



Alınış tarihi (Received): 24.10.2017  
Kabul tarihi (Accepted): 02.07.2018

Baş editor/Editors-in-Chief: Ebubekir ALTUNTAŞ  
Alan editörü/Area Editor: Köksal PABUÇCU /  
Bülent TURAN

## Civil Dere Suyunda Bulunan Ağır Metal İyonlarının *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae)'da Teşvik Ettiği Fizyolojik, Sitogenetik ve Anatomik Değişimlerin Araştırılması

Mahmut DOĞAN<sup>a</sup>, Emine YALÇIN<sup>a,\*</sup>, Ali ACAR<sup>b</sup>, Dilek ÇAVUŞOĞLU<sup>c</sup>, Ümit ŞENGÜL<sup>d</sup>, Kürşad YAPAR<sup>e</sup>, Kültiğin ÇAVUŞOĞLU<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Güre Yerleşkesi, 28200, Giresun-Türkiye

<sup>b</sup>Giresun Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Güre Yerleşkesi, 28200, Giresun-Türkiye

<sup>c</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Atabey Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Hıdırlık Mevkii, Atabey, 32670, Isparta-Türkiye

<sup>d</sup>Giresun Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Güre Yerleşkesi, 28200, Giresun-Türkiye

<sup>e</sup>Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Gazipaşa Yerleşkesi, 28100, Giresun-Türkiye

\*Sorumlu yazar, eposta: emine.yalcin@giresun.edu.tr

**ÖZET:** Bu çalışmada, Civildere suyunun kalitesini analiz etmek için *Allium* testi kullanıldı. Civil 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 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 İndüktif olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) ile 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, krom, kobalt, nikel, bakır, çinko, arsenik, kadmiyum, titanyum, kurşun ve demir 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* L., anatomi, fizyoloji, genotoksisite, su kirliliği

## Investigation of Physiological, Cytogenetic and Anatomical Changes Induced By Heavy Metal Ions Found In Water of Civil Stream In *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae)

**ABSTRACT:** In this study, The *Allium* bioassay was used to analyze the water quality of Civil stream. 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, chrome, cobalt, nickel, copper, zinc, arsenic, cadmium, titanium, lead and iron 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.

**Keywords** – Heavy metal, *Allium cepa* L., anatomy, physiology, genotoxicity, water pollution

## 1. Giriş

Çevre ve 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 kirleticilerin de 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 artış beraberinde çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Briggs, 2003).

Dünyanın karşı karşıya kaldığı en büyük tehlikelerden biri de, yetersiz olan su kaynaklarının kirletilmesidir. Su kirliliğinin başlıca kaynakları; endüstriyel atıklar, tarımsal akıntılar (*pestisitler*), petrol ürünleriyle alakalı kazalardan kaynaklanan sızıntılar ve *ağır metal iyonlarıdır* (Walsh, 1978). İçme suyu olarak dere, göl ve nehir gibi kaynaklardan gelen sular kullanılmaktadır. Bu sularda 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 kullanımının azalmasına, sonuçta ölüm ve popülasyonlarının tehlikeye girmesine sebep olabilmektedir. Su kirliliğinin bir diğer olumsuz etkisi ise ekonomik kayba neden olmasıdır. İçme suyu olarak kullanılan kirli 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.

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, kadmiyum, krom, kurşun ve cıva 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 Kanser Araştırma Ajansı tarafından “karsinojen elementler” olarak sınıflandırılmaktadırlar (Tchounwou ve ark., 2012).

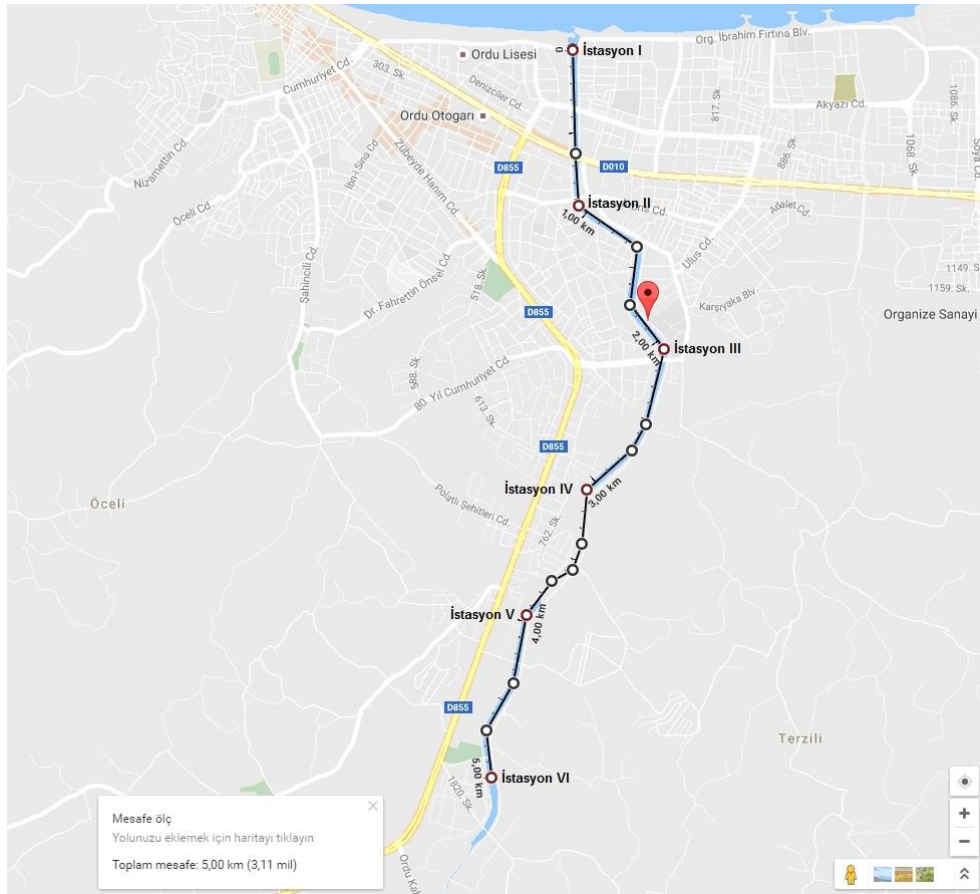
Literatürde ağır metal iyonlarının genotoksik etkilerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin Koca ve ark., (2008) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada,

Büyük Menderes Nehri'ndeki ağır metal kirliliğinin *Chondrostoma nasus* L. (Karaburun) ve *Barbus capito pectoralis* H. (Bıyıklı balık) balık türlerindeki genotoksik etkileri araştırılmış, sonuçta sudaki Cu, Zn, Cd, Co ve Pb seviyelerinin insan tüketimi için kabul edilebilir seviyeleri aştığı, söz konusu ağır metallerin eritrosit hücrelerinde MN oluşumuna, karaciğer ve solungaçlarda ise histolojik değişimlere neden olduğu rapor edilmiştir. Leme ve Marin-Morales (2008) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise petrol sızıntısından etkilenen Brezilya Guaecá nehrindeki su kalitesini değerlendirmek amacıyla *A. cepa* L. kök ucu hücre kromozom aberasyon (CA) ve Mikronukleus (MN) testleri kullanılmış, sonuçta suda petrol hidrokarbon (TPH) ve Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) seviyelerinin arttığı, buna bağlı olarak da CA ve MN oluşumunun teşvik edilerek, genotoksik ve mutajenik etkilere sebep olduğu gözlenmiştir.

Benzer tarzdaki çalışmalardan farklı olarak, bu çalışmada Ordu ili şehir merkezinden geçen Civil deresuyundaki ağır metal kirlilik düzeyi ve bu kirlilik tarafından teşvik edilen toksisitesi, *A. cepa* L. test materyali yardımıyla, sitogenetik parametrelerin yanı sıra anatomik ve fizyolojik parametreler de kullanılarak kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Su Örneklerinin Toplanması



**Şekil 1.** Örnek toplama istasyonları  
**Figure 1.** Sample collection stations

Su örnekleri, Civil deresinin denize döküldüğü yere 100 metre kala ve şehir merkezi yönünde 1000 metrede bir olmak üzere Gazi Köprüsü ile Eski Pazar Köyü Mevkii arasında kalan toplam 5 km'lik alanda belirlenen altı istasyondan alınmıştır. Su örnekleri belirlenen

istasyonlardan 100 ml'lik steril şişelere, derenin uygun derinlikteki yerlerinden ve su yüzeyinden, 2016 Mayıs ayında örneklenmiştir.

## 2.2. Ağır Metal Analizleri

Laboratuvara getirilen su örnekleri filtre kâğıtları ile süzölmüş, elde edilen her bir süzökteki ağır metal iyonları ICP-MS ile ölçölmüştür (Güleç, 2013).

## 2.3. Kök Ucu Preparatlarının Hazırlanması

Araştırma materyali olarak yaklaşık olarak eşit büyüklükte *A. cepa* L. tohumları kullanılmıştır. Tohumlar kontrol ve uygulama olarak iki gruba ayrılmış, 85x100 çapında steril beherlerde 25 °C'de 72 saat çimlenmeye bırakılmıştır. Kontrol grubundaki tohumlar çeşme suyu, uygulama grubundaki tohumlar ise Civil dere suyuyla muamele edilmiştir. Çimlenen tohumlar günlük olarak kontrol edilmiş ve kurumaması için gerekli su ilaveleri yapılmıştır. Uygulama periyodu sonunda, kök uçları distile su ile yıkanmış ve geleneksel preparasyon teknikleri kullanılarak analizler için hazır hale getirilmiştir (Wei, 2004).

## 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 ağırlıkları hassas terazi ile tespit edilerek *çimlenme yüzdesi* aşağıdaki eşitlik (1) kullanılarak belirlenmiştir (Atik ve ark., 2007).

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

## 2.5. Kromozomal Anormallik, Mitotik İndeks (MI) ve Mikronukleus (MN) Testi

Deneyisel işlemler sonrasında *kromozomal hasarların* tespiti amacıyla, her bir gruptaki kök uçları yaklaşık 1 cm uzunluğunda kesilmiş, 2 saat süresince "Clarke" fiksatorü ile (3:etil alkol/1:glasiyal 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 1,0 N 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 (Staykova ve ark., 2005).

*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., (2003) 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 ya da 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 mitoza 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. Anatamik Hasarların Belirlenmesi

*Anatomik hasarların tespiti amacıyla, 72 saat süresince Cıvil 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. Bulgular ve Tartışma

**Çizelge 1.** Dere suyundaki ağır metal derişimi ( $\mu\text{g/L}$ )

**Table 1.** Heavy metal concentration in stream water

Element	Derişim ( $\mu\text{g/L}$ )
Vanadyum	12,33 $\pm$ 0,23
Krom	13,56 $\pm$ 1,52
Kobalt	4,52 $\pm$ 0,58
Nikel	12,46 $\pm$ 1,96
Bakır	7,13 $\pm$ 0,90
Çinko	27.35 $\pm$ 2,40
Arsenik	6,48 $\pm$ 0,20
Kadmiyum	1,17 $\pm$ 0,01
Titanyum	1,31 $\pm$ 0,02
Kurşun	2,82 $\pm$ 0,10
Demir	4380 $\pm$ 302,44

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

Dere suyunda ölçülen ağır metal iyonlarının derişimi Çizelge 1’de gösterilmiştir. Altı istasyondan toplanan su örneklerindeki ağır metal derişimleri ICP-MS yardımıyla ölçülmüş, her bir element için ise 6 istasyondan ölçülen değerlerin ortalaması alınmıştır. Su örneklerinde sırasıyla Fe > Zn > Cr > Ni > V > Cu > As > Co > Pb > Ti derişimi ölçülmüştür. 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 (Dündar ve ark., 2012; Kır ve ark., 2007; Öner ve Çelik, 2011; Parlak et al., 2006).

**Çizelge 2.** Dere suyundaki ağır metal iyonlarının tohum çimlenmesi üzerine etkisi

**Table 2. Effect of heavy metal ions in stream water on seed germination**

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 Çizelge 2’de gösterilmiştir. Çizelgedeki veriler incelendiğinde, dere suyu uygulamasının kontrol grubuna göre çimlenme yüzdesinde %22 oranında azalmaya neden olduğu görülebilmektedir.



**Şekil 2.** Dere suyu uygulamasının kök büyümesi üzerine etkisi

**Figure 2. Effect of root water application on root growth**

**Çizelge 3.** Dere suyundaki ağır metal iyonlarının kök uzunluğu (cm) üzerine etkisi**Table 3.** Effect on root length (cm) of heavy metal ions in stream water

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 2 ve Çizelge 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 azalmıştır. Bu azalışında istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05) olduğu tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.** Dere suyundaki ağır metal iyonlarının tohum ağırlık artışı (g) üzerine etkisi**Table 4.** Effect of heavy metal ions in stream water on seed weight gain (g)

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	0000*
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 Çizelge 4’de gösterilmiştir. Çizelgedeki sonuçlar incelendiğinde, kontrol grubunda ortalama 6,54 g’lık, dere suyulla 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.

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., (2013) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, farklı Bor konsantrasyonlarına sahip olan Porsuk, Kocasu ve Emet Çayları (Kütahya) ile sulanan lahanalar (*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’un lahanalar 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., (2010) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, Kızılırmak nehri üzerinde belirlenen üç 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., (2010) 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 azalışının, ağır metallerin bitkinin kök ve gövde gibi organlarında görevli enzim sistemlerini inhibe ederek, su ve besin maddelerinin girişini engellemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürde bu öngörümüzü doğrulayan tarzda pek çok bilgi bulunmaktadır. Örneğin *nikelin* amilaz, proteaz ve ribonükleaz enzim aktivitelerini engelleyerek tohum çimlenmesini ve bitki büyümesini geciktirdiği (Ahmad ve Ashraf, 2011), *kurşunun* kromoplastta değişikliğe neden olduğu, elektron taşıma zincirini (ETS) engellediği, Calvinsiklus enzimlerini inhibe ettiği, magnezyum ve demir alımını bloke ettiği, çimlenme, kök uzaması, fide gelişimi, bitki büyümesi ve transpirasyonunu engellediği, ayrıca klorofil üretimi ve su alımını azalttığı (Pourrut ve ark., 2011), *bakırın* çimlenme oranını düşürdüğü, ayrıca alfa-amilaz ve invertaz izoenzimlerinin aktivitelerini inhibe ederek nişasta ve sükrozun parçalanmasını engellediği (Pena ve ark., 2011), *kadmiyumun* 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 lipidperoksidasyon ürünlerinin aşırı birikimine sebep olduğu (Rahoui ve ark., 2010; Sfaxi-Bousbih ve ark., 2010) gösterilmiştir.

**Çizelge 5.** Dere suyundaki ağır metal iyonlarının kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı

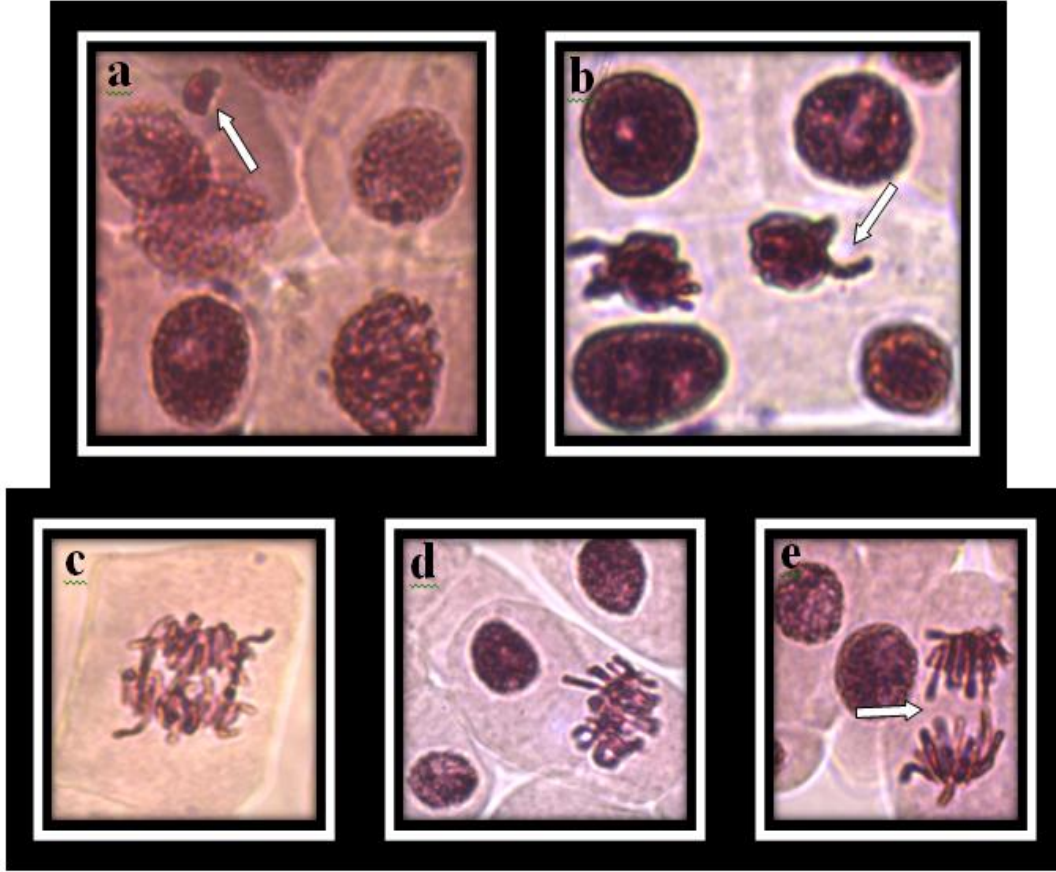
**Table 5. MN frequency induced by heavy metal ions in the root cells of stream water**

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 ile Çizelge 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.** Dere suyundaki ağır metal iyonları tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar (a:MN, b:fragment, c:C-mitoz, d:yapışkan kromozom, e:kromozom köprüsü)  
**Figure 3.** Chromosomal damages induced by heavy metal ions in stream water (a: MN, b: fragment, c:C-mitosis, d: sticky chromosome, e: chromosome bridge)

**Çizelge 6.** Dere suyundaki ağır metal iyonları tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar  
**Table 6.** Chromosomal damage induced by heavy metal ions in stream water

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 ve Çizelge 6’da verilmiştir. Çizelgedeki 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.

**Çizelge 7.** Dere suyundaki ağır metal iyonlarının MI üzerine etkisi

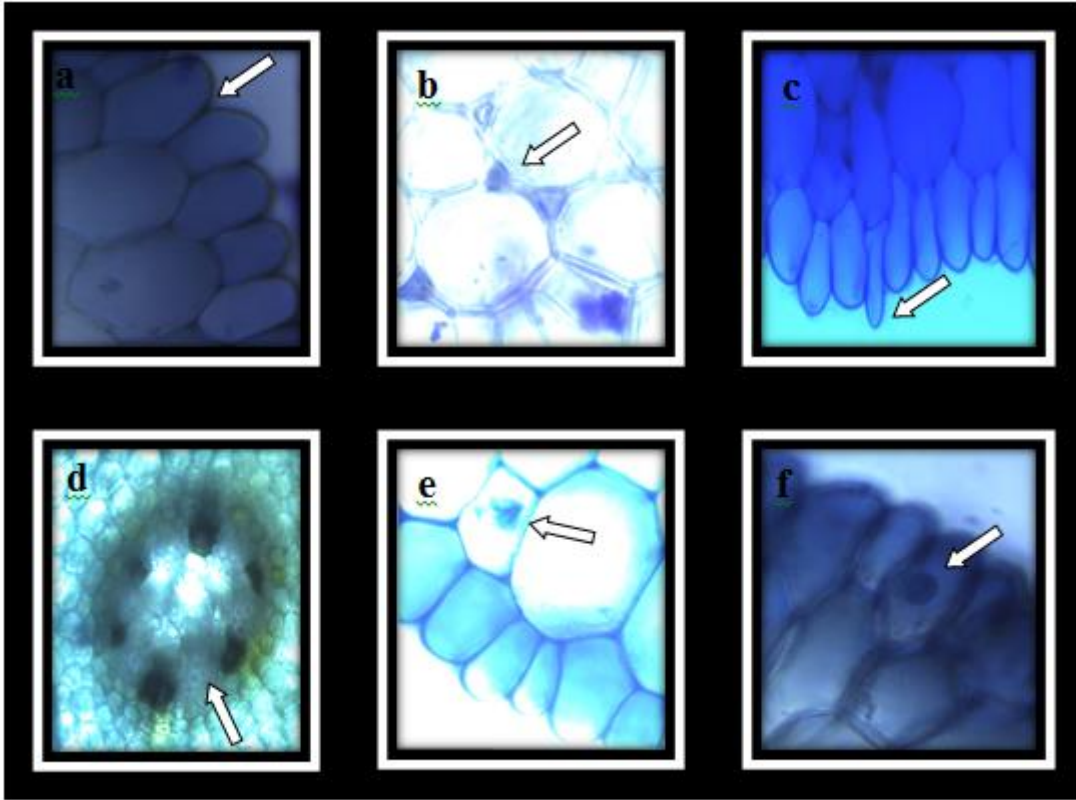
**Table 7. Influence of heavy metal ionson MI in stream water**

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  $\pm$  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 Çizelge 7’de gösterilmiştir. Kontrol grubunda ortalama 875,20±45,48 ve 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.

Civil dere suyunun *A. cepa* L. kök ucu hücrelerinde teşvik ettiği sitogenetik hasarlar MN, kromozomal hasar ve MI sayılarının tespiti ile değerlendirilmiştir. Gerçekleştirilen mikroskopik 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., (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 12 saat boyunca 0,01-10 mM konsantrasyonda alüminyuma maruz kalan *Vicia faba* L. kök uçlarında alüminyumun, MN ve anafaz kromozomu hasar sayılarında belirgin bir artışa neden olduğu, ayrıca piknotik hücre sayısını arttırmak suretiyle MI’i azalttığı rapor edilmiştir. Olorunfemi ve ark., (2012) 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’i azalttığı, bu azalışın ise uygulama konsantrasyonuna bağlı olduğunu gösterilmiştir. Staykova ve ark., (2005) 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.



**Şekil 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)

**Figure 4.** Anatomical damage induced by heavy metal ions in stream water (a: necrosis, b: thickening of the cortex cell wall, c: cell deformation, d: nonspecific transmission tissue, e: accumulation of certain substances in the cortex cells, f: flattened cell nucleus)

Dere suyu uygulamasının kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği anatomik hasarlar Şekil 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. 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., (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, yüksek oranda demir 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., (2009) 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., (2015) 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.

#### 4. Sonuç

Bu çalışmada, Ordu ilinin önemli derelerinden biri olan Civil dere suyundaki ağır metal kirliliği ile bu kirliliğin *A. cepa* L. tohumlarında meydana getirdiği toksik etkiler fizyolojik, sitogenetik ve anatomik parametreler yardımıyla araştırılmıştır. Sonuç olarak, Civil deresinde ağır metal iyonlarından kaynaklanan kirliliğinin olduğu, *A. cepa* L. test materyalinin ise söz konusu kirliliğin toksik etkilerini belirlemede uygun bir indikatör olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

#### Kaynaklar

- Acar, A., Çavuşoğlu, K., Türkmen, Z., Çavuşoğlu, K., Yalçın, E. 2015. The investigation of genotoxic, physiological and anatomical effects of paraquat herbicide on *Allium cepa* L.. Cytologia, 80 (3): 343-351.
- Ahmad, M.S. Ashraf, M. 2011. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 214: 125-167.
- Akın, B., Leblebici, S., Bingöl, N.A. 2013. Porsuk, Kocasu ve Emet çayları'na (Kütahya) ait suların lahana (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) bitkisinin bazı çimlenme parametreleri ve fide gelişimi üzerine etkisi. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31: 13-26.
- Atik, M., Karagüzel, O., Ersoy, S. 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20: 203-208.
- Briggs, D. 2003. Environmental pollution and the global burden of disease. British Medical Bulletin, 68 (1): 1-24
- Çavuşoğlu, K., Yalçın, E., 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.
- Çavuşoğlu, K., Yapar, K., Kınalıoğlu, K., Türkmen, Z., Çavuşoğlu, K., 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.
- Dündar, M.Ş., Altundağ, H., Kaygaldurak, S., Şar, V., Acar, A. 2012. Çeşitli endüstriyel atık sularda ağır metal düzeylerinin belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16 (1): 6-12.
- Fenech, M., Chang, W. P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S., 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.
- Güleç, A. 2013. Türkiye'de Organik ve Klasik Yöntemlerle Üretilen Zeytinyağlarının Ağır Metal İçeriğine Yönelik Bir Araştırma, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kır, İ., Tekin-Özan, S., Tuncay, Y. 2007. Kovada Gölü'nün su ve sedimentindeki bazı ağır metallerin mevsimsel değişimi. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 24(1-2): 155-158.
- Koca, S., Koca, Y. B., Yıldız, Ş., Gürcü, B. 2008. Genotoxic and histopathological effects of water pollution on two fish species, *Barbus capito pectoralis* and *Chondrostoma nasus* in the Büyük Menderes River, Turkey. Biological Trace Element Research, 122(3): 276-291.
- Leme, D. M., Marin-Morales, M. A. 2008. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water—a case study. Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 650(1): 80-86.
- Olorunfemi, D., Duru, E., 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
- Öner, Ö., Çelik, A. 2011. Gediz Nehri Aşağı Gediz Havzası'ndan alınan su ve sediment örneklerinde bazı kirlilik parametrelerinin incelenmesi. Ekoloji, 20(78): 48-52.
- Parlak, H., Çakır, A., Boyacıoğlu, M., Arslan, Ö. Ç. 2006. Heavy metal deposition in sediments from the delta of the Gediz River (Western Turkey): A preliminary study. EU Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 23(3-4): 445-448.
- Pena, L.B., Azpilicueta, C.E., Gallego, S.M. 2011. Sunflower cotyledon scope with copper stress by inducing catalase subunits less sensitive to oxidation. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 25: 125-129.
- Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P., Pinelli, E. 2011. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 213:113-136.

- Rahoui, S., Chaoui, A., El Ferjani, E.J. 2010. Membrane damage and solute leakage from germinating pea seed under cadmium stress. *Journal of Hazardous Materials*, 178: 1128–1131.
- Sfaxi-Bousbih, A., Chaoui, A., El Ferjani, E. 2010. Cadmiumim pairs mineral and carbohydrate mobilization during the germination of bean seeds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73: 1123–1129.
- Staykova, T.A., Ivanova E.N., 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.
- Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K., Sutton, D. J. 2012. Heavy metal toxicity and the environment. In *Molecular, clinical and environmental toxicology*, Basel, 133–164.
- Teixeira, M.B., Fernandes, Í.A., de Castro, E.M., 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.
- Türkmen, Z., Çavuşoğlu, K., Çavuşoğlu, K., Yapar, K., 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.
- Walsh, G.E. 1978. Toxic effects of pollutants on Plankton. In: *Principles of Ecotoxicology* (Butler G.C., editor.), John Wiley & Sons, Inc., New York, 257–274.
- 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.
- Yi, M., Yi, H., Li, H., Wu, L. 2010. Aluminum induces chromosome aberrations, micronuclei, and cell cycle dysfunction in root cells of *Vicia faba*. *Environmental Toxicology*, 25 (2): 124–129.