J.E. and Tanguay, R.L., 2012. Persistent Adult Zebrafish Behavioral Deficits Results from Acute Embryonic Exposure to Gold Nanoparticles. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology*, **155**(2), 269-274.

USEPA(U.S. Environmental Protection Agency, 2007. Nanotechnology White Paper. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC 20460.

Walczak, A.P., Fokkink, R., Peters, R., Tromp, P., Rivera, Z.E.H., Rietjens, I.M.C.M., Hendriksen, P.J.M. and Bouwmeester, H., 2013. Behaviour of silver nanoparticles and silver ions in an *in vitro* human gastrointestinal digestion model. *Nanotoxicology*, **7**(7), 1198-1210.

Wilhelmi, V., Fischer, U., van Berlo, D., Schulze-Osthoff, K., Schins, R.P.F. and Albrecht, C., 2012. Evaluation of apoptosis induced by nanoparticles and fine particles in RAW 264.7 macrophages: Facts and artefacts. *Toxicology in Vitro*, **26**, 323-334.