

Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Buğday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Mehmet AYBEKE, Göksel OLGUN

Trakya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Edirne-TÜRKİYE

Uğur SIDAL

Mustafa Kemal Üniv., Fen -Edebiyat Fak., Biyoloji Böl., Antakya, Hatay-TÜRKİYE

Dürdane KOLANKAYA

Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.03.1998

Özet: Çalışmada, zeytinyağı fabrikası atık suyunun *T. aestivum* (buğday) kök uçlarındaki sitotoksik ve mutajenik etkileri incelenmiştir. Bu amaçla tohumların çimlenme oranları, kök uçlarındaki mitotik bölünme anormallikleri ve total protein miktarları değerlendirilmiştir. Atık suyun farklı konsantrasyonlarında bekletilen tohumlarda çimlenme oranının düştüğü, buna karşın mitotik anormalliklerin ve mitotik sıklığın yükseldiği tespit edilmiştir. Özellikle mitotik sıklığın, bütün konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre birkaç katı yüksek olduğu da dikkati çekmiştir. Çalışmada çok nükleuslu olan veya parçalanmış nükleuslu olan hücrelerle birlikte sayısal veya yapısal kromozom mutasyonlarına da rastlanmıştır. Ayrıca protein miktarlarının da konsantrasyon ve muamele süresinin artışına bağlı olarak düştüğü gözlenmiştir. Sonuç olarak zeytinyağı fabrikası atık suyunun doğrudan nükleer madde ve protein sentezi üzerinde toksik etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Zeytinyağı fabrikası atığı, *Triticum aestivum* (buğday), sitotoksik etki, mutajenik etki, total protein miktarı.

The Effect of Olive Oil Mill Effluent on the Mitotic Cell Division and Total Protein Amount of the Root Tips of *Triticum aestivum* L.

Abstract: In this work sitotoxic and mutagenic effects Olive Oil Mill Effluent (OOME) on the root tips of *Triticum aestivum* L. were investigated. In this purpose, germination rate of seeds, mitotic division abnormalities and total protein amounts were evaluated. The seeds kept in various OOME concentrations, it was determined that germination rate decreased, whilst mitotic abnormalities and mitotic cell division frequency increased. Especially, the increased cell division frequency was of significance, almost several times higher than the control group. The cells having multinucleus or fragmented nucleus and numerical or structural mutations were also found. Furthermore it was observed that total protein amounts were fallen depending on the concentration and time of the treatment. Consequently, it was concluded that OOME has direct toxic effects on the nuclear matter and protein synthesis.

Key Words: Olive Oil Mill Effluent (OOME), *Triticum aestivum* (wheat), cytotoxic effect, mutagenic effect, total protein amount.

Giriş

Tahıl bitkileri, insanoğlunun yaşamında ve beslenmesinde büyük bir öneme sahiptir. Öyle ki, bir ülkede tahıl bitkileri sağlıklı nesillerin gelişmesinin yanısıra, yıllık rekolte, ithalat-ihracat oranları ile ekonomik yönden de önem taşımaktadır (1). Bu amaçla yıllık rekoltenin yükseltilmesi için tarımda verimliliği artırıcı her türlü yöntem denenmektedir. Kullanılan yöntemlerden biri de tarım alanlarının gerek sulama sularında gerekse doğal su kaynaklarındaki toksik içerikli maddelerin etkilerinin giderilmesidir. Günümüzde sulama suyu olarak kullanılan zeytinyağı fabrikası atık suları tarımsal endüstrinin tek kirletici örneğidir. Bu sular aynı zamanda doğal alıcı ortamlara yeni tarım alanlarına doğrudan verilmektedir. Kullanılan zeytinyağı işleme prosesine bağlı olarak farklı fenolik bileşikler içeren bu atık su, bitkiler üzerindeki çeşitli toksik etkileriyle önem taşımaktadır (2). Ülkemiz tarım sanayiinde de önemli bir yer tutan zeytinyağı işleme üniteleri yılda yaklaşık 2-3 milyon ton atık su üretmektedir. Bu atık su ile sulanan tarım alanlarının başlıca ürünü, buğday ve soya fasulyesidir. Konuyla ilgili daha önce yapılan değişik fiziksel ve kimyasal ajanların, çiçeklenme üzerine (3-6), bitki boyutları üzerine (4, 7, 8), tohumun protein miktarı üzerine (8-12), mayoz ve mitoz bölünme üzerine (5, 12-18) etkili olduğu açıklanmıştır. Çalışmamızda ülkemizde yaygın olarak tarımı yapılan ve gıda endüstrisinin de en önemli hammaddesi olan buğday bitkisi seçilmiştir. Ülkemiz açısından önemli bir yer tutan buğday rekoltelerinin artışına ışık tutmak amacıyla bu atık suyun buğday bitkisi kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği zararlı etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Çalışma Edirne Tarımsal Araştırma İl Müdürlüğü Kontrol Laboratuvarı'ndan temin edilen *Triticum aestivum* L. MURAT-I çeşidi buğday tohumları kullanılmıştır. Zeytinyağı fabrikası atık suyu ise, Edremit-Ayvalık Gömeç Mevkii zeytinyağı fabrikalarından temin edilmiştir. Atık suyun bileşimi Mercade ve Manresa (19)'dan temin edilmiş ve aşağıdaki tabloda sunulmuştur.

Doğal olarak zeytinyağı fabrikasından arıtılmadan su kanallarına bırakılan atık suyu tohum çimlenmesi ve özellikle kök ucu hücrelerindeki etkisini incelemek üzere çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan atık su denenmiştir (Direkt, 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000). Her bir konsantrasyon ve kontrol grubu için 10'ar adet tohum alınmış ve yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur (20). Çimlendirme deneyleri ise Kaymak (21)'den değiştirilerek uygulanmıştır. Çimlendirilecek tohumlar herbir konsantrasyon için ayrı ayrı işleme tabi tutulmuşlar ve herbir konsantrasyondaki tohumların çimlenme oranları kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Buna göre kontrol grubu tohumları 1 gece (yaklaşık 15 saat) distile suda bekletilmiştir. Her bir konsantrasyon için deney gruplarından biri 15 saat bekletilirken diğerleri de bu süre ile orantılı olarak 1,5-3-7,5 saat bekletilmiş ve çimlenme süresi (15 saat) tamamlanıncaya kadar distile suda bırakılmıştır. Bu işlemi takiben (10'ar ml eşit hacimli olmak üzere) kontrol grubu tohumları distile su ile, deney grubu tohumları da muamele edildiği konsantrasyon sıvısıyla ıslatılmış kurutma kağıtlı petri kaplarında 24°C'de çimlenmeye bırakılmıştır.

Hücre bölünmesinin araştırılması için çimlenen tohumların kök uçları meristematik bölgeden itibaren 1,5 cm kesilerek %0,5'lik Kolşisin'de +4°C'de 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra materyal Carnoy (3:%96 Alkol, 1:%45 Asetik asit) fiksatifinde +4°C'de 24 saat fikse edilmiştir.

Bileşenler	
Kuru madde (%)	12.0
Organik maddeler (%)	10.5
Mineraller (%)	2.5
<u>Organik bileşenler (%)</u>	
Şeker	5.0
Protein	1.2
Organik asitler	0.7
Polialkoller	1.8
Pektinler, tanenler	1.0
Polifenoller	1.0
Lipidler	0.1
<u>Mineral bileşenler (ppm)</u>	
P	500
K	3000
Ca	350
Mg	200
Na	450
Fe	35
pH	4.5-5
K.O.I.(g/l)	90-100

Tablo 1. Atık suyun bileşimi.

Fiksasyonu takiben örnekler önce %96 alkolde 2 dakika süre ile oda sıcaklığında yıkanmış ve sonra 1 N HCl'de 60°C'lik etüvde 10 dakika hidroliz edilmiş ve kök uçları Feulgen'de 1 gece bekletilmiştir. Feulgen'den çıkarılan materyal, %2'lik Aseto Orsein'de ezilmiş ve Prior ışık mikroskopunda incelenmiştir. Deneyler her bir doz için 3 kez tekrarlanmıştır. Hazırlanan preparatlardan ortalama 4000'er hücre sayılarak mitoz bölünmenin normal ve anormal evreleri incelenmiştir. Elde edilen bulguların fotoğrafları Olympus BH-2 fotomikroskopunda çekilmiştir. Preparatlar, yükselen alkol derecelerinden geçirilerek entellan ile sürekli hale getirilmiştir. Sonuçların istatistiksel analizleri de korelasyon testine göre yapılmıştır (22).

Total protein miktarının tespiti için direkt, 1/10, 1/100, 1/1000 ve 1/10.000'lik

konsantrasyonlarda zeytinyağı fabrikası atık suyu ile muamele görmüş tohumlar ve kontrol grubuna ait tohumlar 3'er gramlık gruplar halinde çimlendirilmiştir. Çimlenmenin beşinci gününde 15 mm uzunluğunda kesilen kök uçları -20°C'de Sanyo deep-freeze'de en az 24 saat süre ile dondurulmuştur. Dondurulan kökler +4°C'de porselen havanda ezilmiş ve 7 ml soğuk distile su ile homojenize edilmiştir. Homojenattan çözünür proteinlerin ekstraksiyonu OLGUN (23)'a göre +4°C'de gerçekleştirilmiştir. Kök ucu ekstraktlarındaki protein miktarı Warburg ve Christian yöntemine göre spektrofotometrik olarak "Cecil 5000 Instrument UV-VIS Spectrofotometer" ile ölçülmüştür (24).

Bulgular

Değişik konsantrasyonlarda zeytinyağı fabrikası atık suyu uygulanarak yapılan bu çalışmanın sonuçları 2 grupta değerlendirilmiştir.

I. Atık suyun tohumlarda çimlenme ve kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünme üzerine olan etkisi

Atık suyun tohum çimlenmesi üzerine olan etkisi

Atık suyun tohum çimlenmesi üzerine olan etkisi Tablo 2'de sunulmuştur. Tabloya göre direkt ve 1/10.000 konsantrasyonlarındaki tohumlarda çimlenme yüksek oranda görülürken, farklı konsantrasyonlarda ise (1/10, 1/100 ve 1/1000) çimlenme ya daha düşük olmuş ya da hiç gerçekleşmemiştir. Özellikle 1/10 ve 1/100 konsantrasyonlarının 15 saat ve 7,5 saatlik denemelerindeki tohumlarda çimlenme hiç gözlenmemiştir.

Konsantrasyon-süre	Çimlenme (%)	Konsantrasyon-süre	Çimlenme (%)
Direkt- 15 saat	80	1/100- 15 saat	-
Direkt- 7,5 saat	90	1/100- 7,5 saat	-
Direkt- 3 saat	95	1/100- 3 saat	15
Direkt- 1,5 saat	95	1/100- 1,5 saat	95
1/10- 15 saat	-	1/1000- 15 saat	40
1/10- 7,5	-	1/1000- 7,5 saat	-
1/10- 3 saat	15	1/1000- 3 saat	15
1/10- 1,5 saat	95	1/1000- 1,5 saat	95
1/10.000-15 saat	70	KONTROL	99-100
1/10.000- 7,5 saat	90		
1/10.000- 3 saat	60-70		
1/10.000- 1,5 saat	95		

Tablo 2. Atık suyun farklı konsantrasyon ve muamele sürelerinde tohum çimlenmesi üzerine olan etkisi.

Konsantrasyon (süre)	Sayılan hücre	Bölünen hücre	Mitotik sıklık (%)
Kontrol	8040	1696	20
1/10.000 (1,5)	602	587	97,5
" (3)	3120	2703	86,6
" (7,5)	2507	1125	44,8
" (15)	5580	1550	27
1/1000 (1,5)	2312	2208	95,5
" (3)	1348	564	41,8
" (7,5)	-	-	-
" (15)	1233	698	50
1/100 (1,5)	1967	1679	85,3
" (3)	519	291	56
" (7,5)	-	-	-
" (15)	-	-	-
1/10 (1,5)	1578	1415	89,6
" (3)	-	-	-
" (7,5)	-	-	-
" (15)	-	-	-
Direkt (1,5)	3013	2838	94,19
" (3)	4189	3279	78,2
" (7,5)	9116	1593	17
" (15)	6468	1596	24,6

Tablo 3. Zeytinyağı fabrikası atık suyunun farklı konsantrasyonlarının mitotik sıklık üzerine etkisi.

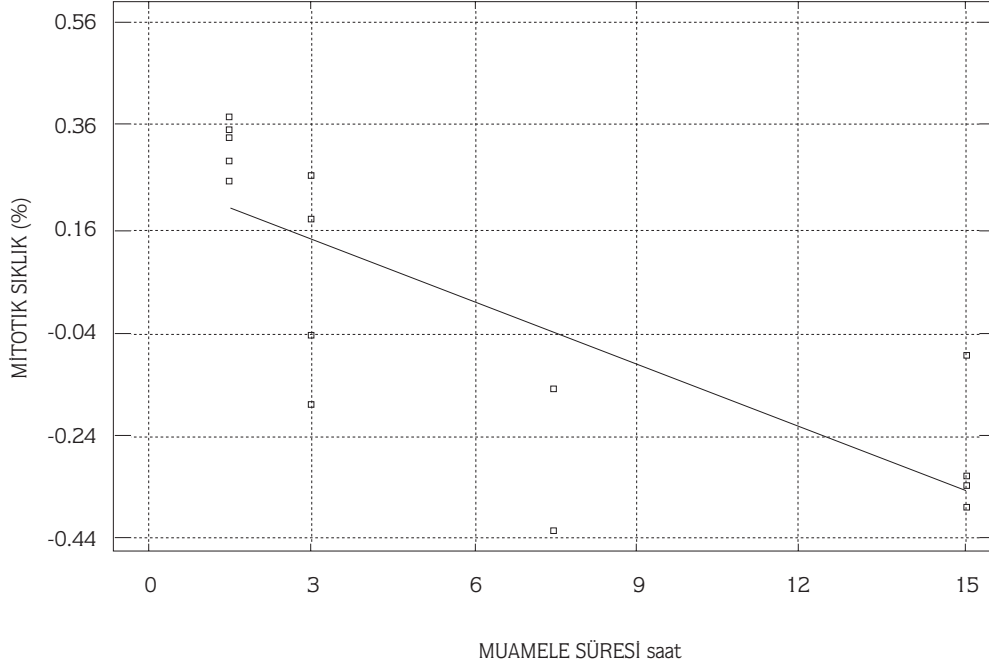
Mitotik sıklık üzerinde atık suyun farklı konsantrasyonlarının etkisi

Mitotik sıklık üzerinde atık suyun farklı konsantrasyonlarının etkisi Tablo 3'de gösterilmiştir. Bu tabloya göre tüm konsantrasyonlarda mitotik sıklık ile muamele süresi arasında bir ters orantının olduğu saptanmıştır (Şekil 1). Bu ters orantıya rağmen bütün konsantrasyonlardaki mitotik sıklığın kontrolden çok yüksek (direkt-7,5 saatlik deneme hariç) olduğu da dikkati çekmiştir. Özellikle mitotik sıklığın 1/10.000 konsantrasyonunda 1,5 saat bekletilen tohumlarda %97,5 ve direkt (seyreltilmemiş atık su) konsantrasyonun 1,5 saatlik bekletilmesinde ise %94,19 olduğu görülmüştür.

Mitoz bölünmede meydana gelen anormallikler ve anormallik oranı

Atık suyun farklı süre ve konsantrasyonlarında çimlendirilen tohumların mitoz evrelerinde saptanan anormallikler, kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak Şekil 2 ve 3'de verilmiştir. Bu anormalliklerin yanısıra kontrol grubundan farklı olarak, değişik konsantrasyonlarda muamele görmüş hücrelerde nükleus parçalanmasına, kromozom yapılarında kırılmalara ve sayısal mutasyonlara da rastlanmaktadır (Şekil 4). Kök ucu hücrelerinin mitoz bölünmelerinde görülen anormallik oranı Tablo 4'de gösterilmiştir. Bu verilerden mitotik anormallik ile muamele süresi

Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Buğday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi



Şekil 1. Muamele süresi ile mitotik sıklık arasındaki ilişki.

arasında herhangi bir ilişkinin bulunmadığı ve en yüksek anormalliğin direkt ve 1/10.000 konsantrasyonun 3 saatlik uygulamasında olduğu görülmüştür. Mitotik anormalliğin konsantrasyon ve muamele süresiyle herhangi bir ilişkinin bulunmadığı istatistiksel olarak da saptanmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki atık suyun bölünmenin farklı evrelerine etkisi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan atık suyun mitoz bölünme üzerindeki etkisi, Tablo 5'de sunulmuştur. Tablo'ya göre mitotik anormallikler direkt ve 1/10.000 gruplarında en yüksek değerlerde olmak üzere hemen hemen bütün konsantrasyonlarda görülmüştür. Özellikle profaz evresindeki anormallik oranı Direkt-15 saatlik denemede %98,7'ye 1/10.000-7,5 saatlik uygulamada ise %71'e kadar yükselmiştir. Uygulanan konsantrasyon ve süre ile mitotik anormallik arasında istatistiksel açıdan bir korelasyon saptanamamıştır.

II. Atık suyun kök uçlarındaki total protein miktarı üzerine etkisi

Farklı konsantrasyonlarda zeytinyağı fabrikası atık suyu ile çimlendirilmiş tohumlarda kök uçlarının total protein miktarları Tablo 6'da gösterilmektedir. Tablo 6'ya göre, total protein miktarlarının doza ve muamele süresindeki artışa bağlı olarak azalmakta olduğu saptanmıştır.

Konsantrasyon (süre)	Sayılan hücre	Bölünen hücre	Mitotik sıklık (%)
Kontrol	8040	36	0,004
1/10.000 (1,5)	602	2	0,33
“ (3)	3120	1212	38,84
“ (7,5)	2507	771	30,7
“ (15)	7768	4	0,5
1/1000 (1,5)	2312	8	0,34
“ (3)	1348	317	23,51
“ (7,5)	-	-	-
“ (15)	1233	62	5
1/100 (1,5)	1967	359	18,25
“ (3)	519	29	0,055
“ (7,5)	-	-	-
“ (15)	-	-	-
1/10 (1,5)	1578	5	0,31
“ (3)	-	-	-
“ (7,5)	-	-	-
“ (15)	-	-	-
Direkt (1,5)	3013	448	14,86
“ (3)	4189	1057	25,2
“ (7,5)	9116	199	1,3
“ (15)	6468	1574	24

Tablo 4. Zeytinyağı fabrikası atığının değişik süre ve konsantrasyonlarında neden olduğu mitotik anormallik oranları.

Tartışma

Çalışmamızda zeytinyağı fabrikası atık suyunun farklı süre ve konsantrasyonlarının *Triticum aestivum* L. (buğday) MURAT-I çeşidinin kök ucundaki etkileri incelenmiş ve sonuçta bu atık suyun öncelikle çimlenme üzerine negatif yönde etki ettiği görülmüştür. Ayrıca kök ucu meristemi üzerinde yapılan mikroskopik çalışmalarda bu atık suyun nükleus parçalanmasına, mikronükleus oluşumuna, mitotik anormalliklere, kromozomlarda yapısal ve sayısal mutasyonlara neden olduğu saptanmıştır.

Farklı konsantrasyon ve muamele sürelerinin mitotik sıklık üzerindeki etkisi incelendiğinde, mitotik sıklığın konsantrasyon ile herhangi bir ilişkisinin bulunmadığı; buna karşın muamele süresi ile ters orantılı olduğu saptanmıştır. Konuyla ilgili olarak farklı kimyasal ve fiziksel ajanlarla muamele edilen farklı bitkilerin kök uçlarında yapılan çalışmalarda buna benzer bulgulara rastlanmıştır. Örneğin X ve gama ışınlarının *Hordeum vulgare* L. (arpa) kök ucu hücrelerindeki mitotik bölünme ve total protein miktarı üzerine olan etkisi, bazı pestisitlerin arpa bitkisinde bazı

Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Buğday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Tablo 5. Farklı sürede ve konsantrasyon çimlendirilen tohumların mitoz safhalarındaki anormallik oranları.

Kons.(Süre)	Profaz			Metafaz			Anafaz			Telofaz		
	N*	A*	%*	N	A	%	N	A	%	N	A	%
Kontrol	1505	24	1,5	40		4	11	8	0	0	40	8
16												
1/10.000 (1,5)	575	1	0,17	8	0	0	1	0	0	3	0	0
" (3)	2683	1210	45	9	1	11,1	3	0	0	8	1	12,5
" (7,5)	1069	765	71	32	4	11	2	0	0	16	2	11
" (15)	1505	24	1,5	40	4	11	8	0	0	40	8	16
1/1000 (1,5)	2149	8	0,37	39	0	0	3	0	0	17	0	0
" (3)	553	317	57	3	0	0	1	0	0	7	0	0
" (7,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" (15)	549	59	9,7	24	1	4,1	1	0	0	4	1	20
1/100 (1,5)	1635	359	21,9	39	0	0	1	0	0	4	0	0
" (3)	282	29	10	7	0	0	0	0	0	2	0	0
" (7,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1/10 (1,5)	1372	5	0,36	31	0	0	2	0	0	10	0	0
" (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" (7,5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Direkt (1,5)	2810	448	15,9	11	0	0	7	0	0	10	0	0
" (3)	3149	1047	33,2	76	0	0	6	1	16	48	9	18,7
" (7,5)	1506	193	12,5	55	2	3,5	4	1	20	22	3	12
" (15)	19	1534	98,7	24	17	41	4	1	20	15	22	59,4

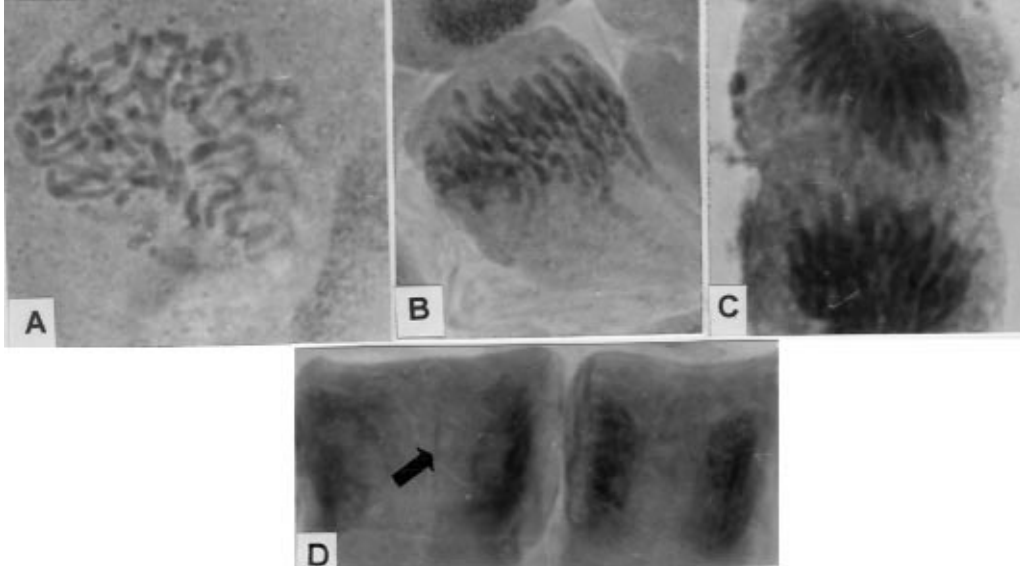
N*: Normal safha, A*: Anormal safha, %*: Anormallik yüzdesi

herbisit ve insektisitlerin ise *Allium cepa* L. (soğan) bitkisinin kök uçlarındaki sitolojik etkileri çalışmamızdaki sonuçlara benzer bulgular göstermektedir (20, 23, 25, 26).

Bilindiği üzere fenolik bileşikler ve bunların türevleri gerek insan gerek hayvan ve gerekse bitkilerde sitotoksik ve genotoksik hasarlara sebep olmaktadır (27-29). Bu etkisini kardeş kromatid değişiminde artışa neden olan DNA polimerazı inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir. Çünkü konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada kurşunun, toksik etkisini direkt DNA polimerazı inhibe ederek gösterdiği belirtilmiştir (29). Bizim araştırmalarımızda bu toksik etkinin istatistiksel açıdan mitotik anormallikler ile herhangi bir ilişkisi bulunamamıştır.

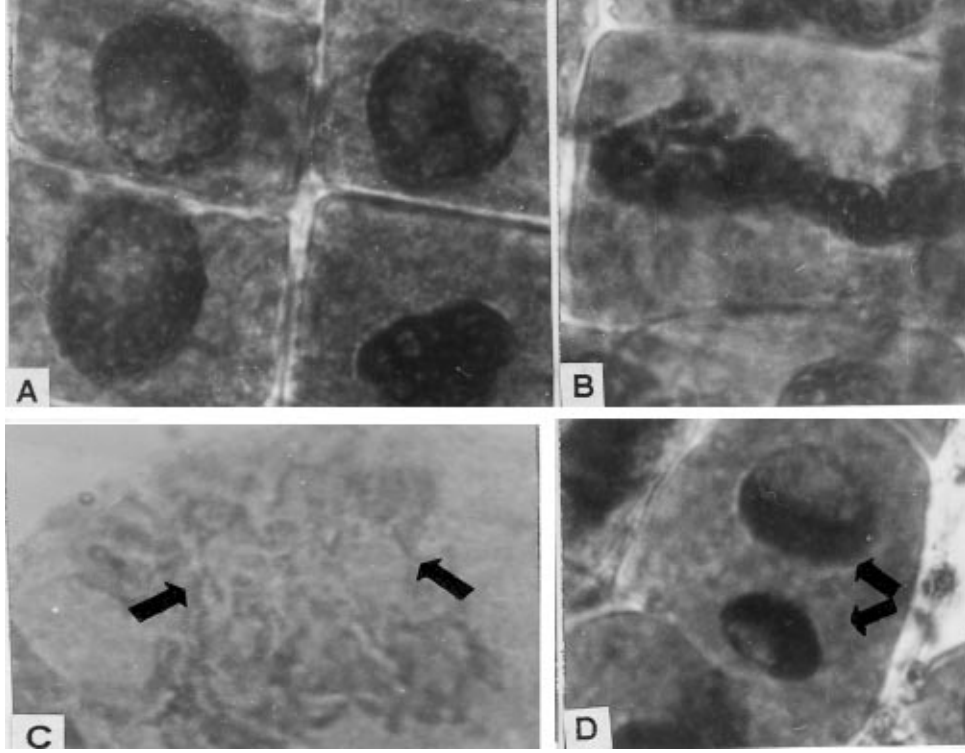
Konsantrasyon- (süre-saat)	Ortalama total protein	Konsantrasyon- (süre-saat)	Ortalama total protein
Kontrol	0,3202	1/100(1,5)	0,1119
1/10.000(1,5)	0,2346	1/10(1,5)	0,1491
1/10.000(3)	0,2345	1/10(3)	0,1284
1/10.000(7,5)	0,1347	Direkt(1,5)	0,1725
1/10.000(15)	0,1219	Direkt(3)	0,1504
1/1000(1,5)	0,1820	Direkt(7,5)	0,0842
1/1000(3)	0,1340	Direkt(15)	0,0749

Tablo 6. Atık suyun kök uçlarındaki total protein miktarı üzerine etkisi.



Şekil 2. Kontrol grubundaki mitoz bölünme safhaları A. Profaz, B. Metafaz, C. Anafaz, D. Telifaz (Hücre Plağı İşaretli) 10µ.

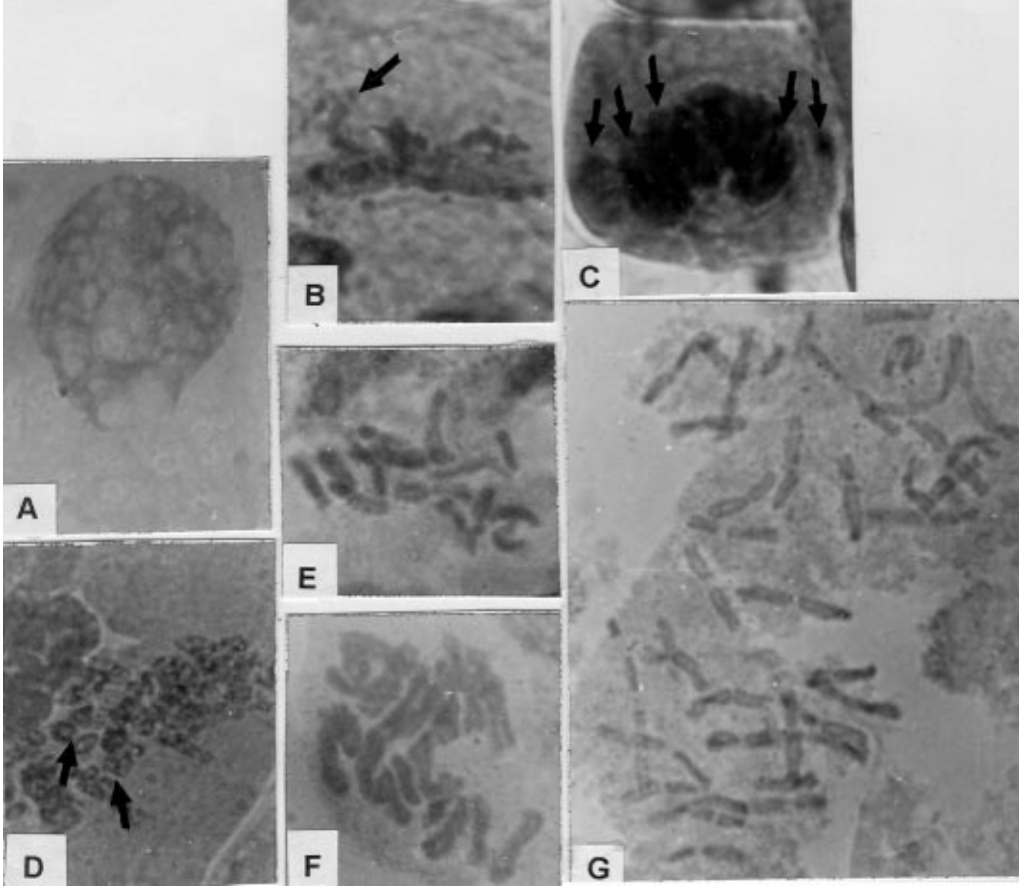
Ancak kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmada, özellikle direkt, 1/10.000 ve 1/1000 konsantrasyonlarının 3 saat uygulanması sonucu çok yüksek derecede anormalliğe neden olduğu görülmüştür. Anormalliğin oluşması konsantrasyona ve uygulama zamanına bağlı görülmemektedir. Çünkü en yüksek anormallik oranı Direkt, 1/10.000 konsantrasyonlarında olurken en düşük anormallik ise 1/100 konsantrasyonda görülmüştür. Çalışmamızda bu atık suyun profazda granülasyona, heterojen kromatin dağılımına, metafazda yığılmaya, anafazda köprü oluşumuna, telifazda erken veya geç sitokineze, hücre plağının oluşmamasına, asimetrik



Şekil 3. Atık suyun farklı konsantrasyonunun neden olduğu anormallikler. A. Profaz'da Granulasyon ve Heterojen Kromatin Dağılımı, B. Metafaz'da Kromozom Yığılması, C. Anafaz'da Kromozom Köprüleri (İşaretli), D. Telo faz'da Asimetri ve Hücre Plağının Oluşturulmaması (İşaretli). 10µ.

kromozom dağılımına ve kromozomlarda heterojen çözümler gibi değişik anormalliklere neden olduğu gözlenmiştir. Daha önce Capasso ve ark. (31), polifenol içeren atık sularla sulanmış tarım alanlarında yetiştirilen bitkiler üzerinde, benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bu anormalliklerin, muhtemelen atık suyun mitotik sikluskaki DNA sentezi ve tamir mekanizmasında yer alan enzimatik reaksiyonlar üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı meydana geldiği ileri sürülmektedir (29). Bunların yanısıra çalışmamızda mutajenik etki olarak kromozom yapılarında kırılmalara ve kromozom sayısında yüksek oranda sapmalara, nükleus parçalanmalarına ve mikronükleus oluşumlarına da rastlanmıştır. Bu konuyla ilgili olarak önceki çalışmalarda mutajenik aktiviteden bahsedilmiş, fakat detaylı bilgi verilmemiştir.

Zeytinyağı fabrikası atık sularının çimlenme üzerine olan etkisi incelendiğinde özellikle 1/10 ve 1/100 gruplarının 15 ve 7,5 saatlik sikluslarında tohumların hiç çimlenmediği tesbit edilmiştir. Bütün tablolar değerlendirildiğinde hem çimlenmenin hem de mitotik anormallik ve mitotik sıklığın direkt ve 1/10.000 konsantrasyonlarında diğerlerinden daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Bizim görüşümüze göre, bu beklenmedik etki, muhtemelen atık sudaki fenolik



Şekil 4. Atık suyun farklı konsantrasyonlarının neden olduğu nükleus ve kromozom anormallikleri (A-F). A. Interfaz Nükleusunda Kromatin Kümelenmesi, B. Parçalanmış Nükleus (İşaretli), C. Çok Nükleuslu Bir Hücre (İşaretli), D. Kromozom Kırılmaları (İşaretli), E-F. Kromozom Sayısındaki Sapmalar, E. 14 Kromozomlu, F. 17 Kromozomlu Hücreler G. Kontrol Grubu (Kromozom Sayısı 2N=42).

bileşiklerin farklı konsantrasyonlardaki bulunma oranlarına bağlı olarak görülmüştür. Diğer bir deyişle, fenolik bileşiklerin birbirleri üzerinde aktiviteyi hızlandırıcı veya düşürücü olarak etkisi olmuştur. Nitekim bu atık su ile ilgili olarak daha önce yapılan çalışmalarda farklı içerik ve konsantrasyonlara maruz bırakılan bitkilerde meyve ve yaprak absisyonuna sebep olduğu saptanmıştır (2, 32). Buna ilaveten “hydroxytyrozol” gibi bazı fenolik bileşikler, tohum üzerine “etilen” hormonuna benzer bir şekilde etki etmektedir. Dolayısıyla farklı fenolik bileşiklerin bitkilerin metabolik aktivitelerinde hızlandırıcı veya düşürücü etki gösterdikleri tespit edilmiştir.

Bizim çalışmalarımızda da atık suyun, mitotik aktivite üzerinde hızlandırıcı etkisinin olduğu saptanmıştır.

Bugüne kadar konuyla ilgili yapılan çalışmalarda zeytinyağı fabrikası atık suyunun hücrelerdeki metabolik aktivite üzerinde etkili olduğu, ancak total protein miktarı üzerine etkili olup olmadığı konusunda bir bilgiye rastlanmamıştır. Gerek mitoz bölünme ve gerekse kromozomlar üzerinde olumsuz etkisi dikkate alındığında hücrelerdeki protein sentezinin transkripsiyon ve translasyon aşamasında etkilenmiş olabileceği düşünülmektedir. Bu amaçla zeytinyağı fabrikası atık suyunun farklı konsantrasyonları ile muamele görmüş tohumların kök uçlarındaki total protein miktarları incelenmiş ve sonuçta konsantrasyon ve muamele süresinin artışıyla orantılı olarak total protein miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu konuyla ilgili etki mekanizması, DNA miktarındaki ve mRNA sentezindeki azalma ve enzim inhibisyonu ile açıklanabilir (2, 27, 28).

Zeytinyağı fabrikası atık suyunun meristematik doku hücrelerinde genellikle mitoz bölünme sıklığını arttırması, hücrelerde yapısal ve sayısal kromozom anormalliklerine neden olması ve DNA hasarına yol açması, bunlara bağlı olarak da total protein içeriğinde azalma meydana getirmesi, olası mutajenik ve toksik etkisinin bir sonucudur. Özellikle tarım ekonomisiyle gelişmekte olan ülkelerde bu sonucun, yıllık total üretiminde büyük kayıplara neden olacağı şüphesizdir. Bu amaçla yaptığımız bu çalışmanın konuyla ilgili bundan sonraki çalışmalara katkıda bulunacağı inancındayız.

Teşekkür

İstatistiksel testlerde yardımlarından dolayı Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Öğretim Görevlisi Dursun AYDIN'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Inan H.: Tarımsal Yayım. Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fak., Yay. no: 151, Ders kit. no:12, Tekirdağ, 1992.
2. Bartolini S., Capasso R., Evidente A., Giorelli F., Vitagliano C.: Effect of Olive oil Mill wasters and their main polyphenols on leaf and fruit abscission. Acta Horticulturae 356: 292-296, 1994.
3. Donini B., Devreux M. and Scarscia-Mugnozza G.T.: Genetic effects of gametophyte irradiation in barley-I. Seedling mutants. Radiat. Bot., 10: 79-86, 1970.
4. Kapoor M.L. and Natarajan A.T.: Response of some varieties of hexaploid wheat and two-rowed barley variety to chronic gamma-irradiation. Indian J. Genet. and Plant Breeding, 30(2): 335-346, 1970.
5. Sutka J.: Effects of gamma irradiation in barley at different developmental stages. Acta Agron. Acad. Sci. Hung., 20: 339-349, 1971.
6. Volodin V.G., Kartel N.A. and Lisovskaya Z.I.: Criteria of radiosensitivity of plants. Vestsi Akad. Nauk USSR, Ser. Biyologichnich Nauki 1: 65-68, 1972.

7. Conger A.D. and Stevenson H.Q.: A correlation of seedling height and chromosomal damage in irradiated barley seeds. *Radiat. Bot.* 9: 1-14, 1969.
8. Bilge E. ve Ersoy G.: Streptomycin, X ışınları ve γ ışınları ile muamelenin *Hordeum vulgare* (Arpa) üzerine etkileri. *Türk. Biy. Dergisi* 22: 42-49, 1972.
9. Scholz F.: Experiences with induced high-protein mutants of barley. *Ber. pflanzenzüchter*, 4: 37-42, 1971.
10. Mikaelson K.: An erectoides mutant in barley with increased seed protein content. *Hereditas*, 72(2): 201-204, 1972.
11. Bilge E., Oraler G. ve Olgun A.: Yerli ve Yabancı bazı arpa varyeteleri üzerinde ışınsal ve kimyasal mutagenlerin etkisi. I. TÜBİTAK, IV. Bilim Kongresi (Tarım ve Ormanlık Araştırma grubu), 1977.
12. Bilge E., Oraler G., Kocaoğlu M., Olgun A. ve Kurter S.: Üstün vasıflı arpa varyetelerinin elde edilmesi yolunda temel genetik çalışmalar. *TOAG/162*, 1982.
13. Swietlinska Z. and Evans H.J.: Induction of chromosome aberrations by X-rays and chemical mutagens in a desynaptic mutant and in wild-type barley. *Mut. Res.*, 10: 185-196, 1970.
14. Kaplan I.S., Kaplan A.A., Alexakhin R.M. and Khovostova V.V.: Effects of chronic irradiation with ⁹⁰Sr and external γ -irradiation on cytogenetic changes of some agricultural crops. *Genetika*, 8(8): 52-59, 1972.
15. Dishler V.Y., Filipeka V.F. and Neagle E.F.: The influence of ionizing radiation on the fertility and frequency of chromosome aberrations in the meiotic cells of barley. *Plant Breeding Abst.*, 43(11): 716, 1973.
16. Gelin O.E.V.: The cytological effect of different seed treatments in X rayed barley. *Hereditas*, 27: 209-219, 1970.
17. Sakurai N. and Matsumura S.: On the relation of chromosomal aberrations to gamma-ray dosage and rate in barley. *Seiken Ziho*, 12: 61-69, 1961.
18. Nicoloff H. and Gecheff K.: Methods of scoring induced chromosome structural changes in barley. *Mut. Res.*, 34: 233-244, 1927.
19. Mercade M.E. and Monresa M.A.: The Use of Agroindustrial by Products for Biosurfactant Production. I. of the AM Oil. Chem. Society., 71(1): 61-64, 1994.
20. Grover I.S., Tyagi P.: Cytological effects of some common pesticides in barley. *Environ. Exp. Bot.*, 20: 243-245, 1980.
21. Kaymak F.: Anadolu-83 çavdar çeşidinin (*Secale cereale* L.) Mitoz Bölünme devresinde kromozomlar üzerinde çeşitli mutagenlerin ve atık maddelerin etkileri. *Tr. J. of Agricultural and Forestr.*, 18: 501-505, 1994.
22. Mather K.C.: *Statistical Analysis in Biology*, p: 267, University paperbacks, London, 1965.
23. Olgun A.: Effects of X and Gamma rays on the mitotic cell division and the protein content at the root tips of *Hordeum vulgare* L.. *İst. Üniv. Fen Fak. mec. Seri. B.* 50: 45-49, 1985.
24. Warburg O. and Christian W.: Ultraviolet absorption analysis at E280/260 nm. after removal of non-protein materials by dialysis of fractionation. *Biochim. Z.*, 310: 384-392, 1941.
25. Rao B.V., Rao B.G.S., Sharma C.B.S.R.: Cytological effects of herbicides and insecticides on *Allium cepa* roots meristems. *Cytologia*, 53(2): 255-261, 1988.

Zeytinyağı Fabrikası Atık Suyunun Buğday (*Triticum aestivum* L.) Kök Ucu Hücrelerindeki Mitoz Bölünme ve Total Protein Miktarı Üzerine Etkisi

26. Aktaş T., Ekinci F., Sidal U., Sidal F.: Endosülfanın mercimek (*Lens esculanta*) kök ucu hücreleri üzerine etkileri. Tr. J. of Biology, 18: 27-37, 1994.
27. Migliore L., Baraler, Bosco E., Giorgelli F., Minnunni M., Scarpato R. and Loprieno N.: Genotoxicity of emthyglyoxal: cytogenetic damage in human lymphocytes in vitro and intestinal cells of mice. Carcin. 11, no 9: 1503-1507, 1990.
28. Williams G.M.: Methods for evaluating chemical genotoxicity. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicoll., 29: 189-211, 1989.
29. De Marco A., Romanelli M., Stazzi M.A. and Vitagliano E.: Induction of micronucleated cells in *Vicia faba* and *Allium cepa* root tips treated with NTA. Mut. Res., 171: 145-148, 1986.
30. Rajah T., Ahuja Y.R.: In vivo genotoxic effects of smoking and occupational lead exposure in printing press workers. Toxicology Letters, 76: 71-75, 1995.
31. Capasso R., Cristinzio G., Evidente A. and Scognamiglio F.: Isolation spectroscopy and selective phytotoxic effects of polyphenols from vegetable waste water. Phytoch. Vol. 31, no 12: 4125-4128, 1992.
32. Bartolini S., Cantini C. and Vitagliano C.: Olive fruit abscission: anatomical observations following application of Ethylene-releasing compound. 7th Int. Symp. on Plant Growth Regulators in Fruit production (Jerusalem, June 14-19). Acta Hort., 1992.