

## İzmir Körfezine Akan Dere Sedimentlerinin Mutajenitesi

Meltem Boyacıoğlu, Hatice Parlak

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 35100, Bornova – İzmir / Türkiye.

**Abstract:** *Mutagenicity of River Sediments Draining into Izmir Bay.* In this study, genotoxic and mutagenic effect in the sediment samples of Izmir Bay collected in December 1995 from the stations on Manda, Melez, Laka, Bostanlı, Bornova and Gediz rivers draining to Izmir Bay has been studied by Ames mutagenicity test using by *S.typhimurium* TA98 and TA100 strains. According to the results of the present study, the rivers draining to the inner parts of the Bay are important sources of mutagenic activity due to their pollution load.

**Key words:** *Salmonella typhimurium*, Ames Test, Mutagenicity, Izmir Bay.

**Özet:** Bu çalışmada, Aralık 1995 tarihleri arasında İzmir Körfezi'ne drene olan Manda, Melez, Laka, Bostanlı, Bornova ve Gediz nehirleri ağızlarından alınan sediment örneklerinde *S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşları ile Ames'in mutajenite testi uygulanmıştır. Test sonucuna göre, körfezin iç kısmına drene olan dereler taşıdıkları kirlilik yükü sebebi ile körfez için mutajenik aktivite kaynağı teşkil etmektedirler.

**Anahtar kelimeler:** *Salmonella typhimurium*, Ames testi, Mutajenite, İzmir Körfezi.

### Giriş

Deniz kirliliğinin ortaya çıkışı ile bilimsel çevrelerde ve kamu oyunda, gelişen izleme teknolojilerine paralel olarak büyük bir ilgi uyanmıştır. Yakın zamanlarda kimyasal pollüsyon olayının meydana çıkmış olması, özellikle endüstrileşmiş bölgelerde deniz biyotası için direkt veya indirekt olarak insan üzerinde toksikolojik etkiler oluşturma-bileceğini göstermiştir.

Birbirinden oldukça farklı kimyasal yapılara sahip olan ksenobiyotikler, bütün dünya yüzeyinde yaygın bir şekilde saptanabilmektedir. Örneğin bu tür kimyasal maddelerin hiç kullanılmadığı Pasifik adalarından anne sütüne kadar çok değişik yerlerden PCB'ler tespit edilmiştir. Buna benzer bir şekilde balinaların yağ dokusundan da mutajenik etkili pestisidlerin varlığı da tespit edilmiştir (Kotelevtsev, 1995). İnsanların

endüstriyel ve tarımsal aktiviteleri sonucu üretilen mutajen ve kanserojen maddeler, nehirler yolu ile karasal drenaj sonucunda denizlere ulaşır. Son 10 yıl içinde, tümörlü deniz balıklarının sayısında önemli bir artış olduğu rapor edilmiştir. Bu artışın bir kısmı viral kökenli olduğu halde büyük kısmının okyanusların mutajenik ve kanserojenik ksenobiyotikler ile kirlenmesi sonucunda ortaya çıktığı tesbit edilmiştir (De Flora ve diğ. 1991).

Her türlü sucul ortama giren çeşitli kirleticilerin depolandığı bir yer olarak sedimentin kimyasal içeriğinin ve canlılar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, ekotoksikolojik çalışmalar için önem taşımaktadır.

38°18'00"-38°43'00" enlemleri ve 26°23'00"-27°11'00" boylamları arasında yer alan İzmir Körfezi de giderek artan bir şekilde kirlenmiştir. Kent nüfusunun hızlı bir şekilde artması, çeşitli sanayi

kollarının yoğun faaliyetleri ve kapasitesi giderek artan bir ihracat limanına sahip olması sebebiyle çok çeşitli kimyasal atık körfez içine arıtılmaksızın ve kontrolsüz bir şekilde deşarj edilmiş ve halen edilmeye devam etmektedir.

Derelerin körfez açısından önemi getirdikleri tatlısu girdilerinden çok içerdikleri kirletici yüklerden kaynaklanmaktadır. Özellikle İzmir metropolitan alanından geçerken yapılan atıksu deşarjları nedeniyle olağanüstü derecede kirlenir. Bunun yanısıra havza alanlarından körfeze taşıdıkları kirlilik yükü de büyük önem taşımaktadır. Özellikle İzmir İç Körfez'e deşarj olan dereler, esasen çok sığ olan bu kesimin giderek daha fazla sığlaşmasına neden olmaktadır (Anonim, 1995).

Son 20 yılda çeşitli araştırma kurumları İzmir Körfezi'ndeki ve körfeze akan derelerdeki ekosistem bozukluğunu, gerek tür çeşitliliğinin azalması gibi biyolojik açılardan gerekse deniz suyunda, sedimentinde ve deniz canlılarının dokularında bulunan ağır metal ve pestisid tespiti gibi, kimyasal açılardan ele almışlardır. Ancak kimyasal yöntemler ile çok az miktarda bulunan maddeleri saptamak ve canlılar üzerindeki etkilerini belirlemek mümkün olmamaktadır. Dolayısıyla, İzmir Körfezi ve körfeze akan dere sedimanlarının mutajen ve kanserojen etkisi henüz belirlenememiştir. Gerçekte mutajen ve kanserojen maddelerin deniz canlılarında birikimi yalnızca ekosistemi bozmakla kalmayıp insanlar için de tehike kaynağı oluşturmaktadır. Bu nedenle, İzmir körfezine akan dere sedimentlerinin genotoksik olup olmadığının belirlenmesi son derece önemlidir. Bu amaçla İzmir Körfezi'ne akan derelerde radiant hattan sediment örnekleri alınarak mutajenik olup olmadığı Ames testi uygulanarak saptanmaya çalışılmıştır.

## Materyal ve Yöntem

İzmir Körfezi 38° 18' 00" - 38° 43' 00" enlemleri ve 26° 23' 00" – 27° 11' 00" boylamları arasında yer almaktadır. İzmir Körfezinin iç kısmına akan Bostanlı, Melez, Manda ve Bornova dereleri ile Körfezin dış kısmına akan Gediz nehrine ait sediment örnekleri Aralık 1995 tarihinde, dere ağızlarından radyan olarak ve Van – Veen Grab örnekleyci kullanılarak toplanmıştır (Şekil 1). Sediment örnekleri polietilen torbalarda buzluk içinde laboratuara getirilmiş ve laboratuara getirildikten sonra (+4°C'de) buzdolabında saklanmıştır.

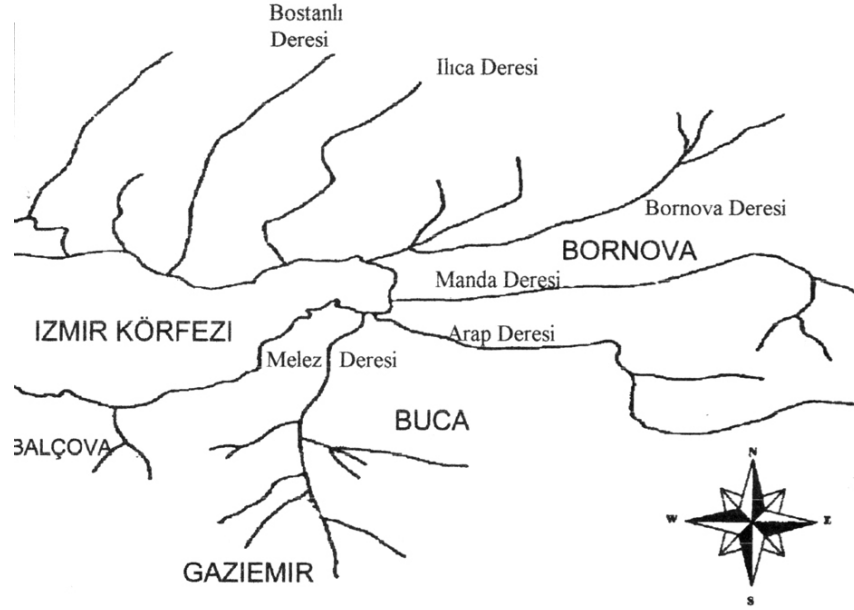
## Örneklerin Ekstraksiyonu

Laboratuara getirilen sediment örnekleri ince toz haline getirilip, örnekler 0.1 gram olarak tartıldıktan sonra steril teflon tüplere alındı ve üzerlerine 1 ml hekzan, kloroform, aseton (1:1:1 v:v:v ) karışımından ilave edilerek vorteks karıştırıcı yardımı ile karıştırıldı. Bu işlemden sonra SİGMA K3 soğutmalı santrifüjde +4°C'de, 5600 g'de 10 dakika süre ile santrifüjlenerek süpernatantlar steril tüplere alındı. Bu işlem 3 defa tekrarlandıktan sonra sediment ekstraktlarının organik solventi uçurulduktan sonra ve her örnek tüpü liyofilize edildi. Liyofilize ekstraktlar test uygulanıncaya kadar buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır.

Ames testinde kullanılan *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşları Dr. Bruce Ames'den (*University of California/ Berkeley-USA*) sağlanmıştır.

Ames/ Salmonella testinde kullandığımız bakteri suşlarının (*S. typhimurium* TA98 ve TA100) genetik yapılarının kontrolü deneyde çalışmalar öncesinde aşağıdaki şekilde (Maron ve Ames 1983) 'e göre yapıldı.

- Histidin amino asidi gereksinimi kontrolü
- Uvr B mutasyonu kontrolü
- rfa mutasyonu kontrolü
- R-Direnç faktörü (RF) kontrolü
- Ayrıca ;
- Kendiliğinden geriye dönüş sıklığının kontrolü
- Negatif kontroller yapıldı
- Pozitif kontroller olarak TA 98 için daunomisin 6,0 Mg/plate ve TA 100 için Na azid 1,5 Mg/plate kullanıldı.



Şekil 1. İzmir iç körfeze akan dereleri gösteren harita.

Çalışmalarımızda kullanılan kültür ve çözümler Maron ve Ames'e (1983) göre hazırlanmıştır. Bakteriler liyofilize şekilde ve Ampisilinli petrielerde buzdolabında saklandı. Kullanılacakları zaman oxid broth no:2'de üretildiler.

Deneyde kimyasal test bileşeni olarak kullandığımız dere sedimenti örneklerinin kuru ekstraktlarının üzerine dime-tilsulfoksit (DMSO)'dan 1 ml eklenerek iyice karıştırılıp çözülmesi sağlandıktan sonra her bir örneğin 0.1, 1, 10, 100 mg seyrelmeleri yapıldı, üçerli paraleller halinde hem TA98 ve hemde TA100 suşları ile (S9 karaciğer mikrozomal enzimi olmadan) teste tabi tutuldular.

### Bulgular

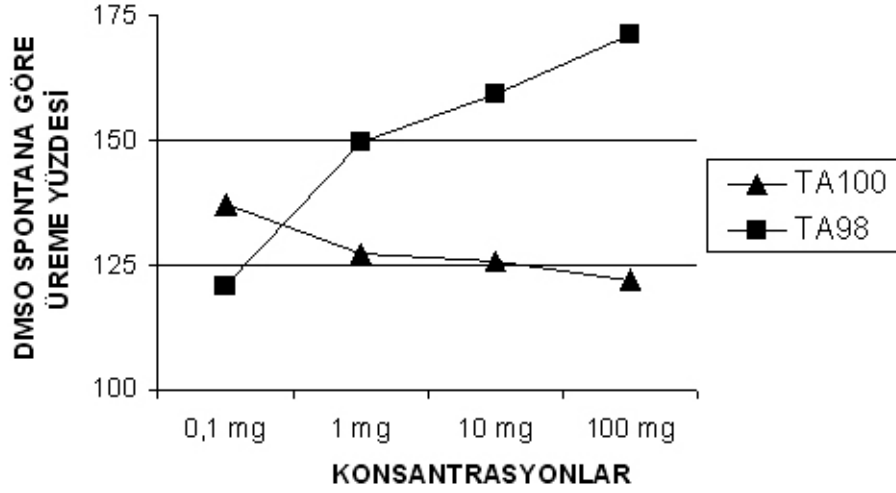
Manda deresine ait sediment örneklerinde *S.typhimurium* TA98 suşuna ait revertant koloni sayısı DMSO Spontan kontrolün 1.5 katından fazla bulunmuştur. TA100 suşu ile yapılan denemede konsantrasyon arttıkça revertant koloni sayısında düşme gözlenmiştir. TA98 suşu, TA100 suşuna göre daha iyi cevap vermiştir (Şekil 2).

Bostanlı deresi sediment örneklerinde *S.typhimurium* TA98 suşuna ait revertant koloni sayısı tüm konsantrasyonlarda DMSO Spontan kontrolün altında üreme göstermiştir. TA100 suşu ile yapılan denemede tüm konsantrasyonlarda revertant koloni sayısı DMSO spontanın çok az üzerinde üreme

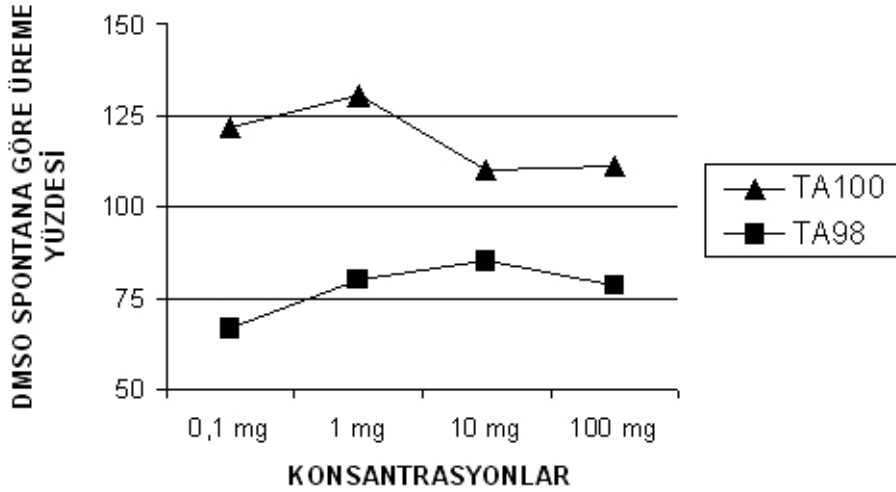
göstermiştir (Şekil 3).

Melez deresine ait sediment örneklerinde *S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşu ile yapılan denemelerde

revertant koloni sayısı DMSO spontan kontrolün iki katına ulaşmıştır. Hem TA98 ve hemde TA100 iyi sonuç vermiştir (Şekil 4).



Şekil 2. Manda deresi istasyonlarında *S.typhimurium* TA100 ve TA98 suşlarının DMSO spontan kontrole göre üreme yüzdeleri.



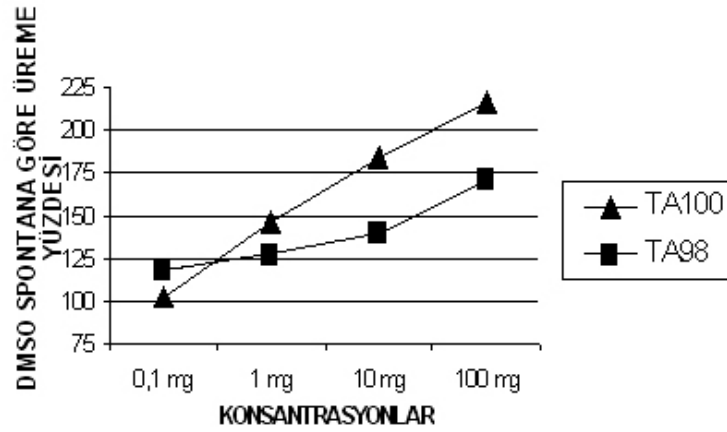
Şekil 3. Bostanlı Deresi istasyonlarında *S.typhimurium* TA100 ve TA98 suşlarının DMSO spontan kontrole göre üreme yüzdeleri.

Bornova deresine ait sediment örneklerinde *S.typhimurium* TA98 suşuna ait revertant koloni sayısı DMSO Spontan kontrolün %50'sine yakın bulunurken, TA100 suşu ile yapılan denemede hemen hemen tüm konsantrasyonlarda revertant koloni sayısı DMSO spontanın altında kaldığı gözlenmiştir. TA98 suşu, TA100 suşuna göre daha iyi cevap vermiştir (Şekil 5).

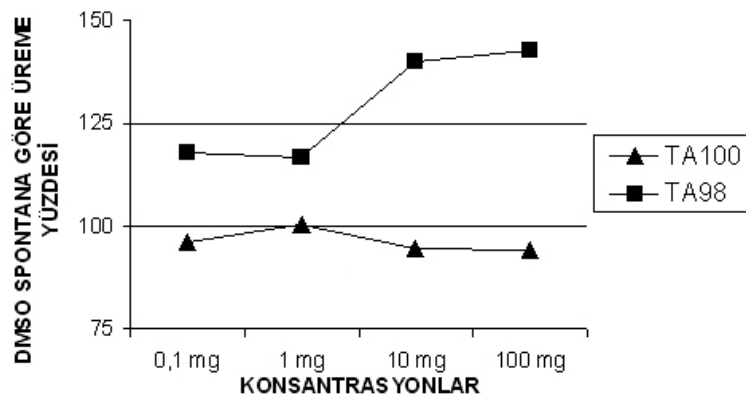
Laka deresine ait sediment örneklerinde *S.typhimurium* TA100 suşuna ait revertant koloni sayısı DMSO Spontan kontrolün 1,5 katına yakın üreme göster-

miştir. TA98 suşu ile yapılan denemede konsantrasyon arttıkça revertant koloni sayısında da artma gözlenmiştir. TA98 suşu, TA100 suşuna göre daha iyi cevap vermiştir (Şekil 6).

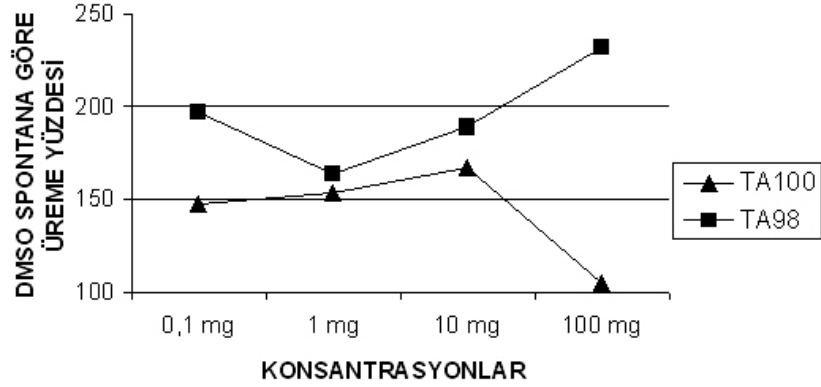
Gediz Nehri sediment örneklerinde *S.typhimurium* TA98 suşuna ait revertant koloni sayısı, 100 mg'lık konsantrasyonda DMSO Spontan kontrolün biraz üzerinde bulunmuştur. TA100 suşu ile yapılan denemede 100 mg'lık konsantrasyonda revertant koloni sayısında düşme gözlenmiştir (Şekil 7).



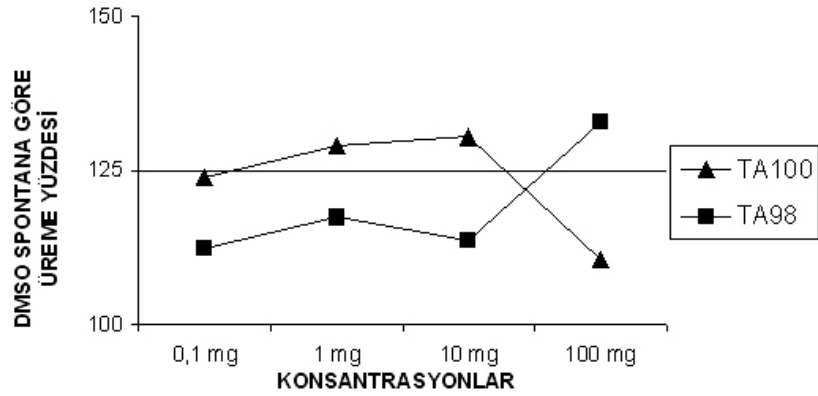
Şekil 4. Melez Deresi istasyonlarında *S.typhimurium* TA100 ve TA98 suşlarının DMSO spontan kontrole göre üreme yüzdeleri.



Şekil 5. Bornova Deresi istasyonlarında *S.typhimurium* TA100 ve TA98 suşlarının DMSO spontan kontrole göre üreme yüzdeleri.



Şekil 6. Laka Deresi istasyonlarında *S.typhimurium* TA100 ve TA98 suşlarının DMSO spontan kontrole göre üreme yüzdeleri.



Şekil 7. Gediz Nehri istasyonlarında *S.typhimurium* TA100 ve TA98 suşlarının DMSO spontan kontrole göre üreme yüzdeleri.

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada amaç suda çözünmeyen ve sediment içinde depolanan mutajen özelliği olan materyalin varlığını saptamaktır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, bütün derelerin ağızlarından alınan örneklerde DMSO spontana göre istatistik olarak önemli yüksek sayımların alınması bu sedimentlerin çeşitli mutajen maddeler içerdiğini göstermektedir.

Bostanlı deresi hariç diğer dere

sedimentlerinde *S.typhimurium* TA98 ve TA100 ile yapılan mutajenite testinde en iyi mutajenik cevabı TA98 hattı vermiştir. En yüksek mutajenite ise Manda, Melez ve Laka Bornova derelerinin sedimentlerinde tesbit edilmiştir.

Giriş bölümünde açıklandığı gibi bu dereler üzerinde bulunan çeşitli sanayi kuruluşları, yerleşim bölgeleri ve tarım alanlarından mutajen karakterli material sediment içinde depolanmaktadır.

Barcelona'nın kıyı sedimentlerinde

bulunan mutajenik maddelerin saptanması ile ilgili olarak yapılan ilk çalışmalarda, ekstraksiyonların elde edilmesi, fraksiyonların ayrılması ve test yöntemlerinin optimize edilmesi konusunda önemli bilgiler elde edilmiştir (Grifoll ve diğ.,1988).

Alexander ve diğ. (1991) Detroit nehrine ait 30 istasyon ile Michigan gölünden seçilen 1 istasyondan alınan sediment örneklerini ekstrakte ederek *Salmonella*/ mikrozom testine tabi tutmuşlar ve S9 ile metabolic aktivasyon uygulanmadan yapılan mutajenite testinde örneklerin hiç birinde güçlü mutajenik aktivite tesbit edilmezken S9 ile metabolic aktivasyon sağlandıktan sonar 31 istasyonun 16' sında güçlü mutajenik etki saptanmıştır.

Detroit nehri gibi nehirlerin endüstriyel, evsel ve zirai aktivitelerden kaynaklanan çeşitli kimyasal maddelerin birikime uğradığı bilinen bir gerçektir. Su deşarjlarında birikime uğrayan bu tür kimyasal maddelerin büyük kısmı hidrofobik özellikte olup ve bunun sonucunda sedimentte birikime uğramaktadır. Bu tür kimyasal maddelerin bir kısmı hidrofobik olmalarının dışında bakteriyel parçalanmaya karşı da dirençli oldukları için sedimentlerde ve biotada oldukça yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedir. Aynı çalışmada, Detroit nehrinde gerçekleştirdikleri mutajenite çalışmasında tesbit ettikleri mutajen maddeler arasında organoklorlu pestisidler, ağır metaller, poliklorlu bifeniller, polisiklik aromatik hidrokarbonlar sayılabilir (Alexander ve diğ., 1991).

Pablo ve diğ. Rio de la Plata deltasında bulunan sanayi bölgelerinden topladıkları çevresel örnekler üzerinde gerçekleştirdikleri mutajenite testlerinde S9' lu ve S9'suz ortamda *S.typhimurium*' un TA98 TA100 suşlarını kullanmışlar ve S9' lu ortamda mutajenik etki tesbit etmişlerdir (Pablo ve diğ., 1996).

Sonuç olarak İzmir iç Körfezi söz konusu derelerin mutajenik etkisi altındadır. Direkt mutajenlerin tesbit edildiği bu çalışmayı takiben metabolize mutajenlerin saptanması için deneylerin S9 karaciğer mikrozomu kullanılarak sürdürülmesi gerekmektedir. Ayrıca bu mutajen materyallerin canlılar üzerindeki etkisi ve birikimi gerek dokulardaki materyalin saptanması ve gerekse histopatolojik etkilerinin tespiti şeklinde araştırmalar yapılmalıdır. Suda çözünen (hidrofilik) mutajenler için benzer çalışmalar yürütülmelidir.

#### Kaynakça

- Alexander, E.M., Noreen, E., Mary, E.F., 1991. Mutagenicity of sediments from the Detroit River. J. Great Lakes Res.17(3): 314-321.
- Anonim, 1995. Environmental Problems of Izmir, Izmir, pp.53-94 (in turkish).
- De Flora, S., Bagnasco, M., Lanachhi, P., 1991, Genotoxic, carcinogenic, and teratogenic hazards in the marine environment, with special reference to the Mediterranean Sea, Mutation Research, 258, 285-320.
- Grifoll, M., Solanas, A. M., Pares, R., Cntellas, V., Bayona, J. M., and Albiges, J., 1988, Assesment of mutagenic activity of Coastal Sediments of Barcelona. Toxicity Assess.:An Int.i3:315-329.
- Kotelevtsev, S. V., Setanova, L., 1995. Biochemical and Genotoxicological Monitoring of Ecosystems with Special Reference to Lake Baikal and Northern Black Sea. Nato Advanced Study Institute on Moleculer Aspects of Oxidastive Drug Metabolizing Enzymes: Their Significance in Environmental Toxicology, Chemical Carsinogenesis and Health. pp 99-102.
- Maron, M., Ames, B., 1983. Revised Methods for the *Salmonella*/Mutagenicity Test Mut. Res.2.