

SAKLA SAMANI GELİR ZAMANI

Bitkisel Artıkların Değerlendirilmesinde Fiziksel,
Kimyasal ve Biyoteknolojik Uygulamalar

Numan ÖZCAN *

Yapılarında lignin, selüloz ve hemiselüloz bulunan bitki sapları ve ağaçlar yer yüzünde en fazla bulunan doğal maddelerdir. Dünyada her yıl yaklaşık olarak 4×10^{10} ton selüloz, fotosentez sonucu sentezlenmektedir (COUGHLAN, 1985). Selüloz glikoz moleküllerinin biraraya gelmesiyle oluşan bir polimerdir. Bu bakımdan selülözün kimyasal veya enzimatik yollarla glikoza parçalanması büyük miktarda gıda, yakıt ve kimyasal maddeler ortaya çıkaracaktır. Buna ilaveten tarım, orman, kâğıt ve tekstil endüstrilerinin faaliyetleri sonucunda ortaya çıkan ve çevre kirliliği yaratan artıkların değerlendirilmesi de mümkün olacaktır (WAYMAN ve PAREKH, 1990).

Selülözü parçalayan enzim sistemine selüloz kompleksi denilmektedir. Bu komplekste endoselülaz, ekzoselülaz ve beta-glikosidaz enzimleri bulunmaktadır (Şekil 1). Endoselülazlar, selüloz içerisinde glikoz meloküllerini birarada tutan beta (1-4) bağlanmalarını tesadüfi noktaldan keserler. Ekzoselülazlar ise açığa çıkan büyük molekülü digosakkaritleri sellobioza parçalarlar. İki molekül glikoz molekülünün biraraya gelmesiyle oluşan sellobiozlar ise sistemde bulunan beta-glikosidaz enzimi aracılığıyla glikoza parçalanırlar. Selüloz kimyasal olarak da kuvvetli asitlerle (%72 sülfirik asit, %41 hidroklorik asit) yapı taşlarına ayırmakta, alkalilerde ise dokularında şişmeler meydana gelmektedir.

Bugün bütün dünyada selüloz içeren artıkların fiziksel, kimyasal ve biyoteknolojik yollarla değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Biz de yazımızda Türkiye için özel bir öneme sahip olan sap-samanı gibi selüloz içeren artıkların endüstride, yabancı ot mücadelesinde ve hayvan beslemede ortaya çıkan yeni kullanım olanaklarıyla, özellikle hayvan yemi ola-

rak değerinin artırılmasında uygulanan kimyasal ve biyoteknolojik metotlar üzerinde yoğunlaşacağız.

SAMANIN ENDÜSTRİYEL KULLANIMI

Son zamanlarda artan akaryakıt fiyatları bitkisel artıklardan etanol üretimine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Bu amaçla glikozu doğrudan etanole dönüştüren bir sisteme sahip olan ekme maya-sından yararlanılması düşünülmektedir. Eğer selülözü glikoza dönüştüren enzim kompleksi bu mayaya aktarılsa, selüloz önce glikoza parçalanacak, sonradan da mayanın kendi mekanizması sayesinde etanole dönüştürülecektir. Son zamanlarda *Cel-lulomonas fimi*'ye ait endoselülaz ve ekzoselülaz enzimlerini kotalayan genlere bir plazmid vektör aracılığıyla ekme mayası olarak da bilinen *Saccharomyces cerevisiae*'ye aktarılarak ilgili enzimlerin bu mayaca üretimi gerçekleştirilmiştir (WONG, 1988). Ayrıca etanol üretimi sonucunda büyük miktarda ele geçirilen bu mayaların hayvan beslemede tek hücre proteini olarak kullanılmaları da mümkündür. Özellikle rumen orijinli selüloz üreten böyle mayaların hayvan beslemede kullanılmaları hem daha az riskli olacak hem de içerisinde taşıdıkları enzimlerin rumene yayılmasıyla kaba yemlerin sindirimine bir miktar katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Samanın yemelik mantar üretimi dışında yüksek besin içeriğine sahip bir yeme dönüştürülmesi, üzerinde düşünülen diğer bir konudur (Şekil 2). Yakın zamanlarda Kanadalı bilim adamlarının ülke hayvancılığının dışardan ithal ettiği soya küspesine bağımlılığı azaltmak amacıyla böyle bir yem geliştirdikleri bildirilmiştir (New Scientist 23 April 1981). Detayları gizli tutulan bu projenin saman üzerinde yaşayan ve samanla beslenen bir fungusu dayandığı ve elde edilen yemin %40 protein, %30 nişasta, yağ ve vitaminler, %10 lignin içerdiği bilinmektedir.

* Department of Molecular and Cell Biology University of Aberdeen College Marichan İNGİLTERE

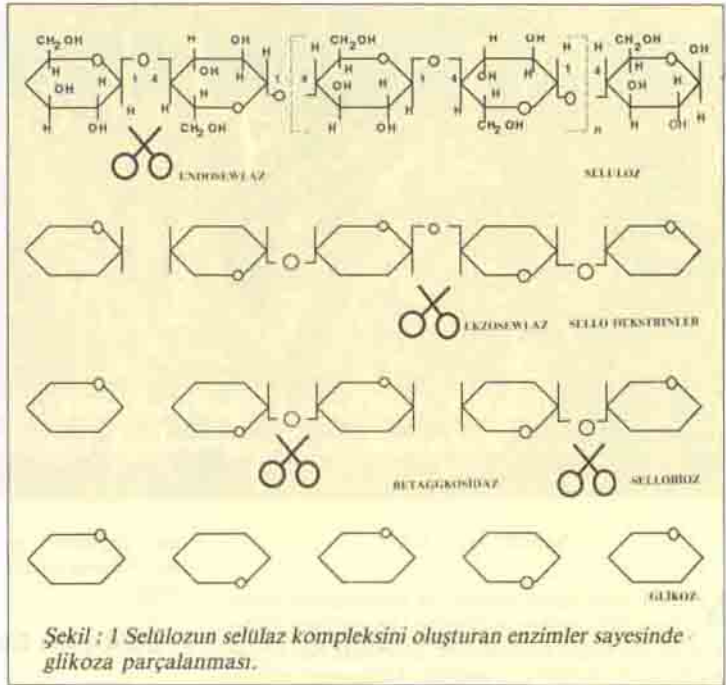
SAMANIN YABANCI OT MÜCADELESİNDE KULLANILMASI

Sap ve samanın yabancı ot mücadelesinde bazen tarım ilaçları yerine kullanılması da mümkündür. Batı'da sayıları gün geçtikçe çoğalan organik tarım işletmeleri, yabancı ot mücadelesinde fiziksel yöntemleri daha fazla tercih etmektedirler. Bunlar arasında çapa, münavebe yöntemleri ve polikültür ürün modelleri sayılabilir. Biz de burada yazar tarafından geliştirilen ve kendi imkânlarıyla denenen değişik bir mücadele şekline kısaca bahsedeceğiz. Bu proje, etkili bir yabancı ot mücadelesinin yanı sıra mevsim şartlarının yılda iki ürün yetiştirmeye müsait olmadığı fakat sulama imkânları bulunan İç Anadolu gibi yarı kurak bölgelerde ikinci bir ürün alternatifi de getirmektedir.

Şekil 3'te de görüleceği gibi İç Anadolu'da buğday ekimi eylül ayı sonlarında başlamakta, mahsul tarlayı temmuz başlarında terketmektedir. Bostan ise mayıs ayının ilk haftalarında ekilmekte, eylül ayı ortalarında olgunlaşmaktadır. Dolayısıyla bostanın ekim zamanı ile buğdayın biçim zamanı arasında iki aylık bir süre farkı bulunmaktadır. Bu süre farklılığını ortadan kaldırmak, mevsim ve toprak şartlarından en iyi şekilde yararlanmak amacıyla buğdayın daha çimen halinde bulunduğu nisan başlarında buğday tarlasında içerisine biçerdöverin iki tekerleğinin sığabileceği genişlikte olmak üzere 50-70 cm'lik koridorlar açılmakta ve buralar buğdaydan temizlenmektedir. Mayıs başlarında buralara elle bostan ekilmektedir. Buğday biçim zamanında yeni yeşeren ve birkaç yapraklı ibaret olan bostan, biçimden zarar görmeyecek tabla altı kalacaktır. Yani bostanın yüksekliği 10-15 cm olurken, biçim yüksekliği 20-25 cm olacaktır. Buna karşılık biçilen sap desteleri bostan koridorları arasını dolduracak ve ileride sulama sırasında çimlenecek olan yabancı otlara gölge teşkil edeceğinden bunların gelişmelerini engelleyecektir. Daha sonra kol atarak koridorlar arası boşluğa yayılacak olan bostan da bu mücadeleyi daha da etkili hale getirecektir. Çok yönlü olarak tasarlanan bu projenin, ileride Türk çiftçisine gerekli katkıyı sağlamanı ve samanın kullanımına bir alternatif yaratmasını umut etmekteyiz.

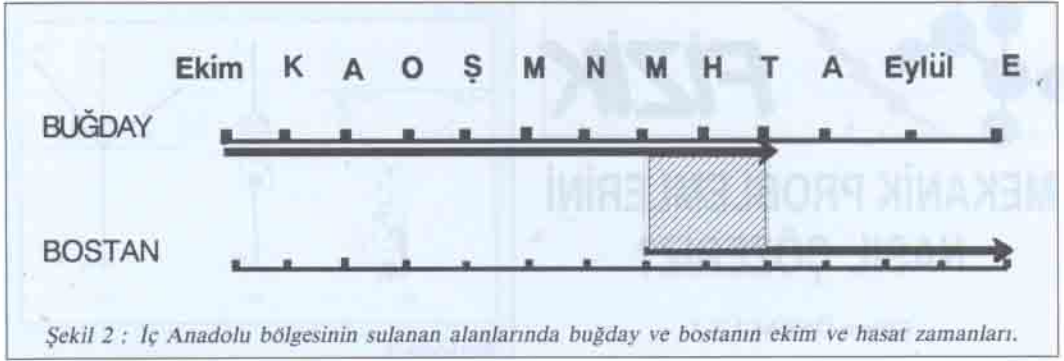
SAMANIN HAYVAN BESLEMEDE KULLANILMASI

Buğday ve diğer tahıl sapsarı uzun senelerden bu yana hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Fakat



geviş getiren çiftlik hayvanlarınca az sindirilebilmesi ve protein içeriğinin düşüklüğü sebebiyle hayvan beslemedeki katkısı az olmaktadır (KILIÇ ve ark. 1990). Samanın yapısında bulunan lignin, rumende (işkembede) yaşayan mikroorganizmaların selüloz lifleriyle olan doğrudan temasını önlemekte, dolayısıyla bu organizmalarca salgılanan selüloz enzimlerinin selülozu parçalamasına engel teşkil etmektedir. Buradan da anlaşılacağı gibi selülozun hayvanlarca tam olarak sindirilebilmesi, ligninin samandan uzaklaştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu amaçla bugün birçok kimyasal metot geliştirilmiştir. Bunlardan en önemlisi samanın sodyum hidroksit veya amonyak gibi alkalilerle muamele edilmesi gelmektedir. Amonyak, sodyum hidroksit oranla daha az etkili olmasına karşın, gaz şeklinde olmasından dolayı saman içerisine daha homojen dağılması ve samanın azot içeriğini artırması dolayısıyla daha yaygın kullanıma sahiptir (ORSKOV, 1987). Hatta bazı durumlarda amonyak gazının üre gübresinden sağlanması ayrıca pratik bir önem arz etmektedir (OWEN ve JAYASURIYA, 1989). Türkiye'de çok az uygulama alanı bulan bu tekniklerin yaygınlaştırılması, büyük tarım işletmelerine amonyakın gaz formunda tankerlerle, küçük işletmelere suyla sature edilmiş %35'lik sıvı solüsyonlarının varillerle sağlanmasını, ücre yerlerde ise amonyakın üre gübresinden elde edilmesini sağlayıcı, eğitim programlarıyla desteklenmiş bir organizasyona gidilmesi kaçınılmazdır.

Öte yandan dünyanın birçok ülkesinde hayvanların doğrudan merada otlatılması nedeniyle yukarıda sözü edilen metotların uygulama bulmaları mümkün olmamaktadır. Bunun yerine rumen ekosistemine dışarıdan müdahalelerle selülotik mik-



roorganizmaların sayılarını ve faaliyetlerini artırmak, hemiselülotik türlere selülotik aktivite kazandırma yoluna gidilmektedir (ORPIN, 1988; PLINT, basımda). Örneğin, bir antibiyotik olan monensinin hayvanlara verilmesi halinde, lifli maddelerin sindirilmesinde bir artış olduğu bildirilmiştir (STEWART ve FLINT, 1989; STEWART özel görüşme). Yine ilkbahar ve yazın biçilen yeşil otların *Lactobacillus plantarum* gibi laktik asit üreten bakterilerce fermentasyona uğratılarak kışa saklanması demek olan silaj yapımında endoselülaz enzimlerinin önemi büyüktür. Bu enzimle bitki hücre duvarlarının yumuşatılması ve böylece laktik asidin dokulara daha iyi nüfuz etmesi mümkündür. Bu amaçla selüloz enzim kompleksinin bir parçasını oluşturan endoselülaz genleri, rumen bakterilerinden alınarak *E. Coli* bakterisine aktarılmakta ve böylece bu enzimlerin moleküler düzeyde araştırılması mümkün olmaktadır. Bunlardan uygun özellikte bulunan enzimlere ait genlerin daha sonra da *L. Plantarum*a aktarılması bu çalışmaların uzun vadedeki amaçlarını teşkil etmektedir. Biz de burada bir rumen bakterisi olan *Fibrabacter Succinogenese* ait bir endoselülaz geninin *E. Coli* bakterisinde klonlaması ve baz dizilerinin okunmasına örnek teşkil etmesi maksadıyla yazar tarafından yurt dışında doktora çalışması olarak yürütülen başka bir projeden de kısaca bahsedeceğiz. Şekil 4'te de görüleceği gibi *F. Succinogenese* ait genomik DNA bir kesme enzimi olan sau 3A ile önce kısmi kesime uğratılmış sonra da Bam H1 enzimiyle tamamen kesilmiş bir bakteriyofaj lamda vektörüyle (EMBL3) DNA ligaz enzimi aracılığıyla birleştirilmiştir (Her biri DNA'yı değişik noktalar kesen bu enzimler, kestikleri noktalarda kendilerine özel yapışkan uçlar meydana getirmektedir. Yani bir enzimle kesilen DNA'ya ait yapışkan uç başka bir enzimle kesilen başka bir DNA'ya ait yapışkan uçla birleşmektedir).

Muhtemelen bütün bir endoselülaz genini taşıyan bir DNA parçasıyla da kaynaşmış olan bu rekombinant vektörler sonradan paketleme unsurlarının ilavesiyle olgun bir faja dönüştürülmüşlerdir. *F. Succinogenes* genomuna ait çok değişik DNA parçalarına sahip bu fajlardan hangilerinin endoselülaz geninin tamamını taşıdıklarını tespit amacıyla, oluşturulan bu gen kütüphanesi selülotik aktivite bakımından taranmıştır.

Fajlar bu amaçla içerisinde karboksil metil selüloz (CMC) bulunan katı besi yerlerine ekilerek plâk oluşturmaları sağlanmıştır. Selülotik aktivite gösteren faj plâkları kongo red boyama tekniğiyle ortaya çıkarılmıştır (TEATHER ve WOOD, 1982). Bu plâklarda bulunan fajlardan çevreye yayılan endoselülaz enzimi ortama homojen şekilde dağıtılmış CMC'yi parçalayacağından ve bu parçalanma ürünlerinin de kongo red boyasıyla sarı renk oluşturacağından (aksi takdirde ortam kırmızıya boyanacağından) dolayı selülotik aktivite gösteren fajlar diğerlerinden ayrılabilmiştir. Daha sonra bu selülotik fajlardan DNA çıkarılmaya çalışılmıştır. Muhtemelen selülotik fajlarca üretilen bu enzimin yüksek derecede kontaminasyon yaratması sebebiyle DNA'nın mevcut metotlarla elde edilmesi mümkün olmamıştır. Sonuçta bu problem yazar tarafından bulunan bir metotla çözülmüştür (ÖZCAN ve arkadaşları, basımda). Fajlardan bu şekilde elde edilen DNA haritalamaları yapıldıktan sonra Sal 1 kesme enzimiyle kısmi kesime bırakılmış ve yine aynı enzimle tamamen kesilen bir plazmid vektörle (puc 18) DNA ligaze enzimi aracılığıyla birleştirilmiştir. Elde edilen rekombinant plazmidler transformasyon işlemiyle *E. Coli* içerisine sokulmuşlardır. Fonksiyonel büyüklükteki endoselülaz genini alan ve bu enzimi yapılarında üreten *E. Coli* bakterileri diğerlerinden, yine yazar tarafından geliştirilen bir katı besi yeri (CAX) sayesinde ayrılabilmişlerdir (Resim 1). Selülotik özellik gösteren bu bakteriler, hemen kültüre alınmış DNA'ların çıkarılarak genin baz dizilerinin okunmasında kullanılmıştır. (Resim 2). Özette gen klonlaması olarak bilinen bu işlemde rumen orijinli endoselülaz geni *E. Coli*'ye nakledilmiş ve ilgili enzimin bu bakteride üretimi gerçekleştirilmiştir.

Bütün bu açıklamalardan da anlaşıldığı üzere tarih bir zamanlar atalarımızca söylenen "sakla samanı, gelir zamanı" sözünün doğruluğunu bir defa daha kanıtlarken, bize vasiyet edilen bu "SARI DÜNYA"nın keşfinde ne kadar geç kaldığımızı da göstermiştir. Bu konuda daha geç kalınmaması için bir araştırma grubu oluşturularak bu dünyanın derinlemesine araştırılması her şeyden ve herkesten daha önce biz mirasçılara düşmektedir. □