

AFLATOKSİNLERİN MİKROORGANİZMALAR ve BİTKİLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Selahattin Sert (1)

ÖZET

Üzerinde araştırma yapılan çok sayıda bakteri türünün aflatoksinlerden etkilendiği, en duyarlı bakterilerin *Bacillus megaterium* ve *B. brevis* olduğu görülmüştür. Aflatoksinler *B. megaterium*'da hücre bölünme mekanizmasını inhibe ederek, hücrelerin anormal şekilde uzamasına sebep olmaktadır. Küf ve mavi-yeşil algler üzerine de etkili olan aflatoksinler, *Aspergillus parasiticus*'ta dev hücreler oluşturmuştur.

Yapılan çalışmalar ile, aflatoksinlerin bitki tohumlarının çimlenme oranlarını düşürdüğü, yaprakta klorofil teşekkülünü önlediği, bitkilerin büyümesini yavaşlattığı anlaşılmıştır. Ayrıca, aflatoksinlerin bitki hücrelerinde sitolojik değişikliklere yol açtığı saptanmıştır.

1. Giriş

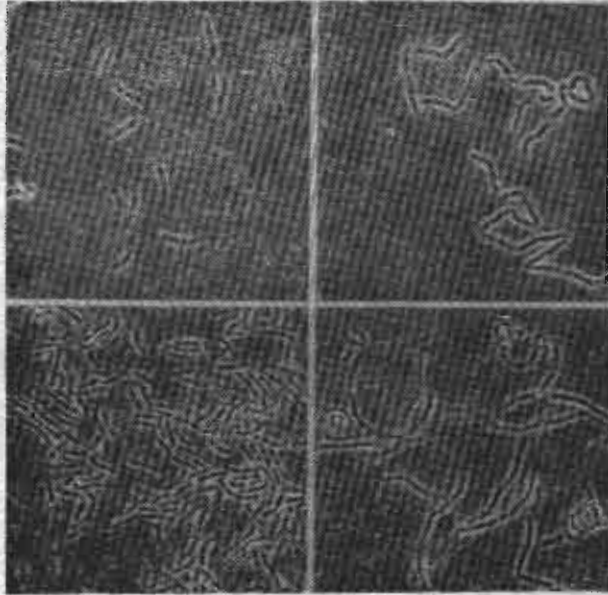
İngiltere'de 1960 da 100.000 hindi palazının aflatoksinler sebebiyle ölümünün anlaşılması üzerine, bu konuya oldukça fazla ilgi gösterilmeye başlanmıştır. Bir hücre zehiri olan aflatoksinler, bilinen kanserojenik maddelerin de en etkilisidir. Çeşitli ülkelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalar insanlarda, tüketilen gıdaların aflatoksin içeriği ile, karaciğer kanseri olayları arasında yakın bir ilişkinin olduğunu ortaya koymuştur. Hayvanlarda, aflatoksinlerin yüksek dozu ölüme, düşük dozlar ise, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında bozukluklar, ağırlık artışı ve yemden istifade etmede azalmalar, infeksiyon hastalıklarına karşı aşırı duyarlılık gibi zararlı etkilere sebep olur.

Aflatoksinlerin mikroorganizmalar ve bitkiler üzerine tesirleriyle ilgili olarak da detaylı çalışmalar yapılmıştır. Burada, bu konuda yapılmış çeşitli çalışmalar özetlenmiştir.

(1) Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ürünleri Teknolojisi Bölümü Doçenti.

2. Aflatoksinlerin Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

30 bakteri, 34 küf, 4 alg ve 1 protozoon cinsine ait 329 mikroorganizma üzerinde yapılan bir araştırmada, aflatoksinlere en duyarlı mikroorganizmanın spor oluşturan, gram pozitif bakterilerden *Bacillus megaterium* olduğu tesbit edilmiştir (Burmeister ve Hesseltine, 1966). Besiyerinde (Trypticase soybroth) 3.8 mikrogram/ml aflatoksin B₁ olması halinde, *B. megaterium* NRRL B-1368 suşunda hücre bölünme mekanizması inhibe olmuştur. Bunun sonucu olarak, aşırı derecede uzun, ipliksi bakteri hücreleri meydana gelmiştir. Hücre uzunluğu çoğu zaman 50 mikronu bulmuştur (Resim 1). Bu ipliksi hücrelerde normal hücrelerden daha kısa sürede poli- β -hidroksibütirik asit tanecikleri oluşmuştur. Aynı zamanda, bu tanecikler anormal büyüklükte ve daha fazla sayıda bulunmuştur. Hücre septumunun teşekkülünde, pentoil lakton septum inhibisyonunu durdurucu bir etkiye sahip olmamıştır. Halbuki, normal hücrede pentoil lakton, septum oluşumunu teşvik eder. Trypticase soy agarına transfer edilen *B. megaterium*'un ipliksi formu, normal hücrelerinkine oranla daha büyük koloniler oluşturmuşlardır. Ayrıca elektron, mikroskopu ile yapılan incelemelerde, ipliksi hücrelerin mezozom sayısında azalma görülmüştür. Kimyasal maddelere ve ısıya dirençte, aflatoksinle muamele edilen ve edilmeyen hücrelerde bir fark olmamış ancak, toksin ihtiva eden besiyerinde sporulasyonun önemli ölçüde inhibe edildiği tesbit edilmiştir (Beuchat ve Lechowich, 1971 a).



Resim 1. Normal ve aflatoksinli besiyerinde (3.8 mikrogram/ml) gelişen *Bacillus megaterium* bakterileri (A) ve (B) sırasıyla, 3.5 ve 5.5 saat inkübasyon sonunda kontrol. (C) ve (D) sırasıyla, 3.5 ve 5.5 saat inkübasyon sonunda aflatoksinli besiyerinde gelişme.

Aynı araştırmacıların yaptıkları diğer bir çalışmada, aflatoksinin *Bacillus megaterium*'da meydana getirdiği biyokimyasal değişiklikler incelenmiştir. Bu araştırmada 3.8 mikrogram/ml oranındaki aflatoksin B₁ ihtiva eden besi yerinde (Trypticase soy medium) oğaltulan bakterilerde, hücre başına ve % kuru ağırlık esasına göre DNA, RNA ve protein miktarında artma görülmüştür (Tablo 1).

Tablo 1. Aflatoksin B₁ in *B. megaterium*'un Vegetatif Hücrelerinde ve Sporlarında Meydana Getirdiği Değişiklik

	Vegetatif Hücreler		Sporlar	
	Kontrol	Muamele	Kontrol	Muamele
Protein	52.0 %	73.0 %	57.1 %	59.4 %
DNA	4.1	5.3	2.9	2.7
RNA	11.9	14.6	10.5	10.3

Bu çalışmada, aflatoksin bulunmayan besiyerinde hücrelerin yaklaşık % 97 si 3 gün içinde sporlaşırken, aflatoksinli besiyerinde ise 6 günde ancak % 65 kadar olmuştur (Beuchat ve Lechowich, 1971 b).

Aflatoksinlerin tayininde kullanılan ince tabaka kromatografisi yöntemini desteklemesi bakımından, *Bacillus megaterium* test organizması olarak kullanılmaktadır. Bir mikrogram kadar az miktardaki aflatoksin B₁ in bu bakterinin gelişmesine engel olduğu bildirilmiştir (Clements, 1968 a, 1968 b).

Burmeister ve Hesseltine (1966) tarafından 10-40 mikrogram/ml aflatoksin konsantrasyonunun, *B. brevis*, *B. licheniformis*, *B. sphaericus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. alvei*, *B. bombysis*, *B. cereus*, *B. macerans*, *B. pumilis*, *B. technicus*, *Clostridium sporogenes*, *Streptomyces* sp. bakterilerinin gelişmesini inhibe ettiği bulunmuştur. Aflatoksinlerin ayrıca, *Flavobacterium aurantiacum*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus vulgaris* türleri ile, *Brevibacterium* ve *Nocardia* cinslerine ait birçok bakteri türü üzerine de olumsuz etkileri bildirilmiştir (Reiss, 1978).

Aflatoksinlerin bakterilerden başka, küfler ve mavi-yeşil algler üzerine etkileri de çeşitli araştırmacılar tarafından incelendiği bildirilmiştir. Aflatoksin B₁, *Aspergillus flavus*, *A. awamori*, *Penicillium chrysogenum* ve *P. duclaxi*'nin gelişmesini durdurmuştur. 10 ppm aflatoksin B₁ in *Mucor hiemalis*'in süksinat dehidrogenaz, alkol dehidrogenaz, L- izositrat: NAD oksidoredüktaz ve asit fosfataz enzimlerinin aktivitelelerini inhibe ettiği tesbit edilmiştir. 100 mikrogram aflatoksin içeren kğit disklerin *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Cladosporium herbarum*, *Mucor hiemalis*, *Rhizopus nigricans* ve *Thamnidium elegans* kültürlerinde sporulasyona engel olduğu bulunmuştur. 50 mikrogram/ml aflatoksin ile muamele edilen *Aspergillus parasiticus*'da dev hücreler oluşmuştur. Bu hücrelerin, elek-

tron mikroskop ile incelenmesinde mitokondriyumlarında hasar, hücre duvarlarında farklılaşmalar görülmüştür (Reiss, 1978).

3. Aflatoksinlerin Bitkilere Etkisi

Yapılan araştırmalar, aflatoksinlerin tohumların çimlenme oranını düşürdüğünü, yaprakta klorofil teşekkülünü önlediğini, bitkilerin büyümesini yavaşlattığını göstermiştir. Nitekim, Schoental ve White (1965) tarafından, 25 mikrogram/ml ve daha yukarı aflatoksin konsantrasyonunun, tere (*Lepidium sativum* L.) tohumlarının çimlenme oranında önemli derecede düşmeye sebep olduğu, 100 mikrogram/ml aflatoksinin çimlenmeyi tamamen durdurduğu ve aynı bitkide klorofil sentezini inhibe ederek yaprak kenarlarında karakteristik bir beyazlaşma meydana getirdiği bildirilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Aflatoksinin Tohum Çimlenmesine ve Klorofil Teşekkülüne Etkisi.

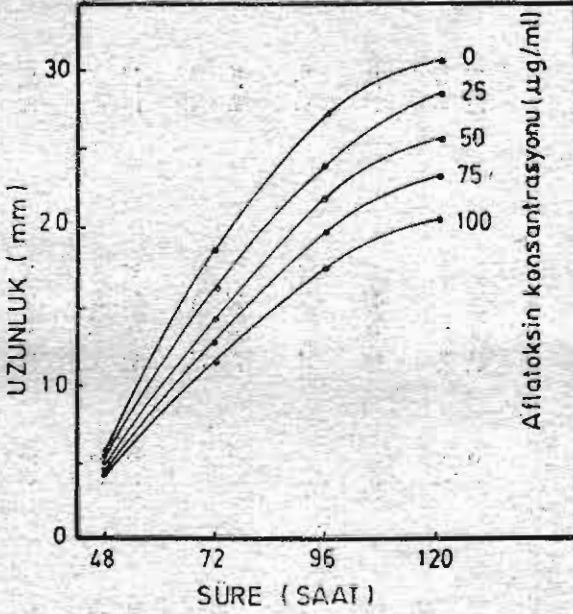
Kontrol	Aflatoksin Konsantrasyonu (mikrogram/ml)											
	100		50		25		10		2.5		1	
Çx (%)	Ç	B ^{xx}	Ç	B	Ç	B	Ç	B	Ç	B	Ç	B
85	0		10	++	65	++	85	++	90	+	85	±

Çx , çimlenen tohumların % si; B^{xx}, yaprakta albünizim; ++, tamamen; +, kısmen; ± şüpheli.

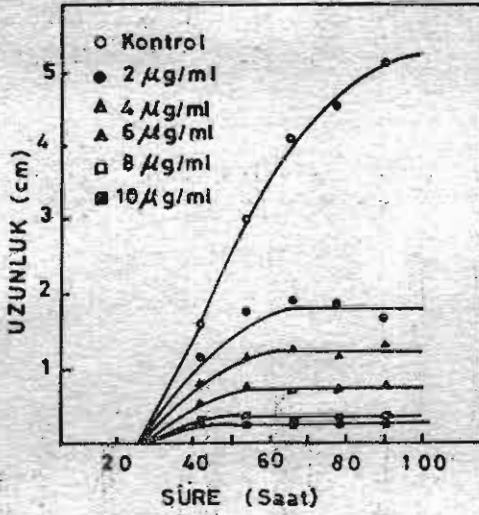
Crisan (1973 a), yaptığı bir araştırmada, marul fidelerini 0-100 mikrogram/ml arasında çeşitli oranlarda aflatoksinle muamele etmiştir. Aflatoksinin 5, 10, 15 ve 20 mikrogram/ml konsantrasyonlarının önemli bir etkisinin olmadığını, daha yüksek konsantrasyonların hipokotil uzamasını azalttığını izlemiştir. Bu durum Grafik 1 de görülmektedir.

Aynı konuda turpgillerin 11 türüne ait 19 bitki üzerinde çalışan Crisan (1973 b), 100 mikrogram/ml aflatoksin konsantrasyonunun hipokotil ve kök uzamasını % 29-93 oranında inhibe ettiğini bulmuştur (Tablo 3). Tablodan anlaşılacağı gibi, tere (*Lepidium sativum*) aflatoksinden en fazla etkilenen bitki olmuştur (Grafik 2).

Reiss(1978) tarafından, çeşitli kaynaklardan bildirildiğine göre, önce giberillik asitle sonra aflatoksinle muamele edilen pamuk tohumlarında lipaz ve α -amilaz enzim aktivitelerinin inhibe edildiği tesbit edilmiştir. Halbuki, giberillik asidin, tohumların çimlenmesinde adı geçen enzimlerin teşekkülünü teşvik edici bir hormon olduğu bilinmektedir. Diğer bir araştırmada, *Aspergillus flavus* kültüründen elde edilen aflatoksin B₁'in yerfıstığı bitkisinin büyümesini yavaşlattığı saptanmıştır (Resim 2).



Grafik 1. Aflatoxinin tere bitkisinde hipokotil uzamasına etkisi

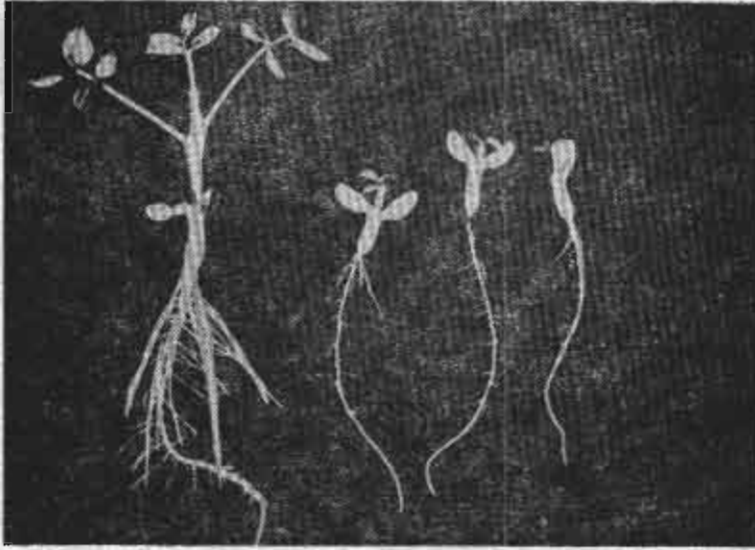


Grafik 2. Aflatoxinin tere bitkisinde kök uzamasına etkisi

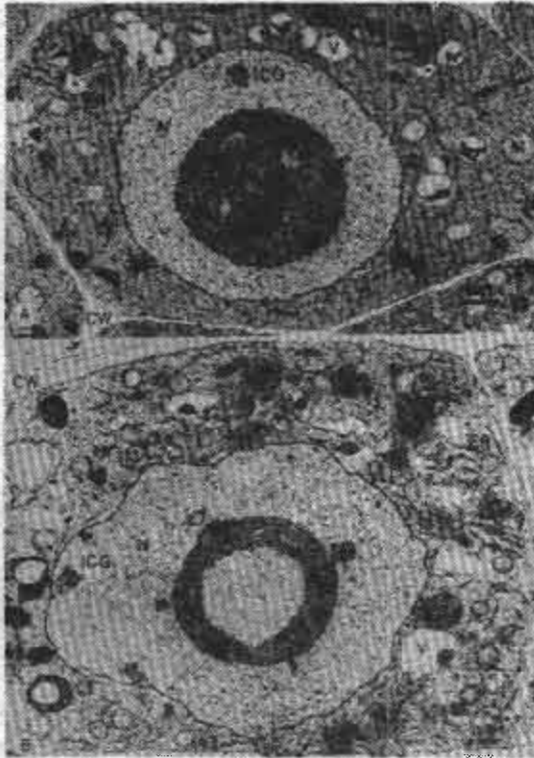
Elektron mikroskopla yapılan incelemelerde, aflatoxinle muamele edilen *Lepidium sativum* kök hücrelerinin sitolojik değişimlere uğradığı görülmüştür (Resim 3). Benzer durum hayvan hücrelerinde de müşahade edilmiştir. Meydana

Tablo 3. 100 mikrogram/ml Aflatoksin ile 90 Saat Muamele edilmiş Bazı Cruciferae Türlerinde Hipokotil ve Kök Uzama Durumları

Tür adı	Uzunluk (mm)			% İnhibisyon (hipokotil/kök)	İnhibisyon oranı
	Hipokotiller		Kökler		
	Kontrol	Muamele	Kontrol		
<i>Brassica juncea</i> Coss.					
Hardal (Burpee's Foodhook Fancy)	16.7	7.4	23.1	7.4	56.0/68.0
Hardal (Tendergreen)	28.8	15.1	26.2	17.4	47.7/33.7
<i>B. napus</i> L.					
Kolza (Dwarf Essex)	30.5	11.9	47.0	25.7	60.8/45.5
<i>B. napus</i> var. napobrassicae					
Şalgam	16.8	11.9	26.6	12.3	29.4/53.9
<i>B. oleracea</i> var. botrytis L.					
Kıvrıkcık lahanası	31.1	6.7	35.6	17.5	78.6/51.0
Karnabahar	17.5	9.4	24.6	17.7	46.3/28.2
<i>B. oleracea</i> var. capitata L.					
Lahana	28.0	13.2	30.0	13.9	52.9/53.8
Lahana (Golden Acre)	25.6	11.0	34.2	17.4	57.2/49.2
<i>Lepidium sativum</i> L.					
Tere	37.4	2.8	69.7	6.0	92.6/91.4
<i>Nasturtium officinale</i> R.Br.					
Suteresi	8.4	1.8	4.0	1.8	78.9/55.6
<i>Rephanus sativus</i> L.					
Turp	23.6	6.5	57.6	38.9	72.6/32.5



Resim 2. Aflatoksinin yerfıstığı fidelerine etkisi (soldan sağa, 0,1,5,10 ppm toksin)



Resim 3. *Lepidium Sattvum*'un kök hücreleri, (A) Kontrol, (B) Aflatoksinle muamele edilmiş hücre. Kısaltmalar : CW, hücre duvarı; ER, endoplazmik retikulum; M, mitokondria; N, çekirdek; Nu, çekirdekcik; L, lipid granülleri; V, vakuol.

gelen en önemli değişiklik çekirdekte olmuştur. Ayrıca hücre içindeki lipid granülleri artmış, mitokondriyumlar ve hücre çekirdeği intizamsız şekiller almıştır.

KAYNAKLAR

1. Beuchat, L. R. and R.V. Lechowich. 1971 a. Biochemical Alteration in *Bacillus megaterium* as Produced by Aflatoxin B₁. Appl. Microbiol. 21: 119-123.
2. Beuchat, L.R. and R.V. Lechowich. 1971 b. Morfological Alteration in *Bacillus megaterium* as Produced by Aflatoxin B₁. Appl. Microbiol. 21: 124-131.
3. Burmeister, H.R., and C.W. Hesseltine. 1966. Survey of the Sensitivity of Microorganisms to Aflatoxin. Appl. Microbiol. 14: 403-404.
4. Clements, N.L. 1968 a. Note on a Microbiological Assay for Aflatoxin B₁: A Rapid Confirmatory Test by Effects on Growth of *Bacillus megaterium*. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 51: 611-612.
5. Clements, N.L. 1968 b. Rapid Confirmatory Test for Aflatoxin B₁, Using *Bacillus megaterium*. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 51: 1192-1194.
6. Crisan, E. V. 1973 a. Effects of Aflatoxin on Germination and Growth Lettuce. Appl. Microbiol. 25 : 342-345.
7. Crisan, E. V. 1973. b. Effects of Aflatoxin on Seedling Growth and Ultrastructure in Plants. Appl. Microbiol. 26: 991-1000.
8. Reiss, J. 1978. Effects of Mycotoxins on Higher Plants, Algae, Fungi and Bacteria. In : Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses. Vol. 3, part 4, P. 117-143. Marcel Dekker, Inc. New York.
9. Schoental, R. and A.F. White. 1965. Aflatoxins and Albinism in Plants. Nature. 205: 57-58.