

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

CİVİL DERE SUYUNDA BULUNAN AĞIR METAL İYONLARININ *ALLIUM*
CEPA L. (AMARYLLIDACEAE)'DA TEŞVİK ETTİĞİ FİZYOLOJİK,
SİTOGENETİK VE ANATOMİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI

MAHMUT DOĞAN

EYLÜL 2017

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı

...../...../.....

Prof. Dr. Başak TAŞELİ

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım

Prof. Dr. İhsan AKYURT

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Kürşat ÇAVUŞOĞLU

Doç. Dr. Emine YALÇIN

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

ÖZET

CİVİL DERE SUYUNDA BULUNAN AĞIR METAL İYONLARININ *ALLIUM CEPA* L. (AMARYLLIDACEAE)'DA TEŞVİK ETTİĞİ FİZYOLOJİK, SİTOGENETİK VE ANATOMİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI

DOĞAN, Mahmut

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

EYLÜL 2017, 19 sayfa

Bu çalışmada, su kalitesini analiz etmek için *Allium* testi kullanıldı. Cıvil deresinden alınan yüzey suyu örneklerinin potansiyel toksik etkileri *Allium cepa* L. tohumlarında çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, tohum ağırlığı, mitotik indeks (MI), kromozomal anormallikler, mikronukleus (MN) sıklığı ve anatomik değişimler gibi toksisite indikatörleri tarafından araştırıldı. Tohumlar kontrol ve dere suyu uygulama grubu olarak iki (2) gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu ile muamele edildi. *A. cepa* L. kök ucu hücreleri Feulgen reaksiyonu ile hazırlandı ve Asetokarmin ile boyandı. Ağır metal analizleri için su örnekleri toplandı ve İndüktif olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, dere suyu ile muamele edilen *A. cepa* L. tohumlarının çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, tohum ağırlığı, mitotik indeks (MI), kromozomal anormallikler ve mikronukleus (MN) sıklığında istatistiksel açıdan önemli ($p<0.05$) değişimler olduğunu gösterdi. Ayrıca, dere suyu *A. cepa* L. kök uçlarının hücresel yapılarında ciddi hasarlara sebep oldu. Dere

suyunda vanadyum (V), krom (Cr), kobalt (Co), nikel (Ni), bakır (Cu), çinko (Zn), arsenik (As), kadmiyum (Cd), titanyum (Ti), kurşun (Pb) ve demir (Fe) gibi ağır metaller belirlendi. Sonuçlar, dere suyundaki kirliliğin çevre ve canlı organizmaların sağlığı için bir tehlike ve ikaz olarak düşünülmesi gerektiğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Ağır metal, *Allium cepa*, Anatomi, Fizyoloji, Genotoksisite, Su kirliliği

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF PHYSIOLOGICAL, CYTOGENETIC AND ANATOMICAL CHANGES INDUCED BY HEAVY METAL IONS FOUND IN WATER OF CIVIL STREAM IN *ALLIUM CEPA* L. (AMARYLLIDACEAE)

DOĞAN, Mahmut

Giresun University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Graduate Thesis

Danışman: Assoc. Prof. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

SEPTEMBER 2017, 19 pages

The *Allium* bioassay was used to analyze the water quality in this study. The potential toxic effect of surface water samples taken in Civil Stream was examined by toxicity endpoints as germination percentage, root length, seedling weight, mitotic index (MI), chromosomal abnormalities, micronucleus (MN) frequency and anatomical changes in the seeds of *Allium cepa* L. Seeds were divided into two groups as control and stream-water treatment group. The seeds in the control group were treated with tap water. The root tip cells of *A. cepa* L. were prepared by Feulgen's reaction and stained with Acetocarmine. Water samples were collected for heavy metal analyses and analyzed using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). Results showed that there were statistically significant changes ($p < 0.05$) germination percentage, root length, seedling weight, mitotic index, chromosomal abnormalities, micronucleus frequency of *A. cepa* L. seeds treated with the water of the stream when compared to data from controls. Stream water also caused serious damages to cellular structures of *A. cepa* L. root tips. The

heavy metals such as vanadium (V), chrome (Cr), cobalt (Co), nickel (Ni), copper (Cu), zinc (Zn), arsenic (As), cadmium (Cd), titanium (Ti), lead (Pb) and iron (Fe) were detected in stream water. The result shows that the pollution of the stream water should be considered as a warning and danger for the health of living organisms and environment.

Key Words: Heavy Metal, *Allium cepa*, Anatomy, Physiology, Genotoxicity, Water Pollution



TEŐEKKÖR

Tez alıőmamın tÖm aőamalarında her tÖrlÖ desteği sağlayan danışman hocam Do. Dr. KÖltięin AVUŐOęLU ve bilimsel katkılarıyla yol gÖsteren değerli hocalarım Prof. Dr. KÖrőat AVUŐOęLU, Doç. Dr. Emine YALÇIN, Yrd. Doç. Dr. Ümit ŐENGÖL ve Dr. Dilek AVUŐOęLU'na teőekkÖrÖ bir borç bilirim.

Ayrıca tez çalıőmam sırasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme de teőekkÖr ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOT.....	3
2.1. Su örneklerinin toplanması.....	3
2.2. Ağır metal analizleri.....	4
2.3. Kök ucu preparatlarının hazırlanması.....	4
2.4. Kök uzunluğu, ağırlık kazanımı ve çimlenme yüzdesinin belirlenmesi.....	4
2.5. Kromozomal anormallik, mitotik indeks (MI) ve mikronukleus (MN) testi.....	4
2.6. Anatomik hasarların belirlenmesi.....	5
2.7. İstatistiksel analiz.....	5
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	6
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	12
KAYNAKLAR	16
ÖZGEÇMİŞ.....	19

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO

3.1. Dere suyundaki ağır metal derişimi ($\mu\text{g/L}$).....	6
3.2. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının tohum çimlenmesi üzerine etkisi.....	7
3.3. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi.....	8
3.4. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının tohum ağırlık artışı (g) üzerine etkisi.....	8
3.5. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı.....	9
3.6. Dere suyundaki ağır metal iyonları tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar.....	10
3.7. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının MI üzerine etkisi.....	10

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

- 1.1. Örnek toplama istasyonları.....3
- 3.2. Dere suyu uygulamasının kök büyümesi üzerine etkisi.....7
- 3.3. Dere suyundaki ağır metal iyonları tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar.....9
- 3.4. Dere suyundaki ağır metal iyonları tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar..11



SİMGELER DİZİNİ

km	Kilometre
⁰ C	Santigrat Derece
µg/L	Mikrogram/Litre
g	Gram
cm	Santimetre

KISALTMALAR

dH ₂ O	Distile Su
HCl	Hidroklorik Asit
MN	Mikronukleus
MI	Mitotik İndeks
FRG	Fragment
YK	Yapışkan Kromozom
KK	Kromozom Köprüsü
CM	C-mitoz
ICP-MS	İndüktif olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi

1. GİRİŞ

Çevre veya insan sağlığına potansiyel olarak zarar veren bir maddenin bulunduğu ortamda var olma şekli olarak tanımlanan *çevre kirliliği*, doğal dengeyi bozan ekolojik bir zarardır. Son yıllarda çevre kirliliğini önlemek adına başlatılan yoğun çabalara rağmen, kirleticiler çevre için büyük bir problem ve canlılar için ise sağlık riski oluşturmaya devam etmektedir. Endüstriyel emisyonlar, yetersiz atık yönetimi, gürültü kirliliği, karbon emisyonu, kimyasal kirlilik, kirli su kaynakları, radyasyon ve biyokütle yakıtlarından kaynaklanan kapalı hava kirliliğine maruziyet vb. sebepler gelişmekte olan dünyanın karşı karşıya kaldığı en büyük çevre sorunlarıdır. Son yıllarda, sağlık üzerine ömür boyu etki edebilme kapasitesine sahip olduğu anlaşılan endokrin bozucular gibi farklı özellikte kirleticilerinde ortaya çıkması, çevre kirliliği ile ilişkili sağlık risklerini tanıma ve bunlarla mücadele etme konusundaki önlemleri daha da acil hale getirmiştir. Dünya nüfusu ve kentleşmenin her geçen gün artması, çevre kirliliğine maruz kalan insan sayısını da arttırmakta, bu artışta beraberinde çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (1).

Dünyanın karşı karşıya kaldığı en büyük tehlikelerden biride, zaten yetersiz olan su kaynaklarının kirletilmesidir. İçme suyu olarak dere, göl ve nehir gibi kaynaklardan gelen su kullanılmaktadır. Bu sulara meydana gelen kirlilik; insanlarda kolera ve tüberküloz başta olmak üzere birçok hastalığa neden olabildiği gibi, suda aşırı alg artışına sebep olmak suretiyle de balık ve diğer sucul organizmaların oksijen kullanımlarının azalmasına, sonuçta da ölüm ve popülasyonlarının tehlikeye girmesine sebep olabilmektedir. Su kirliliğinin bir diğer olumsuz etkisi ise ekonomik kayba neden olmasıdır. İçme suyu olarak kullanılan kirli bir suyun arıtılması çok daha maliyetli olacağından ekonomik kayıp kaçınılmazdır. Su kirliliği nedeniyle azalan oksijen miktarından dolayı balık stoklarında meydana gelen düşme de, balıkçılık maliyetlerini arttırdığından, ekonomik kayba neden olan bir diğer etmendir. Su kirliliğinin başlıca kaynakları; endüstriyel atıklar, tarımsal akıntılar (*pestisitler*), petrol ürünleriyle alakalı kazalardan kaynaklanan sızıntılar ve *ağır metal iyonlarıdır* (2).

Ağır metaller, yüksek atom ağırlıklı ve yoğunlukları suyunkinden en az 5 kat daha fazla olan doğal olarak oluşan elementlerdir. Fakat endüstriyel, evsel, tarımsal ve tıbbi atıklar ile teknolojik uygulamalar sonucunda çevredeki miktarları artmaktadır. Bu artış insan sağlığı ve çevre üzerindeki potansiyel etkileri konusunda endişe

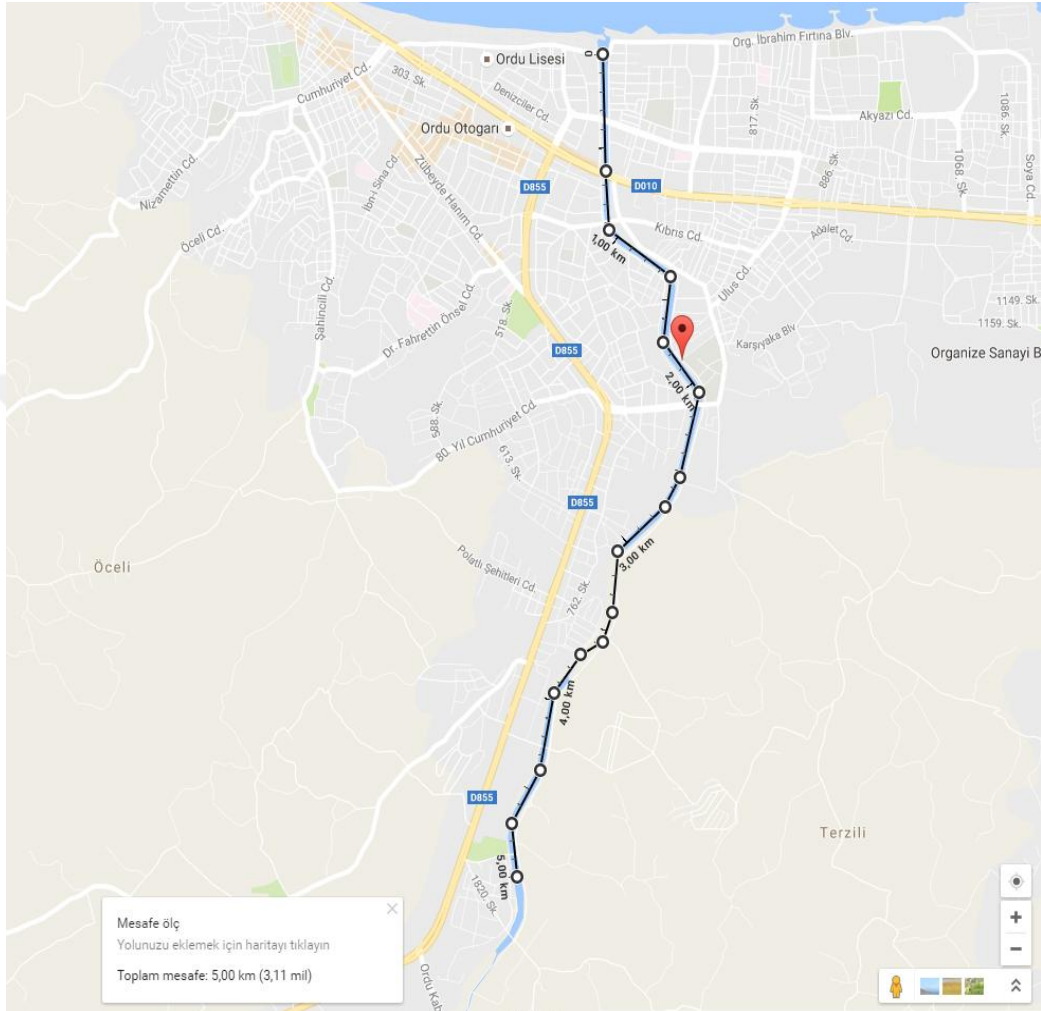
yaratmaktadır. Ağır metal toksisitesi maruz kalınan doz, maruz kalma yolu, bireyin yaşı, cinsiyeti, genetik yapısı ve beslenme alışkanlıklarına göre farklılık göstermektedir. Arsenik (As), kadmiyum (Cd), krom (Cr), kurşun (Pb) ve cıva (Hg) yüksek toksisiteye sahip ağır metaller olarak bilinmektedir. Bu elementler, düşük maruziyet dozlarında bile, çoklu organ hasarına sebep olabilmektedirler. Ayrıca ABD Çevre Koruma Ajansı ve Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı tarafından “karsinojen elementler” olarak sınıflandırılırlar (3)

Bu çalışmanın amacı, Ordu ili şehir merkezinden geçen Civil dere suyundaki ağır metal kirliliğini ve bu kirlilik tarafından teşvik edilen toksisiteyi *A. cepa* L. test materyali kullanarak araştırmaktır.



2. MATERYAL VE METOT

2.1. Su örneklerinin toplanması



Şekil 1.1. Örnek toplama istasyonları

Su örnekleri, Cival deresinin denize döküldüğü yere 100 metre kala ve şehir merkezi yönünde 1000 metrede (1 km) de bir olmak üzere Gazi Köprüsü ile Eski Pazar Köyü Mevkii arasında kalan toplam 5 km'lik alanda belirlenen altı (6) istasyondan alınmıştır. Su örnekleri belirlenen istasyonlardan 100 ml'lik steril şişelere, derenin uygun derinlikteki yerlerinden, su yüzeyinden 2016 Mayıs ayında tek bir zaman diliminde (bir kez) alınmış ve laboratuvara getirilmiştir.

2.2. Ağır metal analizleri

Laboratuvara getirilen su örnekleri filtre kâğıtları ile süzölmüş, elde edilen her bir süzökteki ağır metal iyonları “İndüktif olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS)” yardımıyla ölçölmüştür.

2.3. Kök ucu preparatlarının hazırlanması

Araştırma materyali olarak yaklaşık olarak eşit büyüklökte *A. cepa* L. tohumları kullanılmıştır. Tohumlar kontrol ve uygulama olarak iki (2) gruba ayrılmış, 85x100 çapında steril beherlerde 25 °C’de 72 saat çimlenmeye tabii tutulmuştur. Kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise Civil dere suyuyla muamele edilmiştir. Çimlenen tohumlar kurumaması için günlük olarak kontrol edilmiş ve gerekli ilaveler yapılmıştır. Uygulama periyodu sonunda, kök uçları distile su (dH₂O) ile yıkanmış ve geleneksel preparasyon teknikleri kullanılarak analizler için hazır hale getirilmiştir (4).

2.4. Kök uzunluğu, ağırlık kazanımı ve çimlenme yüzdesinin belirlenmesi

Civil dere suyunun *kök uzunluğu* üzerine etkisi radikula oluşumu temel alınarak, çimlenme sonrası her bir kök ucu uzunluğunun milimetrik cetvel yardımıyla ölçölmesi, *ağırlık artışı* üzerine etkisi, uygulama öncesi ve sonrası tohum ağırlıklarının hassas terazi ile tespit edilmesi ve *çimlenme* üzerine etkisi ise aşğıdaki eşitlik (1) kullanılarak belirlenmiştir (5).

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

2.5. Kromozomal anormallik, mitotik indeks (MI) ve mikronukleus (MN) testi

Deneysel işlemler sonrasında *kromozomal hasarların* tespiti amacıyla, her bir gruptaki kök uçları yaklaşık bir (1) cm uzunluğunda kesilmiş, iki (2) saat süresince “Clarke” fiksatorü ile (3:etil alkol/1:glasial asetik asit) fikse edilmiş, 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 içerisinde hidrolize edilmiş ve 30 dakika %45’lik asetik asit içerisinde bekletilmiştir. Son aşamada ise, kök uçları 24 saat Aseto-karmin ile boyanmış, %45’lik asetik asitte ezilmiş ve araştırma mikroskobu altında X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır (6).

Mikronukleus (MN) sıklığını belirlemek amacıyla ise, her bir grupta toplam 1000 hücre sayılmış, MN'li hücreler mikroskop altında tespit edilerek X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır. MN'li hücrelerin tespitinde Fenech ve ark. (7) tarafından belirlenen kriterler esas alınmıştır. Bu kriterlere göre:

- MN'nin çapı, hücre çekirdeğinin 1/3'ü kadar olmalı,
- MN'nin şekli yuvarlak ya da oval olmalı,
- MN hücre çekirdeğinden net bir şekilde ayırt edilebilmeli yada çekirdeğe temas durumunda nükleer zardan açıkça ayırt edilebilmelidir.

Mitotik indeksi (MI) hesaplamak için ise, hazırlanan preparatlardan her bir kök ucu için 1000 hücre sayılmış ve mitozaya giren hücrelerin yüzdesi eşitlik (2) kullanılarak hesaplanmıştır.

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

2.6. Anatmik hasarların belirlenmesi

Anatomik hasarın tespiti amacıyla, 72 saat süresince Civil dere suyuyla muamele edilen tohumlarının kök uçlarından enine kesitler alınarak, metilen mavisi ile boyanmış ve entellen yardımıyla daimi preparat haline getirilerek, mikroskopta X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır.

2.7. İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizi "IBM SPSS Statistics 22" paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterilmiş, ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "*bağımsız örneklem T testi*" kullanılarak belirlenmiş ve T değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Tablo 3.1. Dere suyundaki ağır metal derişimi ($\mu\text{g/L}$)

Element	Derişim ($\mu\text{g/L}$)
Vanadyum (V)	12.33 \pm 0.23
Krom (Cr)	13.56 \pm 1.52
Kobalt (Co)	4.52 \pm 0.58
Nikel (Ni)	12.46 \pm 1.96
Bakır (Cu)	7.13 \pm 0.90
Çinko (Zn)	27.35 \pm 2.40
Arsenik (As)	6.48 \pm 0.20
Kadmiyum (Cd)	1.17 \pm 0.01
Titanyum (Ti)	1.31 \pm 0.02
Kurşun (Pb)	2.82 \pm 0.10
Demir (Fe)	4380 \pm 302.44

* Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=6).

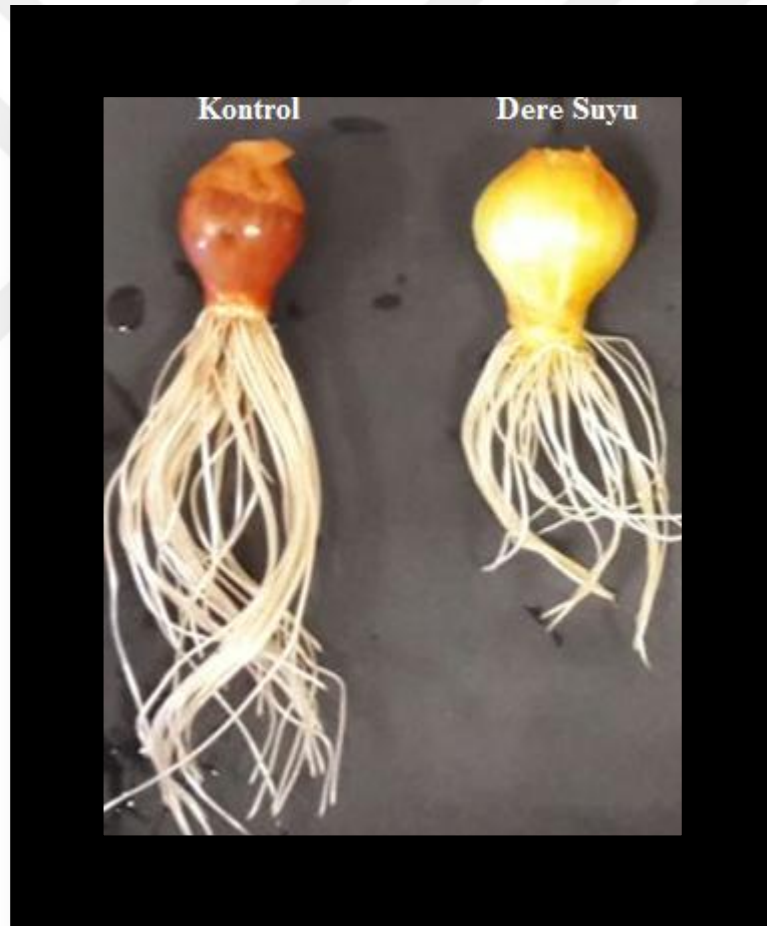
Dere suyunda ölçülen ağır metal iyonlarının derişimi Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Altı (6) istasyondan toplanan su örneklerindeki ağır metal derişimleri “İndüktif olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS)” yardımıyla ölçülmüş, her bir element için ise altı (6) istasyondan ölçülen değerlerin ortalaması alınmıştır. Su örneklerinde sırasıyla en fazla demir (Fe), çinko (Zn) ve krom (Cr), en az ise kadmiyum (Cd), titanyum (Ti) ve kurşun (Pb) derişimi ölçülmüştür.

Tablo 3.2. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının tohum çimlenmesi üzerine etkisi

Gruplar	Çimlendirilen tohum sayısı	Çimlenen tohum sayısı	Çimlenmeyen tohum sayısı	Çimlenme yüzdesi %
Grup I	50	48	2	96
Grup II	50	37	13	74

*Grup I: Kontrol, Grup II: Dere suyu.

Dere suyunda bulunan ağır metal iyonlarının tohum çimlenmesi üzerine etkisi Tablo 3.2’de gösterilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde, dere suyu uygulamasının kontrol grubuna göre çimlenme yüzdesinde %22 oranında azalmaya neden olduğu görülebilmektedir.



Şekil 3.2. Dere suyu uygulamasının kök büyümesi üzerine etkisi

Tablo 3.3. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi

Gruplar	N	Ortalama	T	P
Grup I	10	10.50±1.18	10.583	0.000*
Grup II	10	5.40±0.97		

*Grup I: Kontrol, Grup II: Dere suyu. N: örneklem sayısı. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “bağımsız örneklem T testi” kullanılarak belirlendi. T değeri=10.583 p=0.000<0.05 olduğundan istatistiksel olarak anlamlıdır.

Dere suyu uygulamasının kök uzunluğu üzerine etkisi Şekil 3.2 ve Tablo 3.3’de verilmiştir. 72 saatlik uygulama periyodu sonunda, kontrol grubunda ortalama 10.50±1.18 cm oranında, dere suyu ile muamele edilen grupta ise ortalama 5.40±0.97 cm oranında kök uzunluğu belirlenmiştir. Dere suyunda bulunan ağır metal iyonları, kök uzunluğunun kontrol grubuna göre yaklaşık %50 oranında azalmasına sebep olmuş, bu azalışında istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.4. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının tohum ağırlık artışı (g) üzerine etkisi

Gruplar	N	Ortalama başlangıç ağırlık	Ortalama son ağırlık	Ortalama ağırlık artışı	T	P
Grup I	10	6.78±1.01	13.32±0.99	+6.54	9.95	0.000*
Grup II	10	6.63±0.65	8.25±1.27	+1.62		

*Grup I: Kontrol, Grup II: Dere suyu. N: örneklem sayısı. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “bağımsız örneklem T testi” kullanılarak belirlendi. T değeri=9.95 p=0.000<0.05 olduğundan istatistiksel olarak anlamlıdır.

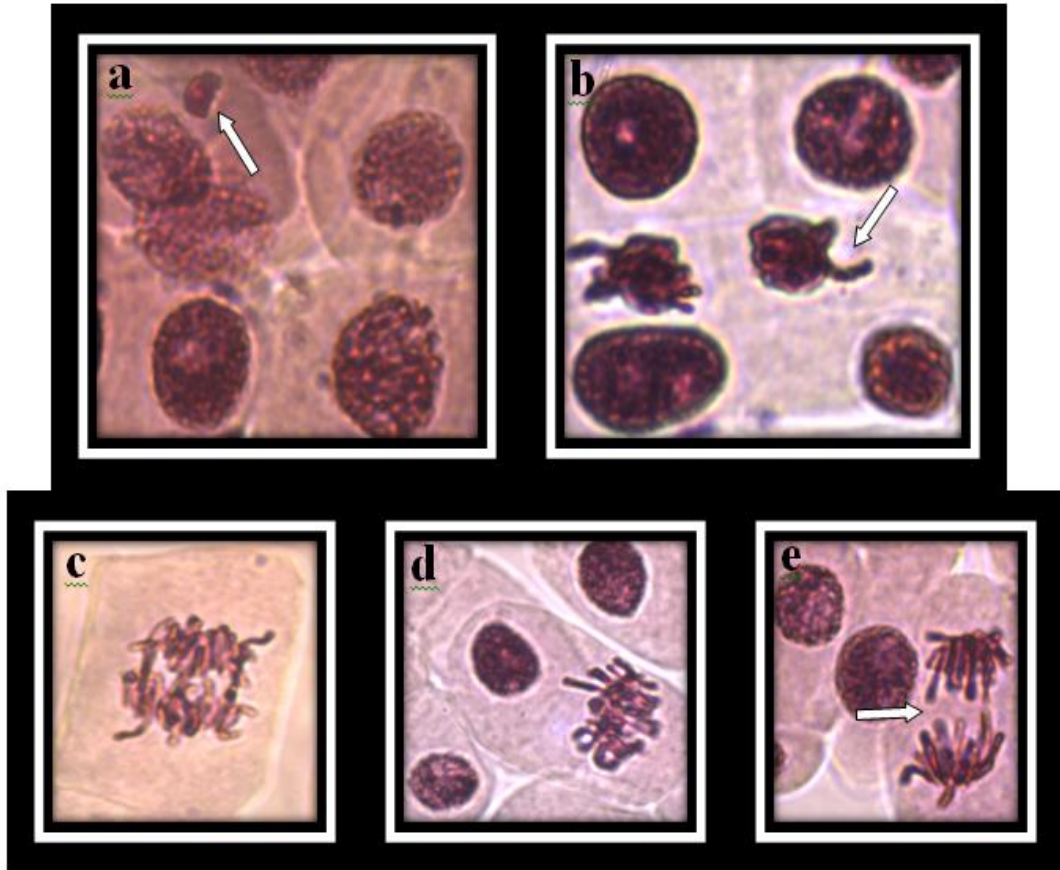
Dere suyu uygulamasının tohum ağırlığı üzerine etkisi Tablo 3.4’de gösterilmiştir. Tablodaki sonuçlar incelendiğinde, kontrol grubunda ortalama 6.54 g’lık, dere suyuyla muamele edilen grupta ise 1.62 g’lık bir ağırlık artışının olduğu görülebilecektir. Diğer bir ifadeyle, dere suyunda bulunan ağır metal iyonları, kontrol grubuna göre tohum ağırlık artışında azalmaya neden olmuş, söz konusu azalışta istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) bulunmuştur.

Tablo 3.5. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı

Gruplar	N	Hesaplanan hücre sayısı	Ortalama	T	P
Grup I	10	1000	0.40±0.52	-18.142	0.000*
Grup II	10	1000	35.60±6.11		

*Grup I: Kontrol, Grup II: Dere suyu. N: örneklem sayısı. MN: *mikronukleus*. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “*bağımsız örneklem T testi*” kullanılarak belirlendi. T değeri=-18.142 p=0.000<0.05 olduğundan istatistiksel olarak anlamlıdır.

Dere suyu uygulaması tarafından teşvik edilen mikronukleus (MN) oluşumu ve sıklığı Şekil 3.3 ile Tablo 3.5’de gösterilmiştir. Çeşme suyu ile muamele edilen kontrol grubunda çok az sayıda MN oluşumu gözlenirken, dere suyu uygulamasının MN sayısında oldukça fazla artışa sebep olduğu, bu artışında istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3.3. Dere suyundaki ağır metal iyonları tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a: MN), b: *fragment*, c: *C-mitoz*, d: *yapışkan kromozom*, e: *kromozom köprüsü*)

Tablo 3.6. Dere suyundaki ağır metal iyonları tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar

Hasar tipi	N	Analiz edilen hücre sayısı	Grup I	Grup II	T	P
FRG	10	1000	0.00±0.00	38.40±5.19	-23.398	0.000*
YK	10	1000	0.20±0.42	22.90±4.09	-17.439	0.000*
KK	10	1000	0.00±0.00	15.80±3.29	-15.172	0.000*
CM	10	1000	0.30±0.48	11.80±3.26	-11.038	0.000*

*Grup I: Kontrol, Grup II: Dere suyu. N: örneklem sayısı. FRG: *fragment*, YK: *yapışkan kromozom*, KK: *kromozom köprüsü*, CM: *c-mitoz*. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “*bağımsız örneklem T testi*” kullanılarak belirlendi. T değerleri sırasıyla= -23.398, -17.439, -15.172, -11.038 p=0.000<0.05 olduğundan istatistiksel olarak anlamlıdır.

Dere suyu uygulamasının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği kromozomal hasarlar ile bu hasarların sayıları Şekil 3.3 ve Tablo 3.6’da verilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde dere suyunda bulunan ağır metal iyonlarının *fragment* > *yapışkan kromozom* > *kromozom köprüsü* > *c-mitoz* şeklinde kromozomal hasarlara neden olduğu, söz konusu hasar sayılarındaki artışın ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) olduğu belirlenmiştir.

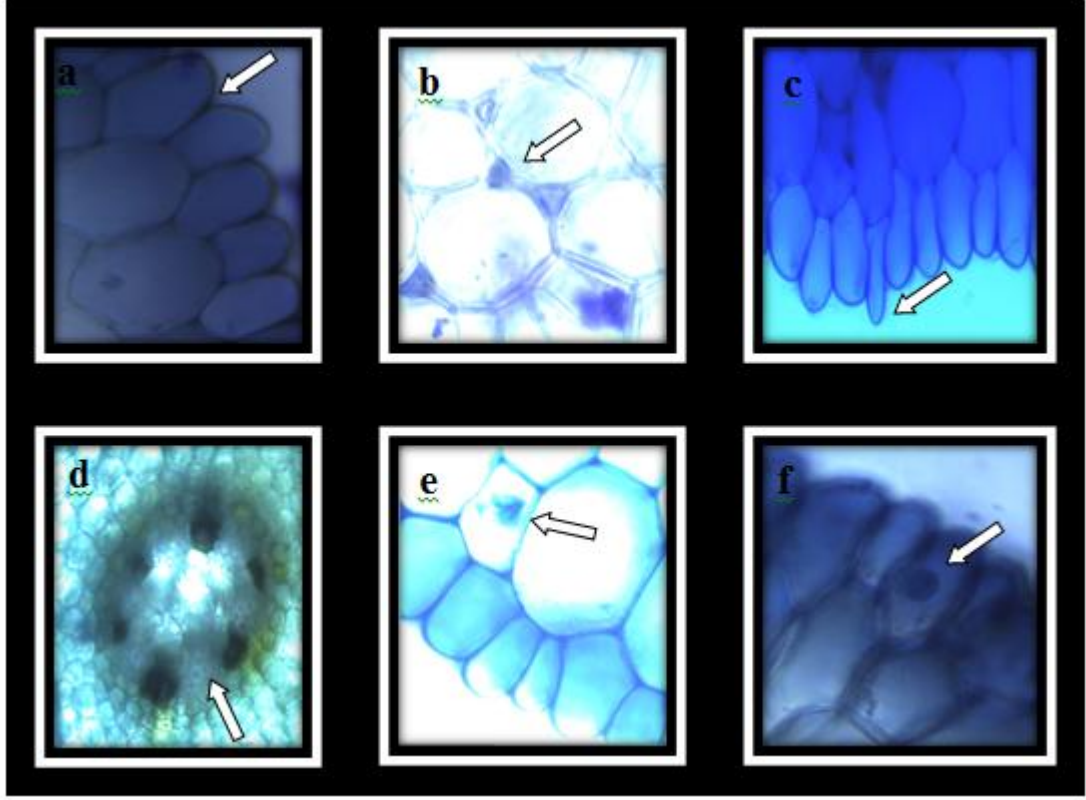
Tablo 3.7. Dere suyundaki ağır metal iyonlarının MI üzerine etkisi

Gruplar	N	Hesaplanan hücre sayısı	Ortalama	Yüzde (%)	T	P
Grup I	10	1000	875.20±45.48	8.75	7.515	0.000*
Grup II	10	1000	680.10±68.34	6.80		

*Grup I: Kontrol, Grup II: Dere suyu. N: örneklem sayısı. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. MI: *mitotik indeks*. MI her bir kök ucu için 1000 hücre sayılarak analiz edildi (toplam 10.000 hücre/uygulama) ve her bir uygulama grubu için yüzde olarak hesaplandı. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “*bağımsız örneklem T testi*” kullanılarak belirlendi. T değeri=7.515 p=0.000<0.05 olduğundan istatistiksel olarak anlamlıdır.

Dere suyu uygulamasının kök ucu hücrelerinin mitotik indeks (MI) değeri üzerine etkisi Tablo 3.7’de gösterilmiştir. Kontrol grubunda ortalama 875.20±45.48, dere suyu ile muamele edilen grupta ise ortalama 680.10±68.34 oranında MI sayılmıştır.

Dere suyunda bulunan ağır metal iyonları kök ucu hücrelerinde MI''in azalmasına sebep olmuş, söz konusu azalışında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0.05$) tespit edilmiştir.



Şekil 3.4. Dere suyundaki ağır metal iyonları tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar (a: nekroz, b: korteks hücre çeperinde kalınlaşma, c: hücre deformasyonu, d: belirgin olmayan iletim doku, e: korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi, f: yassılaştırmış hücre çekirdeği)

Dere suyu uygulamasının kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği anatomik hasarlar Şekil 3.4’de gösterilmiştir. Dere suyunda bulunan ağır metal iyonları nekroz, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi ve yassılaştırmış hücre çekirdeği şeklinde anatomik hasarlara sebep olmuştur.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Ordu ilinin önemli derelerinden biri olan ve şehir merkezinden geçen Civil dere suyundaki ağır metal kirliliği ile bu kirliliğin *A. cepa* L. tohumlarında meydana getirdiği toksik etkiler fizyolojik, sitogenetik ve anatomik parametreler yardımıyla araştırılmıştır.

Belirlenen altı (6) istasyondan toplanan su örneklerinin ICP-MS ile ölçümünde sırasıyla demir (Fe) > çinko (Zn) > krom (Cr) > nikel (Ni) > vanadyum (V) > bakır (Cu) > arsenik (As) > kobalt (Co) > kurşun (Pb) > titanyum (Ti) derişimleri belirlenmiştir. Dere suyundaki bu ağır metal derişiminin, dere çevresinde yerleşim gösteren başta ağaç işleme tesisleri olmak üzere fındık fabrikaları ve Küçük Orta Boy İşletme (KOBİ) olarak nitelendirilen sanayi kuruluşlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Zira, literatürde sanayi kuruluşlarının faaliyetleri sonucunda oluşan atıkların dere, ırmak, akarsu vb. su kaynaklarında ağır metal derişimlerini arttırdığı yönünde pek çok bilimsel çalışma bulunmaktadır (8).

Dere suyundaki ağır metal iyonlarının *A. cepa* L. tohumlarının fizyolojisi üzerine etkileri çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı parametreleri yardımıyla araştırılmıştır. Dere suyu uygulaması sonucunda *A. cepa* L. tohumlarının çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmalar tespit edilmiştir. Literatürde ağır metal toksisitesi üzerine, elde ettiğimiz sonuçları doğrulayan tarzda benzer çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Akın ve ark. (9) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, farklı bor (B) konsantrasyonlarına sahip olan Porsuk, Kocasu ve Emet Çayları (Kütahya) ile sulanan lahana (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) bitkisinin çimlenme hızı, çimlenme yüzdesi, kök-gövde uzunluğu, kök-gövde yaş ağırlığı ve kök-gövde kuru ağırlığı üzerine etkileri araştırılmış, sonuçta bor (B)'un lahana bitkisinin kök uzunluğu, kök yaş ve kuru ağırlığı üzerinde negatif, gövde gelişimi üzerinde pozitif, çimlenme yüzdesi üzerinde ise nötr bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Çavuşoğlu ve ark. (10) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, Kızılırmak nehri üzerinde belirlenen üç (3) farklı istasyondan toplanan rafineri atık suyunun *Vicia faba* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği sitotoksik etkiler çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışı parametrelerinin ölçülmesi ile araştırılmış, sonuçta rafineri atık suyunda bulunan ağır metal iyonlarının araştırılan tüm parametrelerde azalmaya

neden olduğu tespit edilmiştir. Çavuşoğlu ve ark. (11) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir diğer çalışmada ise, Melet ırmağı üzerinde belirlenen farklı istasyonlardan toplanan su örneklerinde ölçülen ağır metal iyonlarının *Vicia faba* L. tohumlarının fizyolojisi üzerine etkileri araştırılmış, sonuçta suda bulunan ağır metal iyonlarının fizyolojik parametrelerden çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu ve ağırlık artışında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir.

Araştırılan fizyolojik parametrelerdeki değer azalışın, ağır metallerin bitkinin kök ve gövde gibi organlarında görevli enzim sistemlerini inhibe ederek, su ve besin maddelerinin girişini engellemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Zira literatürde bu öngörümüzü doğrulayan tarzda pek çok bilgi bulunmaktadır. Örneğin *nikelin* (Ni) amilaz, proteaz ve ribonükleaz enzim aktivitelerini engelleyerek tohum çimlenmesini ve bitki büyümesini geciktirdiği (12), *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 (13), *bakırın* (Cu) çimlenme oranını düşürdüğü, ayrıca alfa-amilaz ve invertaz isoenzimlerinin aktivitelerini inhibe ederek nişasta ve sükrozun parçalanmasını engellediği (14), *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 (15,16) gösterilmiştir.

Civil dere suyunun *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği sitogenetik hasarlar mikronukleus (MN), kromozomal hasar ve mitotik indeks (MI) sayılarının tespiti ile değerlendirilmiştir. Gerçekleştirilen mikroskobik gözlemler sonucunda, kontrol grubu tohumların kök ucu hücrelerinde çok az sayıda MN ve kromozomal hasar ile oldukça yüksek MI oranı tespit edilirken, dere suyu uygulaması MN ve kromozomal hasar sayılarının artışına, MI sayısının ise azalmasına neden olmuştur. Dere suyundaki ağır metal iyonları fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü ve C-mitoz şeklindeki kromozomal hasarların oluşumunu teşvik etmiştir. Literatürde ağır metal iyonlarının, bitkilerde kromozomal hasar ve MN oluşumuna

neden olduğunu ve MI sayısını azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Yi ve ark. (17) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 12 saat boyunca 0.01-10 mM konsantrasyonda alüminyuma (Al) maruz kalan *Vicia faba* L. kök uçlarında, alüminyumun (Al) MN ve anafaz kromozomu hasar sayılarında belirgin bir artışa neden olduğu, ayrıca piknotik hücre sayısını arttırmak suretiyle MI'ı azalttığı rapor edilmiştir. Olorunfemi ve ark. (18) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, gemilerin balast suyunun sitotoksik ve genotoksik etkileri *Allium* testi kullanılarak araştırılmış, kök uçları farklı konsantrasyonlarda (% 0.5, % 1, % 5 ve % 10) balast suyuyla yıkanmış ve 48 saatin sonunda, balast suyunun tüm konsantrasyonlarda, kök ucu hücrelerinde kromozomal hasarları teşvik ettiği ve MI'ı azalttığı, bu azalışın ise uygulama konsantrasyonuna bağlı olduğunu gösterilmiştir. Staykova ve ark. (19) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, Bulgaristan'ın Panagjurishte bölgesinde su kirliliğine neden olan siyanür ve ağır metal iyonlarının sitogenetik etkileri *A. cepa* L. test materyali kullanılarak araştırılmış, sonuçta kontamine suyun kromozomal anormallik ve MN sayısında artışa, MI sayısında ise azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada, Civil dere suyundaki ağır metal iyonlarının *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği anatomik değişimler de araştırılmış, kök uçlarından alınan kesitlerin mikroskopta incelenmesi sonucunda nekroz, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, hücre deformasyonu, belirgin olmayan iletim doku, korteks hücrelerinde bazı maddelerin birikimi ve yassılaştırmış hücre çekirdeği şeklinde anatomik hasarlar gözlenmiştir. Literatürde, gerek ağır metal iyonları gerekse de diğer kimyasal ajanlar tarafından, kök ucu hücrelerinde teşvik edilen anatomik değişimleri araştıran bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Teixeira ve ark. (20) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, yüksek oranda demir (Fe) içeren süs kaya endüstrisi atık suyunun *A. cepa* L. kök anatomisinde meydana getirdiği değişimler araştırılmış, sonuçta atık suyun kök ucu hücrelerinde protoderm ve temel meristemin alanının yüzdesinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Türkmen ve ark. (21) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, Ordu ili Melet ırmağı suyunda bulunan ağır metal iyonlarının *A. cepa* L. kök uçlarında neden olduğu anatomik değişimler araştırılmış, sonuçta ağır metal iyonlarının hücre ölümü, belirgin olmayan iletim doku, anormal görünümlü hücre çekirdeği ve korteks parankimasında bazı maddelerin birikimi şeklinde anatomik hasarlara neden olduğu rapor edilmiştir. Acar ve ark (22) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise,

72 saat süresince Paraquat herbisitinin 10, 50 ve 100 ppm dozlarına maruz kalan *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinin anatomik yapısındaki 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 anatomik hasarlar gözlenmiştir.

Sonuç olarak, Civil deresinde ağır metal iyonlarından kaynaklanan bir kirliliğin olduğu, *A. cepa* L. test materyalinin ise söz konusu kirliliğin toksik etkilerini belirlemede uygun bir indikatör olarak kullanılabileceğini göstermiştir.



KAYNAKLAR

1. Briggs, D. 2003. Environmental pollution and the global burden of disease. *British Medical Bulletin* 68 (1): 1–24
2. Walsh, G.E. 1978. Toxic effects of pollutants on Plankton. In: *Principles of Ecotoxicology* (Butler G.C., editor.), pp. 257–274, John Wiley & Sons, Inc., New York.
3. Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K. and Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. In *Molecular, clinical and environmental toxicology*, pp. 133–164, Springer Basel.
4. Wei Q.X. 2004. Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science A* 12 (5): 1570–1576.
5. Atik, M., Karagüzel, O. ve Ersoy, S. 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 20: 203–208.
6. Staykova, T.A., Ivanova E.N. and Velcheva I.G. 2005. Cytogenetic effect of heavy metal and cyanide in contaminated waters from the region of southwest Bulgaria. *Journal of Cell and Molecular Biology* 4: 41–46.
7. Fenech, M., Chang, W. P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S. and Zeiger E. 2003. HUMN Project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research* 534 (1): 65–75.
8. Dündar, M.Ş., Altundağ, H., Kaygaldurak, S., Şar, V. ve Acar, A. 2012. Çeşitli endüstriyel atık sularda ağır metal düzeylerinin belirlenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 16 (1): 6–12.
9. Akın, B., Leblebici, S. ve Bingöl, N.A. 2013. Porsuk, Kocasu ve Emet çayları'na (Kütahya) ait suların lahanaya (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) bitkisinin bazı çimlenme parametreleri ve fide gelişimi üzerine etkisi. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 31: 13–26.
10. Çavuşoğlu, K., Yalçın, E. and Ergene, A. 2010. The investigation of cytotoxic effects of refinery wastewater on root tip cells of *Vicia faba* L. *Journal of Environmental Biology* 31, 465–470.

11. Çavuşoğlu, K., Yapar, K., Kınalıoğlu, K., Türkmen, Z., Çavuşoğlu, K. and Yalçın, E. 2010. Protective role of *Ginkgo biloba* on petroleum wastewater-induced toxicity in *Vicia faba* L. (fabaceae) root tip cells” *Journal of Environmental Biology* 31 (3): 319–324.
12. Ahmad, M.S. and Ashraf, M. 2011. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 214: 125–167.
13. Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P. and Pinelli, E. 2011. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 213:113–136.
14. Pena, L.B., Azpilicueta, C.E. and Gallego, S.M. 2011. Sunflower cotyledons cope with copper stress by inducing catalase subunits less sensitive to oxidation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 25: 125–129.
15. Rahoui, S., Chaoui, A. and El Ferjani, E.J. 2010. Membrane damage and solute leakage from germinating pea seed under cadmium stress. *Journal of Hazardous Materials* 178: 1128–1131.
16. Sfaxi-Bousbih, A., Chaoui, A. and El Ferjani, E. 2010. Cadmium impairs mineral and carbohydrate mobilization during the germination of bean seeds. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 1123–1129.
17. Yi, M., Yi, H., Li, H. and Wu, L. 2010. Aluminum induces chromosome aberrations, micronuclei, and cell cycle dysfunction in root cells of *Vicia faba*. *Environmental Toxicology* 25 (2): 124–129.
18. Olorunfemi, D., Duru, E. and Okieimen, F. 2012. Induction of chromosome aberrations in *Allium cepa* L. root tips on exposure to ballast water. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics* 65 (2): 147–151
19. Staykova, T.A., Ivanova, E.N. and Velcheva, I.G. 2005. Cytogenetic effect of heavy-metal and cyanide in contaminated waters from the region of southwest Bulgaria. *Journal of Cell and Molecular Biology* 4: 41-46.
20. Teixeira, M.B., Fernandes, Í.A., de Castro, E.M. and Techio, V.H. 2015. Genotoxicity and anatomical root changes in *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae) caused by the effluent of the processing of ornamental rocks. *Water Air & Soil Pollution* 226 (12): 1-11.

21. Türkmen, Z., Çavuşoğlu, K., Çavuşoğlu, K., Yapar, K. and Yalçın, E. 2009. Protective role of royal jelly (honeybee) on genotoxicity and lipid peroxidation, induced by petroleum wastewater- in *Allium cepa* L. root tips. *Environmental Technology* 30 (11): 1205–1214.
22. Acar, A., Çavuşoğlu, K., Türkmen, Z., Çavuşoğlu, K. and Yalçın, E. 2015. The investigation of genotoxic, physiological and anatomical effects of paraquat herbicide on *Allium cepa* L. *Cytologia* 80 (3): 343-351.



ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında İzmir’de doğdu. İlk, Orta ve Lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2007 yılında girdiği Süleyman Demirel Üniversitesi Şarkikaraağaç Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi Programından Haziran 2009’da mezun oldu. Aynı yıl Giresun Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde başladığı Lisans öğrenimini 2015 yılında tamamladı. 2015 yılı Güz döneminde başladığı Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programından Eylül 2017’de mezun oldu.